



HAL
open science

Fragilité osseuse après transplantation rénale : effets des toxines urémiques et des médicaments

Benjamin Batteux

► **To cite this version:**

Benjamin Batteux. Fragilité osseuse après transplantation rénale : effets des toxines urémiques et des médicaments. Médecine humaine et pathologie. Université de Picardie Jules Verne, 2022. Français. NNT : 2022AMIE0089 . tel-04144902

HAL Id: tel-04144902

<https://theses.hal.science/tel-04144902>

Submitted on 28 Jun 2023

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

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



Thèse de Doctorat

Mention Biologie Santé
Spécialité Physiopathologie Humaine, Approches pharmacologiques des cancers

présentée à l'École Doctorale en Sciences Technologie et Santé (ED 585)

de l'Université de Picardie Jules Verne

par

Benjamin BATTEUX

pour obtenir le grade de Docteur de l'Université de Picardie Jules Verne

Fragilité osseuse après transplantation rénale : effets des toxines urémiques et des médicaments

Soutenue le 14 novembre 2022, après avis des rapporteurs, devant le jury d'examen :

M. Gabriel CHOUKROUN, PU-PH, UPJV

M^{me} Martine COHEN-SOLAL, PU-PH, Université Paris-Diderot

M^{me} Marie-Hélène LAFAGE-PROUST, PU-PH, Université Jean Monnet

M. Cédric VILLAIN, MCU-PH, Université de Caen-Normandie

M^{me} Sophie LIABEUF, PU-PH, UPJV

M^{me} Valérie GRAS-CHAMPEL, PH, UPJV

Président

Rapporteur

Rapporteur

Examinateur

Directrice

Co-directrice

Remerciements

Au Président du Jury,

Monsieur le Professeur Gabriel CHOUKROUN,

Vous me faites le grand honneur de présider cette thèse.

Je vous remercie de m'avoir donné l'opportunité de travailler à partir de votre cohorte de patients, de votre expertise tout au long de ce travail et également de votre soutien dans mon parcours professionnel.

Veillez trouver ici le témoignage de mon profond respect et de ma sincère reconnaissance.

Aux membres du jury,

Madame le Professeur Sophie LIABEUF, ma directrice de thèse,

Je te suis entièrement reconnaissant de m'avoir proposé ce sujet et de m'avoir guidé tout au long de ce travail.

Je te remercie de la confiance que tu m'as accordée dès mon arrivée dans le service, de ta grande disponibilité, et également de tes précieux conseils qui m'ont permis d'acquérir les compétences nécessaires afin d'accomplir ce travail de thèse. Je suis fier d'apprendre et de travailler à tes côtés.

Madame le Docteur Valérie GRAS-CHAMPEL, ma co-directrice de thèse,

Je te remercie sincèrement d'avoir participé à l'encadrement de ce travail et de ta disponibilité.

C'est un plaisir de travailler à tes côtés depuis maintenant cinq années. Un grand merci pour tout ce que tu m'as appris, notamment en pharmacologie et en pharmacovigilance, et également pour ton soutien depuis le début.

Madame le Professeur Martine COHEN-SOLAL,

Je vous remercie de me faire l'honneur de participer à mon jury de thèse en qualité de rapporteur.

Votre expertise dans le domaine du métabolisme osseux sera très enrichissante.

Madame le Professeur Marie-Hélène LAFAGE-PROUST,

Je vous remercie d'avoir accepté de participer à mon jury de thèse en tant que rapporteur. Bénéficiaire de votre expertise et de vos connaissances est un honneur.

Monsieur le Docteur Cédric VILLAIN,

Vous me faites l'honneur d'avoir accepté de participer à mon jury de thèse en qualité d'examineur. Je suis sensible à l'intérêt que vous porterez à ce travail et je vous en remercie.

Au service de pharmacologie

Au Docteur Kamel MASMOUDI, chef de service et directeur du CRPV,

Je vous remercie de m'avoir permis d'intégrer le service de pharmacologie, de la confiance que vous m'avez accordée, de m'avoir guidé et conseillé, et de tout ce que vous m'avez appris. Vous êtes le chef dont j'avais besoin.

Au Professeur Youssef BENNIS,

Je suis ravi de pouvoir enfin t'appeler Professeur. Tes compétences professionnelles, ta bienveillance, ta patience et ton humilité sont exemplaires. Merci pour tes conseils et ton soutien tout au long de ces années. Je suis fier de travailler à tes côtés et pour un bon moment je l'espère.

Au Docteur Sandra BODEAU,

Un grand merci pour tes compétences et ton aide précieuse qui m'ont permis de réaliser et d'interpréter le dosage des toxines urémiques. Je te remercie également pour ton sens critique scientifique très aiguisé.

Au Docteur Camille ANDRE,

Merci de m'avoir initié au dosage des toxines urémiques. Les quelques soirées passées ensemble au laboratoire dans la bonne humeur resteront inoubliables.

Au Docteur Solène LAVILLE,

Merci pour l'aide que tu m'as apporté dès mon Master 2, et également pour une partie de ce travail. C'est un plaisir de travailler avec toi.

Aux autres membres du service,

Merci à tous pour votre soutien depuis ces années. Travailler avec des collègues de qualité est inestimable.

Au Professeur Said KAMEL, directeur du laboratoire MP3CV,

Je vous remercie sincèrement de votre accueil au sein du laboratoire ainsi que de mon intégration et mon implication qui seront, sans aucun doute, grandissantes. Un grand merci également à l'intérêt que vous portez à la pharmacologie.

A ma famille et amis,

A mes parents et mes frères,

Merci de votre intérêt et de votre soutien que vous portez à ma vie professionnelle (et également personnelle) depuis toutes ces années que je n'ose même plus compter.

A Clémence,

De co-interne à herbe folle, d'herbe folle à amie et collègue. Tout d'abord merci pour ta contribution à ce travail, à la relecture des scanners et du manuscrit. Travailler avec toi était inespéré, tu es une brillante rhumatologue avec un sens clinique très aiguisé. Merci pour ta bonne humeur constante même dans les moments difficiles. Merci d'être à l'écoute et de bons conseils.

A Alice,

De co-interne à chef de clinique, de chef de clinique à amie et collègue, et aussi cheffe ! Un grand merci également pour ton aide dans ce travail, pour la relecture des scanners et du manuscrit, mais également pour avoir contribué au développement de ma rigueur de rhumatologue en partageant, toujours actuellement, ton expérience clinique.

A Amayelle,

Il y a des rencontres qui ne s'expliquent pas, la tienne en fait partie. Merci pour ta bonne humeur « d'amuseur » qui est très communicative. Merci pour l'aide que tu m'as apporté dans ce travail qui m'a parfois épargné des heures d'errance dans le codage de données.

A Alban,

Merci pour ton aide précieuse en fin de course, j'espère que travailler avec moi ne n'aura pas trop traumatisé, en tout cas moins que la découverte du Crossfit et certaines soirées ;-)

A Hélène,

Tant de qualités humaines, physiques et intellectuelles réunies en une seule personne. Un grand merci pour la relecture du manuscrit et pour la gestion de mes troubles hypochondriaques, tu peux me palper l'abdomen à nouveau quand tu veux.

A Amandine,

Il y a des sentiments qu'on ne peut qualifier. Merci d'avoir largement contribué à l'accomplissement de ce travail, et ce depuis le début, en renforçant mon corps et mon esprit.

Résumé

Les fractures par fragilité osseuse sont fréquentes après transplantation rénale et sont responsables d'une mortalité et d'une morbidité élevées. Elles sont en partie la conséquence de l'ostéodystrophie rénale préexistante à la transplantation dont certaines toxines urémiques (TU) liées aux protéines plasmatiques, difficilement épurées par dialyse, contribuent à sa physiopathologie. Par ailleurs, d'autres facteurs de risque de fracture après transplantation ont été identifiés, tels que l'âge, le sexe féminin, l'exposition aux corticoïdes ou encore une carence en vitamine D. L'identification de nouveaux facteurs de risque de fragilité osseuse est nécessaire à la prévention de ces fractures. Nous avons ainsi constitué une cohorte rétrospective de patients transplantés rénaux afin d'identifier des facteurs de risque de déminéralisation osseuse et/ou de fracture, à savoir les TU liées aux protéines plasmatiques et certains médicaments. Les concentrations en TU liées aux protéines plasmatiques au moment de la transplantation (reflétant leur accumulation en période de dialyse) n'étaient pas prédictives d'une baisse de densité minérale osseuse (DMO) et n'étaient pas associées aux fractures incidentes dans les 2 ans suivant la transplantation rénale. En ce qui concerne les médicaments, l'arrêt précoce de la corticothérapie après transplantation rénale, comparativement à la corticothérapie prolongée, était associé à une augmentation plus importante de la DMO au rachis lombaire (0,036 g/cm², p<0,001), correspondant à un gain de T-score de 0,299 (p<0,001) et au col fémoral (0,020 g/cm², p=0,035), correspondant à un gain de T-score de 0,121 (p=0,013). L'exposition aux diurétiques de l'anse (Hazard Ratio (HR) [intervalle de confiance à 95 %] : 2,11 [1,17-3,79]) et aux opioïdes (HR : 5,94 [2,14-16,52]) était associée aux fractures incidentes. L'exposition aux diurétiques de l'anse était associée à une diminution du T-score au rachis lombaire (p=0,022) et au poignet (p=0,028). Ce travail apporte une meilleure connaissance sur les facteurs de risque de fragilité osseuse après transplantation rénale, notamment en lien avec l'exposition médicamenteuse, et ouvre la voie à de futures recherches sur des cohortes plus importantes afin d'identifier d'autres facteurs de risque et des facteurs prédictifs de fracture.

Mots-clés : transplantation rénale, ostéoporose, fracture, médicaments, toxines urémiques, pharmacoépidémiologie.

Table des matières

Remerciements	3
Résumé.....	9
Table des matières	10
Liste des abréviations.....	14
Liste des tableaux.....	16
Liste des figures.....	17
Chapitre I : Introduction.....	19
Introduction générale.....	20
I. Physiologie du tissu osseux	23
A. Types cellulaires et éléments constitutifs du tissu osseux.....	23
1. Cellules du tissu osseux	23
a. Lignée ostéoblastique.....	23
b. Ostéoclastes	24
2. Matrice extra-cellulaire	25
a. Matrice organique.....	25
b. Phase minérale	25
B. Le remodelage osseux.....	25
C. Les principales voies de signalisation du remodelage osseux.....	27
1. Principales voies locales de signalisation du remodelage osseux.....	27
a. Voie RANK/RANKL/OPG.....	27
b. Voie Wnt/ β -caténine.....	27
2. Principales voies systémiques de signalisation du remodelage osseux.....	28
II. Ostéoporose	30
A. Définitions	30
1. Définition consensuelle	30
2. Définition histologique	30
3. Définition densitométrique	31
4. Définition thérapeutique.....	32
B. L'ostéoporose : un enjeu de santé publique.....	33
C. Facteurs de risques d'ostéoporose en population générale.....	34
1. Facteurs de risque non modifiables	34
a. Age.....	34

b.	Sexe féminin	34
c.	Origine ethnique.....	34
d.	Antécédents de fracture.....	35
e.	Principales pathologies inductrices d'ostéoporose.....	35
i.	Pathologies endocriniennes	35
ii.	Rhumatismes inflammatoires chroniques.....	36
iii.	Maladies digestives	36
2.	Facteurs de risque modifiables	37
a.	Déficit en vitamine D	37
b.	Régime alimentaire et troubles du comportement alimentaire	37
c.	Faible indice de masse corporelle	37
d.	Sédentarité	38
e.	Intoxication alcool-tabagique.....	38
f.	Médicaments inducteurs d'ostéoporose et/ou de fractures	38
III.	Maladie rénale chronique	42
A.	Généralités	42
B.	Syndrome urémique.....	42
C.	Troubles minéraux et osseux de la maladie rénale chronique	43
1.	Ostéite fibreuse	45
2.	Ostéopathie adynamique	47
3.	Ostéomalacie et ostéopathie mixte	50
4.	Diminution de la masse osseuse	51
5.	Impact de l'ostéodystrophie rénale sur la morbidité.....	52
IV.	Transplantation rénale	52
A.	Généralités	52
1.	Eligibilité à la transplantation rénale.....	52
2.	Protocoles d'immunosuppression.....	53
3.	Principales complications après transplantation rénale	54
B.	Evolution des TMO-MRC après transplantation	55
1.	Evolution des paramètres phosphocalciques.....	56
a.	Calcium et phosphate.....	56
b.	Vitamine D.....	56
c.	FGF23.....	57
d.	PTH	57
2.	Evolution de l'ostéodystrophie rénale	57
a.	Evolution de la densité minérale osseuse et du risque de fracture	57

b.	Evolution des anomalies de remodelage osseux	59
V.	Objectifs des travaux de thèse	61
VI.	Méthodes	62
Chapitre II : Premier axe de recherche. Effets des concentrations en toxines urémiques liées aux protéines plasmatiques en période pré-transplantatoire sur la densité minérale osseuse après transplantation rénale.....		
		67
I.	Introduction.....	68
II.	Objectifs.....	68
III.	Résumé de l'article	68
IV.	Article publié en 2020 dans <i>Toxins</i> , doi : 10.3390/toxins12110715	70
Chapitre III : Deuxième axe de recherche. Effets osseux de l'arrêt précoce des corticostéroïdes après transplantation rénale.....		
		109
I.	Introduction.....	110
II.	Objectifs.....	110
III.	Résumé de l'article	111
IV.	Article publié en 2020 dans <i>Therapeutic Advances in Musculoskeletal Disease</i> , doi : 10.1177/1759720X20953357.....	112
Chapitre IV : Troisième axe de recherche. Effets osseux après transplantation rénale des médicaments (autres que les corticostéroïdes) inducteurs d'ostéoporose et/ou de fractures ostéoporotiques en population générale et fréquemment prescrits après transplantation rénale.....		
		145
I.	Introduction.....	146
II.	Objectifs.....	148
III.	Résumé de l'article	148
IV.	Article en cours de reviewing dans la revue <i>Clinical Kidney Journal</i>	149
Chapitre V : Discussion		
		189
I.	Résultats des travaux de thèse et données de la littérature	190
A.	Effet des toxines urémiques.....	190
B.	Effet des corticostéroïdes.....	191
C.	Effet des médicaments autres que les corticostéroïdes	193
II.	Prescription médicamenteuse après transplantation rénale.....	193
III.	Pharmacoépidémiologie.....	196
IV.	Traitements anti-ostéoporotiques après transplantation rénale	200
V.	Limites et forces des travaux de thèse	204

A.	Premier axe de recherche	204
B.	Deuxième axe de recherche	205
C.	Troisième axe de recherche	206
VI.	Perspectives.....	207
A.	Rôle des toxines urémiques liées aux protéines plasmatiques dans les TMO-MRC.....	207
B.	Médicaments inducteurs d'ostéoporose	207
C.	Evaluation des traitements anti-ostéoporotiques dans le cadre des TMO-MRC.....	208
D.	Evaluation de l'ostéoporose induite par les corticostéroïdes dans d'autres populations..	208
VII.	Conclusion	210
	Références.....	211
	Annexe 1 : Associations between osteoporosis and drug exposure: A post-marketing study of the World Health Organization pharmacovigilance database (VigiBase®)	233

Liste des abréviations

AH	Acide Hippurique
AOD	Anticoagulant Oral Direct
ATC	Anatomique Thérapeutique Chimique
ATG	<i>Anti-Thymocyte Globulin</i>
AVK	Anti-Vitamine K
BMP	<i>Bone Morphogenetic Protein</i>
BMU	<i>Basic Multicellular Unit</i>
CasR	Récepteur Sensible au Calcium
CHU	Centre Hospitalier Universitaire
CMPF	3-Carboxy-4-Methyl-5-Propyl-2-Furanpropionate
DFG	Débit de Filtration Glomérulaire
DKK1	Dickkopf1
DMO	Densité Minérale Osseuse
DMP	<i>Dentin Matrix Acidic Phosphoprotein</i>
DOPPS	<i>Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study</i>
DSA	<i>Donor Specific Antibody</i>
DXA	Absorptiométrie biphotonique aux rayons X
EIM	Effet Indésirable Médicamenteux
FESF	Fracture de l'Extrémité Supérieure du Fémur
FGF23	<i>Fibroblast Growth Factor 23</i>
FRAX	<i>Fracture Risk Assessment Tool</i>
G-CFU	<i>Granulocyte-Colony Forming Unit</i>
GM-CFU	<i>Granulocyte Monocyte-Colony Forming Unit</i>
GnRH	<i>Gonadotropin-Releasing Hormone</i>
GRIO	Groupe de Recherche et d'Information sur les Ostéoporoses
HLA	<i>Human Leucocyte Antigen</i>
HR	<i>Hazard Ratio</i>
HR-pQCT	<i>High Resolution Peripheral Computed Tomography</i>
IAA	Acide Indole Acétique
IC	Intervalle de Confiance
IL	Interleukine
IMC	Indice de Masse Corporelle
IPP	Inhibiteur de la Pompe à Protons
IPTW	<i>Inverse Probability-of-Treatment Weighting</i>
IRC	Insuffisance Rénale Chronique
IRTT	Insuffisance Rénale Terminale Traitée
ISRS	Inhibiteur Sélectif de la Recapture de la Sérotonine
IxS	Indoxylsulfate
JNK	Janus Kinases
KDIGO	<i>Kidney Disease: Improving Global Outcomes</i>
LH-RH	<i>Luteinizing Hormone-Releasing Hormone</i>
LRP	<i>Low density lipoprotein receptor-related protein</i>
MAPK	<i>Mitogen-activated protein kinases</i>

M-CFU	<i>Monocyte-Colony Forming Unit</i>
M-CSF	<i>Macrophage-Colony Stimulating Factor</i>
MMF	Mycophénolate Mofétil
MMP	Métalloprotéinase Matricielle
MRC	Maladie Rénale Chronique
OA	Ostéopathie Adynamique
OAT	<i>Organic Anion Transporter</i>
OCN	Ostéocalcine
ODR	Ostéodystrophie Rénale
OF	Ostéite Fibreuse
OM	Ostéomalacie
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
OPG	Ostéoprotégérine
OPN	Ostéopontine
OSN	Ostéonectine
PAO	Phosphatase Alcaline Osseuse
pCG	para-Cresyl Glucuronide
pCS	para-Cresyl Sulfate
P-gp	P-glycoprotéine
PRA	<i>Panel Reactive Antibody</i>
PTH	Parathormone
PTH1R	Récepteur à la Parathormone
RANK	<i>Receptor Activator of Nuclear Factor-kappa B</i>
RANKL	<i>Receptor Activator of Nuclear Factor-kappa B Ligand</i>
ROR	<i>Reporting Odds Ratio</i>
RR	Risque Relatif
sFRP4	<i>secreted Frizzled Related Protein 4</i>
SNDS	Système National des Données de Santé
SOST	Sclérostine
SP	Score de Propension
TGF	<i>Transforming Growth Factor</i>
TMAO	Triméthyl-Amine-N-Oxyde
TNF	<i>Tumor Necrosis Factor</i>
TRAP	Phosphatase Alcaline Résistante au Tartrate
TU	Toxine Urémique
USRDS	<i>United States Renal Data System</i>
VDR	Vitamin D Receptor

Liste des tableaux

Tableau 1 : Médicaments inducteurs d'ostéoporose	40
Tableau 2 : Cadre nosologique des lésions osseuses de l'ostéodystrophie rénale	44
Tableau 3 : Données recueillies dans le cadre du protocole DeMOsTraR	65

Liste des figures

Figure 1 : Phases du remodelage osseux	26
Figure 2 : Principales voies locales du remodelage osseux.....	28
Figure 3 : Indications thérapeutiques dans l'ostéoporose post-ménopausique et masculine.....	32
Figure 4 : Interprétation des résultats de la DXA chez l'insuffisant rénal.....	44
Figure 5 : Physiopathologie de l'ostéite fibreuse au cours de la maladie rénale chronique (hypothèse initiale).....	46
Figure 6 : Physiopathologie de l'ostéite fibreuse au cours de la maladie rénale chronique (hypothèse alternative)	47
Figure 7 : Physiopathologie de l'ostéopathie adynamique.....	50

Chapitre I

Introduction

Introduction générale

La maladie rénale chronique (MRC) est caractérisée par l'accumulation au niveau plasmatique et tissulaire de molécules délétères pour les fonctions biologiques, appelées toxines urémiques (TU). Ces molécules sont classées en fonction de leur poids moléculaire et de leur liaison aux protéines plasmatiques [1–3]. La transplantation rénale est le traitement de choix de l'insuffisance rénale chronique (IRC) terminale en comparaison à la dialyse, réduisant la mortalité, la morbidité et les coûts de prise en charge [4,5]. Elle permet notamment l'amélioration du métabolisme phosphocalcique impliquant des TU non liées aux protéines plasmatiques telles que le phosphate [6] et dont les perturbations liées à la MRC (appelées « troubles minéraux et osseux de la maladie rénale chronique » (TMO-MRC)) induisent de profondes modifications du remodelage osseux et de la minéralisation osseuse (regroupées sous le terme d'ostéodystrophie rénale (ODR)), et également des calcifications vasculaires [7]. La transplantation rénale permet également de normaliser les concentrations en TU liées aux protéines plasmatiques, responsables d'une toxicité osseuse [8,9]. Ainsi, en comparaison à la population générale, les patients atteints de MRC présentent une fragilité osseuse excessive à l'origine d'un risque élevé de fractures et par conséquent d'une surmortalité [10].

Quand bien même le risque global de fractures diminue (en lien avec une fragilité osseuse moindre) après transplantation rénale (en comparaison à la dialyse), il reste supérieur à celui de la population générale, en particulier dans les premiers mois suivant la transplantation [11,12]. Plusieurs facteurs de risque de fragilité osseuse et donc de fractures ont été avancés tels que l'âge, le sexe féminin, un faible indice de masse corporelle (IMC), la durée de la dialyse avant la transplantation ou encore une carence en vitamine D [13,14]. De plus, les corticostéroïdes, connus pour leurs effets toxiques sur l'os et longtemps utilisés au long cours comme traitement immunosuppresseur, ont été mis en cause dans la survenue de fractures après transplantation rénale [15].

Par ailleurs, les corticostéroïdes, ainsi que d'autres traitements immunosuppresseurs, sont susceptibles d'induire d'autres complications, notamment cardiovasculaires en lien avec le développement d'un diabète, d'une hypertension artérielle, d'une hypercholestérolémie, d'une hypertriglycéridémie et/ou d'une prise de poids [16]. Afin de limiter ces complications métaboliques, et grâce au développement de nouveaux immunosuppresseurs, les protocoles d'immunosuppression après transplantation rénale ont évolué, notamment au cours de la dernière décennie, en faveur d'une réduction de dose voire d'un arrêt complet des corticostéroïdes [17].

Compte-tenu des complications après transplantation rénale (en lien ou non avec les traitements immunosuppresseurs), les patients transplantés ont en plus de ces derniers une

importante consommation de médicaments [18]. Parmi les médicaments fréquemment utilisés chez ces patients, certains sont connus comme étant pourvoyeurs de fractures (généralement en lien avec une toxicité osseuse) en population générale.

Pour explorer les différents axes de recherche et objectifs de cette thèse, une cohorte rétrospective de patients ayant eu une transplantation rénale au Centre Hospitalier Universitaire (CHU) Amiens-Picardie et suivis au sein du service de néphrologie a été constituée sur la base des dossiers médicaux informatisés.

Le premier axe porte sur l'étude de **l'influence des concentrations élevées en TU liées aux protéines plasmatiques au moment de la transplantation rénale** (reflétant leur accumulation au cours de l'IRC terminale) **sur les variations de la densité minérale osseuse (DMO)** au cours des deux années suivant la transplantation **et sur la survenue de fractures**. Le choix d'un recul de deux ans a été motivé par le fait que la diminution de la DMO et ainsi le risque de fractures est maximal dans l'année suivant la transplantation d'une part, et que les concentrations en TU liées aux protéines plasmatiques chutent rapidement après la transplantation d'autre part.

Le deuxième axe porte sur l'étude de **l'influence de l'arrêt précoce des corticostéroïdes (comparativement à la corticothérapie prolongée) sur les variations de la DMO et les fractures incidentes** dans l'année suivant la transplantation rénale. Le choix d'une année de recul a été motivé par le fait que la diminution de la DMO est maximale dans l'année suivant la transplantation et que les effets nocifs de la corticothérapie sur l'os sont rapidement observés.

Le troisième axe porte sur **l'association entre l'utilisation de médicaments (autres que les corticostéroïdes) et les fractures incidentes et les variations des T-scores après transplantation rénale**. Une étude préalable à cet objectif a été réalisée afin de sélectionner les médicaments d'intérêt. Cette étude préliminaire avait deux objectifs, le premier était de faire un état des lieux des médicaments pourvoyeurs d'ostéoporose déjà connus en population générale, et le deuxième était de détecter de nouveaux médicaments potentiellement inducteurs d'ostéoporose *via* la détection de signaux de pharmacovigilance. Une étude de disproportionnalité de type « cas/non cas » a ainsi été réalisée à partir de la base mondiale de pharmacovigilance (VigiBase®). Suite à cette étude, les médicaments d'intérêt sélectionnés pour explorer ce troisième axe de recherche chez les patients transplantés rénaux étaient, en plus des corticostéroïdes, les anti-vitamines K (AVK), les diurétiques de

l'anse, l'insuline, les inhibiteurs de la pompe à protons (IPP), les opioïdes, les inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine (ISRS), les antiépileptiques inducteurs enzymatiques et les benzodiazépines.

Dans le cadre de ce manuscrit, la physiologie du remodelage osseux, l'ostéoporose de façon générale puis les troubles du remodelage osseux et/ou de minéralisation dans le contexte de la MRC et de la transplantation rénale seront développés dans un premier temps. Puis seront présentés les 3 axes de ce travail de thèse, une discussion sur l'apport de ces travaux et leurs perspectives.

I. Physiologie du tissu osseux

L'os est un tissu complexe, métaboliquement actif, qui confère au squelette, dureté et résistance. Il présente quatre rôles majeurs : (i) mécanique, en soutenant l'organisme et en permettant la locomotion, (ii) protecteur vis-à-vis des organes vitaux (cerveau, cœur, poumons, etc.) et de la moelle hématopoïétique, (iii) métabolique, en tant que réservoir d'ions minéraux de l'organisme (99% du calcium, 88% du phosphore, 80% des carbonates et 50% du magnésium) et (iv) endocrinien *via* la production notamment d'ostéocalcine (OCN) et de *Fibroblast Growth Factor 23* (FGF23) [19].

A. Types cellulaires et éléments constitutifs du tissu osseux

L'os correspond à une association fonctionnelle de différents tissus : (i) le tissu osseux (25%) : os cortical et os trabéculaire, (ii) la moelle osseuse (60%), (iii) les espaces conjonctivo-vasculaires (5%) et (iv) le périoste, l'endoste et le cartilage articulaire (10%).

L'os cortical constitue la paroi externe compacte de chaque os ainsi que la diaphyse des os longs; il représente 80 % du tissu osseux du squelette. Les 20 % restants sont constitués d'os trabéculaire, qui compose l'extrémité des os longs et des os plats, et d'un réseau tridimensionnel de travées interconnectées entourées de moelle osseuse. L'os est un tissu conjonctif hautement spécialisé comprenant une substance organique minéralisée, une matrice extracellulaire avec des fibres de collagène et des protéines non collagéniques, des cristaux d'hydroxyapatite et des cellules osseuses [20].

1. Cellules du tissu osseux

a. Lignée ostéoblastique

Les cellules progénitrices de la lignée mésenchymateuse se différencient en différentes lignées : cellules cartilagineuses, cellules musculaires et lignée ostéoblastique. Cette dernière comporte 3 types cellulaires plus ou moins différenciés (dans l'ordre de différenciation) : cellules bordantes, ostéoblastes et ostéocytes [19].

Les cellules bordantes, peu actives, forment une monocouche à la surface du tissu osseux minéralisé qui n'est soumis ni à la formation, ni à la résorption. Ces cellules peuvent être différenciées en ostéoblastes par différentes voies de signalisation : contraintes mécaniques, hormones, cytokines, facteurs de croissance et de différenciation [19].

Les ostéoblastes forment également une monocouche aux endroits où se fait l'apposition osseuse. Ils ne sont jamais inclus dans le tissu osseux. Ils permettent la formation osseuse en synthétisant les différents composants organiques de la matrice extracellulaire – nommée ostéoïde – ainsi que la phosphatase alcaline osseuse (PAO) permettant la minéralisation de cette matrice. Ils expriment à leur surface de nombreux récepteurs jouant un rôle dans la régulation du remodelage osseux : (i) récepteurs hormonaux tels que ceux aux œstrogènes, à la parathormone (PTH1R), à la 1,25(OH)₂ vitamine D (calcitriol), (ii) récepteurs cytokiniques à certaines interleukines (IL) et prostaglandines et (iii) facteurs de croissance et de différenciation tels que le *Transforming Growth Factor* (TGF)- β , les *Bone Morphogenetic Proteins* (BMP). Ils produisent le *Macrophage-Colony Stimulating Factor* (M-CSF) permettant la différenciation des ostéoclastes, et synthétisent le *Receptor Activator of Nuclear Factor-kappa B Ligand* (RANKL) ainsi que l'ostéoprotégérine (OPG). L'équilibre RANKL/OPG détermine l'équilibre entre résorption et formation osseuse. Les ostéoblastes peuvent prendre 3 voies différentes : (i) différenciation en ostéocytes, (ii) mise au repos sous la forme de cellules bordantes ou (iii) mort cellulaire par apoptose [19].

Les ostéocytes constituent donc la différenciation terminale de la lignée ostéoblastique. Ils sont situés dans des logettes de la matrice osseuse minéralisée ; on parle alors d'ostéoplastes. Les ostéoplastes sont reliés entre eux par des canalicules. Ils permettent le maintien de la matrice osseuse, régulent le remodelage osseux *via* des mécanorécepteurs (perception des variations de contraintes mécaniques transmises aux autres ostéocytes et aux ostéoblastes (jonctions communicantes)), régularisent les échanges ioniques et maintiennent l'équilibre phosphocalcique. Les ostéocytes ne se divisent pas et peuvent persister plusieurs dizaines d'années [19].

b. Ostéoclastes

Les cellules souches hématopoïétiques *Granulocyte Monocyte-Colony Forming Unit* (GM-CFU) peuvent se différencier (i) en *Granulocyte-Colony Forming Unit* (G-CFU) à l'origine de la lignée granulocytaire sous l'effet du G-CSF et (ii) en *Monocyte-Colony Forming Unit* (M-CFU) à l'origine de la lignée monocyttaire sous l'effet du M-CSF produit notamment par les ostéoblastes. Le M-CSF permet également la différenciation des monocytes en préostéoclastes qui se différencient sous l'effet du

RANKL en ostéoclastes. Ces derniers comportent au sein de leur cytoplasme des vésicules lysosomales contenant des enzymes protéolytiques (dont la métalloprotéinase matricielle 9 (MMP9)), des collagénases, des phosphatases dont la phosphatase alcaline résistante au tartrate (TRAP), conférant aux ostéoclastes leur fonction de résorption osseuse. La durée de vie d'un ostéoclaste est de 12 jours avant l'apoptose [19].

2. Matrice extra-cellulaire

a. Matrice organique

La matrice organique, ou ostéoïde, est composée à 90% de fibres dont 80% de collagène de type I dont les faisceaux d'orientation et de disposition sont modelés par les lignes de force exercées sur l'os. Les 10% restant représentent la substance fondamentale ayant une faible teneur en eau (50%), et composée de protéoglycanes et de nombreuses protéines dont l'ostéonectine (OSN) et l'OCN intervenant dans la minéralisation, l'ostéopontine (OPN) reliant les ostéoclastes à la matrice osseuse, des enzymes, des facteurs de croissance (TGF- β , BMP) et des molécules de signalisation [19].

b. Phase minérale

La phase minéralisée de l'ostéoïde est composée principalement de cristaux d'hydroxyapatite correspondant à du phosphate de calcium cristallisé ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) et représentant 70% du poids sec de la matrice minéralisée. Les fibres de collagènes participent à l'orientation des cristaux. Les ions calcium et phosphore sont localisés en surface, permettant ainsi des échanges ioniques rapides [19].

B. Le remodelage osseux

L'os se renouvelle en permanence selon un cycle associant formation et résorption. Ce phénomène est appelé « remodelage osseux » et s'effectue à la fois au niveau de l'os spongieux (renouvellement d'environ 25% par an) et au niveau de l'os cortical (renouvellement de l'ordre de 3 à 4% par an). Le remodelage est assuré par les unités de remodelage (ou BMU, *basic multicellular unit*), conduisant à la formation d'ostéons, où les ostéoclastes résorbent la matrice minéralisée et où les

ostéoblastes synthétisent au sein des lacunes la matrice osseuse ostéoïde ultérieurement minéralisée [19] (Figure 1).

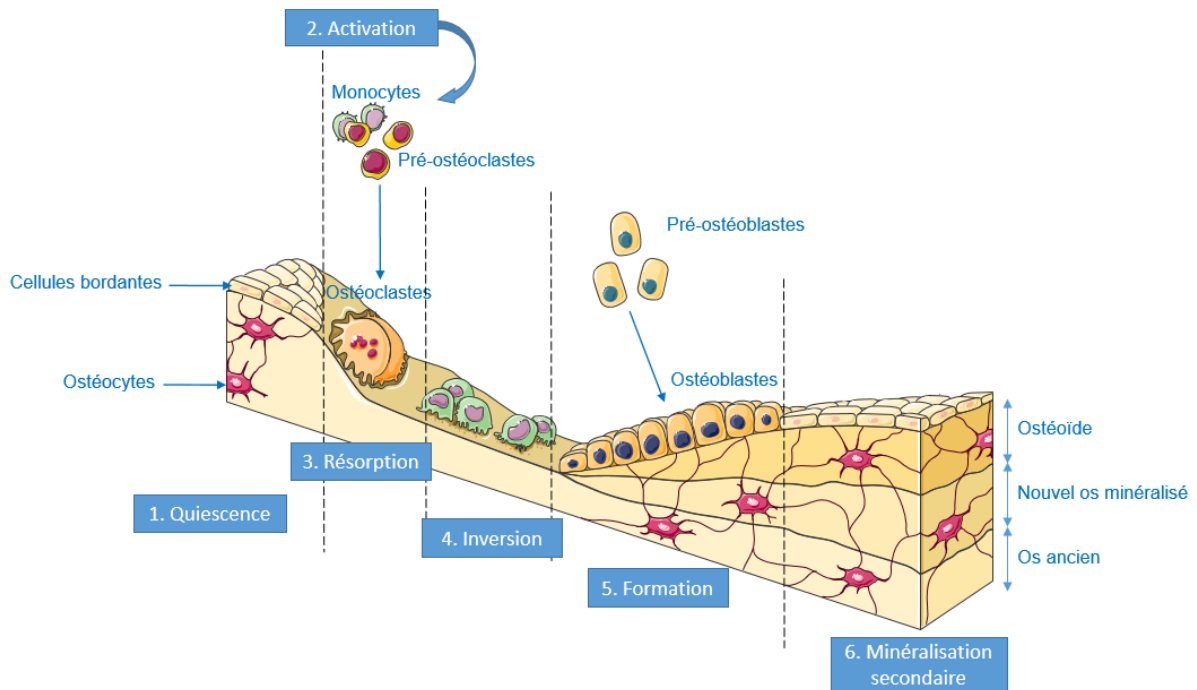


Figure 1 : Phases du remodelage osseux

1. Surface osseuse inactive recouverte de cellules bordantes.
2. Phase d'activation durant laquelle les précurseurs des ostéoclastes sont recrutés.
3. Phase de résorption durant laquelle les ostéoclastes résorbent l'os ancien pour former une lacune.
4. Phase d'inversion durant laquelle les ostéoclastes sont remplacés par des cellules mononucléées qui lissent le fond de la lacune.
5. Phase de formation durant laquelle les ostéoblastes forment une nouvelle matrice osseuse où l'ostéoïde est minéralisé (minéralisation primaire).
6. Phase de minéralisation secondaire durant laquelle les ostéoblastes forment les cellules bordantes et durant laquelle a lieu la minéralisation secondaire.

C. Les principales voies de signalisation du remodelage osseux

1. Principales voies locales de signalisation du remodelage osseux

a. Voie RANK/RANKL/OPG

L'activation des ostéoclastes se produit après la liaison du RANKL (produit par les ostéoblastes, les ostéocytes et les lymphocytes T) à son récepteur RANK, présent dans la membrane des précurseurs de l'ostéoclaste. RANK est un récepteur de la membrane plasmique, caractéristique des ostéoclastes dont l'activation augmente l'activité des ostéoclastes et induit la différenciation des précurseurs ostéoclastiques. Une fois les ostéoclastes activés, la dissolution des cristaux d'hydroxyapatite se produit à la surface osseuse au contact de leur bordure en brosse. Après la dissolution de cette phase minérale, l'ostéoclaste libère de la cathepsine, MMP-9 et TRAP qui dégradent la matrice organique [19].

Les ostéoblastes produisent également l'OPG, qui diminue l'ostéoclastogénèse et induit l'apoptose des ostéoclastes. Les ostéoblastes sécrètent du collagène de type 1 ainsi que l'OCN, l'OSP, l'OSN, la sialoprotéine osseuse et les BMP permettant la minéralisation osseuse.

Les ostéocytes situés dans des lacunes entourées de matrice osseuse minéralisée communiquent entre eux, et également avec les ostéoblastes et les cellules bordantes, *via* leurs jonctions. Le RANKL sécrété par les ostéoblastes et les ostéocytes stimule l'ostéoclastogénèse, tandis que la prostaglandine E2, le monoxyde d'azote et l'*Insulin Growth Factor* stimulent l'activité des ostéoblastes. À l'inverse, les ostéoblastes et les ostéocytes produisent également de l'OPG qui inhibe l'ostéoclastogénèse et l'activité des ostéoclastes [19] (**Figure 2**).

b. Voie Wnt/ β -caténine

De plus, les ostéocytes sont impliqués dans la voie de signalisation Wnt/ β -caténine. Cette voie implique des ligands de Wnt et un complexe de récepteurs transmembranaires (récepteur *secreted Frizzled related protein 4* (sFRP4)) et ses corécepteurs LRP5/LRP6 (*Low density lipoprotein receptor-related protein*). L'activation de ce complexe de récepteurs par les ligands de Wnt empêche la phosphorylation de la β -caténine et sa dégradation protéosomale. Ainsi, la β -caténine s'accumule dans le cytoplasme des ostéocytes et se transloque dans le noyau où elle sert alors de coactivateur transcriptionnel des gènes cibles de Wnt (dont celui de l'OPG), favorisant la prolifération et la

différenciation des ostéoblastes. La sclérostine (SOST) et la protéine Dickkopf1 (DKK1), produites par les ostéocytes, sont des inhibiteurs de la voie Wnt et *in fine* de la prolifération et de la différenciation des ostéoblastes en engendrant une dégradation de la β -caténine [19] (**Figure 2**).

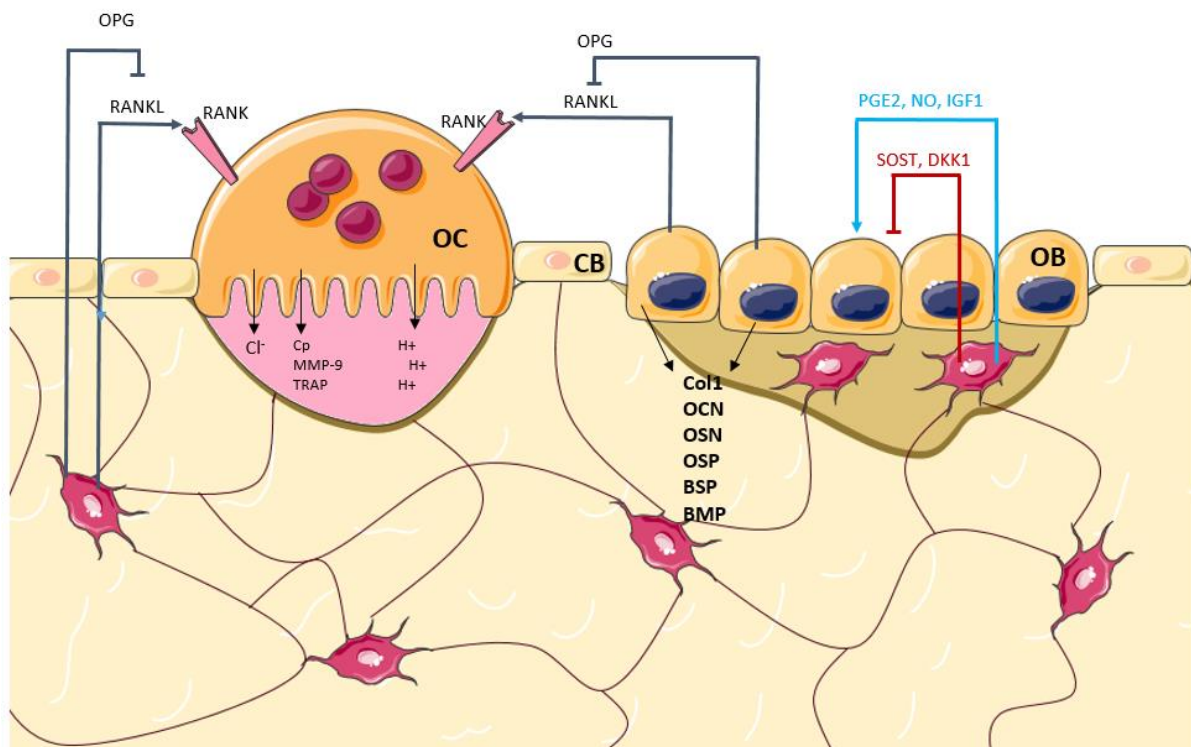


Figure 2 : Principales voies locales du remodelage osseux

→ stimule —| inhibe

BMP, bone morphogenetic protein ; *BSP*, bone sialoprotein ; *CB*, cellule bordante ; *Col1*, collagène de type 1 ; *DKK1*, Dickkopf1 ; *IGF1*, insulin growth factor ; *NO*, monoxyde d'azote ; *OB*, ostéoblaste ; *OC*, ostéoclaste ; *OCN*, ostéocalcine ; *OSN*, ostéonectine ; *OPG*, ostéoprotégérine ; *PGE2*, prostaglandine E2 ; *RANKL*, receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand ; *SOST*, sclérostine.

2. Principales voies systémiques de signalisation du remodelage osseux

En dehors de ces facteurs locaux, d'autres facteurs systémiques sont importants pour le maintien de l'homéostasie osseuse et comprennent principalement la parathormone (PTH), la calcitonine, le calcitriol et les œstrogènes.

La PTH, sous la dépendance principalement de la calcémie et du calcitriol, augmente l'activité des ostéoclastes et est impliquée dans l'ostéoclastogénèse. Cependant, l'ostéoclaste n'est pas en une cellule cible directe de la PTH puisqu'il ne possède pas de récepteur pour cette hormone. La cellule cible est vraisemblablement l'ostéoblaste qui exprime un récepteur membranaire pour la PTH. En situation aiguë, la PTH induit une diminution de la synthèse de l'ARNm du collagène et inhibe la maturation ostéoblastique. Le mécanisme par lequel la PTH stimule l'activité ostéoclastique *via* les ostéoblastes implique la voie RANK/RANKL/OPG : elle entraîne une augmentation de la production de RANKL et une diminution de la production d'OPG. La PTH provoque également la sécrétion d'autres cytokines, favorisant la résorption osseuse telles que le M-CSF, l'IL-1, l'IL-6 et le *Tumor Necrosis Factor* (TNF)- α [19].

Le calcitriol, forme active de la 1,25 (OH)₂ vitamine D, est une hormone hypercalcémiant et hyperphosphatémiant. Elle inhibe la synthèse de la PTH *via* son récepteur VDR (*Vitamin D receptor*), favorise l'absorption intestinale de calcium, augmente la réabsorption rénale de calcium et stimule la différenciation ostéoblastique [19].

La calcitonine est une hormone hypocalcémiant et hypophosphatémiant. Elle est produite par les cellules C de la thyroïde en réponse à une augmentation du taux de calcium sérique, permettant d'inhiber la résorption ostéoclastique, de diminuer la réabsorption tubulaire du calcium et du phosphate, et ainsi de réduire le taux de calcium circulant [19].

Les œstrogènes jouent un rôle crucial dans l'homéostasie du tissu osseux. Néanmoins, les mécanismes par lesquels les œstrogènes agissent sur le tissu osseux ne sont pas complètement élucidés. Ils inhibent l'apoptose des ostéoblastes empêchant ainsi une résorption osseuse excessive, suppriment la formation et l'activité des ostéoclastes et induisent leur apoptose, possiblement en inhibant la synthèse de RANKL par les ostéoblastes et les ostéocytes. De plus, les œstrogènes stimulent la production d'OPG et la synthèse de cytokines impliquées dans l'ostéoclastogénèse telles que l'IL-1, l'IL-6, le TNF- α et le M-CSF [19].

Après avoir abordé la physiologie du tissu osseux, nous allons nous intéresser à une pathologie osseuse non tumorale responsable d'une fragilité osseuse excessive, l'ostéoporose.

II. Ostéoporose

A. Définitions

1. Définition consensuelle

Le *National Institutes of Health* a proposé en 2001 une définition consensuelle de l'ostéoporose : « l'ostéoporose est une maladie généralisée du squelette se traduisant par une diminution de la densité minérale osseuse et/ou une altération de la microarchitecture osseuse aboutissant à une fragilité osseuse et à une augmentation du risque de fractures » [21]. Cette définition a l'avantage de prendre en compte tous les aspects de l'ostéoporose, à la fois les anomalies quantitatives et qualitatives du tissu osseux et la notion de fracture, mais ne permet pas de définir de seuils diagnostiques ou thérapeutiques.

2. Définition histologique

L'histomorphométrie osseuse, *gold standard* du diagnostic d'ostéoporose, prend en considération la masse osseuse, la microarchitecture osseuse et le remodelage osseux. Cet examen histologique est effectué sur un fragment osseux non décalcifié à partir d'une ponction-biopsie osseuse transfixiante de la crête iliaque antéro-supérieure sous anesthésie locale. Les paramètres d'évaluation de la microarchitecture osseuse sont : rapport volume osseux/volume tissulaire, nombre de travées, épaisseur des travées, espacement inter-trabéculaire, la connectivité des travées, leurs nœuds, leurs terminaisons libres et l'épaisseur de la corticale [22] et ceux du remodelage osseux sont : volume, surface et épaisseur de l'ostéoïde, surface érodée, vitesse du front de minéralisation, surface de minéralisation et vitesse de formation osseuse [23]. Néanmoins, cet examen est peu accessible en pratique courante.

La microarchitecture osseuse peut être évaluée par microscanner (HR-pQCT, pour *High Resolution Peripheral Computed Tomography*) mais cette évaluation est peu réalisée en pratique quotidienne, elle est principalement réalisée dans le cadre de la recherche. Plusieurs paramètres peuvent être étudiés tels que le nombre de travées, l'épaisseur des travées, l'espacement inter-trabéculaire, la connectivité des travées, l'épaisseur de la corticale et la densité volumique [24].

3. Définition densitométrique

L'absorptiométrie biphotonique aux rayons X (DXA) est la technique de référence pour mesurer la DMO. Il s'agit d'une mesure surfacique de la DMO exprimée en g/cm^2 . Cette technique repose sur la mesure d'absorption I d'un faisceau de photons X en utilisant deux énergies incidentes (haute et basse) permettant d'obtenir deux équations à deux inconnues suivantes : $I = I_0 e^{-\mu_1 d_1 - \mu_2 d_2}$, où I_0 est l'énergie initiale émise (haute ou basse), μ_1 et μ_2 sont les constantes d'atténuation connues et exprimées à partir de références pour l'os (hydroxyapatite) et pour les tissus mous (composition moyenne standard de tissu maigre et de tissu gras) respectivement, et d_1 et d_2 sont les densités inconnues et calculées de l'os et des parties molles respectivement [25].

La mesure de la DMO peut être réalisée à différents sites : rachis lombaire (vertèbres L1 à L4), extrémité supérieure du fémur, hanche totale et radius distal, ce qui permet de distinguer le contenu minéral osseux de l'os cortical et de l'os trabéculaire. En effet, au niveau du col fémoral et de la hanche totale la composante corticale de l'os est plus importante, alors qu'au niveau vertébral et du radius distal la composante trabéculaire prédomine [26]. Des artéfacts tels que des corps étrangers (clips chirurgicaux, piercings, fermetures éclair etc.) ou des changements structuraux locaux (ostéophytes, syndesmophytes, fractures vertébrales, calcifications vasculaires etc.) peuvent aboutir à de mauvaises interprétations de mesures de la DMO, principalement à sa surestimation. Par ailleurs, le positionnement du patient, opérateur-dépendant, conditionne l'interprétation de l'examen. En revanche, l'un des avantages de cette technique est sa très bonne reproductibilité. Le coefficient de variation, qui est le rapport entre l'écart-type et la moyenne des mesures et qui est souvent utilisé comme indicateur de l'erreur de précision, est de l'ordre de 1 à 2% au rachis lombaire et de 2 à 3% au fémur [26]. De plus, il s'agit d'un examen non invasif, de courte durée et peu irradiant (de 1 à 4 μSv en fonction du type d'appareil et de la zone examinée) [27].

En pratique, la DMO est principalement interprétée au rachis lombaire, à la hanche et au col fémoral en population générale, et non pas au radius car ce site surestime l'ostéoporose ce qui peut aboutir à de faux positifs [26]. En revanche, la mesure de la DMO au radius distal est recommandée chez les patients atteints de MRC car la DMO à ce site (en plus des trois autres sites) semble être prédictive du risque de fracture dans cette population [28].

Compte tenu de la variation de la DMO avec l'âge et de la variabilité interindividuelle, la DMO est exprimée en écarts-types (T et Z-scores). Le T-score est le nombre d'écarts-types entre la valeur du sujet et la valeur moyenne des adultes jeunes (20 ans) de même sexe. Le Z-score est le nombre d'écarts-types entre la valeur du sujet et la valeur moyenne des adultes de même sexe et de même

âge. Un groupe de travail de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a proposé une définition de l'ostéoporose basée sur le T-score chez la femme ménopausée et chez l'homme de plus de 50 ans. Un T-score $\leq - 2,5$ au rachis lombaire ou à la hanche définit l'ostéoporose, un T-score entre $- 2,5$ et -1 définit l'ostéopénie et un T-score $> - 1$ définit une DMO normale. Chez les femmes non ménopausées et les hommes de moins de 50 ans, le Z-score doit être utilisé [29,30].

4. Définition thérapeutique

Même si la DMO, reflétant la quantité osseuse, est un déterminant majeur de la maladie ostéoporotique, sa mesure ne permet pas de déterminer la qualité osseuse reposant sur d'autres éléments tels que la microarchitecture osseuse, la qualité de la matrice extracellulaire osseuse ou encore le niveau de remodelage osseux. En effet, plusieurs études épidémiologiques font état de fractures ostéoporotiques chez des patients avec un T-score $> - 2,5$ [31,32].

Ainsi, les résultats de la DXA, seul examen réalisé en pratique courante concernant le diagnostic d'ostéoporose, ne permettent pas toujours d'établir à eux seuls de diagnostic de fragilité osseuse et donc de seuil thérapeutique.

En France, le groupe de recherche et d'information sur les ostéoporoses (GRIO) a émis des recommandations concernant la prise en charge et le traitement de l'ostéoporose en fonction du contexte clinique et en se basant sur les résultats de la DXA mais également sur la présence ou non de facteurs de risque d'ostéoporose. A titre d'exemple, concernant l'ostéoporose post-ménopausique (ostéoporose la plus courante) et l'ostéoporose masculine [33,34], la décision de traitement dépend de la survenue ou non de fractures sévères (correspondant aux fractures associées à une augmentation de la morbidité) ou non sévères et des résultats de la DXA (T-score, **Figure 3**).

En fonction de la diminution du T score (au site le plus bas)	Fractures sévères (fémur, vertèbres humérus, bassin, tibia proximal)	Fractures non sévères	Absence de fracture et facteurs de risque d'ostéoporose et/ou de chutes multiples)
T > -1	Avis du spécialiste	Pas de traitement	Pas de traitement
T \leq -1 et $>$ -2	Traitement	Avis du spécialiste	Pas de traitement
T \leq -2 et $>$ -3	Traitement	Traitement	Avis du spécialiste
T \leq -3	Traitement	Traitement	Traitement

Figure 3 : Indications thérapeutiques dans l'ostéoporose post-ménopausique et masculine d'après Briot *et al.* [33,34]

Lorsque la combinaison de ces deux éléments ne permet pas de trancher (« Avis du spécialiste »), le calcul d'un score FRAX® (*Fracture Risk Assessment Tool*) prédictif de survenue d'une fracture sévère à 10 ans est utilisé [35]. En plus des résultats de la DMO au col fémoral et d'un antécédent personnel de fracture, cet outil prend en considération d'autres facteurs de risque d'ostéoporose tels que l'âge, le sexe, l'IMC, un antécédent familial de fracture de l'extrémité supérieure du fémur (FESF) au premier degré, l'intoxication alcoolo-tabagique, un antécédent personnel de polyarthrite rhumatoïde et d'une ostéoporose secondaire (pathologies inductrices d'ostéoporose autres que la polyarthrite rhumatoïde).

B. L'ostéoporose : un enjeu de santé publique

Les fractures représentent la principale complication de l'ostéoporose, ce qui revêt un enjeu majeur de santé publique et un fardeau socio-économique. Les données épidémiologiques issues de plusieurs enquêtes françaises de la fin des années 1990 indiquent que l'incidence annuelle des FESF était de 170 pour 100 000 femmes (âgées de 20 ans et plus) et de 62 pour 100 000 hommes. En France, on estime qu'il y a chaque année près de 50 000 nouveaux cas de FESF. Environ 75% des FESF surviennent chez des femmes, et parmi elles, 87% ont plus de 70 ans [36]. Concernant les fractures vertébrales, Grados *et al.* ont estimé la prévalence de ce type de fracture à 22,8% chez les femmes de plus de 75 ans, soit 735 000 femmes atteintes d'une ou plusieurs fractures vertébrales [37]. En ce qui concerne les autres localisations de fractures ostéoporotiques, on estime que 35 000 cas de fractures du poignet surviendraient en France chaque année chez les femmes de plus de 50 ans [38,39]. Les fractures ostéoporotiques sont responsables d'une surmortalité, la plupart des décès surviennent dans l'année qui suit la fracture et particulièrement dans les 6 premiers mois [40]. En France, l'étude EPIDOS révèle un taux de mortalité de 112,4 pour 1000 femmes-année chez les celles ayant présenté une fracture de hanche, contre 27,3 pour 1000 femmes-année chez les femmes sans fracture [41]. Dans le monde, la mortalité des victimes de FESF dans l'année suivant la fracture est de 10 à 20% plus élevée que celle de sujets de même âge et de même sexe en population générale [42].

En France, en 2017, 380 000 nouvelles fractures ont été recensées, représentant un coût de 5,4 milliards d'euros. En tenant compte de la projection démographique, il est estimé que l'incidence des fractures augmentera de 24,4% d'ici 2030, ce qui augmentera les coûts pour atteindre 6,8 milliards d'euros [43].

C. Facteurs de risques d'ostéoporose en population générale

1. Facteurs de risque non modifiables

a. Age

L'ostéoporose liée à l'âge, dite primaire, est la cause la plus fréquente d'ostéoporose, en particulier chez la femme en période post-ménopausique [44]. Le déficit en œstrogène lié à la ménopause a pour conséquence une activation des lymphocytes T et une libération de cytokines pro-inflammatoires, induisant une inhibition de la différenciation et de l'activité des ostéoblastes, ainsi qu'une activation des ostéoclastes [45,46]. Ceci a pour conséquences d'une part une balance de remodelage osseux négative et ainsi une perte de masse osseuse, et d'autre part une perturbation de la microarchitecture osseuse conduisant à une diminution de l'os trabéculaire et à un amincissement de l'os cortical [47]. Ainsi, le risque d'ostéoporose est d'autant plus important que la ménopause est précoce. Chez l'homme, compte-tenu d'une diminution progressive de la sécrétion androgénique, l'ostéoporose est plus tardive et la microarchitecture osseuse est moins altérée [47].

b. Sexe féminin

Outre la diminution de synthèse des hormones sexuelles liée à l'âge, brutale chez les femmes et progressive chez l'homme, les femmes sont plus exposées à l'ostéoporose et aux fractures ostéoporotiques du fait d'os plus fins et d'une longévité plus importante [44].

c. Origine ethnique

L'ethnie est un facteur important influençant l'incidence de l'ostéoporose et des fractures ostéoporotiques. Comparativement aux femmes blanches, les femmes noires ont un taux de fractures diminué d'environ 50%, et les femmes hispaniques et asiatiques ont des taux inférieurs d'environ 25%. En corollaire, la DMO est plus élevée chez les femmes noires et chez les femmes hispaniques par rapport à celle des femmes blanches. La DMO surfacique est similaire chez les femmes blanches et asiatiques, mais certaines données suggèrent que chez ces dernières la DMO volumétrique et l'épaisseur corticale sont plus importantes, pouvant expliquer un taux de fractures plus faible. De plus,

les variations ethniques de la géométrie de la hanche contribuent également aux différences observées concernant les taux de fractures [48].

d. Antécédents de fracture

Près de la moitié des patients ayant eu une fracture de hanche ont des antécédents de fractures. Le risque de fractures récurrentes est plus élevé chez les femmes que chez les hommes, une fracture antérieure étant l'un des principaux facteurs de risque de fractures futures. Par ailleurs, ce risque n'est pas constant dans le temps. Le risque de nouvelles fractures est le plus élevé dans les deux années qui suivent la première fracture de fragilité, puis il diminue. Pendant cette période, jusqu'à 25% des patients présenteront une nouvelle fracture en fonction du type de fracture antérieure, les fractures vertébrales augmentant davantage ce risque [49].

e. Principales pathologies inductrices d'ostéoporose

i. Pathologies endocriniennes

Les principales endocrinopathies induisant une ostéoporose sont en premier lieu celles conduisant à une diminution des stéroïdes sexuels. L'hypogonadisme central ou périphérique est ainsi associé à une diminution de la masse osseuse chez la femme comme chez l'homme par privation œstrogénique et androgénique [50,51].

L'hyperparathyroïdie primaire ou secondaire se traduit par une production excessive et inappropriée de PTH ayant pour conséquence une augmentation de la calcémie par mobilisation du calcium stocké au niveau osseux, engendrant ainsi une diminution de la masse osseuse dont l'atteinte prédomine sur l'os cortical [52,53].

L'hypercorticisme se traduit par un excès de corticostéroïdes endogènes. Les corticostéroïdes ont des effets directs sur le remodelage osseux. D'une part, ils répriment la formation osseuse en inhibant la différenciation et les fonctions ostéoblastiques, et induisent l'apoptose des ostéoblastes matures [54]. D'autre part, ils augmentent la résorption osseuse en réprimant l'apoptose des ostéoclastes [55] et en stimulant l'ostéoclastogenèse par accroissement du ratio RANKL/OPG, liée à la fois à une augmentation du RANKL et à une diminution de sécrétion de l'OPG par les cellules ostéoblastiques [56]. Ils ont également des effets osseux indirects en diminuant l'absorption

intestinale de calcium et en augmentant son excrétion urinaire, en inhibant les axes somatotrope et gonadotrope [57].

Le diabète de type I ou de type II est également un facteur de risque d'ostéoporose. L'hyperglycémie chronique exerce un effet délétère direct sur l'os en inhibant l'ostéoblastogénèse. Par ailleurs, l'insuline est un facteur de croissance des ostéoblastes, et la baisse de celle-ci peut contribuer à la diminution de la DMO [58]. De plus, les produits terminaux de glycation avancée, augmentés au cours du diabète, peuvent s'accumuler dans le tissu osseux et l'expression par les cellules osseuses de leurs récepteurs suggère qu'ils peuvent être impliqués dans le processus d'ostéoporose [59,60]. Enfin, l'augmentation du tissu adipeux chez les patients diabétiques conduit à une augmentation de production d'adipokines dont la leptine ayant un effet délétère sur l'os trabéculaire [61].

L'ostéoporose thyroïdienne est une ostéopathie cortico-trabéculaire due à une accélération du remodelage osseux par les effets directs des hormones thyroïdiennes sur le tissu osseux. La DMO est 10 à 20% plus basse chez les hyperthyroïdiens par rapport à des sujets euthyroïdiens de même âge et de même sexe [62].

ii. Rhumatismes inflammatoires chroniques

Plusieurs rhumatismes inflammatoires, tels que la polyarthrite rhumatoïde, l'arthrite juvénile idiopathique, le rhumatisme psoriasique, la spondyloarthrite, le lupus érythémateux systémique, la sclérodermie et les myosites sont associés à un risque d'ostéoporose et de fractures de fragilité. Ceci est expliqué en partie par une production excessive de cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF α , l'IL-1, l'IL-6 et l'IL-17 impliquées dans la régulation de RANKL responsable de l'ostéoclastogénèse et donc de la résorption osseuse [63,64]. D'autres facteurs expliquent également le risque ostéoporotique chez les patients atteints de rhumatisme inflammatoire chronique, tels que le traitement par glucocorticoïdes et la réduction de l'activité physique [65].

iii. Maladies digestives

Au cours des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, plusieurs facteurs contribuent à la diminution de la masse osseuse et à l'augmentation du risque fracturaire. De façon directe, l'état inflammatoire général, comme au cours des rhumatismes inflammatoires chroniques, a pour conséquence une augmentation de production de cytokines pro-inflammatoires et ainsi une

augmentation de la résorption osseuse *via* la voie de signalisation RANK/RANKL. De plus, l'inflammation intestinale a pour conséquence une malabsorption conduisant à une diminution de l'absorption calcique [66,67]. De façon indirecte, le traitement de la pathologie par corticostéroïdes et la diminution de la masse corporelle contribuent au développement de l'ostéoporose [66,67].

L'ostéoporose est l'une des traductions cliniques de la maladie cœliaque, expliquée par une malabsorption de la vitamine D et du calcium en lien direct avec l'intolérance au lactose [68,69].

2. Facteurs de risque modifiables

a. Déficit en vitamine D

Le déficit en vitamine D est un facteur de risque d'ostéoporose compte-tenu du métabolisme phosphocalcique et de la physiologie osseuse, et ce *via* une augmentation du remodelage osseux, une diminution de l'absorption intestinale de calcium et une hyperparathyroïdie secondaire [70].

b. Régime alimentaire et troubles du comportement alimentaire

Compte-tenu de la physiologie osseuse, une faible consommation calcique contribue au développement de l'ostéoporose [71,72]. Par ailleurs, les troubles du comportement alimentaire tels que l'anorexie sont pourvoyeurs d'ostéoporose *via* plusieurs mécanismes tels qu'une diminution de l'*Insulin Growth Factor-1* circulant, un hypogonadisme induisant une carence œstrogénique, une carence d'apport en calcium et en vitamine D ou encore un faible IMC. Survenant lors de la puberté, ces troubles alimentaires peuvent aboutir à un pic de masse osseuse faible (atteint pendant l'adolescence), qui est l'un des facteurs déterminant de la DMO de l'adulte. Un pic de masse osseuse faible est associé à un risque élevé de fractures à l'âge adulte [73].

c. Faible indice de masse corporelle

De plus, il existe un lien étroit entre la DMO et l'IMC. En effet, les personnes plus lourdes soumettent leurs os à une charge plus importante que les personnes minces, augmentant ainsi le remodelage osseux. De plus, le poids au début de l'âge adulte affecte directement le pic de masse osseuse. Enfin, chez les femmes ménopausées, le tissu adipeux sert de site de conversion de

l'androstènedione en œstrogène métaboliquement actif permettant ainsi de compenser en partie le déficit hormonal post-ménopausique [74–76].

d. Sédentarité

L'activité physique réduit le risque d'ostéoporose de façon « locale » par les contraintes physiques exercées sur l'os en stimulant la formation osseuse et en diminuant la résorption osseuse. Par ailleurs, l'activité physique réduit également le risque de chute par l'entretien d'une bonne trophicité musculaire [77]. En corolaire, la sédentarité est un facteur de risque d'ostéoporose. A titre d'exemple, l'immobilisation chez les patients paraplégiques induit une perte osseuse de plus de 40% après 6 mois [78].

e. Intoxication alcoolo-tabagique

Le tabagisme augmente le risque d'ostéoporose directement par la production de radicaux libres ayant un effet néfaste sur la synthèse de collagène osseux, par altération du métabolisme des hormones sexuelles et cortico-surréaliennes [79–81]. Par ailleurs, les effets délétères du tabagisme sur l'os sont également indirects *via* une diminution de l'absorption intestinale de calcium [82] et une diminution de l'IMC [44].

Une consommation d'alcool supérieure à 7 unités d'alcool par semaine augmente le risque d'ostéoporose [83]. L'alcool exerce un effet toxique direct sur l'os en inhibant l'activité ostéoblastique [84–87] et également des effets délétères indirects tels qu'une malnutrition avec une diminution de l'IMC et une réduction de prise alimentaire de calcium [86].

f. Médicaments inducteurs d'ostéoporose et/ou de fractures

Plusieurs classes médicamenteuses ont été identifiées comme étant associées à un risque d'ostéoporose et par conséquent de fractures. Les médicaments les plus pourvoyeurs d'ostéoporose sont ceux interférant avec le système hormonal, à savoir les corticostéroïdes, les analogues de la *Gonadotropin-Releasing Hormone* (GnRH), les anti-androgènes et les anti-aromatases.

Les corticostéroïdes ont des effets directs sur le remodelage osseux en inhibant la différenciation ostéoblastique et en induisant l'apoptose des ostéoblastes matures (diminuant la

formation osseuse), en inhibant l'apoptose des ostéoclastes et en stimulant l'ostéoclastogénèse en augmentant le rapport RANKL/OPG (conduisant à une augmentation de la résorption osseuse). Ils exercent également des effets indirects sur les os en diminuant l'absorption intestinale du calcium, en augmentant l'excrétion urinaire du calcium et en inhibant les axes somatotrope et gonadotrope [88].

Les agonistes de la GnRH ont plusieurs indications. Ils sont utilisés dans le cancer de la prostate pour induire un hypogonadisme, c'est-à-dire un faible taux de testostérone, et ainsi priver les cellules cancéreuses prostatiques de leurs facteurs de croissance externes, engendrant une perte osseuse rapide et un risque accru de fractures. Ils peuvent être utilisés en association avec des bloqueurs des récepteurs aux androgènes (antiandrogènes), et cette association aggrave la perte osseuse. Les agonistes de la GnRH peuvent également être utilisés pour l'endométriose et sont également associés à une perte osseuse dans ce contexte, en rapport avec une hypoestrogénémie [89–92].

Les anti-aromatases, indiqués dans le cancer du sein avec récepteurs à œstrogènes positifs, inhibent la conversion de l'androstènedione en estrone *via* l'inhibition du complexe enzymatique de l'aromatase. L'estrone ne peut donc plus être convertie en estradiol, ayant comme conséquences une levée de l'inhibition de l'apoptose des ostéoblastes et une activation ostéoclastique. De façon similaire, les analogues de la *Luteinizing Hormone-Releasing Hormone* (LH-RH) entraînent une aménorrhée et un déficit en estradiol [93–95].

Les mécanismes conduisant à une fragilité osseuse des autres médicaments connus comme étant associés à de l'ostéoporose en population générale sont résumés dans le **Tableau 1**.

Le GRIO a émis des recommandations concernant la prévention des ostéoporoses induites par les corticostéroïdes [96], les anti-aromatases, les analogues de la LH-RH [97], les analogues de la GnRH et les anti-androgènes [98]. En revanche, concernant les autres médicaments, il n'existe aucune recommandation spécifique.

Par ailleurs, en plus de ces mécanismes induisant une fragilité osseuse (**Tableau 1**), certaines classes médicamenteuses peuvent augmenter le risque fracturaire *via* une action sur le système nerveux central tels que les opioïdes ou les benzodiazépines, ou *via* une action hypotensive tels que les diurétiques de l'anse [99].

Tableau 1 : Médicaments inducteurs d'ostéoporose

Médicaments	Mécanismes altérant le tissu osseux	Etudes cliniques	
		↓ DMO	Fractures
Voies digestives et métabolisme			
	<i>Mécanismes supposés</i>		
Vitamine A	<ul style="list-style-type: none"> • Inhibition ostéoblastique [100] • Stimulation ostéoclastique [101] • Inhibition de la vitamine D [102] 	[103]	Absence d'effet [104]
Insuline	<ul style="list-style-type: none"> • Diminution de l'activité ostéoblastique via ↑ TGFβ [105,106] 	Absence de donnée	[107]
IPP	<ul style="list-style-type: none"> • Diminution de l'acidité gastrique : → libération de gastrine → toxicité osseuse directe [108] → diminution de la libération de calcium ionisé à partir des sels calciques alimentaires [109] → hyperparathyroïdie secondaire [110,111] 	[112,113]	[113–120]
Système cardiovasculaire			
Diurétiques de l'anse	<ul style="list-style-type: none"> • Inhibition du cotransporteur Na⁺/K⁺/Cl⁻ (anse de Henlé) → excrétion urinaire de calcium [121] 	[122]	[123,124]
Héparines	<p><i>HNF chez les femmes enceintes : mécanisme supposé</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Inhibition de l'ostéoblastogenèse [125,126] 	[127–130]	[131–133]
AVK	<ul style="list-style-type: none"> • Inhibition de la carboxylation des résidus de glutamate de l'ostéocalcine → formation anormale d'ostéocalcine non carboxylée → diminution de la minéralisation osseuse [134,135] 	[136]	[137,138]
Système hormonal			
	<i>Effets directs</i>		
Glucocorticoïdes	<ul style="list-style-type: none"> • Inhibition de la différenciation ostéoblastique [54] • Inhibition de l'apoptose des ostéoclastes [55] • Stimulation de l'ostéoclastogenèse (↑ ratio RANKL/OPG) [56] <p><i>Effets indirects</i> [57]</p> <ul style="list-style-type: none"> • Diminution de l'absorption intestinale de calcium • Augmentation de l'excrétion urinaire de calcium 	[88]	[88]
Anti-aromatases	<ul style="list-style-type: none"> • Inhibition de l'aromatase → inhibition de la conversion de l'androstènedione en estrone → inhibition de la production d'estradiol [139] 	[93]	[94,95]
Analogues de la GnRH et anti-androgènes	<ul style="list-style-type: none"> • Hypogonadisme [89] 	[90]	[91,92]
Lévothyroxine	<ul style="list-style-type: none"> • Accélération du métabolisme osseux par effet direct en cas de surdosage 	[140]	Absence de donnée

Tableau 1 (suite) : Médicaments inducteurs d'ostéoporose

Médicaments	Mécanismes altérant le tissu osseux	Etudes cliniques	
		↓ DMO	Fractures
Anti-infectieux			
Antirétroviraux	<i>Analogues nucléosidiques de la transcriptase inverse</i>		
	<ul style="list-style-type: none"> • Toxicité mitochondriale, hyperlactatémie et acidose métabolique → toxicité directe sur l'os [141,142] 		
	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Ténofovir</i> : Tubulopathie → hypophosphorémies [143] 	[147–151]	[147–151]
	<i>Inhibiteurs de protéases</i>		
	<ul style="list-style-type: none"> • Interférence avec la voie RANK/RANKL → activation des ostéoclastes [144,145] • Induction enzymatique → augmentation du métabolisme de la vitamine D [146] 		
Système nerveux			
ISRS	<ul style="list-style-type: none"> • Expression de récepteurs à la sérotonine par les ostéoblastes, ostéoclastes et ostéocytes → altération du métabolisme osseux [152–154] 	[155]	[156–158]
Neuroleptiques	<ul style="list-style-type: none"> • Hyperprolactinémie → hypogonadisme [159–161] → inhibition des ostéoblastes (expriment des récepteurs à la prolactine) [162] 	[156–158]	[156–158]
Antiépileptiques inducteurs enzymatiques	<ul style="list-style-type: none"> • Accélération du métabolisme de la vitamine D → diminution du taux de 25(OH)D et de 1,25(OH)₂D [163,164] → Hypocalcémie → hyperparathyroïdie secondaire [165,166] 	[167]	[168]
Opioides	<ul style="list-style-type: none"> • Insuffisance gonadotrope [169–172] 	[173,174]	[175]

AVK, anti-vitamine K ; DMO, densité minérale osseuse ; HNF, héparines non fractionnées ; IPP, inhibiteur de la pompe à protons ; ISRS, inhibiteur sélectif de la recapture de la sérotonine ; OPG, ostéoprotégérine ; RANKL, receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand ; TGF, transforming growth factor ;

Après avoir abordé l'ostéoporose au sens large ainsi que ses facteurs de risque traditionnels, nous allons nous intéresser au cas particulier de l'atteinte osseuse au cours de la MRC.

III. Maladie rénale chronique

A. Généralités

La MRC est définie comme une diminution du débit de filtration glomérulaire (DFG) et comprend cinq stades de sévérité croissante. Quel que soit le DFG, la persistance pendant plus de 3 mois de marqueurs biologiques d'atteinte rénale (protéinurie, leucocyturie, hématurie, microalbuminurie chez le diabétique de type 1) et/ou d'anomalies morphologiques témoigne d'une MRC. Un DFG < 60 ml/min/1,73 m² définit une insuffisance rénale indiscutable qu'il y ait ou non des marqueurs d'atteinte rénale associés (biologiques et/ou morphologiques et/ou histologiques). La diminution de la filtration glomérulaire entraîne l'accumulation des molécules circulant au niveau sanguin, telles que les TU [176].

Entre 2014 et 2016, la prévalence de la MRC stades 3 à 5 sans traitement de suppléance rénale était estimée entre 1,5 et 2,1% de la population adulte entre 18 et 74 ans [177]. L'agence de biomédecine française publie un rapport REIN annuel sur l'épidémiologie de l'insuffisance rénale terminale traitée (IRTT). En 2019, l'incidence de l'IRTT était de 169 par million d'habitants, la prévalence était de 1355 par million d'habitants et le taux de mortalité de 9,8%. Les principales étiologies de la néphropathie initiale sont la néphropathie hypertensive (24,3%) et la néphropathie diabétique (23,0%). Le nombre de patients dialysés en 2019 était de 50 501 et le nombre de patients ayant un greffon fonctionnel était de 41 374. La transplantation préemptive représentait 4% des modalités de traitement [178].

B. Syndrome urémique

Il existe une accumulation des TU au cours de la MRC, délétère pour les fonctions biologiques. Ces composés hétérogènes sont classés en trois catégories en fonction de leur poids moléculaire et de leur capacité à se lier aux protéines plasmatiques : (i) les petits solutés dont le poids moléculaire est inférieur à 500 daltons (tels que l'urée, la créatinine, le phosphate et le triméthyl-amine-N-oxyde (TMAO)), (ii) les molécules moyennes dont le poids moléculaire est supérieur à 500 daltons (tels que la PTH ou le FGF23), et (iii) les TU liées aux protéines (tels que l'indoxylsulfate (IxS), le para-cresyl sulfate (pCS), le para-cresyl glucuronide (pCG), l'acide indole acétique (IAA), le 3-carboxy-4-méthyl-5-propyl-2-furanpropionate (CMPF) ou encore l'acide hippurique (AH)) [179].

Bien que les solutés de faible poids moléculaire et dans une moindre mesure les molécules moyennes puissent être facilement éliminés par dialyse conventionnelle, les TU liées aux protéines plasmatiques sont difficiles à éliminer du plasma des patients atteints de MRC [180]. Par conséquent, les concentrations sanguines des TU liées aux protéines plasmatiques augmentent progressivement au fur et à mesure que la MRC s'aggrave. Chez les patients atteints d'IRC terminale, les valeurs sont souvent supérieures à 10 fois celles des témoins sains avec une grande variabilité interindividuelle [181–183]. L'accumulation sanguine et tissulaire des TU induit un "syndrome urémique" incluant une cardiotoxicité [184,185], une néphrotoxicité et/ou des atteintes osseuses [186]. Par ailleurs, de nombreuses TU liées aux protéines plasmatiques proviennent de l'intestin en tant que produits du métabolisme microbien des composés alimentaires : l'IxS et l'IAA sont dérivés du métabolisme du tryptophane, le pCS et le pCG de celui de la tyrosine et l'AH de celui de l'acide benzoïque [187]. Ainsi, l'accumulation des TU liées aux protéines plasmatiques au cours de la MRC dépend du régime alimentaire en plus du défaut de filtration glomérulaire. Après transplantation rénale, les concentrations en TU liées aux protéines plasmatiques chutent rapidement pour atteindre des niveaux inférieurs à ceux observés chez les patients non transplantés ayant un taux de filtration glomérulaire équivalent [1–3].

Les modifications de l'homéostasie de certaines toxines, à savoir le phosphate, la PTH ou encore le FGF23, sont à l'origine d'une entité à part entière, les « TMO-MRC » induisant de profondes modifications dans la structure osseuse et/ou le remodelage osseux et la survenue de calcifications vasculaires. De plus, l'accumulation des TU liées aux protéines plasmatiques, notamment l'IxS et le pCS participent largement aux TMO-MRC.

C. Troubles minéraux et osseux de la maladie rénale chronique

Les modifications du remodelage osseux dans le contexte de la MRC sont regroupées sous le terme d'ODR dont il existe plusieurs types : ostéite fibreuse (OF), ostéopathie adynamique (OA), ostéomalacie (OM) et ODR mixte. Les caractéristiques de ces ODR sont résumées dans le **Tableau 2** et leurs conséquences sur la DMO dans la **Figure 4**.

Tableau 2 : Cadre nosologique des lésions osseuses de l'ostéodystrophie rénale (d'après Mac Way et al. [7])

Type d'ODR	Remodelage osseux	Minéralisation osseuse primaire	Tissu ostéoïde	Masse osseuse
Ostéite fibreuse	↑ ou ↑↑	N ou ↑	↑ ou ↑↑↑	N ou ↑ ou ↓
Ostéopathie adynamique	↓	N	N ou ↓	N ou ↑ ou ↓
Ostéomalacie	↓	↓↓	↑↑↑	N ou ↑ ou ↓
Ostéopathie mixte	↑ ou ↑↑↑	↓ ou ↓↓	↑↑↑	N ou ↑ ou ↓

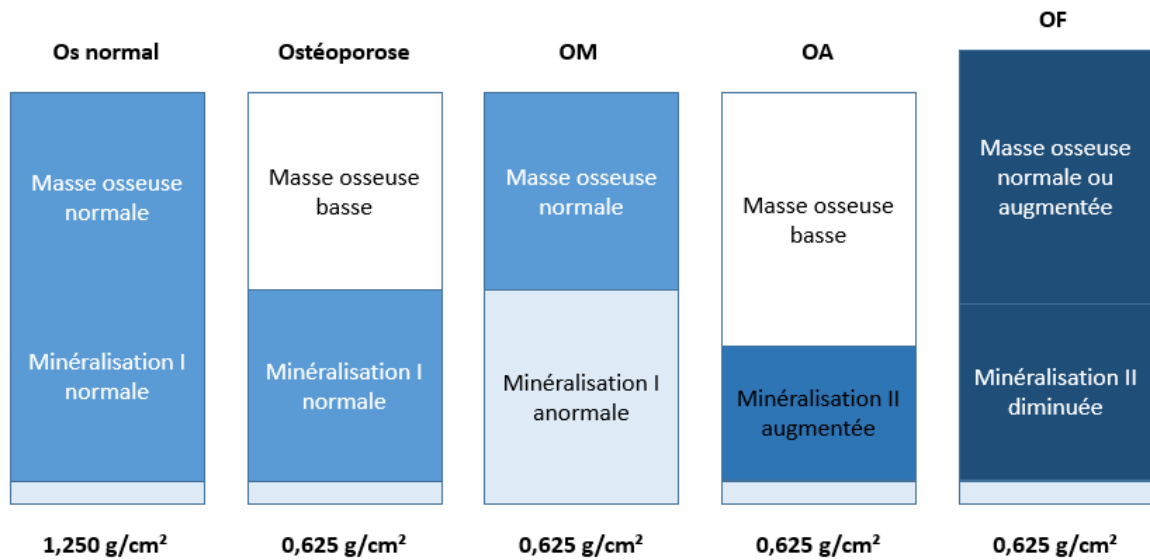


Figure 4 : Interprétation des résultats de la DXA chez l'insuffisant rénal (d'après Mac Way et al. [7])
 OA, ostéopathie adynamique ; OF, ostéite fibreuse ; OM, ostéomalacie.

1. Ostéite fibreuse

Elle est la conséquence d'une hyperparathyroïdie secondaire à la MRC conduisant à une accélération du remodelage osseux (résorption et formation osseuse) et à une fibrose médullaire. En revanche, la physiopathologie aboutissant à l'augmentation de la PTH dans ce type d'ODR est controversée.

L'origine de l'augmentation de la PTH est supposée être liée à l'augmentation initiale de la phosphatémie en lien direct avec l'insuffisance rénale chronique. Cette hyperphosphatémie conduirait à l'augmentation de FGF23 (hormone hypophosphatémiant sécrétée par les ostéocytes). Le FGF23, en se fixant à son récepteur FGFR1 (nécessitant la protéine transmembranaire Klotho pour s'y fixer [188]) diminue l'expression des transporteurs de phosphate dépendant du sodium au niveau du tubule contourné proximal et au niveau intestinal, ce qui engendre une augmentation de la sécrétion urinaire de phosphate et une diminution de l'absorption intestinale de phosphate, ayant pour but une régulation de la phosphatémie [188,189]. Par ailleurs, le FGF23 diminue la synthèse de calcitriol *via* une inhibition de la 1 α -hydroxylase et une augmentation de l'activité de la 24-hydroxylase [190]. De plus, certaines TU liées aux protéines plasmatiques inhibent également l'expression de la 1 α -hydroxylase [191] et l'IXS peut également renforcer l'activité de la 24-hydroxylase, réduisant également la concentration de calcitriol [192]. Cette diminution du calcitriol a pour conséquence une diminution de l'absorption intestinale de calcium aboutissant à une hypocalcémie. La combinaison de l'hyperphosphatémie, de l'hypocalcémie et de la diminution de calcitriol conduit à une hyperparathyroïdie secondaire par stimulation des glandes parathyroïdes *via* les récepteurs sensibles au calcium (CasR) et *via* le récepteur de la vitamine D (VDR). Par ailleurs, l'action de FGF23 dans l'hyperparathyroïdie secondaire est complexe car le FGF23 freine la production de PTH *via* son récepteur couplé à la protéine Klotho. Or, en cas de MRC, il existe un déficit en protéine Klotho au niveau des glandes parathyroïdiennes (et également au niveau rénal) ce qui pourrait altérer cette action frénatrice exercée par le FGF23 au niveau parathyroïdien [193]. De plus, physiologiquement, la synthèse de FGF23 est freinée localement par la *Dentin Matrix Acidic Phosphoprotein 1* (DMP1) dont l'expression est stimulée par la PTH. Dans la MRC, l'inhibition de FGF23 par DMP1 disparaît, et DMP1 est fortement surexprimée. Par ailleurs, certaines TU liées aux protéines plasmatiques limitent l'interaction du VDR avec le calcitriol, contribuant également à l'augmentation de la PTH [194] (**Figure 5**). Chez certains patients, l'ensemble de ce processus peut conduire à une hyperplasie des glandes parathyroïdes qui s'autonomisent, aboutissant à l'hyperparathyroïdie tertiaire [195].

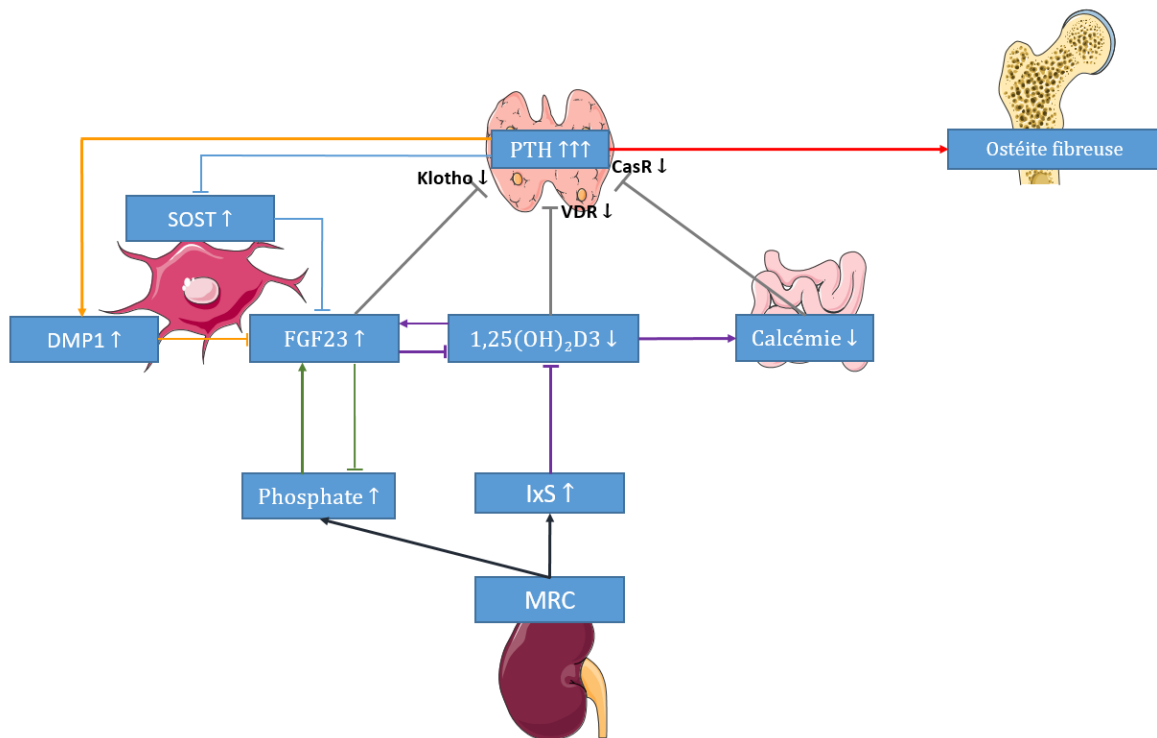


Figure 5: Physiopathologie de l'ostéite fibreuse au cours de la maladie rénale chronique (hypothèse initiale)

—► stimule —| inhibe

- la MRC conduit à l'augmentation de la phosphatémie et des toxines urémiques non liées aux protéines plasmatiques dont l'IxS
- l'hyperphosphatémie stimule la production ostéoblastique de FGF23 dont l'action visant à augmenter l'excrétion urinaire de phosphate est altérée au cours de la MRC
- les concentrations élevées en IxS et en FGF23 diminuent la synthèse de calcitriol (dont l'action stimulant le FGF23 est diminuée dans ce contexte) aboutissant à une hypocalcémie
- la diminution d'expression en protéine Klotho, en VDR et en CasR aboutit à une augmentation importante de la PTH, malgré une augmentation du FGF23 et une diminution du calcitriol
- altération de la voie Wnt : malgré une augmentation de la PTH, les concentrations en SOST sont élevées et celle-ci ne parvient pas à exercer un rétrocontrôle sur le FGF23
- l'hyperparathyroïdie augmente la production ostéoblastique de DMP1 qui ne parvient plus à inhiber le FGF23

CasR, récepteur sensible au calcium ; *DMP*, Dentin matrix protein ; *FGF*, fibroblast growth factor ; *IxS*, indoxylsulfate ; *MRC*, maladie rénale chronique ; *PTH*, parathormone ; *SOST*, sclérostine, *VDR*, récepteur de la vitamine D.

Or, il existe plusieurs controverses concernant cette hypothèse. En effet, dans les stades précoces de MRC, les concentrations en FGF23 sont déjà augmentées alors que les concentrations en phosphate, calcitriol et PTH ne le sont pas [196,197]. Ainsi, la stimulation des ostéocytes conduisant à l'augmentation de synthèse de FGF23 reste inconnue. Une des hypothèses serait un déficit initial en protéine Klotho qui aboutirait à une augmentation de FGF23 [198]. Mais en l'absence d'hyperphosphatémie, de déficit en calcitriol ou d'élévation de la PTH, le lien entre le déficit en protéine Klotho et la stimulation des ostéocytes conduisant à la synthèse de FGF23 reste incertain. Une autre hypothèse est que l'IxS pourrait être un facteur indépendant d'élévation du FGF23 dans la

MRC [199]. En effet, il est connu que l'IxS pénètre dans les ostéoblastes *via* l'*organic anion transporter* (OAT)-3 pour induire un stress oxydatif, inhiber la différenciation des ostéoblastes et induire leur apoptose [200] (**Figure 6**).

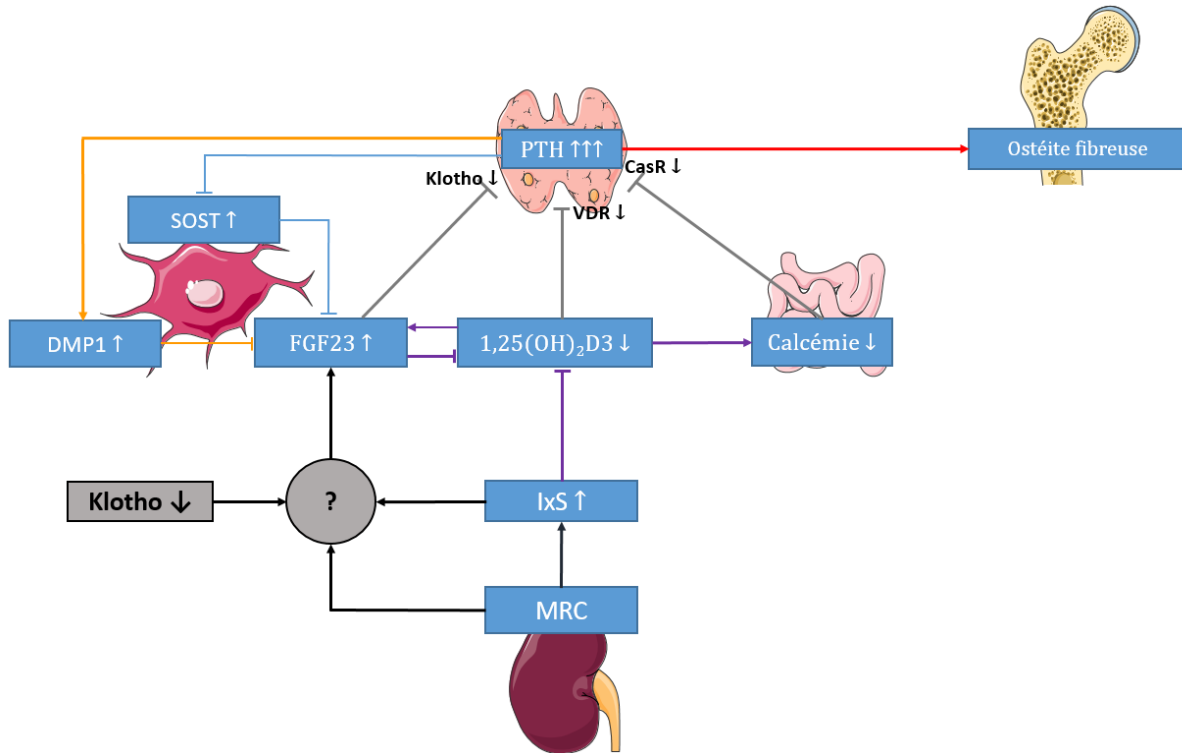


Figure 6 : Physiopathologie de l'ostéite fibreuse au cours de la maladie rénale chronique (hypothèse alternative)

Contrairement à l'hypothèse précédente, l'hyperphosphatémie n'explique par l'augmentation du FGF23. Les concentrations élevées en toxines urémiques non liées aux protéines plasmatiques comme l'IxS ou le déficit en protéine Klotho pourraient expliquer l'augmentation du FGF23.

CasR, récepteur sensible au calcium ; *DMP*, Dentin matrix protein ; *FGF*, fibroblast growth factor ; *IxS*, indoxylsulfate ; *MRC*, maladie rénale chronique ; *PTH*, parathormone ; *SOST*, sclérostine, *VDR*, récepteur de la vitamine D.

2. Ostéopathie adynamique

L'OA se caractérise par un remodelage osseux de bas niveau, avec un taux de formation osseuse réduit et, par conséquent, une matrice ostéoïde pauvre. La cellularité est faible (ostéoblastes et ostéoclastes) et il n'y a pas de fibrose de la moelle osseuse.

Deux conditions sont déterminantes dans la pathogenèse de l'OA : la suppression de la sécrétion de PTH et la résistance osseuse à l'action de cette hormone [201]. La suppression de la sécrétion de PTH ou l'état d'hypoparathyroïdie relative est généralement la conséquence d'une utilisation excessive de calcitriol ou d'analogues, de calcimimétiques, ainsi que d'une surcharge en

calcium liée à la dialyse. Les patients atteints d'OA présentent une homéostasie anormale du calcium, caractérisée par une difficulté à incorporer ce minéral dans l'os. Cela implique un risque accru d'hypercalcémie en cas de surcharge calcique [202]. Quelle que soit son origine, orale ou dialysée, la surcharge calcique entraîne un cercle vicieux de suppression de la PTH et de faible incorporation du calcium au niveau osseux, favorisant le développement de calcifications extra-osseuses. Ainsi, l'utilisation de chélateurs de phosphate à base de calcium ainsi que de dialysats dont la concentration en calcium est supérieure à 3,0 mEq/L n'est pas recommandée pour les patients atteints d'OA [28,203]. L'utilisation d'un dialysat à faible teneur en calcium est un outil auxiliaire pour augmenter la sécrétion de PTH, qui est associée à la restauration du remodelage osseux [204–207]. D'autres facteurs peuvent également contribuer à des taux de PTH plus faibles et à un faible renouvellement osseux, comme l'âge avancé, le diabète sucré, la dialyse péritonéale, l'hypogonadisme, la malnutrition, la corticothérapie, l'utilisation de bisphosphonates, la toxicité de l'aluminium et la parathyroïdectomie [201,208–210].

En France, depuis le début des années 1990, l'aluminium n'est plus utilisé dans les bains de dialyses et les chélateurs calciques du phosphate sont de moins en moins utilisés, alors que la prévalence de l'OA est en augmentation.

Un certain nombre de facteurs sont impliqués dans la résistance osseuse à l'action de la PTH, tels que la surcharge en phosphore, la carence en calcitriol, la diminution de l'expression des récepteurs de la PTH (PTH1R) dans le tissu osseux et la présence de TU liées aux protéines plasmatiques [209,211].

En ce qui concerne les TU liées aux protéines plasmatiques, l'IxS diminue l'expression de PTH1R au niveau ostéoblastique [8]. Le pCS altère également les fonctions ostéoblastiques en diminuant la production d'AMPc induite par la PTH, en produisant des réactifs dérivés de l'oxygène et en diminuant la viabilité des ostéoblastes, et ce en activant les voies *Janus kinases* (JNK) et *Mitogen-activated protein kinases* (MAPK) p38 [9]. De plus, l'IxS réduit la différenciation et la fonction des ostéoclastes *via* notamment une altération de la phosphorylation des voies JNK, *protein kinase B*, MAPK p38 et *extracellular signal-regulated kinases 1* et 2 ainsi que l'activité de liaison à l'ADN de la protéine activatrice 1 [212].

En corolaire, l'administration de probénicid, inhibiteur d'OAT-3, améliore la diminution d'expression de PTH1R induite par l'IxS et améliore les fonctions ostéoblastiques [8] et ostéoclastiques [212], et l'administration d'AST-120, inhibant l'accumulation de pCS et d'IxS [213], permet d'améliorer le remodelage osseux avec une normalisation de la régulation de PTH1R, de la PAO et de l'OCN [214]. Ainsi, les TU liées aux protéines plasmatiques, en particulier l'IxS, contribuent au développement de

l'OA en diminuant d'une part l'expression de PTH1R et en altérant d'autre part les fonctions ostéoblastiques et ostéoclastiques.

Un autre facteur pouvant expliquer la résistance osseuse à l'action de la PTH est l'accumulation de fragments 7-84 de la PTH au cours de la MRC [215]. Ces fragments de PTH diminuent l'expression des PTH1R et ainsi l'action de la PTH au niveau osseux [216]. De plus, ces fragments de PTH peuvent entrer en compétition avec la signalisation de la PTH en agissant comme des inhibiteurs compétitifs de cette hormone et en activant la région C-terminale de la PTH [217]. Ainsi, au cours de l'OA marquée par un faible remodelage osseux, l'accumulation de ces fragments de PTH et la régulation négative du PTH1R peuvent expliquer certaines formes d'OA associées à des taux sériques de PTH élevés [218,219].

Par ailleurs, l'OPG, récepteur soluble se liant à RANKL et inhibant la différenciation et la survie des ostéoclastes, est considérablement plus élevée dans la MRC avancée que chez les sujets ayant une fonction rénale normale [220–222]. L'accumulation d'OPG sérique pourrait bloquer les actions de la PTH sur l'os. De plus, il a été démontré que la protéine BMP7, un puissant facteur de différenciation des ostéoblastes sécrété par le rein, a un faible taux sérique chez les patients atteints de MRC, pouvant entraîner une diminution du nombre d'ostéoblastes et une suppression de la réponse à la PTH [223].

Enfin, l'augmentation de l'expression de certains antagonistes de la voie Wnt/ β -caténine tels que SOST, DKK1 ou sFRP4, inhibiteurs de la formation osseuse (régulant négativement la voie de maturation des ostéoblastes) jouent également un rôle dans le développement de l'OA [224–227]. Une expression très élevée de SOST/DKK1 est associée à l'OA. En revanche, à des niveaux plus faibles mais toujours élevés, SOST est associée à l'OF en diminuant l'activité ostéoblastique mais avec une activité toujours accrue des ostéoclastes. Ainsi, la contribution relative de SOST/DKK1 au développement d'une ODR soit à haut niveau soit à bas niveau de remodelage osseux pourrait dépendre de l'expression de facteurs locaux et systémiques tels que le TGF β qui régule de façon positive SOST et qui a des actions temporelles sur les ostéoblastes (favorise d'abord puis atténue ensuite la différenciation ostéoblastique), la PTH qui régule négativement l'expression de SOST (ainsi, en cas d'OF marquée par une élévation importante de la PTH, SOST est moins élevée comparativement à l'OA) ou encore les concentrations en phosphate, régulateur négatif de SOST [228] (**Figure 7**).

être à l'origine de ce trouble de la minéralisation tels que l'hypovitaminose D qui est actuellement très largement compensée par des apports exogènes, l'hypophosphatémie (pouvant être la conséquence de l'élévation du FGF23) qui est rare, l'excès de fer par des transfusions itératives ou encore l'acidose métabolique de la MRC dont la correction normalise ce type d'ODR [229,230].

L'ostéopathie mixte associe des lésions d'ostéite fibreuse et d'OM.

4. Diminution de la masse osseuse

La physiopathologie de la perte osseuse (caractérisée en histologie par une diminution du rapport volume osseux/volume tissulaire) dans la MRC, différente des patients non atteints de MRC, est complexe et multifactorielle. Les effets de la PTH élevée jouent un rôle prépondérant, comme au cours de l'ostéoporose chez les patients non atteints de MRC. D'autres facteurs liés à la MRC contribuent également à la perte osseuse tels que l'hypogonadisme plus précoce chez les femmes, l'inflammation chronique caractérisée par des concentrations élevées en TNF α ou en IL-6, l'augmentation des concentrations sériques en adipokines [7].

Par ailleurs, il semblerait que les TU liées aux protéines plasmatiques, en particulier l'IxS, jouent un rôle important dans l'altération de la minéralisation et des propriétés mécaniques de l'os en modifiant sa composition chimique. Dans un modèle de rats urémiques, les réticulations physiologiques et pathologiques des fibres de collagène de type I augmentent, les fibres de collagène sont désorientées et la minéralisation est altérée, aboutissant à une dégradation de l'élasticité osseuse [231].

L'utilisation de la DMO dans la prédiction des fractures est controversée dans le contexte de MRC, principalement car elle ne tient pas compte des troubles du remodelage osseux. Malgré ses limites, la mesure de la DMO pour évaluer le risque de fracture fait partie des recommandations KDIGO (*Kidney Disease: Improving Global Outcomes*) de 2017 chez les patients atteints de MRC de stades 3 à 5 chez les patients présentant des TMO-MRC ou des facteurs de risque d'ostéoporose [232]. Cette recommandation est basée sur les données d'une méta-analyse de 13 études et de 4 études de cohortes prospectives, qui ont montré que la DMO était significativement plus faible chez les patients présentant des fractures (comparativement à ceux n'en présentant pas), et qu'elle peut prédire le risque de fracture dans les stades 3 à 5 de la MRC [233].

5. Impact de l'ostéodystrophie rénale sur la morbimortalité

Les anomalies du remodelage osseux et la perte osseuse au cours de la MRC décrites précédemment sont associées à une augmentation de fractures de fragilité et par conséquent à une augmentation de la morbimortalité.

Dans une étude écossaise, les patients atteints de MRC de stades 3 à 5 avaient une incidence de fractures de la hanche de 10,0 (IC 95 % : 9,4-10,7) pour 1000 patients-années, contre 1,5 (IC 95 % : 1,2-1,7) chez les personnes ayant un DFG normal [234]. L'étude DOPPS (*Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study*), étude de cohorte prospective de patients hémodialysés âgés de plus de 18 ans incluant 12 pays (Australie, Belgique, Canada, France, Allemagne, Italie, Japon, Nouvelle-Zélande, Suède, Espagne, Royaume-Uni et États-Unis), a montré une augmentation des fractures, y compris des fractures de hanche, allant de 1,5 à 8 fois celles de la population générale dans tous les pays [235]. En France, l'incidence des fractures de hanche dans la cohorte DOPPS était de 12 pour 1000 patients-année contre 2,5 pour 1000 patients-année en population générale [10]. Dans cette même cohorte, la morbimortalité des patients ayant eu une fracture de hanche était plus élevée comparativement à l'ensemble de la cohorte, avec un risque de décès 3,7 fois plus important et un risque de décès et/ou d'hospitalisation 4 fois plus important [10].

IV. Transplantation rénale

A. Généralités

1. Eligibilité à la transplantation rénale

La transplantation rénale est le traitement de choix de l'IRC terminale en comparaison à la dialyse car elle offre une amélioration de la qualité de vie, augmente l'espérance de vie et diminue les coûts pour la société [4,5]. Le nombre de transplantations rénales réalisées en France en 2020 selon l'agence de biomédecine était de 2595 [178]. L'indication à la transplantation rénale est généralement posée lorsqu'un patient atteint le stade d'IRC terminale quelle qu'en soit la cause. En général, les patients susceptibles d'être transplantés bénéficient déjà d'un traitement de suppléance par hémodialyse ou dialyse péritonéale. Néanmoins, une transplantation préemptive (avant le recours à la dialyse) avec un greffon provenant d'un donneur vivant est le traitement de choix pour les patients atteints de MRC éligibles à la transplantation. Les critères restreignant l'éligibilité à la transplantation

sont la non adhésion à la transplantation, un myélome multiple, une maladie de dépôts d'immunoglobulines monoclonales ou une amylose AL évolutive, une infection (bactérienne, virale, fongique, parasitaire) évolutive, une néoplasie maligne active (à l'exception des cancers indolents et de bas grade tels que le cancer de la prostate (score de Gleason ≤ 6), les cancers cutanés superficiels non mélaniques et les tumeurs rénales détectées fortuitement (≤ 1 cm de diamètre maximal)), une pathologie pulmonaire obstructive ou restrictive grave et irréversible ou une cardiopathie symptomatique NYHA III/IV non corrigeable [236].

La réalisation d'un bilan immunologique est indispensable avant la transplantation. Celui-ci comporte le typage HLA (*human leucocyte antigen*) de classe I et II afin de permettre le meilleur appariement entre le donneur et le receveur. Cette recherche permet de déceler la présence d'anticorps du receveur dirigés contre les antigènes HLA du greffon (*Donor Specific Antibody*, DSA). Un crossmatch lymphocytaire est réalisé pour juger de la compatibilité finale par la mise en présence des lymphocytes du donneur et le sérum du receveur, ce dernier test permettant d'éviter un rejet aigu [236]. De plus, le calcul d'un taux de greffon incompatible (correspondant au *Panel Reactive Antibody* (PRA) dans la littérature) correspond au pourcentage de greffons proposés sur les 5 dernières années contre lesquels le receveur présente au moins un anticorps anti-HLA dit interdit (défini par une *Mean Fluorescence Intensity* > 2000) sur la base des spécificités HLA A, B, DR et DQ saisies dans CRISTAL (outil de travail informatique développé par l'Agence de la biomédecine présentant les informations essentielles dont chaque professionnel de la transplantation a besoin). Sur la base du taux de greffons incompatibles (conditionnant les protocoles d'immunosuppression), un patient est considéré comme faiblement immunisé si celui-ci est inférieur à 20%, immunisé s'il est compris entre 20 et 80% et hyperimmunisé s'il est supérieur à 80%.

2. Protocoles d'immunosuppression

L'utilisation de médicaments immunosuppresseurs est indispensable pour éviter le rejet du greffon, dans la mesure où la transplantation rénale est une allogreffe. Les protocoles d'immunosuppression comportent un traitement d'induction et un traitement de maintenance.

Le traitement d'induction est administré avant ou au moment de la transplantation rénale. Deux médicaments sont principalement utilisés : l'IL2-RA (basiliximab) recommandé en première ligne et le sérum anti-lymphocytaire (*Anti-thymocyte globulin*, ATG) à privilégier chez les patients à risque immunologique élevé, incluant notamment les receveurs immunisés [17].

Concernant le traitement immunosuppresseur de maintenance, il est actuellement recommandé d'utiliser une combinaison de traitements immunosuppresseurs incluant un inhibiteur de la calcineurine (tacrolimus en première ligne, ou ciclosporine) et un agent antiprolifératif (mycophénolate mofétil (MMF) en première ligne, ou azathioprine, évérolimus ou sirolimus), avec ou sans corticostéroïdes. Chez les patients qui présentent un faible risque immunologique, il est recommandé que les corticostéroïdes soient interrompus pendant la première semaine après la transplantation [17].

Un tournant dans l'emploi des traitements immunosuppresseurs de maintenance a eu lieu à la fin des années 1990 avec le développement du MMF qui a eu l'autorisation de mise sur le marché aux Etats-Unis en 1995 et en France en 1996. L'association MMF/tacrolimus a permis d'effectuer un arrêt précoce de la corticothérapie (afin de limiter ses effets indésirables au long cours, notamment les complications métaboliques) avec des premiers essais en 1998. Dans les essais menés à la fin des années 1990 et au début des années 2000, l'arrêt précoce de la corticothérapie n'était pas associé à un effet délétère sur le greffon à court ou moyen terme, mais la crainte d'un rejet tardif (à plus de 3 ans après la transplantation) a retardé sa mise en application [237].

3. Principales complications après transplantation rénale

Les patients transplantés sont exposés à de nombreuses complications, majoritairement en lien avec les traitements immunosuppresseurs.

Les principales complications, responsables d'une mortalité due aux maladies cardiovasculaires (représentant 40 à 50 % des décès après la première année suivant la transplantation) sont le diabète, l'hypertension artérielle et les dyslipidémies [16].

Le risque d'infection après transplantation rénale est majeur dans la période suivant immédiatement la transplantation en raison du niveau élevé d'immunosuppression. Les principales infections bactériennes sont les infections respiratoires communautaires et urinaires. Le risque d'infections atypiques telles que les mycobactéries et les infections fongiques est également supérieur à celui de la population générale. Par ailleurs, en raison du traitement immunosuppresseur, les patients transplantés présentent un risque accru de réactivation d'infections virales telles que le cytomégalovirus [16].

Cette population est également exposée à un risque accru de néoplasies, représentant 27% des décès. Les tumeurs cutanées malignes représentent la majorité des cancers observés après

transplantation, dont 95 % sont des cancers cutanés non mélaniques. Les autres tumeurs malignes surreprésentées sont les lymphomes et le sarcome de Kaposi [16].

D'autres complications, non liées au traitement immunosuppresseur, sont possibles, telles que le rejet aigu ou chronique du greffon, les complications post-opératoires, les sténoses et thromboses de l'artère rénale, mais également l'altération du tissu osseux [16].

L'ensemble de ces complications, notamment métaboliques, conduisent à une importante polymédication chez les patients transplantés, notamment les médicaments antihypertenseurs, antidiabétiques, antithrombotiques ou encore les IPP en plus des traitements immunosuppresseurs [18]. Certains de ces médicaments, notamment les IPP, les AVK, l'insuline ou les diurétiques de l'anse, associés à l'ostéoporose en population générale, pourraient contribuer à la fragilité osseuse après transplantation rénale. Néanmoins, très peu d'études se sont focalisées sur le sujet. Nous allons ainsi aborder par la suite, les facteurs connus pouvant induire une fragilité osseuse dans cette population.

B. Evolution des TMO-MRC après transplantation

Les TMO-MRC après transplantation rénale sont un mélange d'altérations préexistantes et de nouvelles formes de TMO-MRC après la transplantation, en raison du traitement immunosuppresseur (notamment la corticothérapie) et/ou du dysfonctionnement du greffon [238]. Les TMO-MRC présentes dans la MRC, ou dans la période précoce post-transplantation, influencent la survie du greffon et/ou du patient, et peuvent contribuer au développement d'altérations osseuses après la transplantation, soulignant l'importance des mesures préventives dès la transplantation [239,240]. Lorsqu'on étudie les changements du métabolisme minéral après une transplantation rénale, il est nécessaire de faire la distinction entre la période précoce, au cours de laquelle on observe les dérèglements biochimiques les plus sévères, et la période tardive après la transplantation, au cours de laquelle les changements des TMO-MRC sont davantage influencés par la dysfonction du greffon, d'une manière similaire aux stades avancés de la MRC.

1. Evolution des paramètres phosphocalciques

a. Calcium et phosphate

L'hypercalcémie et l'hypophosphatémie sont les principales anomalies minérales survenant après une transplantation [238]. L'hypercalcémie touche jusqu'à 59 %, 45 % et 21 % des receveurs à 3 mois, 12 mois et 5 ans, respectivement [241,242]. Les concentrations de calcium sérique atteignent leur maximum 2 mois après la transplantation et restent élevées chez 18 % des receveurs 12 mois après la transplantation, et chez 6 % d'entre eux, elles restent élevées même 10 ans après la transplantation [6,243]. L'hypercalcémie est liée à la combinaison d'une augmentation de la réabsorption urinaire de calcium et d'une mobilisation du calcium osseux secondaire à l'hyperparathyroïdie dans un contexte de restauration de la fonction rénale, ainsi que d'une déplétion en vitamine D [244]. Il est important de noter que l'hypercalcémie peut être associée au développement de calcifications vasculaires qui affectent par conséquent la survie du greffon [245].

Jusqu'à 90% des receveurs développent une hypophosphatémie [246,247]. Elle apparaît généralement dans les trois premiers mois suivant la transplantation et s'améliore chez environ 86 % des receveurs 12 mois après la transplantation [6,248,249]. L'hypophosphatémie se développe en raison des taux élevés de FGF23 [246] et de la perte de phosphate urinaire induite par l'hyperparathyroïdie [246]. Au-delà de la première année après transplantation, une phosphaturie persiste chez certains patients malgré la normalisation des taux de phosphate sérique [249].

b. Vitamine D

La carence en vitamine D est très fréquente, jusqu'à 80% des patients trois mois après la transplantation [246] et peut persister à court et long terme après la transplantation [246,250], et contribue à la perte osseuse après transplantation [251]. Certaines études suggèrent que la vitamine D joue un rôle immunorégulateur, notamment en diminuant la maturation des cellules dendritiques et la capacité de présentation des antigènes, en améliorant la différenciation des lymphocytes T régulateurs et la clairance des agents pathogènes et en réduisant la prolifération des cellules immunoinhibitrices [251]. Par conséquent, une hypovitaminose D chez les patients immunodéprimés peut réduire la tolérance aux greffons, augmenter le risque infectieux et être associée à un risque plus élevé de cancers [251]. Les principaux facteurs de risque de carence persistante en vitamine D après une transplantation sont une diminution de la fonction du greffon et des taux élevés de FGF23 [246].

c. FGF23

Immédiatement après la transplantation rénale [252], les concentrations en FGF23 restent élevées, possiblement en rapport avec une stimulation prolongée des ostéocytes avant la transplantation, ne parvenant pas à réduire de façon rapide la sécrétion de FGF23 [253]. Puis, les concentrations en FGF23 diminuent progressivement avec l'amélioration de la fonction rénale avec un retour à la normale à un an de la transplantation dans la majorité des cas [249]. Dans quelques cas, des concentrations élevées en FGF23 peuvent persister après transplantation, possiblement de façon consécutive à une hyperparathyroïdie ou à une corticothérapie, conduisant à un « hyperphosphatoninisme tertiaire » responsable d'une hypophosphatémie prolongée [6,246,247].

d. PTH

La PTH diminue de façon significative dans les 3 mois suivant la transplantation rénale, qu'elle soit haute ou basse au moment de la transplantation. Cette amélioration est due à l'involution des glandes parathyroïdes suite à la restauration de la fonction rénale et à la correction de la plupart des anomalies métaboliques qui stimulent l'hyperparathyroïdie [6]. En revanche, une PTH élevée jusqu'à 2 ans après la transplantation rénale est possible, probablement en raison d'une hyperparathyroïdie tertiaire au moment de la transplantation [254]. Les facteurs de risque d'hyperparathyroïdie persistante comprennent une hyperparathyroïdie sévère avant la transplantation [255], une altération de la fonction du greffon et une carence en vitamine D. Cette hyperparathyroïdie contribue à la perte osseuse après transplantation [256] et à une augmentation du risque fracturaire [257].

2. Evolution de l'ostéodystrophie rénale

a. Evolution de la densité minérale osseuse et du risque de fracture

Avant la mise en place de protocoles d'arrêt précoce des corticostéroïdes à la fin des années 1990, plusieurs études se sont intéressées au risque d'ostéoporose après transplantation rénale et ont montré une diminution de la DMO maximale dans les 6 à 18 mois après la greffe, avec une perte osseuse allant jusqu'à 9 % au rachis lombaire et à la hanche [256,258–261]. À moyen et long terme, la DMO se stabilise entre la troisième et la cinquième année après la transplantation, augmente d'environ 6% entre la sixième et la dixième année après la transplantation, puis d'environ 2% par la

suite [256]. La perte osseuse précoce est associée à une prévalence importante de fractures avec un taux de fractures de hanche trois fois plus élevé chez les transplantés que chez les patients dialysés au cours des trois premières années de la transplantation, puis une incidence fracturaire équivalente entre les groupes [11]. Le principal facteur de risque de perte osseuse et de fractures après transplantation rénale mis en évidence est l'effet de la corticothérapie prolongée [15]. Plusieurs autres facteurs de risque ont été mis en évidence tels que l'âge [15,262–264], le sexe féminin [265,266], un IMC faible [15,262,267], un antécédent de fracture [15,262,268], une DMO basse au moment de la transplantation [268,269], le diabète [15,262–264,266,269], la sédentarité [264] ou encore la durée de la dialyse avant la transplantation [11,15,262,263].

Au cours de la dernière décennie, les protocoles d'immunosuppression ont changé en faveur d'une réduction de dose des corticostéroïdes voire leur arrêt. Plusieurs études prospectives menées sur des patients transplantés recevant une faible dose de corticostéroïdes, ou les ayant arrêtés de façon précoce après transplantation rénale, ont rapporté qu'au cours des 12 premiers mois de la transplantation, la DMO au niveau axial (rachis lombaire et hanche) est restée stable ou a augmenté [270,271]. En revanche, la DMO au niveau périphérique (radius et tibia) a diminué [270,271]. Par ailleurs, une étude monocentrique incluant 259 patients (dont 29% ayant bénéficié d'une corticothérapie de courte durée (7 jours) et 37% ayant bénéficié de bisphosphonates après la greffe) a évalué l'impact de l'arrêt précoce des corticostéroïdes sur la variation de la DMO (entre le 9^{ème} et le 24^{ème} mois après la greffe), comparativement à la corticothérapie prolongée. Cette étude a montré un gain significatif de la DMO au rachis lombaire, au col fémoral et à la hanche totale pour l'ensemble de cette population avec un gain plus important chez les patients avec une corticothérapie de courte durée et chez les patients ayant reçu des bisphosphonates [272]. Parallèlement à l'effet bénéfique des réductions de doses des corticostéroïdes sur la DMO, des études épidémiologiques ont montré une incidence plus faible de fractures dans ce contexte. Dans une étude de cohorte canadienne incluant 4821 patients transplantés entre 1994 et 2009, l'incidence fracturaire était plus faible comparativement aux décennies antérieures, probablement en raison de la diminution de l'exposition aux corticostéroïdes [273]. Les résultats d'une étude réalisée à partir d'un registre américain (*United States Renal Data System, USRDS*) montrent une tendance similaire [274]. Une étude réalisée à partir d'une base de données américaine incluant 77 430 patients transplantés entre 2000 et 2007 a montré une diminution de 31% du taux d'incidence cumulée de fractures à 5 ans chez les patients sans corticostéroïde (taux d'incidence à 8 pour 1000 patients-année), comparativement à ceux avec une corticothérapie prolongée (taux d'incidence à 5,8 pour 1000 patients-année) [15]. En revanche, il y a très peu de données comparant l'évolution de la DMO entre les patients exposés au long cours aux corticostéroïdes et les patients ayant un arrêt précoce de la corticothérapie.

Même si l'incidence des fractures devient plus faible chez les patients transplantés [12], celles-ci restent une cause importante de morbidité et de mortalité. Chez les transplantés âgés de plus de 55 ans, comparativement à l'absence de fracture, les fractures vertébrales, de hanche ou distales sont associées à un risque de mortalité 2,8, 1,34 et 1,85 fois plus élevé, respectivement [275]. Indépendamment de la mortalité et comparativement à l'absence de fracture, le risque de perte du greffon est rapporté comme étant 1,34 et 1,30 fois plus élevé après fracture de hanche ou périphérique, respectivement [275].

b. Evolution des anomalies de remodelage osseux

Les altérations du remodelage osseux préexistantes à la transplantation dictent probablement son évolution en période post-transplantatoire, ainsi que la corticothérapie. Il semblerait que la fréquence de l'ODR à haut niveau de remodelage osseux diminue après la transplantation en faveur de l'OA, et que l'OM soit peu fréquente. Plusieurs études ont comparé les paramètres d'histomorphométrie osseuse avant et après transplantation rénale. La première étude datant de 1991 portait sur 20 patients ayant eu une biopsie osseuse en période péri-transplantatoire et une seconde 6 mois plus tard. Les résultats ont montré une normalisation du remodelage osseux à haut niveau initialement présent, avec une réduction du taux de formation osseuse, sans signe histomorphométrique d'une réduction du volume osseux [261]. En 2016, une étude réalisée chez 36 patients montrait en période péri-transplantatoire un remodelage osseux normal dans la moitié des cas, un niveau de remodelage osseux bas dans 45% des cas et un niveau de remodelage osseux élevé dans environ 3% des cas. Par ailleurs, 8% des patients avaient un volume osseux diminué et plus de 16% présentaient une minéralisation anormale. Un an après la transplantation, la minéralisation et le volume osseux étaient stables. Les patients présentant une hypercalcémie secondaire à une hyperparathyroïdie tertiaire avaient un remodelage osseux normal ou à faible niveau. Par ailleurs, la perte osseuse trabéculaire était corrélée à la dose cumulée de corticostéroïdes [276]. En 2019, une étude brésilienne randomisée en ouvert, portant sur 32 patients dont la moitié était traitée par bisphosphonates et ayant eu deux biopsies osseuses (la première en période péri-transplantatoire, la seconde 12 mois plus tard) a montré une diminution du remodelage osseux dans les deux groupes (passage de 48% à 68% de patients avec une OA) avec une altération de la microarchitecture trabéculaire sans effet significatif des bisphosphonates [271]. En 2019, une étude de cohorte prospective finlandaise, incluant 27 patients ayant eu une première biopsie osseuse en période de dialyse 15 mois avant transplantation et une seconde un an après transplantation, a montré que l'ODR à bas niveau de remodelage osseux (passant de 26 à 52%) remplaçait celle à haut niveau (passant de

63 à 19 %), sans changement majeur du volume osseux et sans déminéralisation. Curieusement, les résultats de la DXA et les marqueurs du renouvellement osseux n'étaient pas corrélés avec les résultats histomorphométriques [277]. Plus récemment en 2022, les chercheurs d'une étude de cohorte prospective belge, incluant 30 patients ayant eu une première biopsie osseuse au moment de la transplantation rénale et une seconde à un an de la transplantation, ont analysé ces paires de biopsies par histomorphométrie et microscanner. Il n'y avait pas de différence significative dans la grande majorité des paramètres étudiés à un an de la transplantation rénale, en dehors d'une diminution des surfaces érodées (4,0% vs 2,1%, $p = 0,02$), du nombre de patient avec fibrose médullaire (41% vs 0%, $p < 0,001$) et d'une diminution de l'épaisseur trabéculaire au microscanner (134 μM vs 125 μM , $p = 0,003$) [278]. Les résultats de cette étude sont similaires à ceux d'une autre étude réalisée par une équipe belge publiée en 2022, incluant 97 patients, et s'intéressant à l'évolution des paramètres histomorphométriques, densitométriques et du métabolisme phosphocalcique à un an de la transplantation. Les résultats de cette étude ont montré une diminution des surfaces érodées (4,6% vs 2,3%, $p < 0,001$) et de la fibrose (27% vs 2%, $p < 0,001$) à un an de la transplantation rénale. Par ailleurs, la dose cumulée de corticostéroïdes était associée à une perte osseuse au niveau de la hanche, alors que le contrôle de l'hyperparathyroïdie était associé à un gain de masse osseuse à la hanche et au rachis [279].

Par ailleurs, les résultats d'une étude transversale récente publiée en 2021, incluant 67 patients transplantés, ont montré une corrélation entre la DMO au col fémoral et le volume osseux mesuré par histomorphométrie à 1 an de la transplantation rénale, avec une sensibilité de la DXA à 47%, une spécificité à 81,2%, une valeur prédictive positive de 50% et une valeur prédictive négative de 80% [280].

V. Objectifs des travaux de thèse

Nous avons vu dans le paragraphe III.C. de ce chapitre que les TU liées aux protéines plasmatiques semblent contribuer à la fragilité osseuse au cours de la MRC. Par ailleurs, les altérations du remodelage osseux après transplantation rénale semblent être liées à celles préexistantes à la transplantation (paragraphe IV.B.2.b. de ce chapitre). Ainsi, même si les concentrations des TU liées aux protéines plasmatiques chutent brutalement après transplantation rénale, nous nous sommes demandé si la potentielle atteinte osseuse induite par ces TU en période pré-transplantatoire pouvait perdurer après transplantation rénale, et plus particulièrement si leurs concentrations en période pré-transplantatoire pouvaient être prédictives d'une baisse de la DMO et/ou de la survenue de fractures après transplantation. Le premier objectif de cette thèse était donc d'évaluer l'association entre les concentrations élevées en TU liées aux protéines plasmatiques au moment de la transplantation rénale (reflétant leur accumulation au cours de l'IRC terminale) et (i) les variations de la DMO et (ii) la survenue de fractures au cours des deux années suivant la transplantation.

Comme il a été abordé dans le paragraphe IV.B.2.a. de ce chapitre, la corticothérapie au long cours est l'une des principales causes de fractures après transplantation rénale. Depuis la dernière décennie, l'utilisation de protocoles d'immunosuppression avec réduction de dose voire arrêt des corticostéroïdes est de plus en plus fréquente (paragraphe IV.A.2. de ce chapitre) et est associée à un risque diminué de fracture, comparativement à la corticothérapie prolongée. En revanche, très peu d'études se sont focalisées sur la DMO dans ce contexte. Ainsi, le deuxième objectif de ce travail était d'évaluer l'influence de l'arrêt précoce des corticostéroïdes (comparativement à la corticothérapie prolongée) sur les variations de la DMO et sur les fractures incidentes dans l'année suivant la transplantation rénale.

Plusieurs classes médicamenteuses, autres que les corticostéroïdes, peuvent induire une fragilité osseuse et des fractures en population générale (paragraphe II.C.2.f. de ce chapitre). Pour autant, ce risque a peu été étudié en période post-transplantatoire. Le troisième objectif de cette thèse était d'étudier l'influence de l'utilisation de classes médicamenteuses autres que les corticostéroïdes (les AVK, les diurétiques de l'anse, l'insuline, les IPP, les opioïdes, les ISRS, les antiépileptiques inducteurs enzymatiques et les benzodiazépines) au cours du temps sur (i) les fractures incidentes et (ii) les variations des T-scores après transplantation rénale.

Pour répondre à ces différentes problématiques, nous avons constitué une cohorte rétrospective de patients ayant eu une transplantation rénale au CHU Amiens-Picardie et suivis au sein du service de néphrologie.

VI. Méthodes

Afin de constituer la cohorte rétrospective de patients transplantés, un protocole de recherche non interventionnelle hors loi Jardé (« évaluation de la **Densité Minérale Osseuse** après **Transplantation Rénale** », *DeMOsTraR*) a été approuvé par la Direction de la Recherche Clinique et de l'Innovation du CHU Amiens-Picardie et a été enregistré auprès de la Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés en juillet 2019 sous la référence : PI2019_843_0055).

Les patients inclus étaient transplantés entre le 1^{er} janvier 2006 et le 13 février 2019. Pour être inclus dans le protocole, les patients devaient avoir un suivi disponible d'au moins un an après la transplantation. Si un patient avait eu plusieurs transplantations rénales au cours de la période de suivi, seule la première était prise en compte (date de fin de suivi fixée à la date de retour en dialyse). Si un patient retournait en dialyse au cours de la période de suivi, la date de fin de suivi était celle du retour en dialyse. Un patient ayant déjà eu une transplantation avant la période de suivi et une nouvelle pendant la période de suivi pouvait être inclus.

Après transplantation rénale, le suivi des patients était standardisé dans le cadre du suivi habituel (indépendamment du protocole de recherche). Ils bénéficiaient de grands bilans de réévaluation à 1 mois et 4 mois après la transplantation, puis de façon annuelle. Les patients avaient également des consultations à une fréquence variable entre ces grands bilans avec leur néphrologue référent. Au cours de ces bilans, tous les événements médicaux intercurrents étaient relevés de façon exhaustive. Au cours du bilan du 4^{ème} mois, ils bénéficiaient d'une ponction-biopsie du greffon. Un scanner abdominopelvien et une DXA (au rachis lombaire, à la hanche totale, au col fémoral et au poignet) étaient réalisés à 1 mois et à 1 an de la transplantation, puis tous les deux ans. Par ailleurs, une collection de sérums prélevés le jour de la transplantation puis de façon annuelle était stockée au sein de la Biobanque de Picardie.

Sur la base des dossiers médicaux informatisés (logiciel DxCare®), les informations suivantes ont été recueillies (**Tableau 3**) :

- **Caractéristiques de la population :**
 - **Facteurs de risque d'ostéoporose au moment de la transplantation :** âge, sexe, origine ethnique, IMC, consommation d'alcool, intoxication tabagique, sédentarité, antécédents de dysthyroïdie, d'hyperparathyroïdie, de diabète, de rhumatisme inflammatoire chronique ou autres pathologies auto-immunes, de fractures.
 - **Facteurs de risque cardiovasculaire** (en plus de l'âge, du sexe, de l'antécédent de diabète, de l'IMC et de l'intoxication tabagique) au moment de la transplantation : antécédent d'évènement cardiovasculaire (syndrome coronarien aigu, accident vasculaire cérébral ischémique, artériopathie oblitérante des membres inférieurs, autre antécédent de thrombose artérielle), dyslipidémie et hypertension artérielle.
 - **Données liées à la MRC et à la transplantation :** antécédent de transplantation, étiologie de la MRC, durée de la dialyse avant la transplantation, caractéristiques du donneur (âge, sexe, type de donneur (vivant ou décédé), dernière créatininémie), temps d'ischémie (froide et tiède), taux de greffon incompatible, DSA historiques ou présents le jour de la transplantation, résultats du crossmatch, protocole d'immunosuppression (induction et maintenance).
 - **Exposition médicamenteuse après transplantation rénale :** immunosuppresseurs (corticostéroïdes, MMF, tacrolimus, ciclosporine, azathioprine, évérolimus, sirolimus), AVK, IPP, diurétiques de l'anse, opioïdes, insuline, ISRS, antiépileptiques, benzodiazépines, calcium, vitamine D et bisphosphonates. Chaque patient pouvait recevoir au cours de leur période de suivi plusieurs fois chacune de ces classes médicamenteuses. Chaque période d'exposition a été recueillie. La quasi-exclusivité des médicaments prescrits (pas seulement ceux à visée néphrologique) étaient disponibles *via* les ordonnances informatisées.
 - **Paramètres de l'homéostasie phosphocalcique et marqueurs du remodelage osseux :** calcémie, phosphatémie, 25(OH)D3, PTH (paramètres recueillis à M0, M1, M12 et M24 après transplantation), PAO, OCN (paramètres recueillis le jour de la transplantation (M0)).
 - **Complications après transplantation rénale (hors fractures) :** infections (virales et bactériennes), complications cardiovasculaires (diabète incident ou décompensation de diabète préexistant à la transplantation, hypertension artérielle non contrôlée,

hypercholestérolémie, hypertriglycémie, évènement cardiovasculaire), rejet aigu du greffon.

- **Critères de jugement**

- **Fractures incidentes** : les fractures périphériques (très largement symptomatiques) étaient recueillies sur la base des comptes rendus des grands bilans. Les fractures vertébrales, parfois asymptomatiques, étaient recueillies à la fois sur la base des comptes rendus des grands bilans, mais également sur celle des données des scanners abdominopelviens. Les comptes rendus d'imagerie ont été visualisés et les scanners ont été relus par 3 rhumatologues (logiciel DxMM®). Un premier rhumatologue a visualisé l'ensemble des scanners, et en cas de doute sur une fracture vertébrale, le scanner en question était relu par 2 autres rhumatologues. Il n'y avait pas de divergence d'interprétation entre les 3 rhumatologues.
- **Données des ostéodensitométries** : la DMO et les T-scores (au rachis lombaire, à la hanche totale, au col fémoral et à l'extrémité distale du radius) ont été recueillis sur la base de comptes rendus de consultations rhumatologiques dédiées à l'ostéoporose (faisant suite à la réalisation des ostéodensitométries). Les données des ostéodensitométries n'étaient pas disponibles entre 2006 et 2010. Par ailleurs, les Z-scores étaient très peu renseignés et donc non utilisés.

Tableau 3 : Données recueillies dans le cadre du protocole DeMOsTraR

DONNEES RECUEILLIES	M0	M1	M12	M24	M36	M48	...
Données cliniques							
Facteurs de risque d'ostéoporose	✓						
Facteurs de risque cardiovasculaire	✓						
Données liées à la MRC et à la transplantation	✓						
Données biologiques							
Calcémie	✓		✓	✓			
Phosphorémie	✓		✓	✓			
Parathormone	✓		✓	✓			
25 OH vitamine D	✓		✓	✓			
Phosphatase alcaline osseuse	✓						
Ostéocalcine	✓						
Anticorps anti-HLA	✓		✓	✓			
Cross-match	✓						
Créatininémie	✓	✓	✓	✓			
Données de la DXA		✓	✓	✓		✓	✓
Expositions médicamenteuses	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Fractures	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Complications							
Rejet du greffon		✓	✓	✓	✓	✓	✓
Infection			✓				
Diabète	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Evènement cardiovasculaire	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Anomalies lipidiques			✓				
Décès		✓	✓	✓	✓	✓	✓

Le recueil des données a été effectué sur 2 ans et demi pendant les 3 années de thèse. Compte-tenu de l'importance des données à recueillir et des différents objectifs, les périodes d'inclusion des patients variaient en fonction des objectifs.

Les protocoles d'immunosuppression comportant un arrêt précoce de la corticothérapie à J7 de la transplantation rénale ont débuté à partir de mars 2016 au CHU Amiens-Picardie. Afin de répondre à l'objectif du 2^{ème} axe de recherche, nous avons ainsi inclus de façon consécutive les patients à partir de janvier 2012 jusqu'à février 2019. Inclure plus de patients (avant 2012) ne nous a pas semblé indispensable dans la mesure où cela n'aurait fait qu'augmenter la taille du groupe de patients avec

une corticothérapie prolongée, qui était déjà conséquente comparativement à celle du groupe avec un arrêt précoce des corticostéroïdes. Pour cet axe de recherche, le critère d'inclusion était la disponibilité des résultats de DXA à M1 et à M12 après la transplantation.

Le 1^{er} axe de recherche a été mené en parallèle du 2^{ème} axe, expliquant la période d'inclusion quasi similaire. Pour ce 1^{er} objectif, les patients devaient avoir une collection de sérum le jour de la transplantation encore disponible à la Biobanque de Picardie.

Concernant le 3^{ème} axe de recherche, un nombre plus important de patients et une période de suivi plus importante étaient nécessaires dans la mesure où le critère de jugement principal était la survenue d'une fracture après transplantation (événement peu fréquent). Ainsi, tous les patients avec au moins un an de suivi étaient inclus de façon consécutive entre janvier 2006 et février 2019.

Chapitre II

Premier axe de recherche

Effets des concentrations en toxines urémiques liées
aux protéines plasmatiques en période pré-
transplantatoire sur la densité minérale osseuse après
transplantation rénale

I. Introduction

Les TU liées aux protéines plasmatiques (difficilement éliminées par dialyse) semblent délétères pour l'os, en particulier l'IxS et le pCS, en altérant le métabolisme de la vitamine D [191,192,194] et en limitant l'interaction entre le calcitriol et le VDR, en altérant les fonctions ostéoblastiques et ostéoclastiques [8,9,212] (Chapitre I, paragraphes III.B. et III.C.). Même si les concentrations en TU liées aux protéines plasmatiques se normalisent rapidement après transplantation rénale [1–3] (Chapitre I, paragraphe IV.C.), nous nous sommes demandé si leur toxicité osseuse pouvait perdurer après la transplantation rénale et/ou si leur concentration au moment de la transplantation rénale (concentrations maximales reflétant les concentrations en période de dialyse) peuvent être prédictives d'une toxicité osseuse ultérieure.

II. Objectifs

Les objectifs de cette étude étaient donc de déterminer si les concentrations en TU liées aux protéines plasmatiques et celle d'une TU de faible poids moléculaire (le TMAO) lors de la transplantation sont (i) des marqueurs d'ostéoporose densitométrique (selon les seuils OMS) à très court terme après la transplantation (DXA réalisée 1 mois après la transplantation rénale), (ii) prédictives d'une diminution de la DMO à 12 et 24 mois après la transplantation rénale et/ou (iii) prédictives de la survenue de fractures à 12 et 24 mois après la transplantation rénale.

III. Résumé de l'article

Méthodes

Sélection des patients

Pour cette étude, les patients ont été inclus entre le 1er janvier 2012 et juin 2018 selon le protocole DeMosTraR. Ils devaient avoir eu au moins une ostéodensitométrie 1 mois (M1) et 12 mois (M12) après la transplantation et une collection de sérums disponibles au moment de la transplantation.

Données recueillies

En plus des données d'ostéodensitométries à M1, M12 et M24 et les fractures incidentes, les facteurs de risque d'ostéoporose ont été recueillis, ainsi que les paramètres phosphocalciques, la PTH, la PAO, l'OCN et la créatininémie à M0. Afin de prendre en compte les différents types d'ODR, les patients présentant au moment de la transplantation une PTH <150 pg/mL (valeur prédictive positive d'OA à 97%) et une PAO <10 ng/mL (renforçant le diagnostic d'OA, sensibilité à 100% et spécificité à 93,7%) ont été classés comme atteints d'OA [281].

Dosage des toxines urémiques

Dans la littérature, les TU liées aux protéines plasmatiques délétères pour l'os sont l'IxS et le pCS. Même s'il n'y a aucune donnée concernant le CMPF, l'HA, l'IAA, le pCG ou le TMAO (cette dernière TU n'étant pas liée aux protéines plasmatiques), nous avons tout de même dosé ces TU dans la mesure où le dosage de l'ensemble de ces 7 TU était réalisable de façon simultanée dans le laboratoire de pharmacologie/toxicologie du CHU Amiens-Picardie.

Les concentrations sanguines de ces 7 TU (CMPF, HA, IAA, IS, pCS, pCG et TMAO) ont été déterminées par chromatographie liquide (Shimadzu, Marne-la-Vallée, France) couplée à un spectromètre de masse en tandem (3200 QTRAP, Sciex, Les Ulis, France). Cette méthode de dosage a été précédemment mise au point au sein du laboratoire de pharmacologie/toxicologie du CHU Amiens-Picardie [282].

Analyses statistiques

Les corrélations entre les concentrations de TU au moment de la transplantation et la DMO (au niveau du rachis lombaire, de la hanche et du col fémoral) à 1, 12 et 24 mois après la transplantation rénale ont été quantifiées par le coefficient de corrélation de Spearman. Les concentrations en TU au moment de la transplantation ont été comparées (i) entre les patients avec un gain de DMO et ceux avec une perte de DMO à 1 an et à 2 ans après la transplantation, et (ii) entre les patients ayant présenté une fracture ostéoporotique incidente dans les 2 ans après la transplantation et ceux n'en ayant pas présenté. Les mêmes analyses ont été effectuées après stratification par sexe, groupe d'âge, type d'ODR (OA vs autre), insuffisance rénale (DFG < 60 ml/min) dans les 12 mois précédant la transplantation et arrêt précoce des corticostéroïdes. Afin de prendre en compte les facteurs de confusion, des régressions linéaires multiples ont été réalisées.

Résultats

Sur les 417 patients ayant eu une transplantation rénale entre le 1er janvier 2012 et le 15 juin 2018, 310 ont été inclus dans cette étude. La DMO au rachis lombaire était disponible à M1 et M12 pour les 310 patients et à M24 pour 222 patients, celle au col fémoral était disponible à M1 pour 224 patients, à M12 pour 190 patients, et à M24 pour 159 patients et celle à la hanche totale était disponible à M1 pour 278 patients, à M12 pour 304 patients, et à M24 pour 224 patients.

Les concentrations de chacune des 7 TU au moment de la transplantation n'étaient pas associées au statut ostéoporotique et n'étaient pas corrélées à la DMO à M1, quel que soit le site de mesure, à l'exception de l'HA au col fémoral ($\rho = -0,14$, $p = 0,036$) et de l'ixS au col fémoral et la hanche totale ($\rho = +0,13$, $p = 0,049$ et $\rho = +0,13$, $p = 0,037$, respectivement). Après ajustement sur les facteurs de confusion, les concentrations d'ixS lors de la transplantation étaient toujours positivement corrélées à la DMO au col fémoral à M1 ($p = 0,042$).



Les concentrations en TU au moment de la transplantation n'étaient pas associées à une variation significative de DMO, quel que soit le site de mesure, à 12 et 24 mois après la transplantation rénale. Les mêmes résultats ont été observés après stratification sur le sexe, groupe d'âge, type d'ODR, insuffisance rénale à un an de la transplantation et arrêt précoce des corticostéroïdes.

Il n'y avait aucune association entre les concentrations en TU au moment de la transplantation et la survenue de fractures ostéoporotiques dans les 12 ou 24 mois suivant la transplantation.

IV. Article publié en 2020 dans *Toxins*, doi : [10.3390/toxins12110715](https://doi.org/10.3390/toxins12110715)

Article

Association between Uremic Toxin Concentrations and Bone Mineral Density after Kidney Transplantation

Benjamin Batteux ^{1,2,3,4,*}, Sandra Bodeau ^{1,2}, Camille André ^{1,2}, Anne-Sophie Hurtel-Lemaire ¹, Valérie Gras-Champel ^{1,2}, Isabelle Desailly-Henry ⁵, Kamel Masmoudi ¹, Youssef Bennis ^{1,2} , Ziad A. Massy ^{6,7}, Saïd Kamel ^{2,8}, Gabriel Choukroun ^{2,9} and Sophie Liabeuf ^{1,2} 

¹ Department of Pharmacology, Amiens University Medical Center, F-80000 Amiens, France; bodeau.sandra@chu-amiens.fr (S.B.); andre.camille@chu-amiens.fr (C.A.); hurtel-lemaire.anne-sophie@chu-amiens.fr (A.-S.H.-L.); gras.valerie@chu-amiens.fr (V.G.-C.); masmoudi.kamel@chu-amiens.fr (K.M.); bennis.youssef@chu-amiens.fr (Y.B.); liabeuf.sophie@chu-amiens.fr (S.L.)

² MP3CV Laboratory, EA7517, Jules Verne University of Picardie, F-80000 Amiens, France; kamel.said@chu-amiens.fr (S.K.); choukroun.gabriel@chu-amiens.fr (G.C.)

³ Department of Rheumatology, Saint-Quentin Medical Center, F-02321 Amiens, France

⁴ RECIF, Amiens University Medical Center, F-80000 Amiens, France

⁵ Department of Rheumatology, Amiens University Medical Center, F-80000 Amiens, France; DesaillyHenry.Isabelle@chu-amiens.fr

⁶ Department of Nephrology, Ambroise Paré University Hospital, APHP, Boulogne Billancourt, F-92100 Paris, France; ziad.massy@aphp.fr

⁷ Centre for Research in Epidemiology and Population Health (CESP), INSERM UMRS 1018, Université Paris-Saclay, F-94807 Villejuif, France

⁸ Biochemistry Laboratory, Amiens University Medical Center, F-80000 Amiens, France

⁹ Department of Nephrology Internal Medicine Dialysis Transplantation, Amiens University Medical Center, F-80000 Amiens, France

* Correspondence: batteux.benjamin@chu-amiens.fr; Tel.: +33-322-087-995

Received: 9 October 2020; Accepted: 12 November 2020; Published: 13 November 2020



Abstract: Although uremic osteoporosis is a component of mineral and bone disorder in chronic kidney disease, uremic toxin (UT) concentrations in patients with end-stage kidney disease and bone mineral density (BMD) changes after kidney transplantation have not previously been described. We hypothesized that elevated UT concentrations at the time of transplantation could have a negative impact on bone during the early post-transplantation period. Hence, we sought to determine whether concentrations of UTs (trimethylamine-N-oxide, indoxylsulfate, p-cresylsulfate, p-cresylglucuronide, indole-3-acetic acid, hippuric acid, and 3-carboxy-4-methyl-5-propyl-furanpropionic acid) upon transplantation are predictive markers for (i) osteoporosis one month after transplantation, and (ii) a BMD decrease and the occurrence of fractures 12 and 24 months after kidney transplantation. Between 2012 and 2018, 310 kidney transplant recipients were included, and dual-energy X-ray absorptiometry was performed 1, 12, and 24 months after transplantation. The UT concentrations upon transplantation were determined by reverse-phase high-performance liquid chromatography. Indoxylsulfate concentrations upon transplantation were positively correlated with BMD one month after transplantation for the femoral neck but were not associated with osteoporosis status upon transplantation. Concentrations of the other UTs upon transplantation were not associated with osteoporosis or BMD one month after transplantation. None of the UT concentrations were associated with BMD changes and the occurrence of osteoporotic fractures 12 and 24 months after transplantation. Hence, UT concentrations at the time of kidney transplantation were not predictive markers of osteoporosis or fractures.

Keywords: uremic toxin; bone mineral density; fracture; kidney transplantation

Key Contribution: This is the first clinical study to have evaluated impacts of pre-transplant uremic toxin levels on bone status after kidney transplantation. Uremic toxin concentrations upon kidney transplantation are not predictive markers for osteoporosis or fractures 12 and 24 months later.

1. Introduction

Chronic kidney disease-mineral and bone disorder (CKD-MBD) is characterized by one or more of the following manifestations: (i) renal osteodystrophy (ROD), (ii) vascular and soft tissue calcification, and (iii) abnormal metabolism of calcium, phosphorus, parathyroid hormone (PTH) or vitamin D [1]. In uremic patients, ROD comprises histologically evidenced abnormalities in bone turnover, mineralization, volume, linear growth, and strength [2].

Mild hyperparathyroidism-related bone disease (histologically reflected by high-turnover bone, which leads to osteitis fibrosa in advanced cases) is more frequently encountered in early-stage kidney disease [3]. Adynamic bone disease (ABD, characterized by reduced osteoblasts and osteoclasts, no accumulation of osteoid and markedly low bone turnover) [4,5] is also frequently encountered in end-stage kidney disease (ESKD). The histologic pattern of ABD is generally associated with low levels of PTH. In patients with CKD, however, serum PTH levels are generally higher than normal—even when ABD is present. Hence, it is considered that bone tissue is resistant to PTH; a relative reduction in the PTH level is therefore able to induce the emergence of a low-turnover state [5]. Osteomalacia and mixed uremic osteodystrophy can also be encountered in patients with CKD [2]. Regardless of the cause, low bone mineral density (BMD) in patients with CKD is a marker of bone fragility [6].

The decrease in BMD after kidney transplantation is generally attributed to the cumulative effect of corticosteroid treatment [7–10]. Other risk factors include the time on dialysis prior to transplantation, age at transplantation, vitamin D deficiency, and a low body mass index (BMI, <23 kg/m²) [11,12]. Moreover, CKD-associated periodontitis [13] might have a role in bone loss in patients with CKD and in kidney transplant recipients. Various contributory factors (such as pro-inflammatory cytokines [14], oxidative stress [15], matrix metalloproteinases and transglutaminases [16], and asymmetric dimethylarginine [17]) have been identified.

The fracture risk after kidney transplantation appears to be related to a low BMD; indeed, Evenepoel et al. found an association between incident fractures on one hand and BMD at the lumbar spine and at the femoral neck on the other [18]. Furthermore, the latest Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD guidelines suggest testing for BMD to assess the fracture risk in this population [19,20].

Uremic osteoporosis is a newly recognized component of CKD-MBD [21]. Conventionally, uremic toxins (UTs) are divided into three groups: small molecules (e.g., urea, phosphate, and trimethylamine-N-oxide (TMAO)), medium molecules (e.g. fibroblast growth factor (FGF)-23), and protein-bound molecules (indoxylsulfate (IxS), p-cresylsulfate (pCS), p-cresylglucuronide (pCG), indole-3-acetic acid (IAA), hippuric acid (HA), and 3-carboxy-4-methyl-5-propyl-furanpropionic acid (CMPF)) [22]. In patients with ESKD, UT concentrations are high and somewhat variable [23]. After kidney transplantation, the concentrations of protein-bound UTs fall rapidly to below levels observed in non-transplanted patients with equivalent glomerular filtration rates [24–26].

It has already been shown that high levels of IxS, pCS, and IAA are associated with cardiovascular comorbidities and mortality [24,25,27,28]. Regarding bone damage, IxS is involved in skeletal resistance to PTH [29] and inhibits bone resorption [30]. In vitro, pCS induces osteoblast dysfunction by activating the Janus kinase (JNK) and mitogen-activated protein kinase (MAPK) p38 pathways [31]. To the best of our knowledge, there are no published data on the other protein-bound UTs and on TMAO.

In patients with CKD, bone loss is associated with several nonconventional factors (such as immunosuppressive treatments, age, vitamin D deficiency, and low body mass index [11,12]) as well as with conventional osteoporosis risk factors (such as sex, previous fragility fracture, rheumatoid arthritis, parental hip fracture, current cigarette smoking, alcohol intake of ≥ 3 units per day, hypogonadism, hyperthyroidism, primary hyperparathyroidism, gastrointestinal diseases, Cushing's syndrome, or idiopathic hypercalciuria [32,33]). Considering the high levels of UTs in pre-transplant patients [23] and the compounds' bone toxicity in vitro [29–31], we hypothesized that UTs would constitute an additional nontraditional risk factor for bone loss in pre-transplant patients. We further hypothesized that elevated UT concentrations upon transplantation would have a negative impact on bone during the early post-transplantation period.

The objective of the present study was therefore to determine whether concentrations of UTs (protein-bound UTs and TMAO) upon transplantation are predictive markers for (i) osteoporosis one month after transplantation, and (ii) a BMD decrease and the occurrence of fractures 12 and 24 months after kidney transplantation.

2. Results

2.1. Study Population

Of 417 patients having received a kidney transplant in Amiens University Medical Center (Amiens, France) between January 1st, 2012, and June 15th, 2018, 310 (including 194 men, 62.6%) were included in the present study. The mean \pm SD age of the study population at the time of transplantation was 51.1 ± 12.8 . The most common indication for kidney transplantation was recurrent glomerulonephritis (29.7%). The median (range) time on hemodialysis before transplantation was 2.5 years (0–30.7). The median times to the first, second, and third BMD measurements were 32 days (M1), 12 months (M12), and 24 months (M24), respectively (Table 1).

Table 1. Description of the study population.

Characteristics of the Study Population	Population <i>n</i> = 310
Clinical risk factors for osteoporosis (M0)	
Recipient age (years), mean \pm SD	51.1 \pm 12.8
Female sex, <i>n</i> (%)	116 (37.4)
Ethnic group	
Caucasian, <i>n</i> (%)	292 (94.2)
Black, <i>n</i> (%)	18 (5.8)
BMI (kg/m ²), mean \pm SD	26.2 \pm 4.3
Thyroid disorders, <i>n</i> (%)	17 (5.5)
Prior osteoporotic fractures, <i>n</i> (%)	30 (9.7)
Family history of FUEF, <i>n</i> (%)	2 (0.6)
Diabetes mellitus, <i>n</i> (%)	50 (16.1)
Chronic inflammatory rheumatism, <i>n</i> (%)	4 (1.3)
Autoimmune diseases, <i>n</i> (%)	20 (6.5)
Primary HPT, <i>n</i> (%)	8 (2.6)
Secondary HPT, <i>n</i> (%)	266 (85.8)
Smoking	
Never, <i>n</i> (%)	159 (51.3)
Current, <i>n</i> (%)	88 (28.4)
Past, <i>n</i> (%)	63 (20.3)
Alcohol consumption, <i>n</i> (%)	22 (7.1)
Menopausal women, <i>n</i> = 116	51 (50.3)
Laboratory data	
Serum calcium (mg/L), mean \pm SD	93.8 \pm 8.0
Serum phosphate (mg/L), mean \pm SD	45.3 \pm 14.6
Serum 25(OH) vitamin D (ng/mL), mean \pm SD	33.4 \pm 16.2

Table 1. Cont.

Characteristics of the Study Population	Population <i>n</i> = 310
Serum PTH (pg/mL), median (range)	334.0 (1.3–2646.0)
Serum bone alkaline phosphatases (µg/L), median (range)	12.3 (2.4–99.0)
Serum osteocalcin (ng/mL), median (range)	74.7 (2.0–2970.0)
Serum creatinine at M12 (mg/L), mean ± SD	16.2 ± 7.5
GFR at M12 (mL/min), mean ± SD	51.3 ± 20.2
Drugs influencing BMD	
Prior steroid intake, <i>n</i> (%)	55 (17.7)
Prior calcium intake, <i>n</i> (%)	84 (27.1)
Calcium intake during the study period, <i>n</i> (%)	106 (34.2)
Prior vitamin D intake ¹ , <i>n</i> (%)	154 (49.7)
Cholecalciferol, <i>n</i> (%)	113 (35.5)
Alfacalcidol, <i>n</i> (%)	17 (5.5)
Calcifediol, <i>n</i> (%)	42 (13.5)
Vitamin D intake during the study period ¹ , <i>n</i> (%)	267 (86.1)
Cholecalciferol, <i>n</i> (%)	252 (81.3)
Alfacalcidol, <i>n</i> (%)	32 (10.3)
Calcifediol, <i>n</i> (%)	43 (13.9)
Prior BP intake, <i>n</i> (%)	2 (0.6)
BP intake during the study period, <i>n</i> (%)	11 (3.5)
Etiology of chronic kidney disease	
Glomerulonephritis, <i>n</i> (%)	92 (29.7)
Hereditary disease, <i>n</i> (%)	58 (18.7)
Polycystic kidney disease, <i>n</i> (%)	55 (17.7)
Renal and urinary tract malformations, <i>n</i> (%)	29 (9.4)
Hypertensive kidney disease, <i>n</i> (%)	24 (7.7)
Diabetic kidney disease, <i>n</i> (%)	23 (7.4)
Interstitial nephritis, <i>n</i> (%)	13 (4.2)
Vascular nephropathy, <i>n</i> (%)	11 (3.5)
Indeterminate, <i>n</i> (%)	44 (14.2)
Other, <i>n</i> (%)	16 (5.2)
Time on hemodialysis (years), median (range)	2.5 (0–30.7)
Previous kidney transplant, <i>n</i> (%)	
1, <i>n</i> (%)	37 (11.9)
2, <i>n</i> (%)	6 (1.9)
Prior cinacalcet intake, <i>n</i> (%)	76 (24.5)
Prior ESA intake, <i>n</i> (%)	75 (24.2)
Peak PRAs	
<20%, <i>n</i> (%)	224 (72.3)
20–80%, <i>n</i> (%)	59 (19.0)
>80%, <i>n</i> (%)	27 (8.7)
DSAs, <i>n</i> (%)	
Previous, <i>n</i> (%)	7 (2.3)
Current, <i>n</i> (%)	4 (1.3)
Positive crossmatch, <i>n</i> (%)	7 (2.3)
Donor	
Age (years), mean ± SD	51.9 ± 14.4
Female, <i>n</i> (%)	140 (45.2)
BMI (kg/m ²), mean ± SD	26.2 ± 5.7
Decreased donor, <i>n</i> (%)	282 (91.0)
Last blood creatinine (mg/L), mean ± SD	80.7 ± 45.0
Ischemia times	
Cold (minutes), median (range)	806 (22–2036)
Warm (minutes), median (range)	59 (4–99)
Induction therapy	
Basiliximab, <i>n</i> (%)	163 (52.6)
Thymoglobulin, <i>n</i> (%)	149 (48.1)
IVIg, <i>n</i> (%)	13 (4.2)

Table 1. Cont.

Characteristics of the Study Population	Population <i>n</i> = 310
Maintenance therapy	
MMF + tacrolimus, <i>n</i> (%)	208 (67.1)
MMF + cyclosporine, <i>n</i> (%)	87 (28.1)
Tacrolimus + everolimus, <i>n</i> (%)	13 (4.2)
MMF + everolimus, <i>n</i> (%)	1 (0.3)
Tacrolimus + azathioprine, <i>n</i> (%)	1 (0.3)
Early steroid withdrawal, <i>n</i> (%)	41 (13.2)
Uremic toxin concentrations at transplantation	
pCS (mg/mL), med (IQR)	16.1 (9.02–25.60)
CMPF (mg/mL), med (IQR)	2.57 (0.97–5.08)
IxS (mg/mL), med (IQR)	19.80 (12.82–28.32)
pCG (mg/mL), med (IQR)	0.80 (0.25–1.58)
HA (mg/mL), med (IQR)	25.45 (10.90–50.15)
TMAO (mg/mL), med (IQR)	4.27 (2.54–7.78)
IAA (mg/mL), med (IQR)	0.75 (0.58–1.06)
Occurrence of fractures	
Within 12 months of transplantation, <i>n</i> (%)	4 (1.3)
Within 24 months of transplantation, <i>n</i> (%)	4 (1.3)

BMD, bone mineral density; BMI, body mass index; BP, bisphosphonate; CMPF, 3-carboxy-4-methyl-5-propyl-furanpropionic acid; DSA, donor-specific antibody; ESA, erythropoiesis-stimulating agent; FUEF, fracture of upper extremity of femur; GFR, glomerular filtration rate; HPT, hyperparathyroidism; HA, hippuric acid; IAA, indole-3-acetic acid; IQR, interquartile range; IVIg, intravenous immunoglobulin; IxS, indoxylsulfate; MME, mycophenolate mofetil; pCG, p-cresylglucuronide; pCS, p-cresylsulfate; PRA, panel-reactive antibody; PTH, parathyroid hormone; TMAO, trimethylamine-N-oxide; ¹ A given patient could have received cholecalciferol and one of its metabolites but not the two concomitantly.

Data on the lumbar spine BMD were available at M1 and M12 for all 310 patients and at M24 for 222 of the latter. Data on the femoral neck BMD were available at M1 for 224 patients, at M12 for 190, and at M24 for 159. Lastly, total hip BMD data were available at M1 for 278 patients, at M12 for 304, and at M24 for 224.

The median (interquartile range) UT concentrations were 16.1 (9.02–25.60) for pCS, 2.57 (0.97–5.08) for CMPF, 19.80 (12.82–28.32) for IxS, 0.80 (0.25–1.58) for pCG, 25.45 (10.90–50.15) for HA, 4.27 (2.54–7.78) for TMAO, and 0.75 (0.58–1.06) for IAA (Table 1). The concentration distributions are represented in Figure 1.

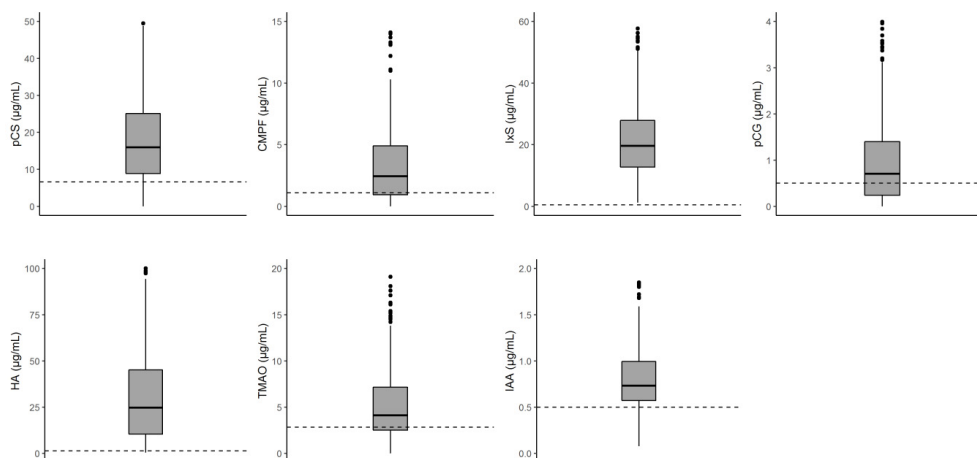


Figure 1. Distribution of UT concentrations at the time of transplantation The dashed lines indicates the corresponding reference mean UT concentrations in adults with normal kidney function [34,35]. CMPF, 3-carboxy-4-methyl-5-propyl-furanpropionic acid; HA, hippuric acid; IAA, indole-3-acetic acid; IxS, indoxylsulfate; pCG, p-cresylglucuronide; pCS, p-cresylsulfate; TMAO, trimethylamine-N-oxide.

2.2. Uremic Toxin Concentrations upon Transplantation

Upon transplantation, all the UT concentrations were significantly correlated with each other, with the exception of CMPF vs. pCS ($\rho = 0.11, p = 0.053$). The strongest correlations were observed for pCG vs. pCS ($\rho = 0.52, p < 0.001$), pCG vs. HA ($\rho = 0.5, p < 0.001$), and IxS vs. HA ($\rho = 0.47, p < 0.001$) (Figure 2, Table S1).

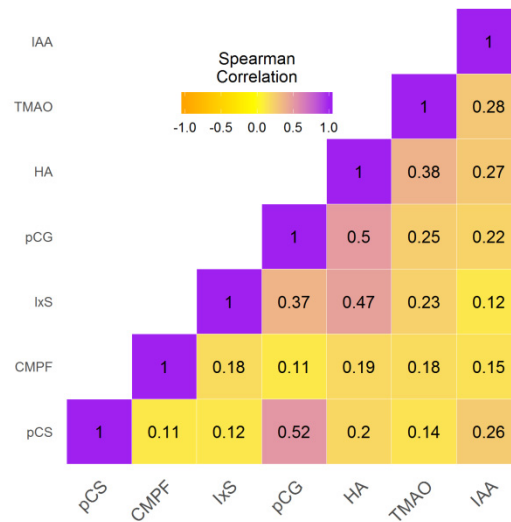


Figure 2. Correlation matrix for UT concentrations at baseline. CMPF, 3-carboxy-4-methyl-5-propyl-furanpropionic acid; HA, hippuric acid; IAA, indole-3-acetic acid; IxS, indoxylsulfate; pCG, p-cresylglucuronide; pCS, p-cresylsulfate; TMAO, trimethylamine-N-oxide.

2.3. Correlations between UT Concentrations and BMD at M1 and Changes in BMD at M12 and at M24

Twelve and 24 months after transplantation, the BMD had decreased significantly (vs. M1) at all measurement sites, with the exception of the lumbar spine at M12 (Figure 3, Table S2).

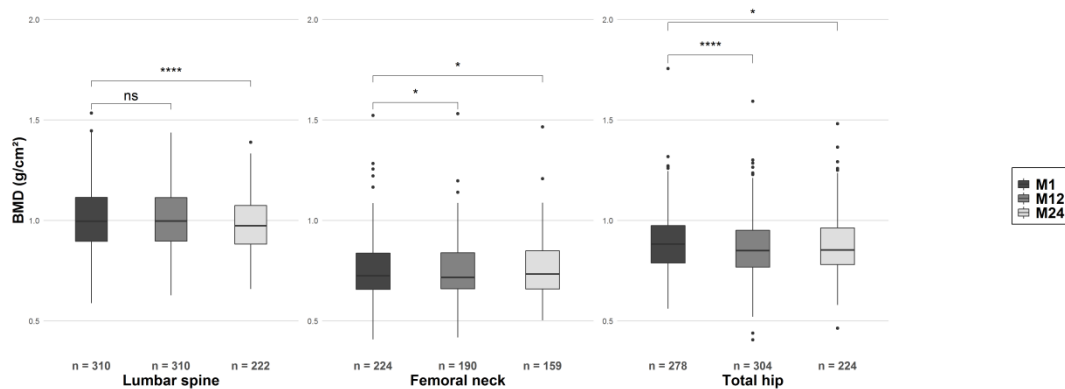


Figure 3. Change over time in BMD at the lumbar spine, femoral neck, and total hip, 12 and 24 months after transplantation. ns, nonsignificant; * $p < 0.05$, **** $p < 0.001$.

At the lumbar spine at M1, 184 patients (59.4%) had a normal BMD, 107 (34.5%) had osteopenia, and 19 (6.1%) had osteoporosis (Figure 4).

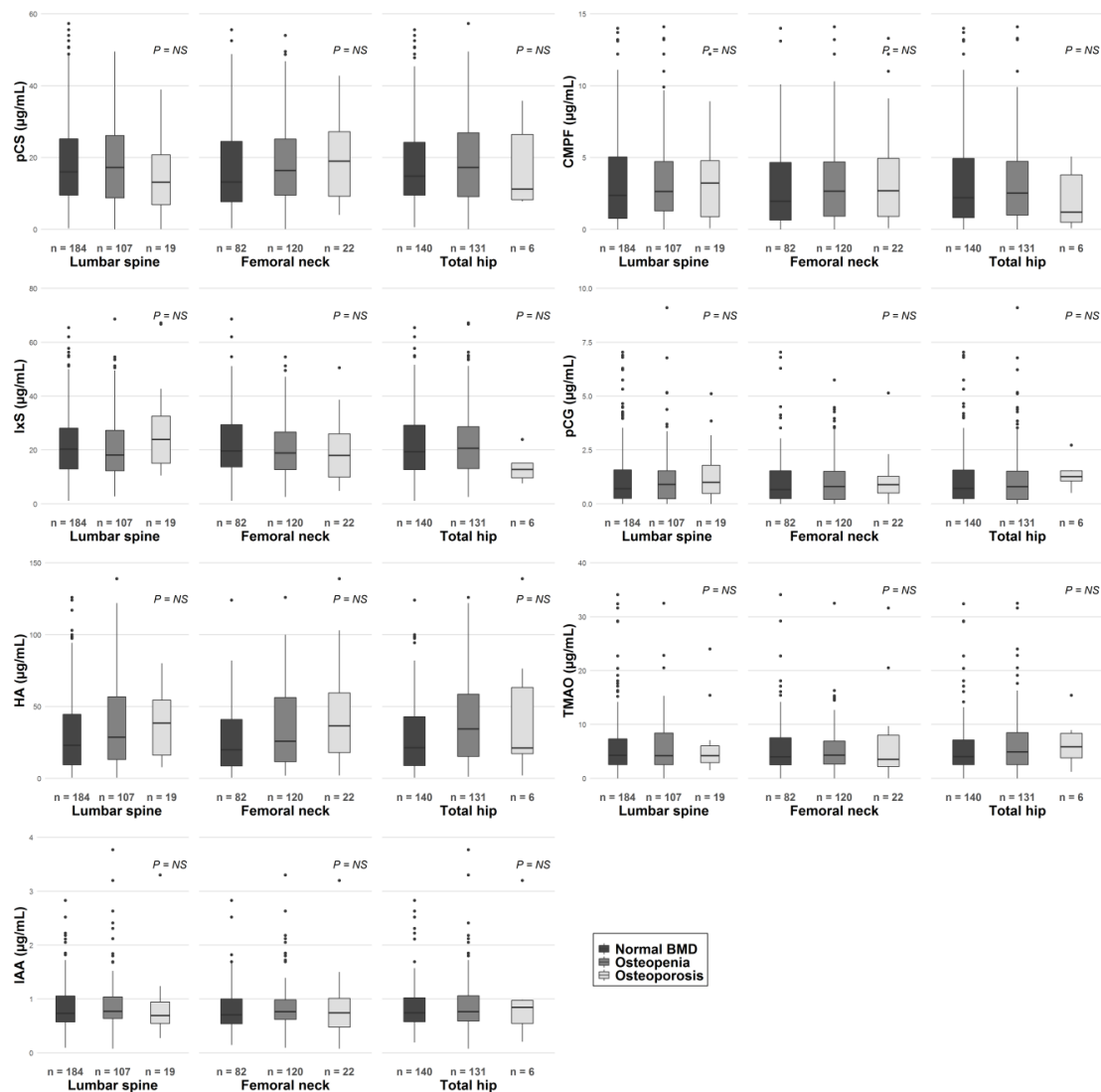


Figure 4. Distribution of UT concentrations upon transplantation, by osteoporosis status. CMPE, 3-carboxy-4-methyl-5-propyl-furanpropionic acid; HA, hippuric acid; IAA, indole-3-acetic acid; IxS, indoxylsulfate; pCG, p-cresylglucuronide; pCS, p-cresylsulfate; TMAO, trimethylamine-N-oxide.

Uremic toxin concentrations upon transplantation were not associated with osteoporosis status at M1 (Figure 4) or with BMD at M1 at any of the measurement sites, except for the HA level for the femoral neck ($\rho = -0.14, p = 0.036$) and IxS for the femoral neck and the total hip ($\rho = +0.13, p = 0.049$ and $\rho = +0.13, p = 0.037$, respectively) (Table 2). After adjustment for confounding factors (i.e., sex, BMI, serum calcium, phosphate, 25(OH) vitamin D3, PTH, bone alkaline phosphatases, and osteocalcin levels, Tables S3–S8), IxS concentrations upon transplantation were still positively correlated with BMD changes at the femoral neck at M1 ($p = 0.042$, Table S9).

Uremic toxin concentrations upon transplantation were not associated with BMD gain at any measurement site 12 months after transplantation (Table 3) or with BMD changes 12 and 24 months after transplantation (Table 4).

The same trends were found after stratification by sex, age group, ABD, kidney failure with a year of transplantation, and early steroid withdrawal (Tables S10–S12).

Four patients experienced an osteoporotic fracture (affecting the L3 vertebrae, the hip, a rib, and the glenoid process of the scapula) 12 and 24 months after transplantation, corresponding to an incidence of 13.5 fractures per 1000 person-years. There was no association between the UT concentrations upon transplantation and the occurrence of osteoporotic fractures within 12 and 24 months of transplantation.

Table 2. Correlations between UT concentrations and BMD at M1.

Site of BMD	pCS		CMPF		IxS		pCG		HA		TMAO		IAA	
	rho	p	rho	p	rho	p	rho	p	rho	p	rho	p	rho	p
Lumbar spine, n = 310	+0.02	0.782	+0.01	0.805	+0.04	0.477	-0.01	0.876	-0.06	0.300	+0.01	0.797	+0.03	0.656
Femoral neck, n = 145	+0.02	0.730	-0.05	0.448	+0.13	0.049	+0.03	0.701	-0.14	0.036	-0.00	0.975	-0.07	0.282
Total hip, n = 276	-0.01	0.913	+0.03	0.592	+0.13	0.037	+0.01	0.901	-0.08	0.190	-0.00	0.942	-0.02	0.738

BMD, bone mineral density; CMPF, 3-carboxy-4-methyl-5-propyl-furanpropionic acid; HA, hippuric acid; IAA, indole-3-acetic acid; IxS, indoxylsulfate; pCG, p-cresylglucuronide; pCS, p-cresylsulfate; rho, Spearman’s correlation coefficient; TMAO, trimethylamine-N-oxide.

Table 3. Comparison of UT concentrations in patients with BMD loss vs. patients with BMD gain 12 months after kidney transplantation.

UT Concentrations	Lumbar Spine			Femoral Neck			Total Hip		
	BMD Loss n = 154	BMD Gain n = 156	p	BMD Loss n = 89	BMD Gain n = 56	p	BMD Loss n = 197	BMD Gain n = 79	p
pCS (µg/mL)	16.2 (0.02–65.7)	15.9 (0.3–68.1)	0.857	13.9 (0.1–52.5)	15.4 (0.5–65.7)	0.556	16.0 (0.1–68.1)	16.0 (0.6–57.3)	0.964
CMPF (µg/mL)	3.0 (0.0–32.3)	2.0 (0.0–18.0)	0.005	2.9 (0.0–22.0)	2.2 (0.0–32.3)	0.070	2.5 (0.0–28.3)	2.4 (0.0–18.0)	0.921
IxS (µg/mL)	20.4 (1.2–101.0)	19.6 (1.8–67.2)	0.401	19.3 (1.8–68.6)	19.9 (1.3–54.5)	0.861	19.8 (1.2–67.2)	20.7 (3.7–101.0)	0.476
pCG (µg/mL)	0.89 (0.00–9.10)	0.71 (0.00–6.80)	0.368	0.72 (0.00–7.04)	0.66 (0.00–5.75)	0.488	0.80 (0.00–9.10)	0.69 (0.00–5.17)	0.786
HA (µg/mL)	25.6 (0.4–195.0)	25.7 (1.0–139.0)	0.842	28.0 (1.8–139.0)	25.7 (0.4–100.0)	0.932	24.0 (0.4–195.0)	30.7 (1.1–100.0)	0.471
TMAO (µg/mL)	4.4 (0.0–32.5)	4.2 (0.0–54.0)	0.577	4.2 (0.0–22.7)	4.1 (0.0–32.5)	0.534	4.3 (0.0–54.0)	4.5 (0.0–32.4)	0.433
IAA (µg/mL)	0.75 (0.08–7.61)	0.75 (0.10–5.28)	0.302	0.74 (0.14–7.61)	0.75 (0.24–5.89)	0.940	0.74 (0.19–7.61)	0.78 (0.08–5.89)	0.808

CMPF, 3-carboxy-4-methyl-5-propyl-furanpropionic acid; HA, hippuric acid; IAA, indole-3-acetic acid; IxS, indoxylsulfate; pCG, p-cresylglucuronide; pCS, p-cresylsulfate; TMAO, trimethylamine-N-oxide; UT, uremic toxin.

Table 4. Correlations between UT concentrations and BMD changes 12 and 24 months after transplantation.

Site of BMD		pCS		CMPF		IxS		pCG		HA		TMAO		IAA	
		rho	p	rho	p	rho	p	rho	p	rho	p	rho	p	rho	p
Lumbar spine	12 months after transplantation, n = 310	-0.02	0.747	-0.09	0.116	+0.02	0.736	-0.03	0.624	+0.02	0.666	-0.01	0.901	-0.03	0.569
	24 months after transplantation, n = 222	-0.00	0.967	-0.10	0.135	-0.03	0.662	+0.03	0.621	-0.03	0.614	+0.07	0.320	-0.06	0.368
Femoral neck	12 months after transplantation, n = 145	-0.10	0.229	+0.10	0.218	+0.04	0.654	-0.01	0.908	-0.03	0.760	+0.07	0.397	+0.01	0.869
	24 months after transplantation, n = 113	+0.03	0.747	-0.03	0.733	+0.11	0.244	+0.06	0.533	+0.13	0.173	+0.07	0.443	+0.05	0.576
Total hip	12 months after transplantation, n = 276	-0.05	0.389	-0.02	0.770	-0.02	0.763	-0.04	0.545	-0.07	0.257	-0.00	0.976	+0.07	0.238
	24 months after transplantation, n = 200	-0.05	0.509	-0.02	0.730	+0.04	0.570	+0.01	0.868	+0.02	0.743	+0.03	0.671	-0.01	0.944

BMD, bone mineral density; CMPF, 3-carboxy-4-methyl-5-propyl-furanpropionic acid; HA, hippuric acid; IAA, indole-3-acetic acid; IxS, indoxylsulfate; pCG, p-cresylglucuronide; pCS, p-cresylsulfate; rho, Spearman’s correlation coefficient; TMAO, trimethylamine-N-oxide.

2.4. Other Factors Influencing BMD at M1 and Changes in BMD at M12 and M24

BMD at M1 was significantly correlated with (i) BMI for all measurement sites (lumbar spine, $\rho = +0.31$, $p < 0.001$; femoral neck, $\rho = +0.27$, $p < 0.001$; total hip, $\rho = +0.42$, $p < 0.001$), (ii) the serum calcium level (for the lumbar spine only; $\rho = -0.12$, $p = 0.036$), and (iii) the serum PTH level for the lumbar spine ($\rho = -0.17$, $p = 0.003$) and the total hip ($\rho = -0.13$, $p = 0.040$) (Table S3). Moreover, BMD at M1 was significantly higher (i) in men than in women for all measurement sites (lumbar spine, 1.034 ± 0.16 vs. 0.970 ± 0.16 , respectively; $p < 0.001$; femoral neck, 0.788 ± 0.016 vs. 0.693 ± 0.12 , $p < 0.001$; total hip, 0.929 ± 0.15 vs. 0.822 ± 0.13 , $p < 0.001$), (ii) in patients with diabetes mellitus than in patients without diabetes mellitus (for the lumbar spine only: 1.130 ± 0.15 vs. 1.007 ± 0.16 , respectively; $p = 0.033$) and (iii) in steroid-naïve patients than steroid-exposed patients (for the lumbar spine: 1.024 ± 0.16 vs. 0.944 ± 0.015 , respectively; $p < 0.001$; and the total hip: 0.899 ± 0.014 vs. 0.852 ± 0.018 , $p = 0.048$) (Table S4). After adjustment, BMD at M1 was (i) positively correlated with BMI for all measurement sites (lumbar spine, $p < 0.001$; femoral neck, $p = 0.001$; total hip, $p < 0.001$), (ii) negatively correlated with the serum calcium level for the lumbar spine ($p = 0.006$) and the total hip ($p = 0.005$), and (iii) negatively correlated with the serum PTH level for the lumbar spine ($p = 0.014$). Moreover, after adjustment, BMD at M1 was significantly higher in men than in women for all measurement sites (lumbar spine, $p = 0.002$; femoral neck, $p = 0.004$; total hip, $p < 0.001$).

BMD changes at M12 (vs. M1) were significantly correlated with (i) age for the total hip ($\rho = -0.16$, $p < 0.006$), (ii) PTH (for the femoral neck ($\rho = +0.20$, $p = 0.019$) and the total hip ($\rho = +0.19$, $p = 0.002$)), (iii) the serum bone alkaline phosphatase level (for the femoral neck ($\rho = +0.19$, $p = 0.038$) and the total hip ($\rho = +0.26$, $p < 0.001$)), and (iv) the serum osteocalcin level (for the total hip only ($\rho = +0.20$, $p = 0.009$)) (Table S5). Moreover, the mean \pm SD BMD changes at M12 differed significantly when comparing (i) patients with primary hyperparathyroidism vs. those without (for the lumbar spine (-0.077 ± 0.10 vs. $+0.001 \pm 0.06$, $p = 0.001$, respectively) and the femoral neck (-0.117 ± 0.06 vs. -0.006 ± 0.05 , $p < 0.001$, respectively)), (ii) patients with secondary hyperparathyroidism vs. those without (for the femoral neck only: -0.004 ± 0.05 vs. -0.041 ± 0.06 , respectively, $p = 0.005$), (iii) patients taking bisphosphonates vs. all the other patients (for the lumbar spine only: $+0.054 \pm -0.003$, $p = 0.003$, respectively), and (iv) patients with early steroid withdrawal after transplantation vs. those on long-term corticosteroid therapy (for the lumbar spine only: $+0.031 \pm 0.07$ vs. -0.006 ± 0.06 , respectively, $p < 0.001$) (Table S6).

BMD changes at M24 (vs. M1) were significantly correlated with (i) serum phosphate (for the lumbar spine ($\rho = +0.14$, $p = 0.033$) and the femoral neck ($\rho = +0.24$, $p = 0.011$)), (ii) serum PTH (for the femoral neck ($\rho = +0.28$, $p = 0.003$) and the total hip ($\rho = +0.19$, $p = 0.006$)), (iii) serum bone alkaline phosphatases (for the total hip only: $\rho = +0.22$, $p = 0.005$), (iv) serum osteocalcin for the femoral neck only ($\rho = +0.28$, $p = 0.017$) and (v) serum creatinine at M12 at all measurement sites (lumbar spine, $\rho = -0.13$, $p = 0.048$; femoral neck, $\rho = -0.28$, $p = 0.003$; total hip, $\rho = -0.15$, $p = 0.028$) (Table S7). Moreover, the mean \pm SD BMD changes at M24 differed significantly in (i) patients with primary hyperparathyroidism vs. those without (for the lumbar spine only: -0.098 ± 0.010 vs. -0.017 ± 0.06 , respectively, $p = 0.003$), (ii) patients taking bisphosphonates vs. all the other patients (for the lumbar spine only: $+0.053 \pm 0.03$ vs. -0.023 ± 0.07 , respectively, $p < 0.001$), and (iii) patients with early steroid withdrawal after transplantation vs. those on long-term corticosteroid therapy (for the lumbar spine only: $+0.036 \pm 0.06$ vs. -0.024 ± 0.06 , respectively, $p < 0.001$) (Table S8).

3. Discussion

Our results provide an overview of BMD as a surrogate marker of bone health and its link with serum UT concentrations in kidney transplant recipients. Our main finding (after adjustment) was the positive association between the IxS concentration upon transplantation and BMD at the femoral neck one month after kidney transplantation ($p = 0.042$). Twelve and 24 months after transplantation, there were no significant associations between UT concentrations upon transplantation and BMD changes. Classic risk factors (such as sex, BMI, and serum PTH, bone alkaline phosphatase, osteocalcin and creatinine levels) appeared to account for the BMD decrease after kidney transplantation.

Primary mineralization disorders are frequent in uremic patients. Indeed, secondary hyperparathyroidism is histologically reflected by high bone turnover, normal mineralization, and low bone volume (depending on the duration of the disease process); it leads to osteitis fibrosis in severe cases. This type of ROD is encountered in early-stage kidney disease [3]. In ESKD, skeletal resistance to PTH's action [36] is caused by a reduction in osteoblast PTH receptor expression [37]. This "functional hypoparathyroidism" leads to ABD, which corresponds to low-turnover bone with normal mineralization and a normal or low bone volume [4]. Osteomalacia is scarcer in CKD and corresponds to low-turnover bone with abnormal mineralization (an accumulation of osteoid tissue). The bone volume may be low to medium, depending on the severity and duration of the process and the presence of absence of other factors affecting bone [2]. Osteomalacia results from vitamin D deficiency or metabolic acidosis caused by CKD [38]. There is no consensus definition of mixed uremic osteodystrophy (also encountered in patients with CKD) but this is generally described as high-turnover bone with normal bone volume and abnormal mineralization [2]. Regardless of the cause, however, a low BMD in patients with CKD is a marker of bone fragility [6]. According to the latest KDIGO CKD-MBD guidelines, BMD should be measured in patients with stage 3a to 5D CKD with evidence of either MBD, risk factors for osteoporosis, or both, in order to establish whether the fracture risk will impact treatment decisions [19]. Posttransplant CKD-MBD reflects the effects of immunosuppression, the persistence of previous CKD-MBD after transplantation, and de novo CKD-MBD. Our present results showed that (i) respectively, 34.5% and 6.1% of the patients presented osteopenia and osteoporosis one month after kidney transplantation and (ii) 1% of the patients presented a fracture in the 24 months following kidney transplantation. Evenepoel et al. have shown that over a median follow-up period of 5.2 years, 38 out of 518 (7.3%) de novo renal transplant recipients experienced a fragility fracture; this corresponds to an incidence rate of 14.2 fractures per 1000 person-years [18].

Periodontitis can also affect the bone structure and thus must be considered. This multifactorial, chronic, inflammatory disease is caused by periodontal bacteria and is characterized by the progressive destruction of the tooth-supporting apparatus, which includes the alveolar bone [39]. There is a two-way relationship between CKD and periodontitis [40]. On one hand, (i) systemic inflammation (mediated by pro-inflammatory cytokines such as IL-1, IL-6, TNF α , and TGF β) appears in response to the chronic infection, and (ii) the dissemination of periodontal pathogenic bacteria, the latter's products, and antibodies developed in response to the infection [41,42] can contribute to a deterioration of renal function via proteinuria [43,44]. On the other hand, (i) the uremic environment due to CKD modulates cytokine and inflammation molecules [45] and (ii) pathological conditions caused by CKD (such as diabetes mellitus [39], poor oral health, and decreased water drinking by hemodialysis patients [46]) can lead to periodontal disease. Moreover, there is probably also a two-way relationship between periodontitis (characterized by alveolar bone resorption) and systemic bone loss [47,48]. Even though osteoporosis is defined as a systemic skeletal disease [32], various cross-sectional and longitudinal studies show that deterioration of the microarchitecture can affect alveolar bone [49]. Furthermore, periodontitis can influence systemic bone density and bone loss through the systemic inflammatory burden mentioned above [50]. Quality of life can also be altered in patients suffering from periodontal disease, which causes tooth loss if not treated early. Advanced periodontitis can lead to a decline in chewing ability, word pronunciation, and aesthetic function [51]. This altered quality of life particularly affects patients with ESKD, as highlighted by Oliveira et al.'s finding that mild/moderate periodontitis and severe periodontitis were significantly associated with poorer oral-health-related quality of life, relative to the absence of periodontitis (risk ratio (95% confidence interval) = 1.49 (1.16–1.91) and 1.77 (1.36–2.30), respectively) [52]. Thus, periodontal disease must be screened and managed in this population—especially since treatment is associated with a reduction in systemic inflammation [53] and an increase in the glomerular filtration rate [54].

Various research groups have confirmed the relationship between certain UTs and complications of CKD. The UTs studied here were those for which cardiovascular and bone toxicities have been

best documented in the literature. Plasma UT concentrations rise as CKD progresses; in patients with ESKD, the values are often more than 10-fold higher than in healthy controls [27,55]. These high levels reflect both increased intestinal production and absorption and decreased renal clearance. Our results confirmed these literature reports, and all the UTs studied here showed the same trends. Furthermore, we evaluated associations between seven UTs. The correlation matrix evidenced weak correlations between the various compounds. Our previous results in hemodialysis patients highlighted differences between UTs with regard to their association with the estimated glomerular filtration rate [56]. At elevated concentrations, UTs may disturb several biological processes and thus become both directly and indirectly toxic in various cells and tissues. One mechanism involves the intracellular generation of oxidative stress [57]. Indeed, it has been reported that exposure to several well-known UTs (including inorganic phosphate, pCS, IxS, and FGF23) leads to vascular dysfunction [58].

Hence, most of the research on UTs in patients with CKD has focused on vascular dysfunction. In view of the links between vascular calcification and bone disease, we sought to better characterize the associations between UT levels and bone disease. *In vitro*, several UTs appear to be harmful for bone. IxS increases Klotho gene hypermethylation, which in turn leads to the progression of vascular calcification. Organic anion transporter 3 (OAT-3, known to mediate the uptake of UTs) is expressed by osteoblasts. IxS is associated with a decrease in PTH receptor expression by osteoblasts. In this model, the OAT-3 inhibitor probenecid decreases IxS-induced skeletal resistance to PTH [29]. As well as suppressing bone formation, IxS inhibits bone resorption by reducing IL-1 and RANKL expression [30]. pCS also induces osteoblast dysfunction by activating JNK and MAPK p38 pathways [31]. In a rat model of kidney failure showing low bone turnover, Iwasaki et al. showed that IxS accumulation was associated with a lower bone formation rate and downregulation of osteoblast-related genes [59]. The animals' conditions were improved by treatment with the oral adsorbent AST-120—probably due to a reduction in IxS levels.

In contrast to the data from animal studies, Barreto et al.'s clinical study of the association between IxS levels and biochemical parameters related to mineral metabolism and bone histomorphometry in patients with CKD found that the serum IxS concentration was positively associated with the bone formation rate, the osteoid volume osteoblast surface, and the fibrosis volume [60]. The researchers used a multivariate model including intact PTH, FGF-23, ionized calcium, and 1,25-OH-vitamin D₃ levels [60]. One possible explanation for the apparent conflict between the clinical results and the animal results is that high levels of IxS may affect PTH secretion by participating in skeletal resistance to PTH or decreasing calcitriol synthesis. The animal study was performed with thyroparathyroidectomized uremic rats in which physiological plasma PTH concentrations were restored by infusion [59]; this differed from clinical conditions, where ESKD is most frequently associated with supranormal increases in PTH secretion [5].

Furthermore, we found that IxS concentrations upon transplantation were positively correlated with BMD at M1 for the femoral neck and for the total hip before adjustment ($\rho = +0.13$, $p = 0.049$ and $\rho = +0.13$, $p = 0.037$, respectively) and for the femoral neck after adjustment ($p = 0.042$); these findings corroborate Barreto et al.'s results. After adjustment, however, there was no longer any correlation between IxS concentrations upon transplantation and BMD changes 12 and 24 months after transplantation. This was probably due to the fact that IxS concentrations fall rapidly after transplantation [24] and thus are unlikely to influence the bone mass.

There are several possible explanations for the lack of an association in the present study. Firstly, factors other than UTs (such as sex, BMI, and serum PTH, bone alkaline phosphatase, osteocalcin and creatinine levels, as found in the present study) might better explain the osteoporotic status of kidney transplant recipients. After kidney transplantation, concentrations of protein-bound UTs fall rapidly within a month of transplantation and go below the values seen in nontransplanted patients with equivalent glomerular filtration rates [24,26]. This is why we decided to assay serum UT concentrations upon transplantation, and might account for the lack of correlation between UT concentrations at the time of transplantation and changes in BMD at M12 and at M24. Furthermore, we have recently shown

that corticosteroid use in general and exposure time in particular have an impact on BMD and on fracture incidence among kidney transplant recipients [10]. Secondly, the choice of BMD as a surrogate marker of bone health might not be the most appropriate because dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) does not differentiate between cortical bone and trabecular bone. The gold standard for the quantitative assessment of bone health is the histomorphometric analysis of a bone biopsy. However, this procedure is invasive. Hence, UTs might alter bone quality but not the BMD. For example, IxS leads to skeletal resistance to PTH [29] (involved in ABD) [36,37] but does not affect BMD [1,2]. Thirdly, we did not have DXA data for the time of transplantation. Nevertheless, we consider that the BMD at M1 post-transplantation was probably similar to the value at M0 because it is known that PTH, phosphate, calcium, calcitriol, and FGF-23 levels take 3–12 months to stabilize [61,62]. Lastly, UT concentrations upon transplantation were high (relative to healthy controls) in our patient population and were highly variable; this variability might have prevented us from detecting a negative impact of UT on bone.

The present study's strengths included the well-characterized cohort and the accurate, validated UT assay methods. Our study also had several limitations. Firstly, we only studied seven of the dozens of known UTs; however, the protein-bound UTs and TMAO are the most important in terms of toxicity. Secondly, we performed a single-center study, with all its inherent limitations. However, BMD was always evaluated with the same device, and thereby made our intergroup comparisons more robust.

4. Conclusions

In contrast to literature data from animal studies showing a potential link between serum UT concentrations and bone abnormalities, the first ever clinical study of this topic failed to show any relationship between concentrations of protein-bound UTs and TMAO upon kidney transplantation and BMD or the occurrence of osteoporotic fractures. Conventional risk factors (such as sex, BMI, and serum PTH, bone alkaline phosphatase, osteocalcin and creatinine levels) appear to account for the BMD decrease after kidney transplantation. Further investigation is required to confirm and explain the present results.

5. Materials and Methods

5.1. Study Design and Participants

We performed a longitudinal study of a cohort of consecutive dialysis patients (excluding cases of preemptive kidney transplantation) aged 18 and over and having undergone kidney transplantation at Amiens University Medical Center (Amiens, France) between 1 January 2012, and 15 June 2018, and who had available data on BMD measured at several different anatomic sites (the lumbar spine, hip, and femoral neck) 1 month (M1) and 12 months (M12) after transplantation. DXA data were extracted from consultation reports. Bone mineral density was determined using DXA Hologic Discovery System (Hologic Inc., Waltham, MA, USA). Osteoporosis was defined as a T-score ≤ -2.5 at one or more sites, and osteopenia was defined as a T-score between -1 and -2.5 at one or more sites. The study was approved by the French National Data Protection Commission (Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés (Paris, France); registration number: PI2019_843_0055) on 18 July 2019. Patients were provided with information about the study, and were free to refuse to participate. In line with the French legislation on noninterventional studies, approval by an investigational review board was neither required nor sought. Upstream, the patients consented to the use of their personal clinical and laboratory data for research purposes.

5.2. Collected Data

The variables recorded at baseline included sociodemographic characteristics, osteoporosis risk factors influencing BMD (ethnic group, BMI, thyroid disorders, prior osteoporotic fractures, family history of fracture of the upper extremity of the femur, diabetes mellitus, chronic inflammatory rheumatism, primary hyperparathyroidism, smoking, alcohol consumption, and menopausal status in

women), the use of drugs potentially influencing BMD at the time of transplantation, the etiology of chronic kidney disease, the donor's characteristics, and the characteristics of the transplantation and the immunosuppressive regimens.

Serum levels of calcium, phosphate, calcitriol, PTH, bone alkaline phosphatase, osteocalcin and creatinine, and the glomerular filtration rate at baseline were recorded retrospectively. The serum creatinine level 12 months after transplantation was also recorded. Serum samples were obtained from patients in the 24 h before transplantation and were stored at $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ in the Picardy Biobank (Amiens, France). Data on prevalent osteoporotic fractures and intakes of calcium, vitamin D and bisphosphonate during the study period were retrospectively collected from medical records.

5.3. Identification of Patients with ABD

In order to take into account the heterogeneity of skeletal involvement, patients with PTH $<150\text{ pg/mL}$ (positive predictive value for ABD: 97% [63]) and bone alkaline phosphatases $<10\text{ ng/mL}$ (which can further bolster the diagnosis of ABD, as it is 100%-sensitive and 93.7%-specific [63]) were classified as having ABD.

5.4. Assays of Serum PTH, 25(OH) Vitamin D, Bone Alkaline Phosphatases, and Osteocalcin

Serum PTH was assayed using a chemiluminescent immunoassay (ADVIA Centaur PTH from Siemens Healthcare Diagnostics SAS; intra-assay coefficient of variation $<2.05\%$, inter-assay coefficient of variation $<4.04\%$; detection limit of the assay: 4.6 pg/mL), according to the manufacturer's instructions. Serum 25(OH) vitamin D was assayed using an ELISA (assay kit total Vitamin D -ADVIA Centaur from Siemens Healthcare Diagnostics SAS). The detection threshold for serum 25(OH) vitamin D was 4.20 ng/mL (intra-assay coefficient of variation $<9.79\%$, inter-assay coefficient of variation $<7.32\%$). Bone alkaline phosphatase and osteocalcin were assayed using Liaison-XL from DiaSorin SA. The detection thresholds for serum bone alkaline phosphatase and osteocalcin were $3.0\text{ }\mu\text{g/L}$ and 1.5 ng/mL , respectively. The intra-assay coefficients of variation were $<2.16\%$ and $<4.99\%$, respectively, and the inter-assay coefficients of variation were $<4.19\%$ and $<5.33\%$, respectively.

5.5. Uremic Toxin Assays

Blood levels of UTs (CMPF, HA, IAA, IS, pCS, pCG, and TMAO) were determined by liquid chromatography (Shimadzu, Marne-la-Vallée, France) coupled to a tandem mass spectrometer (3200 QTRAP, Sciex, Les Ulis, France) [64]. Briefly, UTs were extracted from $50\text{ }\mu\text{L}$ of serum by adding $200\text{ }\mu\text{L}$ of an ice-cold acetonitrile solution containing the internal standards (d5-CMPF, (13C6)-1H-IAA, (13C6)-IxS, d4-pCS, and d9-TMAO) at a concentration of 500 ng/mL . After centrifugation, $50\text{ }\mu\text{L}$ of the supernatant was diluted 20-fold in ultra-pure water (total volume: $1000\text{ }\mu\text{L}$) before transfer to a vial for injection into the chromatographic system. Chromatographic separation was performed at $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ on an ultra PFP propyl column ($5\text{ }\mu\text{m}$, $50 \times 2.1\text{ mm}$, Restek, Lisses, France). The column was eluted with a gradient of acetonitrile with 0.1% formic acid and ultrapure water with 0.1% formic acid at a flow rate of 0.8 mL/min . Data were acquired in multiple reaction monitoring mode after ionization in negative electrospray ionization mode (for CMPF, HA, IxS, pCS, and pCG) or positive electrospray ionization mode (for IAA and TMAO).

The mean \pm SD reference values for subjects with normal kidney function were $6.6 \pm 3.7\text{ }\mu\text{g/mL}$ for pCS, $1.1 \pm 1.1\text{ }\mu\text{g/mL}$ for CMPF, $0.5 \pm 0.3\text{ }\mu\text{g/mL}$ for IxS, under limit of quantification for pCG, $1.3 \pm 1.6\text{ }\mu\text{g/mL}$ for HA, 0.5 ± 0.2 for IAA [34], and 3.3 (3.1–6.0) for TMAO [35].

5.6. Statistical Analysis

In our descriptive analysis, categorical variables were expressed as the number (percentage), and continuous variables were expressed as the mean \pm standard deviation (SD) or the median (range), depending on the data distribution. The Shapiro–Wilk test was used to determine whether or not data were normally distributed. We performed a matrix correlation test on the UT concentrations at

transplantation. Correlations between UT concentrations at transplantation and BMD (at the lumbar spine, hip, and femoral neck) 1, 12, and 24 months after kidney transplantation were quantified by calculating Spearman's coefficient. Uremic toxin concentrations at transplantation were compared for patients with BMD gain vs. those with BMD loss, and for patients with a prevalent osteoporotic fracture vs. those without a fracture. The same analyses were performed after stratification by sex, age group, adynamic bone disease, kidney failure within 12 months of transplantation, and early steroid withdrawal. Correlations between age, BMI, serum levels of calcium, phosphate, calcitriol, PTH, bone alkaline phosphatase, osteocalcin and creatinine (at the time of transplantation—except for creatinine, measured at M12), and (i) BMD at M1 and (ii) changes in BMD at M12 and at M24 (vs. M1) were quantified by calculating Spearman's coefficient. Student's t-test was used to assess the statistical significance of associations between binary osteoporosis risk factors and (i) BMD at M1 and (ii) changes in BMD at M12 and at M24 (vs. M1).

In order to consider confounding factors for mineral bone disorders, multiple linear regression models were built for UT concentrations upon transplantation that were significantly correlated with BMD at M1 or with changes in BMD 12 and 24 months after kidney transplantation in bivariate analyses.

All statistical tests were two-sided, and the threshold for statistical significance was set to $p < 0.05$. All analyses were performed using R software (version 3.6.1, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

Supplementary Materials: The following are available online at <http://www.mdpi.com/2072-6651/12/11/715/s1>, Table S1. Statistical significance (p value) of Spearman's correlation coefficients for UT concentrations upon transplantation. Table S2. Changes in BMD at M12 and M24, by subgroup. Table S3. Correlations between BMD at M1 and quantitative variables. Table S4. Correlations between BMD at M1 and binary variables. Table S5. Correlations between changes in BMD at M12 and quantitative variables. Table S6. Correlations between changes in BMD at M12 and binary variables. Table S7. Correlations between changes in BMD at M24 and quantitative variables. Table S8. Correlations between changes in BMD at M24 and binary variables. Table S9. Predictive factors for a BMD decrease at M1 (multiple linear regression model). Table S10. Correlations between UT concentrations and BMD at M1, by subgroup. Table S11. Comparison of UT concentrations in patients with BMD loss vs. gain 12 months after kidney transplantation, by subgroup. Table S12. Correlations between UT concentrations and BMD changes 12 and 24 months after transplantation, by subgroup.

Author Contributions: Conceptualization, B.B., Z.A.M., and S.L.; methodology, B.B., Z.A.M., V.G.-C., and S.L.; formal analysis, B.B.; investigation, B.B., S.B., and C.A.; data curation, B.B., Z.A.M., V.G.-C., and S.L.; writing—original draft preparation, B.B., V.G.-C., and S.L.; writing—review and editing B.B., S.B., C.A., V.G.-C., I.D.-H., Y.B., A.-S.H.-L., K.M., G.C., S.K., Z.A.M., and S.L. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research did not receive any specific funding from agencies or organizations in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Acknowledgments: Authors are thankful to Claudie Talandier and Ludovic Dumont for assistance with UT assays.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

- Hou, Y.-C.; Lu, C.-L.; Lu, K.-C. Mineral bone disorders in chronic kidney disease. *Nephrology* **2018**, *23*, 88–94. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Moe, S.; Drüeke, T.; Cunningham, J.; Goodman, W.; Martin, K.; Olgaard, K.; Ott, S.; Sprague, S.; Lameire, N.; Eknoyan, G.; et al. Definition, evaluation, and classification of renal osteodystrophy: A position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int.* **2006**, *69*, 1945–1953. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Pitts, T.O.; Piraino, B.H.; Mitro, R.; Chen, T.C.; Segre, G.V.; Greenberg, A.; Puschett, J.B. Hyperparathyroidism and 1,25-dihydroxyvitamin D deficiency in mild, moderate, and severe renal failure. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **1988**, *67*, 876–881. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Sherrard, D.J.; Hercz, G.; Pei, Y.; Segre, G. The aplastic form of renal osteodystrophy. *Nephrol. Dial. Transplant.* **1996**, *11* (Suppl. 3), 29–31. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Coen, G. Adynamic bone disease: An update and overview. *J. Nephrol.* **2005**, *18*, 117–122. [[PubMed](#)]
- Gabay, C.; Ruedin, P.; Slosman, D.; Bonjour, J.-P.; Leski, M.; Rizzoli, R. Bone Mineral Density in Patients with End-Stage Renal Failure. *AJN* **1993**, *13*, 115–123. [[CrossRef](#)]

7. Govindarajan, S.; Khandelwal, N.; Sakhuja, V.; Jha, V. Bone mineral density in patients with end-stage renal disease and its evolution after kidney transplantation. *Indian J. Nephrol.* **2011**, *21*, 85–89. [[CrossRef](#)]
8. Horber, F.F.; Casez, J.P.; Steiger, U.; Czerniak, A.; Montandon, A.; Jaeger, P. Changes in bone mass early after kidney transplantation. *J. Bone Miner. Res.* **1994**, *9*, 1–9. [[CrossRef](#)]
9. Julian, B.A.; Laskow, D.A.; Dubovsky, J.; Dubovsky, E.V.; Curtis, J.J.; Quarles, L.D. Rapid loss of vertebral mineral density after renal transplantation. *N. Engl. J. Med.* **1991**, *325*, 544–550. [[CrossRef](#)]
10. Batteux, B.; Gras-Champel, V.; Lando, M.; Brazier, F.; Mentaverri, R.; Desailly-Henry, I.; Rey, A.; Bennis, Y.; Masmoudi, K.; Choukroun, G.; et al. Early steroid withdrawal has a positive effect on bone in kidney transplant recipients: A propensity score study with inverse probability-of-treatment weighting. *Ther. Adv. Musculoskelet Dis.* **2020**, *12*, 1759720X20953357. [[CrossRef](#)]
11. Gupta, A.K.; Huang, M.; Prasad, G.V.R. Determinants of bone mineral density in stable kidney transplant recipients. *J. Nephrol.* **2012**, *25*, 373–383. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Unal, A.; Kocyigit, I.; Sipahioglu, M.H.; Tokgoz, B.; Kavuncuoglu, F.; Oymak, O.; Utas, C. Loss of bone mineral density in renal transplantation recipients. *Transplant. Proc.* **2010**, *42*, 3550–3553. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Kitamura, M.; Mochizuki, Y.; Miyata, Y.; Obata, Y.; Mitsunari, K.; Matsuo, T.; Ohba, K.; Mukae, H.; Yoshimura, A.; Nishino, T.; et al. Pathological Characteristics of Periodontal Disease in Patients with Chronic Kidney Disease and Kidney Transplantation. *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, *20*, 3413. [[CrossRef](#)]
14. Okada, H.; Murakami, S. Cytokine expression in periodontal health and disease. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* **1998**, *9*, 248–266. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Tomofuji, T.; Ekuni, D.; Irie, K.; Azuma, T.; Tamaki, N.; Maruyama, T.; Yamamoto, T.; Watanabe, T.; Morita, M. Relationships between periodontal inflammation, lipid peroxide and oxidative damage of multiple organs in rats. *Biomed. Res.* **2011**, *32*, 343–349. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Currò, M.; Matarese, G.; Isola, G.; Caccamo, D.; Ventura, V.P.; Cornelius, C.; Lentini, M.; Cordasco, G.; Ientile, R. Differential expression of transglutaminase genes in patients with chronic periodontitis. *Oral Dis.* **2014**, *20*, 616–623. [[CrossRef](#)]
17. Isola, G.; Alibrandi, A.; Currò, M.; Matarese, M.; Ricca, S.; Matarese, G.; Ientile, R.; Kocher, T. Evaluation of salivary and serum ADMA levels in patients with periodontal and cardiovascular disease as subclinical marker of cardiovascular risk. *J. Periodontol.* **2020**. [[CrossRef](#)]
18. Evenepoel, P.; Claes, K.; Meijers, B.; Laurent, M.R.; Bammens, B.; Naesens, M.; Sprangers, B.; Pottel, H.; Cavalier, E.; Kuypers, D. Bone mineral density, bone turnover markers, and incident fractures in de novo kidney transplant recipients. *Kidney Int.* **2019**, *95*, 1461–1470. [[CrossRef](#)]
19. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Update Work Group KDIGO 2017 Clinical Practice Guideline Update for the Diagnosis, Evaluation, Prevention, and Treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). *Kidney Int. Suppl. (2011)* **2017**, *7*, 1–59. [[CrossRef](#)]
20. Khairallah, P.; Nickolas, T.L.; Fusaro, M. How and when to assess bone mineral density and bone quality in chronic kidney disease patients? *Nephrol. Dial. Transplant.* **2019**. [[CrossRef](#)]
21. Yamamoto, S.; Fukagawa, M. Uremic Toxicity and Bone in CKD. *J. Nephrol.* **2017**, *30*, 623–627. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Liabeuf, S.; Cheddani, L.; Massy, Z.A. Uremic Toxins and Clinical Outcomes: The Impact of Kidney Transplantation. *Toxins* **2018**, *10*, 229. [[CrossRef](#)]
23. Duranton, F.; Cohen, G.; De Smet, R.; Rodriguez, M.; Jankowski, J.; Vanholder, R.; Argiles, A.; European Uremic Toxin Work Group. Normal and pathologic concentrations of uremic toxins. *J. Am. Soc. Nephrol.* **2012**, *23*, 1258–1270. [[CrossRef](#)]
24. Liabeuf, S.; Desjardins, L.; Massy, Z.A.; Brazier, F.; Westeel, P.F.; Mazouz, H.; Titeca-Beauport, D.; Diouf, M.; Glorieux, G.; Vanholder, R.; et al. Levels of Indoxyl Sulfate in Kidney Transplant Patients, and the Relationship with Hard Outcomes. *Circ. J.* **2016**, *80*, 722–730. [[CrossRef](#)]
25. Liabeuf, S.; Laville, S.M.; Glorieux, G.; Cheddani, L.; Brazier, F.; Titeca Beauport, D.; Valholder, R.; Choukroun, G.; Massy, Z.A. Difference in Profiles of the Gut-Derived Tryptophan Metabolite Indole Acetic Acid between Transplanted and Non-Transplanted Patients with Chronic Kidney Disease. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, 2031. [[CrossRef](#)]
26. Poesen, R.; Evenepoel, P.; de Loor, H.; Bammens, B.; Claes, K.; Sprangers, B.; Naesens, M.; Kuypers, D.; Augustijns, P.; Meijers, B. The influence of renal transplantation on retained microbial-human co-metabolites. *Nephrol. Dial. Transplant.* **2016**, *31*, 1721–1729. [[CrossRef](#)]

27. Liabeuf, S.; Barreto, D.V.; Barreto, F.C.; Meert, N.; Glorieux, G.; Schepers, E.; Temmar, M.; Choukroun, G.; Vanholder, R.; Massy, Z.A.; et al. Free p-cresylsulphate is a predictor of mortality in patients at different stages of chronic kidney disease. *Nephrol. Dial. Transplant.* **2010**, *25*, 1183–1191. [[CrossRef](#)]
28. Lekawanvijit, S. Cardiotoxicity of Uremic Toxins: A Driver of Cardiorenal Syndrome. *Toxins* **2018**, *10*, 352. [[CrossRef](#)]
29. Nii-Kono, T.; Iwasaki, Y.; Uchida, M.; Fujieda, A.; Hosokawa, A.; Motojima, M.; Yamato, H.; Kurokawa, K.; Fukagawa, M. Indoxyl sulfate induces skeletal resistance to parathyroid hormone in cultured osteoblastic cells. *Kidney Int.* **2007**, *71*, 738–743. [[CrossRef](#)]
30. Watanabe, K.; Tominari, T.; Hirata, M.; Matsumoto, C.; Hirata, J.; Murphy, G.; Nagase, H.; Miyaura, C.; Inada, M. Indoxyl sulfate, a uremic toxin in chronic kidney disease, suppresses both bone formation and bone resorption. *FEBS Open Bio* **2017**, *7*, 1178–1185. [[CrossRef](#)]
31. Tanaka, H.; Iwasaki, Y.; Yamato, H.; Mori, Y.; Komaba, H.; Watanabe, H.; Maruyama, T.; Fukagawa, M. p-Cresyl sulfate induces osteoblast dysfunction through activating JNK and p38 MAPK pathways. *Bone* **2013**, *56*, 347–354. [[CrossRef](#)]
32. Compston, J.E.; McClung, M.R.; Leslie, W.D. Osteoporosis. *Lancet* **2019**, *393*, 364–376. [[CrossRef](#)]
33. Hudec, S.M.D.; Camacho, P.M. Secondary causes of osteoporosis. *Endocr. Pract.* **2013**, *19*, 120–128. [[CrossRef](#)]
34. Boelaert, J.; Lynen, F.; Glorieux, G.; Eloot, S.; Van Landschoot, M.; Waterloos, M.-A.; Sandra, P.; Vanholder, R. A novel UPLC-MS-MS method for simultaneous determination of seven uremic retention toxins with cardiovascular relevance in chronic kidney disease patients. *Anal. Bioanal. Chem.* **2013**, *405*, 1937–1947. [[CrossRef](#)]
35. Stubbs, J.R.; House, J.A.; Ocque, A.J.; Zhang, S.; Johnson, C.; Kimber, C.; Schmidt, K.; Gupta, A.; Wetmore, J.B.; Nolin, T.D.; et al. Serum Trimethylamine-N-Oxide is Elevated in CKD and Correlates with Coronary Atherosclerosis Burden. *J. Am. Soc. Nephrol.* **2016**, *27*, 305–313. [[CrossRef](#)]
36. Malluche, H.H.; Ritz, E.; Lange, H.P.; Kutschera, L.; Hodgson, M.; Seiffert, U.; Schoeppe, W. Bone histology in incipient and advanced renal failure. *Kidney Int.* **1976**, *9*, 355–362. [[CrossRef](#)]
37. Picton, M.L.; Moore, P.R.; Mawer, E.B.; Houghton, D.; Freemont, A.J.; Hutchison, A.J.; Gokal, R.; Hoyland, J.A. Down-regulation of human osteoblast PTH/PTHrP receptor mRNA in end-stage renal failure. *Kidney Int.* **2000**, *58*, 1440–1449. [[CrossRef](#)]
38. Coen, G.; Mazzaferro, S.; Ballanti, P.; Sardella, D.; Chicca, S.; Manni, M.; Bonucci, E.; Taggi, F. Renal bone disease in 76 patients with varying degrees of predialysis chronic renal failure: A cross-sectional study. *Nephrol. Dial. Transplant.* **1996**, *11*, 813–819. [[CrossRef](#)]
39. Tonetti, M.S.; Greenwell, H.; Kornman, K.S. Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *J. Periodontol.* **2018**, *89* (Suppl. 1), S159–S172. [[CrossRef](#)]
40. Fisher, M.A.; Taylor, G.W.; West, B.T.; McCarthy, E.T. Bidirectional relationship between chronic kidney and periodontal disease: A study using structural equation modeling. *Kidney Int.* **2011**, *79*, 347–355. [[CrossRef](#)]
41. Hajishengallis, G. Periodontitis: From microbial immune subversion to systemic inflammation. *Nat. Rev. Immunol.* **2015**, *15*, 30–44. [[CrossRef](#)]
42. Kshirsagar, A.V.; Offenbacher, S.; Moss, K.L.; Barros, S.P.; Beck, J.D. Antibodies to periodontal organisms are associated with decreased kidney function. The Dental Atherosclerosis Risk in Communities study. *Blood Purif.* **2007**, *25*, 125–132. [[CrossRef](#)]
43. Craig, R.G.; Spittle, M.A.; Levin, N.W. Importance of periodontal disease in the kidney patient. *Blood Purif.* **2002**, *20*, 113–119. [[CrossRef](#)]
44. Gewin, L.; Zent, R.; Pozzi, A. Progression of chronic kidney disease: Too much cellular talk causes damage. *Kidney Int.* **2017**, *91*, 552–560. [[CrossRef](#)]
45. Grabulosa, C.C.; Manfredi, S.R.; Canziani, M.E.; Quinto, B.M.R.; Barbosa, R.B.; Rebello, J.F.; Batista, M.C.; Cendoroglo, M.; Dalboni, M.A. Chronic kidney disease induces inflammation by increasing Toll-like receptor-4, cytokine and cathelicidin expression in neutrophils and monocytes. *Exp. Cell Res.* **2018**, *365*, 157–162. [[CrossRef](#)]
46. Podzimek, S.; Vondrackova, L.; Duskova, J.; Janatova, T.; Broukal, Z. Salivary Markers for Periodontal and General Diseases. *Dis. Markers* **2016**, *2016*, 9179632. [[CrossRef](#)]
47. Penoni, D.C.; Vettore, M.V.; Torres, S.R.; Farias, M.L.F.; Leão, A.T.T. An investigation of the bidirectional link between osteoporosis and periodontitis. *Arch. Osteoporos.* **2019**, *14*, 94. [[CrossRef](#)]

48. Wang, C.-W.; McCauley, L.K. Osteoporosis and Periodontitis. *Curr. Osteoporos. Rep.* **2016**, *14*, 284–291. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
49. Wactawski-Wende, J.; Grossi, S.G.; Trevisan, M.; Genco, R.J.; Tezal, M.; Dunford, R.G.; Ho, A.W.; Hausmann, E.; Hreshchyshyn, M.M. The role of osteopenia in oral bone loss and periodontal disease. *J. Periodontol.* **1996**, *67*, 1076–1084. [[CrossRef](#)]
50. Kitaura, H.; Marahleh, A.; Ogori, F.; Noguchi, T.; Shen, W.-R.; Qi, J.; Nara, Y.; Pramusita, A.; Kinjo, R.; Mizoguchi, I. Osteocyte-Related Cytokines Regulate Osteoclast Formation and Bone Resorption. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, 5169. [[CrossRef](#)]
51. Pyo, J.; Lee, M.; Ock, M.; Lee, J. Quality of Life and Health in Patients with Chronic Periodontitis: A Qualitative Study. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2020**, *17*, 4895. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
52. Oliveira, L.M.; Sari, D.; Schöffner, C.; Santi, S.S.; Antoniazzi, R.P.; Zanatta, F.B. Periodontitis is associated with oral health-related quality of life in individuals with end-stage renal disease. *J. Clin. Periodontol.* **2020**, *47*, 319–329. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
53. Tonetti, M.S.; D’Aiuto, F.; Nibali, L.; Donald, A.; Storry, C.; Parkar, M.; Suvan, J.; Hingorani, A.D.; Vallance, P.; Deanfield, J. Treatment of periodontitis and endothelial function. *N. Engl. J. Med.* **2007**, *356*, 911–920. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
54. Chambrone, L.; Foz, A.M.; Guglielmetti, M.R.; Pannuti, C.M.; Artese, H.P.C.; Feres, M.; Romito, G.A. Periodontitis and chronic kidney disease: A systematic review of the association of diseases and the effect of periodontal treatment on estimated glomerular filtration rate. *J. Clin. Periodontol.* **2013**, *40*, 443–456. [[CrossRef](#)]
55. Barreto, F.C.; Barreto, D.V.; Liabeuf, S.; Meert, N.; Glorieux, G.; Temmar, M.; Choukroun, G.; Vanholder, R.; Massy, Z.A.; European Uremic Toxin Work Group (EUTox). Serum indoxyl sulfate is associated with vascular disease and mortality in chronic kidney disease patients. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* **2009**, *4*, 1551–1558. [[CrossRef](#)]
56. Rroji, M.; Eloit, S.; Dhondt, A.; Van Biesen, W.; Glorieux, G.; Neiryneck, N.; Vandennootgate, N.; Liabeuf, S.; Massy, Z.; Vanholder, R. Association of advanced age with concentrations of uraemic toxins in CKD. *J. Nephrol.* **2016**, *29*, 81–91. [[CrossRef](#)]
57. Vanholder, R.; Schepers, E.; Pletinck, A.; Nagler, E.V.; Glorieux, G. The uremic toxicity of indoxyl sulfate and p-cresyl sulfate: A systematic review. *J. Am. Soc. Nephrol.* **2014**, *25*, 1897–1907. [[CrossRef](#)]
58. Six, I.; Flissi, N.; Lenglet, G.; Louvet, L.; Kamel, S.; Gallet, M.; Massy, Z.A.; Liabeuf, S. Uremic Toxins and Vascular Dysfunction. *Toxins* **2020**, *12*, 404. [[CrossRef](#)]
59. Iwasaki, Y.; Yamato, H.; Nii-Kono, T.; Fujieda, A.; Uchida, M.; Hosokawa, A.; Motojima, M.; Fukagawa, M. Administration of oral charcoal adsorbent (AST-120) suppresses low-turnover bone progression in uraemic rats. *Nephrol. Dial. Transplant.* **2006**, *21*, 2768–2774. [[CrossRef](#)]
60. Barreto, F.C.; Barreto, D.V.; Canziani, M.E.F.; Tomiyama, C.; Higa, A.; Mozar, A.; Glorieux, G.; Vanholder, R.; Massy, Z.; de Carvalho, A.B. Association between indoxyl sulfate and bone histomorphometry in pre-dialysis chronic kidney disease patients. *J. Bras. Nefrol.* **2014**, *36*, 289–296. [[CrossRef](#)]
61. Green, J.; Debby, H.; Lederer, E.; Levi, M.; Zajicek, H.K.; Bick, T. Evidence for a PTH-independent humoral mechanism in post-transplant hypophosphatemia and phosphaturia. *Kidney Int.* **2001**, *60*, 1182–1196. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
62. Baia, L.C.; Heilberg, I.P.; Navis, G.; de Borst, M.H.; NIGRAM Investigators. Phosphate and FGF-23 homeostasis after kidney transplantation. *Nat. Rev. Nephrol.* **2015**, *11*, 656–666. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
63. Sista, S.K.; Arum, S.M. Management of adynamic bone disease in chronic kidney disease: A brief review. *J. Clin. Transl. Endocrinol.* **2016**, *5*, 32–35. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
64. André, C.; Bennis, Y.; Titeca-Beauport, D.; Caillard, P.; Cluet, Y.; Kamel, S.; Choukroun, G.; Maizel, J.; Liabeuf, S.; Bodeau, S. Two rapid, accurate liquid chromatography tandem mass spectrometry methods for the quantification of seven uremic toxins: An application for describing their accumulation kinetic profile in a context of acute kidney injury. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Life Sci.* **2020**, *1152*, 122234. [[CrossRef](#)]



© 2020 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Supplementary Materials: Association between Uremic Toxin Concentrations and Bone Mineral Density after Kidney Transplantation

Benjamin Batteux Sandra Bodeau, Camille André, Anne-Sophie Hurtel-Lemaire, Valérie Gras-Champel, Isabelle Desailly-Henry, Kamel Masmoudi, Youssef Bennis, Ziad A. Massy, Saïd Kamel, Gabriel Choukroun and Sophie Liabeuf

Table S1. Statistical significance (p value) of Spearman's correlation coefficients for UT concentrations upon transplantation.

UT Concentrations	pCS	CMPF	IxS	pCG	HA	TMAO	IAA
pCS		0.0530	0.0330	<0.0001	0.0005	0.0133	<0.0001
CMPF	0.0530		0.0017	0.0433	0.0009	0.0016	0.0102
IxS	0.0330	0.0017		<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.0338
pCG	<0.0001	0.0433	<0.0001			<0.0001	<0.0001
HA	0.0005	0.0009	<0.0001	<0.0001		<0.0001	<0.0001
TMAO	0.0133	0.0016	<0.0001	<0.0001	<0.0001		<0.0001
IAA	<0.0001	0.0102	0.0338	<0.0001	<0.0001	<0.0001	

CMPF, 3-carboxy-4-methyl-5-propyl-furanpropionic acid; HA, hippuric acid; IAA, indole-3-acetic acid; IxS, indoxylsulfate; pCG, p-cresylglucuronide; pCS, p-cresylsulfate; TMAO, trimethylamine-N-oxide; UT, uremic toxin.

Table S2. Changes in BMD at M12 and M24, by subgroup.

Time after Transplantation	Lumbar Spine			Femoral Neck			Total Hip		
	BMD Change (g/cm ²), <i>m</i> ± <i>SD</i>	BMD Change (%), <i>m</i> ± <i>SD</i>	<i>p</i> value	BMD Change (g/cm ²), <i>m</i> ± <i>SD</i>	BMD Change (%), <i>m</i> ± <i>SD</i>	<i>p</i> value	BMD Change (g/cm ²), <i>m</i> ± <i>SD</i>	BMD Change (%), <i>m</i> ± <i>SD</i>	<i>P</i> value
12 months after transplantation									
All, <i>n</i> = 310	-0.001 ± 0.063	-0.2 ± 6.3	0.793	-0.008 ± 0.054	-0.9 ± 7.3	0.034	-0.025 ± 0.051	-2.7 ± 5.8	< 0.001
Female, <i>n</i> = 116	+0.000 ± 0.055	+0.4 ± 5.8	0.996	-0.016 ± 0.058	-2.3 ± 8.2	0.068	-0.015 ± 0.051	-1.7 ± 6.4	0.005
< 50, <i>n</i> = 59	+0.006 ± 0.049	+1.0 ± 5.1	0.360	+0.007 ± 0.056	+0.9 ± 4.6	0.551	-0.002 ± 0.039	-0.2 ± 4.6	0.728
> 50, <i>n</i> = 57	-0.006 ± 0.061	-0.3 ± 6.5	0.450	-0.038 ± 0.051	-5.4 ± 7.6	0.001	-0.027 ± 0.059	-3.2 ± 7.5	0.002
Male, <i>n</i> = 194	-0.002 ± 0.068	-0.2 ± 6.5	0.754	-0.005 ± 0.052	-0.2 ± 6.7	0.359	-0.031 ± 0.050	-3.2 ± 5.4	< 0.001
< 50, <i>n</i> = 79	+0.005 ± 0.066	+1.0 ± 6.7	0.544	-0.006 ± 0.054	-0.3 ± 7.0	0.512	-0.030 ± 0.056	-3.0 ± 6.0	< 0.001
> 50, <i>n</i> = 115	-0.006 ± 0.068	-0.4 ± 6.3	0.377	-0.004 ± 0.052	-0.2 ± 6.6	0.525	-0.031 ± 0.045	-3.3 ± 5.0	< 0.001
ABD, <i>n</i> = 39	-0.014 ± 0.062	-0.9 ± 5.9	0.283	-0.025 ± 0.044	-3.3 ± 5.5	0.027	-0.048 ± 0.053	-4.9 ± 5.5	< 0.001
No ABD, <i>n</i> = 271	+0.000 ± 0.063	+0.4 ± 6.3	0.905	-0.006 ± 0.55	-0.6 ± 7.4	0.224	-0.022 ± 0.050	-2.4 ± 5.8	< 0.001
ESW, <i>n</i> = 41	+0.031 ± 0.066	+3.6 ± 6.6	0.006	+0.001 ± 0.056	+0.6 ± 8.1	0.909	-0.021 ± 0.061	-2.0 ± 6.7	0.047

OSR, n = 269	-0.006 ± 0.061	-0.2 ± 6.1	0.142	-0.011 ± 0.054	-1.2 ± 7.1	0.035	-0.026 ± 0.049	-2.8 ± 5.6	< 0.001
24 months after transplantation									
All, n = 222	-0.020 ± 0.066	-1.6 ± 6.4	< 0.001	-0.009 ± 0.059	-0.9 ± 7.7	0.045	-0.011 ± 0.062	-1.0 ± 6.9	0.017
Female, n = 86	-0.022 ± 0.061	-1.9 ± 6.2	0.001	-0.009 ± 0.064	-0.8 ± 8.9	0.407	-0.002 ± 0.057	-0.0 ± 7.0	0.756
< 50, n = 46	-0.018 ± 0.057	-1.6 ± 5.7	0.036	-0.013 ± 0.056	-1.7 ± 7.0	0.276	+0.006 ± 0.057	+0.9 ± 6.5	0.498
> 50, n = 40	-0.026 ± 0.066	-2.2 ± 6.7	0.015	-0.002 ± 0.075	+0.5 ± 11.1	0.896	-0.011 ± 0.056	-1.0 ± 7.5	0.249
Male, n = 136	-0.018 ± 0.069	-1.4 ± 6.5	0.003	-0.009 ± 0.056	-1.0 ± 7.1	0.196	-0.016 ± 0.065	-1.5 ± 6.9	0.008
< 50, n = 60	-0.011 ± 0.074	-0.4 ± 6.5	0.273	-0.004 ± 0.060	-0.1 ± 7.2	0.689	-0.007 ± 0.064	-0.3 ± 6.3	0.410
> 50, n = 76	-0.024 ± 0.065	-2.2 ± 6.5	0.002	-0.012 ± 0.054	-1.8 ± 7.0	0.167	-0.022 ± 0.065	-2.5 ± 7.2	0.005
ABD, n = 26	-0.039 ± 0.093	-3.0 ± 7.5	0.044	-0.012 ± 0.059	-2.1 ± 6.2	0.411	-0.034 ± 0.078	-3.2 ± 7.1	0.057
No ABD, n = 196	-0.017 ± 0.062	-1.5 ± 6.2	< 0.001	-0.008 ± 0.059	-0.7 ± 8.0	0.192	-0.008 ± 0.060	-0.7 ± 6.9	0.080
ESW, n = 16	+0.036 ± 0.059	+3.9 ± 5.8	0.028	+0.007 ± 0.064	+1.1 ± 9.5	0.702	+0.015 ± 0.056	+2.1 ± 7.0	0.275
OSR, n = 206	-0.024 ± 0.065	-2.0 ± 6.2	< 0.001	-0.010 ± 0.058	-1.2 ± 7.5	0.075	-0.013 ± 0.062	-1.2 ± 6.9	0.005

ABD, adynamic bone disease; BMD, bone mineral.

Table S3. Correlations between BMD at M1 and quantitative variables.

Quantitative Variables	Lumbar Spine BMD		Femoral Neck BMD		Total Hip BMD	
	ρ	p value	ρ	p value	ρ	p value
Recipient's age	+0.11	0.050	-0.12	0.078	-0.03	0.564
BMI	+0.31	<0.001	+0.27	<0.001	+0.42	<0.001
Laboratory data (M0)						
Serum calcium	-0.12	0.036	-0.06	0.403	-0.06	0.314
Serum phosphate	-0.04	0.451	-0.05	0.462	+0.02	0.679
Serum 25 (OH) vitamin D3	-0.04	0.463	-0.02	0.754	-0.04	0.485
Serum PTH	-0.17	0.003	-0.09	0.178	-0.13	0.040
Serum bone alkaline phosphatases	-0.05	0.453	-0.01	0.846	-0.04	0.557
Serum osteocalcin	-0.09	0.240	+0.06	0.456	-0.00	0.999

BMI, body mass index; ρ, Spearman's correlation coefficient; PTH, parathyroid hormone.

Table S4. Correlations between BMD at M1 and binary variables.

Binary Variables	Lumbar Spine			Femoral Neck			Total Hip		
	BMD		p value	BMD		p value	BMD		p value
	No	Yes		No	Yes		No	Yes	
Female	1.034 ± 0.16	0.970 ± 0.16	<0.001	0.788 ± 0.16	0.693 ± 0.12	<0.001	0.929 ± 0.15	0.822 ± 0.13	<0.001
Ethnic group (Caucasian)	1.035 ± 0.16	1.008 ± 0.16	0.492	0.831 ± 0.22	0.751 ± 0.15	0.138	0.914 ± 0.13	0.890 ± 0.15	0.555
Thyroid disorders	1.009 ± 0.16	1.022 ± 0.17	0.750	0.758 ± 0.15	0.691 ± 0.10	0.122	0.893 ± 0.15	0.863 ± 0.15	0.454
Prior osteoporotic fractures	1.016 ± 0.16	1.004 ± 0.17	0.826	0.759 ± 0.15	0.705 ± 0.16	0.111	0.894 ± 0.15	0.860 ± 0.16	0.274
Diabetes mellitus	0.999 ± 0.16	1.065 ± 0.16	0.008	0.752 ± 0.15	0.766 ± 0.15	0.614	0.892 ± 0.15	0.885 ± 0.14	0.764
Chronic inflammatory rheumatism	1.011 ± 0.16	0.943 ± 0.16	0.402	0.755 ± 0.15	0.635 ± 0.09	0.262	0.893 ± 0.15	0.759 ± 0.09	0.079
Autoimmune diseases	1.014 ± 0.16	0.956 ± 0.16	0.121	0.756 ± 0.15	0.725 ± 0.17	0.482	0.894 ± 0.15	0.850 ± 0.17	0.247
Primary HPT	1.007 ± 0.16	1.130 ± 0.15	0.033	0.752 ± 0.15	0.815 ± 0.13	0.314	0.890 ± 0.15	0.932 ± 0.11	0.434
Secondary HPT	1.037 ± 0.16	1.005 ± 0.16	0.227	0.755 ± 0.14	0.754 ± 0.15	0.976	0.909 ± 0.15	0.888 ± 0.15	0.423
Smoking	1.003 ± 0.15	1.017 ± 0.17	0.461	0.745 ± 0.15	0.763 ± 0.15	0.382	0.882 ± 0.16	0.901 ± 0.15	0.284
Alcohol consumption	1.010 ± 0.16	1.015 ± 0.18	0.877	0.755 ± 0.15	0.732 ± 0.14	0.560	0.892 ± 0.15	0.877 ± 0.14	0.678
Prior steroid intake	1.024 ± 0.16	0.944 ± 0.15	<0.001	0.758 ± 0.14	0.732 ± 0.18	0.320	0.899 ± 0.14	0.852 ± 0.18	0.048
Prior calcium intake	0.999 ± 0.16	1.039 ± 0.17	0.052	0.746 ± 0.15	0.780 ± 0.16	0.155	0.885 ± 0.14	0.909 ± 0.7	0.234
Prior vitamin D intake	1.013 ± 0.15	1.007 ± 0.17	0.744	0.750 ± 0.13	0.758 ± 0.17	0.684	0.891 ± 0.14	0.891 ± 0.17	0.982
Prior BP intake	1.011 ± 0.16	0.864 ± 0.04	0.199	0.754 ± 0.15	0.750 ± 0.10	0.980	0.892 ± 0.15	0.810 ± 0.00	0.447

BP, bisphosphonate; HPT, hyperparathyroidism; MMF, mycophenolate mofetil.

Table S5. Correlations between changes in BMD at M12 and quantitative variables.

Quantitative Variables	Lumbar Spine BMD		Femoral Neck BMD		Total Hip BMD	
	ρ	<i>p</i> value	ρ	<i>p</i> value	ρ	<i>p</i> value
Recipient age	-0.11	0.057	-0.10	0.225	-0.16	0.006
BMI	-0.11	0.064	+0.20	0.015	-0.02	0.706
Laboratory data						
Serum calcium	-0.01	0.892	+0.01	0.952	-0.11	0.074
Serum phosphate	+0.07	0.233	-0.03	0.703	-0.09	0.142
Serum 25 (OH) vitamin D3	-0.10	0.079	+0.03	0.759	-0.01	0.823
Serum PTH	+0.06	0.263	+0.20	0.019	+0.19	0.002
Serum bone alkaline phosphatases	+0.01	0.849	+0.19	0.038	+0.26	<0.001
Serum osteocalcin	+0.07	0.331	+0.14	0.175	+0.20	0.009
Serum creatinine at M12	-0.06	0.263	-0.09	0.258	+0.04	0.482

BMI, body mass index; ρ , Spearman’s correlation coefficient; PTH, parathyroid hormone.

Table S6. Correlations between changes in BMD at M12 and binary variables.

Binary Variables	Lumbar Spine			Femoral Neck			Total Hip		
	BMD Variations		<i>p</i> value	BMD Variations		<i>p</i> value	BMD Variations		<i>p</i> value
	No	Yes		No	Yes		No	Yes	
Female	-0.002 ± 0.06	+0.000 ± 0.07	0.834	-0.005 ± 0.06	-0.016 ± 0.016	0.262	-0.015 ± 0.05	-0.031 ± 0.05	0.012
Race (Caucasian)	-0.002 ± 0.04	-0.001 ± 0.06	0.966	-0.002 ± 0.07	-0.009 ± 0.05	0.752	-0.001 ± 0.03	-0.026 ± 0.05	0.060
Thyroid disorders	-0.000 ± 0.06	+0.003 ± 0.04	0.327	-0.007 ± 0.05	-0.027 ± 0.06	0.309	-0.024 ± 0.05	-0.048 ± 0.04	0.086
Prior osteoporotic fractures	-0.00 ± 0.06	-0.009 ± 0.07	0.453	-0.009 ± 0.05	-0.005 ± 0.05	0.819	-0.025 ± 0.05	-0.023 ± 0.07	0.805
Diabetes mellitus	+0.001 ± 0.06	-0.008 ± 0.06	0.363	-0.010 ± 0.05	-0.005 ± 0.06	0.739	-0.025 ± 0.05	-0.026 ± 0.06	0.924
Chronic inflammatory rheumatism	-0.001 ± 0.06	+0.024 ± 0.06	0.431	-0.008 ± 0.05	-0.014 ± 0.01	0.893	-0.025 ± 0.05	-0.010 ± 0.03	0.552
Autoimmune diseases	-0.003 ± 0.06	+0.025 ± 0.06	0.054	-0.007 ± 0.05	-0.028 ± 0.08	0.229	-0.026 ± 0.05	-0.015 ± 0.04	0.383
Primary HPT	+0.001 ± 0.06	-0.077 ± 0.10	0.001	-0.006 ± 0.05	-0.117 ± 0.06	<0.001	-0.024 ± 0.05	-0.052 ± 0.06	0.155
Secondary HPT	-0.015 ± 0.07	+0.001 ± 0.06	0.105	-0.041 ± 0.06	-0.004 ± 0.05	0.005	-0.035 ± 0.05	-0.023 ± 0.05	0.182
Smoking	+0.000 ± 0.06	-0.002 ± 0.06	0.716	-0.002 ± 0.05	-0.015 ± 0.06	0.172	-0.024 ± 0.05	-0.026 ± 0.05	0.721
Alcohol consumption	-0.001 ± 0.06	-0.007 ± 0.06	0.649	-0.011 ± 0.06	-0.012 ± 0.04	0.852	-0.024 ± 0.05	-0.040 ± 0.05	0.175
Calcium intake during the study period	+0.005 ± 0.06	-0.012 ± 0.07	0.024	-0.010 ± 0.05	-0.005 ± 0.05	0.657	-0.026 ± 0.05	-0.024 ± 0.05	0.737
Vitamin D intake during the study period	-0.001 ± 0.07	-0.001 ± 0.06	0.966	+0.011 ± 0.06	-0.012 ± 0.05	0.074	-0.009 ± 0.06	-0.025 ± 0.05	0.113
BP intake during the study period	-0.003 ± 0.06	+0.054 ± 0.05	0.003	-0.008 ± 0.05	-0.036 ± 0.01	0.470	-0.025 ± 0.05	-0.028 ± 0.05	0.852
Induction therapy									
Basiliximab	-0.007 ± 0.07	+0.005 ± 0.06	0.107	-0.009 ± 0.05	-0.008 ± 0.06	0.961	-0.033 ± 0.05	-0.018 ± 0.05	0.014
Thymoglobulin	+0.004 ± 0.06	-0.007 ± 0.07	0.134	-0.008 ± 0.06	-0.009 ± 0.05	0.961	-0.019 ± 0.05	-0.032 ± 0.05	0.040
Intravenous immunoglobulins	-0.002 ± 0.06	+0.019 ± 0.08	0.241	-0.008 ± 0.05	-0.011 ± 0.04	0.879	-0.026 ± 0.05	-0.009 ± 0.05	0.291
Maintenance therapy									

MMF + tacrolimus	-0.013 ± 0.06	+0.003 ± 0.06	0.064	+0.003 ± 0.06	-0.012 ± 0.05	0.178	-0.035 ± 0.05	-0.022 ± 0.05	0.062
MMF + cyclosporine	+0.006 ± 0.06	-0.014 ± 0.06	0.010	-0.012 ± 0.05	+0.001 ± 0.05	0.222	-0.022 ± 0.05	-0.031 ± 0.05	0.182
Tacrolimus + everolimus	+0.000 ± 0.06	-0.011 ± 0.07	0.377	-0.008 ± 0.05	-0.015 ± 0.05	0.704	-0.025 ± 0.05	-0.025 ± 0.05	0.994
MMF + everolimus	-0.001 ± 0.06	-0.003 ± 0.06	0.836	-0.006 ± 0.06	-0.022 ± 0.04	0.246	-0.023 ± 0.05	-0.037 ± 0.05	0.095
Tacrolimus + azathioprine	-0.001 ± 0.06	+0.004 ± 0.770	0.770	-0.008 ± 0.05	-0.028 ± 0.01	0.476	-0.026 ± 0.05	-0.008 ± 0.04	0.206
Early steroid withdrawal	-0.006 ± 0.06	+0.031 ± 0.07	<0.001	-0.010 ± 0.05	+0.001 ± 0.06	0.318	-0.026 ± 0.05	-0.021 ± 0.06	0.583

BP, bisphosphonate; HPT, hyperparathyroidism; MMF, mycophenolate mofetil.

Table S7. Correlations between changes in BMD at M24 and quantitative variables.

Quantitative Variables	Lumbar spine		Femoral neck		Total hip	
	Correlation coefficient	<i>P</i> value	Correlation coefficient	<i>P</i> value	Correlation coefficient	<i>P</i> value
Recipient age	−0.07	0.311	−0.08	0.397	−0.19	0.006
BMI	+0.00	0.973	+0.09	0.326	−0.06	0.398
Laboratory data						
Serum calcium	+0.09	0.172	+0.06	0.551	−0.03	0.658
Serum phosphate	+0.14	0.033	+0.24	0.011	+0.01	0.856
Serum 25 (OH) vitamin D3	−0.08	0.246	+0.06	0.563	+0.00	0.987
Serum PTH	+0.07	0.302	+0.28	0.003	+0.19	0.006
Serum bone alkaline phosphatases	+0.01	0.866	+0.08	0.449	+0.22	0.005
Serum osteocalcin	+0.14	0.099	+0.28	0.017	+0.19	0.061
Serum creatinine at M12	−0.13	0.048	−0.28	0.003	−0.15	0.028

BMI, body mass index; ρ , Spearman's correlation coefficient; PTH, parathyroid hormone.

Table S8. Correlations between changes in BMD at M24 and binary variables.

Binary Variables	Lumbar Spine			Femoral Neck			Total Hip		
	BMD Variations		<i>p</i> value	BMD Variations		<i>p</i> value	BMD Variations		<i>p</i> value
	No	Yes		No	Yes		No	Yes	
Female	-0.018 ± 0.06	-0.022 ± 0.06	0.662	-0.009 ± 0.06	-0.009 ± 0.06	0.992	-0.002 ± 0.06	-0.016 ± 0.06	0.140
Race (Caucasian)	-0.024 ± 0.07	-0.019 ± 0.07	0.774	-0.017 ± 0.03	-0.008 ± 0.06	0.721	-0.001 ± 0.04	-0.011 ± 0.06	0.602
Thyroid disorders	-0.019 ± 0.07	-0.020 ± 0.04	0.977	-0.007 ± 0.06	-0.039 ± 0.05	0.236	-0.010 ± 0.06	-0.023 ± 0.03	0.483
Prior osteoporotic fractures	-0.021 ± 0.07	-0.003 ± 0.06	0.236	-0.009 ± 0.05	-0.009 ± 0.09	0.786	-0.012 ± 0.06	+0.001 ± 0.06	0.401
Diabetes mellitus	-0.018 ± 0.07	-0.027 ± 0.07	0.480	-0.005 ± 0.06	-0.041 ± 0.05	0.052	-0.009 ± 0.06	-0.019 ± 0.06	0.490
Chronic inflammatory rheumatism	-0.021 ± 0.07	+0.022 ± 0.06	0.203	-0.008 ± 0.06	-0.019 ± 0.03	0.802	-0.011 ± 0.06	-0.011 ± 0.02	0.984
Autoimmune diseases	-0.022 ± 0.07	+0.015 ± 0.06	0.031	-0.009 ± 0.06	-0.005 ± 0.09	0.869	-0.012 ± 0.06	+0.013 ± 0.06	0.134
Primary HPT	-0.017 ± 0.06	-0.098 ± 0.010	0.003	-0.008 ± 0.06	-0.021 ± 0.09	0.664	-0.010 ± 0.06	-0.032 ± 0.05	0.391
Secondary HPT	-0.029 ± 0.08	-0.018 ± 0.06	0.331	-0.029 ± 0.06	-0.005 ± 0.06	0.131	-0.016 ± 0.06	-0.010 ± 0.06	0.602
Smoking	-0.020 ± 0.07	-0.019 ± 0.06	0.894	-0.012 ± 0.05	-0.005 ± 0.07	0.562	-0.011 ± 0.07	-0.010 ± 0.05	0.859
Alcohol consumption	-0.019 ± 0.07	-0.020 ± 0.05	0.964	-0.009 ± 0.06	+0.008 ± 0.05	0.495	-0.010 ± 0.06	-0.020 ± 0.07	0.613
Prior steroid intake	-0.021 ± 0.06	-0.013 ± 0.08	0.523	-0.009 ± 0.06	-0.008 ± 0.05	0.950	-0.013 ± 0.016	+0.002 ± 0.07	0.173
Calcium intake during the study period	-0.015 ± 0.06	-0.027 ± 0.08	0.197	-0.005 ± 0.06	-0.015 ± 0.06	0.388	-0.010 ± 0.06	-0.012 ± 0.06	0.782

Vitamin D intake during the study period	-0.017 ± 0.06	0.854	-0.019 ± 0.06	-0.007 ± 0.06	0.442	+0.009 ± 0.05	-0.014 ± 0.06	0.089
BP intake during the study period	-0.023 ± 0.07	<0.001	-0.010 ± 0.06	+0.043 ± 0.10	0.076	-0.011 ± 0.06	-0.003 ± 0.05	0.715
Induction therapy								
 Basiliximab	-0.024 ± 0.07	0.300	-0.002 ± 0.05	-0.013 ± 0.06	0.331	-0.010 ± 0.05	-0.011 ± 0.07	0.924
 Thymoglobulin	-0.015 ± 0.06	0.289	-0.013 ± 0.06	-0.002 ± 0.05	0.331	-0.012 ± 0.07	-0.010 ± 0.06	0.795
 Intravenous immunoglobulins	-0.020 ± 0.07	0.783	-0.008 ± 0.06	-0.049 ± 0.02	0.330	-0.010 ± 0.06	-0.021 ± 0.05	0.664
Maintenance therapy								
 MMF + tacrolimus	-0.022 ± 0.05	0.748	-0.006 ± 0.05	-0.010 ± 0.06	0.742	-0.021 ± 0.06	-0.007 ± 0.06	0.148
 MMF + cyclosporine	-0.015 ± 0.07	0.210	-0.009 ± 0.06	-0.008 ± 0.05	0.960	-0.006 ± 0.06	-0.018 ± 0.06	0.193
 Tacrolimus + everolimus	-0.020 ± 0.07	1.000	-0.009 ± 0.06	-0.006 ± 0.05	0.871	-0.009 ± 0.06	-0.024 ± 0.07	0.315
 MMF + everolimus	-0.020 ± 0.07	0.951	-0.012 ± 0.06	+0.008 ± 0.04	0.154	-0.010 ± 0.06	-0.014 ± 0.06	0.715
 Tacrolimus + azathioprine	-0.021 ± 0.07	0.347	-0.009 ± 0.06	-0.008 ± 0.03	0.976	-0.012 ± 0.06	-0.007 ± 0.04	0.301
 Early steroid withdrawal	-0.024 ± 0.06	<0.001	-0.010 ± 0.06	+0.007 ± 0.06	0.328	-0.013 ± 0.06	+0.016 ± 0.06	0.077

BP, bisphosphonate; HPT, hyperparathyroidism; MMF, mycophenolate mofetil;

Table S9. Predictive factors for a BMD decrease at M1 (multiple linear regression model).

BMD at M1	Coefficient	T value	P value
Lumbar spine			
IxS	$+5.555 \times 10^{-4}$	+1.167	0.245
BMI	$+5.153 \times 10^{-3}$	+4.001	<0.001
Male (ref. = female)	+0.035	+3.174	0.002
Serum calcium	-0.075	-2.774	0.006
Serum phosphate	-2.248×10^{-4}	-0.019	0.985
Serum 25 (OH) vitamin D3	-3.740×10^{-5}	-0.121	0.904
Serum PTH	-3.815×10^{-5}	-2.494	0.014
Serum bone alkaline phosphatases	7.782×10^{-5}	+0.176	0.861
Serum osteocalcin	-8.958×10^{-6}	-0.446	0.656
Femoral neck			
IxS	+0.001	+2.063	0.042
BMI	+0.005	+3.280	0.001
Male (ref. = female)	+0.038	+2.964	0.004
Serum calcium	-0.049	-1.599	0.112
Serum phosphate	-0.011	-0.714	0.477
Serum 25 (OH) vitamin D3	-3.310×10^{-4}	-0.953	0.342
Serum PTH	-2.753×10^{-5}	-1.346	0.181
Serum bone alkaline phosphatases	$+1.221 \times 10^{-4}$	+0.234	0.815
Serum osteocalcin	$+1.942 \times 10^{-5}$	+0.849	0.397
Total hip			
IxS	$+6.276 \times 10^{-4}$	+1.396	0.164
BMI	$+6.001 \times 10^{-3}$	+4.998	<0.001
Male (ref. = female)	$+4.558 \times 10^{-2}$	+4.379	<0.001
Serum calcium	-7.103×10^{-2}	-2.880	0.005
Serum phosphate	$+1.731 \times 10^{-3}$	+0.155	0.878
Serum 25 (OH) vitamin D3	-2.474×10^{-4}	-0.811	0.418
Serum PTH	-3.054×10^{-5}	-1.935	0.054
Serum bone alkaline phosphatases	$+1.853 \times 10^{-4}$	+0.391	0.697
Serum osteocalcin	$+4.547 \times 10^{-6}$	+0.251	0.802

BMI, body mass index; IxS, indoxylsulfate;.

Table S10. Correlations between UT concentrations and BMD at ML, by subgroup.

Subgroups	Uremic Toxins													
	pCS		CMPF		IxS		pCG		HA		TMAO		IAA	
	r	p value	r	p value	r	p value	r	p value	r	p value	r	p value	r	p value
Lumbar spine														
All, n = 310	+0.02	0.782	+0.01	0.805	+0.04	0.477	-0.01	0.876	-0.06	0.300	+0.01	0.797	+0.03	0.656
Female, n = 116	-0.07	0.485	-0.08	0.417	+0.10	0.271	-0.15	0.111	-0.19	0.038	-0.03	0.744	+0.04	0.689
< 50, n = 59	-0.01	0.939	-0.01	0.956	+0.19	0.144	+0.02	0.863	-0.10	0.494	-0.04	0.752	+0.06	0.636
> 50, n = 57	-0.08	0.542	-0.22	0.095	-0.04	0.796	-0.26	0.049	-0.30	0.022	-0.04	0.744	-0.01	0.959
Male, n = 194	+0.03	0.710	+0.06	0.408	-0.04	0.565	+0.07	0.364	-0.02	0.802	+0.03	0.700	-0.01	0.937
< 50, n = 79	-0.03	0.814	+0.04	0.698	-0.04	0.758	+0.02	0.873	-0.00	0.974	+0.08	0.493	-0.18	0.107
> 50, n = 115	+0.07	0.478	+0.03	0.752	-0.02	0.803	+0.10	0.311	-0.03	0.722	-0.00	0.989	+0.03	0.750
ABD, n = 39	+0.03	0.852	-0.33	0.038	+0.31	0.055	+0.16	0.341	+0.14	0.393	-0.07	0.666	+0.08	0.608
No ABD, n = 271	60.01	0.834	+0.05	0.369	+0.01	0.877	-0.04	0.551	-0.07	0.238	+0.03	0.634	+0.02	0.799
Femoral neck														
All, n = 310	+0.02	0.730	-0.05	0.448	+0.13	0.049	+0.03	0.701	-0.14	0.036	-0.00	0.975	-0.07	0.282
Female, n = 116	-0.12	0.275	+0.05	0.641	+0.12	0.282	-0.12	0.288	-0.15	0.180	-0.04	0.734	+0.07	0.540
< 50, n = 59	-0.03	0.838	+0.18	0.249	+0.10	0.538	-0.10	0.543	-0.17	0.268	+0.06	0.722	+0.09	0.584
> 50, n = 57	-0.23	0.165	-0.17	0.299	+0.14	0.398	-0.14	0.396	-0.13	0.442	-0.16	0.344	+0.05	0.776
Male, n = 194	+0.03	0.759	-0.12	0.155	+0.07	0.394	+0.03	0.691	-0.18	0.035	+0.02	0.811	-0.16	0.058
< 50, n = 79	-0.12	0.372	-0.18	0.177	+0.21	0.108	+0.01	0.942	-0.14	0.305	+0.10	0.463	-0.22	0.097
> 50, n = 115	+0.14	0.197	-0.06	0.585	-0.10	0.381	+0.05	0.641	-0.21	0.061	-0.04	0.719	-0.15	0.161
ABD, n = 39	+0.09	0.623	-0.32	0.075	+0.30	0.112	+0.06	0.772	+0.00	0.981	-0.27	0.146	-0.17	0.377

Total hip BMD														
No ABD, n = 271	+0.01	0.893	-0.01	0.912	+0.10	0.174	+0.01	0.904	-0.16	0.026	+0.06	0.368	-0.05	0.455
All, n = 310	-0.01	0.913	+0.03	0.592	+0.13	0.037	+0.01	0.901	-0.08	0.190	-0.00	0.942	-0.02	0.738
Female, n = 116	-0.23	0.024	+0.11	0.281	+0.18	0.068	-0.13	0.191	-0.13	0.190	-0.08	0.416	+0.09	0.388
< 50, n = 59	-0.11	0.441	+0.20	0.165	+0.16	0.261	+0.02	0.916	-0.08	0.568	-0.07	0.611	+0.13	0.369
> 50, n = 57	-0.30	0.034	-0.07	0.633	+0.15	0.298	-0.25	0.082	-0.22	0.119	-0.13	0.356	-0.04	0.797
Male, n = 194	+0.04	0.563	-0.04	0.555	+0.01	0.876	+0.07	0.355	-0.12	0.112	+0.01	0.931	-0.09	0.232
< 50, n = 79	+0.04	0.753	-0.02	0.853	+0.07	0.554	+0.03	0.776	-0.11	0.349	+0.02	0.892	-0.12	0.312
> 50, n = 115	+0.05	0.631	-0.05	0.620	-0.05	0.618	+0.10	0.319	-0.12	0.200	-0.01	0.892	-0.09	0.367
ABD, n = 39	+0.19	0.297	-0.19	0.291	+0.34	0.055	+0.25	0.165	+0.17	0.337	-0.20	0.267	-0.06	0.728
No ABD, n = 271	-0.05	0.490	+0.07	0.267	+0.09	0.162	-0.03	0.610	-0.10	0.106	+0.04	0.568	-0.01	0.830

ABD, adynamic bone disease; CMPF, 3-carboxy-4-methyl-5-propyl-furanpropionic acid; HA, hippuric acid; IAA, indole-3-acetic acid; IxS, indoxylsulfate; pCG, p-cresylglucuronide; pCS, p-cresylsulfate; r, correlation coefficient; TMAO, trimethylamine-N-oxide.

Table S11. Comparison of UT concentrations in patients with BMD loss vs. gain 12 months after kidney transplantation, by subgroup.

Subgroups	Lumbar Spine			Femoral Neck			Total Hip		
	BMD loss n = 154	BMD gain n = 156	p	BMD loss n = 89	BMD gain n = 56	p	BMD loss n = 197	BMD gain n = 79	p
pCS (µg/mL)									
All, n = 310	16.2 [0.02-65.7]	15.9 [0.3-68.1]	0.85	13.9 [0.1-52.5]	15.4 [0.5-65.7]	0.55	16.0 [0.1-68.1]	16.0 [0.6-57.3]	0.964
Female, n = 116	14.1 [0.5-57.3]	14.5 [1.8-46.8]	0.79	13.3 [0.6-42.8]	9.6 [0.5-30.6]	0.51	13.2 [0.6-48.47]	15.3 [1.9-57.3]	0.354
< 50, n = 59	11.5 [0.5-48.7]	12.2 [1.8-48.8]	0.72	8.4 [6.6-48.8]	9.6 [0.5-30.6]	0.48	11.2 [0.7-48.7]	14.6 [1.9-45.4]	0.240
> 50, n = 57	16.7 [0.6-57.3]	17.2 [3.4-46.8]	0.80	14.1 [0.6-33.5]	13.9 [3.4-23.8]	0.56	16.4 [0.6-43.8]	16.8 [6.9-57.3]	0.667

Male, n = 194	17.4	16.9	0.91	13.9	13.4	0.74	17.0	16.9	0.732
	[0.02-65.7]	[0.3-68.1]	2	[0.1-52.5]	[0.6-65.7]	0	[0.1-68.1]	[0.6-55.6]	
< 50, n = 79	16.7	18.5	0.43	17.4	15.5	0.96	16.4	19.5	0.489
	[0.02-46.2]	[0.3-68.1]	2	[0.3-48.8]	[0.6-49.5]	7	[0.3-68.1]	[0.6-49.5]	
> 50, n = 115	17.7	16.5	0.70	13.9	13.3	0.70	17.1	13.2	0.262
	[0.07-65.7]	[0.3-55.6]	0	[0.1-52.5]	[3.2-65.7]	1	[0.1-54.0]	[3.2-55.6]	
ABD, n = 39	16.7	17.6	0.25	14.6	13.3	0.33	14.3	21.5	0.281
	[0.1-34.7]	[3.4-52.5]	4	[7.6-52.5]	[3.4-23.7]	6	[0.8-52.2]	[13.3-42.8]	
No ABD, n = 271	16.0	15.9	0.90	13.0	13.4	0.83	16.4	15.7	0.848
	[0.02-65.7]	[0.3-68.1]	1	[0.1-48.8]	[0.5-65.7]	8	[0.1-68.1]	[0.6-57.3]	
GFR > 60	18.1	14.8	0.52	16.7	11.9	0.55	17.0	15.1	0.935
	[0.02-50.6]	[1.01-50.8]	8	[1.1-46.2]	[0.5-32.7]	2	[1.1-50.8]	[1.9-42.8]	
mL/min, n = 102	18.6	16.1	0.50	13.5	13.4	0.76	15.5	16.1	0.935
	[0.1-65.7]	[0.3-68.1]	4	[0.1-52.5]	[0.6-65.7]	3	[0.1-68.1]	[0.6-57.3]	
CMPPF (µg/mL)									
All, n = 310	3.0	2.0	0.00	2.9	2.2	0.07	2.5	2.4	0.921
	[0.0-32.3]	[0.0-18.0]	5	[0.0-22.0]	[0.0-32.3]	0	[0.0-28.3]	[0.0-18.0]	
Female, n = 116	2.4	1.9	0.43	2.2	1.5	0.09	1.6	2.4	0.266
	[0.0-32.3]	[0.0-12.2]	7	[0.1-22.0]	[0.0-32.3]	8	[0.0-22.0]	[0.1-14.0]	
< 50, n = 59	2.9	3.3	0.76	5.0	2.4	0.05	3.1	3.6	0.330
	[0.0-5.2]	[0.0-12.2]	7	[0.8-22.0]	[0.0-32.3]	1	[0.0-22.0]	[0.1-14.0]	
> 50, n = 57	1.9	1.2	0.15	2.9	1.1	0.15	1.3	1.0	1.000
	[0.1-12.2]	[0.2-12.2]	4	[0.1-12.2]	[0.3-1.5]	2	[0.1-12.2]	1.0 [0.2-8.4]	
Male, n = 194	3.1	2.1	0.00	3.3	2.4	0.25	2.7	2.4	0.603
	[0.0-23.8]	[0.0-18.0]	4	[0.0-14.1]	[0.0-18.0]	4	[0.0-28.3]	[0.0-18.0]	
< 50, n = 79	2.6	1.8	0.36	2.0	2.4	0.81	2.1	2.5	0.722
	[0.0-19.0]	[0.0-8.6]	4	[0.0-9.7]	[0.0-7.3]	4	[0.0-19.0]	2.5 [0.0-7.3]	
> 50, n = 115	4.5	2.6	0.00	4.4	2.4	0.21	3.3	2.4	0.462
	[0.1-28.3]	[0.0-18.0]	4	[0.3-14.1]	[0.0-18.0]	2	[0.0-28.3]	[0.1-18.0]	
ABD, n = 39	1.9	1.3	0.60	2.8	1.0	0.10	1.5	1.1	1.000
	[0.0-12.2]	[0.0-7.4]	2	[0.0-12.2]	[0.0-2.7]	4	1.5 [0.0-7.4]	1.1 [0.4-5.9]	
No ABD, n = 271	3.2	2.1	0.00	3.0	2.4	0.15	2.6	2.4	0.739
	[0.0-32.3]	[0.0-18.0]	3	[0.0-22.0]	[0.0-32.3]	4	[0.0-28.3]	[0.0-18.0]	

GFR > 60	2.6	2.8	0.56	2.9	1.4	0.07	2.6	2.5	0.872
<i>mL/min, n = 102</i>	[0.0–32.3]	[0.0–12.2]	0	[0.1–22.0]	[0.0–32.3]	9	[0.0–22.0]	[0.1–14.0]	
GFR < 60	3.4	1.8	0.00	3.3	2.4	0.34	2.4	2.3	0.997
<i>mL/min, n = 208</i>	[0.0–28.3]	[0.0–18.0]	3	[0.0–14.1]	[0.0–18.0]	5	[0.0–28.3]	[0.0–18.0]	
IxS (µg/mL)									
All, n = 310	20.4	19.6	0.40	19.3	19.9	0.86	19.8	20.7	0.476
	[1.2–101.0]	[1.8–67.2]	1	[1.8–68.6]	[1.3–54.5]	1	[1.2–67.2]	[3.7–101.0]	
Female, n = 116	16.4	16.1	0.81	15.0	18.1	0.39	14.6	18.6	0.027
	[1.2–101.0]	[3.7–34.8]	6	[2.2–34.8]	[6.8–40.8]	2	[1.2–57.7]	[3.7–101.0]	
< 50, n = 59	19.4	17.5	0.49	16.7	18.1	0.92	16.8	18.2	0.252
	[3.4–101.0]	[6.8–27.8]	9	[9.3–34.8]	[6.8–40.8]	8	[3.4–57.7]	[8.1–101.0]	
> 50, n = 57	14.2	15.0	0.74	13.4	17.3	0.68	12.6	19.9	0.164
	[1.2–49.5]	[3.7–31.1]	9	[2.2–33.3]	[9.6–30.7]	2	[1.2–33.3]	[3.7–31.1]	
Male, n = 194	21.3	20.7	0.53	23.7	20.0	0.61	21.2	22.1	0.982
	[1.3–68.6]	[1.8–67.2]	0	[1.8–68.6]	[1.3–54.5]	9	[1.3–67.2]	[3.8–54.5]	
< 50, n = 79	22.4	25.89	0.70	21.4	25.9	0.78	23.1	27.4	0.752
	[2.8–68.6]	[4.2–67.2]	2	[3.2–68.6]	[7.6–40.1]	3	[3.2–67.2]	[6.2–40.1]	
> 50, n = 115	20.6	19.8	0.26	19.8	17.5	0.41	20.6	18.4	0.697
	[1.3–55.1]	[1.8–65.4]	9	[1.8–54.6]	[1.3–54.5]	4	[1.3–65.4]	[3.8–54.5]	
ABD, n = 39	16.0	16.2	0.72	17.7	17.0	0.77	16.2	17.0	0.514
	[3.4–65.3]	[3.7–54.6]	4	[6.6–54.6]	[8.5–38.2]	5	[3.4–56.3]	[3.7–34.8]	
No ABD, n = 271	20.6	19.9	0.39	19.6	20.0	0.79	20.0	21.2	0.439
	[1.2–101.0]	[1.8–67.2]	8	[1.8–68.6]	[1.3–54.5]	8	[1.2–67.2]	[4.8–101.0]	
GFR > 60	22.6	17.5	0.01	15.5	18.4	0.63	20.2	17.8	0.553
<i>mL/min, n = 102</i>	[2.8–101.0]	[3.7–66.7]	8	[3.2–68.6]	[7.5–38.7]	0	[3.2–66.7]	[3.7–101.0]	
GFR < 60	19.3	20.7	0.53	19.8	20.0	0.98	19.3	21.4	0.221
<i>mL/min, n = 208</i>	[1.2–62.0]	[1.8–67.2]	2	[1.8–62.0]	[1.3–54.5]	8	[1.2–67.2]	[3.8–54.5]	
pCG (µg/mL)									
All, n = 310	0.89	0.71	0.36	0.72	0.66	0.48	0.80	0.69	0.786
	[0.00–9.10]	[0.00–6.80]	8	[0.00–7.04]	[0.00–5.75]	8	[0.00–9.10]	[0.00–5.17]	
Female, n = 116	0.84	0.60	0.43	0.56	0.60	0.99	0.79	0.62	0.833
	[0.00–6.89]	[0.00–4.19]	1	[0.00–3.05]	[0.00–2.75]	1	[0.00–6.89]	[0.00–5.17]	
< 50, n = 59	0.77	0.55	0.61	0.52	0.98	0.51	0.53	0.67	0.992
	[0.00–1.46]	[0.00–1.48]	1	[0.00–2.88]	[0.00–2.75]	7	[0.00–6.89]	[0.00–2.88]	

> 50, n = 57	0.87	0.87	0.60	0.61	0.37	0.29	0.84	0.56	0.894
	[0.00-5.17]	[0.00-4.19]	5	[0.00-3.10]	[0.13-0.84]	5	[0.00-6.22]	[0.00-5.17]	
<i>Male, n = 194</i>	0.90	0.75	0.57	0.79	0.69	0.31	0.80	0.78	0.772
	[0.00-9.10]	[0.00-6.80]	6	[0.00-7.04]	[0.00-5.75]	2	[0.00-9.10]	[0.00-5.14]	
< 50, n = 79	0.72	0.76	0.67	0.12	0.85	0.75	0.79	0.64	0.930
	[0.00-4.51]	[0.00-6.80]	2	[0.00-6.80]	[0.00-4.38]	1	[0.00-6.80]	[0.00-4.38]	
> 50, n = 115	0.97	0.69	0.29	0.94	0.69	0.27	0.80	0.90	0.651
	[0.00-9.10]	[0.00-4.27]	3	[0.00-7.04]	[0.00-5.75]	5	[0.00-9.10]	[0.00-5.14]	
<i>ABD, n = 39</i>	0.81	1.03	0.78	0.90	0.93	0.48	0.79	0.93	0.403
	[0.00-7.04]	[0.00-3.99]	2	[0.00-7.04]	[0.00-1.58]	9	[0.00-7.04]	[0.06-2.88]	
<i>No ABD, n = 271</i>	0.90	0.70	0.33	0.67	0.63	0.70	0.80	0.67	0.606
	[0.00-9.10]	[0.00-6.80]	6	[0.00-6.80]	[0.00-5.75]	1	[0.00-9.10]	[0.00-5.17]	
<i>GFR > 60</i>	0.70	0.72	0.49	0.61	0.98	0.89	0.76	0.60	0.239
	[0.00-6.89]	[0.00-4.65]	2	[0.00-3.53]	[0.00-5.75]	4	[0.00-6.89]	[0.00-3.84]	
<i>GFR < 60</i>	0.92	0.71	0.54	0.82	0.58	0.37	1.31	1.29	0.744
	[0.00-9.10]	[0.00-6.80]	3	[0.00-7.04]	[0.00-5.14]	5	[0.00-9.1]	[0.00-5.17]	
HA (µg/mL)									
<i>All, n = 310</i>	25.6	25.7	0.84	28.0	25.7	0.93	24.0	30.7	0.471
	[0.4-195.0]	[1.0-139.0]	2	[1.8-139.0]	[0.4-100.0]	2	[0.4-195.0]	[1.1-100.0]	
<i>Female, n = 116</i>	20.5	22.4	0.68	22.2	34.4	0.45	19.1	30.7	0.184
	[1.8-100.0]	[1.1-139.0]	7	[1.8-139.0]	[4.1-80.8]	1	[1.8-139.0]	[1.1-98.7]	
< 50, n = 59	17.1	24.0	0.68	22.2	50.8	0.32	19.7	24.9	0.574
	[2.0-100.0]	[1.1-139.0]	2	[2.0-139.0]	[4.04-80.8]	5	[2.0-139.0]	[1.1-98.7]	
> 50, n = 57	23.3	20.8	0.81	25.0	17.5	0.47	18.5	34.0	0.199
	[1.8-83.2]	[1.1-100.0]	2	[1.8-100.0]	[5.9-34.4]	7	[1.8-117.0]	[1.1-90.1]	
<i>Male, n = 194</i>	28.1	29.1	0.86	29.1	25.6	0.49	28.4	30.6	0.821
	[0.4-195.0]	[1.0-100.0]	9	[1.8-124.0]	[0.4-100.0]	4	[0.4-195.0]	[2.9-100.0]	
< 50, n = 79	22.0	25.7	0.54	22.4	25.7	0.94	22.8	25.7	0.697
	[0.5-195.0]	[1.0-100.0]	1	[1.8-124.0]	[2.9-78.6]	6	[0.5-195.0]	[2.9-100.0]	
> 50, n = 115	38.4	36.1	0.48	37.0	19.1	0.24	38.4	37.3	0.954
	[0.4-126.0]	[2.4-100.0]	6	[2.4-63.4]	[7.0-36.9]	6	[0.4-126.0]	[3.4-76.7]	
<i>ABD, n = 39</i>	25.8	20.6	0.32	24.7	25.7	0.87	24.5	19.1	0.129
	[3.2-82.2]	[1.1-63.4]	3	[1.8-139.0]	[0.4-100.0]	1	[3.2-82.2]	[1.1-24.0]	

No ABD, n = 271	25.3	27.3	0.66	24.6	21.1	0.76	24.0	32.8	0.315
	[0.4–195.0]	[1.0–139.0]	1	[1.8–139.0]	[3.36–98.4]	6	[0.4–195.0]	[1.1–100.0]	
GFR > 60	23.1	21.3	0.76	30.0	33.6	0.86	21.4	21.1	0.872
mL/min, n = 102	[1.8–100.0]	[1.0–139.0]	9	[1.8–124.0]	[0.4–100.0]	3	[1.0–139.0]	[1.1–100.0]	
GFR < 60	28.2	29.9	0.62	28.2	29.9	0.62	25.0	33.9	0.274
mL/min, n = 208	[0.4–195.0]	[2.4–100.0]	2	[0.4–195.0]	[2.4–100.0]	2	[0.4–195.0]	[2.9–94.3]	
TMAO (µg/mL)									
All, n = 310	4.4	4.2	0.57	4.2	4.1	0.53	4.3	4.5	0.433
	[0.0–32.5]	[0.0–54.0]	7	[0.0–22.7]	[0.0–32.5]	4	[0.0–54.0]	[0.0–32.4]	
Female, n = 116	3.3	4.2	0.52	3.3	3.8	0.51	3.5	5.1	0.110
	[0.0–31.6]	[0.0–34.1]	5	[0.0–15.2]	[0.0–14.7]	5	[0.0–31.6]	[0.0–32.4]	
< 50, n = 59	3.2	4.8	0.10	3.7	3.8	0.78	3.5	7.6	0.006
	[0.0–29.0]	[0.1–34.1]	3	[0.1–15.2]	[0.0–14.7]	6	[0.1–15.2]	[0.5–32.4]	
> 50, n = 57	3.5	3.3	0.38	3.2	3.7	0.96	4.2	3.4 [0.0–7.7]	0.519
	[0.0–31.6]	[0.0–15.4]	5	[0.0–12.7]	[0.4–9.7]	9	[0.0–31.6]		
Male, n = 194	5.1	4.3	0.22	4.4	4.3	0.96	4.7	4.4	0.954
	[0.0–32.5]	[0.0–54.0]	1	[0.0–22.7]	[0.0–32.5]	3	[0.0–54.0]	[0.0–20.5]	
< 50, n = 79	4.3	4.5	0.85	3.8	3.7	0.82	4.4	3.7	0.778
	[0.0–29.1]	[0.8–54.0]	0	[0.8–22.7]	[1.6–14.9]	5	[0.0–54.0]	[1.6–16.1]	
> 50, n = 115	5.9	4.2	0.05	5.0	4.6	0.76	4.7	4.5	0.979
	[0.0–32.5]	[0.0–24.0]	8	[0.0–18.1]	[0.0–32.5]	6	[0.0–32.5]	[0.0–20.5]	
ABD, n = 39	4.2	4.1	0.86	5.4	3.3	0.05	4.2	4.5	0.610
	[0.0–31.6]	[0.4–12.3]	6	[0.0–12.3]	[0.4–4.6]	9	[0.0–31.6]	[0.4–12.3]	
No ABD, n = 271	4.5	4.3	0.60	4.0	4.3	0.19	4.5	4.4	0.495
	[0.0–32.5]	[0.0–54.0]	9	[0.0–22.7]	[0.0–32.5]	0	[0.0–54.0]	[0.0–32.4]	
GFR > 60	4.0	4.8	0.91	4.1	4.3	0.83	4.0	5.8	0.090
mL/min, n = 102	[0.0–29.2]	[0.1–22.7]	8	[0.1–22.7]	[0.0–14.9]	1	[0.0–22.7]	[0.4–29.2]	
GFR < 60	4.9	4.1	0.39	4.2	3.9	0.55	4.5	3.8	0.807
mL/min, n = 208	[0.0–32.5]	[0.0–54.0]	8	[0.0–17.1]	[0.0–32.5]	2	[0.0–54.0]	[0.0–32.4]	
IAA (µg/mL)									
All, n = 310	0.75	0.75	0.30	0.74	0.75	0.94	0.74	0.78	0.808
	[0.08–7.61]	[0.10–5.28]	2	[0.14–7.61]	[0.24–5.89]	0	[0.19–7.61]	[0.08–5.89]	
Female, n = 116	0.69	0.77	0.87	0.67	0.71	0.62	0.71	0.78	0.365
	[0.19–5.22]	[0.10–2.83]	6	[0.14–2.52]	[0.35–1.80]	7	[0.19–5.22]	[0.14–2.52]	

< 50, n = 59	0.70	0.74	0.52	0.71	0.81	0.60	0.71	0.88	0.190
	[0.21-5.22]	[0.10-2.83]	2	[0.21-2.52]	[0.35-1.80]	8	[0.21-5.22]	[0.34-2.52]	
> 50, n = 57	0.68	0.77	0.69	0.65	0.64	0.85	0.78	0.68	0.894
	[0.19-2.18]	[0.14-1.69]	4	[0.14-2.18]	[0.40-0.88]	2	[0.19-2.11]	[0.14-2.18]	
<i>Male, n = 194</i>	0.80	0.73	0.14	0.76	0.78	0.65	0.75	0.78	0.798
	[0.08-7.61]	[0.22-5.28]	4	[0.33-7.61]	[0.24-5.89]	3	[0.21-7.61]	[0.08-5.89]	
< 50, n = 79	0.75	0.84	0.68	0.74	0.86	0.49	0.74	0.89	0.537
	[0.22-2.63]	[0.36-3.20]	3	[0.40-1.69]	[0.36-3.20]	9	[0.22-2.63]	[0.36-3.20]	
> 50, n = 115	0.83	0.68	0.02	0.78	0.71	0.30	0.76	0.74	0.296
	[0.08-7.61]	[0.22-5.28]	6	[0.24-5.89]	[0.24-5.89]	7	[0.21-7.61]	[0.08-5.89]	
<i>ABD, n = 39</i>	0.68	0.89	0.70	0.95	0.88	1.00	0.94	0.64	0.405
	[0.21-2.12]	[0.33-5.28]	2	[0.33-5.28]	[0.53-2.12]	0	[0.33-5.28]	[0.21-1.33]	
<i>No ABD, n = 271</i>	0.76	0.74	0.21	0.74	0.73	0.93	0.73	0.78	0.530
	[0.08-7.61]	[0.10-5.26]	6	[0.14-7.61]	[0.24-5.89]	9	[0.19-7.61]	[0.08-5.89]	
<i>GFR > 60</i>	0.74	0.70	0.69	0.75	0.63	0.10	0.72	0.78	0.447
	[0.21-2.63]	[0.33-4.75]	7	[0.21-4.75]	[0.35-2.12]	3	[0.21-4.75]	[0.42-1.69]	
<i>mL/min, n = 102</i>	0.82	0.77	0.30	0.69	0.82	0.34	0.77	0.78	0.795
	[0.08-7.61]	[0.10-5.28]	6	[0.14-7.61]	[0.24-5.89]	5	[0.19-7.61]	[0.08-5.89]	

ABD, adynamic bone disease; CMPF, 3-carboxy-4-methyl-5-propyl-furanpropionic acid; GFR, glomerular filtration rate; HA, hippuric acid; IAA, indole-3-acetic acid; IxS, indoxylsulfate; pCG, p-cresylglucuronide; pCS, p-cresylsulfate; r, correlation coefficient; TMAO, trimethylamine-N-oxide.

Table S12. Correlations between UT concentrations and BMD changes 12 and 24 months after transplantation, by subgroup.

Subgroups	Uremic Toxins													
	pCS		CMPF		IxS		pCG		HA		TMAO		IAA	
	rho	p	rho	p	rho	p	rho	p	rho	p	rho	p	rho	p
Changes in the lumbar spine BMD (%) 12 months after transplantation														
<i>All, n = 310</i>	-0.02	0.747	-0.09	0.116	+0.02	0.736	-0.03	0.624	+0.02	0.666	-0.01	0.901	-0.03	0.569
<i>Female, n = 116</i>	-0.12	0.215	-0.05	0.595	-0.09	0.337	-0.12	0.200	+0.03	0.781	-0.01	0.891	-0.04	0.660
< 50, n = 59	-0.12	0.371	-0.01	0.943	-0.17	0.200	-0.20	.0135	-0.01	0.914	+0.11	0.399	-0.04	0.742
> 50, n = 57	-0.09	0.527	-0.18	0.197	-0.06	0.662	-0.04	0.747	+0.06	0.663	-0.20	0.149	-0.07	0.612
<i>Male, n = 194</i>	+0.02	0.770	-0.11	0.125	+0.07	0.329	+0.01	0.870	-0.05	0.533	-0.00	0.962	-0.03	0.694
< 50, n = 79	+0.08	0.486	-0.04	0.708	+0.11	0.327	+0.11	0.337	+0.01	0.920	+0.02	0.837	+0.13	0.254
> 50, n = 115	-0.02	0.816	-0.12	0.186	+0.03	0.775	-0.05	0.613	-0.09	0.340	-0.04	0.667	-0.07	0.467
<i>ABD, n = 39</i>	+0.27	0.104	-0.12	0.487	+0.10	0.571	+0.01	0.975	-0.16	0.354	-0.12	0.488	+0.10	0.557

No ABD, n = 271	-0.05	0.400	-0.10	0.118	+0.00	0.943	-0.03	0.602	-0.02	0.761	+0.01	0.927	-0.05	0.419
ESW, n = 41	-0.08	0.634	+0.09	0.591	+0.09	0.590	-0.01	0.947	+0.01	0.930	+0.18	0.272	+0.10	0.539
OSR, n = 269	-0.01	0.868	-0.08	0.166	+0.04	0.486	-0.02	0.787	-0.02	0.730	-0.01	0.874	-0.08	0.195
GFR > 60	-0.15	0.127	+0.01	0.908	-0.10	0.344	-0.02	0.831	+0.06	0.533	+0.08	0.436	-0.01	0.958
mL/min, n = 102														
GFR < 60	+0.04	0.584	-0.15	0.033	+0.07	0.285	-0.02	0.744	-0.06	0.390	-0.03	0.625	-0.03	0.645
mL/min, n = 208														
Changes in the lumbar spine BMD (%) 24 months after transplantation														
All, n = 222	-0.00	0.967	-0.10	0.135	-0.03	0.662	+0.03	0.621	-0.03	0.614	+0.07	0.320	-0.06	0.368
Female, n = 86	+0.02	0.857	-0.06	0.553	-0.11	0.298	+0.05	0.657	-0.02	0.869	+0.04	0.704	-0.17	0.116
< 50, n = 46	+0.00	0.980	-0.05	0.759	-0.17	0.272	+0.01	0.953	-0.14	0.371	+0.04	0.783	-0.20	0.195
> 50, n = 40	+0.06	0.715	-0.12	0.462	-0.09	0.566	+0.10	0.558	+0.10	0.526	+0.03	0.876	-0.17	0.291
Male, n = 136	-0.02	0.826	-0.12	0.148	+0.01	0.937	+0.02	0.779	-0.05	0.582	+0.08	0.361	-0.01	0.932
< 50, n = 60	+0.11	0.417	+0.00	0.997	+0.06	0.623	+0.11	0.416	+0.01	0.967	+0.12	0.354	-0.9	0.517
> 50, n = 76	-0.14	0.214	-0.17	0.135	-0.08	0.487	-0.03	0.810	-0.12	0.309	-0.01	0.964	-0.05	0.675
ABD, n = 26	+0.00	0.983	+0.30	0.134	-0.25	0.219	+0.00	0.991	-0.18	0.387	+0.00	0.997	-0.10	0.628
No ABD, n = 196	-0.00	0.960	-0.16	0.023	-0.00	0.991	+0.04	0.544	-0.03	0.724	+0.08	0.276	-0.06	0.436
ESW, n = 16	-0.19	0.475	+0.68	0.003	+0.23	0.376	+0.32	0.232	+0.36	0.171	+0.18	0.515	+0.01	0.969
OSR, n = 206	+0.02	0.798	-0.10	0.139	-0.01	0.856	+0.05	0.440	-0.03	0.697	+0.08	0.259	-0.05	0.494
GFR > 60	+0.04	0.751	+0.04	0.761	-0.17	0.144	+0.02	0.869	+0.01	0.925	+0.17	0.141	+0.08	0.493
mL/min, n = 76														
GFR < 60	-0.02	0.797	-0.18	0.028	+0.05	0.578	+0.05	0.544	-0.06	0.501	+0.03	0.733	-0.12	0.134
mL/min, n = 146														
Changes in the femoral neck BMD (%) 12 months after transplantation														
All, n = 310	-0.10	0.229	+0.10	0.218	+0.04	0.654	-0.01	0.908	-0.03	0.760	+0.07	0.397	+0.01	0.869
Female, n = 116	-0.14	0.347	+0.22	0.131	+0.23	0.124	+0.00	0.984	+0.12	0.437	+0.02	0.906	-0.10	0.485
< 50, n = 59	+0.04	0.853	+0.22	0.309	+0.18	0.417	+0.15	0.498	-0.01	0.976	+0.14	0.514	-0.11	0.599
> 50, n = 57	-0.21	0.320	-0.03	0.901	+0.13	0.560	-0.18	0.389	+0.13	0.530	-0.29	0.177	-0.21	0.330
Male, n = 194	-0.11	0.297	+0.00	0.950	+0.05	0.614	-0.03	0.766	-0.03	0.775	+0.08	0.455	+0.02	0.808
< 50, n = 79	-0.06	0.716	+0.22	0.176	-0.08	0.634	+0.00	0.994	-0.01	0.967	+0.16	0.334	+0.25	0.123
> 50, n = 115	-0.14	0.294	-0.10	0.433	-0.03	0.832	-0.05	0.701	-0.05	0.724	+0.02	0.870	-0.03	0.820
ABD, n = 39	+0.01	0.972	+0.00	0.973	-0.03	0.920	+0.06	0.806	-0.13	0.617	-0.10	0.688	-0.13	0.596
No ABD, n = 271	-0.10	0.246	+0.10	0.256	+0.05	0.569	-0.01	0.915	+0.02	0.787	+0.08	0.376	+0.04	0.686
ESW, n = 41	+0.04	0.848	+0.38	0.052	+0.31	0.136	+0.10	0.642	+0.13	0.536	+0.33	0.104	-0.07	0.730

OSR, n = 269	-0.12	0.198	+0.09	0.350	+0.01	0.907	-0.03	0.780	+0.00	0.967	+0.04	0.646	+0.03	0.747
GFR > 60														
mL/min, n = 102	-0.25	0.083	+0.18	0.224	-0.05	0.711	-0.05	0.732	-0.13	0.386	+0.06	0.664	-0.04	0.779
GFR < 60														
mL/min, n = 208	-0.04	0.719	+0.04	0.673	+0.10	0.357	+0.01	0.926	-0.11	0.265	+0.07	0.470	+0.05	0.658
Changes in the femoral neck BMD (%) 24 months after transplantation														
All, n = 222	+0.03	0.747	-0.03	0.733	+0.11	0.244	+0.06	0.533	+0.13	0.173	+0.07	0.443	+0.05	0.576
Female, n = 86	+0.03	0.859	-0.10	0.553	+0.18	0.277	+0.13	0.410	+0.33	0.038	+0.15	0.341	+0.25	0.119
< 50, n = 46	-0.12	0.594	-0.19	0.382	+0.29	0.185	-0.07	0.766	+0.26	0.238	+0.22	0.314	+0.38	0.075
> 50, n = 40	+0.22	0.399	+0.06	0.805	+0.09	0.737	+0.33	0.195	+0.37	0.145	+0.09	0.722	+0.08	0.755
Male, n = 136	+0.03	0.783	+0.02	0.893	+0.08	0.484	+0.03	0.813	+0.02	0.861	-0.01	0.946	-0.03	0.808
< 50, n = 60	+0.22	0.231	+0.37	0.041	+0.18	0.322	+0.13	0.480	+0.12	0.530	-0.01	0.975	+0.25	0.168
> 50, n = 76	-0.11	0.496	-0.05	0.772	-0.03	0.852	-0.03	0.852	-0.11	0.496	-0.03	0.856	-0.13	0.423
ABD, n = 26	+0.08	0.771	+0.02	0.942	-0.27	0.297	-0.16	0.533	-0.31	0.223	-0.00	0.998	-0.29	0.257
No ABD, n = 196	+0.03	0.798	+0.04	0.704	+0.18	0.077	+0.14	0.174	+0.19	0.069	+0.09	0.381	+0.08	0.416
ESW, n = 16	-0.24	0.458	+0.45	0.135	+0.41	0.187	+0.25	0.435	+0.39	0.209	+0.79	0.002	+0.33	0.288
OSR, n = 206	+0.06	0.531	+0.05	0.630	+0.09	0.356	+0.06	0.580	+0.11	0.267	+0.03	0.759	+0.04	0.669
GFR > 60														
mL/min, n = 76	+0.21	0.182	+0.09	0.552	+0.14	0.372	-0.07	0.642	+0.02	0.897	+0.00	0.989	+0.07	0.650
GFR < 60														
mL/min, n = 146	-0.05	0.662	-0.13	0.280	+0.11	0.383	+0.15	0.218	+0.21	0.090	+0.11	0.375	+0.04	0.727
Changes in the total hip BMD (%) 12 months after transplantation														
All, n = 310	-0.05	0.389	-0.02	0.770	-0.02	0.763	-0.04	0.545	-0.07	0.257	-0.00	0.976	+0.07	0.238
Female, n = 116	+0.04	0.686	+0.06	0.547	-0.17	0.094	-0.05	0.641	+0.04	0.712	-0.02	0.834	+0.11	0.295
< 50, n = 59	+0.07	0.618	-0.03	0.833	+0.00	0.986	-0.22	0.123	-0.05	0.731	+0.28	0.052	+0.09	0.540
> 50, n = 57	+0.09	0.538	+0.05	0.727	+0.28	0.048	+0.09	0.557	+0.08	0.594	-0.31	0.025	+0.08	0.575
Male, n = 194	-0.08	0.286	-0.03	0.653	-0.07	0.333	-0.03	0.702	-0.10	0.176	+0.02	0.792	+0.08	0.311
< 50, n = 79	-0.14	0.260	-0.09	0.479	-0.14	0.235	-0.13	0.275	-0.21	0.078	+0.00	0.968	-0.03	0.778
> 50, n = 115	-0.03	0.764	-0.01	0.956	-0.02	0.869	+0.05	0.587	+0.01	0.915	+0.04	0.706	+0.13	0.182
ABD, n = 39	-0.01	0.951	+0.04	0.832	-0.34	0.064	+0.01	0.953	-0.35	0.051	-0.11	0.552	-0.12	0.531
No ABD, n = 271	-0.05	0.396	-0.04	0.506	+0.02	0.792	-0.05	0.452	-0.06	0.321	+0.01	0.893	+0.10	0.112
ESW, n = 41	+0.13	0.426	+0.41	0.012	+0.27	0.109	+0.09	0.613	+0.17	0.323	-0.06	0.716	+0.19	0.250
OSR, n = 269	-0.09	0.186	-0.06	0.362	-0.05	0.436	-0.05	0.432	-0.11	0.098	+0.01	0.930	+0.04	0.572

Changes in the total hip BMD (%) 24 months after transplantation														
GFR > 60	-0.17	0.117	+0.03	0.802	-0.17	0.105	-0.19	0.078	-0.07	0.500	+0.20	0.058	-0.09	0.398
<i>mL/min, n = 102</i>														
GFR < 60	+0.01	0.935	-0.04	0.570	+0.08	0.302	+0.03	0.673	-0.07	0.367	-0.09	0.210	+0.13	0.076
<i>mL/min, n = 208</i>														
All, n = 222	-0.05	0.509	-0.02	0.730	+0.04	0.570	+0.01	0.868	+0.02	0.743	+0.03	0.671	-0.01	0.944
Female, n = 86	-0.02	0.886	-0.06	0.610	+0.06	0.598	-0.07	0.561	+0.12	0.303	+0.05	0.690	+0.09	0.437
< 50, n = 46	+0.06	0.736	+0.08	0.618	-0.07	0.687	-0.25	0.132	+0.13	0.403	+0.23	0.174	+0.08	0.639
> 50, n = 40	-0.04	0.834	-0.24	0.167	+0.22	0.206	+0.14	0.435	+0.10	0.562	-0.21	0.225	+0.08	0.628
Male, n = 136	-0.05	0.596	+0.01	0.938	+0.06	0.519	+0.05	0.551	+0.02	0.984	+0.03	0.733	-0.05	0.592
< 50, n = 60	-0.05	0.704	-0.12	0.376	+0.04	0.755	-0.03	0.802	-0.06	0.652	-0.05	0.704	-0.17	0.203
> 50, n = 76	-0.05	0.699	+0.11	0.362	+0.04	0.735	+0.11	0.348	+0.06	0.637	+0.11	0.380	-0.00	0.996
ABD, n = 26	+0.11	0.633	+0.25	0.276	-0.26	0.245	+0.06	0.794	-0.17	0.460	+0.02	0.926	-0.17	0.474
No ABD, n = 196	-0.07	0.378	-0.06	0.435	+0.08	0.299	+0.00	0.975	+0.03	0.679	+0.03	0.692	+0.01	0.857
ESW, n = 16	-0.13	0.625	+0.48	0.058	+0.47	0.069	+0.32	0.221	+0.40	0.124	+0.30	0.260	+0.34	0.196
OSR, n = 206	-0.04	0.613	-0.03	0.688	+0.04	0.612	+0.02	0.839	+0.02	0.787	+0.03	0.718	-0.01	0.919
GFR > 60	-0.02	0.871	-0.04	0.739	-0.01	0.942	-0.00	0.995	+0.06	0.635	+0.12	0.332	-0.12	0.364
<i>mL/min, n = 76</i>														
GFR < 60	-0.06	0.485	-0.05	0.575	+0.06	0.479	+0.03	0.694	-0.00	0.994	-0.01	0.888	+0.05	0.530
<i>mL/min, n = 146</i>														

ABD, adynamic bone disease; CMPF, 3-carboxy-4-methyl-5-propyl-furanpropionic acid; ESW, early steroids withdrawal; GFR, glomerular filtration rate; HA, hippuric acid; IAA, indole-3-acetic acid; IxS, indoxylsulfate; OSR, other steroid regimens; pCG, p-cresylglucuronide; pCS, p-cresylsulfate; r, correlation coefficient; TMAO, trimethylamine-N-oxide.

Chapitre III

Deuxième axe de recherche

Effets osseux de l'arrêt précoce des corticostéroïdes
après transplantation rénale

I. Introduction

Les corticostéroïdes au long cours ont des effets toxiques osseux rapides en population générale et également après transplantation rénale et ont été fortement suspectés d'être la principale cause de diminution de la DMO et de fractures après transplantation rénale (Chapitre I, paragraphe IV.B.2.a.). Les protocoles d'immunosuppression en faveur d'une réduction de dose voire d'un arrêt de la corticothérapie ont évolué au cours de la dernière décennie (paragraphe IV.A.2.).

Au moment de la réalisation de cette étude, peu de données étaient disponibles sur l'évolution de la DMO entre les patients transplantés recevant une corticothérapie au long cours et ceux ayant un arrêt précoce des corticostéroïdes après la transplantation. Une étude de 2012 a montré une réduction du risque de fracture de 31% chez les patients avec arrêt précoce de la corticothérapie, comparativement à ceux recevant une corticothérapie prolongée, mais il n'y avait aucune donnée concernant la DMO [15]. Une seule étude, publiée au moment du recueil de données de notre étude et réalisée au CHRU de Lille, a montré un gain significatif de la DMO entre le 9^{ème} et le 24^{ème} mois suivant la transplantation rénale [272] chez les patients avec arrêt précoce de la corticothérapie comparativement à ceux avec une corticothérapie prolongée.

II. Objectifs

L'objectif principal de cette étude était de comparer les variations de DMO (entre 1 mois et 12 mois après la transplantation) entre un groupe de patients avec arrêt précoce de la corticothérapie (à J7 de la transplantation) et un groupe de patients avec une corticothérapie prolongée après transplantation rénale, et ce à 3 sites de mesure (rachis lombaire, col fémoral et hanche totale). L'objectif secondaire était de comparer les taux d'incidence fracturaire entre les groupes.

III. Résumé de l'article

Méthodes

Données recueillies

Pour cette étude, les patients ont été inclus entre le 1er janvier 2012 et le 13 février 2019 selon le protocole DeMosTraR, et devaient avoir eu une ostéodensitométrie à 1 mois (M1) et à 12 mois (M12) de la transplantation.

Les données utilisées pour cette étude étaient les facteurs de risque d'ostéoporose (ceux connus en population générale et après transplantation rénale), ainsi que les médicaments anti-ostéoporotiques (calcium, vitamine D, bisphosphonates), les caractéristiques de la MRC, celles liées à la transplantation, et également les paramètres phosphocalciques, la PTH, la 25(OH) vitamine D, la PAO, l'OCN et la créatininémie.

Le groupe « arrêt précoce des corticostéroïdes (APCS) » comprenait les patients avec un arrêt des corticostéroïdes à J7 de la transplantation, et le groupe « corticothérapie prolongée (CTP) » comprenait les patients ayant reçu d'emblée une corticothérapie prolongée après transplantation rénale, ou ayant eu initialement un arrêt précoce des corticostéroïdes puis secondairement réintroduits au cours de la période de suivi, à savoir dans l'année suivant la transplantation rénale.

Comme dans l'étude précédente, les patients avec une OA ont été identifiés selon les concentrations plasmatiques en PTH et en PAO.

Analyses statistiques

Des analyses univariées ont été réalisées entre les groupes APCS et CTP et également concernant les variations de la DMO entre M1 et M12, afin d'identifier les facteurs influençant les variations de DMO dans notre population. Afin de tenir compte des nombreux facteurs de confusion, des régressions linéaires pondérées sur la probabilité inverse de traitement (IPTW) calculée à partir d'un score de propension ont été réalisées, et ce à chaque site de mesure de la DMO. En analyses de sensibilité, les analyses précédentes ont été effectuées chez les patients avec un APCS initial (avec ou sans reprise des corticostéroïdes) et ceux avec une CTP. Les analyses principales ont été stratifiées en fonction du sexe, de l'âge, et du type d'ODR (OA vs autre).

Résultats

Parmi les 477 patients ayant eu une transplantation rénale entre le 1^{er} janvier 2012 et le 13 février 2019, 356 ont été inclus dans cette étude. Parmi les 85 patients avec APCS, 25 ont repris la corticothérapie pendant la période d'étude.

En analyse principale, comparativement aux patients du groupe CTP, les patients du groupe APCS présentaient une augmentation significativement plus importante de la DMO au niveau (i) du rachis lombaire ($0,036 \text{ g/cm}^2$, $p < 0,001$), correspondant à un gain de T-score de $0,299$ ($p < 0,001$), en particulier chez les femmes, les hommes de moins de 60 ans et les patients sans OA, et (ii) du col fémoral ($0,020 \text{ g/cm}^2$, $p = 0,035$), correspondant à un gain de T-score de $0,121$ ($p = 0,013$), en particulier chez les hommes de moins de 60 ans et les patients sans OA. Les résultats des analyses de sensibilité étaient cohérents avec ceux de l'analyse principale.

Il n'y avait aucune fracture incidente dans le groupe APCS à 1 an de la transplantation rénale contre 4 dans le groupe CTP, soit un taux d'incidence de 13,5 fractures pour 1000 patients-année (pas de différence significative entre les groupes).

- IV. Article publié en 2020 dans *Therapeutic Advances in Musculoskeletal Disease*,
doi : [10.1177/1759720X20953357](https://doi.org/10.1177/1759720X20953357)

Early steroid withdrawal has a positive effect on bone in kidney transplant recipients: a propensity score study with inverse probability-of-treatment weighting

Benjamin Batteux¹, Valérie Gras-Champel, Mathilde Lando, François Brazier, Romuald Mentaverri, Isabelle Desailly-Henry, Amayelle Rey, Youssef Bennis, Kamel Masmoudi, Gabriel Choukroun and Sophie Liabeuf

Abstract

Background: Long-term corticosteroid use after kidney transplantation is associated with a decrease in bone mineral density (BMD) and a high fracture risk. We hypothesized that patients with early steroid withdrawal (ESW) would display a gain in BMD in the year following kidney transplantation, when compared with patients on long-term corticosteroid therapy.

Methods: In a cohort of kidney transplant recipients, 356 patients were included between 2012 and 2019. Dual-energy X-ray absorptiometry was performed 1 and 12 months after transplantation. The data were analyzed using linear regression with inverse probability-of-treatment weighting (based on a propensity score).

Results: At 1 year after transplantation, the gain in BMD was significantly greater in recipients with ESW than in recipients on long-term corticosteroid therapy for the lumbar spine (+0.036 g/cm², $p < 0.001$) and the femoral neck (+0.020 g/cm², $p = 0.035$). Among patients with ESW, (i) none had osteoporosis, (ii) the percentage with normal BMD increased from 33.3% at month 1 to 54.4% at month 12, and (iii) the percentage with osteopenia fell from 56.2% to 45.6%. In patients undergoing long-term corticosteroid therapy, the fracture incidence was 13.5 per 1000 person-years. None of the patients in the ESW group experienced a fracture.

Conclusion: ESW has a positive effect on bone in kidney transplant recipients.

Keywords: bone mineral density, early steroid withdrawal, kidney transplantation, osteoporosis

Received: 18 May 2020; revised manuscript accepted: 1 August 2020.

Introduction

Immunosuppressive regimens for kidney transplantation have progressed since the 1990s, especially with regard to early steroid withdrawal (ESW). During the decade following the introduction of cyclosporine, several retrospective studies documented the benefits of ESW in general, and, in particular, the reduction in cardiovascular complications (lower blood pressure, lower cholesterol levels, and less diabetes mellitus).^{1–3} However, some reports have suggested that steroid withdrawal is associated with a

significant risk of acute allograft rejection and graft loss.^{4,5}

Nevertheless, the development of additional immunosuppressants (such as tacrolimus and mycophenolate mofetil) and the use of induction treatments (such as basiliximab and antithymocyte globulin) have stimulated renewed interest in steroid-free immunosuppressive treatments, and similar benefits have already been demonstrated.^{6–10} Furthermore, two randomized multi-center trials have similar long-term renal allograft

Ther Adv Musculoskel Dis

2020, Vol. 12: 1–20

DOI: 10.1177/
1759720X20953357

© The Author(s), 2020.
Article reuse guidelines:
sagepub.com/journals-
permissions

Correspondence to:

Benjamin Batteux
Department of Clinical
Pharmacology, Amiens
University Medical Center,
Rue du Professeur
Christian Cabrol, Amiens,
80054, France

MP3CV Laboratory,
EA7517, Jules Verne
University of Picardie,
80054 Amiens, France

Department of
Rheumatology, Saint-
Quentin Medical Center,
02321 Saint-Quentin,
France

RECIF (Réseau
d'Epidémiologie
Clinique Internationale
Francophone), Amiens-
Picardie University Medical
Center, 80054 Amiens,
France

batteux.benjamin@chu-amiens.fr

Valérie Gras-Champel
Regional
Pharmacovigilance Centre,
Department of Clinical
Pharmacology, Amiens
University Medical Center,
Amiens, France

MP3CV Laboratory,
EA7517, Jules Verne
University of Picardie,
Amiens, France

Mathilde Lando
François Brazier
Department of Nephrology
Internal Medicine Dialysis
Transplantation, Amiens
University Medical Center,
Amiens, France

Romuald Mentaverri
MP3CV Laboratory,
EA7517, Jules Verne
University of Picardie,
Amiens, France

Department of Endocrine
and Bone Biology, Amiens
University Medical Center,
Amiens, France

Isabelle Desailly-Henry
Department of
Rheumatology, Amiens
University Medical Center,
Amiens, France

Amayelle Rey
Youssef Bennis
Sophie Liabeuf

Regional
Pharmacovigilance Centre,
Department of Clinical
Pharmacology, Amiens
University Medical Center,
Amiens, France

MP3CV Laboratory,
EA7517, Jules Verne
University of Picardie,
Amiens, France

Kamel Masmoudi

Regional
Pharmacovigilance Centre,
Department of Clinical
Pharmacology, Amiens
University Medical Center,
Amiens, France

Gabriel Choukroun

MP3CV Laboratory,
EA7517, Jules Verne
University of Picardie,
Amiens, France

Department of Nephrology
Internal Medicine Dialysis
Transplantation, Amiens
University Medical Center,
Amiens, France

survival rates and functions for recipients with ESW and those continuing to take corticosteroids – even though the rate of acute allograft rejection was higher in the ESW group.^{8,10} Moreover, Barbour *et al.*'s recent study of a large cohort of kidney transplant patients suffering from recurrent glomerulonephritis showed that ESW was not associated with a major risk of death or all-cause graft loss.¹¹

Most of the studies of ESW have focused on cardiovascular and metabolic complications, and there are only few reports of the consequences of early withdrawal on bone.¹² Prior to the introduction of steroid-free immunosuppressive regimens, several studies evidenced a decrease in bone mineral density (BMD) in corticosteroid-treated recipients (particularly 6–12 months after transplant)^{13–16} and a higher fracture risk.¹⁷ Thus, it has been suggested that corticosteroid treatment is a risk factor.^{18,19} Indeed, corticosteroid-induced osteoporosis is the leading cause of secondary osteoporosis.²⁰

Bone fractures are major complications of osteoporosis, and constitute a major public health issue and a socio-economic burden. Indeed, osteoporotic hip fractures are responsible for excess mortality, with many deaths occurring within 6 months of the fracture.²¹ The excess mortality rate varies from one study or population to another but ranges from 8% to 36% within the first year following hip fracture.^{22,23} Unsurprisingly, BMD is a major determinant of osteoporotic disease and is associated strongly with the fracture risk.^{24,25}

Hence, in addition to its cardiovascular and metabolic benefits, ESW in kidney transplant recipients might limit bone damage by increasing BMD and reducing the fracture risk – even though bone quality is another major determinant of the fracture risk,²⁶ particularly in patients suffering from chronic kidney disease-mineral and bone disorder (CKD-MBD). Indeed, CKD-MBD is characterized by one or more of the following manifestations: (i) renal osteodystrophy; (ii) vascular and soft tissue calcification; (iii) abnormal metabolism of calcium, phosphorus, parathyroid hormone (PTH); and 25(OH) vitamin D.²⁷ Renal osteodystrophy includes all the changes in bone histology seen in uremic patients: abnormalities in bone turnover, mineralization, volume linear growth, or strength.²⁸ Mild hyperparathyroid-related bone disease (reflected histologically by high-turnover bone, leading to osteitis fibrosa in

advanced cases) is more frequently encountered in early-stage kidney disease.²⁹ In end-stage kidney disease, skeletal resistance to the action of PTH action leads to adynamic bone disease (ABD).³⁰ The latter corresponds to low-turnover bone with normal mineralization and a normal or low bone volume.³¹ Osteomalacia and mixed uremic osteodystrophy can also be encountered in CKD patients.²⁸ Regardless of the origin, a low BMD in CKD patients is a marker of bone fragility.³²

In steroid-treated patients with normal renal function, treatment withdrawal is associated with a rapid increase in bone mineral density and a decrease in the fracture risk.^{33–35} One can reasonably expect the same to be true of kidney transplant patients but these changes would need to be confirmed – especially since the bone microarchitecture is impaired in this population (as described above).

In view of different characteristics in patients on long-term corticosteroid therapy and those with ESW, comparisons based on corticosteroid therapy duration may seem difficult. However, a number of innovative methods are now available to minimize the indication bias inherent in pharmacoepidemiological studies, such as high-dimensional propensity scores.³⁶ We hypothesized that patients with ESW could display a gain in BMD during the year following kidney transplantation, when compared with patients on long-term corticosteroid therapy. Therefore, we assessed BMD in both types of patient during the 12 months after kidney transplantation using inverse probability-of-treatment weighting (IPTW) to reduce indication bias.

Methods

Study design and participants

We performed a longitudinal study of a cohort of adult patients (aged 18 and over) having undergone kidney transplantation at Amiens University Medical Center (Amiens, France) between 1 January 2012, and 13 February 2019, and with available data on BMD measured at several different anatomic sites (the lumbar spine, the hip, and femoral neck) 1 month (M1) and 12 months (M12) after transplantation. BMD was determined using dual-energy X-ray absorptiometry (DXA; Hologic Discovery System, Hologic Inc., Waltham, MA, USA). Osteoporosis was defined

as a T -score ≤ -2.5 at one or more sites, and osteopenia was defined as a T -score between -1 and -2.5 .

Collected data

Data at study baseline. The variables recorded at baseline included sociodemographic characteristics, osteoporosis risk factors, the use of drugs potentially influencing BMD at the time of transplantation (steroids, calcium, cholecalciferol, alfacalcidol, calcifediol, and bisphosphonates), any history of chronic kidney disease, the characteristics of the donor, and the characteristics of the transplantation.

Serum levels of calcium, phosphate, 25(OH) vitamin D, PTH, bone alkaline phosphatase, osteocalcin, and creatinine at baseline and glomerular filtration rate were also recorded.

Follow-up data. Data on prevalent osteoporotic fractures and intakes of calcium, cholecalciferol, alfacalcidol, calcifediol, and bisphosphonate during the study period were collected, together with post-transplantation complications: acute graft rejection (defined according to the Banff classification after a pathologic assessment of a graft biopsy at M3), the appearance of donor-specific antibodies (DSAs), bacterial and viral infections, and cardiovascular risk factors and cardiovascular events.³⁷

Data on serum levels of calcium, phosphate, 25(OH) vitamin D, PTH, and creatinine at M12 and on the glomerular filtration rate were also collected.

Assays of serum PTH, 25(OH) vitamin D, bone alkaline phosphatases, and osteocalcin

Serum PTH was assayed using a chemiluminescent immunoassay (ADVIA Centaur PTH from Siemens Healthcare Diagnostics SAS; intra-assay coefficient of variation $<2.05\%$, inter-assay coefficient of variation $<4.04\%$; detection limit of the assay: 4.6 pg/ml), according to the manufacturer's instructions. Serum 25(OH) vitamin D was assayed using an ELISA (assay kit total Vitamin D -ADVIA Centaur from Siemens Healthcare Diagnostics SAS). The detection threshold for serum 25(OH) vitamin D was 4.20 ng/ml (intra-assay coefficient of variation $<9.79\%$, inter-assay coefficient of variation $<7.32\%$). Bone alkaline phosphatase and osteocalcin were assayed using

Liaison-XL from DiaSorin SA (Antony, France). The detection thresholds for serum bone alkaline phosphatase and osteocalcin were 3.0 μ g/l and 1.5 ng/ml, respectively. The intra-assay coefficients of variation were $<2.16\%$ and $<4.99\%$, respectively, and the inter-assay coefficients of variation were $<4.19\%$ and $<5.33\%$, respectively.

Immunosuppressive regimens

Since March 2016, kidney transplant recipients with a low immunological risk (defined as a peak panel-reactive antibody $<20\%$) being treated in the Department of Nephrology at Amiens University Medical Center have discontinued their corticosteroid treatment on day 7 post-transplantation. The treatment consisted of a bolus of methylprednisolone (500 mg) at the time of transplantation, followed by oral prednisolone (20 mg/day for 4 days and then 10 mg/day for 3 days). Patients who had not resumed corticosteroid treatment by M12 formed the ESW group. The patients had received induction therapy with basiliximab and maintenance therapy with mycophenolate mofetil plus tacrolimus or mycophenolate mofetil plus cyclosporine, depending on the risk of developing type 2 diabetes mellitus or exacerbating preexisting diabetes.

Before March 2016, all patients (regardless of the immunological risk) received the same long-term corticosteroid treatment, consisting of a bolus of methylprednisolone (500 mg) at the time of transplantation and then oral prednisolone (20 mg/day, with a gradual dose reduction to between 5 and 10 mg/day by M3). Patients treated before March 2016 and patients with a low immunological risk rechallenged with steroids before M12 since March 2016 formed the "other steroid regimens" (OSR) group.

Identification of patients with ABD

In order to take account of the heterogeneity of skeletal involvement, patients with PTH <150 pg/ml (positive predictive value for ABD: 97%) and bone alkaline phosphatases <10 ng/ml (which can further bolster the diagnosis of ABD, as it is 100% sensitive and 93.7% specific) were classified as having ABD.³⁸

Statistical methods

In our descriptive analysis, categorical variables were expressed as the number (percentage), and

continuous variables were expressed as the mean \pm standard deviation (SD) or the median (range), depending on the data distribution. The Shapiro-Wilk test was used to determine whether or not data were normally distributed.

In bivariate analyses of the ESW and OSR groups, continuous variables were compared using Student's *t* test or a Wilcoxon's rank sum test (depending on the data distribution), and categorical variables were compared using a chi-square test or Fisher's exact test.

Bivariate analyses were performed for the change over time (between M1 and M12) in BMD and in all other variables, in order to determine factors influencing BMD in the study population. For continuous variables, Pearson's correlation coefficients or Spearman's rank correlation coefficients were calculated (depending on the data distributions). For binary variables, Student's *t* test or Wilcoxon's rank sum test was applied. For categorical variables (>2 categories), an analysis of variance was performed (Supplemental Tables S1–S3).

IPTW was used in the primary analysis. The rationale for using IPTW was that the distribution of the probability of receiving one treatment or another is similar among the weighted population; this enables observational studies to be designed on the same lines as a randomized controlled trials.³⁶ A propensity score (PS) was estimated using a logistic regression model. Treatment assignment (ESW *versus* OSR) was regressed only on variables with $p < 0.2$ in the bivariate analysis for the prediction of changes in BMD (Supplemental Tables S1–S3). Indeed, it is better to include either covariates with prognostic value (those related to outcomes, i.e. BMD changes) or confounding covariates (those related to treatment, i.e. ESW and outcomes, i.e. BMD changes) in the PS model than variables that affect the treatment selection process.^{39,40} Thus, three PSs were produced – one for each BMD measurement site (the lumbar spine, the femoral neck, and the total hip). Next, simple IPTW linear regressions were performed for each site: patients in the ESW group were weighted by the reciprocal of their PS, and patients in the OSR group were weighted by one minus the reciprocal of their PS. We checked that the conditions for a valid linear regression were met.

The PSs were balanced by excluding counterfactuals, when required.⁴¹ Next, the PS distributions were evaluated using a kernel density plot (Supplemental Figure S1). Lastly, the balance of each PS was assessed by examining the standardized mean differences (Supplemental Figures S2–S4). For regression adjustment to be trustworthy, the absolute standardized differences of means should be less than 0.25.⁴²

In sensitivity analyses, (i) simple IPTW linear regressions (one for each BMD measurement site) were performed after all the covariables had been included in a PS, and (ii) the previous analyses were performed in patients with initial ESW [with or without resumption of steroids, ESW (M0)] and those with initial long-term steroid therapy [OSR (M0)].

The main analyses were stratified by sex, age group (with a cut-off at 60, to limit the loss of statistical power) and bone involvement (i.e. patients with *versus* without ABD).

All analyses were performed using R software (version 3.6.0, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

Ethics approval and informed consent statements

In line with the French legislation on retrospective analyses of routine clinical practice, patients were not required to give their informed consent. On admission to hospital, however, patients could refuse the use of their medical data for research purposes. This protocol was approved by an institutional committee (with competency for studies not requiring approval by an independent ethics committee) and was registered with the French National Data Protection Commission (*Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés*, Paris, France; reference: PI2019_843_0055).

Results

Study population

Of the 477 patients having received a kidney transplant between 1 January 2012, and 13 February 2019, 356 (including 226 men, 64.5%) were included in the present study. Of the 85 recipients having discontinued steroid at M0, 25

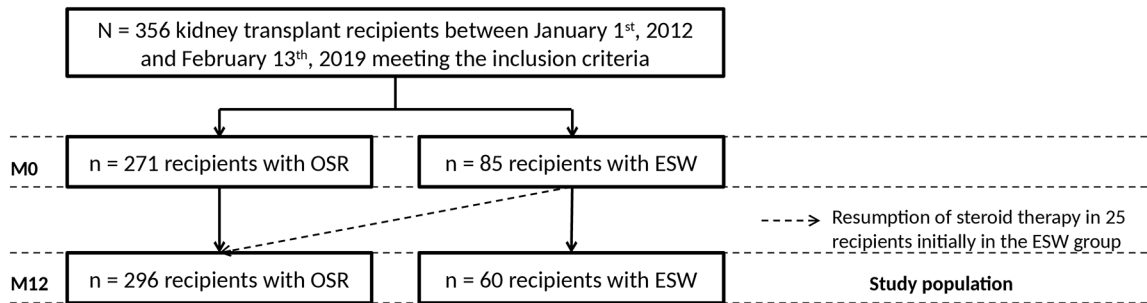


Figure 1. Patient inclusion flow chart.
ESW, early steroid withdrawal; OSR, other steroid regimens.

had resumed steroid therapy during the study period (Figure 1).

The reasons for the resumption of corticosteroid therapy were acute graft rejection (based on an M3 biopsy; $n=7$), the appearance of DSAs ($n=3$); delayed recovery of renal function ($n=5$), glomerular lesions on the graft biopsy without signs of acute rejection ($n=5$), and dosage reduction or the discontinuation of other immunosuppressive drugs following an adverse effect ($n=5$: three patients with mycophenolate-mofetil-related leukopenia, one patient with tacrolimus-related hyperkalemia, and one patient with tacrolimus-related BK virus viremia).

The mean \pm SD age of the study population at the time of transplantation was 50.9 ± 13.2 years. The median time to the first BMD measurement was 32 days, and the median time to the second was 12 months (Table 1).

The most common cause of kidney disease necessitating kidney transplantation was recurrent glomerulonephritis (29.8%) (Table 1).

The proportion of patients with prior steroid intake was higher in the OSR group than in the ESW group (19.3% versus 5.0%, respectively; $p=0.012$) (Table 1). There were no significant intergroup differences in the intakes of native vitamin D or its metabolites before or after transplantation. A given patient could have received cholecalciferol and one of its metabolites but not simultaneously. After transplantation, the mean daily dose of alfacalcidol in the total population was $1.2 \pm 0.3 \mu\text{g/day}$, that of calcifediol was $28.2 \pm 12.7 \mu\text{g/day}$, and that of cholecalciferol was 1,00,000 IU/month [regardless of 25 (OH) vitamin D3 levels].

Influence of osteoporosis risk factors and other variables on BMD

Factors influencing BMD ($p < 0.2$) at each measurement site are described in Supplemental Tables S1–S3. The factors that influenced the three sites were recipient age, the serum PTH level, and the serum osteocalcin level at M0 and deceased donor. For each measurement site, variables included in the propensity score and influencing BMD are listed in Supplemental Figures S2–S4. Absolute mean differences between groups were well balanced after adjustment using IPTW (Supplemental Figures S2–S4).

Changes over time in BMD, and the incidence of fractures

When comparing OSR and ESW groups, in a bivariate analysis of the data at M1, there were no intergroup differences in BMD at the three measurement sites, despite the greater proportion of patients with prior steroid intake in the OSR group - suggesting that steroids received before transplantation had no impact on the overall trend. At M12, the lumbar spine BMD was significantly higher in the ESW group than in the OSR group - particularly in men (Table 2).

In the ESW group, the lumbar spine BMD increased significantly by $0.038 \pm 0.07 \text{ g/cm}^2$ ($+4.2 \pm 6.8$, $p < 0.01$) between M1 and M12. This increase in BMD was particularly evident in women over 60 ($+0.054 \pm 0.06 \text{ g/cm}^2$, $p = 0.028$), men under 60 ($+0.053 \pm 0.06 \text{ g/cm}^2$, $p < 0.001$), and patients without ABD ($+0.048 \pm 0.07 \text{ g/cm}^2$, $p < 0.001$). In contrast, the lumbar spine BMD in the OSR group decreased by $0.005 \pm 0.06 \text{ g/cm}^2$ ($-0.2 \pm 5.9\%$, $p = 0.141$) over the same period. The intergroup difference in the change in lumbar spine BMD was statistically significant ($p < 0.001$),

Table 1. Characteristics of the study population.

	Population <i>n</i> = 356	OSR <i>n</i> = 296	ESW <i>n</i> = 60	<i>p</i> value
Clinical risk factors for osteoporosis (M0)				
Recipient age (years), <i>m</i> ± <i>SD</i>	50.9 ± 13.2	50.5 ± 13.1	53.3 ± 13.8	0.136
Female sex, <i>n</i> (%)	130 (36.5)	116 (39.2)	14 (23.3)	0.030
Race				
Caucasian, <i>n</i> (%)	332 (93.3)	274 (92.6)	59 (98.3)	0.146
Black, <i>n</i> (%)	23 (6.7)	22 (7.4)	1 (1.7)	
BMI (kg/m ²), <i>m</i> ± <i>SD</i>	26.1 ± 4.3	26.2 ± 4.2	25.6 ± 4.4	0.357
Thyroid disorders, <i>n</i> (%)	22 (6.2)	18 (6.1)	4 (6.7)	0.770
Prior osteoporotic fractures, <i>n</i> (%)	32 (9.0)	26 (8.8)	6 (10.0)	0.804
Family history of FUEF, <i>n</i> (%)	2 (0.6)	2 (0.7)	0	1.000
Diabetes mellitus, <i>n</i> (%)	55 (15.4)	40 (13.5)	15 (25.0)	0.040
Chronic inflammatory rheumatism, <i>n</i> (%)	4 (1.1)	3 (1.0)	1 (1.7)	0.524
Autoimmune diseases, <i>n</i> (%)	22 (6.2)	16 (5.4)	6 (10.0)	0.233
Primary HPT, <i>n</i> (%)	11 (3.1)	10 (3.4)	1 (1.7)	0.698
Secondary HPT, <i>n</i> (%)	298 (83.7)	252 (85.1)	46 (76.7)	0.153
Smoking				
Never, <i>n</i> (%)	186 (52.2)	153 (51.7)	33 (55.0)	0.880
Current, <i>n</i> (%)	97 (27.3)	81 (27.4)	16 (26.7)	
Past, <i>n</i> (%)	73 (20.5)	62 (20.9)	11 (18.3)	
Alcohol consumption, <i>n</i> (%)	29 (8.1)	20 (6.8)	9 (15.0)	0.070
Menopausal women, <i>n</i> ' = 130	60 (49.2)	50 (43.1)	10 (71.4)	0.052
Laboratory data (M0)				
Serum calcium (mg/l), <i>m</i> ± <i>SD</i>	93.2 ± 8.0	94.0 ± 8.0	90.8 ± 7.6	0.023
Serum phosphate (mg/l), <i>m</i> ± <i>SD</i>	45.5 ± 14.9	45.5 ± 14.9	45.5 ± 14.9	1.000
25(OH) vitamin D (ng/ml), <i>m</i> ± <i>SD</i>	33.4 ± 16.2	34.0 ± 16.5	30.5 ± 14.2	0.136
PTH (pg/ml), med [min – max]	326.5 [1.3–2646.0]	334 [1.3–2646]	243 [5.5–1315.5]	0.004
Bone alkaline phosphatases (µg/l), med [min – max]	12.05 [2.4–99.0]	12.9 [2.4–99]	11.2 [4–67.1]	0.007
Osteocalcin (ng/ml), med [min – max]	90 [2–2970]	67.1 [2–2970]	10.1 [10.7–1140]	0.866
Laboratory data (M12)				
Serum calcium (mg/l), <i>m</i> ± <i>SD</i>	96.4 ± 6.4	96.4 ± 6.8	94.8 ± 5.6	0.101
Serum phosphate (mg/l), <i>m</i> ± <i>SD</i>	30.0 ± 6.5	30.3 ± 6.5	29.1 ± 6.8	0.323
25 (OH) vitamin D3 (ng/ml), <i>m</i> ± <i>SD</i>	27.9 ± 10.8	27.6 ± 10.9	29.3 ± 10.1	0.148

(Continued)

Table 1. (Continued)

	Population <i>n</i> = 356	OSR <i>n</i> = 296	ESW <i>n</i> = 60	<i>p</i> value
PTH (pg/mL), med [min – max]	117.3 [0.3–1597.0]	119 [0.3–1597]	113 [28.7–339]	<0.001
Serum creatinine (mg/l), m ± SD	16.0 ± 7.2	16.3 ± 7.5	14.9 ± 5.5	0.161
GFR (mL/min), m ± SD	52.2 ± 22.3	51.4 ± 22.8	56.2 ± 18.9	0.128
Drugs influencing BMD				
Prior steroid intake, <i>n</i> (%)	60 (16.9)	57 (19.3)	3 (5.0)	0.012
Prior calcium intake, <i>n</i> (%)	95 (26.7)	85 (28.7)	10 (16.7)	0.077
Calcium intake during the study period, <i>n</i> (%)	118 (33.1)	102 (34.5)	16 (26.7)	0.293
Prior vitamin D intake, <i>n</i> (%)	180 (50.6)	156 (52.7)	24 (40.0)	0.090
Cholecalciferol, <i>n</i> (%)	136 (38.2)	115 (38.9)	21 (35.0)	0.679
Alfacalcidol, <i>n</i> (%)	20 (5.6)	17 (5.7)	3 (5.0)	1.000
Calcifediol, <i>n</i> (%)	44 (12.4)	41 (14.9)	3 (5.0)	0.092
Vitamin D intake during the study period, <i>n</i> (%)	311 (87.4)	261 (88.2)	50 (83.3)	0.293
Cholecalciferol, <i>n</i> (%)	292 (82.0)	242 (81.8)	50 (83.3)	0.916
Alfacalcidol, <i>n</i> (%)	35 (9.8)	31 (10.5)	4 (6.7)	0.506
Calcifediol, <i>n</i> (%)	45 (12.6)	42 (14.2)	3 (5.0)	0.082
Prior BP intake, <i>n</i> (%)	2 (0.6)	2 (0.7)	0	1.000
BP intake during the study period (days), <i>n</i> (%)	12 (3.4)	12 (4.1)	0	0.231
Etiology of chronic kidney disease				0.070
Glomerulonephritis, <i>n</i> (%)	106 (29.8)	90 (30.4)	16 (26.7)	
Hereditary disease, <i>n</i> (%)	74 (20.8)	62 (21.0)	12 (20.0)	
Polycystic kidney disease, <i>n</i> (%)	69 (19.4)	58 (19.6)	11 (18.3)	
Renal and urinary tract malformations, <i>n</i> (%)	32 (9.0)	27 (9.1)	5 (8.3)	
Hypertensive kidney disease, <i>n</i> (%)	27 (7.6)	20 (6.8)	7 (11.7)	
Diabetic kidney disease, <i>n</i> (%)	26 (7.3)	17 (5.7)	9 (15.0)	
Interstitial nephritis, <i>n</i> (%)	14 (3.9)	12 (4.1)	2 (3.3)	
Vascular nephropathy, <i>n</i> (%)	14 (3.9)	10 (3.4)	4 (6.7)	
Indeterminate, <i>n</i> (%)	46 (12.9)	44 (14.9)	2 (3.3)	
Other, <i>n</i> (%)	17 (4.8)	14 (4.6)	3 (5.0)	
Time on hemodialysis (years), med [min – max]	2.4 [0–30.7]	2.5 [0–30.7]	2.0 [0–21.2]	0.023
Previous kidney transplant, <i>n</i> (%)	44 (12.4)	43 (14.5)	1 (1.7)	0.004
Prior cinacalcet intake, <i>n</i> (%)	86 (24.2)	78 (26.4)	8 (13.3)	0.047
Prior ESA intake, <i>n</i> (%)	88 (24.7)	77 (26.0)	11 (18.3)	0.274

(Continued)

Table 1. (Continued)

	Population <i>n</i> = 356	OSR <i>n</i> = 296	ESW <i>n</i> = 60	<i>p</i> value
Peak PRAs				
<20%, <i>n</i> (%)	264 (74.2)	205 (69.3)	60 (100)	< 0.001
20–80%, <i>n</i> (%)	62 (17.4)	61 (20.6)	0	
> 80%, <i>n</i> (%)	30 (8.4)	30 (10.1)	0	
DSAs, <i>n</i> (%)				
Previous, <i>n</i> (%)	7 (2.0)	7 (2.4)	0	0.647
Current, <i>n</i> (%)	4 (1.1)	4 (1.4)	0	
Positive crossmatch, <i>n</i> (%)	7 (2.0)	6 (2.0)	1 (1.7)	1.000
Donor				
Age (years), <i>m</i> ± <i>SD</i>	51.6 ± 14.3	51.4 ± 14.1	52.7 ± 15.3	0.541
Female, <i>n</i> (%)	158 (44.4)	134 (45.4)	24 (40.0)	0.478
BMI (kg/m ²), <i>med</i> [min – max]	25.0 [16.3–61.6]	25.1 [16.7–61.6]	24.9 [16.3–42.0]	0.606
Decreased donor, <i>n</i> (%)	289 (81.2)	254 (85.8)	35 (58.3)	< 0.001
Last blood creatinine (mg/l), <i>med</i> [min – max]	8.1 [2.5–55.1]	8.1 [2.5–55.1]	8.4 [3.2–22.3]	0.886
Ischemia times				
Cold (min), <i>med</i> [min – max]	805 [22–2036]	805.5 [22–2036]	799 [36–1672]	0.874
Warm (min), <i>med</i> [min – max]	60 [4–99]	59 [4–99]	62.5 [21–98]	0.242
Induction therapy				
Basiliximab, <i>n</i> (%)	193 (54.2)	143 (48.3)	50 (83.3)	<0.001
Thymoglobulin, <i>n</i> (%)	164 (46.1)	154 (52.0)	10 (16.7)	<0.001
IVIg, <i>n</i> (%)	13 (3.6)	13 (4.4)	0	0.137
Maintenance therapy				
MMF + tacrolimus, <i>n</i> (%)	251 (70.5)	200 (67.6)	51 (85.0)	0.023
MMF + cyclosporine, <i>n</i> (%)	88 (24.7)	79 (26.7)	9 (15.0)	
Tacrolimus + everolimus, <i>n</i> (%)	15 (4.2)	15 (5.1)	0	
MMF + everolimus, <i>n</i> (%)	1 (0.3)	1 (0.3)	0	
Tacrolimus + azathioprine, <i>n</i> (%)	1 (0.3)	1 (0.3)	0	
Recovery graft function* (days), <i>med</i> [min – max]	3.0 [0–64.0]	4 [0–64]	3 [1–19]	<0.001

BMD, bone mineral density; BMI, body mass index; BP, bisphosphonate; ESA, erythropoiesis-stimulating agent; ESW, early steroid withdrawal; FUEF, fracture of the upper end of the femur; GFR, glomerular filtration rate; HPT, hyperparathyroidism; IVIg, intravenous immunoglobulins; MMF, mycophenolate mofetil; OSR, other steroid regimens; PRA, panel-reactive antibody; PTH, parathyroid hormone.
*Number of days between kidney transplantation and serum creatinine <30 mg/day.

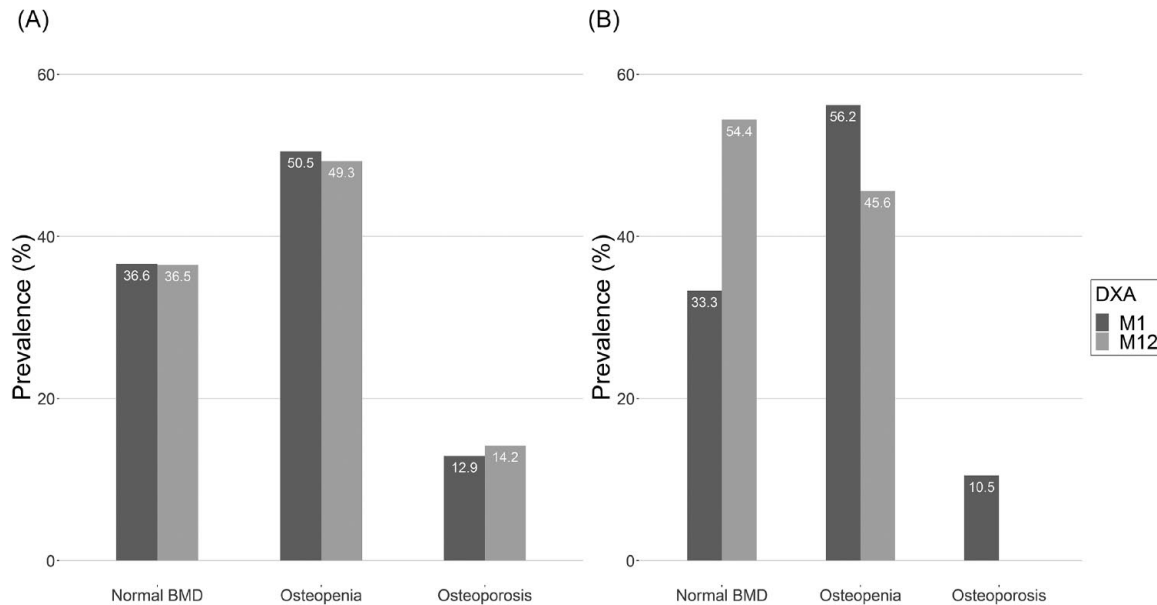


Figure 2. Prevalence of normal BMD, osteopenia, and osteoporosis at M1 and at M12 in recipients in the OSR group (a) and the ESW group (b). BMD, bone mineral density; DXA, dual-energy X-ray absorptiometry; ESW, early steroid withdrawal; OSR, other steroid regimens.

and was most evident in women over 60 ($p=0.008$), men under 60 ($p<0.001$), and patients without ABD ($p<0.001$) (Table 3).

In the OSR group, the proportions of patients with normal BMD, osteopenia, or osteoporosis did not change greatly between M1 and M12. In the ESW group (in which the patients did not receive bisphosphonate), the proportion of osteoporotic patients fell from 10.5% upon transplantation to 0% at M12. Furthermore, the percentage of patients in the ESW group with normal BMD increased from 33.3% to 54.4%, and the percentage with osteopenia decreased from 56.2% to 45.6% (Figure 2). There were no incident fractures in the ESW group (Table 4).

During the 12-month follow-up period, the incident fracture rate in the OSR group was 13.5 per 1000 person-years.

Comparison of BMD values in the ESW and OSR groups

In the primary analysis at M12, patients in the ESW had a significantly greater increase in BMD at (i) the lumbar spine (0.036 g/cm^2 ($p<0.001$), corresponding to a T -score gain of 0.299 ($p<0.001$), particularly in women, men under 60, and patients without ABD), and (ii) the femoral neck

(0.020 g/cm^2 ($p=0.035$), corresponding to a T -score gain of 0.121 ($p=0.013$), particularly in men under 60 and patients without ABD), relative to patients in the OSR group (Table 5).

The results of the sensitivity analyses were consistent with the results of the primary analysis (Supplemental Tables S4–S7).

Comparison of complications in the ESW and OSR groups

There was no intergroup difference in the incidence of viral or bacterial infections during the study period. However, 1 year after transplantation, cardiovascular risk factors were more prominent in the OSR group. Relative to patients in the ESW group, patients in the OSR group (i) were more likely to have high blood pressure (11.7 versus 40.2% , respectively; $p<0.001$), and (ii) displayed a greater increase in serum triglyceride levels ($+9.7 \pm 118.6\text{ mg/dl}$ versus $-37.2 \pm 177.9\text{ mg/dl}$, respectively, $p=0.004$). Likewise, the proportion of patients with cardiovascular events (arterial thrombosis of the lower limbs and myocardial infarction) was higher in the OSR group (2.5%) than in the ESW group (0%), although the intergroup difference was not significant (Table 4). These results were consistent when comparing patients with initial ESW

Table 2. Bone mineral densities and T-scores at M1 and at M12.

	Lumbar spine			Femoral neck			Total hip		
	OSR, n=296	ESW, n=60	p value	OSR, n=296	ESW, n=60	p value	OSR, n=296	ESW, n=60	p value
M1									
BMD (g/cm²), m ± SD									
All, n=356	1.002 ± 0.160	1.042 ± 0.168	0.103	0.756 ± 0.153	0.755 ± 0.129	0.938	0.888 ± 0.151	0.904 ± 0.151	0.464
Female, n=130	0.972 ± 0.157	0.941 ± 0.147	0.476	0.694 ± 0.121	0.700 ± 0.092	0.842	0.818 ± 0.129	0.826 ± 0.121	0.829
<60, n=97	0.975 ± 0.156	0.927 ± 0.139	0.448	0.709 ± 0.432	0.722 ± 0.045	0.626	0.830 ± 0.128	0.749 ± 0.130	0.741
>60, n=33	0.961 ± 0.165	0.952 ± 0.161	0.897	0.626 ± 0.135	0.685 ± 0.117	0.316	0.778 ± 0.128	0.806 ± 0.120	0.596
Male, n=226	1.022 ± 0.159	1.073 ± 0.163	0.065	0.795 ± 0.158	0.771 ± 0.134	0.342	0.930 ± 0.149	0.927 ± 0.152	0.918
<60, n=155	1.007 ± 0.146	1.018 ± 0.154	0.706	0.811 ± 0.166	0.775 ± 0.154	0.300	0.934 ± 0.156	0.923 ± 0.167	0.742
>60, n=71	1.055 ± 0.182	1.181 ± 0.127	0.004	0.763 ± 0.138	0.761 ± 0.083	0.945	0.919 ± 0.133	0.935 ± 0.124	0.684
ABD, n=47	1.029 ± 0.777	1.096 ± 0.107	0.137	0.805 ± 0.203	0.745 ± 0.082	0.212	0.941 ± 0.22	0.916 ± 0.108	0.634
No ABD, n=309	0.994 ± 0.157	1.032 ± 0.181	0.202	0.746 ± 0.142	0.759 ± 0.138	0.599	0.880 ± 0.142	0.905 ± 0.163	0.349
T-scores, m ± SD									
All, n=356	-0.540 ± 1.48	-0.266 ± 1.44	0.189	-1.152 ± 1.16	-1.234 ± 0.95	0.594	-0.803 ± 1.02	-0.771 ± 0.98	0.822
Female, n=130	-0.415 ± 1.50	-0.643 ± 1.38	0.573	-1.402 ± 1.05	-1.342 ± 0.78	0.813	-0.925 ± 0.98	-0.925 ± 0.84	0.998
<60, n=97	-0.370 ± 1.48	-0.800 ± 1.30	0.468	-1.264 ± 0.98	-1.160 ± 0.38	0.627	-0.866 ± 0.93	-0.805 ± 0.83	0.870
>60, n=33	-0.588 ± 1.59	-0.525 ± 1.52	0.922	-2.020 ± 1.14	-1.471 ± 0.98	0.267	-1.127 ± 1.13	-1.029 ± 0.91	0.817
Male, n=226	-0.620 ± 1.46	-0.149 ± 1.46	0.057	-0.998 ± 1.20	-1.202 ± 1.00	0.280	-0.733 ± 1.03	-0.727 ± 1.02	0.973
<60, n=155	-0.757 ± 1.32	-0.627 ± 1.37	0.641	-0.898 ± 1.23	-1.164 ± 1.14	0.297	-0.702 ± 1.07	-0.767 ± 1.10	0.774
>60, n=71	-0.316 ± 1.70	0.807 ± 1.15	0.005	-1.195 ± 1.12	-1.285 ± 0.62	0.711	-0.798 ± 0.95	-0.647 ± 0.87	0.567
ABD, n=47	-0.237 ± 1.61	0.172 ± 0.85	0.280	-0.710 ± 1.57	-1.367 ± 0.58	0.070	-0.410 ± 1.47	-0.727 ± 0.76	0.380
No ABD, n=309	-0.626 ± 1.44	-0.329 ± 1.56	0.241	-1.241 ± 1.07	-1.178 ± 1.02	0.728	-0.866 ± 0.95	-0.746 ± 1.04	0.484

(Continued)

Table 2. (Continued)

	Lumbar spine			Femoral neck			Total hip		
	OSR, n=296	ESW, n=60	p value	OSR, n=296	ESW, n=60	p value	OSR, n=296	ESW, n=60	p value
M12									
BMD (g/cm²), m ± SD									
All, n=356	0.977 ± 0.150	1.086 ± 0.157	<0.001	0.750 ± 0.149	0.760 ± 0.147	0.694	0.862 ± 0.152	0.897 ± 0.149	0.118
Female, n=130	0.970 ± 0.146	0.988 ± 0.117	0.600	0.695 ± 0.129	0.672 ± 0.083	0.417	0.810 ± 0.144	0.777 ± 0.087	0.252
<60, n=97	0.979 ± 0.142	0.964 ± 0.104	0.754	0.700 ± 0.126	0.680 ± 0.027	0.358	0.832 ± 0.136	0.788 ± 0.088	0.293
>60, n=33	0.937 ± 0.158	1.006 ± 0.131	0.236	0.674 ± 0.145	0.665 ± 0.110	0.891	0.725 ± 0.145	0.767 ± 0.092	0.361
Male, n=226	1.015 ± 0.151	1.117 ± 0.156	<0.001	0.782 ± 0.152	0.789 ± 0.153	0.796	0.896 ± 0.147	0.932 ± 0.145	0.150
<60, n=155	1.004 ± 0.135	1.082 ± 0.159	0.019	0.793 ± 0.157	0.820 ± 0.173	0.490	0.901 ± 0.149	0.944 ± 0.156	0.189
>60, n=71	1.040 ± 0.178	1.183 ± 0.129	0.002	0.761 ± 0.141	0.727 ± 0.077	0.294	0.885 ± 0.144	0.908 ± 0.124	0.536
ABD, n=47	1.014 ± 0.169	1.143 ± 0.117	0.015	0.768 ± 0.203	0.727 ± 0.076	0.415	0.885 ± 0.195	0.908 ± 0.097	0.620
No ABD, n=309	0.993 ± 0.148	1.077 ± 0.165	0.002	0.751 ± 0.143	0.772 ± 0.164	0.480	0.857 ± 0.145	0.898 ± 0.161	0.113
T-scores, m ± SD									
All, n=356	-0.578 ± 1.36	0.185 ± 1.34	<0.001	-1.207 ± 1.14	-1.202 ± 1.058	0.979	-0.982 ± 1.04	-0.818 ± 0.91	0.227
Female, n=130	-0.417 ± 1.36	-0.200 ± 1.11	0.510	-1.373 ± 1.08	-1.583 ± 0.70	0.393	-1.011 ± 1.10	-1.246 ± 0.66	0.272
<60, n=97	-0.330 ± 1.32	-0.417 ± 0.98	0.843	-1.316 ± 1.07	-1.500 ± 0.22	0.304	-0.834 ± 1.032	-1.167 ± 0.67	0.295
>60, n=33	-0.736 ± 1.47	-0.038 ± 1.24	0.208	-1.655 ± 1.15	-1.64 ± 0.92	0.981	-1.671 ± 1.10	-1.31 ± 0.69	0.316
Male, n=226	-0.683 ± 1.36	0.307 ± 1.49	<0.001	-1.11 ± 1.16	-1.075 ± 1.13	0.865	-0.964 ± 1.01	-0.691 ± 0.94	0.094
<60, n=155	-0.775 ± 1.24	-0.028 ± 1.40	0.012	-1.012 ± 1.21	-0.846 ± 1.27	0.576	-0.933 ± 1.02	-0.590 ± 0.99	0.104
>60, n=71	-0.480 ± 1.59	0.953 ± 1.15	<0.001	-1.302 ± 1.05	-1.533 ± 0.59	0.340	-1.030 ± 0.98	-0.887 ± 0.83	0.571
ABD, n=47	-0.358 ± 1.523	0.622 ± 0.821	0.015	-1.039 ± 1.56	-1.456 ± 0.520	0.268	-0.806 ± 1.275	-0.767 ± 0.634	0.898
No ABD, n=309	-0.632 ± 1.328	0.141 ± 1.423	0.001	-1.219 ± 1.083	-1.103 ± 1.172	0.591	-1.025 ± 1.006	-0.791 ± 0.976	0.148

ABD, adynamic bone disease; BMD, bone mineral density; ESW, early steroid withdrawal; OSR, other steroid regimens.

Table 3. Changes in BMD between M1 and M12.

	Lumbar spine			Femoral neck			Total hip					
	OSR, n=296		p [*]	ESW, n=60		p ^{**}	OSR, n=296		p [*]	ESW, n=60		p ^{**}
	Change (g/cm ²), m ± SD	Change(%), p [*]		Change (g/cm ²), m ± SD	Change(%), p [*]		Change (g/cm ²), m ± SD	Change(%), p [*]		Change (g/cm ²), m ± SD	Change(%), p [*]	
All, n=356	-0.005 ± 0.06	-0.2 ± 5.9	0.141	+0.038 ± 0.07	+4.2 ± 6.8	<0.001	-0.009 ± 0.06	-1.0 ± 7.2	0.051	+0.011 ± 0.06	+1.6 ± 8.8	0.288
Female, n=130	-0.002 ± 0.06	0.1 ± 5.8	0.657	+0.047 ± 0.05	+5.6 ± 6.3	0.007	-0.009 ± 0.06	-1.5 ± 8.8	0.304	-0.023 ± 0.04	-3.1 ± 5.5	0.078
<60, n=97	+0.004 ± 0.05	+0.8 ± 4.9	0.426	+0.037 ± 0.06	+4.7 ± 6.8	0.167	-0.009 ± 0.06	-1.4 ± 8.3	0.312	-0.028 ± 0.04	-3.9 ± 6.3	0.290
>60, n=33	-0.027 ± 0.08	-2.5 ± 8.1	0.100	+0.054 ± 0.06	+6.3 ± 6.3	0.028	-0.008 ± 0.08	-1.8 ± 12.1	0.800	-0.019 ± 0.04	-2.6 ± 5.4	0.225
Male, n=226	-0.007 ± 0.06	-0.4 ± 6.0	0.138	+0.035 ± 0.07	+3.7 ± 7.0	0.002	-0.009 ± 0.05	-0.8 ± 6.2	0.094	+0.047 ± 0.07	+3.1 ± 9.2	0.075
<60, n=155	-0.003 ± 0.06	-0.02 ± 6.2	0.552	+0.053 ± 0.06	+5.5 ± 6.6	<0.001	-0.008 ± 0.05	-0.8 ± 6.1	0.191	+0.046 ± 0.07	+6.4 ± 8.9	0.004
>60, n=71	-0.015 ± 0.06	-1.2 ± 5.7	0.070	+0.002 ± 0.08	+0.4 ± 6.6	0.926	-0.009 ± 0.05	-0.9 ± 6.4	0.307	-0.027 ± 0.04	-3.5 ± 5.3	0.052
ABD, n=47	-0.016 ± 0.06	-1.3 ± 6.0	0.139	+0.021 ± 0.05	+1.8 ± 4.5	0.248	-0.020 ± 0.05	-2.5 ± 5.5	0.068	-0.041 ± 0.02	-5.5 ± 3.1	0.002
No ABD, n=309	-0.001 ± 0.06	+0.2 ± 6.0	0.711	+0.048 ± 0.07	+4.6 ± 7.3	<0.001	-0.005 ± 0.06	-0.6 ± 7.6	0.299	0.023 ± 0.07	+3.2 ± 9.0	0.051

ABD, adynamic bone disease; ESW, early steroid withdrawal; OSR, other steroid regimen. p^{*}, intra-group p-value; p^{**}, inter-group p-value.

with or without steroids resumption and those with initial long-term steroid therapy (Table S8).

At M0, the ESW (with or without steroids resumption) and OSR groups did not differ significantly with regard to the acute graft rejection rate (8.2% versus 5.5% respectively, *p*=0.437). Likewise, the two groups did not differ significantly with regard to the appearance of DSAs during the study period (5.9% in the ESW group versus 2.6% in the OSR group; *p*=0.167) or the change in kidney graft function (measured as the serum creatinine level) (Table S8).

Discussion

The primary objective of the present study was to evaluate the putative beneficial effects of ESW on the gain in BMD during the year following kidney transplantation. Whereas most published studies of ESW have focused on cardiovascular complications, the present study is the first to have evaluated the change in BMD during the 12 months following kidney transplantation in patients with ESW versus patients with other steroid regimens. Our results evidenced a significant increase (by about 0.04 g/cm², +4.2%) in BMD at the lumbar spine and the femoral neck; this corresponds to a T-score gain of about 0.3 in the ESW group (particularly in men under 60 and patients without ABD), relative to the OSR group. Moreover, the percentage of patients in the ESW group with normal BMD had increased by 21.1 percentage points 1 year after kidney transplantation and the proportion of patients with osteopenia decreased by 10.6 percentage points. None of the patients in the ESW group had osteoporosis at M12, despite the absence of specific anti-osteoporotic treatments (whereas 10.5% of patients in this group had densitometrically confirmed osteoporosis at M1).

In addition to treating any osteoporosis-inducing diseases present (such as hypogonadism), or withdrawing any medications that induce bone loss (such as steroids), only specific anti-osteoporotic drugs can produce an increase in BMD. Indeed, in a recent meta-analysis including 18 randomized controlled trials with a total of 1200 kidney recipients with long-term steroid therapy (median follow up of 12 months), bisphosphonate plus calcium and/or vitamin D revealed a significant gain in percent BMD change than calcium and/or vitamin D alone at the femoral neck (mean difference, 5.83, 95% credible interval,

Table 4. Complications after kidney transplantation.

	OSR <i>n</i> = 296	ESW <i>n</i> = 60	<i>p</i> value
Infections, <i>n</i> (%)	189 (63.9)	34 (56.7)	0.308
Viral infections, <i>n</i> (%)	112 (37.8)	19 (31.7)	0.383
BKV, <i>n</i> (%)	34 (11.5)	11 (18.3)	0.199
CMV, <i>n</i> (%)	61 (20.6)	4 (6.7)	0.009
EBV, <i>n</i> (%)	3 (1.0)	2 (3.3)	0.199
HSV, <i>n</i> (%)	12 (4.1)	1 (1.7)	0.704
VZV, <i>n</i> (%)	4 (1.4)	0	1.000
Bacterial infections, <i>n</i> (%)	126 (42.6)	20 (33.3)	
Cardiovascular risk factors			
Uncontrolled or new-onset diabetes mellitus, <i>n</i> (%)	87 (29.4)	15 (25.0)	0.535
Uncontrolled arterial hypertension, <i>n</i> (%)	119 (40.2)	7 (11.7)	< 0.001
Uncontrolled dyslipidemia, <i>n</i> (%)	130 (43.9)	14 (23.3)	0.004
Changes in lipid variables between M0 and M12			
Total cholesterol (mg/dl), <i>m</i> ± <i>SD</i>	+75.0 ± 170.0	+25.0 ± 130.0	0.038
LDL-c (mg/dl), <i>m</i> ± <i>SD</i>	+53.0 ± 120.0	+36 ± 100	0.326
HDL-c (mg/dl)	+22.0 ± 50.0	+9 ± 24.0	0.065
Triglycerides (mg/dl)	+13 ± 130.0	-43.0 ± 175.0	<0.001
Change in BMI between M0 and M12 (kg/m²), <i>m</i> ± <i>SD</i>	+0.74 ± 3.0	+0.06 ± 2.33	0.106
Cardiovascular event, <i>n</i> (%)	7 (2.4)	0	0.607
Incident osteoporotic fractures, <i>n</i> (%)	4 (1.4)	0	1.000

BKV, BK virus; CMV, cytomegalovirus; EBV, Epstein-Barr virus; HSV, herpes simplex virus; VZV, varicella zoster virus.

1.61–9.27) and at the lumbar spine (mean difference, 5.48, 95% credible interval, 2.57–8.42).⁴³ Thus, in our population, ESW had much the same positive effect on BMD as specific anti-osteoporotic treatments do in kidney recipients with long-term steroid therapy. The spontaneous BMD gain observed in our ESW group might be related to the restoration of normal calcium, phosphate and calcitriol levels and the absence of the steroids' harmful effects on bone. Indeed, low BMD in patients with end-stage renal disease and renal osteodystrophy (i.e. osteitis fibrosa as a result of hyperparathyroidism, osteomalacia or ABD) is due to perturbed calcium, phosphate and calcitriol levels;⁴⁴ however, these variables normalize within

3–12 months of transplantation.^{45,46} Nevertheless, two of the patients had a PTH value at M12 below the assay's limit of detection (4.6 pg/ml); there were few changes in these variables during this time frame.

In the present study, the patients with OSR displayed a decrease in BMD at all three measurement sites 1 year after transplantation; this was probably linked to the ongoing steroid therapy. In the literature, the post-transplantation decrease in BMD in patients receiving long-term steroid therapy is mainly attributed to the cumulative dose of corticosteroids. In an Indian study, there was a significant post-transplantation decrease in lumbar spine BMD at 3 months

Table 5. BMD and T-scores variations (IPTW, main analysis).

	Change in BMD (g/cm ²)	p value	Change in T-score	p value
Lumbar spine^a, ref. = OSR (n = 296)				
All (ESW, n = 60)	+0.036	<0.001	+0.299	<0.001
Female (ESW, n = 14)	+0.042	<0.001	+0.233	0.007
<60 (ESW, n = 6)	+0.032	0.017	+0.132	0.197
>60 (ESW, n = 8)	+0.053	0.021	+0.440	0.031
Male (ESW, n = 46)	+0.033	<0.001	+0.971	<0.001
<60 (ESW, n = 31)	+0.047	<0.001	+0.451	<0.001
>60 (ESW, n = 15)	+0.012	0.539	+0.250	0.117
ABD (ESW, n = 11)	+0.013	0.485	+0.107	0.532
No ABD (ESW, n = 49)	+0.036	<0.001	+0.309	<0.001
Femoral neck^b, ref. = OSR (n = 296)				
All (ESW, n = 60)	+0.020	0.022	+0.121	0.048
Female (ESW, n = 14)	-0.020	0.087	-0.185	0.062
<60 (ESW, n = 6)	-0.026	0.084	-0.226	0.067
>60 (ESW, n = 8)	-0.019	0.574	-0.133	0.639
Male (ESW, n = 46)	+0.036	0.002	+0.245	0.008
<60 (ESW, n = 31)	+0.062	<0.001	+0.351	0.005
>60 (ESW, n = 15)	-0.027	0.141	-0.001	0.998
ABD (ESW, n = 11)	+0.022	0.091	+0.176	0.044
No ABD (ESW, n = 49)	+0.028	0.008	+0.141	0.048
Total hip^c, ref. = OSR (n = 296)				
All (ESW, n = 60)	+0.004	0.591	+0.070	0.077
Female (ESW, n = 14)	-0.044	<0.001	-0.281	<0.001
<60 (ESW, n = 6)	-0.051	<0.001	-0.321	<0.001
>60 (ESW, n = 8)	-0.046	0.010	-0.249	0.022
Male (ESW, n = 46)	+0.017	0.060	+0.166	<0.001
<60 (ESW, n = 31)	+0.021	0.083	+0.270	<0.001
>60 (ESW, n = 15)	+0.012	0.288	-0.026	0.730
ABD (ESW, n = 11)	+0.013	0.312	+0.081	0.396
No ABD (ESW, n = 49)	+0.016	0.027	+0.102	0.019

ABD, adynamic bone disease; BMI, body mass index; ESW, early steroid withdrawal; OSR, other steroid protocols; PS, propensity score; PTH, parathyroid hormone.

^aVariables included in the PS (influencing changes in the lumbar spine BMD; exclusion of counterfactuals was not necessary): age, BMI at M0, change in BMI, a history of autoimmune disease or primary, immunosuppressive maintenance therapy, blood calcium at M0, osteocalcin at M0, PTH at M0 and M12, 25 (OH) vitamin D3 at M0 and M12, blood creatinine at M12, prior calcium, erythropoiesis-stimulating agent or cinacalcet intake, calcium or bisphosphonate intake during the study period, donor age and sex, deceased donor, uncontrolled arterial hypertension, uncontrolled dyslipidemia, bacterial infection, cross-match results, warm ischemia time.

^bVariables included in the propensity score (influencing changes in the femoral neck BMD; exclusion of counterfactuals was not necessary): age, BMI, a history of primary or secondary hyperparathyroidism, smoking, etiology of the chronic kidney disease, PTH at M0 and at M12, osteocalcin at M0, PAO at M0, cross-match results, bacterial infection, uncontrolled or new-onset diabetes mellitus during the study period, uncontrolled dyslipidemia during the study period, donor age, erythropoiesis-stimulating agent intake, deceased donor.

^cVariables included in the propensity score (influencing changes in the total hip BMD, exclusion of counterfactuals was not necessary): age, sex, race, change in BMI, induction therapy (basiliximab and thymoglobulin), PTH at M0, osteocalcin at M0, PAO at M0, blood calcium at M0, prior vitamin D intakes, vitamin D intake during the study period, donor age, deceased donor, acute graft rejection, time on hemodialysis before transplantation, uncontrolled arterial hypertension and dyslipidemia during the study period.

(11.8%, $p < 0.0001$) and 6 months (16%, $p < 0.0001$).⁴⁷ In a study in the United States, Julian *et al.* reported bone losses of $6.8 \pm 5.6\%$ and $8.8 \pm 7.0\%$ at the lumbar spine respectively 6 and 18 months after transplantation.¹⁶ Similar losses have been observed at the hip 5 months after kidney transplantation.¹⁵ Other risk factors have been identified, including the time on dialysis prior to transplantation, age at transplantation, vitamin D deficiency, and a low body mass index ($< 23 \text{ kg/m}^2$).^{18,19}

Calcitriol [$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$] regulates calcium homeostasis and bone cell differentiation,⁴⁸ and its deficiency leads to osteoporosis through an increase in PTH levels.⁴⁹ Glucocorticoids also lead to osteoporosis by decreasing intestinal calcium absorption, increasing the urinary excretion of calcium, enhancing bone resorption, and decreasing bone formation.⁵⁰ Furthermore, the use of corticosteroids contributes to low serum levels of 25(OH) vitamin D.⁵¹ Hence, vitamin D prophylaxis might be more effective in patients on long-term steroid therapy; however, the risk of associated hypercalcemia and hypercalciuria through excessive calcium and vitamin D supplementations should also be considered.⁵²

It has been firmly established that the fragility fracture risk is correlated with BMD.^{53,54} Indeed, in postmenopausal women, there is a continuum between the BMD decrease and the fracture risk, with no threshold value: the fracture risk is multiplied by a factor of two for a one SD decrease in the BMD T-score.²⁴ Our present results evidenced significant BMD T-score gains for the lumbar spine and the femoral neck (~ 0.3 and ~ 0.2 , respectively), which suggest that the fracture risk is lower in the patients with ESW. In fact, none of the patients in the ESW group suffered a fragility fracture. In contrast, four patients in the OSR groups suffered a fragility fracture (L3 vertebrae, the hip, a rib, and the scapula glenoid), corresponding to an incidence of 13.5 fractures per 1000 person-years. This intergroup difference in fracture incidence was not statistically significant – probably due to the small number of events. Longer-term follow up would be required before firm conclusions can be drawn in this respect. In a recent, prospective, observational study of 518 kidney transplant recipients with an average follow-up period of 5.2 years, Evenepoel *et al.* found a fracture incidence of 14.2 per 1000 person-years – much the same value as in the present study.⁵⁵ Moreover, Evenepoel *et al.*

found an association between incident fractures on one hand and BMD at the lumbar spine and at the femoral neck on the other.⁵⁵

To the best of our knowledge, only one study [a single-center study of 259 patients, including 75 (29%) with ESW] has evaluated the impact of ESW on BMD. Segaud *et al.* evidenced a significant increase in BMD at the lumbar spine ($+3.1 \pm 5.6\%$, $p < 0.001$), the femoral neck ($+3.2 \pm 7.3\%$, $p < 0.0001$) and the total hip ($+4.1 \pm 6.9\%$, $p < 0.0001$) in patients with ESW between 9 and 24 months after kidney transplantation, with greater gains in patients treated with bisphosphonates.⁵⁶ One of the main limitations of Segaud *et al.*'s study was the absence of a DXA assessment before or following kidney transplantation. This lack of data prevented the researchers from estimating the BMD variation in the year following transplantation – a period during which the fracture risk appears to be higher.⁵⁷ Furthermore, Nikkel *et al.*'s study of a large American cohort of kidney recipients found that corticosteroid withdrawal was associated with a 31% reduction in the fracture risk [hazard ratio: 0.69; 95% confidence interval (CI): 0.59–0.81], which also suggests that ESW has a beneficial positive effect on bone.⁵⁸ However, the latter study had a number of limitations because it was based on a registry and claims data: the documentation of osteoporosis risk factors was not exhaustive, and it was not possible to distinguish between traumatic fractures and fragility fractures. Moreover, Nikkel *et al.*'s study population was younger than our population, and contained more women and more black recipients. Lastly, the study period was different: the patients had undergone kidney transplantation between 2000 and 2006.⁵⁸

Along with positive effects on bone, ESW was associated with a reduction in several cardiovascular risk factors in our study population. Indeed, patients in the ESW group were less likely to have uncontrolled arterial hypertension at M12, and had a significantly lower serum triglyceride level and significantly greater weight gain. Multicenter studies with long follow-up periods (3 and 5 years) have shown that steroid withdrawal is associated with a reduction in cardiovascular risk factors (hyperlipidemia, hypertension, and diabetes mellitus) and provides similar long-term outcomes for renal allograft survival and function.^{6,8} In the present study, ESW group experienced more acute graft rejections (6.7% in the ESW group

versus 4.7% in the OSR, $p=0.766$) and more appearance of DSAs during the study period (6.7% in the ESW group *versus* 1.9% in the OSR group; $p=0.099$) even if the two groups did not differ significantly.

One of the main strengths of our study was its exhaustive documentation of osteoporosis risk factors, which thus limited confounding bias. Indeed, age, sex, body mass index, previous fragility fractures, glucocorticoid use, secondary osteoporosis (i.e. a history of diabetes mellitus, osteogenesis imperfecta, hyperparathyroidism, or hypogonadism), rheumatoid arthritis, a history of hip fracture in the parents, current cigarette smoking, alcohol intake, and low femoral neck BMD are the risk factors used in a fracture risk assessment tool for predicting the 10-year major osteoporotic fracture rate (vertebrae, the hip, the forearm, and the proximal humerus).⁵⁹ Moreover, other risk factors associated with low BMD or a high fracture risk in kidney transplant recipients (i.e., duration of dialysis before transplantation and vitamin D deficiency) were exhaustively documented.^{18,19} Another strength of our study relates to the use of IPTW; this approach enables observational studies to be designed in much the same way as randomized controlled trials, and thus reduces residual confounding bias and misclassification bias.³⁶

The main limitations of our study are related to the small number of incident fractures, which probably prevented us from observing intergroup differences. Despite the small number of patients in the ESW group, our data highlighted a significant BMD gain at the lumbar spine and the femoral neck in patients with ESW, and thus suggest that ESW has a positive effect on BMD in kidney transplant recipients, especially since patients in the ESW group were exposed to a higher risk of osteoporosis. Furthermore, our follow-up period may have been too short for an adequate investigation of the fracture risk in this population. Pre-transplant DXA data could not be exploited because (i) they were not collected systematically during the dialysis period, and (ii) even when they were available, the time interval between the DXA assessment and transplantation was very variable. Nevertheless, we consider that the BMD at M1 post-transplantation was probably similar to the value at M0 at the time of transplantation because (i) it is known that PTH, phosphate, calcium, calcitriol, and FGF-23 levels stabilize within

3 to 12 months of transplantation^{45,46} and (ii) corticosteroid-induced bone loss appears to peak 3–6 months after the initiation of treatment.^{60,61} Alternatively, and considering the broad age range in our population (77 of the patients were under the age of 40), a *Z*-score could have been used but these data were frequently missing. Given that the DXA data were collected mainly from consultation reports, the *Z*-score was (unlike the *T*-score) rarely reported – probably because it is not intended for the diagnosis of osteoporosis in adults.⁶² Furthermore, several other risk factors for osteoporosis (such as the lack of physical activity or late puberty) could not be taken into account because of the study's retrospective design. Moreover, ESW and OSR patients had the same steroid induction therapy, that could explain a similar deleterious effects of this on BMD at M1 (BMD at M1 was similar between groups). Lastly, this was a single-center study, with all the inherent limitations; however, bone density was always evaluated with the same device, and thereby made our intergroup comparisons more robust.

Conclusion

In a study of a cohort of kidney transplant recipients, we found that ESW was associated with a spontaneous increase in BMD at 12 months post-transplantation (relative to patients on long-term steroid therapy). The BMD gain appeared to be linked to a lower fracture risk, although firm conclusions on this matter would require a longer follow-up period.

Author contributions

Benjamin Batteux contributed to the conception/design of the work, acquisition, analysis, and interpretation of data for the work, and drafting the manuscript. He approved the version to be published, and agrees to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Valérie Gras-Champel contributed to interpretation of data for the work, revised it critically for important intellectual content, approved the version to be published, and agrees to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Mathilde Lando revised the work critically for important intellectual content, approved the version to be published, and agrees to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

François Brazier revised the work critically for important intellectual content, approved the version to be published, and agrees to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Romuald Mentaverri revised the work critically for important intellectual content, approved the version to be published, and agrees to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Isabelle Desailly-Henry revised the work critically for important intellectual content, approved the version to be published, and agrees to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Amayelle Rey contributed to analysis of data for the work, revised it critically for important intellectual content, approved the version to be published, and agrees to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Youssef Bennis revised the work critically for important intellectual content, approved the version to be published, and agrees to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Kamel Masmoudi revised the work critically for important intellectual content, approved the version to be published, and agrees to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Gabriel Choukroun contributed to the conception/design of the work, revised the work critically

for important intellectual content, approved the version to be published, and agrees to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Sophie Liabeuf contributed to the conception/design of the work, the interpretation of data for the work, and the drafting of the manuscript, approved the version to be published, and agrees to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Conflict of interest statement

The authors declare that there is no conflict of interest.

Funding

The authors received no financial support for the research, authorship, and/or publication of this article.

ORCID iD

Benjamin Batteux  <https://orcid.org/0000-0001-9466-7110>

Supplemental material

Supplemental material for this article is available online.

References

1. Hricik DE, Lautman J, Bartucci MR, *et al.* Variable effects of steroid withdrawal on blood pressure reduction in cyclosporine-treated renal transplant recipients. *Transplantation* 1992; 53: 1232–1235.
2. Hricik DE, Bartucci MR, Mayes JT, *et al.* The effects of steroid withdrawal on the lipoprotein profiles of cyclosporine-treated kidney and kidney-pancreas transplant recipients. *Transplantation* 1992; 54: 868–871.
3. Hricik DE, Bartucci MR, Moir EJ, *et al.* Effects of steroid withdrawal on posttransplant diabetes mellitus in cyclosporine-treated renal transplant recipients. *Transplantation* 1991; 51: 374–377.
4. Hricik DE, O'Toole MA, Schulak JA, *et al.* Steroid-free immunosuppression in cyclosporine-treated renal transplant recipients: a meta-analysis. *J Am Soc Nephrol* 1993; 4: 1300–1305.

5. Kasiske BL, Chakkera HA, Louis TA, *et al.* A meta-analysis of immunosuppression withdrawal trials in renal transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11: 1910–1917.
6. Pascual J, van Hooff JP, Salmela K, *et al.* Three-year observational follow-up of a multicenter, randomized trial on tacrolimus-based therapy with withdrawal of steroids or mycophenolate mofetil after renal transplant. *Transplantation* 2006; 82: 55–61.
7. Rostaing L, Cantarovich D, Mourad G, *et al.* Corticosteroid-free immunosuppression with tacrolimus, mycophenolate mofetil, and daclizumab induction in renal transplantation. *Transplantation* 2005; 79: 807–814.
8. Woodle ES, First MR, Pirsch J, *et al.* A prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled multicenter trial comparing early (7 day) corticosteroid cessation versus long-term, low-dose corticosteroid therapy. *Ann Surg* 2008; 248: 564–577.
9. Rike AH, Mogilishetty G, Alloway RR, *et al.* Cardiovascular risk, cardiovascular events, and metabolic syndrome in renal transplantation: comparison of early steroid withdrawal and chronic steroids. *Clin Transplant* 2008; 22: 229–235.
10. Krämer B, Klinger M, Vitko Š, *et al.* Tacrolimus-based, steroid-free regimens in renal transplantation: 3-year follow-up of the ATLAS trial. *Transplantation* 2012; 94: 492–498.
11. Barbour S, Djurdjev O, Gill JS, *et al.* A propensity score matched analysis shows no adverse effect of early steroid withdrawal in non-diabetic kidney transplant recipients with and without glomerulonephritis. *Kidney Int* 2019; 96: 460–469.
12. Haller MC, Royuela A, Nagler EV, *et al.* Steroid avoidance or withdrawal for kidney transplant recipients. *Cochrane Database Syst Rev* 2016; (8): CD005632.
13. Grotz WH, Mundinger FA, Rasenack J, *et al.* Bone loss after kidney transplantation: a longitudinal study in 115 graft recipients. *Nephrol Dial Transplant* 1995; 10: 2096–2100.
14. Giannini S, D'Angelo A, Carraro G, *et al.* Alendronate prevents further bone loss in renal transplant recipients. *J Bone Miner Res* 2001; 16: 2111–2117.
15. Horber FF, Casez JP, Steiger U, *et al.* Changes in bone mass early after kidney transplantation. *J Bone Miner Res* 1994; 9: 1–9.
16. Julian BA, Laskow DA, Dubovsky J, *et al.* Rapid loss of vertebral mineral density after renal transplantation. *N Engl J Med* 1991; 325: 544–550.
17. Vautour LM, Melton LJ, Clarke BL, *et al.* Long-term fracture risk following renal transplantation: a population-based study. *Osteoporos Int* 2004; 15: 160–167.
18. Gupta AK, Huang M and Prasad GVR. Determinants of bone mineral density in stable kidney transplant recipients. *J Nephrol* 2012; 25: 373–383.
19. Unal A, Kocyigit I, Sipahioglu MH, *et al.* Loss of bone mineral density in renal transplantation recipients. *Transplant Proc* 2010; 42: 3550–3553.
20. Briot K and Roux C. Glucocorticoid-induced osteoporosis. *RMD Open* 2015; 1: e000014.
21. Keene GS, Parker MJ and Pryor GA. Mortality and morbidity after hip fractures. *BMJ* 1993; 307: 1248–1250.
22. Cummings SR and Melton LJ. Epidemiology and outcomes of osteoporotic fractures. *Lancet* 2002; 359: 1761–1767.
23. Lorentzon M and Cummings SR. Osteoporosis: the evolution of a diagnosis. *J Intern Med* 2015; 277: 650–661.
24. Marshall D, Johnell O and Wedel H. Meta-analysis of how well measures of bone mineral density predict occurrence of osteoporotic fractures. *BMJ* 1996; 312: 1254–1259.
25. Schuit SCE, van der Klift M, Weel AEAM, *et al.* Fracture incidence and association with bone mineral density in elderly men and women: the Rotterdam Study. *Bone* 2004; 34: 195–202.
26. NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy. Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. *JAMA* 2001; 285: 785–795.
27. Hou Y-C, Lu C-L and Lu K-C. Mineral bone disorders in chronic kidney disease. *Nephrology* 2018; 23(Suppl. 4): 88–94.
28. Moe S, Drüeke T, Cunningham J, *et al.* Definition, evaluation, and classification of renal osteodystrophy: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int* 2006; 69: 1945–1953.
29. Pitts TO, Piraino BH, Mitro R, *et al.* Hyperparathyroidism and 1,25-dihydroxyvitamin D deficiency in mild, moderate, and severe renal failure. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 67: 876–881.
30. Malluche HH, Ritz E, Lange HP, *et al.* Bone histology in incipient and advanced renal failure. *Kidney Int* 1976; 9: 355–362.

31. Sherrard DJ, Hercz G, Pei Y, *et al.* The aplastic form of renal osteodystrophy. *Nephrol Dial Transplant* 1996;11(Suppl. 3): 29–31.
32. Gabay C, Ruedin P, Slosman D, *et al.* Bone mineral density in patients with end-stage renal failure. *Am J Nephrol* 1993; 13: 115–123.
33. Van Staa TP, Leufkens HG, Abenham L, *et al.* Use of oral corticosteroids and risk of fractures. *J Bone Miner Res* 2000; 15: 993–1000.
34. Laan RF, van Riel PL, van de Putte LB, *et al.* Low-dose prednisone induces rapid reversible axial bone loss in patients with rheumatoid arthritis. A randomized, controlled study. *Ann Intern Med* 1993; 119: 963–968.
35. Hall GM, Spector TD, Griffin AJ, *et al.* The effect of rheumatoid arthritis and steroid therapy on bone density in postmenopausal women. *Arthritis Rheum* 1993; 36: 1510–1516.
36. Austin PC and Stuart EA. Moving towards best practice when using inverse probability of treatment weighting (IPTW) using the propensity score to estimate causal treatment effects in observational studies. *Stat Med* 2015; 34: 3661–3679.
37. Roufosse C, Simmonds N, Clahsen-van Groningen M, *et al.* A 2018 Reference guide to the banff classification of renal allograft pathology. *Transplantation* 2018; 102: 1795.
38. Sista SK and Arum SM. Management of adynamic bone disease in chronic kidney disease: a brief review. *J Clin Transl Endocrinol* 2016; 5: 32–35.
39. Austin PC, Grootendorst P and Anderson GM. A comparison of the ability of different propensity score models to balance measured variables between treated and untreated subjects: a Monte Carlo study. *Stat Med* 2007; 26: 734–753.
40. Myers JA, Rassen JA, Gagne JJ, *et al.* Effects of adjusting for instrumental variables on bias and precision of effect estimates. *Am J Epidemiol* 2011; 174: 1213–1222.
41. Garrido MM, Kelley AS, Paris J, *et al.* Methods for constructing and assessing propensity scores. *Health Serv Res* 2014; 49: 1701–1720.
42. Stuart EA. Matching methods for causal inference: a review and a look forward. *Stat Sci* 2010; 25: 1–21.
43. Yang Y, Qiu S, Deng L, *et al.* Outcomes of bisphosphonate and its supplements for bone loss in kidney transplant recipients: a systematic review and network meta-analysis. *BMC Nephrol* 2018; 19: 269.
44. Bover J, Ureña-Torres P, Torregrosa J-V, *et al.* Osteoporosis, bone mineral density and CKD–MBD complex (I): diagnostic considerations. *Nefrología* 2018; 38: 476–490.
45. Green J, Debby H, Lederer E, *et al.* Evidence for a PTH-independent humoral mechanism in post-transplant hypophosphatemia and phosphaturia. *Kidney Int* 2001; 60: 1182–1196.
46. Baia LC, Heilberg IP, Navis G, *et al.*; NIGRAM Investigators. Phosphate and FGF-23 homeostasis after kidney transplantation. *Nat Rev Nephrol* 2015; 11: 656–666.
47. Govindarajan S, Khandelwal N, Sakhuja V, *et al.* Bone mineral density in patients with end-stage renal disease and its evolution after kidney transplantation. *Indian J Nephrol* 2011; 21: 85–89.
48. Lips P and van Schoor NM. The effect of vitamin D on bone and osteoporosis. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2011; 25: 585–591.
49. Lips P. Vitamin D deficiency and secondary hyperparathyroidism in the elderly: consequences for bone loss and fractures and therapeutic implications. *Endocr Rev* 2001; 22: 477–501.
50. Canalis E, Mazziotti G, Giustina A, *et al.* Glucocorticoid-induced osteoporosis: pathophysiology and therapy. *Osteoporos Int* 2007; 18: 1319–1328.
51. Skversky AL, Kumar J, Abramowitz MK, *et al.* Association of glucocorticoid use and low 25-hydroxyvitamin D levels: results from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES): 2001–2006. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96: 3838–3845.
52. Ponticelli C and Sala G. Vitamin D: a new player in kidney transplantation? *Expert Rev Clin Immunol* 2014; 10: 1375–1383.
53. Cummings SR, Black DM, Nevitt MC, *et al.* Bone density at various sites for prediction of hip fractures. The Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *Lancet* 1993; 341: 72–75.
54. Black DM, Cummings SR, Genant HK, *et al.* Axial and appendicular bone density predict fractures in older women. *J Bone Miner Res* 1992; 7: 633–638.
55. Evenepoel P, Claes K, Meijers B, *et al.* Bone mineral density, bone turnover markers, and incident fractures in de novo kidney transplant recipients. *Kidney Int* 2019; 95: 1461–1470.
56. Segaud N, Legroux I, Hazzan M, *et al.* Changes in bone mineral density after kidney transplantation: 2-year assessment of a French cohort. *Osteoporos Int* 2018; 29: 1165–1175.

57. Ball AM, Gillen DL, Sherrard D, *et al.* Risk of hip fracture among dialysis and renal transplant recipients. *JAMA* 2002; 288: 3014–3018.
58. Nikkel LE, Mohan S, Zhang A, *et al.* Reduced fracture risk with early corticosteroid withdrawal after kidney transplant. *Am J Transplant* 2012; 12: 649–659.
59. Compston JE, McClung MR and Leslie WD. Osteoporosis. *Lancet* 2019; 393: 364–376.
60. Van Staa TP, Leufkens HGM, Abenhaim L, *et al.* Use of oral corticosteroids and risk of fractures. *J Bone Miner Res* 2005; 20: 1487–1494; discussion 1486.
61. van Staa TP, Leufkens HGM and Cooper C. The epidemiology of corticosteroid-induced osteoporosis: a meta-analysis. *Osteoporos Int* 2002; 13: 777–787.
62. Dimai HP. Use of dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) for diagnosis and fracture risk assessment; WHO-criteria, T- and Z-score, and reference databases. *Bone* 2017; 104: 39–43.

Visit SAGE journals online
[journals.sagepub.com/
home/tab](http://journals.sagepub.com/home/tab)

 SAGE journals

Table S1: Correlations between changes in BMD and quantitative variables

	Lumbar spine		Femoral neck		Total hip	
	Correlation coefficient	P value	Correlation coefficient	P value	Correlation coefficient	P value
Recipient age	-0.130	0.014*	-0.183	0.013*	-0.193	0.001*
BMI	-0.159	0.003*	0.119	0.110*	-0.021	0.703
Time on hemodialysis	-0.056	0.292	0.068	0.357	0.040	0.480
Graft function recovery time	-0.144	0.007*	-0.057	0.450	0.049	0.388
Laboratory data (M0)						
Serum calcium	-0.085	0.111*	-0.049	0.503	-0.160	0.004*
Serum phosphate	0.036	0.499	-0.065	0.381	-0.066	0.240
25 (OH) vitamin D3	-0.081	0.137*	-0.027	0.724	-0.032	0.578
PTH	0.117	0.030*	0.203	0.007*	0.227	<0.001*
Bone alkaline phosphatases	0.014	0.801	0.379	<0.001*	0.298	<0.001*
Osteocalcin	0.176	0.008*	0.345	<0.001*	0.321	<0.001*
Serum creatinine	-0.023	0.667	0.015	0.843	0.023	0.682
Laboratory data (M12)						
Serum calcium	-0.023	0.676	0.074	0.320	-0.014	0.805
Serum phosphate	-0.019	0.727	-0.054	0.465	0.051	0.366
25 (OH) vitamin D3	0.157	0.004*	-0.021	0.774	-0.010	0.863
PTH	-0.105	0.051*	0.108	0.153*	0.085	0.137
Serum creatinine	-0.165	0.002*	-0.050	0.498	0.043	0.445
Donor age	-0.097	0.070*	-0.140	0.058	-0.145	0.010*
Donor BMI	-0.050	0.345	-0.023	0.756	0.034	0.544
Donor's last blood creatinine level	0.043	0.416	-0.006	0.940	-0.008	0.981
Ischemia times						
Cold	-0.010	0.853	-0.002	0.975	0.022	0.690
Warm	-0.013	0.014*	-0.047	0.529	-0.009	0.860
Changes in lipid parameters between M0 and M12						
Total cholesterol	-0.093	0.092*	-0.048	0.528	-0.064	0.269
LDL-c	-0.028	0.623	-0.170	0.162	-0.097	0.099*
HDL-c	-0.137	0.015*	-0.030	0.699	-0.116	0.050*
Triglycerides	-0.030	0.579	<0.001	1.000	0.046	0.423
BMI changes	0.093	0.083*	0.093	0.213	0.212	<0.001*

* Variables included in the propensity score

BMI, body mass index; HDL-c, high-density lipoprotein cholesterol; LDL-c, low-density lipoprotein cholesterol; PTH, parathormone.

Table S2: Associations between changes in BMD and categorical variables

	Lumbar spine	Femoral neck	Total hip
	P value	P value	P value
Smoking	0.504	0.038*	0.941
Etiology of chronic kidney disease	0.507	0.123*	0.388
Peak PRA	0.460	0.319	0.870
Maintenance therapy	0.054*	0.674	0.429

* Variables included in the propensity score

PRA, panel-reactive antibody

Table S3: Associations between changes in BMD and binary variables

	Lumbar spine			Femoral neck			Total hip		
	BMD variations		P value	BMD variations		P value	BMD variations		P value
	No	Yes		No	Yes		No	Yes	
Female	0.003 [-0.167 - 0.147]	0.002 [-0.237 - 0.197]	0.782	-0.013 [-0.180 - 0.149]	-0.003 [-0.141 - 0.224]	0.217	-0.007 [-0.199 - 0.118]	-0.027 [-0.241 - 0.164]	0.022*
Race (Caucasian)	0.003 [-0.237 - 0.197]	-0.001 [-0.129 - 0.099]	0.548	-0.006 [-0.180 - 0.224]	-0.024 [-0.116 - 0.149]	0.706	-0.025 [-0.241 - 0.164]	-0.004 [-0.071 - 0.048]	0.146*
Thyroid disorders	0.004 [-0.237 - 0.197]	-0.002 [-0.138 - 0.147]	0.610	-0.006 [-0.180 - 0.224]	-0.019 [-0.111 - 0.149]	0.814	-0.022 [-0.241 - 0.164]	-0.029 [-0.114 - 0.029]	0.376
Prior osteoporotic fractures	0.004 [-0.237 - 0.197]	-0.006 [-0.148 - 0.159]	0.326	-0.004 [-0.180 - 0.224]	-0.012 [-0.111 - 0.104]	0.584	-0.023 [-0.241 - 0.164]	-0.029 [-0.199 - 0.139]	0.908
Diabetes mellitus	0.002 [-0.237 - 0.197]	0.005 [-0.156 - 0.160]	0.228	-0.005 [-0.180 - 0.224]	-0.015 [-0.116 - 0.124]	0.852	-0.022 [-0.241 - 0.164]	-0.027 [-0.199 - 0.107]	0.719
Chronic inflammatory rheumatism	0.003 [-0.237 - 0.197]	0.009 [-0.028 - 0.105]	0.617	-0.006 [-0.180 - 0.224]	-0.014 [-0.021 - 0.006]	0.805	-0.024 [-0.241 - 0.164]	-0.012 [-0.044 - 0.028]	0.564
Autoimmune diseases	0.001 [-0.237 - 0.197]	0.019 [-0.092 - 0.159]	0.078*	-0.005 [-0.147 - 0.224]	-0.026 [-0.180 - 0.104]	0.287	-0.023 [-0.241 - 0.164]	-0.025 [-0.090 - 0.064]	0.543
Primary HPT	0.003 [-0.237 - 0.197]	0 [-0.236 - 0.050]	0.306	-0.005 [-0.147 - 0.224]	-0.071 [-0.180 - 0.058]	0.040*	-0.024 [-0.241 - 0.164]	-0.016 [-0.157 - 0.037]	0.853
Secondary HPT	0.006 [-0.236 - 0.147]	0.001 [-0.237 - 0.197]	0.455	-0.023 [-0.180 - 0.139]	-0.002 [-0.147 - 0.224]	0.077*	-0.031 [-0.241 - 0.118]	-0.020 [-0.199 - 0.164]	0.288
Alcohol consumption	0.003 [-0.237 - 0.197]	-0.001 [-0.129 - 0.092]	0.655	-0.007 [-0.180 - 0.224]	0.003 [-0.063 - 0.048]	0.712	-0.023 [-0.241 - 0.164]	-0.028 [-0.194 - 0.060]	0.204
Prior steroid intake	0.001 [-0.237 - 0.197]	0.015 [-0.147 - 0.139]	0.251	-0.008 [-0.147 - 0.224]	-0.002 [-0.180 - 0.128]	0.604	-0.026 [-0.241 - 0.164]	-0.008 [-0.163 - 0.087]	0.031*
Prior calcium intake	0.007 [-0.216 - 0.197]	-0.012 [-0.237 - 0.132]	0.003*	-0.005 [-0.147 - 0.168]	-0.009 [-0.180 - 0.224]	0.579	-0.024 [-0.241 - 0.164]	-0.023 [-0.171 - 0.118]	0.951
Calcium intake during the study period	0.007 [-0.192 - 0.187]	-0.007 [-0.237 - 0.197]	0.048*	-0.006 [-0.147 - 0.168]	-0.009 [-0.180 - 0.224]	0.442	-0.024 [-0.241 - 0.139]	-0.022 [-0.163 - 0.164]	0.424
Prior vitamin D intake	0.005 [-0.237 - 0.197]	-0.002 [-0.216 - 0.195]	0.248	0 [-0.147 - 0.168]	-0.014 [-0.180 - 0.224]	0.337	-0.012 [-0.241 - 0.139]	-0.028 [-0.199 - 0.164]	0.080*
Vitamin D intake during the study period	0.005 [-0.167 - 0.197]	0.003 [-0.237 - 0.195]	0.728	0.006 [-0.111 - 0.124]	-0.009 [-0.180 - 0.224]	0.285	-0.022 [-0.171 - 0.139]	-0.024 [-0.241 - 0.164]	0.007*
Prior BP intake	0.002 [-0.237 - 0.197]	-0.026 [0.021 - 0.030]	0.465	-0.006 [-0.180 - 0.224]	-0.036 [-0.042 - -0.030]	0.427	-0.024 [-0.241 - 0.164]	-0.022 [-0.023 - -0.021]	0.973
BP intake during the study period	0 [-0.237 - 0.197]	0.055 [-0.041 - 0.132]	0.003*	0.006 [-0.180 - 0.224]	-0.006 [-0.180 - 0.224]	0.465	-0.024 [-0.241 - 0.164]	-0.022 [-0.133 - 0.046]	0.835
Previous kidney transplantation	0.001 [-0.237 - 0.197]	0.016 [-0.147 - 0.187]	0.232	-0.010 [-0.180 - 0.224]	0.007 [-0.077 - 0.125]	0.203	-0.025 [-0.241 - 0.164]	-0.007 [-0.163 - 0.066]	0.136
Prior cinacalcet intake	0.008 [-0.236 - 0.197]	-0.007 [-0.237 - 0.159]	0.003*	-0.007 [-0.180 - 0.168]	-0.007 [-0.098 - 0.224]	0.921	-0.024 [-0.241 - 0.164]	-0.011 [-0.157 - 0.118]	0.625
Prior ESA intake	0.001 [-0.236 - 0.197]	0.005 [-0.237 - 0.195]	0.166*	-0.010 [-0.180 - 0.224]	-0.004 [-0.092 - -0.149]	0.176*	-0.024 [-0.241 - 0.139]	-0.018 [-0.199 - 0.164]	0.510
DSAs (M0)	0.003 [-0.237 - 0.197]	0 [-0.148 - 0.187]	0.516	-0.007 [-0.180 - 0.224]	-0.004 [-0.111 - 0.053]	0.746	-0.024 [-0.241 - 0.164]	0 [-0.111 - 0.064]	0.836
Positive crossmatch	0.003 [-0.237 - 0.197]	-0.022 [-0.167 - 0.015]	0.159*	-0.004 [-0.180 - 0.224]	-0.042 [-0.069 - -0.009]	0.037*	-0.023 [-0.241 - 0.164]	-0.053 [-0.114 - 0.118]	0.149
Female (donor)	0.005 [-0.216 - 0.197]	-0.001 [-0.237 - 0.195]	0.115*	-0.002 [-0.180 - 0.224]	-0.010 [-0.147 - 0.168]	0.589	-0.019 [-0.241 - 0.139]	-0.025 [-0.194 - 0.164]	0.558
Deceased donor	0.025 [-0.167 - 0.195]	-0.002 [-0.237 - 0.197]	0.001*	0.003 [-0.106 - 0.224]	-0.012 [-0.180 - 0.168]	0.089*	-0.009 [-0.241 - 0.164]	-0.025 [-0.199 - 0.107]	0.021*

Table S3 (continued)

	Lumbar spine			Femoral neck			Total hip		
	BMD variations		P value	BMD variations		P value	BMD variations		P value
	No	Yes		No	Yes		No	Yes	
Induction therapy									
Basiliximab	0 [-0.236 – 0.197]	0.005 [-0.237 – 0.159]	0.288	-0.0112 [-0.147 – 0.224]	-0.004 [-0.180 – 0.168]	0.876	-0.029 [-0.241 – 0.164]	-0.015 [-0.199 – 0.139]	0.031*
Thymoglobulin	0.004 [-0.237 – 0.159]	0.001 [-0.236 – 0.197]	0.224	-0.004 [-0.180 – 0.168]	-0.011 [-0.147 – 0.224]	0.714	-0.016 [-0.199 – 0.139]	-0.029 [-0.241 – 0.164]	0.056*
IVIg	0.002 [-0.237 – 0.197]	0.008 [-0.148 – 0.187]	0.380	-0.006 [-0.180 – 0.224]	-0.013 [-0.067 – 0.053]	0.747	-0.024 [-0.241 – 0.164]	-0.003 [-0.107 – 0.087]	0.325
Hemodialysis after transplantation	0.003 [-0.237 – 0.197]	0.002 [-0.138 – 0.195]	0.934	-0.006 [-0.180 – 0.224]	-0.019 [-0.111 – 0.148]	0.612	-0.025 [-0.241 – 0.139]	-0.02 [-0.111 – 0.164]	0.183*
Acute graft rejection	0.003 [-0.237 – 0.197]	-0.002 [-0.003 – 0.052]	0.955	-0.007 [-0.180 – 0.224]	-0.006 [-0.006 – 0.006]	1.000	-0.024 [-0.241 – 0.164]	-0.003 [0.028 – 0.087]	0.012*
Appearance of DSAs									
Viral infection	0.003 [-0.237 – 0.195]	0 [-0.216 – 0.197]	0.686	-0.003 [-0.180 – 0.224]	-0.012 [-0.141 – 0.139]	0.568	-0.020 [-0.199 – 0.164]	-0.026 [-0.241 – 0.139]	0.415
Bacterial infection	0.008 [-0.237 – 0.195]	-0.004 [-0.192 – 0.197]	0.153	0 [-0.180 – 0.224]	-0.023 [-0.141 – 0.104]	0.016*	-0.025 [-0.241 – 0.164]	-0.021 [-0.199 – 0.118]	0.963
Cardiovascular risk factors									
Uncontrolled or new-onset diabetes mellitus	0.004 [-0.237 – 0.195]	0.001 [-0.156 – 0.1197]	0.301	-0.004 [-0.141 – 0.168]	-0.015 [-0.180 – 0.224]	0.143*	-0.024 [-0.241 – 0.164]	-0.024 [-0.199 – 0.107]	0.939
Uncontrolled arterial hypertension	0.006 [-0.237 – 0.197]	-0.002 [-0.167 – 0.114]	0.070	-0.003 [-0.180 – 0.224]	-0.001 [-0.116 – 0.128]	0.856	-0.021 [-0.241 – 0.164]	-0.026 [-0.194 – 0.118]	0.137*
Uncontrolled dyslipidemia	0.008 [-0.237 – 0.197]	-0.005 [-0.216 – 0.132]	0.030	0.003 [-0.106 – 0.224]	-0.013 [-0.180 – 0.128]	0.022*	-0.020 [-0.241 – 0.164]	-0.027 [-0.199 – 0.118]	0.618
Cardiovascular event	0.002 [-0.237 – 0.197]	-0.015 [-0.036 – 0.050]	0.657	-0.007 [-0.180 – 0.224]	-0.001 [-0.067 – 0.072]	0.866	-0.023 [-0.241 – 0.164]	-0.041 [-0.071 – -0.007]	0.249

* Variables included in the propensity score

BP, bisphosphonate; DSA, donor-specific antibodies; ESA, erythropoiesis-stimulating agent; FUJEF, fracture of upper end of the femur; HPT, hyperparathyroidism; IVIg, intravenous immunoglobulins.

Table S4: BMD and T-scores variations (IPTW, sensitivity analysis including all covariables in a propensity score)

	Variations	P value
Lumbar spine, ref. = OSR (n' = 115)		
BMD (ESW, n' = 31)	+0.049	< 0.001
T-score (ESW, n' = 31)	+0.473	< 0.001
Neck of the femur, ref. = OSR (n' = 115)		
BMD (ESW, n = 31)	+0.070	< 0.001
T-score (ESW, n = 31)	+0.554	< 0.001
Total hip, ref. = OSR (n' = 115)		
BMD (ESW, n = 31)	+0.043	< 0.001
T-score (ESW, n = 31)	+0.270	< 0.001

ESW, early steroid withdrawal; OSR, other steroid regimens;

After the exclusion of counterfactuals, all variables were included in the propensity score except race, history of chronic inflammatory rheumatism, prior bisphosphonate intake, bisphosphonate intake during the study period, peak PRA (patients with peak PRA < 20% remained), acute graft rejection, cardiovascular events, induction therapy with IVIg, and DSAs at MO

Table S5: Bone mineral densities and T-scores at M1 and at M12 in patients with initial ESW with or without steroids resumption and in patients with initial long-term steroid therapy

	M1			M12		
	Lumbar spine	Femoral neck	Total hip	Lumbar spine	Femoral neck	Total hip
BMD (g/cm²), <i>m</i> ± <i>SD</i>						
OSR (M0), <i>n</i> = 271	1.002 ± 0.160	0.756 ± 0.153	0.888 ± 0.151	0.997 ± 0.150	0.750 ± 0.149	0.862 ± 0.152
ESW (M0), <i>n</i> = 85	1.041 ± 0.168	0.752 ± 0.129	0.906 ± 0.151	1.086 ± 0.157	0.760 ± 0.147	0.900 ± 0.149
<i>P</i> value	0.103	0.938	0.464	0.002	0.694	0.118
T-scores, <i>m</i> ± <i>SD</i>						
OSR (M0), <i>n</i> = 271	-0.540 ± 0.477	-1.152 ± 1.156	-0.803 ± 1.016	-0.578 ± 1.362	-1.207 ± 1.136	-0.982 ± 1.042
ESW (M0), <i>n</i> = 85	-0.266 ± 1.444	-1.234 ± 0.950	-0.771 ± 0.979	0.185 ± 1.335	-1.202 ± 1.058	-0.816 ± 0.910
<i>P</i> value	0.189	0.594	0.822	<0.002	0.979	0.227

BMD, bone mineral density; *ESW (M0)*, initial early steroid withdrawal with or without resumption; *OSR*, other steroid regimens.

Table S6: Changes in BMD between M1 and M12 in patients with initial ESW with or without steroids resumption and in patients with initial long-term steroid therapy

	Lumbar spine			Femoral neck			Total hip		
	Change (g/cm ²), <i>m ± SD</i>	Change (%), <i>m ± SD</i>	<i>P</i> value	Change (g/cm ²), <i>m ± SD</i>	Change (%), <i>m ± SD</i>	<i>P</i> value	Change (g/cm ²), <i>m ± SD</i>	Change (%), <i>m ± SD</i>	<i>P</i> value
OSR (M0), <i>n</i> = 271	-0.005 ± 0.060	-0.20 ± 6.0	0.141	-0.009 ± 0.053	-1.04 ± 7.2	0.051	-0.025 ± 0.049	-2.69 ± 5.6	<0.001
ESW (M0), <i>n</i> = 85	+0.038 ± 0.067	+4.19 ± 6.8	<0.001	+0.011 ± 0.064	+1.57 ± 8.75	0.279	-0.016 ± 0.068	-1.362 ± 7.73	0.080
<i>P</i> value	<0.001			0.046			0.259		

ESW (M0), initial early steroid withdrawal with or without resumption; OSR: other steroid regimens

Table S7: BMD and T-scores variations (IPTW, sensitivity analysis in patients with initial ESW with or without steroids resumption and in patients with initial long-term steroid therapy)

	Change (g/cm ²)	P value
Lumbar spine, ref. = OSR (M0) (n = 271)		
BMD (ESW (M0), n = 85)	+0.040	<0.001
T-score (ESW (M0), n = 85)	+0.251	<0.001
Femoral neck, ref. = OSR (M0) (n = 271)		
BMD (ESW (M0), n = 85)	+0.031	<0.001
T-score (ESW (M0), n = 85)	+0.172	0.021
Total hip, ref. = OSR (M0) (n = 271)		
BMD (ESW (M0), n = 85)	+0.004	0.501
T-score (ESW (M0), n = 85)	+0.100	0.008

ESW (M0), initial early steroid withdrawal with or without resumption; OSR, other steroid regimens;

Table S8: Complications after kidney transplantation in patients with initial ESW with or without steroids resumption and in patients with initial long-term steroid therapy

	OSR (M0) n = 271	ESW (M0) n = 85	P value
Serum creatinine at M0 (mg/L), <i>m ± SD</i>	77.6 ± 29.6	78.2 ± 28.3	0.634
Serum creatinine at M12 (mg/L), <i>m ± SD</i>	15.8 ± 6.5	15.8 ± 5.8	0.705
Acute graft rejection, <i>n (%)</i>	15 (5.5)	7 (8.2)	0.437
Appearance of DSAs, <i>n (%)</i>	7 (2.6)	5 (5.9)	0.167
Infections, <i>n (%)</i>	174 (64.2)	49 (57.6)	0.305
Viral infections, <i>n (%)</i>	106 (39.1)	25 (29.4)	0.122
BKV, <i>n (%)</i>	31 (11.4)	14 (16.5)	0.261
CMV, <i>n (%)</i>	58 (21.4)	7 (8.2)	0.006
EBV, <i>n (%)</i>	3 (1.1)	2 (2.4)	0.343
HSV, <i>n (%)</i>	12 (4.4)	1 (1.2)	0.316
VZV, <i>n (%)</i>	4 (1.5)	0	0.576
Bacterial infections, <i>n (%)</i>	115 (42.4)	31 (36.5)	0.377
Cardiovascular risk factors			
Uncontrolled or new-onset diabetes mellitus, <i>n (%)</i>	78 (28.8)	24 (28.2)	1.000
Uncontrolled arterial hypertension, <i>n (%)</i>	114 (42.1)	12 (14.1)	<0.001
Uncontrolled dyslipidemia, <i>n (%)</i>	123 (45.4)	21 (24.7)	<0.001
Changes in lipid variables between M0 and M12			
Total cholesterol (mg/dL), <i>m ± SD</i>	+71 ± 170	+53 ± 149	0.381
LDL-c (mg/dL), <i>m ± SD</i>	+50 ± 116	+47 ± 103	0.801
HDL-c (mg/dL)	+21 ± 49	+13 ± 27	0.133
Triglycerides (mg/dL)	+10 ± 125	-15 ± 147	<0.001
Change in BMI between M0 and M12 (kg/m ²), <i>m ± SD</i>	+0.76 ± 3.07	+0.23 ± 2.18	0.142
Cardiovascular event, <i>n (%)</i>	6 (2.2)	1 (1.2)	1.000
Prevalent osteoporotic fractures, <i>n (%)</i>	4 (9.7)	0	0.576

BKV, BK virus; CMV, cytomegalovirus; EBV, Epstein-Barr virus; HSV, herpes simplex virus; VZV, varicella zoster virus.

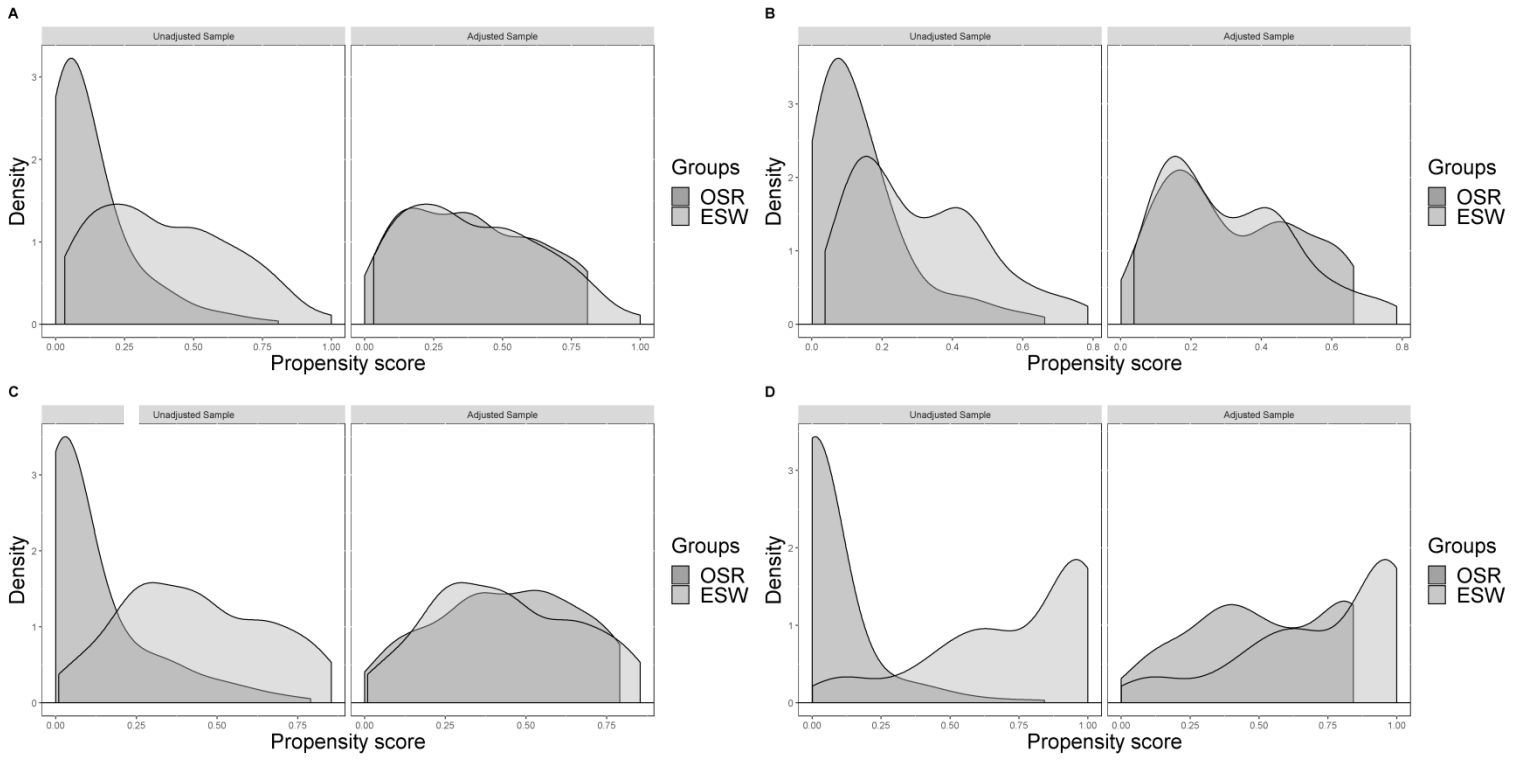


Figure S1: Kernel density curves for propensity scores in the OSR and ESW groups before (left panels) and after (right panels) adjustment. A, lumbar spine (main analysis, no exclusion of counterfactuals); B, neck of the femur (main analysis, no exclusion of counterfactuals); C, total hip (main analysis, no exclusion of counterfactuals); D, sensitivity analysis, after exclusion of counterfactuals).

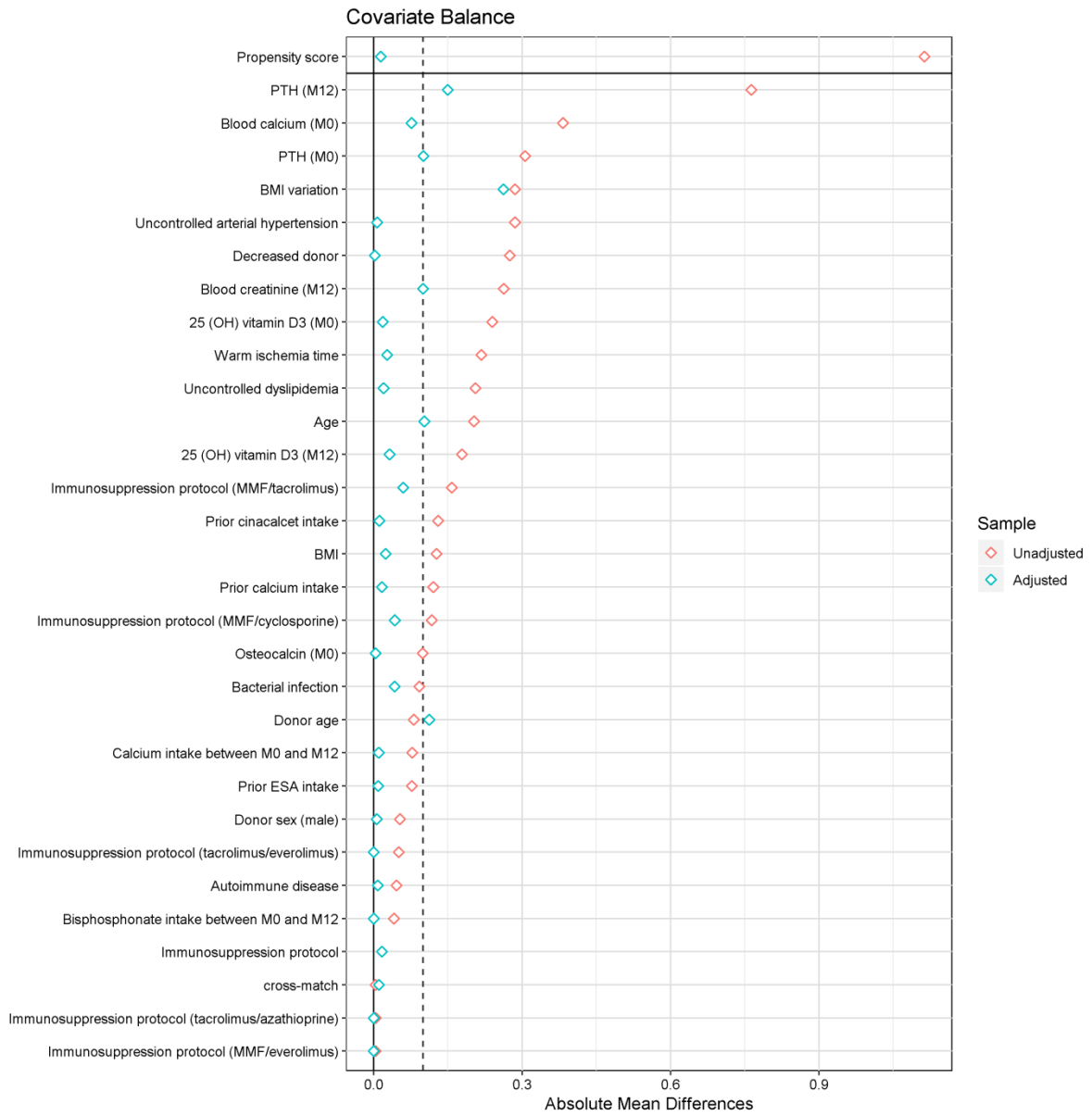


Figure S2: Absolute mean differences of propensity score and variables influencing BMD at the lumbar spine between ESW and OSP, before and after adjustment using IPTW.

BMI, body-mass index; ESA, erythropoiesis stimulating agent; PTH, parathormone;

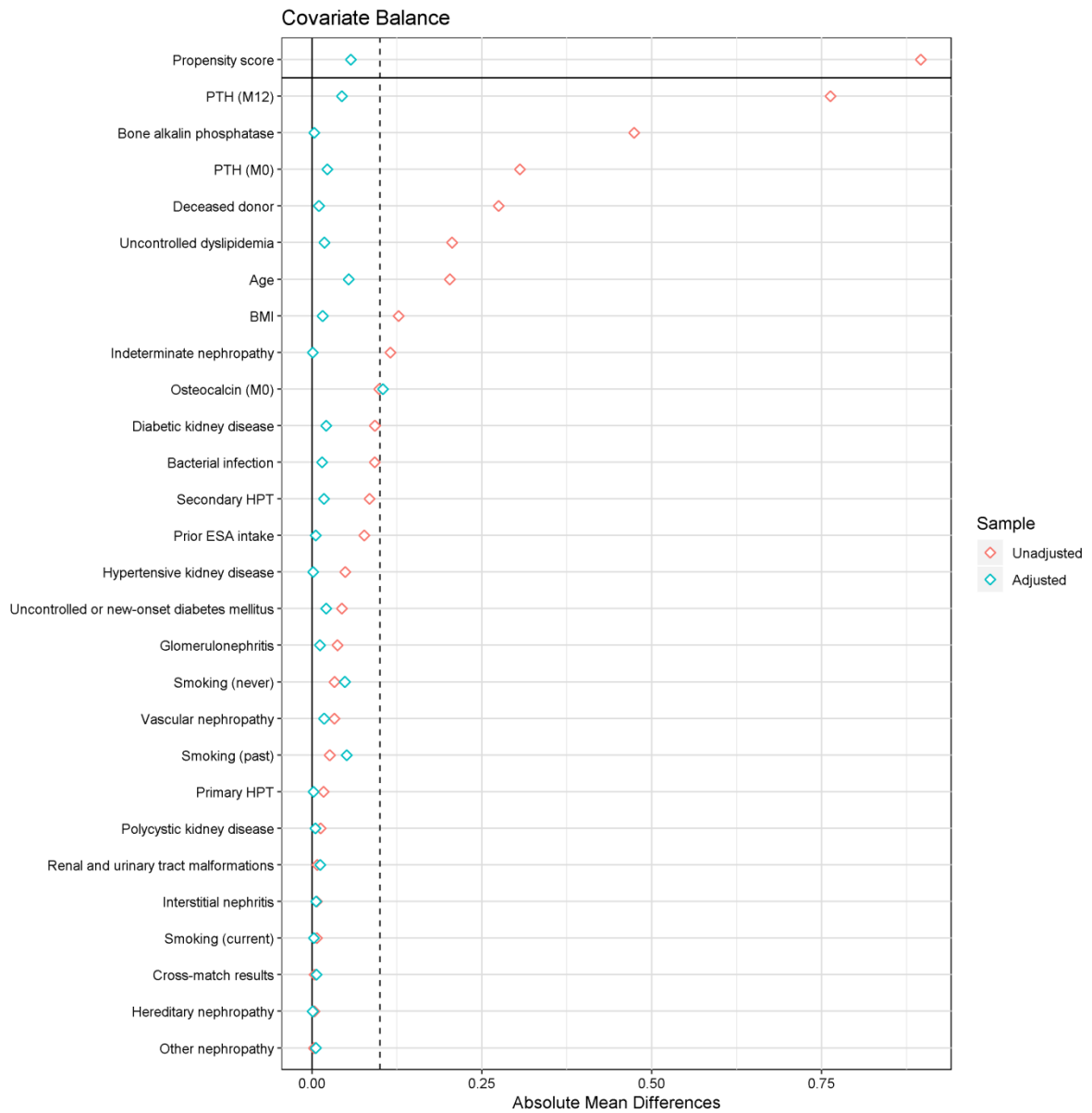


Figure S3: Absolute mean differences of propensity score and variables influencing BMD at the femoral neck between ESW and OSP, before and after adjustment using IPTW.

BMI, body-mass index; ESA, erythropoiesis stimulating agent; HPT, hyperparathyroidism; PTH, parathormone;

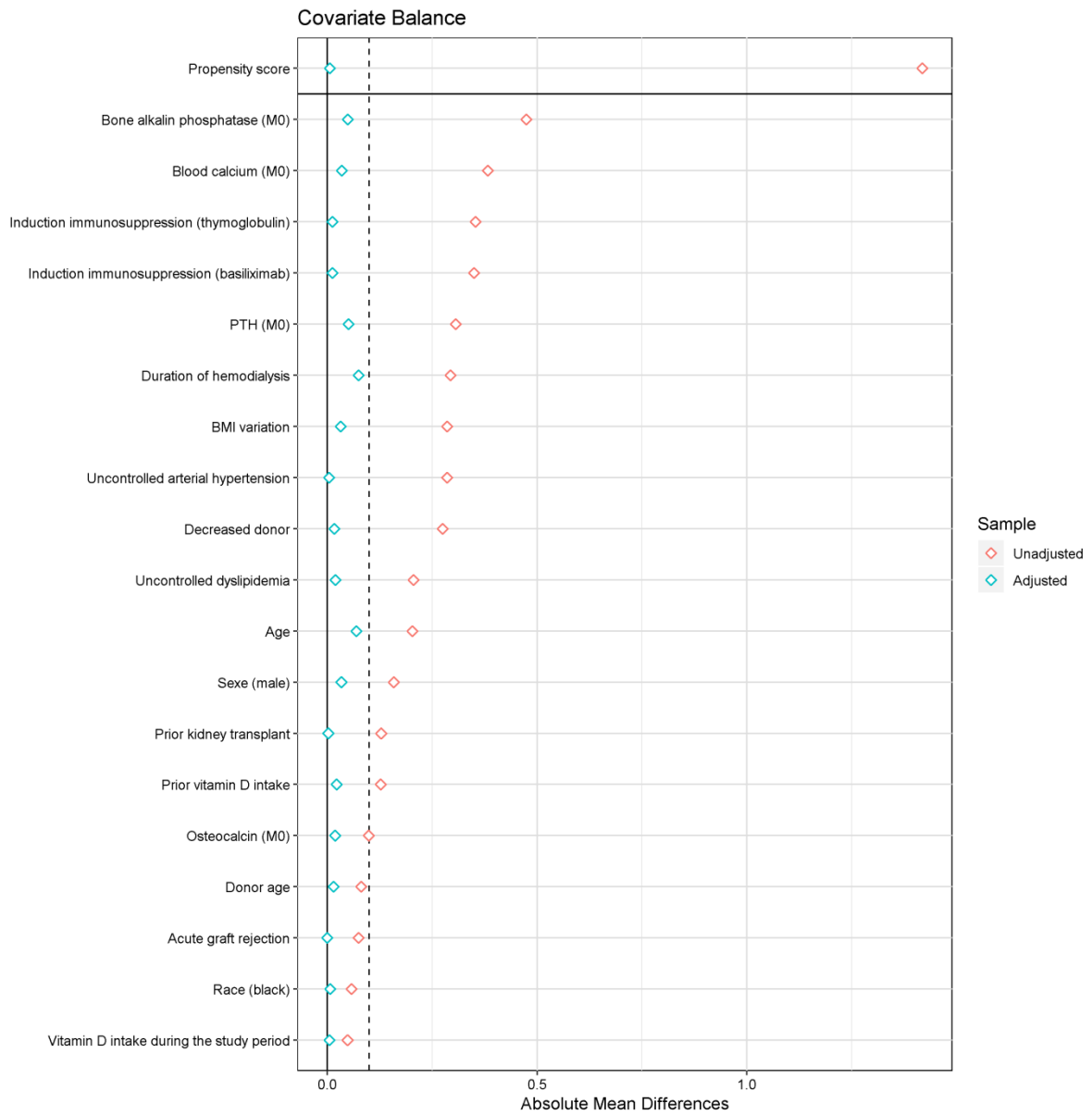


Figure S4: Absolute mean differences of propensity score and variables influencing BMD at the total hip between ESW and OSP, before and after adjustment using IPTW.

BMI, body-mass index; PTH, parathormone;

Chapitre IV

Troisième axe de recherche

Effets osseux après transplantation rénale des médicaments (autres que les corticostéroïdes) inducteurs d'ostéoporose et/ou de fractures ostéoporotiques en population générale et fréquemment prescrits après transplantation rénale

I. Introduction

De nombreux médicaments, autres que les corticostéroïdes, sont pourvoyeurs de fragilité osseuse et/ou de fractures en population générale (Chapitre I, paragraphe II.C.4.). Parmi ces médicaments, certains sont largement prescrits après transplantation rénale, notamment en raison des complications liées à la transplantation (Chapitre I, paragraphe IV.A.3.). Nous nous sommes donc demandé si l'exposition à ces médicaments était également délétère après transplantation rénale.

En effet, très peu d'études se sont focalisées sur la toxicité osseuse des médicaments autres que les corticostéroïdes après transplantation rénale. A notre connaissance, une seule étude publiée très récemment porte en partie sur le sujet. Il s'agit d'une étude rétrospective coréenne analysant les facteurs de risque de fractures incidentes dans une population hétérogène (incluant des patients hémodialysés, sous dialyse péritonéale et des transplantés rénaux) dont certains médicaments (corticostéroïdes, vitamine D et ses analogues, chélateurs de phosphate, médicaments anti-ostéoporotiques, antidépresseurs, opioïdes et gabapentinoïdes). En revanche, l'exposition à ces médicaments n'était considérée qu'à l'inclusion (début de la dialyse ou à la transplantation), et non pas au cours du temps, alors que le suivi moyen était de $4,5 \pm 2,5$ ans. Ainsi, il y avait une perte d'information concernant la poursuite ou non de ces médicaments après inclusion. Par ailleurs, l'analyse de ces médicaments portait sur l'ensemble de la population, et non pas spécifiquement sur la population des patients transplantés. Les résultats de cette étude ont montré une association positive (délétère) significative entre l'incidence des fractures et l'utilisation de corticostéroïdes, de médicaments anti-ostéoporotiques, d'antidépresseurs, d'opioïdes et de gabapentinoïdes et une association négative (protectrice) significative entre l'incidence des fractures et l'utilisation de vitamine D et de chélateurs de phosphate [283].

Avant de réaliser l'étude de ce troisième axe de recherche, nous avons réalisé une étude complémentaire afin de faire le point sur l'ensemble des médicaments déjà connus comme étant inducteurs d'ostéoporose et/ou de fractures d'une part, et d'identifier de nouveaux médicaments potentiellement inducteurs d'ostéoporose et/ou de fractures d'autre part. Ainsi, nous avons réalisé une étude de type « cas/non cas » à partir de la base de pharmacovigilance de l'OMS (VigiBase®).

VigiBase® a été créée en 1968 et est gérée par le centre de surveillance d'Uppsala (Uppsala monitoring center, UMC) [284] depuis 1978. Il s'agit de la plus grande base de données de ce type au monde. Elle contient actuellement plus de 30 millions de rapports de sécurité sur les effets indésirables médicamenteux (EIM) présumés, soumis par plus de 150 pays participant au programme de surveillance internationale des médicaments de l'OMS. VigiBase® est continuellement mise à jour avec

les notifications d'EIM entrantes. Environ la moitié des données de VigiBase® proviennent des États-Unis et 20 % de l'Union Européenne. Chaque déclaration d'EIM enregistrée dans VigiBase® contient les informations suivantes : le pays et la qualification du déclarant ; l'âge et le sexe du patient ; la dénomination commune internationale du médicament, son nom commercial, sa classification Anatomique Thérapeutique Chimique (ATC), son indication, ses dates d'instauration et d'arrêt, sa posologie et sa voie d'administration ; et des informations sur l'EIM suspecté. En revanche, VigiBase® ne contient pas les résumés détaillés des cas de pharmacovigilance, ni les antécédents des patients ou autres informations cliniques.

Dans cette étude de disproportionnalité de type « cas/non cas », nous avons calculé des *Reporting Odds Ratio* (ROR) concernant l'ensemble des médicaments suspects de provoquer de l'ostéoporose (EIM). La méthode de calcul du ROR est la suivante :

$ROR = \frac{a/c}{b/d}$ où (a) est le nombre d'EIM (ostéoporose) avec le médicament étudié, (b) est le nombre d'EIM (ostéoporose) avec tous les autres médicaments, (c) est le nombre d'EIM autres que l'ostéoporose avec le médicament étudié, et (d) est le nombre d'EIM autres que l'ostéoporose avec tous les autres médicaments. Le ROR mesure la force de la disproportionnalité. Si le ROR et la limite inférieure de son intervalle de confiance à 95% sont supérieurs à 1, l'EIM en question est signalé plus fréquemment avec le médicament d'intérêt qu'avec tous les autres médicaments. Il a été suggéré qu'un ROR supérieur à 4 correspond à une taille d'effet importante [285].

Les résultats de cette étude de disproportionnalité ont montré des ROR significatifs pour la vaste majorité des médicaments déjà connus comme étant pourvoyeur d'ostéoporose en population générale, à savoir les corticostéroïdes, les analogues de la GnRH, les anti-aromatases, les anti-androgènes, les hormones thyroïdiennes, l'insuline, les IPP, les thiazolidinediones, les AVK, les diurétiques de l'anse, les inhibiteurs de la protéase, les inhibiteurs de la transcriptase inverse nucléosidiques et des nucléotidiques, et les antiépileptiques inducteurs enzymatiques. De nouveaux signaux de disproportionnalité avec un mécanisme pharmacologique plausible ont été trouvés pour des médicaments utilisés en neurologie (levodopa, agonistes sélectifs de la sérotonine et mémantine), en hématologie (romiplostim), en pneumologie (macitentan), en ophtalmologie (ranibizumab) et en rhumatologie (tofacitinib). Cet article a été publié dans *Bone* en 2021, doi: 10.1016/j.bone.2021.116137 (**Annexe 1**).

En tenant compte des données de la littérature, de ces résultats et des médicaments susceptibles d'être fréquemment prescrits après transplantation rénale, nous avons sélectionné les médicaments suivants pour explorer notre troisième axe de recherche : les AVK, l'insuline, les

diurétiques de l'anse, les IPP, les opioïdes, les ISRS, les antiépileptiques et les benzodiazépines. Les patients transplantés sont également susceptibles d'être exposés aux hormones thyroïdiennes, comme en population générale. Nous avons analysé cet aspect en prenant en compte un antécédent de dysthyroïdie (hypo ou hyperthyroïdie) afin de tenir compte de l'éventuelle toxicité osseuse des hormones thyroïdiennes (exogènes ou endogènes). Concernant les autres médicaments, très peu de patients, voire aucun en fonction des classes médicamenteuses, n'y étaient exposés.

II. Objectifs

L'objectif principal était d'étudier l'association entre les fractures de fragilité incidentes après transplantation rénale et l'exposition au cours du temps à ces classes médicamenteuses (AVK, insuline, diurétiques de l'anse, IPP, opioïdes, ISRS, antiépileptiques et benzodiazépines). L'objectif secondaire était d'étudier l'association entre les variations des T-scores (au rachis lombaire, à la hanche totale et au poignet) au cours du temps et l'exposition à ces classes de médicaments.

III. Résumé de l'article

Méthodes

Données recueillies

Pour cette étude, les patients ont été inclus entre le 1^{er} janvier 2006 et le 13 février 2019 selon le protocole DeMosTraR, et devaient avoir au moins un an de suivi après la transplantation. La date de fin d'étude était fixée au 31 octobre 2021. Les données utilisées pour cette étude étaient (i) au moment de la transplantation : les facteurs de risque d'ostéoporose, les antécédents d'hypertension artérielle, de dyslipidémie, d'événements cardiovasculaires, les données relatives à la MRC et à la transplantation, les paramètres phosphocalciques, la PAO, l'OCN, la PTH, la 25(OH) vitamine D et la créatinine, (ii) les fractures incidentes pendant toute la période de suivi, (iii) les résultats des T-scores à M1, M12, M24 puis tous les 2 ans (au rachis lombaire, à la hanche totale et au poignet, sauf entre 2006 et 2010, période durant laquelle les résultats de la DXA n'étaient pas disponibles), ainsi que (iv) l'exposition aux classes médicamenteuses d'intérêt pendant toute la période de suivi. Une même

classe médicamenteuse pouvait être prescrite à plusieurs reprises chez un même patient. Toutes les périodes d'exposition aux médicaments ont été considérées.

Analyses statistiques

Concernant l'objectif principal (association entre les fractures incidentes et l'exposition aux médicaments d'intérêt), des modèles de Cox simples avec chaque médicament d'intérêt utilisé comme covariable dépendante du temps ont été utilisés (un modèle de Cox simple par classe médicamenteuse), puis secondairement pondérés sur la probabilité inverse de traitement (IPTW) calculée à partir d'un score de propension (chaque modèle de Cox a été pondéré par classe médicamenteuse). Une analyse de sensibilité a été réalisée en utilisant un modèle de Cox multivariable incluant les médicaments (avec un Hazard Ratio (HR) significatif ($p < 0.05$) des précédents modèles pondérés) comme covariables dépendantes du temps et incluant également les variables à baseline associées aux fractures incidentes ($p < 0.05$). Concernant l'objectif secondaire (association entre les variations des T-scores et l'exposition aux médicaments d'intérêt), des modèles linéaires mixtes ont été utilisés (un modèle pour chaque site de mesure : rachis lombaire, hanche totale et poignet).

Résultats

613 patients ayant eu une transplantation rénale entre le 1^{er} janvier 2006 et le 13 février 2019 répondaient aux critères d'inclusion et ont donc été inclus de façon consécutive dans cette étude. La durée médiane [intervalle interquartile] du suivi était de 4,6 [2,7-10,0] ans. Des fractures incidentes sont survenues chez 63 patients, soit une incidence de 16,9 fractures pour 1000 personnes-années.

L'exposition aux diurétiques de l'anse (HR [intervalle de confiance à 95 %] : 2,11 [1,17-3,79]) et aux opioïdes (HR : 5,94 [2,14-16,52]) était associée aux fractures incidentes. L'exposition aux diurétiques de l'anse était associée à une diminution du T-score au cours du temps au rachis lombaire ($p=0,022$) et au poignet ($p=0,028$). Par ailleurs, l'exposition aux corticostéroïdes n'était pas associée à la survenue de fractures.

IV. Article en cours de reviewing dans la revue *Clinical Kidney Journal*

Drugs associated with incident fragility fractures in kidney transplant recipients

Benjamin Batteux^{1,2,3,4} MD (ORCID ID [0000-0001-9466-7110](https://orcid.org/0000-0001-9466-7110)), Alban Nowak¹, Alice Séjourné³ MD, Clémence Penet³ MD, Kamel Masmoudi¹ MD, François Brazier^{2,5} MD PhD, Solène M. Laville^{1,2} PharmD PhD (ORCID ID 0000-0002-0214-5567), Youssef Bennis^{1,2} PharmD PhD, Valérie Gras-Champel^{1,2} PharmD PhD, Gabriel Choukroun^{2,5} MD PhD, Sophie Liabeuf^{1,2} PharmD PhD

¹ Department of Clinical Pharmacology, Amiens University Medical Center, F-80054 Amiens, France

² MP3CV Laboratory, EA7517, Jules Verne University of Picardie, F-80054 Amiens, France

³ Department of Rheumatology, Saint-Quentin Medical Center, F-02321 Saint-Quentin, France

⁴ RECIF (Réseau d'Epidémiologie Clinique International Francophone), Amiens-Picardie University Medical Center, F-80054 Amiens, France

⁵ Department of Nephrology Internal Medicine Dialysis Transplantation, Amiens University Medical Center, F-80054 Amiens, France

Correspondence: Benjamin Batteux, Department of Clinical Pharmacology, Amiens University Medical Center, Rue du Professeur Christian Cabrol, F-80054 Amiens, France.

Tel.: +33-322-087-995; Fax: +33-322-087-990; E-mail: batteux.benjamin@chu-amiens.fr

WORD COUNT: 5074 / **TABLE COUNT:** 2 / **FIGURE COUNT:** 3

ABSTRACT

Background: The risk of fragility fractures is high in kidney transplant recipients, and steroids are reportedly a major cause. Other drugs known to induce fragility fractures have been studied in the general population but not in kidney transplant recipients. Here, we investigated the association between exposure over time to drugs that can injure bone (namely vitamin K antagonists (VKAs), insulin, loop diuretics, proton pump inhibitors, opioids, selective serotonin reuptake inhibitors, antiepileptics and benzodiazepines) and incident fractures and changes over time in T-scores in this population. **Methods:** 613 consecutive kidney transplant recipients were included between 2006 and 2019. Drug exposures and incident fractures during the study period were comprehensively documented, and dual-energy X-ray absorptiometry was performed regularly. The data were analyzed using both Cox proportional hazards models with time-dependent covariates and linear mixed models. **Results:** Incident fractures occurred in 63 patients, giving a fracture incidence of 16.9 per 1000 person-years. Exposures to loop diuretics (hazard ratio [95% confidence interval]: 2.11 [1.17–3.79]) and opioids (5.94 [2.14–16.52]) were associated with incident fractures. Exposure to loop diuretics was associated with a decrease over time in the T-score for the lumbar spine ($p=0.022$) and for the wrist ($p=0.028$). **Conclusions:** This study suggests that the exposure to loop diuretics and opioids increases the risk of fracture in kidney transplant recipients.

KEY WORDS: CKD-MBD, drugs, fracture, kidney transplantation

INTRODUCTION

Osteoporosis is a whole-body skeletal disease that alters the bone microarchitecture and increases the risk of a fracture (1). Many risk factors for osteoporosis have been identified in the general population. Some are modifiable (such as smoking, alcohol consumption, sedentary lifestyle, and low body mass index (BMI)) and some are not (e.g. sex, age, previous fractures, a family history of osteoporosis, endocrine diseases (Cushing's disease, hypogonadism, hyperparathyroidism, and thyroid disorders) and chronic inflammatory diseases (particularly rheumatoid arthritis) (2). Furthermore, a number of drug classes are known to increase the risk of osteoporosis and thus fractures; they primarily include steroids, gonadotropin-releasing hormone analogs, anti-aromatases, androgen receptor blockers, thyroid hormones, proton pump inhibitors (PPIs), thiazolidinediones, vitamin K antagonists (VKAs), heparins, loop diuretics, antidepressants (particularly selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs)), benzodiazepines, protease inhibitors, nucleoside and nucleotide reverse transcriptase inhibitors, antiepileptics, insulin, and opioids (3).

The vast majority of kidney transplant recipients suffer from chronic kidney disease–mineral and bone disorders (CKD–MBD), as characterized by a range of histological bone lesions referred to collectively as renal osteodystrophy, which develops before transplantation (4). These lesions include osteoporosis, fibrous osteitis (characterized by a high degree of bone turnover and high circulating levels of parathyroid hormone (PTH)), and adynamic bone disease (ABD, characterized by a low degree of bone turnover and low circulating levels of PTH) (5). As a result, the risk of fracture in the first years following kidney transplantation is 4 to 5 times higher in kidney transplant recipients than in the general population (6,7), and 1.3 times higher than in CKD patients (8). The most frequently reported risk factors for incident fragility fractures in kidney transplant recipients are older age, female sex, a low BMI at the time of transplantation, prior fracture, a low BMD at the time of transplantation, diabetes mellitus at the time of transplantation, a sedentary lifestyle, time on dialysis before transplantation, the urine protein-to-creatinine ratio at the time of transplantation, the etiology of

CKD (namely glomerulonephritis and hypertension), and HLA-DR mismatch (9). Steroids are the main drugs associated with the occurrence of fractures and the decrease in BMD in the first few years after kidney transplantation (10,11). In the general population, the use of other drugs might be associated with fractures, through a direct, weakening effect on bone or an indirect effect through hypotension and thus a greater risk of falls. However, with the exception of steroids, the drugs that might induce fragility fractures in kidney transplant recipients have not been studied.

Hence, the primary objective of the present study was to investigate the possible association between incident fragility fractures following kidney transplantation and exposure to drug classes that are (i) known to induce osteoporosis in the general population and (ii) frequently prescribed (in addition to steroids) after kidney transplantation (namely VKAs, insulin, loop diuretics, PPIs, opioids, SSRIs, antiepileptics, and benzodiazepines). The secondary objective was to investigate the possible association between changes over time in T-scores and exposure to drug classes associated with incident fractures.

METHODS

Study design and participants

We performed a retrospective, longitudinal study of a cohort of adult patients (aged 18 and over) having undergone kidney transplantation at Amiens University Medical Center (Amiens, France) between January 1st, 2006, and December 31st, 2019. The study end date was October 31st, 2021, or (for kidney transplant recipients patients having resumed dialysis) the dialysis resumption date. Kidney transplant recipients were not included in the study if they had less than one year of follow-up after transplantation. If a patient received more than one kidney transplants during the study period, only the first was considered. If a patient had received one or more kidney transplants before the study period and a further transplant in the study period, only the last transplant was considered. On the transplantation day, the patients underwent an extensive laboratory workup including serum calcium,

phosphate, 25(OH) vitamin D, osteocalcin, bone alkaline phosphatase (BAP) and PTH assays. The post-transplantation follow-up was standardized: extensive medical check-ups were performed 1 month and 4 months after transplantation and then annually. At each check-up, all medical events having occurred since the previous check-up were exhaustively documented. One month after transplantation, one year after transplantation and then every 2 years, each patient underwent a CT scan of the abdomen and pelvis and DXA. The same bone densitometry system (Hologic Discovery System, Hologic Inc., Waltham, MA, USA) was used for all DXA measurements. Lastly, the patients could consult their usual nephrologist between scheduled study visits, if needed.

Collected data

The variables recorded at baseline included osteoporosis risk factors (age, sex, BMI, ethnic group, alcohol consumption, smoking, thyroid disorders, rheumatoid arthritis, other autoimmune/inflammatory diseases, diabetes mellitus, primary and secondary hyperparathyroidism, sedentary lifestyle, and previous fractures), arterial hypertension, dyslipidemia, any history of cardiovascular events, data related to CKD and transplantation (the etiology of CKD, any previous transplantations, time on hemodialysis before transplantation, preemptive transplantation, peak panel-reactive antibodies (PRAs), donor-specific antibodies (DSAs), crossmatching results, and induction therapy), and laboratory variables (serum calcium, phosphate, BAP, osteocalcin, PTH, 25(OH) vitamin D, and creatinine).

The variables recorded during the follow-up (from the transplantation date to the end date) included drug exposure, incident fractures and DXA data. Data on all prescription drugs (whether prescribed by a nephrologist or not) were extracted from the patient's medical records (a computerized prescription form, in the vast majority of cases): drug classes, and start and end dates for steroids, VKAs, insulin, loop-diuretics, PPIs, opioids, SSRIs, antiepileptics, benzodiazepines, vitamin D, calcium and

bisphosphonates. When a patient had received the same drug class intermittently during the follow-up, all periods of drug exposure were documented.

Incident fractures were documented from medical records and from CT scans of the abdomen and pelvis. T-scores for the lumbar spine (from vertebra L1 to vertebra L4), total hip, and wrist (i.e. the distal radius) were collected from the DXA measurements performed one month, one year and then every 2 years after transplantation. Unfortunately, DXA data were not available between 2006 and 2010; this prevented us from evaluating the study's secondary endpoints in a portion of the study population.

Immunosuppressive regimens

Since March 2016, kidney transplant recipients with a low immunological risk (defined as a peak panel-reactive antibody <20%) being treated in the Department of Nephrology at Amiens University Medical Center have discontinued their corticosteroid treatment on day 7 post-transplantation. The treatment consisted of a bolus of methylprednisolone (500 mg) at the time of transplantation, followed by oral prednisolone (20 mg/day for 4 days and then 10 mg/day for 3 days). The patients had received induction therapy with basiliximab and maintenance therapy with mycophenolate mofetil plus tacrolimus or mycophenolate mofetil plus cyclosporine, depending on the risk of developing type 2 diabetes mellitus or exacerbating preexisting diabetes. These patients could resume corticosteroid therapy for various reasons. Before March 2016, all patients (regardless of the immunological risk) received the same long-term corticosteroid treatment, consisting of a bolus of methylprednisolone (500 mg) at the time of transplantation and then oral prednisolone (20 mg/day, with a gradual dose reduction to between 5 and 10 mg/day by M3).

Statistical methods

In a descriptive analysis, categorical variables were expressed as the number (percentage), and continuous variables were expressed as the mean \pm standard deviation (SD), the median [interquartile range (IQR)], or the median (range), depending on the data distribution. The Shapiro-Wilk test was used to determine whether or not data were normally distributed. In bivariate analyses comparing groups (i.e. with a incident fracture or not), continuous variables were compared using Student's t test or a Wilcoxon's rank sum test (depending on the data distribution), and categorical variables were compared using a chi-square test or Fisher's exact test.

The proportion of missing data was very low (0.8%) for baseline serum PTH, osteocalcin, BAP and 25(OH) vitamin D. In order to identify patients with ABD, we performed multiple imputation for these variables with the fully conditional specification method (10 datasets and 10 iterations), using the patients' characteristics in **Table 1** (12). The data patterns suggested that the assumption whereby data were missing at random was plausible.

Cox proportional hazards models with time-dependent covariates were used to assess the associations between incident fractures and drug exposure. We chose these models because drug exposure could be discontinuous. Hence, in simple analyses, a Cox proportional hazards model was built for each drug class of interest and the corresponding exposure periods. The survival time was right-censored if the event (the fracture) was not observed in patients still being followed up when the data were collected, those lost to follow-up, those having resumed dialysis, or deceased patients. In multivariable analyses, each previous model had been fitted with inverse probability treatment weighting (IPTW) based on a propensity score (PS). The rationale for using Cox proportional hazards models fitted with IPTW (rather than osteoporosis and/or fracture risk factors) is that the number of events (fractures) per predictor variable (osteoporosis and/or fracture risk factors and drugs of interest) was below 10; this would have caused over-fitting in the latter model. Another advantage of IPTW is that the probability distribution for receiving a given drug was similar in the weighted population. The PS was calculated using a logistic

regression model. Treatment assignment (the use or not of each drug of interest) was regressed against baseline variables associated with fractures ($p < 0.2$) and against variables associated with the use of each drug of interest ($p < 0.2$); it is advisable to include covariates with prognostic value (i.e. those related to outcomes, i.e. fractures) and confounding covariates (i.e. those related to the use of the drugs of interest) (13). Thus, twelve PSs were produced – one for each drug of interest (steroids, VKAs, insulin, loop-diuretics, PPIs, opioids, SSRIs, antiepileptics, benzodiazepines, vitamin D, calcium, and bisphosphonates). The PSs were balanced by excluding counterfactuals, when required. Next, the PS distributions were evaluated using a kernel density plot (**supplemental Figure S1**). Lastly, the balance of each PS was assessed by examining the standardized mean differences (**supplemental Figures S2-13**). Next, Cox proportional hazards models with IPTW and time-dependent covariates were built for each drug of interest. We always checked that the models' validity conditions (and the proportional hazards assumption in particular) were met. The main limitation of this approach is that only one drug class of interest can be included per model and so only one PS per drug class can be calculated; this prevented us from building a single Cox proportional hazards model for fitting all drug classes with a significant hazard ratio (HR). Hence, in a sensitivity analysis, we built a Cox proportional hazards model with drugs as time-dependent covariates fitted for the more relevant osteoporotic fracture risks ($p < 0.05$ in the bivariate comparison of fracture and no-fracture groups) and the drugs of interest with a significant HR ($p < 0.05$) in simple Cox proportional hazards models. In order to limit the number of variable included in this model and to take account of the renal osteodystrophy, patients with PTH < 150 pg/ml (positive predictive value for ABD: 97%) and BAP < 10 ng/ml (which can further bolster the diagnosis of ABD, as it is 100% sensitive and 93.7% specific) were classified as having ABD (14).

Linear mixed models (LMMs) were built to assess the influence of drugs (with a significant HR ($p < 0.05$) in simple Cox proportional hazards models) on changes over time in T-scores. A multivariable LMM was built for each of the three T-score measurement sites (lumbar spine, total hip, and wrist). For each model, within-individual variance and between-individual variance were estimated using an

unstructured matrix with random intercepts and slopes. To check on the relevance of using these random effects, we calculating the restricted maximum likelihood for models with two, one or none of the effects. The most relevant osteoporosis risk factors (age, sex, BMI, smoking, alcohol consumption, thyroid disorders, previous fracture, rheumatoid arthritis, other inflammatory autoimmune diseases, diabetes mellitus, sedentary lifestyle, and the type of renal osteodystrophy) and drugs with a significant HR ($p < 0.05$) in simple Cox proportional hazards models were considered as fixed effects in the models. Furthermore, interaction terms (time x each drug of interest) were created to assess whether changes over time in T-scores differed significantly as a function of drug exposure (defined as the duration of exposure to a given drugs between two documented DXA measurements). Thus, patients were included in these analyses if they had a DXA measurement 1 month after kidney transplantation and another during the follow-up period. We checked that the conditions for a valid LMMs were met, namely the normal distribution of residuals, the absence of multicollinearity, the normal distribution of random variable variances, and the independence between random variables and residuals.

Given their long bone half-life of bisphosphonates and their prolonged post-treatment effectiveness (15,16), we considered that these drugs were effective for one year after discontinuation.

All analyses were performed using R software (version 4.0.5, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

Ethical aspects

In line with the French legislation on retrospective analyses of routine clinical practice, patients were not required to give their informed consent. On admission to hospital, however, patients could refuse the use of their medical data for research purposes. The study protocol was approved by an institutional committee with competency for studies not requiring approval by an investigational

review board and was registered with the French National Data Protection Commission (*Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés*, Paris, France; reference: PI2019_843_0055.)

RESULTS

Study population

Six hundred and thirteen consecutive patients having received a kidney transplant between January 1st, 2006, and February 13th, 2019, met the inclusion criteria and so were included in the present study. Of these, 387 (63.1%) were men. The mean \pm SD age of the study population at the time of transplantation was 49.9 ± 13.2 . The most common indication for kidney transplantation was glomerulonephritis (29.0%). Twenty-five (4.1%) recipients had a preemptive transplantation and 588 (95.9%) were on dialysis before transplantation with a median time [interquartile range] on dialysis of 27.5 [16.6–46.7] months before transplantation (**Table 1**).

The median [IQR] length of follow-up was 4.6 [2.7–10.0] years. Sixty-three (10.3%) patients had at least one incident fracture, seven (1.1%) patients had at least two incident fractures during the study, one patient had three different incident fractures and one patient had six incident fractures at various times. The median [IQR] time to the first fracture was 4.0 [1.8–5.1] years. The fracture incidence was 16.9 per 1000 person-years.

The baseline characteristics significantly associated with incident fractures were older age ($p < 0.001$), female sex ($p = 0.045$), thyroid disorders ($p < 0.001$), previous fracture ($p = 0.033$), serum BAP ($11.9 [7.9–18.9] \mu\text{g/L}$ in the fracture group vs. $12.4 [8.5–19.85] \mu\text{g/L}$ in the no-fracture group, $p = 0.011$), serum osteocalcin ($120 [38.8–321.0] \text{ ng/mL}$ in the fracture group vs. $151 [25.0–336.0] \text{ ng/mL}$ in the no-fracture group, $p < 0.001$), serum PTH ($84 [13.85–356.0] \text{ pg/mL}$ in the fracture group vs. $190.2 [30.0–$

475.0] pg/mL in the no-fracture group, $p < 0.001$), serum creatinine (69.0 ± 24.4 mg/L in the fracture group vs. 79.9 ± 27.4 mg/L in the no-fracture group, $p = 0.001$) (**Table 1**).

Forty-two of the 63 patients with a incident fracture had DXA data in the year before or after the fracture: these patients were more likely to have osteopenia at the lumbar spine (46.3%), total hip (72.2%) or any site (47.6%) and osteoporosis at the wrist (35.9%) (**Figure 1**).

In a subgroup of recipients ($n = 433$) for whom DXA data at 1 month after transplantation was available, DXA data was available for 429 recipients (including 38 patients with a fracture) at the lumbar spine, 380 recipients (including 30 patients with a fracture) at the total hip and 413 recipients (including 37 patients with a fracture) at the wrist. One month after transplantation, T-score (\pm SD) at lumbar spine was associated with incident fractures (-1.0 ± 1.4 in the fracture group vs. -0.5 ± 1.5 in the no-fracture group, $p = 0.040$), as well as T-score at total hip (-1.3 ± 0.9 in the fracture group vs. -0.9 ± 1.1 in the no-fracture group, $p = 0.013$), and T-score at wrist (-1.5 ± 1.8 in the fracture group vs. -0.7 ± 1.6 in the no-fracture group, $p = 0.040$).

Associations between incident fractures and drug exposure

In simple Cox proportional hazards models with drug exposures as time-dependent covariates, exposures to VKAs (HR [95% confidence interval (CI)]: 2.23 [1.17–4.25]), loop diuretics (2.36 [1.41–3.95]) and opioids (3.24 [1.35–7.80]) were significantly associated with incident fractures, whereas the use of steroids (0.64 [0.25–1.62]) or bisphosphonates (1.62 [0.85–3.10]) was not (**Figure 2**).

In Cox proportional hazards models adjusted for the PS (one PS per drug class and thus one adjusted Cox proportional hazards model per drug class), exposures to loop diuretics (HR: 2.11 [1.17–3.79]) and opioids (5.94 [2.14–16.52]) were still significantly associated with incident fractures. In contrast, exposure to VKAs showed a non-significant trend after this adjustment (HR: 1.94 [0.93–4.01]) (**Figure 2**).

In multivariable Cox proportional hazards model including exposures to VKAs, loop diuretics and opioids as time-dependent covariates and baseline characteristics associated with incident fractures (with $p < 0.05$), exposures to VKAs (HR : 1.84 [1.02–3.49]), loop diuretics (1.56 [1.04–2.57]) and opioids (3.05 [1.19–7.80]) were associated with incident fractures, as were age (1.08 [1.05–1.11]) and thyroid disorders (2.69 [1.25–5.80]) (**Figure 3**).

Associations between changes over time in the T-scores and drug exposures

The numbers of patients with DXA data 1 month after transplantation and at least once thereafter were 411 (67.0%) for the spine, 359 (58.6%) for the total hip, and 387 (63.1%) for the wrist.

In the multivariable LMMs including loop diuretic, VKA, opioid, steroid and bisphosphonate exposure times and baseline osteoporosis risk factors, exposure to loop diuretics was significantly and negatively correlated with changes over time in the T-score for the lumbar spine (t-value = -2.288, $p = 0.022$) and for the wrist (t-value = -2.195, $p = 0.028$, **Table 2**). Incorporation of the interaction term (time x loop-diuretics) as a fixed effect showed that in the absence of loop-diuretic exposure, the T-scores increased significantly more for the lumbar spine (t-value = 2.056, $p = 0.040$) and for the wrist (t-value = 1.992, $p = 0.047$). Opioid or VKA exposures did not influence changes over time in the T-score. The baseline osteoporosis risk factors that were significantly and negatively correlated with changes over time in T-scores were age (t-value = -2.688, $p = 0.007$) for the lumbar spine, male sex (t-value = -3.884, $p < 0.001$) and ABD (t-value = -2.007, $p = 0.045$) for the wrist, thyroid disorders (t-value = -2.912, $p = 0.004$) for the total hip, and BMI ($p < 0.001$) for all three sites.

DISCUSSION

Knowledge of the modifiable factors associated with the fracture risk after kidney transplantation is essential for the choice of an appropriate treatment. After kidney transplantation, the recipients have

a high drug therapy burden. Some of these drugs have significant effects on bone loss and the fracture risk. The main finding of the present study of a longitudinal cohort of kidney transplant recipients was that exposures to loop diuretics, VKAs and opioids were associated with incident fragility fractures. To the best of our knowledge, the present study is the first to have addressed the risk of fragility fractures induced by drugs other than steroids after kidney transplantation. Furthermore, exposure to loop diuretic was significantly and negatively correlated with changes over time in the T-score.

Our various analyses suggested that kidney transplant recipients treated with loop diuretics have a greater fracture risk and a lower BMD. In the general population, loop diuretics are known to harm bone and induce fractures. In a study of a cohort of elderly men, total hip BMD was lower in loop diuretic users than in nonusers (17); the same result was found in a cross-sectional study of elderly women (18). The greater risk of fracture in patients treated with loop diuretics was highlighted in Rejnmark *et al.*'s population-based pharmaco-epidemiologic case-control study of 258,810 patients (odds ratio (OR) [95%CI]: 1.16 [1.10–1.23]) (19) and, more recently, in Bokrantz *et al.*'s longitudinal study of a cohort of 59,246 patients (HR [95%CI]: 1.23 [1.11–1.35]) (20). One possible explanation for this elevated risk is that loop diuretics increase renal calcium excretion and thus affect calcium homeostasis and bone metabolism. Rejnmark *et al.* studied the effects of loop diuretics and thiazide diuretics on calcium homeostasis, calcitropic hormones and bone markers in postmenopausal women with lumbar spine osteopenia (21). Compared with the thiazide diuretic group, renal calcium excretion and the serum PTH, 1,25(OH)₂ vitamin D and osteocalcin levels were significantly greater and the serum BAP level was significantly lower in the loop diuretic group. Other possible (indirect) explanations for the elevated fracture risk with loop diuretics relate to peripheral edema, heart failure, the decrease in blood volume, the induction of arterial hypotension, and thus a greater risk of falls (22). However, the latter explanation can be challenged; several studies have found that by decreasing renal calcium excretion (21), thiazide diuretics were significantly associated with a lower serum osteocalcin level (23), greater BMD (23), and a lower fracture risk (even though thiazide diuretics also induce arterial hypotension) (20). However, other studies did not find a significantly greater BMD (24)

or a significantly lower fracture risk (25) in patients taking thiazide diuretics. In kidney transplant recipients, further clinical studies are necessary to determine whether the use of thiazide diuretics is preferable to loop diuretics with respect to fracture risk.

We found that VKA exposure tended to be associated with incident fractures. In the general population, Gage *et al.* observed a higher risk of fractures in patients exposed to VKAs for more than a year (OR [95%CI]: 1.25 [1.06–1.48]). In contrast, a significant elevation in risk was not observed in patients exposed for less than one year (26). Caraballo *et al.*'s study corroborated Gage *et al.*'s results: the standardized incidence ratio [95%CI] for vertebral fractures increased with the duration of VKA exposure: 2.4 [1.6–3.4] for less than 3 months of exposure, 3.6 [2.5–4.9] for 3 to 12 months of exposure, and 5.3 [3.4–8.0] for more than 12 months of exposure (27). One possible explanation for this finding is that the use of VKAs results in under-carboxylation of osteocalcin, which cannot then incorporate calcium into the ground substance. In fact, carboxylated osteocalcin contains three residues of gammacarboxyglutamic acid formed by the vitamin K-dependent posttranslational modification of glutamic acid residues (28). We did not observe an association between VKA exposure and low BMD; this is generally in line with the results of prospective studies of older women (29) and older men (30) not having undergone kidney transplantation. Only one case-control study of 70 patients evidenced low BMD in non-transplanted patients on long-term warfarin therapy (31). A recent meta-analysis showed that users of direct oral anticoagulants indicated for atrial fibrillation had a lower fracture risk (risk ratio [95%CI]: 0.80 [0.70-0.91]) than VKA users (32). This finding is in line with the results of a meta-analysis of randomized, controlled trials (risk ratio [95%CI]: 0.82 [0.73-0.93]) (33), and the results of some (34,35) but not all (36) retrospective cohort studies. Here again, in kidney transplant recipients, further clinical studies are necessary to compare the risk of fracture in VKA users and in direct oral anticoagulant users.

Lastly, we found that opioid exposure was associated with incident fractures in our cohort of kidney transplant recipients. In the general population, Vestergaard *et al.*'s nationwide register-based study

of 498,617 patients found an elevated fracture risk in opioid users (37). This finding is in line with the results of a prospective study in older women (HR [95%CI]: 1.40 [1.06-1.83]) (38) and those of a study of a cohort of patients with Alzheimer disease (HR [95%CI]: 1.96 [1.27–3.02]) (39). One possible explanation is that the opioids' effects on the central nervous system (including sedation and dizziness) increase the risk of falls (37). Moreover, opioids inhibit (through mu-opioid receptors) the secretion of gonadotropin-releasing hormone and reduce the release of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone, leading to secondary hypogonadism and low testosterone levels. In addition to this central mechanism of action, opioids stimulate 5-alpha-reductase – the enzyme that breaks down testosterone into dihydrotestosterone – and thus further reduce the bioavailability of testosterone in the serum (40). Hence, several studies have evidenced low BMD in opioids users; however, these were all cross-sectional studies that included patients with opioid dependence (40). The present study did not evidence an association between opioid exposure and changes over time in BMD. Taken as a whole, these data suggest that the most likely fracture mechanism in our study population was an elevated risk of falls.

A very recent retrospective, population-based study in Korea focused on risk factors for incident fractures in hemodialysis patients, peritoneal dialysis patients, and kidney transplant recipients. The researchers also assessed the association between fractures and the use of certain medications (steroids, vitamin D and its analogs, phosphate binders, anti-osteoporotic medications, anti-depressants, opioids, and gabapentinoids) but (in contrast to our study) only at baseline (defined by at least 30 days of prescriptions filled in the year preceding the index date) and not over time. For the study population as a whole (and not specifically the subset of kidney transplant recipients) Kim *et al.* observed (i) a significant positive association between the incidence of incident fractures and the use of steroids, anti-osteoporotic medications, anti-depressants, opioids, and gabapentinoids at baseline, and (ii) a significant negative (protective) association between the incidence of incident fractures and the use of vitamin D and phosphate binders at baseline (41).

Treatment with immunosuppressive drugs (and particularly steroids) is reportedly a major cause of bone loss in the months following kidney transplantation. We have already highlighted the positive effect on bone (in terms of BMD gain) of early steroid withdrawal one year after kidney transplantation (11). Nikkel *et al.* reported that the long-term fracture risk was lower in patients with early steroid withdrawal than in patients on corticosteroid-based immunosuppression (10). In contrast, Evenepoel *et al.* did not evidence an association between the cumulative steroid dose and incident fractures (43). In the present study, steroid exposure was not associated with incident fractures; this was probably due to a lack of statistical power because very few study participants were not on long-term steroid therapy.

With regard to anti-osteoporotic drugs, we observed a positive effect of bisphosphonates on changes over time in the T-score for the wrist but did not evidence protective effects of calcium, vitamin D or bisphosphonates on incident fractures. Our results are in line with the literature data. With regard to bisphosphonates, most of the relevant studies (including meta-analyses) have found that the use of bisphosphonates by kidney transplant recipients is associated with a BMD gain (44–46) but not with a lower risk of incident fractures (44–46). Concerning vitamin D, a recent study did not find an increase in BMD after 2 years of vitamin D supplementation (47); this is also consistent with the literature data (48). On the same lines, there is no evidence to suggest that vitamin D supplementation reduces the fracture risk (48). Moreover, a recent publication by the American College of Nephrology emphasized the lack of studies of the effectiveness of vitamin D supplementation on fracture prevention (48). In the present study, however, a lack of statistical power probably prevented us from seeing an effect of vitamin D supplementation on incident fractures; very few study participants were not exposed to this drug class.

Our study had several strengths and several limitations. The use of Cox proportional hazards models with time-dependent covariates and LMMs enabled us to take periods of drug exposure in account; simply dichotomizing the participants as "exposed" or "not exposed" during the study period would

have led to a loss of information and would not have reflected real-life clinical practice. However, a lack of statistical power prevented us from building a multivariable Cox proportional hazards models that included all known osteoporosis risk factors, thus, residual confounding cannot be ruled out. Another strength was our comprehensive collection of data in general and data on drug exposure periods in particular, since all the patients' prescriptions were available for analysis. Although we cannot be sure that all the study participants were fully compliant, poor compliance would be unlikely for loop diuretics and VKAs, notably. Moreover, we did not have data on the drugs' dose levels and regimen; this preventing us from analyzing cumulative doses. Another strength was the very low proportion of missing data, for which we nevertheless performed multiple imputations using a validated method. Despite our consideration of the vast majority of osteoporosis risk factors, we found that menopausal status and the presence or absence of a family history of osteoporosis were poorly documented in the participants' medical records and so were not included in our analyses. Modifiable osteoporosis risk factors (such as BMI, smoking, alcohol consumption, and a sedentary lifestyle) were considered at baseline only; any subsequent changes over time were not considered. Furthermore, the lack of literature data dissuaded us from considering possible persistent drug effects (with the exception of bisphosphonates) after discontinuation; this lack of consideration might have led to falsely positive (protective) results for certain drug classes. For example, a fracture that occurred after drug discontinuation (but while the drug's toxic effects on bone were still present), was not recorded as in the exposure period of this drug). Although we did not observe these events, it is still possible that the toxic effect of certain drug classes was underestimated for this reason. Furthermore, we might not have comprehensively identified all incident fractures and particularly asymptomatic high or middle thoracic vertebral fractures. Indeed, some lumbar or low thoracic vertebral fractures were documented incidentally on the CT scans of the abdomen and pelvis performed every 2 years. On these scans, however, the vertebrae were only visible up to Th7 or Th8. It is much less likely that all non-vertebral fractures were not identified, since they would have been symptomatic fractures documented at all annual check-ups. Moreover, renal osteodystrophy (defined from biological

parameters) was only considered at baseline but not over time. Other study limitations included loss-to-follow-up bias and competition bias in the Cox models, since we right-censored deceased patients. Lastly, other limitations were related to the study's observational, retrospective, single-center design; this prevented us from forming comparable groups and from generalizing our results.

CONCLUSION

In a study of a cohort of kidney transplant recipients with long-term follow-up, we found that exposures to loop diuretics, VKAs and opioids were associated with incident fragility fractures. Further clinical studies are necessary to assess the fracture risk of other drug classes (e.g. thiazide diuretics and direct oral anticoagulants) that may be less harmful for bone.

TABLES

Table 1: Baseline characteristics of the study population

Baseline characteristics	Total N = 613	No-fracture group N = 550	Fracture group N = 63	P-value	Imputed data N = 613
Osteoporosis risk factors					
Age (years)	49.9 ± 13.2	48.9 ± 13.2	58.3 ± 10.5	<0.001	0%
Sex					0%
Female	226 (36.9)	195 (35.5)	31 (49.2)	0.045	
Male	387 (63.1)	355 (64.5)	32 (50.8)		
BMI (kg/m ²)	25.5 ± 4.2	25.4 ± 4.2	26.2 ± 4.3	0.150	0%
Ethnic group					0%
Caucasian	574 (93.6)	511 (92.9)	63 (100)	0.092	
Black	37 (6.0)	37 (6.7)	0		
Other	2 (0.3)	0	0		
Alcohol consumption	48 (7.8)	44 (8.0)	4 (6.3)	0.830	0%
Smoking					0%
Never	315 (51.4)	278 (50.5)	37 (58.7)	0.069	
Past	171 (27.9)	151 (27.3)	20 (31.7)		
Current	127 (20.7)	121 (22.0)	6 (9.5)		
Thyroid disorders	35 (5.7)	25 (4.5)	10 (15.9)	<0.001	0%
Diabetes mellitus	93 (15.2)	82 (14.9)	11 (17.5)	0.727	0%
Rheumatoid arthritis	6 (1.0)	5 (0.9)	1 (1.6)	1.000	0%
Other autoimmune diseases	32 (5.2)	28 (5.1)	4 (6.3)	0.900	0%
Sedentary lifestyle	125 (20.4)	108 (19.6)	17 (27.0)	0.228	0%
Previous fracture	79 (12.9)	65 (11.8)	14 (22.2)	0.033	0%
Type of baseline renal osteodystrophy					
Adynamic bone disease	95 (15.5)	83 (15.1)	12 (19.0)	0.523	0%
Other renal osteodystrophy	518 (84.5)	467 (84.9)	51 (81.0)		0%
Other clinical data					
Arterial hypertension	524 (85.5)	469 (85.3)	55 (87.3)	0.807	0%
Dyslipidemia	336 (54.8)	298 (54.2)	38 (60.3)	0.428	0%
History of cardiovascular event	154 (25.1)	136 (24.7)	18 (28.6)	0.608	0%
CKD and kidney transplantation data					
Etiology of CKD				0.830	0%
Glomerulonephritis	178 (29.0)	164 (29.8)	14 (22.2)		
Hereditary disease	114 (18.7)	98 (17.7)	16 (25.4)		
Polycystic kidney disease	106 (17.3)	91 (16.5)	15 (23.8)		
Renal and urinary tract malformations	70 (11.4)	61 (11.1)	9 (14.3)		
Hypertensive kidney disease	43 (7.0)	38 (6.9)	5 (7.9)		
Diabetic kidney disease	51 (8.3)	46 (8.4)	5 (7.9)		
Interstitial nephritis	26 (4.2)	24 (4.4)	2 (3.2)		
Vascular nephropathy	28 (4.6)	24 (4.4)	4 (6.3)		
Indeterminate	72 (11.7)	67 (12.2)	5 (7.9)		
Other	31 (5.1)	28 (5.1)	3 (4.8)		
Time on dialysis before transplantation (months)	N' = 588 27.5 [16.6–46.7]	N' = 529 26.7 [16.6–45.9]	N' = 59 34.1 [17.0–57.3]	0.238	0%

Previous kidney transplantation	79 (12.9)	69 (12.5)	10 (15.9)	0.584	0%
Preemptive transplantation	25 (4.1)	21 (3.8)	4 (6.3)	0.531	0%
Peak PRAs					0%
<20%	496 (80.9)	441 (80.2)	55 (87.3)	0.576	
20–80%	81 (13.2)	75 (13.6)	6 (9.5)		
> 80%	35 (5.7)	33 (6.0)	2 (3.2)		
DSAs					0%
No	598 (97.6)	537 (97.6)	61 (96.8)	0.919	
Previous	8 (1.3)	7 (1.3)	1 (1.6)		
Current	7 (1.1)	6 (1.1)	1 (1.6)		
Positive crossmatch	15 (2.4)	14 (2.5)	1 (1.6)	0.971	0%
Cinacalcet use before transplantation	128 (20.9)	118 (21.5)	10 (15.9)	0.385	0%
Deceased donor	571 (93.1)	511 (92.9)	60 (95.2)	0.667	0%
Laboratory data at the time of transplantation					
Serum calcium (RV: 84.0–104.4 mg/l)	92.6 ± 8.0	92.6 ± 8.4	93.8 ± 8.0	0.323	0%
Serum phosphate (RV: 24.8–44.9 mg/l)	45.0 ± 14.9	45.3 ± 14.6	42.5 ± 15.5	0.192	0%
Bone alkaline phosphatase (RV: 5.5–24.6 µg/l)	12.3 [8.4–19.8]	12.4 [8.5–19.85]	11.9 [7.9–18.9]	0.011	13.7%
Osteocalcin (RV: 4.6–65.4 ng/ml)	146 [48.9–333.0]	151 [25.0–336.0]	120 [38.8–321.0]	< 0.001	20.7%
PTH (RV: 18.5–88.0 pg/ml)	177 [26.0–470.0]	190.2 [30.0–475.0]	84 [13.85–356.0]	< 0.001	16.2%
25(OH) vitamin D (RV: 30.0–80.0 ng/l)	30.9 [19.0–41.0]	31 [19–40.6]	28.75 [17.0–45.0]	0.482	6.7%
Serum creatinine of preemptive transplantations (RV: 6.0–11.0 mg/l)	N' = 25 61.6 ± 15.4	N' = 21 64.7 ± 14.9	N' = 4 46.8 ± 7.9	0.008	0%
Induction therapy					
Basiliximab	381 (62.2)	340 (61.8)	41 (65.1)	0.713	0%
Thymoglobulin	225 (36.7)	204 (37.1)	21 (33.3)		0%
IVIg	17 (2.8)	16 (2.9)	1 (1.6)	0.841	0%

Continuous variables are quoted as the mean ± standard deviation or the median [interquartile range], depending on the data distribution, and categorical variables are quoted as the number (percentage).

BMI, body mass index; CKD, chronic kidney disease; DSA, donor-specific antibody; IVIg, intravenous immunoglobulins; PPI, proton pump inhibitor; PRA, panel-reactive antibody; PTH, parathyroid hormone; RV: reference values; SSRI, selective serotonin reuptake inhibitor; VKA, vitamin K antagonist.

Table 2: Effects of loop diuretic, VKA, opioid, steroid and bisphosphonate exposure times and baseline osteoporosis risk factors on T-scores, as found in a multivariable linear mixed model

Fixed effects	Lumbar spine N = 411			Total hip N = 359			Wrist N = 387		
	Estimate ± SEE	t-value	P-value	Estimate ± SEE	t-value	P-value	Estimate ± SEE	t-value	P-value
Time	0.02859 ± 0.02559	1.117	0.264	-0.0319 ± 0.01686	-1.892	0.058	-0.14886 ± 0.0289	-5.150	<0.001
Age	-0.03446 ± 0.14222	-0.242	0.809	-0.27406 ± 0.10196	-2.688	0.007	-0.17976 ± 0.166	-1.083	0.279
Male (ref. = female)	-0.18405 ± 0.14595	-1.261	0.207	0.08893 ± 0.10539	0.844	0.399	-0.66461 ± 0.17113	-3.884	<0.001
BMI	0.73113 ± 0.13789	5.302	<0.001	0.80224 ± 0.09974	8.043	<0.001	0.51639 ± 0.16073	3.213	0.001
Smoking	-0.10471 ± 0.1362	-0.769	0.442	-0.03304 ± 0.09779	-0.338	0.735	0.22357 ± 0.1598	1.399	0.162
Alcohol consumption	-0.47046 ± 0.25939	-1.814	0.070	-0.27767 ± 0.17915	-1.550	0.121	-0.32826 ± 0.29266	-1.122	0.262
Thyroid disorders	-0.40427 ± 0.28787	-1.404	0.160	-0.58548 ± 0.20108	-2.912	0.004	-0.17573 ± 0.3417	-0.514	0.607
Previous fracture	-0.31167 ± 0.20789	-1.499	0.134	-0.53382 ± 0.15567	-3.429	0.001	-0.44573 ± 0.24504	-1.819	0.069
Rheumatoid arthritis	-0.53973 ± 0.62402	-0.865	0.387	-0.77585 ± 0.42403	-1.830	0.067	-0.32842 ± 0.80357	-0.409	0.683
Other autoimmune diseases	-0.12346 ± 0.28397	-0.435	0.664	0.03044 ± 0.20476	0.149	0.882	-0.05687 ± 0.34095	-0.167	0.868
Diabetes mellitus	0.38109 ± 0.18453	2.065	0.039	-0.11482 ± 0.13535	-0.848	0.396	0.28076 ± 0.2165	1.297	0.195
Sedentary lifestyle	-0.08966 ± 0.16611	-0.540	0.589	-0.22967 ± 0.12296	-1.868	0.062	-0.32354 ± 0.19357	-1.671	0.095
ABD (ref. = other ROD)	-0.25402 ± 0.19781	-1.284	0.199	-0.27635 ± 0.14481	-1.908	0.056	-0.46572 ± 0.2321	-2.007	0.045
Loop diuretics	-0.00046 ± 0.0002	-2.288	0.022	-0.0004 ± 0.00026	-1.546	0.122	-0.00055 ± 0.00025	-2.195	0.028
VKAs	0.00025 ± 0.00042	0.603	0.546	-0.00006 ± 0.00017	-0.356	0.722	0.00017 ± 0.00033	0.515	0.607
Opioids	0.00082 ± 0.00079	1.034	0.301	0.00007 ± 0.00033	0.201	0.840	-0.00003 ± 0.00058	-0.044	0.965
Bisphosphonates	0.00035 ± 0.00026	1.331	0.183	0.00016 ± 0.00021	0.776	0.438	-0.00055 ± 0.00032	-1.709	0.087
Steroids	-0.00028 ± 0.00011	-2.604	0.009	-0.00011 ± 0.00006	-1.819	0.069	-0.00026 ± 0.00011	-2.388	0.017

Time* Loop diuretics	0.00009 ± 0.00004	2.056	0.040	0.00005 ± 0.00007	0.728	0.467	0.00009 ± 0.00005	1.992	0.047
Time*VKAs	0.00005 ± 0.00012	0.369	0.712	-0.00005 ± 0.00004	-1.323	0.186	-0.00007 ± 0.00007	-1.101	0.271
Time*Opioids	-0.00004 ± 0.00021	-0.204	0.838	0.00006 ± 0.00007	0.893	0.372	0.00003 ± 0.00013	0.233	0.815
Time*Bisphosphonates	0.00004 ± 0.00005	0.814	0.415	0.00004 ± 0.00005	0.849	0.396	0.00016 ± 0.00007	2.414	0.016
Time*Steroids	-0.00002 ± 0.00003	-0.565	0.572	0.00004 ± 0.00002	1.562	0.118	0.00011 ± 0.00004	2.940	0.003
Random effects	Variance ± SEE			Variance ± SEE			Variance ± SEE		
Subject	1.700 ± 1.304			0.773 ± 0.879			2.182 ± 1.477		
Slope	0.010 ± 0.101			0.004 ± 0.061			0.015 ± 0.125		

ABD, adynamic bone disease; BMI, body mass index; ROD, renal osteodystrophy; SEE, standard error of estimate; VKA, vitamin K inhibitor;

FIGURES

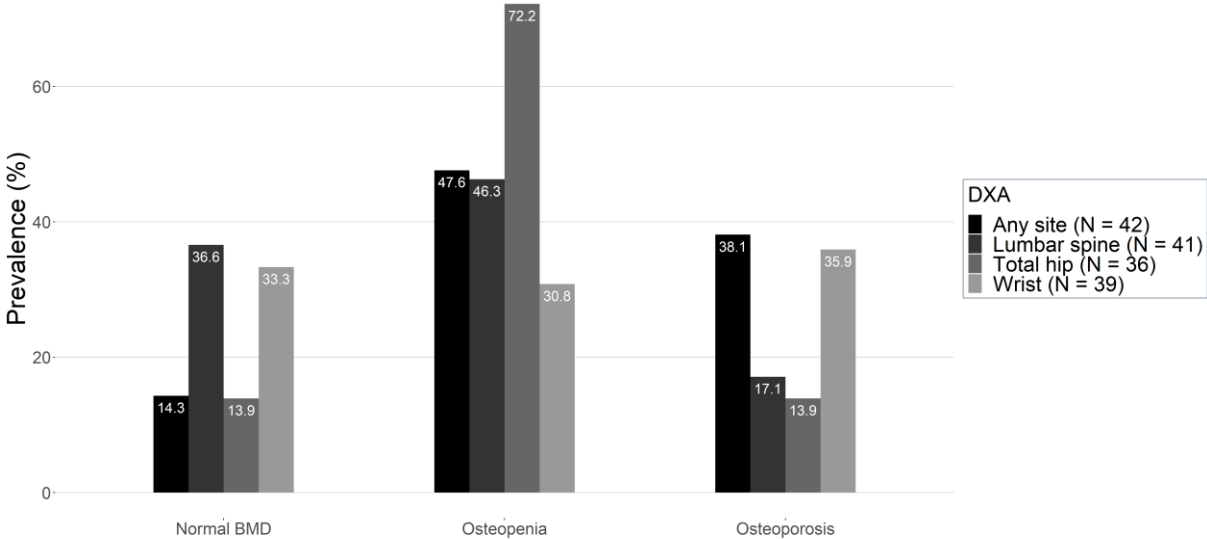


Figure 1: Prevalence of normal BMD, osteopenia, and osteoporosis for the lumbar spine, total hip, wrist or at any site in patients with a incident fracture and data on a DXA measured in the 12 months before or after the fracture.

BMD, bone mineral density; DXA, dual-energy X-ray absorptiometry.

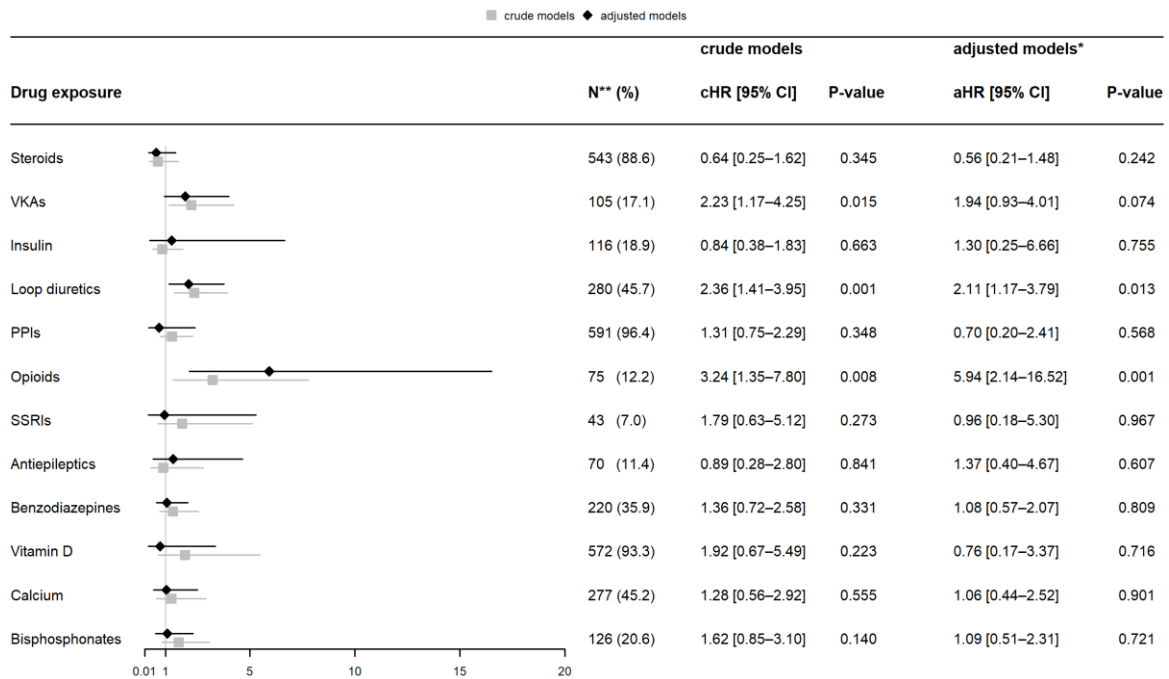


Figure 2: Crude and adjusted analyses of incident fractures as a function of drug exposure (in Cox proportional hazards models with time-dependent covariates)

A Cox proportional hazards model was built for each drug class used as time-dependent covariate and then adjusted against a specific PS for each drug class.

*Baseline characteristics associated with incident fractures (with $p < 0.2$; namely age, sex, BMI, ethnic group, thyroid disorders, prior fracture, serum phosphate, BAP, PTH and creatinine) were included in all PSs. Furthermore, other baseline characteristics associated ($p < 0.2$) with the use of each drug class were included in the respective PSs, i.e. diabetes mellitus, basiliximab, previous transplantation, and peak PRAs for the steroid PS; arterial hypertension and history of cardiovascular events for the VKA PS; diabetes mellitus, dyslipidemia, sedentary lifestyle, and history of cardiovascular disease for the insulin PS; time on hemodialysis before transplantation, serum calcium, diabetes mellitus, and etiology of CKD for the loop diuretic PS; alcohol consumption, other autoimmune disease, and basiliximab for the PPI PS; alcohol consumption and peak PRAs for the opioid PS; etiology of CKD for the SSRI PS; diabetes mellitus, history of cardiovascular disease, sedentary lifestyle, and etiology of CKD for the antiepileptic PS; history of cardiovascular disease, crossmatching results, and peak PRAs for the benzodiazepine PS; alcohol consumption, DSAs, peak PRAs, and dyslipidemia for the vitamin D PS; serum calcium, 25(OH) vitamin D, rheumatoid arthritis, dyslipidemia, IVIg, and etiology of CKD for the calcium PS; 25(OH) vitamin D, arterial hypertension, dyslipidemia, sedentary lifestyle, and peak PRAs for the bisphosphonate PS.

**Number of patients with at least one exposure to the drug of interest.

PPIs, proton pump inhibitors; SSRIs, selective serotonin reuptake inhibitors; VKAs, vitamin K antagonists.

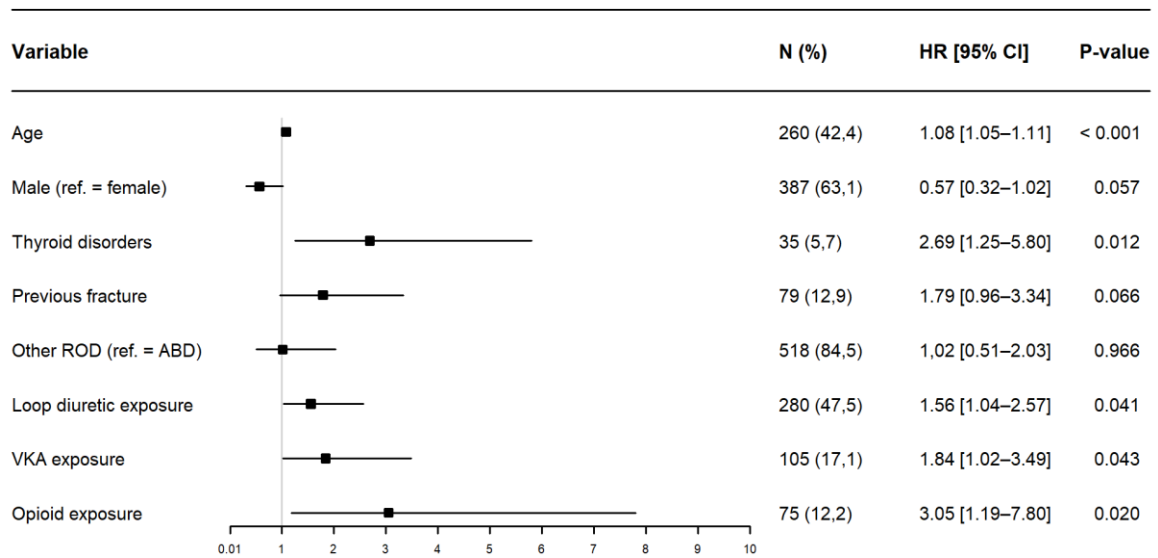


Figure 3: Multivariable Cox proportional hazards model with time-dependent covariates including the baseline variables associated with incident fractures (p <0.05)

To avoid overfitting the model, phosphate-calcium parameters and bone remodeling markers were replaced by the "renal osteodystrophy" variable (ABD or other). Serum creatinine was excluded from the analysis because of collinearity with renal osteodystrophy.

ABD, adynamic bone disease; ROD, renal osteodystrophy; VKA, vitamin K antagonist

REFERENCES

1. Kanis JA. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis: synopsis of a WHO report. WHO Study Group. *Osteoporosis international: a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA* 1994; 4: 368–381.
2. Pouresmaeili F, Kamalidehghan B, Kamarehei M, Goh YM. A comprehensive overview on osteoporosis and its risk factors. *Therapeutics and Clinical Risk Management* 2018; 14: 2029–2049.
3. Batteux B, Bennis Y, Bodeau S et al. Associations between osteoporosis and drug exposure: A post-marketing study of the World Health Organization pharmacovigilance database (VigiBase®). *Bone* 2021; 153: 116137.
4. Jørgensen HS, David K, Salam S, Evenepoel P, European Renal Osteodystrophy (EUROD) workgroup, an initiative of the CKD-MBD working group of the ERA-EDTA. Traditional and Non-traditional Risk Factors for Osteoporosis in CKD. *Calcified Tissue International* 2021; 108: 496–511.
5. Slatopolsky E, Gonzalez E, Martin K. Pathogenesis and treatment of renal osteodystrophy. *Blood Purification* 2003; 21: 318–326.
6. Vautour LM, Melton LJ, Clarke BL, Achenbach SJ, Oberg AL, McCarthy JT. Long-term fracture risk following renal transplantation: a population-based study. *Osteoporosis International* 2004; 15: 160–167.
7. Abbott KC, Oglesby RJ, Hypolite IO et al. Hospitalizations for fractures after renal transplantation in the United States. *Annals of Epidemiology* 2001; 11: 450–457.
8. Ball AM, Gillen DL, Sherrard D et al. Risk of Hip Fracture Among Dialysis and Renal Transplant Recipients. *JAMA* 2002; 288: 3014–3018.
9. Naylor KL, Li AH, Lam NN, Hodsmann AB, Jamal SA, Garg AX. Fracture Risk in Kidney Transplant Recipients: A Systematic Review. *Transplantation* 2013; 95: 1461–1470.
10. Nikkel LE, Mohan S, Zhang A et al. Reduced Fracture Risk With Early Corticosteroid Withdrawal After Kidney Transplant. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 2012; 12: 649–659.
11. Batteux B, Gras-Champel V, Lando M et al. Early steroid withdrawal has a positive effect on bone in kidney transplant recipients: a propensity score study with inverse probability-of-treatment weighting. *Ther Adv Musculoskelet Dis*. In press.
12. van Buuren S. Multiple imputation of discrete and continuous data by fully conditional specification. *Statistical Methods in Medical Research* 2007; 16: 219–242.
13. Austin PC, Grootendorst P, Anderson GM. A comparison of the ability of different propensity score models to balance measured variables between treated and untreated subjects: a Monte Carlo study. *Statistics in Medicine* 2007; 26: 734–753.

14. Sista SK, Arum SM. Management of adynamic bone disease in chronic kidney disease: A brief review. *Journal of Clinical & Translational Endocrinology* 2016; 5: 32–35.
15. Reid IR, Brown JP, Burckhardt P et al. Intravenous zoledronic acid in postmenopausal women with low bone mineral density. *The New England Journal of Medicine* 2002; 346: 653–661.
16. Bone HG, Hosking D, Devogelaer J-P et al. Ten years' experience with alendronate for osteoporosis in postmenopausal women. *The New England Journal of Medicine* 2004; 350: 1189–1199.
17. Lim LS, Fink HA, Kuskowski MA, Taylor BC, Schousboe JT, Ensrud KE. Loop Diuretic Use and Increased Rates of Hip Bone Loss in Older Men: The Osteoporotic Fractures in Men Study. *Archives of Internal Medicine* 2008; 168: 735–740.
18. Ooms ME, Lips P, Van Lingen A, Valkenburg HA. Determinants of bone mineral density and risk factors for osteoporosis in healthy elderly women. *Journal of Bone and Mineral Research: The Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research* 1993; 8: 669–675.
19. Rejnmark L, Vestergaard P, Mosekilde L. Fracture risk in patients treated with loop diuretics. *Journal of Internal Medicine* 2006; 259: 117–124.
20. Bokrantz T, Schiöler L, Boström KB et al. Antihypertensive drug classes and the risk of hip fracture: results from the Swedish primary care cardiovascular database. *Journal of Hypertension* 2020; 38: 167–175.
21. Rejnmark L, Vestergaard P, Pedersen AR, Heickendorff L, Andreasen F, Mosekilde L. Dose-effect relations of loop- and thiazide-diuretics on calcium homeostasis: a randomized, double-blinded Latin-square multiple cross-over study in postmenopausal osteopenic women. *European Journal of Clinical Investigation* 2003; 33: 41–50.
22. de Vries M, Seppala LJ, Daams JG et al. Fall-Risk-Increasing Drugs: A Systematic Review and Meta-Analysis: I. Cardiovascular Drugs. *Journal of the American Medical Directors Association* 2018; 19: 371.e1-371.e9.
23. van der Burgh AC, Oliai Araghi S, Zillikens MC et al. The impact of thiazide diuretics on bone mineral density and the trabecular bone score: the Rotterdam Study. *Bone* 2020; 138: 115475.
24. Emmanuel T, Kruse C, Leere JS, Poulsen TH, Vestergaard P. Effects of bendroflumethiazide on bone mineral density; results from the BONATHIAD randomized double-blind placebo-controlled cohort study. *Bone Reports* 2020; 13: 100737.
25. Wang J, Su K, Sang W, Li L, Ma S. Thiazide Diuretics and the Incidence of Osteoporotic Fracture: A Systematic Review and Meta-Analysis of Cohort Studies. *Frontiers in Pharmacology* 2019; 10: 1364.
26. Gage BF, Birman-Deych E, Radford MJ, Nilasena DS, Binder EF. Risk of osteoporotic fracture in elderly patients taking warfarin: results from the National Registry of Atrial Fibrillation 2. *Archives of Internal Medicine* 2006; 166: 241–246.
27. Caraballo PJ, Heit JA, Atkinson EJ et al. Long-term Use of Oral Anticoagulants and the Risk of Fracture. *Archives of Internal Medicine* 1999; 159: 1750–1756.

28. Zittermann A. Effects of vitamin K on calcium and bone metabolism. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* 2001; 4: 483–487.
29. Jamal SA, Browner WS, Bauer DC, Cummings SR. Warfarin use and risk for osteoporosis in elderly women. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *Annals of Internal Medicine* 1998; 128: 829–832.
30. Woo C, Chang LL, Ewing SK, Bauer DC, Osteoporotic Fractures in Men Study Group. Single-point assessment of warfarin use and risk of osteoporosis in elderly men. *Journal of the American Geriatrics Society* 2008; 56: 1171–1176.
31. Rezaieyazdi Z, Falsoleiman H, Khajehdaluae M, Saghafi M, Mokhtari-Amirmajdi E. Reduced bone density in patients on long-term warfarin. *International Journal of Rheumatic Diseases* 2009; 12: 130–135.
32. Wu X, Hu L, Liu J, Gu Q. Association of Direct Oral Anticoagulants vs. Vitamin K Antagonists With Fractures in Atrial Fibrillation Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Frontiers in Cardiovascular Medicine* 2021; 8: 713187.
33. Gu Z-C, Zhou L-Y, Shen L et al. Non-vitamin K Antagonist Oral Anticoagulants vs. Warfarin at Risk of Fractures: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Frontiers in Pharmacology* 2018; 9: 348.
34. Huang H-K, Liu PP-S, Hsu J-Y et al. Fracture risks among patients with atrial fibrillation receiving different oral anticoagulants: a real-world nationwide cohort study. *European Heart Journal* 2020; 41: 1100–1108.
35. Lutsey PL, Norby FL, Ensrud KE et al. Association of Anticoagulant Therapy With Risk of Fracture Among Patients With Atrial Fibrillation. *JAMA internal medicine* 2020; 180: 245–253.
36. Lucenteforte E, Bettiol A, Lombardi N, Mugelli A, Vannacci A. Risk of bone fractures among users of oral anticoagulants: An administrative database cohort study. *European Journal of Internal Medicine* 2017; 44: e30–e31.
37. Vestergaard P, Rejnmark L, Mosekilde L. Fracture risk associated with the use of morphine and opiates. *Journal of Internal Medicine* 2006; 260: 76–87.
38. Ensrud KE, Blackwell T, Mangione CM et al. Central nervous system active medications and risk for fractures in older women. *Archives of Internal Medicine* 2003; 163: 949–957.
39. Taipale H, Hamina A, Karttunen N et al. Incident opioid use and risk of hip fracture among persons with Alzheimer disease: a nationwide matched cohort study. *Pain* 2019; 160: 417–423.
40. Bawor M, Bami H, Dennis BB et al. Testosterone suppression in opioid users: a systematic review and meta-analysis. *Drug and Alcohol Dependence* 2015; 149: 1–9.
41. Kim Y, Lee E, Lee M-J, Park B, Park I. Characteristics of fracture in patients who firstly starts kidney replacement therapy in Korea: a retrospective population-based study. *Scientific Reports* 2022; 12: 3107.
42. Julian BA, Laskow DA, Dubovsky J, Dubovsky EV, Curtis JJ, Quarles LD. Rapid loss of vertebral mineral density after renal transplantation. *The New England Journal of Medicine* 1991; 325: 544–550.

43. Evenepoel P, Claes K, Meijers B et al. Bone mineral density, bone turnover markers, and incident fractures in de novo kidney transplant recipients. *Kidney International* 2019; 95: 1461–1470.
44. Conley E, Muth B, Samaniego M et al. Bisphosphonates and bone fractures in long-term kidney transplant recipients. *Transplantation* 2008; 86: 231–237.
45. Wang J, Yao M, Xu J -h, Shu B, Wang Y -j, Cui X -j. Bisphosphonates for prevention of osteopenia in kidney-transplant recipients: a systematic review of randomized controlled trials. *Osteoporosis international: a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA* 2016; 27: 1683–1690.
46. Toth-Manikowski SM, Francis JM, Gautam A, Gordon CE. Outcomes of bisphosphonate therapy in kidney transplant recipients: a systematic review and meta-analysis. *Clinical Transplantation* 2016; 30: 1090–1096.
47. Battaglia Y, Bellasi A, Bortoluzzi A et al. Bone Mineral Density Changes in Long-Term Kidney Transplant Recipients: A Real-Life Cohort Study of Native Vitamin D Supplementation. *Nutrients* 2022; 14: 323.
48. Khairallah P, Nickolas TL. Bone and Mineral Disease in Kidney Transplant Recipients. *Clinical journal of the American Society of Nephrology: CJASN* 2022; 17: 121–130.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank David Fraser PhD (Biotech Communication SARL, Ploudalmézeau, France) for editorial advice and copy-editing assistance.

CONFLICT OF INTEREST DISCLOSURE

The authors declare that they have no competing interests. The results presented in this paper have not been published previously in whole or part, except in abstract format.

AUTHOR CONTRIBUTION STATEMENT

Benjamin Batteux contributed to the conception/design of the work, acquisition, analysis, and interpretation of data for the work, and drafting the manuscript. He approved the version to be published, and agrees to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Alban Nowak contributed to the acquisition of data for the work, and drafting the manuscript. He approved the version to be published, and agrees to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Alice Séjourné contributed to the acquisition of data for the work and revised the work critically for important intellectual content. She approved the version to be published, and agrees to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Clémence Penet contributed to the acquisition of data for the work and revised the work critically for important intellectual content. She approved the version to be published, and agrees to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Kamel Masmoudi revised the work critically for important intellectual content. He approved the version to be published, and agrees to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

François Brazier revised the work critically for important intellectual content. He approved the version to be published, and agrees to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Solène M. Laville revised the work critically for important intellectual content. She approved the version to be published, and agrees to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Youssef Bennis revised the work critically for important intellectual content. He approved the version to be published, and agrees to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Valérie Gras-Champel contributed to interpretation of data for the work, revised it critically for important intellectual content, approved the version to be published, and agrees to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Gabriel Choukroun contributed to the conception/design of the work, revised the work critically for important intellectual content, approved the version to be published, and agrees to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Sophie Liabeuf contributed to the conception/design of the work, the interpretation of data for the work, and the drafting of the manuscript, approved the version to be published, and agrees to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

FUNDING STATEMENT

This research did not receive any specific funding from agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

ETHICS APPROVAL AND PATIENT CONSENT STATEMENT

In line with the French legislation on retrospective analyses of routine clinical practice, patients were not required to give their informed consent. On admission to hospital, however, patients could refuse the use of their medical data for research purposes. This protocol was approved by an institutional committee (with competency for studies not requiring approval by an investigational review board) and was registered with the French National Data Protection Commission (*Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés*, Paris, France; reference: PI2019_843_0055.)

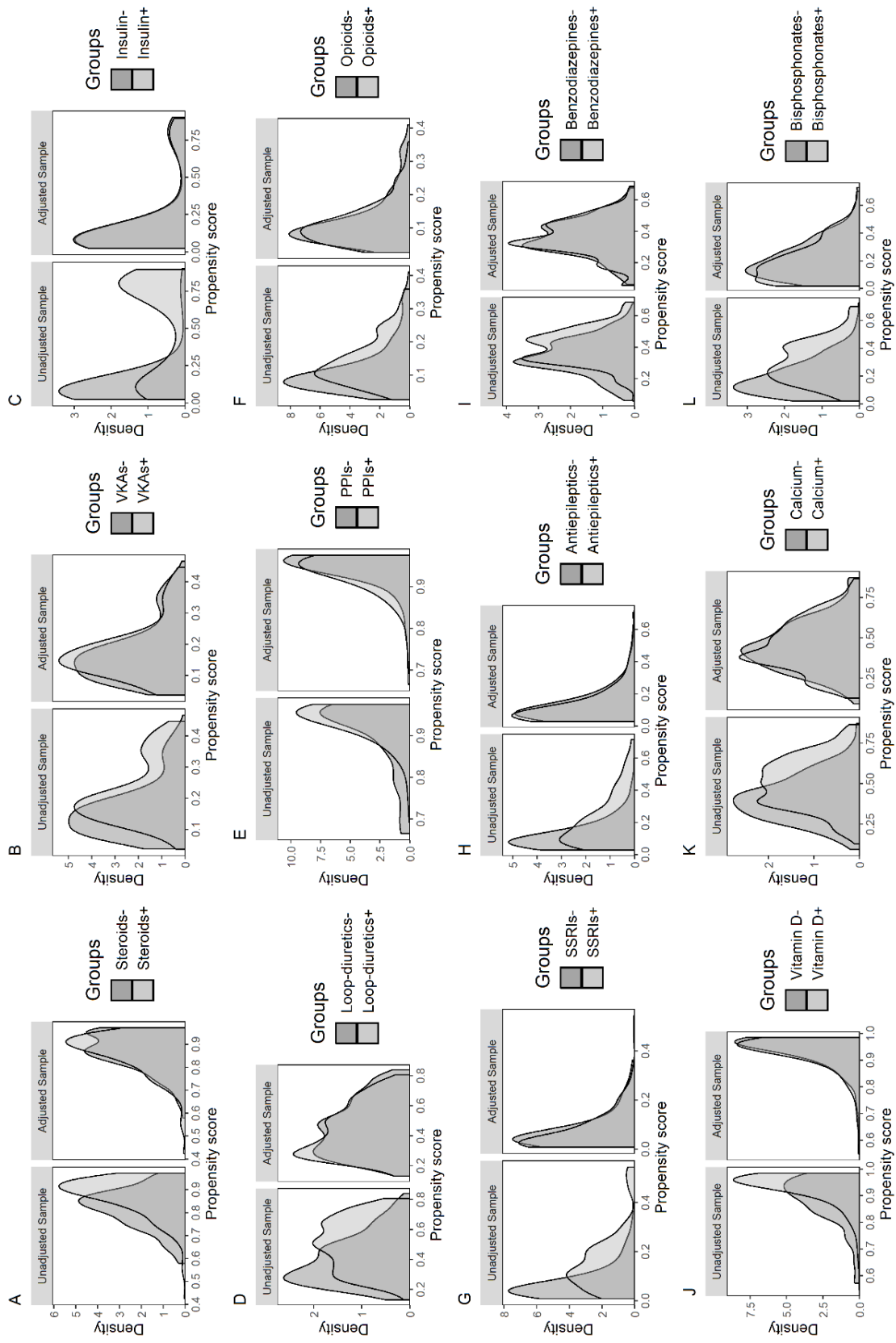


Figure S1: Kernel density curves for PSs before (left panels) and after (right panels) adjustment. A, steroids; B, VKAs; C, insulin; D, loop-diuretics; E, PPIs; F, opioids; G, SSRIs; H, antiepileptics; I, benzodiazepines; J, vitamin D; K, calcium; L, bisphosphonates.

SUPPLEMENTARY DATA

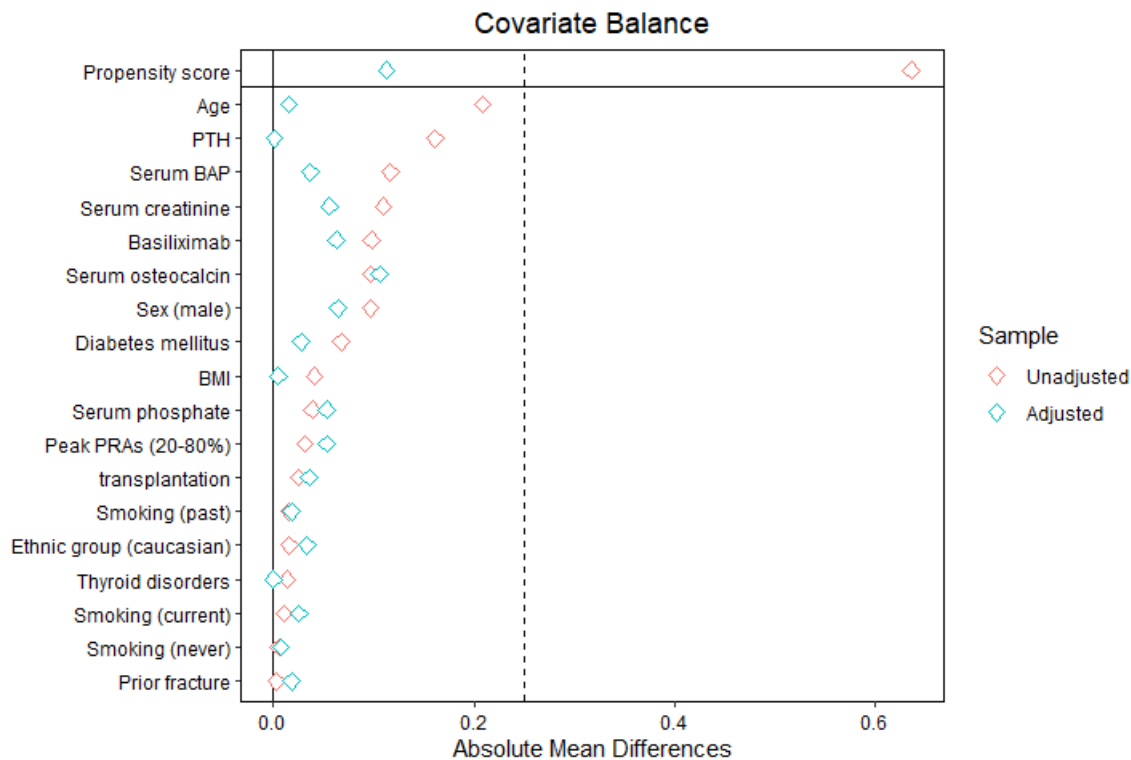


Figure S2: Absolute mean differences in the PS associated with incident fractures ($p < 0.2$) and with the use of steroids ($p < 0.2$), before and after adjustment using IPTW.

BAP, bone alkaline phosphatase; BMI, body mass index; PRA, panel-reactive antibody; PTH, parathyroid hormone.

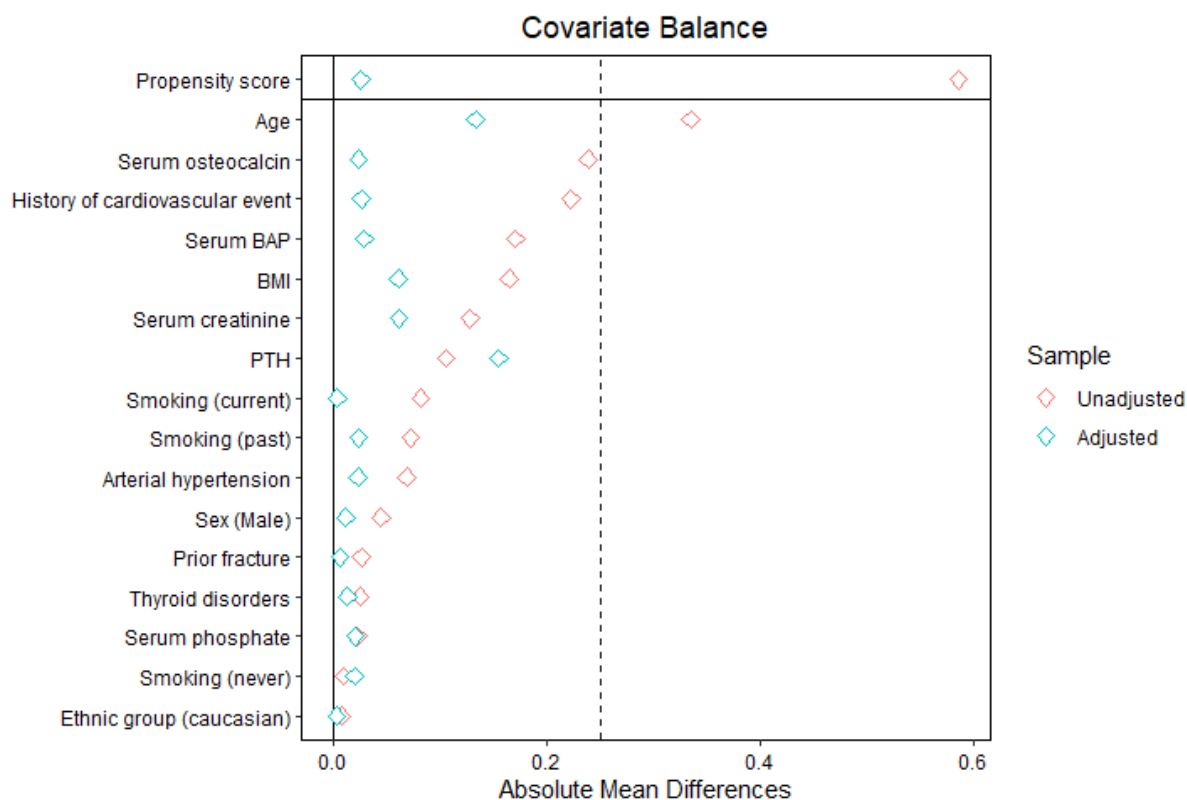


Figure S3: Absolute mean differences in the PS associated with incident fractures ($p < 0.2$) and with the use of VKAs ($p < 0.2$), before and after adjustment using IPTW.

BAP, bone alkaline phosphatase; BMI, body mass index; PTH, parathyroid hormone.

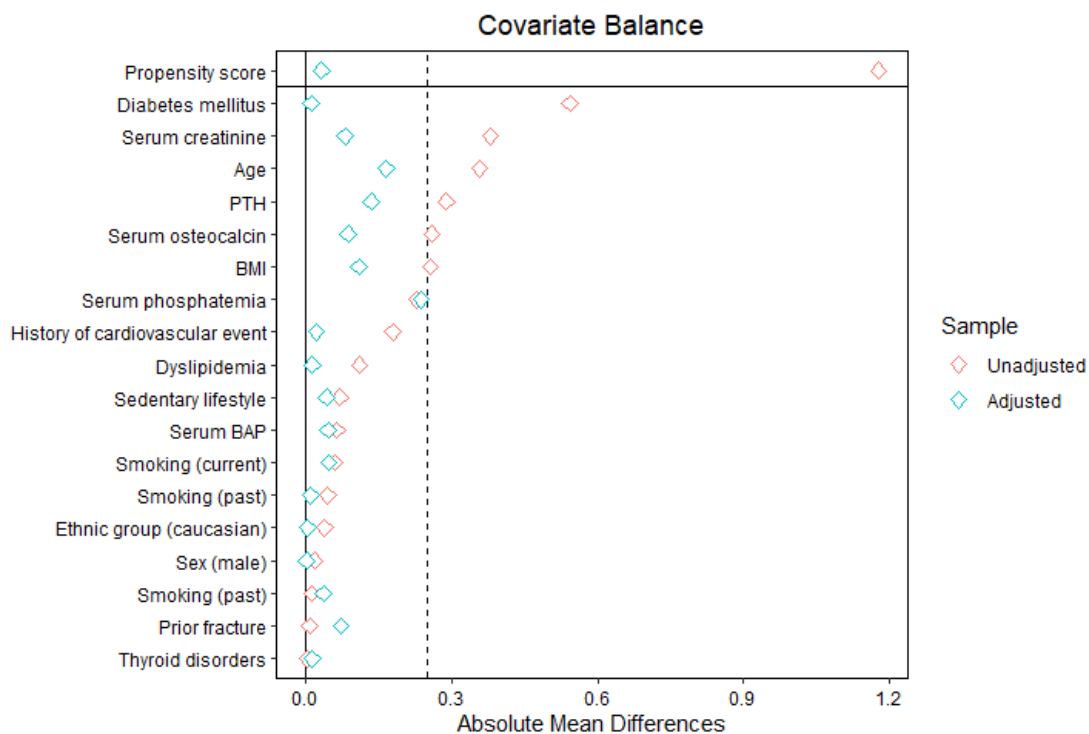


Figure S4: Absolute mean differences of propensity score and associated with incident fractures ($p < 0.2$) and with the use of insulin ($p < 0.2$), before and after adjustment using IPTW.

BAP, bone alkaline phosphatase; BMI, body mass index; PTH, parathyroid hormone.

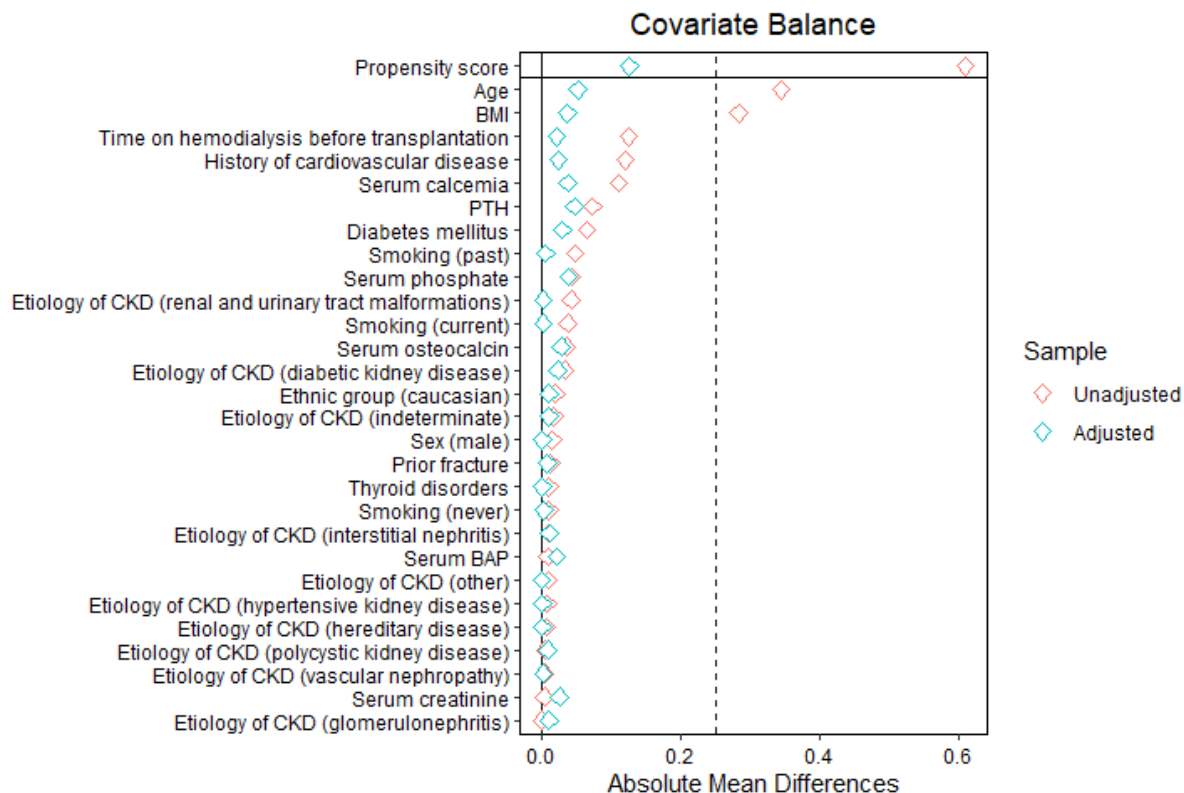


Figure S5: Absolute mean differences of propensity score and associated with incident fractures ($p < 0.2$) and with the use of loop-diurectics ($p < 0.2$), before and after adjustment using IPTW.

BMI, body mass index; BAP, bone alkaline phosphatase; CKD, chronic kidney disease; PTH, parathyroid hormone.

SUPPLEMENTARY DATA

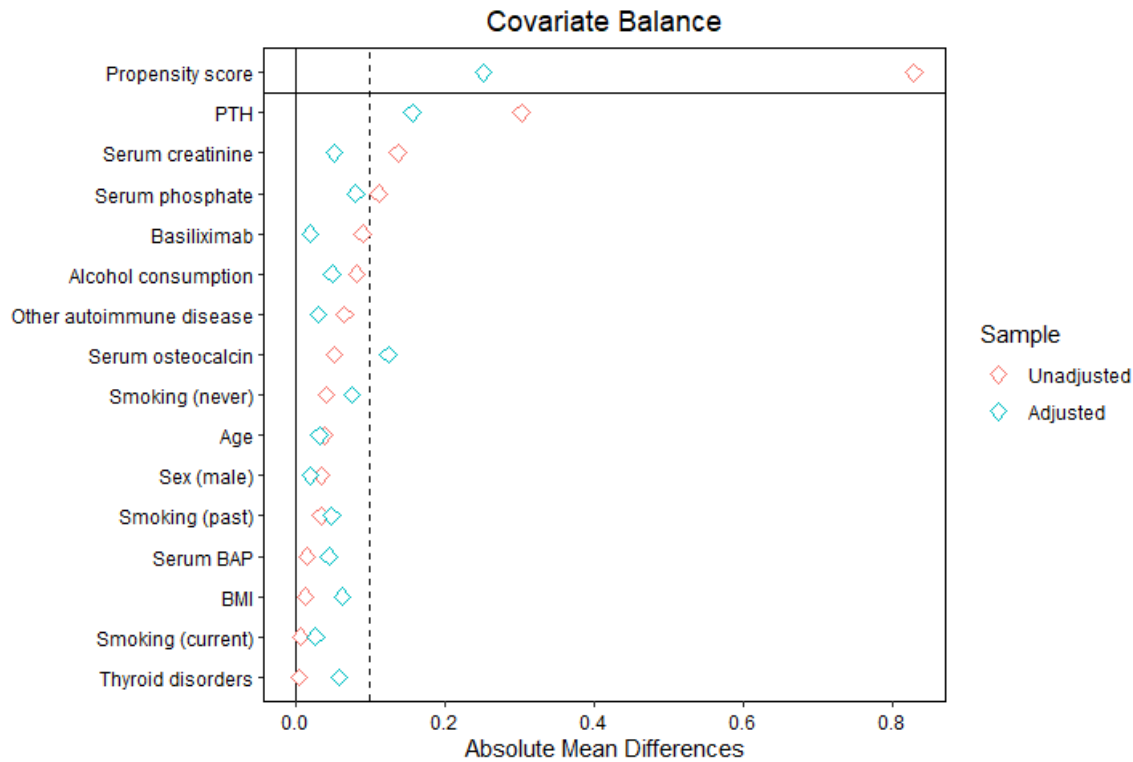


Figure S6: Absolute mean differences of propensity score and associated with incident fractures ($p < 0.2$) and with the use of PPIs ($p < 0.2$), before and after adjustment using IPTW.

BAP, bone alkaline phosphatase; BMI, body mass index; PTH, parathyroid hormone.

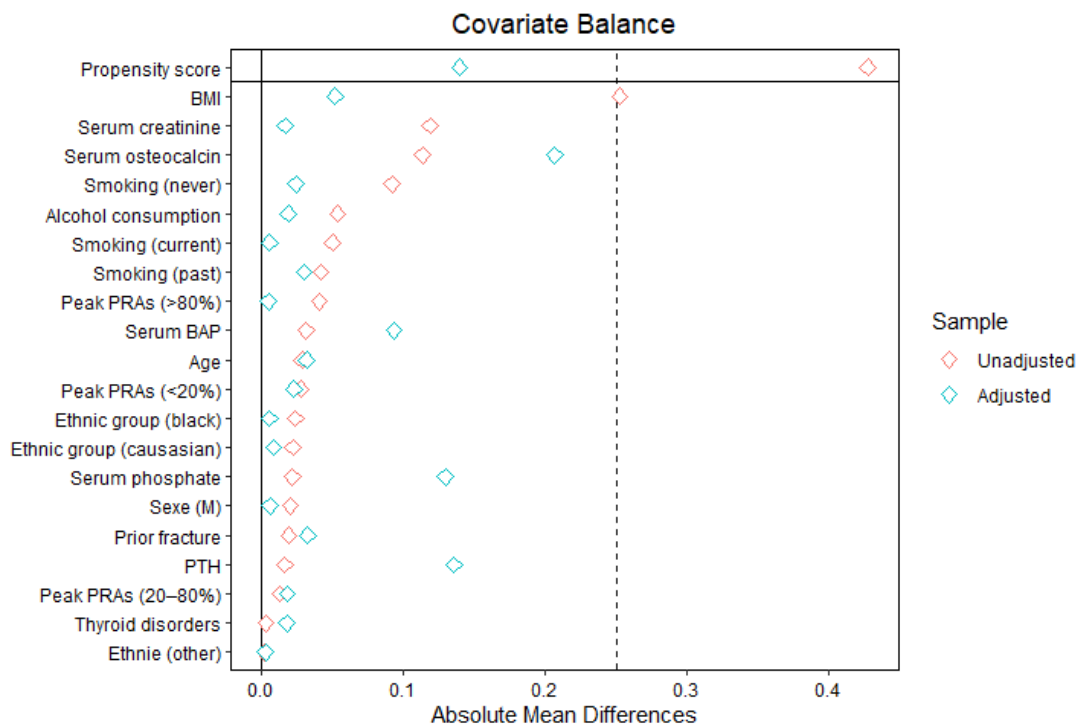


Figure S7: Absolute mean differences of propensity score and associated with incident fractures ($p < 0.2$) and with the use of opioids ($p < 0.2$), before and after adjustment using IPTW.

BAP, bone alkaline phosphatase; BMI, body mass index; PRA, panel-reactive antibody; PTH, parathyroid hormone.

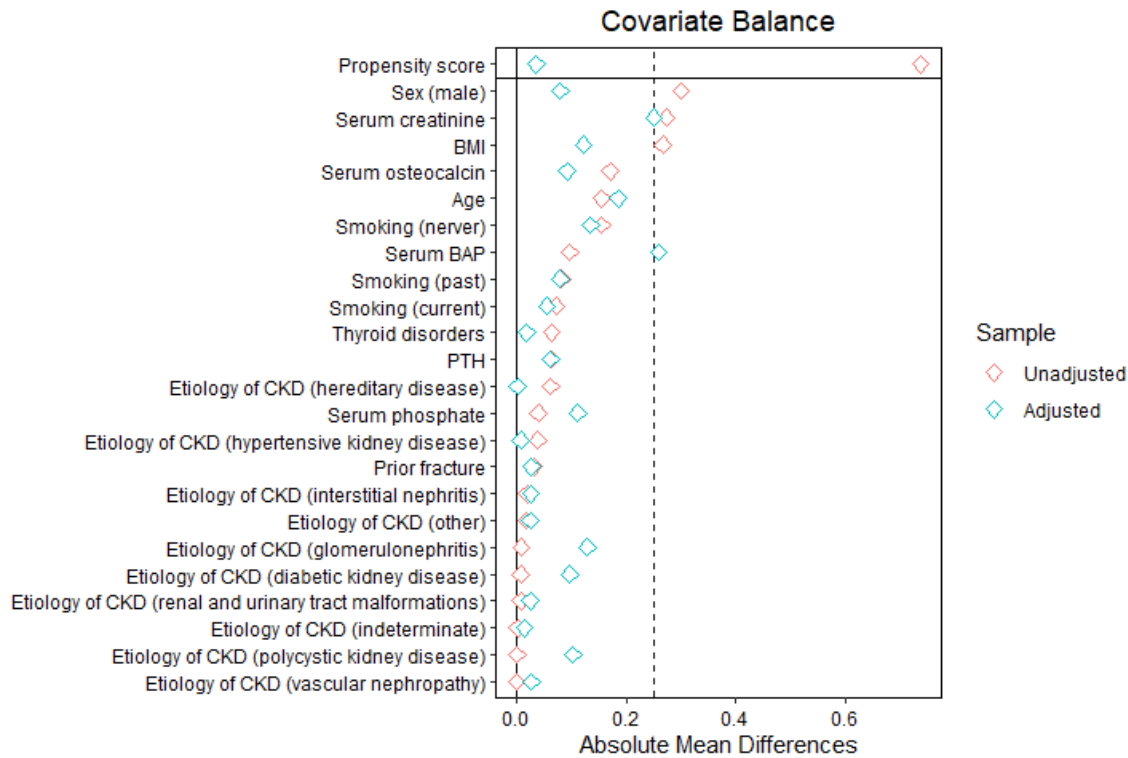


Figure S8: Absolute mean differences of propensity score and associated with incident fractures ($p < 0.2$) and with the use of SSRIs ($p < 0.2$), before and after adjustment using IPTW.

BAP, bone alkaline phosphatase; BMI, body mass index; CKD, chronic kidney disease; PTH, parathyroid hormone.

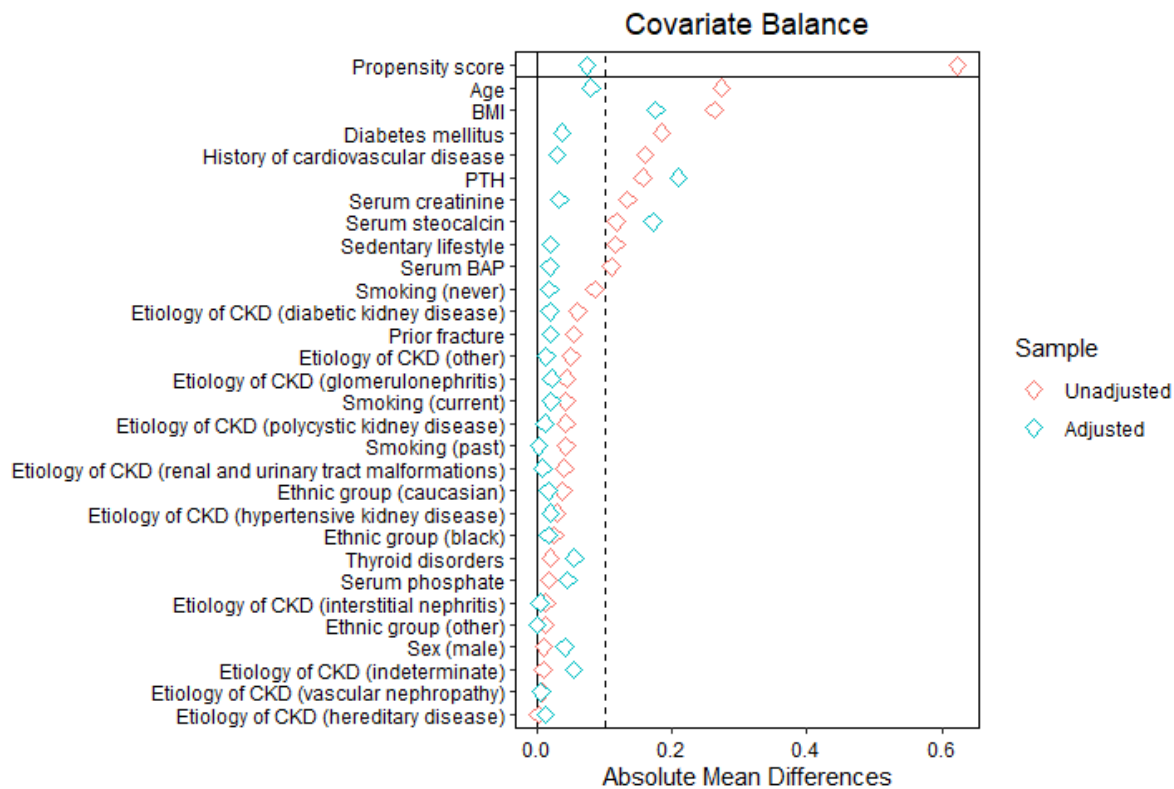


Figure S9: Absolute mean differences of propensity score and associated with incident fractures ($p < 0.2$) and with the use of antiepileptics ($p < 0.2$), before and after adjustment using IPTW.

BAP, bone alkaline phosphatase; BMI, body mass index; CKD, chronic kidney disease; PTH, parathyroid hormone.

SUPPLEMENTARY DATA

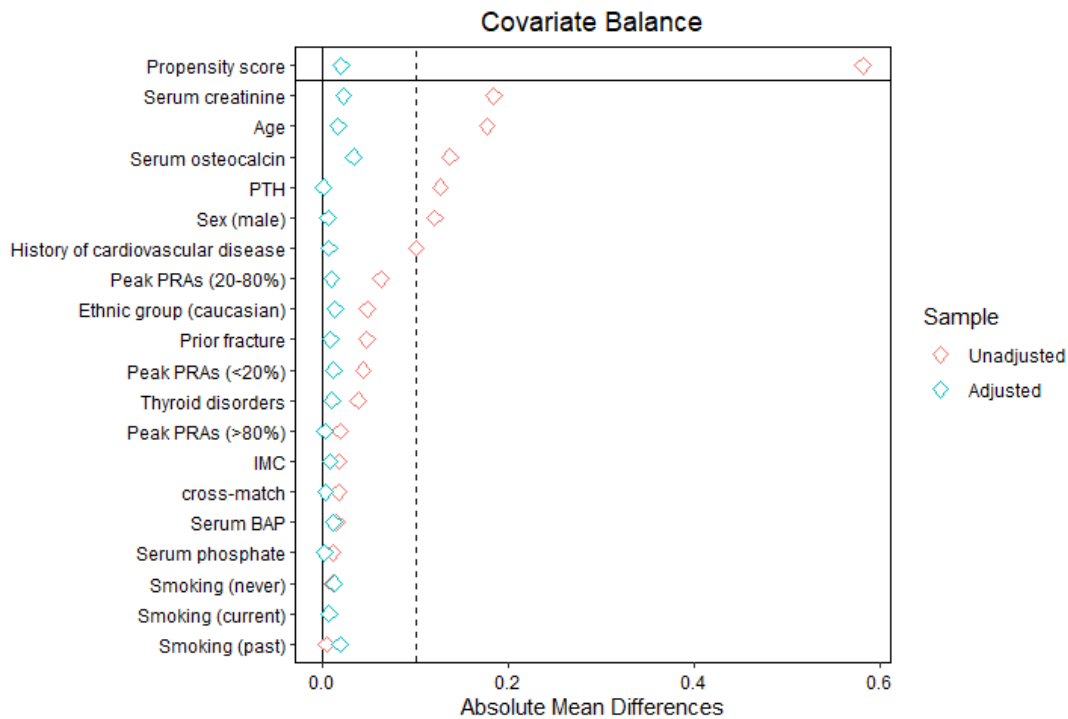


Figure S10: Absolute mean differences of propensity score and associated with incident fractures ($p < 0.2$) and with the use of benzodiazepines ($p < 0.2$), before and after adjustment using IPTW.

BAP, bone alkaline phosphatase; BMI, body mass index; PRA, panel-reactive antibody; PTH, parathyroid hormone.

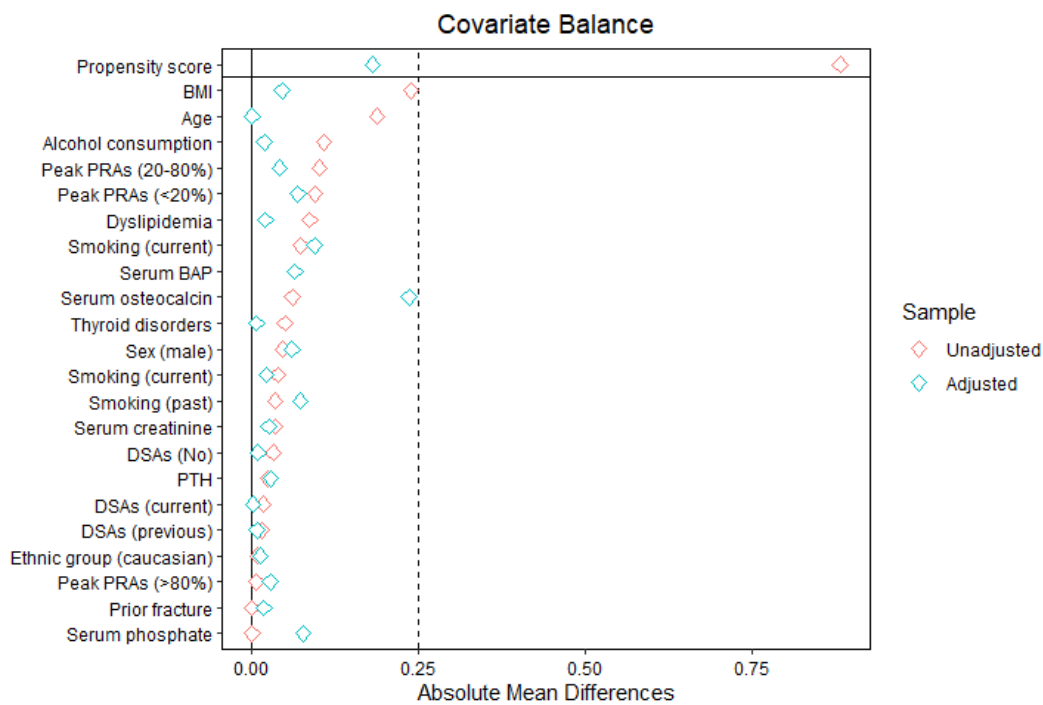


Figure S11: Absolute mean differences of propensity score and associated with incident fractures ($p < 0.2$) and with the use of vitamin D ($p < 0.2$), before and after adjustment using IPTW.

BAP, bone alkaline phosphatase; BMI, body mass index; DSAs, donor-specific antibodies; PRA, panel-reactive antibody; PTH, parathyroid hormone.

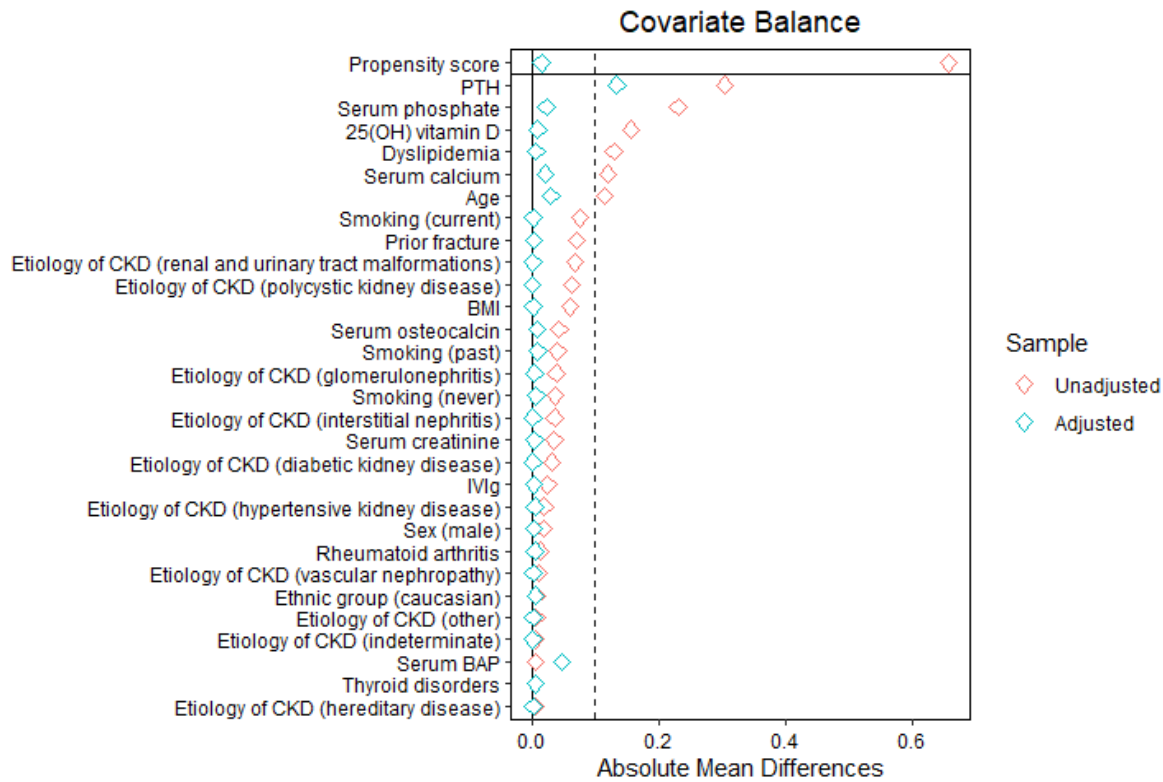


Figure S12: Absolute mean differences of propensity score and associated with incident fractures ($p < 0.2$) and with the use of calcium ($p < 0.2$), before and after adjustment using IPTW.

BAP, bone alkaline phosphatase; BMI, body mass index; CKD, chronic kidney disease; IVIg, intravenous immunoglobulins; PTH, parathyroid hormone.

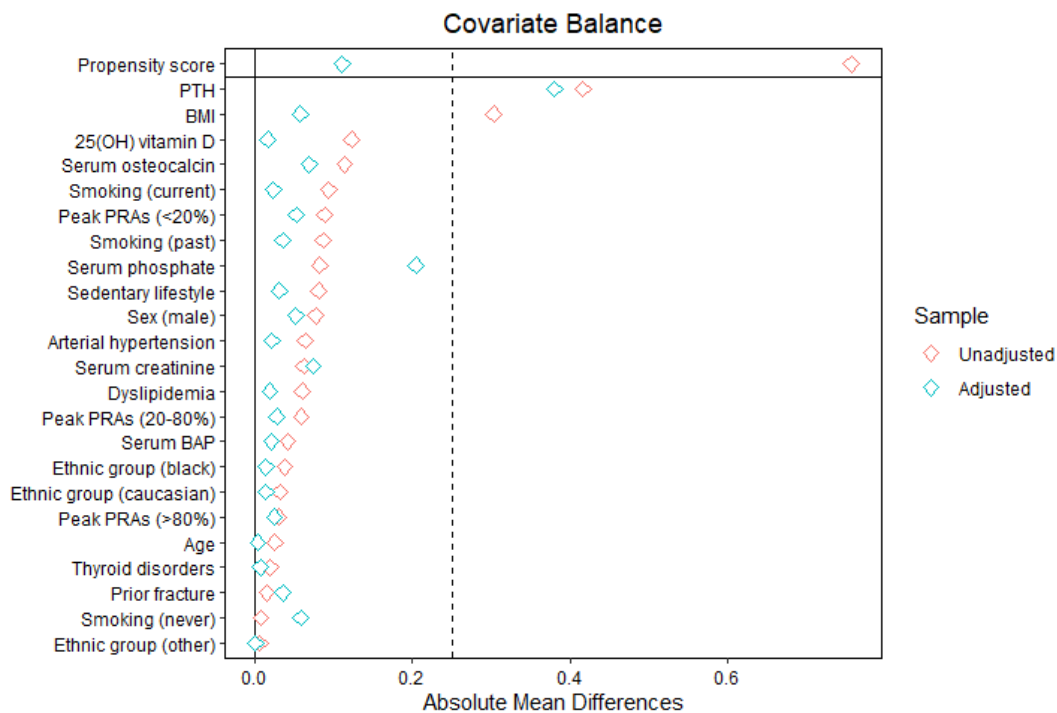


Figure S13: Absolute mean differences of propensity score and associated with incident fractures ($p < 0.2$) and with the use of bisphosphonates ($p < 0.2$), before and after adjustment using IPTW.

BAP, bone alkaline phosphatase; BMI, body mass index; PTH, parathyroid hormone.

Chapitre V

Discussion

I. Résultats des travaux de thèse et données de la littérature

Les fractures par fragilité osseuse après transplantation rénale sont plus fréquentes qu'en population générale et sont responsables d'une augmentation de la mortalité, de la morbidité et mais également du risque de perte du greffon [275]. L'identification de facteurs de risque est indispensable à leur prévention. Dans la littérature, plusieurs facteurs de risque ont été identifiés, tels que l'âge avancé [15,262–264], le sexe féminin [265,266], un faible IMC au moment de la transplantation [15,262,267], un antécédent de fracture [15,262,268], une faible DMO au moment de la transplantation [268,269], un antécédent de diabète au moment de la transplantation [15,262–264,266,269], la sédentarité [264], la durée de la dialyse avant la transplantation [11,15,262,263] ou encore l'étiologie de la MRC [11,15,262,263]. L'utilisation de corticostéroïdes a été rapportée comme étant la principale cause de fractures après transplantation [15], mais très peu de données ostéodensitométriques (la DXA étant le principal outil diagnostique de l'ostéoporose utilisé en pratique courante et dont l'utilisation est recommandée après transplantation rénale [28]) sont disponibles. Par ailleurs, plusieurs études semblent indiquer que les TU liées aux protéines plasmatiques participent à l'ODR en période de dialyse, celle-ci conditionnant en partie la fragilité osseuse après transplantation rénale.

A. Effet des toxines urémiques

Dans le chapitre II de cette thèse, dans notre cohorte de patients transplantés, nous n'avons pas mis en évidence d'association entre la diminution de la DMO après transplantation rénale et l'accumulation des TU liées aux protéines plasmatiques en période de dialyse. Il est tout de même possible que ces TU, particulièrement l'IxS et le pCS, engendrent une altération de la microarchitecture osseuse pouvant perdurer après transplantation, mais qui n'est pas détectable par DXA. Néanmoins, nous n'avons pas non plus trouvé d'association entre la survenue de fractures dans les 2 ans après la transplantation rénale et les concentrations en TU en période de dialyse. Il est ainsi possible que l'effet potentiellement nocif sur l'os de ces TU ne perdure pas après transplantation rénale en raison de la normalisation rapide de leur concentration plasmatique. Par ailleurs, notre étude souffrait d'un important manque de puissance statistique dans la mesure où seulement 4 patients ont présenté une fracture incidente, ce qui est très insuffisant pour espérer mettre en évidence un effet significatif. A notre connaissance, aucune autre étude n'a exploré les hypothèses de ce 1^{er} axe de recherche, nous

ne pouvons donc pas confronter nos résultats aux données de la littérature. De plus, après plusieurs années de transplantation rénale et une potentielle altération de la fonction du greffon, les TU liées aux protéines plasmatiques peuvent à nouveau s'accumuler [286]. Aucune étude ne s'est intéressée aux effets osseux d'une nouvelle accumulation de TU liées aux protéines plasmatiques après transplantation rénale, en lien avec une altération de la fonction du greffon.

B. Effet des corticostéroïdes

Dans le Chapitre III de cette thèse, nous avons mis en évidence une augmentation significative de la DMO dans l'année suivant la transplantation rénale chez les patients avec arrêt précoce des corticostéroïdes, et cette augmentation était significative en comparaison aux variations de la DMO du groupe corticothérapie prolongée, et particulièrement dans le sous-groupe de patients ne présentant pas un faible remodelage osseux. Nos résultats sont cohérents avec ceux de Segaud *et al.* montrant un gain de DMO (entre la DXA réalisée 9 mois après la transplantation et celle réalisée à 24 mois) au rachis lombaire (+ 2.1 ± 0.9%; p = 0.02) et à la hanche totale (+ 2.0 ± 1.0%; p = 0.04) chez les patients avec arrêt précoce de la corticothérapie, comparativement aux patients avec corticothérapie prolongée [272]. Dans cette étude ainsi que dans la nôtre, il y avait peu de fractures incidentes (3 fractures sur 295 patients inclus et 4 fractures sur 356 patients inclus respectivement), ce qui empêchait d'étudier l'association entre l'exposition aux corticostéroïdes et le risque de fractures incidentes par manque de puissance statistique. Par ailleurs, à notre connaissance, aucune autre étude ne s'est focalisée sur les variations de DMO après transplantation rénale en comparant un groupe de patients avec arrêt précoce de la corticothérapie et un groupe de patients avec corticothérapie prolongée.

En revanche, dans le Chapitre IV de cette thèse dont l'objectif était d'évaluer l'impact osseux de différents médicaments au cours du temps sur une période de plus de 10 ans de suivi, les résultats de notre étude montrent l'absence d'effet de l'exposition des corticostéroïdes sur la survenue de fractures ou les variations de DMO au cours du temps après transplantation rénale. En termes de fractures, ces résultats sont discordants avec l'étude de Nikkel *et al* [15]. Cette étude réalisée sur l'USRDS, incluait 77 430 patients transplantés entre 2000 et 2006 et le critère de jugement principal était la survenue d'une fracture aboutissant à une hospitalisation entre 2000 et 2007. L'arrêt précoce de la corticothérapie (défini comme l'absence de prescription de corticostéroïdes en sortie d'hospitalisation au décours de la transplantation rénale) était associé à une réduction du taux de fractures de 31% (HR [IC95%] : 0,63 [0,59–0,81]). Néanmoins, cette étude réalisée sur des bases de

données médicales et administratives présente plusieurs limites importantes : (i) compte-tenu de la définition des groupes, les chercheurs de cette étude ne peuvent affirmer que les patients n'aient pas changé de groupe au cours du temps, (ii) la nature ostéoporotique des fractures (traumatisme à faible niveau d'énergie) ne peut être affirmée, (iii) toutes les fractures n'ont pas été recueillies (uniquement celles aboutissant à une hospitalisation) et (iv) le modèle de Cox multivariable utilisé n'incluait pas un certain nombre de facteurs pouvant induire une fragilité osseuse et/ou des fractures (il incluait l'âge, le sexe, l'IMC, l'ethnie, le diabète, la notion de dialyse avant la transplantation, et non pas l'intoxication alcoolo-tabagique, les pathologies inductrices d'ostéoporose, les antécédents personnels et familiaux de fracture, la sédentarité, les paramètres du bilan phosphocalcique ou encore les marqueurs du remodelage osseux). Par ailleurs, dans l'étude de Vautour *et al.* réalisée sur une cohorte de 86 patients transplantés entre 1965 et 1995, la dose cumulée de corticostéroïdes n'était pas associée à la survenue de fractures sur une période de suivi médiane de 33 ans [264]. Néanmoins, cette étude souffrait également de nombreuses limites : (i) l'effet de cohorte (caractéristiques des patients de la cohorte pouvant changer au cours du temps) [287], (ii) la définition des fractures ostéoporotiques qui peut être remise en question (les fractures du crâne et des phalanges/métatarses/métacarpes étaient analysées dans cette étude) et (iii) de nombreux facteurs de risque d'ostéoporose et/ou de fractures n'étaient pas non plus pris en considération dans cette étude. Cependant, une autre étude de cohorte plus récente incluant 518 patients transplantés entre 2006 et 2013 n'a pas non plus mis en évidence de lien entre la dose cumulée de corticostéroïdes et les fractures incidentes après transplantation rénale [268], ainsi qu'une étude clinique et histomorphométrique très récente portant sur 109 patients ayant eu une biopsie osseuse à une médiane [intervalle interquartile] de 31 [18–70] mois après transplantation rénale [288]. Dans cette dernière étude, la dose cumulée de corticostéroïdes était associée à un faible volume osseux, mais ni le volume osseux trabéculaire ni la dose cumulée de corticostéroïdes n'étaient associés aux fractures incidentes [288].

Ces discordances de résultats entre ces différentes études illustrent les difficultés de réalisation et d'interprétation des études épidémiologiques, en particulier des études pharmacoépidémiologiques, que nous avons pu rencontrer au cours de nos travaux de recherche. Ce point est développé dans le paragraphe III de ce chapitre de discussion.

C. Effet des médicaments autres que les corticostéroïdes

Dans l'étude de notre 3^{ème} axe de recherche, nous avons mis en évidence une association entre l'exposition aux diurétiques de l'anse, aux opioïdes et dans une moindre mesure aux AVK, et la survenue de fractures après transplantation rénale. Les mécanismes d'action de ces médicaments pouvant induire une fragilité osseuse et/ou un risque de fractures sont bien connus en population générale (Chapitre i, Paragraphe II.C.2.f.). Aucune autre étude n'a analysé le risque de fractures potentiellement induites par ces médicaments après transplantation rénale.

Les résultats de cette étude soulèvent la question d'une éventuelle réévaluation des traitements après transplantation rénale et soulignent indirectement la polymédication après transplantation rénale. Ces points sont discutés dans le paragraphe suivant.

II. Prescription médicamenteuse après transplantation rénale

Une étude annexe réalisée à partir de notre cohorte, incluant 354 patients transplantés, a été menée en 2020 [18]. Cette étude avait pour objectif de quantifier la consommation médicamenteuse en période de dialyse, dans les suites immédiates de la transplantation, puis à 4 mois et à 1 an de la transplantation. Le nombre moyen (\pm déviation standard) de médicaments prescrits quotidiennement par patient était respectivement de 8 (± 3), 10 (± 3), 11 (± 3) et 10 (± 3). La prévalence de patients présentant une polymédication (> 5 médicaments par jour) et une hyperpolymédication (> 10 médicaments par jour) à 1 an était respectivement de 94% et 38%. A 1 an de la transplantation, les médicaments les plus prescrits appartenaient (i) à la classe ATC « système cardiovasculaire » (29%), en particulier les antihypertenseurs et les hypolipémiants, (ii) à la classe ATC « voies digestives et métabolisme » (23%), en particulier les médicaments antiacides, les vitamines et les médicaments antidiabétiques et (iii) à la classe des immunosuppresseurs (19%). Les résultats de cette étude sont similaires avec ceux d'une autre étude incluant 211 patients transplantés au Japon [289]. Le nombre médian [intervalle interquartile] de médicaments prescrits à plus de 6 mois de la transplantation rénale était de 9 [7–11] et la prévalence de patients présentant une hyperpolymédication était de 43%. Les médicaments les plus fréquemment prescrits étaient aussi les immunosuppresseurs, les médicaments antiacides, les antihypertenseurs, les hypolipémiants et également les hypo-uricémiants. Une autre étude réalisée chez 64 patients transplantés en Australie [290] a montré une inflation plus importante du nombre de médicaments prescrits après transplantation rénale. Le nombre moyen (\pm déviation standard) de médicaments à 1 an de la transplantation était de 23 (± 10) et les 3 classes

médicamenteuses les plus prescrites étaient les immunosuppresseurs, les médicaments anti-infectieux et ceux de la classe ATC « système cardiovasculaire ».

La polymédication après transplantation rénale résulte principalement de la prescription de traitements immunosuppresseurs (Chapitre I, Paragraphe IV.A.2.) et des traitements en rapport avec les complications post-transplantatoires, principalement liées aux traitements immunosuppresseurs (Chapitre I, Paragraphe IV.A.3.). Cette polymédication est associée à une altération de la qualité de vie des patients [291] et à une fragilité accrue [289]. Par ailleurs, la polymédication et la complexité des schémas médicamenteux après transplantation rénale peuvent aboutir à une mauvaise observance [292] et à des EIM (en plus des effets indésirables des immunosuppresseurs) notamment en lien avec des interactions médicamenteuses [293]. L'organisation KDIGO recommande la détection et la prévention de la non observance, notamment en simplifiant les schémas posologiques et en réduisant le nombre de médicaments chez les patients transplantés [17]. Même si la grande majorité des médicaments prescrits après transplantation rénale dans notre cohorte semble indispensable [18], certaines classes médicamenteuses pourraient faire l'objet d'une déprescription. Par exemple, la grande majorité des patients de notre cohorte est exposée aux IPP, dont l'indication principale est la prévention des complications gastro-intestinales liées à la corticothérapie. Or, les IPP ne sont pas systématiquement indiqués dans cette situation [294,295] et semblent être par ailleurs associés à une néphrotoxicité [296].

Concernant les médicaments associés à un risque de fractures dans notre cohorte, les opioïdes utilisés au long cours (12,2% d'utilisateurs dans notre cohorte au cours de la période de suivi) pourraient également faire l'objet d'une déprescription, même si celle-ci n'est pas codifiée [297,298]. En effet, leur utilisation au long cours dans le cadre de douleurs chroniques non cancéreuses doit rester exceptionnelle, lorsque l'ensemble des autres propositions thérapeutiques, médicamenteuses ou non, ont été essayées [299]. Par ailleurs, leur utilisation au long cours, en plus du potentiel risque de fracture mis en évidence dans l'étude de notre 3^{ème} axe de recherche, semble être associée à un risque plus élevé de mortalité et de rejet aigu du greffon, comparativement à leur absence d'utilisation [300].

Les diurétiques de l'anse sont indiqués pour le contrôle de la volémie et de la pression artérielle après transplantation rénale, notamment en période post-transplantatoire immédiate [301]. Par ailleurs, ils pourraient en théorie réduire les lésions rénales ischémiques péri-transplantatoires et ainsi réduire le risque de retard de fonction du greffon, mais ceci n'a pas été prouvé [302]. D'autre part, l'utilisation de diurétiques de l'anse est associée à un risque accru d'infection urinaire au cours des 5 premières années après la transplantation rénale [303]. Les diurétiques thiazidiques sont également indiqués pour contrôler la volémie et la pression artérielle. D'après les recommandations KDIGO,

lorsqu'une hypertension artérielle est difficile à contrôler et nécessite une combinaison d'antihypertenseurs, celle-ci devrait inclure un diurétique thiazidique, même si cette classe médicamenteuse expose à un risque d'hyperuricémie, d'hyponatrémie, de dyslipidémie ou d'intolérance au glucose (de même que les diurétiques de l'anse) [17]. De plus, certaines études suggèrent que les diurétiques thiazidiques pourraient être plus efficaces qu'on ne le pensait auparavant chez les patients dont la fonction rénale est altérée [304,305]. Par ailleurs, chez les patients atteints de MRC, l'utilisation de diurétiques de l'anse aggrave l'hyperparathyroïdie *via* une augmentation de l'excrétion urinaire de calcium et accélère ainsi le remodelage osseux, contrairement à l'utilisation de diurétiques thiazidiques [306]. A notre connaissance, de telles données ne sont pas disponibles après transplantation rénale. Ainsi, des études cliniques supplémentaires sont nécessaires pour déterminer si l'utilisation de diurétiques thiazidiques est préférable à celle de diurétiques de l'anse en ce qui concerne le risque de fractures après transplantation rénale.

En ce qui concerne le traitement anticoagulant curatif de fibrillations auriculaires ou d'évènements thromboemboliques (dont le risque est plus élevé après transplantation rénale que dans la population générale [307]), les AVK sont couramment employés en comparaison aux anticoagulants oraux directs (AOD). En effet, l'emploi des AOD dans cette population pourrait engendrer une majoration du risque hémorragique en raison d'interactions médicamenteuses avec les inhibiteurs de la calcineurine d'une part (le tacrolimus et la ciclosporine sont des inhibiteurs modérés à puissants de la P-glycoprotéine (P-gp) et du CYP3A4, le rivaroxaban et l'apixaban sont métabolisés par le CYP3A4 et tous les AOD sont des substrats de la P-gp [308]), et d'une accumulation plasmatique des AOD en lien avec une diminution du DFG d'autre part [309]. Ainsi, la société européenne de cardiologie et de rythmologie contre-indique l'utilisation de dabigatran et déconseille l'utilisation d'apixaban ou de rivaroxaban en association au tacrolimus (même si peu de données sont disponibles concernant l'apixaban et le rivaroxaban) et contre-indique l'utilisation des AOD lorsque le DFG est inférieur à 15 ml/min [310]. Pourtant, les résultats d'une récente méta-analyse portant sur la sécurité des AOD (en comparaison à la warfarine) après transplantation d'organes solides, incluant 259 patients recevant un AOD et 320 patients recevant de la warfarine, ont montré que, en comparaison à la warfarine, (i) l'utilisation d'AOD était associée à une diminution du risque hémorragique global (Risque Relatif (RR) [IC95%] : 0,4 [0,32–0,76]), (ii) il n'y avait pas de différence significative en termes de saignement majeur (RR [IC95%] : 0,55 [0,20–1,49] et (iii) il n'y avait pas de différence significative en termes d'évènements thromboemboliques veineux (RR [IC95%] : 0,65 [0,25–1,70]) [311]. Ces résultats sont cohérents avec ceux d'études réalisées chez les patients transplantés rénaux [312,313]. A ce jour, l'organisation KDIGO n'a pas émis de recommandation concernant le traitement anticoagulant à adopter en cas de fibrillation auriculaire ou d'évènement thromboembolique [17]. Ainsi, les résultats de l'étude de notre

3^{ème} axe de recherche pourraient suggérer l'utilisation d'AOD plutôt que celle d'AVK après transplantation rénale chez les patients nécessitant un traitement anticoagulant et présentant un risque fracturaire élevé, et ce dans le respect des indications et des contre-indications des AOD. Néanmoins, nous avançons cette suggestion avec précaution dans la mesure où des études complémentaires sont indispensables pour confirmer à la fois la sécurité des AOD après transplantation rénale et l'association entre l'exposition aux AVK et le risque de fractures dans cette population.

III. Pharmacopidemiologie

Afin de répondre aux questions posées aux 2^{ème} et 3^{ème} axes de cette thèse, nous avons réalisé des études pharmacopidemiologiques qui imposent une méthodologie rigoureuse, et dont l'application peut être difficile. La pharmacopidemiologie est une discipline relativement jeune faisant le lien entre deux disciplines beaucoup plus anciennes, la pharmacologie et l'épidémiologie. Il s'agit de l'étude observationnelle des bénéfices et des risques liés à l'utilisation des médicaments après leur mise sur le marché (en conditions réelles d'utilisation), empruntant les méthodes et le raisonnement de l'épidémiologie, réalisée généralement sur de grandes populations [314].

Au cours des deux dernières décennies, les études pharmacopidemiologiques ont connu une croissance importante [315], stimulée par un certain nombre de facteurs, tels que la prise de conscience d'être davantage proactif en matière de pharmacovigilance, la nécessité de mieux comprendre la population cible des médicaments et la nécessité de fournir des données concernant la sécurité des médicaments. En effet, même si les études de phase III du développement du médicament (bien souvent des essais randomisés contrôlés en double aveugle) sont très robustes pour évaluer l'efficacité des médicaments, elles sont moins aptes à évaluer les EIM en raison d'un nombre de patients inclus trop limité, d'une population hautement sélectionnée (exclusion de patients polyopathologiques et/ou recevant plusieurs médicaments et exclusion de certaines populations telles que les enfants, les insuffisants rénaux, les sujets âgés et les femmes enceintes ou allaitantes) et de périodes de suivi trop courtes [316]. De plus, cette croissance est très probablement liée à la médiatisation d'un certain nombre de problèmes de sécurité du médicament, tels que l'affaire Vioxx® [317], celle du Mediator® [318], ou plus récemment concernant les vaccins contre la COVID-19 [319].

En revanche, les études pharmacopidemiologiques sont confrontées à des facteurs de confusion pouvant être plus importants et plus difficiles à contrôler que celles des autres branches de l'épidémiologie. En effet, il existe de nombreux facteurs influençant l'utilisation d'un médicament

pouvant aboutir à des biais de confusion spécifiques de ce type d'études, tels que le biais d'indication (lorsqu'un médicament est prescrit préférentiellement à des patients ayant un risque plus élevé (ou plus faible) de présenter l'évènement considéré) pouvant induire une mauvaise interprétation des résultats. Par exemple, dans l'étude de notre 2^{ème} axe de recherche, l'arrêt précoce des corticostéroïdes après transplantation rénale n'est pas décidé de façon aléatoire mais est guidé principalement par le risque immunologique de rejet du greffon. Cette immunisation anti-HLA résulte majoritairement d'antécédents de transfusions sanguines, de grossesses, de transplantations antérieures, de certaines vaccinations telles que celle contre l'hépatite B, d'intradermoréactions à la tuberculine ou d'infections passées [320]. Ainsi, ces facteurs (induisant une immunisation anti-HLA et guidant ainsi l'arrêt ou la poursuite de la corticothérapie) pourraient avoir un impact direct ou indirect (reflétant un état pathologique) sur la fragilité osseuse indépendamment de la corticothérapie. Ceci contraste avec les essais contrôlés randomisés où le traitement est attribué de façon aléatoire, permettant de s'affranchir de ce type de biais. Ainsi, les sources de données et les méthodes statistiques employées sont conditionnées par la question de recherche.

Deux grandes sources de données peuvent être utilisées en pharmacoépidémiologie. Premièrement, les données déjà collectées à d'autres fins, telles que les bases de données médicales et administratives, sont largement employées en pharmacoépidémiologie. Par exemple, en France, le Système National des Données de Santé (SNDS), géré par la Caisse Nationale de l'Assurance Maladie des Travailleurs Salariés, permet de chainer les données de plusieurs sources : celles du Système National d'Information Inter-Régime de l'Assurance Maladie, du Programme de Médicalisation des Systèmes d'Information ou encore des Maisons Départementales des Personnes Handicapées [321]. Ces bases de données contiennent des informations démographiques, sur les prescriptions, sur les pathologies sous-jacentes et sur certaines comorbidités. Le principal avantage de ce type de base est l'exploitation de données à l'échelle nationale, permettant d'obtenir une importante puissance statistique et une bonne validité externe des résultats. En revanche, certaines informations parfois essentielles ne sont pas renseignées, dans la mesure où ces données n'ont pas été collectées dans un but de recherche. Par exemple, le tabagisme, l'exposition à l'alcool ou encore l'IMC ne sont pas renseignés alors qu'ils représentent un facteur de risque important d'ostéoporose. De plus, les données biologiques ne sont pas renseignées et il n'existe pas de sérothèque nationale reliée à ces données [321]. Ainsi, la réalisation d'étude de terrain *via* la constitution d'une cohorte, deuxième grande source de données utilisée en pharmacoépidémiologie, était la méthodologie la plus appropriée aux objectifs de cette thèse.

Concernant les méthodes statistiques, comme développé précédemment, il peut être difficile de trouver un groupe comparateur pour les études pharmacoépidémiologiques, notamment les

études s'intéressant aux EIM telles que celles réalisées pour répondre aux objectifs de nos 2^{ème} et 3^{ème} axes de recherche. Ainsi, la pharmacoépidémiologie est devenue un domaine riche pour le développement et l'application de méthodologies visant à gérer les facteurs de confusion qui peuvent survenir lorsque les patients ne sont pas randomisés [322]. Elles comprennent l'utilisation de scores de propension (SP) où la probabilité conditionnelle qu'un patient reçoive un traitement est calculée en fonction des données disponibles. Le SP est obtenu par régression logistique où la variable explicative est l'exposition (ou non) au médicament d'intérêt et où les covariables sont (i) les facteurs associés à l'exposition du médicament ($p < 0,02$) et (ii) les facteurs associés au critère de jugement principal ($p < 0,02$). Par exemple, dans l'article du 2^{ème} axe de recherche, la variable explicative était l'arrêt précoce (ou non) de la corticothérapie, et les covariables étaient (i) les facteurs associés à l'arrêt précoce (ou non) de la corticothérapie et (ii) les facteurs associés aux variations de la DMO. Une fois le SP (compris entre 0 et 1) calculé, celui-ci peut être utilisé de différentes manières. Les deux méthodes les plus fréquemment utilisées (afin de constituer 2 groupes comparables) sont l'appariement et la pondération inverse de la probabilité de traitement (*inverse probability-of-treatment weighting* (IPTW)). L'un des inconvénients majeurs de l'appariement est l'exclusion de sujets ne pouvant être appariés, ce qui a pour conséquences une perte d'informations et une perte de puissance statistique. Nous avons donc opté pour l'IPTW qui présente comme principal avantage la prise en considération de la quasi-totalité de la population d'étude (bien que l'exclusion de contrefactuels soit possible mais en nombre limité) et qui aboutit à une distribution de probabilité de recevoir le traitement d'intérêt (ou non) de façon similaire au sein de la population pondérée. Cette pseudo-population permettrait aux études observationnelles d'être conçues de la même manière que les essais contrôlés randomisés [323], même s'il faut garder à l'esprit que le SP ne contient que des informations sur les facteurs de confusion identifiés et mesurés [324,325].

D'autres méthodologies permettent de limiter les facteurs de confusion liés à l'absence de randomisation (en particulier le biais d'indication) telles que les études cas-croisés [326] et les séries de cas autocontrôlées [327], et ces méthodes peuvent constituer une alternative puissante aux modèles plus traditionnels. Dans une étude de type cas-croisé, chaque cas est son propre témoin et l'exposition d'un sujet dans un délai proche de l'événement (période cas) est comparée avec celle d'une période pendant laquelle ce même sujet ne présentait pas l'événement (période témoin). Ce type d'étude ne prend en considération que les cas : les sujets ayant fait l'EIM sont sélectionnés et un intervalle de temps dans la période juste avant l'évènement et un intervalle de temps dans une période antérieure et éloignée de l'évènement sont choisis [326,328]. Dans les séries de cas autocontrôlées, le patient est à la fois exposé et non exposé. On compare l'incidence d'un EIM entre une période à risque (post exposition au médicament) et une période contrôle antérieure [327]. Cependant, ces designs

exigent que certaines hypothèses soient respectées pour être valides, et leur utilisation doit donc être soigneusement étudiée. En ce qui concerne les études cas-croisés, ce modèle s'applique mieux si l'exposition est transitoire, si l'évènement est aigu et si le risque associé à l'exposition augmente et diminue rapidement [326]. Ce design ne pouvait pas être appliqué aux études de nos 2^{ème} et 3^{ème} objectifs puisque l'exposition aux médicaments d'intérêt n'était pas transitoire et que le risque de l'exposition aux médicaments d'intérêt (fractures et/ou variations des paramètres de DXA) ne variait pas rapidement. En ce qui concerne les séries de cas autocontrôlées, il faut des évènements rares et/ou récurrents, une indépendance entre 2 évènements s'ils sont récurrents, une exposition intermittente et une mortalité à court terme non modifiée par les évènements [327]. Ce type de design ne pouvait pas non plus s'appliquer aux études de nos 2^{ème} et 3^{ème} objectifs puisque l'exposition aux médicaments d'intérêt n'était pas transitoire.

Une autre difficulté inhérente aux études pharmacoépidémiologiques longitudinales est la prise en considération des périodes d'exposition aux médicaments qui peuvent varier au cours du temps. La première difficulté est la définition de l'exposition où il est essentiel de définir des périodes de traitement qui reflètent l'exposition réelle des sujets, c'est-à-dire qui présentent le moins d'erreurs de classification possible. Dans les études pharmacoépidémiologiques réalisées sur des bases médico-administratives, les informations concernant la durée réelle des traitements pris ne sont pas toujours disponibles ce qui peut conduire à des lacunes temporelles, ou *a contrario* à des chevauchements entre plusieurs prescriptions [329,330]. La construction d'une cohorte rétrospective nous a permis de nous affranchir de ces biais dans la mesure où la quasi-exhaustivité des traitements reçus par les patients était renseignée par l'intermédiaire d'ordonnances informatisées reprenant l'ensemble du traitement des patients, au moment des grands bilans et également lors des consultations intermédiaires. Néanmoins, nous ne pouvons certifier que les patients étaient pleinement observants (ou *a contrario* s'ils prenaient des traitements en automédication), ce qui est de façon générale très difficile à vérifier. La deuxième difficulté est la construction de modèles prenant en compte les périodes d'exposition aux médicaments pouvant varier dans le temps. Ainsi, nous avons construit des modèles de Cox incluant les médicaments comme covariables dépendantes du temps [331] ajustés sur un SP pour répondre au 1^{er} objectif de notre 3^{ème} axe de recherche (critère de jugement : fracture incidente) et des modèles linéaires mixtes incluant également les médicaments comme covariables dépendantes du temps [332] pour répondre au 2^{ème} objectif de notre 3^{ème} axe de recherche (critères de jugement : variations des T-scores au cours du temps). La limite de nos modèles est l'absence de prise en compte de facteurs de confusion dépendants du temps [329]. En effet, dans les modèles de Cox avec covariables dépendantes du temps ajustés sur un SP, ce dernier a été construit sur les variables disponibles à l'inclusion et non pas sur des variables dépendantes du temps. Par exemple, concernant l'exposition aux AVK,

l'indication de ce traitement (fibrillation auriculaire, évènement thromboembolique etc.) peut représenter un facteur de confusion dépendant du temps (si l'AVK est prescrit à distance de la transplantation). Néanmoins, il n'est pas évident que les indications des médicaments inducteurs d'ostéoporose étudiés représentent des facteurs de confusion, c'est-à-dire des facteurs de risque de fragilité osseuse. Quoi qu'il en soit, un SP variant dans le temps peut être utilisé mais à condition que les facteurs de confusion ne soient pas également des facteurs intermédiaires entre l'exposition et l'évènement [329]. Par exemple, si on s'intéresse à l'association entre les médicaments antidiabétiques et les évènements cardiovasculaires, la glycémie représente un facteur de confusion (une glycémie élevée, reflétant la sévérité du diabète, influence le risque d'évènements cardiovasculaires indépendamment du traitement antidiabétique) mais également un facteur intermédiaire (le traitement antidiabétique influence la glycémie qui elle-même influence la survenue d'un évènement cardiovasculaire). Dans ce cas, le SP variant dans le temps fournit des estimations biaisées. Un ajustement sur un tel SP sous-estimera ou surestimera l'effet total de l'exposition sur l'évènement car l'ajustement sur les variables intermédiaires élimine de l'estimation l'effet indirect que l'exposition a sur l'évènement en passant par la variable intermédiaire [333]. Afin de pallier aux problèmes des covariables dépendantes du temps étant à la fois des facteurs de confusion et des facteurs intermédiaires, le développement de nouveaux modèles propres à l'épidémiologie peuvent être utilisés, à savoir les modèles structuraux marginaux [334].

IV. Traitements anti-ostéoporotiques après transplantation rénale

Au-delà de l'identification de facteurs de risque afin de prévenir la survenue de fractures après transplantation rénale, l'utilisation de traitements anti-ostéoporotiques semble essentielle en cas de risque fracturaire important. Les recommandations KDIGO préconisent que les transplantés ayant un DFG > 30 ml/min/1,73m² et une DMO basse reçoivent de la vitamine D, du calcitriol ou des bisphosphonates dans les 12 premiers mois suivant la transplantation [28].

Dans l'étude de notre 3^{ème} axe de recherche, nous n'avons pas mis en évidence d'effet protecteur de la vitamine D ou des bisphosphonates en termes de fractures après transplantation rénale. Nous avons uniquement mis en évidence une association positive entre l'exposition aux bisphosphonates et les T-scores au poignet au cours du temps. Ces résultats sont cohérents avec les données de la littérature où les interventions thérapeutiques avec les médicaments anti-ostéoporotiques commercialisés sont globalement décevantes en termes d'efficacité anti-fracturaire.

Ainsi, l'organisation KDIGO estime que les données sont insuffisantes pour guider le traitement après la première année suivant la transplantation [28].

Concernant la vitamine D dont la carence est fréquente après transplantation rénale [246], sa supplémentation par cholécalciférol augmente les concentrations sériques en 25(OH) vitamine D et diminue les concentrations plasmatiques en PTH [335,336]. Plusieurs études n'ont pas montré de gain significatif de DMO après supplémentation en vitamine D dans cette population [337–340]. Dans deux études, le paricalcitol (analogue du VDR) a montré une efficacité (comparativement au placebo) concernant la DMO au rachis lombaire ($-2,6 \pm 5\%$ contre $-5,0 \pm 5\%$ respectivement; $p < 0,002$) et au col fémoral ($-0,22 \pm 6\%$ contre $-4,0 \pm 6\%$ respectivement; $p < 0,001$) à 6 mois après la transplantation dans la première étude [341] et au niveau du col fémoral ($+5\%$ contre $+1\%$ respectivement; $p = 0,03$) et au radius distal ($+3\%$ contre -2% respectivement; $p = 0,03$) à 1 an après la transplantation dans la seconde étude [342]. Les résultats récemment publiés d'un critère de jugement secondaire d'un essai clinique contrôlé randomisé ont également montré un gain de DMO au rachis lombaire de 1,7% [IC95% : 0,1–3,3] chez 92 patients ayant reçu 11 mois de cholécalciférol (traitement débuté 1 mois après la transplantation rénale), comparativement aux 95 patients ayant reçu un placebo [336]. En revanche, il n'y a aucune preuve suggérant que la supplémentation en vitamine D réduise le risque de fracture comme le souligne une publication récente de l'*American College of Nephrology* [343].

Les bisphosphonates, augmentant la DMO en diminuant le remodelage osseux par inhibition des fonctions ostéoclastiques en population générale, sont une classe de médicaments anti-résorptifs. Leurs effets inhibiteurs du remodelage osseux et ainsi le risque théorique d'induire une OA ont conduit à une controverse quant à leur utilisation après transplantation rénale. Quatre études, incluant un faible nombre de patients transplantés, se sont focalisées sur ce risque au moyen de biopsies osseuses. La première étude a évalué l'histomorphométrie osseuse chez 6 patients ayant reçu du pamidronate pendant 12 mois après la transplantation et chez 12 témoins. Les 6 patients ayant reçu du pamidronate (dont la moitié présentait au préalable une OA) ont tous développé une OA, contre la moitié des témoins [344]. Dans la deuxième étude, aucune OA ne s'est développée chez 7 patients ayant reçu de l'acide zolédronique par rapport à 6 témoins au cours des 6 premiers mois suivant la transplantation [345]. Dans la troisième étude, 16 patients ont reçu du risédronate dans les 12 premiers mois suivant la transplantation, contre 13 témoins. Aucun patient n'a présenté d'OA ou de troubles de minéralisation [346]. Plus récemment, Marques *et al.* ont réalisé une étude histomorphométrique osseuse de 32 patients transplantés, montrant que l'acide zolédronique n'induisait pas d'OA [271]. Les données de la littérature sont contradictoires en ce qui concerne les effets des bisphosphonates sur la DMO. De plus, il n'y a aucune preuve de leur efficacité anti-fracturaire chez les patients transplantés. Les résultats d'une méta-analyse portant sur 12 études incluant 621 patients transplantés et ayant

reçu un bisphosphonate montraient que les bisphosphonates étaient associés à une augmentation de la DMO au col fémoral (+0,055 g/cm²; IC95% : 0,01–0,10) et au rachis lombaire (+0,053 g/cm²; IC95% : 0,03–0,07). Cependant, les taux de fractures étaient similaires entre les groupes. Par ailleurs, aucun effet indésirable rénal n'a été rapporté [347]. Une revue de la Cochrane de 2019 portant sur des essais contrôlés randomisés a montré que les bisphosphonates administrés pendant une durée médiane de 12 mois après la transplantation n'étaient ni associés à une augmentation significative de la DMO au rachis lombaire ou à la hanche, ni associés à une réduction du risque de fractures (risque relatif : 0,62; [IC95%] 0,38–1,01) [337]. Les données sur l'utilisation des bisphosphonates sont limitées aux 12 premiers mois suivant la transplantation. Aucune étude spécifique n'a évalué les changements histomorphométriques ou l'incidence fracturaire au-delà de cette période.

Le dénosumab, médicament anti-résorptif puissant, est un anticorps monoclonal dirigé contre le RANKL, inhibant ainsi la prolifération et l'activité des ostéoclastes. Contrairement aux bisphosphonates, le dénosumab a l'avantage de ne pas être éliminé par voie rénale et n'entraîne donc pas de risque de suppression excessive du remodelage osseux en raison d'une accumulation [348]. Un essai prospectif randomisé en ouvert incluant 90 patients a évalué l'efficacité du dénosumab comparativement à un placebo chez des transplantés rénaux *de novo*. A un an de traitement, la DMO au rachis lombaire et à la hanche totale avait significativement augmenté dans le groupe dénosumab comparativement au groupe placebo (différences intergroupes : +5,1%, $p < 0,001$ et +1,9%, $p = 0,04$, respectivement). L'étude n'était pas assez puissante pour évaluer l'efficacité anti-fracturaire [349]. Il n'existe pas d'essais contrôlés randomisés évaluant l'effet du dénosumab au-delà de la première année de transplantation. Cependant, une étude prospective monocentrique et observationnelle incluant 18 patients transplantés rénaux *de novo*, s'intéressant à l'hypocalcémie et à l'hyperparathyroïdie induites par le dénosumab, a montré un gain de DMO de 1,74% au rachis lombaire et de 0,25% au fémur à 15 mois du traitement [350]. De plus, une étude rétrospective portant sur 63 patients ostéoporotiques à $6,4 \pm 6,3$ ans d'une transplantation d'organes solides (dont 49 transplantations rénales), a montré que l'utilisation du dénosumab pendant $1,65 \pm 0,7$ an a entraîné une amélioration des T-scores au rachis lombaire et au col fémoral [351]. Un essai clinique multicentrique de phase 2 dont l'objectif était d'évaluer les variations de DMO et des paramètres de la HR-pQCT à un an de la transplantation rénale (40 patients dans le groupe dénosumab et 20 patients dans le groupe placebo) n'a malheureusement pas pu aboutir (NCT03960554) [352]. De façon similaire aux bisphosphonates, l'utilisation du dénosumab pourrait aboutir à une OA mais aucune donnée histomorphométrique n'est disponible. De plus, il convient de garder à l'esprit que suite à l'arrêt du dénosumab, il existe une baisse brutale de la DMO au rachis engendrant un risque élevé de fractures vertébrales [353]. Ce phénomène doit être anticipé en relayant le dénosumab par un bisphosphonate [354,355].

Le tériparatide (rhPTH(1-34)) est un peptide recombinant correspondant à la séquence active (1-34) de la PTH. En population générale, la durée maximale de ce traitement est limitée à 24 mois, mais il n'est remboursé que pour une utilisation de 18 mois en France. Un seul essai contrôlé randomisé en double aveugle a évalué l'efficacité du tériparatide après transplantation rénale [356]. Douze patients ont reçu du tériparatide pendant 6 mois et 12 patients ont reçu un placebo. La DMO (au rachis lombaire et au radius distal) ne différait pas à 6 mois de traitement (comparativement à celle réalisée à baseline), à la fois dans le groupe placebo et également dans le groupe traité par tériparatide. Au fémur, la DMO à 6 mois était stable (par rapport à celle réalisée à baseline) dans le groupe tériparatide, mais diminuait significativement (-7%, $p < 0,05$) dans le groupe placebo. Des données histomorphométriques étaient disponibles chez 6 participants de chaque groupe. Le tériparatide a permis à 3 patients sur 5 (présentant une OA en début d'étude) d'avoir un niveau de remodelage osseux plus élevé [356].

Le romosozumab est un anticorps monoclonal anti-sclérostine qui se lie à SOST pour inhiber son action et ainsi promouvoir la voie Wnt [357]. Son efficacité a été démontrée dans 3 grands essais cliniques de phase 3 chez la femme ménopausée (études FRAME [358] et ARCH [359]) et chez l'homme (étude BRIDGE [360]). Déjà commercialisé aux Etats-Unis et au Japon, ce médicament a obtenu l'Autorisation de Mise sur le Marché en Europe en décembre 2019 [361] et a reçu un avis favorable de la HAS au remboursement dans le traitement de l'ostéoporose post-ménopausique sévère, uniquement chez les femmes âgées de moins de 75 ans avec un antécédent de fracture sévère et en l'absence d'antécédent de coronaropathie [362], mais n'est pas encore commercialisé en France. Ce traitement a été très peu étudié dans la MRC et n'a pas été étudié après transplantation rénale. Dans des modèles de souris avec MRC avancée et présentant des concentrations plasmatiques élevées en PTH, il n'y avait aucune différence histomorphométrique ou micro-scannographique entre les souris *knock-out* pour le gène SOST et le groupe contrôle [363]. En revanche, dans une autre étude, les chercheurs ont étudié l'effet du romosozumab (en comparaison à l'acide zolédronique et à un placebo) dans un modèle de rats avec MRC dont la moitié présentait des concentrations plasmatiques élevées en PTH et l'autre moitié présentait des concentrations plasmatiques faibles en PTH (régime alimentaire riche en calcium). Le romosozumab a entraîné une augmentation du volume osseux trabéculaire et de la surface de minéralisation trabéculaire chez les rats avec des concentrations plasmatiques faibles en PTH, comparativement à ceux avec des concentrations plasmatiques élevées en PTH [364]. Il n'existe que peu d'études cliniques chez les patients présentant une MRC. Une étude post-hoc des études FRAME et ARCH a analysé l'efficacité et la sécurité du romosozumab dans la MRC légère à modérée. Les patients (qui présentaient une PTH normale car une PTH élevée était un critère de non inclusion des études FRAME et ARCH) ont été catégorisés en fonction de leur DFG : fonction rénale normale

(DFG > 90 ml/min), insuffisance rénale légère (DFG : 60-89 ml/min) ou modérée (DFG : 30-59 ml/min). Les résultats ont montré une tendance à la diminution de l'efficacité du romosozumab (en termes de DMO) de façon parallèle à l'aggravation de la fonction rénale [365]. Récemment, une étude de cohorte au Japon a porté sur 96 patients hémodialysés, présentant un risque élevé de fracture et traités par romosozumab pendant un an. La majorité des patients avaient reçu antérieurement un traitement par bisphosphonates. Les résultats de cette étude ont montré des augmentations significatives de la DMO au rachis lombaire (+15,3% ± 12,9) ainsi qu'au col fémoral (+7,2% ± 8,3) chez les patients traités par romosozumab, alors qu'une cohorte non traitée par romosozumab (n = 55) n'a montré aucun changement de DMO au rachis lombaire ou au col fémoral. En ce qui concerne la tolérance du traitement, l'hypocalcémie était fréquente chez les patients traités par romosozumab, mais elle était réversible et pouvait être traitée en augmentant les apports en vitamine D. Chez ces patients hémodialysés traités par romosozumab, les valeurs basales de PTH étaient relativement peu élevées (152,3 ± 172,0 pg/ml), suggérant une hyperparathyroïdie secondaire très bien contrôlée, qui a pu contribuer à atténuer l'effet hypocalcémiant du romosozumab. Par rapport à la cohorte témoin, aucune augmentation significative d'événements cardiovasculaires n'a été observée chez les patients traités par romosozumab [366]. Aucune donnée clinique de l'utilisation du romosozumab n'est disponible chez les patients après transplantation rénale.

V. Limites et forces des travaux de thèse

A. Premier axe de recherche

L'une des principales forces de cette étude est la documentation quasi exhaustive des facteurs de risque d'ostéoporose connus en population générale et des facteurs de risque de fragilité osseuse connus chez les patients transplantés, permettant de limiter le biais de confusion. Un autre point fort de cette étude est la méthode de dosage des TU qui a été précédemment mise au point et validée au sein du laboratoire de pharmacologie/toxicologie du CHU Amiens-Picardie [282].

L'une des limites est l'étude de 7 TU sur des dizaines connues. Cependant, les TU liées aux protéines étudiées et le TMAO sont les plus importantes en termes de toxicité. Par ailleurs, le choix de la DMO comme critère de jugement principal n'était pas forcément le plus approprié. L'utilisation des paramètres d'histomorphométrie osseuse aurait probablement été plus adaptée, mais les résultats de biopsies osseuses n'étaient pas disponibles chez les patients de notre cohorte. De plus, les concentrations en TU étaient très élevées dans l'ensemble de notre population d'étude au moment de

la transplantation, ce qui a pu nous empêcher de détecter un impact négatif sur la DMO. Finalement, très peu de patients ($n = 4$) ont présenté une fracture au cours des deux années de suivi, ce qui a abouti à une très faible puissance statistique pour évaluer le deuxième objectif.

B. Deuxième axe de recherche

L'une des principales forces de cette étude est également la documentation quasi exhaustive des facteurs de risque d'ostéoporose connus en population générale et des facteurs de risque de fragilité osseuse connus chez les patients transplantés, permettant de limiter le biais de confusion.

Un autre point fort de cette étude est l'utilisation de l'IPTW calculé à partir d'un SP. Cette approche permet de créer une pseudo-population au cours d'études observationnelles, proche de la population randomisée des essais cliniques, réduisant ainsi les biais de confusion résiduelle et de classification.

L'une des limites de cette étude est le faible nombre de fractures incidentes aboutissant à une faible puissance statistique pour l'analyse de l'objectif secondaire, ce qui nous a probablement empêché d'observer une différence intergroupe. De plus, la période de suivi d'une année était probablement trop courte pour étudier de façon optimale l'incidence fracturaire.

Une autre limite est l'utilisation des résultats de DXA à M1 après transplantation rénale comme référence. En effet, les patients de notre cohorte ne bénéficiaient pas de DXA le jour de la transplantation (ce qui est difficile à mettre en œuvre en pratique courante) et les résultats de DXA dont nous disposions avant la transplantation n'ont pas pu être exploités car ils n'étaient pas disponibles systématiquement pendant la période de dialyse, et lorsqu'ils étaient disponibles, les intervalles de temps entre la réalisation de la DXA en période de dialyse et la transplantation étaient très variables. Néanmoins, nous considérons que la DMO à M1 après transplantation était probablement similaire à celle à M0 au moment de la transplantation car (i) les concentrations en PTH, phosphate, calcium, calcitriol et FGF23 se stabilisent dans les 3 à 12 mois suivant la transplantation [248,367] et (ii) la perte osseuse induite par les corticostéroïdes semble être maximale 3 à 6 mois après le début du traitement [368,369].

Par ailleurs, compte tenu de la moyenne d'âge de notre population ($50,9 \pm 13,2$ ans), l'utilisation du Z-score aurait pu être plus appropriée que celle du T-score, mais ces données étaient souvent manquantes, étant donné que les données de DXA ont été principalement recueillies à partir de comptes rendus de consultation.

Enfin, il s'agit d'une étude observationnelle rétrospective et monocentrique, comportant plusieurs autres biais tels qu'un biais de recrutement et de perdus de vue puisque les patients n'ayant pas eu une DXA à M1 et M12 après transplantation rénale n'étaient pas inclus.

C. Troisième axe de recherche

La principale force de cette étude est l'utilisation de modèles de Cox avec des covariables dépendantes du temps et de modèles mixtes linéaires permettant de prendre en compte les différentes périodes d'exposition aux médicaments. En effet, une simple dichotomie des patients considérés comme "exposés" ou "non exposés" pendant la période d'étude aurait conduit à une perte d'information et n'aurait pas reflété la pratique clinique. Cependant, un manque de puissance statistique nous a empêché de construire des modèles de Cox multivariés incluant tous les facteurs de risque de fragilité osseuse connus, pouvant aboutir à une augmentation du biais de confusion résiduelle.

Un autre point fort est le recueil exhaustif des données de façon générale et en particulier les périodes d'exposition aux médicaments, puisque la quasi-exhaustivité des ordonnances étaient disponibles. En revanche, nous ne pouvons pas certifier que les patients étaient pleinement observants ou qu'ils n'avaient pas recours à l'automédication. Par ailleurs, nous n'avons pas recueilli la posologie des médicaments ce qui nous a empêché d'analyser les doses cumulées.

Un autre point fort est la très faible proportion de données manquantes, pour lesquelles nous avons néanmoins effectué des imputations multiples selon une méthode validée. Malgré la prise en compte de la grande majorité des facteurs de risque d'ostéoporose, nous avons constaté que le statut ménopausique et la présence ou l'absence d'antécédents familiaux d'ostéoporose étaient peu documentés dans les dossiers médicaux et n'ont donc pas été inclus dans les analyses. De plus, les facteurs de risque d'ostéoporose modifiables (tels que l'IMC, le tabagisme, la consommation d'alcool et la sédentarité) n'ont été pris en compte qu'au début de l'étude, les changements ultérieurs dans le temps n'ont pas été pris en compte.

Par ailleurs, compte-tenu du manque de données dans la littérature, nous n'avons pas pris en considération de possibles effets délétères osseux persistants après l'arrêt des médicaments. Cette absence de prise en compte aurait pu conduire à des résultats faussement positifs (protecteurs) pour certaines classes de médicaments. Par exemple, une fracture survenue après l'arrêt d'un médicament d'intérêt (alors que les effets toxiques du médicament sur l'os pourraient persister), n'a pas été considérée dans la période d'exposition de ce médicament. Bien que nous n'ayons pas observé ce type

de résultats (effet protecteur), il est possible que l'effet toxique de certaines classes de médicaments ait été sous-estimé.

De plus, il est possible que nous n'ayons pas identifié de manière exhaustive toutes les fractures incidentes et notamment les fractures asymptomatiques des vertèbres thoraciques hautes ou moyennes. En effet, certaines fractures vertébrales lombaires ou thoraciques basses ont été documentées de manière fortuite sur les scanners abdominopelviens réalisés tous les 2 ans. Sur ces scanners, cependant, les vertèbres n'étaient visibles que jusqu'à Th7 ou Th8. Il est beaucoup moins probable que toutes les fractures périphériques n'aient pas été identifiées, puisqu'il s'agit de fractures symptomatiques documentées lors des grands bilans annuels.

Cette étude avait d'autres limites tels que le biais de perdu de vue, le biais de compétition dans les modèles de Cox (les patients décédés étaient censurés) et les limites liées à la conception observationnelle, rétrospective et monocentrique de l'étude, nous empêchant de constituer des groupes comparables et de généraliser nos résultats.

VI. Perspectives

A. Rôle des toxines urémiques liées aux protéines plasmatiques dans les TMO-MRC

Au cours de ces travaux de thèse, nous nous sommes focalisés sur une population de patients avec un greffon fonctionnel, et non pas chez des patients ayant une altération de la fonction du greffon nécessitant un retour en dialyse, et chez qui il existe une nouvelle accumulation de TU liées aux protéines plasmatiques [286]. Ainsi, il est tout à fait possible de créer une cohorte à partir de celle que nous avons constitué, à savoir une cohorte de patients transplantés qui retournent en dialyse, et ainsi d'évaluer l'association entre une nouvelle accumulation de TU liées aux protéines plasmatiques et (i) les variations de DMO et (ii) les fractures incidentes, selon la même méthodologie que l'étude de notre 1^{er} axe de recherche. Cette hypothèse de recherche n'a jamais été testée à notre connaissance.

B. Médicaments inducteurs d'ostéoporose

A notre connaissance, l'étude de notre 3^{ème} axe de recherche est la seule à avoir analysé l'association entre les médicaments potentiellement inducteurs d'ostéoporose et/ou de fractures en population générale et fréquemment prescrits après transplantation rénale, et les fractures incidentes

et les variations de la DMO après transplantation rénale. Comme nous l'avons développé dans le paragraphe III de ce chapitre, les études pharmacoépidémiologiques sont complexes et leurs résultats nécessitent d'être confirmés par d'autres études. Ainsi, il est tout à fait envisageable de confirmer nos résultats sur la base de données du SNDS (paragraphe III de ce chapitre).

C. Evaluation des traitements anti-ostéoporotiques dans le cadre des TMO-MRC

Comme l'indique l'organisation KDIGO, les données actuelles sont insuffisantes pour guider le traitement après la première année suivant la transplantation rénale [28]. Par ailleurs, comme nous l'avons vu dans le paragraphe IV de ce chapitre, l'efficacité des thérapeutiques anti-ostéoporotiques actuelles n'est pas satisfaisante en termes de prévention de fractures. Néanmoins, dans bon nombre d'études, le niveau de remodelage osseux n'était pas pris en considération pour guider le choix thérapeutique. Compte-tenu des données actuelles développées dans le paragraphe IV de ce chapitre, il serait légitime de proposer, en cas de risque fracturaire élevé (particulièrement en cas de T-score bas et/ou d'antécédent de fracture), un traitement spécifique anti-ostéoporotique en fonction des marqueurs du remodelage osseux. En cas de faible remodelage osseux, un traitement anabolisant (tériparatide ou romosozumab) pourrait avoir une indication préférentielle, et en cas de remodelage osseux à haut niveau, un traitement anti-résorptif (bisphosphonates ou dénosumab) pourrait être envisagé. Néanmoins, un nombre très important de patients serait nécessaire pour étudier l'efficacité de ces traitements en fonction du remodelage osseux. Un programme hospitalier de recherche clinique pourrait cependant être envisagé pour répondre à ces objectifs, et il pourrait également inclure l'évaluation de la HR-pQCT et du score FRAX® en tant qu'outils prédictifs du risque de fracture, mais aussi confirmer (ou infirmer) les résultats de l'étude de notre 3^{ème} axe de recherche par le recueil et l'analyse de l'ensemble des médicaments pris par les patients.

D. Evaluation de l'ostéoporose induite par les corticostéroïdes dans d'autres populations

Comme nous l'avons vu précédemment (Chapitre I, Paragraphe II.C.2.f.), la corticothérapie systémique est associée à un risque important d'ostéoporose et de fracture. En revanche, peu de données sont disponibles concernant l'ostéoporose induite par les dermocorticoïdes. Cette classe médicamenteuse est indiquée dans de nombreuses pathologies dermatologiques [370] et a des EIM bien décrits dans la littérature sur le plan local tels que l'atrophie cutanée, l'hypopigmentation, le purpura, les télangiectasies, mais également sur le plan général, en raison d'un passage systémique,

tels que le syndrome de Cushing, l'intolérance au glucose, la cataracte, la répression de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien et l'hypertension artérielle [371].

Nous avons donc voulu étudier l'association entre l'exposition aux dermocorticoïdes et les variations de DMO et la survenue de fractures au moyen d'une méthodologie plus rigoureuse. Nous avons ainsi soumis un projet de recherche clinique impliquant la personne humaine (type I) à un appel d'offre local (appel à l'urgence, GIRCI Nord-Ouest) qui a été accepté et qui a obtenu l'avis favorable du Comité de Protection des Personnes (Numéro EudraCT : 2018-003953-46). Nous avons choisi une population de patients atteints de pemphigoïde bulleuse (protocole DERMOS, « Influence des dermocorticoïdes sur la densité minérale osseuse chez les patients atteints de pemphigoïde bulleuse ») puisque l'exposition aux dermocorticoïdes est standardisée dans cette population (fortes doses de dermocorticoïdes de classe IV sur toute la surface corporelle pendant plusieurs mois [372]). Dans cette étude prospective bicentrique (CHU Amiens-Picardie et CHU de Rouen), chaque patient est son propre témoin. Une ostéodensitométrie est réalisée à l'inclusion, puis à 3 mois et à 6 mois de l'introduction des dermocorticoïdes. Le nombre de patients à inclure est de 50. Les inclusions sont en cours.

VII. Conclusion

Ce travail a permis d'apporter de nouvelles connaissances sur la fragilité osseuse après transplantation rénale, et particulièrement celle induite par les médicaments.

L'accumulation des TU liées aux protéines plasmatiques en période de dialyse ne semble pas influencer la fragilité osseuse après transplantation rénale en termes de DMO et ne semble pas être prédictive de survenue de fractures après transplantation rénale. Néanmoins, une nouvelle accumulation de ces TU en cas d'altération de la fonction du greffon pourrait être délétère pour l'os.

L'exposition aux corticostéroïdes semble être un facteur de risque important et potentiellement modifiable de diminution de la DMO après transplantation rénale, pouvant engendrer un risque fracturaire élevé. Lorsque cela est possible, un arrêt de la corticothérapie ou une minimisation des doses est souhaitable, pour limiter la toxicité osseuse mais également les autres complications liées à la corticothérapie au long cours.

L'exposition aux diurétiques de l'anse, aux opioïdes, et dans une moindre mesure aux AVK, semble être associée à un risque de fractures après transplantation rénale. De façon générale, une réévaluation des prescriptions est nécessaire dans cette population présentant une polymédication, afin de réduire les EIM mais également afin d'optimiser l'observance.

Afin de confirmer certains de nos résultats, des études complémentaires sur une population plus large sont nécessaires. En ce qui concerne l'exposition médicamenteuse, une étude sur les bases de données du SNDS permettrait d'augmenter considérablement la population d'étude mais sous peine d'une perte d'informations pouvant être capitales afin de maîtriser au mieux les facteurs de confusion. Une étude prospective multicentrique dans le cadre d'un programme hospitalier de recherche clinique permettrait de pallier à cet inconvénient, et également d'étudier d'autres facteurs prédictifs de fractures après transplantation rénale.

Références

- [1] Liabeuf S, Desjardins L, Massy ZA, Brazier F, Westeel PF, Mazouz H, et al. Levels of Indoxyl Sulfate in Kidney Transplant Patients, and the Relationship With Hard Outcomes. *Circ J* 2016;80:722–30. <https://doi.org/10.1253/circj.CJ-15-0949>.
- [2] Liabeuf S, Laville SM, Glorieux G, Cheddani L, Brazier F, Titeca Beauport D, et al. Difference in Profiles of the Gut-Derived Tryptophan Metabolite Indole Acetic Acid between Transplanted and Non-Transplanted Patients with Chronic Kidney Disease. *Int J Mol Sci* 2020;21. <https://doi.org/10.3390/ijms21062031>.
- [3] Poesen R, Evenepoel P, de Loor H, Bammens B, Claes K, Sprangers B, et al. The influence of renal transplantation on retained microbial-human co-metabolites. *Nephrol Dial Transplant* 2016;31:1721–9. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfw009>.
- [4] Muduma G, Hawken NA. The Economic Burden after Renal Transplantation in Europe. *Value in Health* 2016;19:A131. <https://doi.org/10.1016/j.jval.2016.03.1862>.
- [5] Wang V, Vilme H, Maciejewski ML, Boulware LE. The Economic Burden of Chronic Kidney Disease and End-Stage Renal Disease. *Seminars in Nephrology* 2016;36:319–30. <https://doi.org/10.1016/j.semnephrol.2016.05.008>.
- [6] Wolf M, Weir MR, Kopyt N, Mannon RB, Von Visger J, Deng H, et al. A Prospective Cohort Study of Mineral Metabolism After Kidney Transplantation. *Transplantation* 2016;100:184–93. <https://doi.org/10.1097/TP.0000000000000823>.
- [7] Way FM, Lessard M, Lafage-Proust M-H. Physiopathologie de l'ostéodystrophie rénale. *Revue du Rhumatisme* 2012;79:A18–21. [https://doi.org/10.1016/S1169-8330\(12\)70056-X](https://doi.org/10.1016/S1169-8330(12)70056-X).
- [8] Nii-Kono T, Iwasaki Y, Uchida M, Fujieda A, Hosokawa A, Motojima M, et al. Indoxyl sulfate induces skeletal resistance to parathyroid hormone in cultured osteoblastic cells. *Kidney Int* 2007;71:738–43. <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5002097>.
- [9] Tanaka H, Iwasaki Y, Yamato H, Mori Y, Komaba H, Watanabe H, et al. p-Cresyl sulfate induces osteoblast dysfunction through activating JNK and p38 MAPK pathways. *Bone* 2013;56:347–54. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2013.07.002>.
- [10] Tentori F, McCullough K, Kilpatrick RD, Bradbury BD, Robinson BM, Kerr PG, et al. High rates of death and hospitalization follow bone fracture among hemodialysis patients. *Kidney Int* 2014;85:166–73. <https://doi.org/10.1038/ki.2013.279>.
- [11] Ball AM, Gillen DL, Sherrard D, Weiss NS, Emerson SS, Seliger SL, et al. Risk of Hip Fracture Among Dialysis and Renal Transplant Recipients. *JAMA* 2002;288:3014–8. <https://doi.org/10.1001/jama.288.23.3014>.
- [12] Sidibé A, Auguste D, Desbiens L-C, Fortier C, Wang YP, Jean S, et al. Fracture Risk in Dialysis and Kidney Transplanted Patients: A Systematic Review. *JBMR Plus* 2019;3:45–55. <https://doi.org/10.1002/jbm4.10067>.
- [13] Gupta AK, Huang M, Prasad GVR. Determinants of bone mineral density in stable kidney transplant recipients. *J Nephrol* 2012;25:373–83. <https://doi.org/10.5301/jn.5000015>.
- [14] Unal A, Kocyigit I, Sipahioglu MH, Tokgoz B, Kavuncuoglu F, Oymak O, et al. Loss of bone mineral density in renal transplantation recipients. *Transplant Proc* 2010;42:3550–3. <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2010.07.106>.
- [15] Nikkel LE, Mohan S, Zhang A, McMahan DJ, Boutroy S, Dube G, et al. Reduced Fracture Risk With Early Corticosteroid Withdrawal After Kidney Transplant. *Am J Transplant* 2012;12:649–59. <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2011.03872.x>.
- [16] Bottomley MJ, Harden PN. Update on the long-term complications of renal transplantation. *British Medical Bulletin* 2013;106:117–34. <https://doi.org/10.1093/bmb/ldt012>.
- [17] Kasiske BL, Zeier MG, Chapman JR, Craig JC, Ekberg H, Garvey CA, et al. KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients: a summary. *Kidney Int* 2010;77:299–311. <https://doi.org/10.1038/ki.2009.377>.

- [18] Marienne J, Laville SM, Caillard P, Batteux B, Gras-Champel V, Masmoudi K, et al. Evaluation of Changes Over Time in the Drug Burden and Medication Regimen Complexity in ESRD Patients Before and After Renal Transplantation. *Kidney Int Rep* 2021;6:128–37. <https://doi.org/10.1016/j.ekir.2020.10.011>.
- [19] Florencio-Silva R, Sasso GR da S, Sasso-Cerri E, Simões MJ, Cerri PS. Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That Influence Bone Cells. *Biomed Res Int* 2015;2015:421746. <https://doi.org/10.1155/2015/421746>.
- [20] Alford AI, Kozloff KM, Hankenson KD. Extracellular matrix networks in bone remodeling. *Int J Biochem Cell Biol* 2015;65:20–31. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2015.05.008>.
- [21] NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy. Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. *JAMA* 2001;285:785–95. <https://doi.org/10.1001/jama.285.6.785>.
- [22] Dalle Carbonare L, Valenti MT, Bertoldo F, Zanatta M, Zenari S, Realdi G, et al. Bone microarchitecture evaluated by histomorphometry. *Micron* 2005;36:609–16. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2005.07.007>.
- [23] Moreira CA, Dempster DW. Chapter 19 - Histomorphometric analysis of bone remodeling. In: Bilezikian JP, Martin TJ, Clemens TL, Rosen CJ, editors. *Principles of Bone Biology (Fourth Edition)*, Academic Press; 2020, p. 445–67. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814841-9.00019-1>.
- [24] van den Bergh JP, Szulc P, Cheung AM, Bouxsein M, Engelke K, Chapurlat R. The clinical application of high-resolution peripheral computed tomography (HR-pQCT) in adults: state of the art and future directions. *Osteoporos Int* 2021;32:1465–85. <https://doi.org/10.1007/s00198-021-05999-z>.
- [25] Roux C. [Non-invasive method for measuring bone mineral density]. *Med Sci (Paris)* 2003;19:231–8. <https://doi.org/10.1051/medsci/2003192231>.
- [26] El Maghraoui A, Roux C. DXA scanning in clinical practice. *QJM* 2008;101:605–17. <https://doi.org/10.1093/qjmed/hcn022>.
- [27] Lewis MK, Blake GM, Fogelman I. Patient dose in dual x-ray absorptiometry. *Osteoporos Int* 1994;4:11–5. <https://doi.org/10.1007/BF02352255>.
- [28] Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Update Work Group. KDIGO 2017 Clinical Practice Guideline Update for the Diagnosis, Evaluation, Prevention, and Treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). *Kidney Int Suppl* (2011) 2017;7:1–59. <https://doi.org/10.1016/j.kisu.2017.04.001>.
- [29] Kanis JA. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis: synopsis of a WHO report. WHO Study Group. *Osteoporos Int* 1994;4:368–81.
- [30] Kanis JA, Melton LJ, Christiansen C, Johnston CC, Khaltaev N. The diagnosis of osteoporosis. *J Bone Miner Res* 1994;9:1137–41. <https://doi.org/10.1002/jbmr.5650090802>.
- [31] Schuit SCE, van der Klift M, Weel AE a. M, de Laet CEDH, Burger H, Seeman E, et al. Fracture incidence and association with bone mineral density in elderly men and women: the Rotterdam Study. *Bone* 2004;34:195–202.
- [32] Siris ES, Chen Y-T, Abbott TA, Barrett-Connor E, Miller PD, Wehren LE, et al. Bone mineral density thresholds for pharmacological intervention to prevent fractures. *Arch Intern Med* 2004;164:1108–12. <https://doi.org/10.1001/archinte.164.10.1108>.
- [33] Briot K, Roux C, Thomas T, Blain H, Buchon D, Chapurlat R, et al. 2018 update of French recommendations on the management of postmenopausal osteoporosis. *Joint Bone Spine* 2018;85:519–30. <https://doi.org/10.1016/j.jbspin.2018.02.009>.
- [34] Bouvard B, Briot K, Legrand E, Blain H, Breuil V, Chapurlat R, et al. Recommandations françaises de la prise en charge et du traitement de l'ostéoporose masculine. *Revue du Rhumatisme* 2021;88:173–82. <https://doi.org/10.1016/j.rhum.2021.02.024>.
- [35] Kanis JA, Johnell O, Oden A, Johansson H, McCloskey E. FRAX and the assessment of fracture probability in men and women from the UK. *Osteoporos Int* 2008;19:385–97. <https://doi.org/10.1007/s00198-007-0543-5>.

- [36] Baudoin C, Fardellone P, Thelot B, Juvin R, Potard V, Bean K, et al. Hip fractures in France: the magnitude and perspective of the problem. *Osteoporos Int* 1996;6 Suppl 3:1–10.
- [37] Grados F, Marcelli C, Dargent-Molina P, Roux C, Vergnol JF, Meunier PJ, et al. Prevalence of vertebral fractures in French women older than 75 years from the EPIDOS study. *Bone* 2004;34:362–7. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2003.11.008>.
- [38] Levy E. Cost analysis of osteoporosis related to untreated menopause. *Clin Rheumatol* 1989;8 Suppl 2:76–82.
- [39] Levy P, Levy E, Audran M, Cohen-Solal M, Fardellone P, Le Parc JM. The cost of osteoporosis in men: the French situation. *Bone* 2002;30:631–6.
- [40] Keene GS, Parker MJ, Pryor GA. Mortality and morbidity after hip fractures. *BMJ* 1993;307:1248–50.
- [41] Empana J-P, Dargent-Molina P, Bréart G, EPIDOS Group. Effect of hip fracture on mortality in elderly women: the EPIDOS prospective study. *J Am Geriatr Soc* 2004;52:685–90. <https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.2004.52203.x>.
- [42] Cummings SR, Melton LJ. Epidemiology and outcomes of osteoporotic fractures. *Lancet* 2002;359:1761–7. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(02\)08657-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)08657-9).
- [43] International Osteoporosis Foundation. Broken Bones, Broken Lives: A roadmap to solve the fragility fracture crisis in the France. n.d. https://www.osteoporosis.foundation/sites/iofbonehealth/files/2019-06/2.%202018_EU6France_Report_BrokenBonesBrokenLives_French.pdf.
- [44] Kasturi GC, Cifu DX, Adler RA. A Review of Osteoporosis: Part I. Impact, Pathophysiology, Diagnosis and Unique Role of the Psychiatrist. *PM&R* 2009;1:254–60. <https://doi.org/10.1016/j.pmrj.2008.12.005>.
- [45] Weitzmann MN, Roggia C, Toraldo G, Weitzmann L, Pacifici R. Increased production of IL-7 uncouples bone formation from bone resorption during estrogen deficiency. *J Clin Invest* 2002;110:1643–50. <https://doi.org/10.1172/JCI15687>.
- [46] Weitzmann MN, Pacifici R. The role of T lymphocytes in bone metabolism. *Immunol Rev* 2005;208:154–68. <https://doi.org/10.1111/j.0105-2896.2005.00324.x>.
- [47] Compston JE, McClung MR, Leslie WD. Osteoporosis. *Lancet* 2019;393:364–76. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)32112-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)32112-3).
- [48] Cauley JA, Nelson DA. Chapter 19 - Race, ethnicity, and osteoporosis. In: Dempster DW, Cauley JA, Boussein ML, Cosman F, editors. *Marcus and Feldman's Osteoporosis (Fifth Edition)*, Academic Press; 2021, p. 453–75. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813073-5.00019-8>.
- [49] Toth E, Banefelt J, Åkesson K, Spångéus A, Ortsäter G, Libanati C. History of Previous Fracture and Imminent Fracture Risk in Swedish Women Aged 55 to 90 Years Presenting With a Fragility Fracture. *Journal of Bone and Mineral Research* 2020;35:861–8. <https://doi.org/10.1002/jbmr.3953>.
- [50] Tuck S, Francis R. Testosterone, bone and osteoporosis. *Front Horm Res* 2009;37:123–32. <https://doi.org/10.1159/000176049>.
- [51] Mirza F, Canalis E. SECONDARY OSTEOPOROSIS: PATHOPHYSIOLOGY AND MANAGEMENT. *Eur J Endocrinol* 2015;173:R131–51. <https://doi.org/10.1530/EJE-15-0118>.
- [52] Cormier C, Souberbielle JC. Ostéoporose et hyperparathyroïdie primitive. *Immuno-Analyse & Biologie Spécialisée* 2002;17:200–6. [https://doi.org/10.1016/S0923-2532\(02\)01195-X](https://doi.org/10.1016/S0923-2532(02)01195-X).
- [53] al Zahrani A, Levine MA. Primary hyperparathyroidism. *Lancet* 1997;349:1233–8. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(96\)06176-4](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(96)06176-4).
- [54] Liu Y, Porta A, Peng X, Gengaro K, Cunningham EB, Li H, et al. Prevention of glucocorticoid-induced apoptosis in osteocytes and osteoblasts by calbindin-D28k. *J Bone Miner Res* 2004;19:479–90. <https://doi.org/10.1359/JBMR.0301242>.
- [55] 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;147:5592–9. <https://doi.org/10.1210/en.2006-0459>.

- [56] Hofbauer LC, Gori F, Riggs BL, Lacey DL, Dunstan CR, Spelsberg TC, et al. Stimulation of osteoprotegerin ligand and inhibition of osteoprotegerin production by glucocorticoids in human osteoblastic lineage cells: potential paracrine mechanisms of glucocorticoid-induced osteoporosis. *Endocrinology* 1999;140:4382–9. <https://doi.org/10.1210/endo.140.10.7034>.
- [57] Canalis E, Mazziotti G, Giustina A, Bilezikian JP. Glucocorticoid-induced osteoporosis: pathophysiology and therapy. *Osteoporos Int* 2007;18:1319–28. <https://doi.org/10.1007/s00198-007-0394-0>.
- [58] Wongdee K, Charoenphandhu N. Osteoporosis in diabetes mellitus: Possible cellular and molecular mechanisms. *World J Diabetes* 2011;2:41–8. <https://doi.org/10.4239/wjd.v2.i3.41>.
- [59] Hernandez CJ, Tang SY, Baumbach BM, Hwu PB, Sakkee AN, van der Ham F, et al. Trabecular microfracture and the influence of pyridinium and non-enzymatic glycation-mediated collagen cross-links. *Bone* 2005;37:825–32. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2005.07.019>.
- [60] Takagi M, Kasayama S, Yamamoto T, Motomura T, Hashimoto K, Yamamoto H, et al. Advanced glycation endproducts stimulate interleukin-6 production by human bone-derived cells. *J Bone Miner Res* 1997;12:439–46. <https://doi.org/10.1359/jbmr.1997.12.3.439>.
- [61] Napoli N, Pedone C, Pozzilli P, Lauretani F, Ferrucci L, Incalzi RA. Adiponectin and bone mass density: The InCHIANTI study. *Bone* 2010;47:1001–5. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2010.08.010>.
- [62] Ribot C, Pouillès J-M, Trémollières F. Ostéoporose et hormones thyroïdiennes. *Revue Du Rhumatisme* 2001;68:722–6. [https://doi.org/10.1016/S1169-8330\(01\)00164-8](https://doi.org/10.1016/S1169-8330(01)00164-8).
- [63] Geusens P, Lems WF. Osteoimmunology and osteoporosis. *Arthritis Res Ther* 2011;13:242. <https://doi.org/10.1186/ar3375>.
- [64] Schett G. Osteoimmunology in rheumatic diseases. *Arthritis Res Ther* 2009;11:210. <https://doi.org/10.1186/ar2571>.
- [65] Maruotti N, Corrado A, Cantatore FP. Osteoporosis and rheumatic diseases. *Reumatismo* 2014;66:125–35. <https://doi.org/10.4081/reumatismo.2014.785>.
- [66] Bernstein CN, Leslie WD. The pathophysiology of bone disease in gastrointestinal disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003;15:857–64. <https://doi.org/10.1097/01.meg.0000059183.46867.09>.
- [67] Bischoff SC, Herrmann A, Göke M, Manns MP, von zur Mühlen A, Brabant G. Altered bone metabolism in inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 1997;92:1157–63.
- [68] Murray JA. Celiac disease in patients with an affected member, type 1 diabetes, iron-deficiency, or osteoporosis? *Gastroenterology* 2005;128:S52–6. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2005.02.029>.
- [69] Micic D, Rao VL, Semrad CE. Celiac Disease and Its Role in the Development of Metabolic Bone Disease. *J Clin Densitom* 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jocd.2019.06.005>.
- [70] Lips P. Vitamin D deficiency and secondary hyperparathyroidism in the elderly: consequences for bone loss and fractures and therapeutic implications. *Endocr Rev* 2001;22:477–501. <https://doi.org/10.1210/edrv.22.4.0437>.
- [71] Dawson-Hughes B, Dallal GE, Krall EA, Sadowski L, Sahyoun N, Tannenbaum S. A Controlled Trial of the Effect of Calcium Supplementation on Bone Density in Postmenopausal Women. *New England Journal of Medicine* 1990;323:878–83. <https://doi.org/10.1056/NEJM199009273231305>.
- [72] Nguyen TV, Center JR, Eisman JA. Osteoporosis in elderly men and women: effects of dietary calcium, physical activity, and body mass index. *J Bone Miner Res* 2000;15:322–31. <https://doi.org/10.1359/jbmr.2000.15.2.322>.
- [73] Mora S, Gilsanz V. Establishment of peak bone mass. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2003;32:39–63.
- [74] Felson DT, Zhang Y, Hannan MT, Anderson JJ. Effects of weight and body mass index on bone mineral density in men and women: The framingham study. *Journal of Bone and Mineral Research* 1993;8:567–73. <https://doi.org/10.1002/jbmr.5650080507>.

- [75] Ribot C, Tremollieres F, Pouilles JM, Bonneu M, Germain F, Louvet JP. Obesity and postmenopausal bone loss: the influence of obesity on vertebral density and bone turnover in postmenopausal women. *Bone* 1987;8:327–31.
- [76] Edelstein SL, Barrett-Connor E. Relation between body size and bone mineral density in elderly men and women. *Am J Epidemiol* 1993;138:160–9. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a116842>.
- [77] Wilson DJ. Osteoporosis and sport. *Eur J Radiol* 2019;110:169–74. <https://doi.org/10.1016/j.ejrad.2018.11.010>.
- [78] Uebelhart D, Demiaux-Domenech B, Roth M, Chantraine A. Bone metabolism in spinal cord injured individuals and in others who have prolonged immobilisation. A review. *Paraplegia* 1995;33:669–73. <https://doi.org/10.1038/sc.1995.140>.
- [79] Baron JA, Comi RJ, Cryns V, Brinck-Johnsen T, Mercer NG. The effect of cigarette smoking on adrenal cortical hormones. *J Pharmacol Exp Ther* 1995;272:151–5.
- [80] Michnovicz JJ, Herschcopf RJ, Naganuma H, Bradlow HL, Fishman J. Increased 2-hydroxylation of estradiol as a possible mechanism for the anti-estrogenic effect of cigarette smoking. *N Engl J Med* 1986;315:1305–9. <https://doi.org/10.1056/NEJM198611203152101>.
- [81] Khaw KT, Tazuke S, Barrett-Connor E. Cigarette smoking and levels of adrenal androgens in postmenopausal women. *N Engl J Med* 1988;318:1705–9. <https://doi.org/10.1056/NEJM198806303182601>.
- [82] Krall EA, Dawson-Hughes B. Smoking Increases Bone Loss and Decreases Intestinal Calcium Absorption. *Journal of Bone and Mineral Research* 1999;14:215–20. <https://doi.org/10.1359/jbmr.1999.14.2.215>.
- [83] Hannan MT, Felson DT, Dawson-Hughes B, Tucker KL, Cupples LA, Wilson PWF, et al. Risk Factors for Longitudinal Bone Loss in Elderly Men and Women: The Framingham Osteoporosis Study. *Journal of Bone and Mineral Research* 2000;15:710–20. <https://doi.org/10.1359/jbmr.2000.15.4.710>.
- [84] Diamond T, Stiel D, Lunzer M, Wilkinson M, Posen S. Ethanol reduces bone formation and may cause osteoporosis. *Am J Med* 1989;86:282–8. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(89\)90297-0](https://doi.org/10.1016/0002-9343(89)90297-0).
- [85] Bikle DD, Genant HK, Cann C, Recker RR, Halloran BP, Strewler GJ. Bone disease in alcohol abuse. *Ann Intern Med* 1985;103:42–8. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-103-1-42>.
- [86] Laitinen K, Välimäki M. Alcohol and bone. *Calcif Tissue Int* 1991;49 Suppl:S70-73.
- [87] Laitinen K, Lamberg-Allardt C, Tunninen R, Härkönen M, Välimäki M. Bone mineral density and abstention-induced changes in bone and mineral metabolism in noncirrhotic male alcoholics. *Am J Med* 1992;93:642–50. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(92\)90197-j](https://doi.org/10.1016/0002-9343(92)90197-j).
- [88] Briot K, Roux C. Review: Glucocorticoid-induced osteoporosis. *RMD Open* 2015;1. <https://doi.org/10.1136/rmdopen-2014-000014>.
- [89] Grossmann M, Cheung AS, Zajac JD. Androgens and prostate cancer; pathogenesis and deprivation therapy. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2013;27:603–16. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2013.05.001>.
- [90] Abrahamsen B, Nielsen MF, Eskildsen P, Andersen JT, Walter S, Brixen K. Fracture risk in Danish men with prostate cancer: a nationwide register study. *BJU International* n.d.;100:749–54. <https://doi.org/10.1111/j.1464-410X.2007.07163.x>.
- [91] Lassemillante A-CM, Doi SAR, Hooper JD, Prins JB, Wright ORL. Prevalence of osteoporosis in prostate cancer survivors: a meta-analysis. *Endocrine* 2014;45:370–81. <https://doi.org/10.1007/s12020-013-0083-z>.
- [92] Alibhai SMH, Mohamedali HZ, Gulamhusein H, Panju AH, Breunis H, Timilshina N, et al. Changes in bone mineral density in men starting androgen deprivation therapy and the protective role of vitamin D. *Osteoporos Int* 2013;24:2571–9. <https://doi.org/10.1007/s00198-013-2343-4>.
- [93] Eastell R, Adams JE, Coleman RE, Howell A, Hannon RA, Cuzick J, et al. Effect of anastrozole on bone mineral density: 5-year results from the anastrozole, tamoxifen, alone or in combination trial 18233230. *J Clin Oncol* 2008;26:1051–7. <https://doi.org/10.1200/JCO.2007.11.0726>.

- [94] Howell A, Cuzick J, Baum M, Buzdar A, Dowsett M, Forbes JF, et al. Results of the ATAC (Arimidex, Tamoxifen, Alone or in Combination) trial after completion of 5 years' adjuvant treatment for breast cancer. *Lancet* 2005;365:60–2. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)17666-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)17666-6).
- [95] Coates AS, Keshaviah A, Thürlimann B, Mouridsen H, Mauriac L, Forbes JF, et al. Five years of letrozole compared with tamoxifen as initial adjuvant therapy for postmenopausal women with endocrine-responsive early breast cancer: update of study BIG 1-98. *J Clin Oncol* 2007;25:486–92. <https://doi.org/10.1200/JCO.2006.08.8617>.
- [96] Briot K, Cortet B, Roux C, Fardet L, Abitbol V, Bacchetta J, et al. Actualisation 2014 des recommandations sur la prévention et le traitement de l'ostéoporose cortico-induite. *Revue du Rhumatisme* 2014;81:385–94. <https://doi.org/10.1016/j.rhum.2014.07.009>.
- [97] Bouvard B, Confavreux CB, Briot K, Bonnetterre J, Cormier C, Cortet B, et al. French recommendations on strategies for preventing and treating osteoporosis induced by adjuvant breast cancer therapies. *Joint Bone Spine* 2019;86:542–53. <https://doi.org/10.1016/j.jbspin.2019.07.005>.
- [98] Briot K, Paccou J, Beuzeboc P, Bonnetterre J, Bouvard B, Confavreux CB, et al. French recommendations for osteoporosis prevention and treatment in patients with prostate cancer treated by androgen deprivation. *Joint Bone Spine* 2019;86:21–8. <https://doi.org/10.1016/j.jbspin.2018.09.017>.
- [99] Roux B, Berthou-Contreras J, Beuscart J-B, Charenton-Blavignac M, Doucet J, Fournier J-P, et al. REview of potentially inappropriate MEDication pr[e]scribing in Seniors (REMEDI[e]S): French implicit and explicit criteria. *Eur J Clin Pharmacol* 2021;77:1713–24. <https://doi.org/10.1007/s00228-021-03145-6>.
- [100] Togari A, Kondo M, Arai M, Matsumoto S. Effects of retinoic acid on bone formation and resorption in cultured mouse calvaria. *Gen Pharmacol* 1991;22:287–92.
- [101] Scheven BA, Hamilton NJ. Retinoic acid and 1,25-dihydroxyvitamin D3 stimulate osteoclast formation by different mechanisms. *Bone* 1990;11:53–9.
- [102] Rohde CM, Manatt M, Clagett-Dame M, DeLuca HF. Vitamin A antagonizes the action of vitamin D in rats. *J Nutr* 1999;129:2246–50. <https://doi.org/10.1093/jn/129.12.2246>.
- [103] Melhus H. Excessive Dietary Intake of Vitamin A Is Associated with Reduced Bone Mineral Density and Increased Risk for Hip Fracture. *Ann Intern Med* 1998;129:770. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-129-10-199811150-00003>.
- [104] Lim LS, Harnack LJ, Lazovich D, Folsom AR. Vitamin A intake and the risk of hip fracture in postmenopausal women: the Iowa Women's Health Study. *Osteoporos Int* 2004;15:552–9. <https://doi.org/10.1007/s00198-003-1577-y>.
- [105] Freude T, Braun KF, Haug A, Pscherer S, Stöckle U, Nussler AK, et al. Hyperinsulinemia reduces osteoblast activity in vitro via upregulation of TGF- β . *J Mol Med (Berl)* 2012;90:1257–66. <https://doi.org/10.1007/s00109-012-0948-2>.
- [106] Zhang P, Zhang H, Lin J, Xiao T, Xu R, Fu Y, et al. Insulin impedes osteogenesis of BMSCs by inhibiting autophagy and promoting premature senescence via the TGF- β 1 pathway. *Aging (Albany NY)* 2020;12:2084–100. <https://doi.org/10.18632/aging.102723>.
- [107] Behanova M, Haschka J, Zwerina J, Wascher TC, Reichardt B, Klaushofer K, et al. The doubled burden of diabetic bone disease: hip fracture and post-hip fracture mortality. *Eur J Endocrinol* 2021. <https://doi.org/10.1530/EJE-20-1155>.
- [108] Aasarød KM, Ramezanzadehkoldeh M, Shabestari M, Mosti MP, Stunes AK, Reseland JE, et al. Skeletal effects of a gastrin receptor antagonist in H+/K+ATPase beta subunit KO mice. *J Endocrinol* 2016;230:251–62. <https://doi.org/10.1530/JOE-16-0017>.
- [109] Sheikh MS, Santa Ana CA, Nicar MJ, Schiller LR, Fordtran JS. Gastrointestinal absorption of calcium from milk and calcium salts. *N Engl J Med* 1987;317:532–6. <https://doi.org/10.1056/NEJM198708273170903>.
- [110] Yang Y-X. Proton pump inhibitor therapy and osteoporosis. *Curr Drug Saf* 2008;3:204–9.

- [111] Hinson AM, Wilkerson BM, Rothman-Fitts I, Riggs AT, Stack BC, Bodenner DL. Hyperparathyroidism Associated with Long-Term Proton Pump Inhibitors Independent of Concurrent Bisphosphonate Therapy in Elderly Adults. *J Am Geriatr Soc* 2015;63:2070–3. <https://doi.org/10.1111/jgs.13661>.
- [112] Arj A, Razavi Zade M, Yavari M, Akbari H, Zamani B, Asemi Z. Proton pump inhibitors use and change in bone mineral density. *Int J Rheum Dis* 2016;19:864–8. <https://doi.org/10.1111/1756-185X.12866>.
- [113] Gray SL, LaCroix AZ, Larson J, Robbins J, Cauley JA, Manson JE, et al. Proton pump inhibitor use, hip fracture, and change in bone mineral density in postmenopausal women: results from the Women’s Health Initiative. *Arch Intern Med* 2010;170:765–71. <https://doi.org/10.1001/archinternmed.2010.94>.
- [114] Freedberg DE, Haynes K, Denburg MR, Zemel BS, Leonard MB, Abrams JA, et al. Use of Proton Pump inhibitors is Associated with Fractures in Young Adults: A Population-Based Study. *Osteoporos Int* 2015;26:2501–7. <https://doi.org/10.1007/s00198-015-3168-0>.
- [115] Adams AL, Black MH, Zhang JL, Shi JM, Jacobsen SJ. Proton-pump inhibitor use and hip fractures in men: a population-based case-control study. *Ann Epidemiol* 2014;24:286–90. <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2014.01.004>.
- [116] Soriano LC, Ruigómez A, Johansson S, Rodríguez LAG. Study of the Association Between Hip Fracture and Acid-Suppressive Drug Use in a UK Primary Care Setting. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy* 2014;34:570–81. <https://doi.org/10.1002/phar.1410>.
- [117] Ding J, Heller DA, Ahern FM, Brown TV. The Relationship Between Proton Pump Inhibitor Adherence and Fracture Risk in the Elderly. *Calcif Tissue Int* 2014;94:597–607. <https://doi.org/10.1007/s00223-014-9855-6>.
- [118] van der Hoorn MMC, Tett SE, de Vries OJ, Dobson AJ, Peeters GMEEG. The effect of dose and type of proton pump inhibitor use on risk of fractures and osteoporosis treatment in older Australian women: A prospective cohort study. *Bone* 2015;81:675–82. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2015.08.024>.
- [119] Moberg LME, Nilsson PM, Samsioe G, Borgfeldt C. Use of proton pump inhibitors (PPI) and history of earlier fracture are independent risk factors for fracture in postmenopausal women. The WHILA study. *Maturitas* 2014;78:310–5. <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2014.05.019>.
- [120] Lewis JR, Barre D, Zhu K, Ivey KL, Lim EM, Hughes J, et al. Long-Term Proton Pump Inhibitor Therapy and Falls and Fractures in Elderly Women: A Prospective Cohort Study. *Journal of Bone and Mineral Research* 2014;29:2489–97. <https://doi.org/10.1002/jbmr.2279>.
- [121] Rejnmark L, Vestergaard P, Pedersen AR, Heickendorff L, Andreasen F, Mosekilde L. Dose-effect relations of loop- and thiazide-diuretics on calcium homeostasis: a randomized, double-blinded Latin-square multiple cross-over study in postmenopausal osteopenic women. *Eur J Clin Invest* 2003;33:41–50.
- [122] Lim LS, Fink HA, Kuskowski MA, Taylor BC, Schousboe JT, Ensrud KE, et al. Loop diuretic use and increased rates of hip bone loss in older men: the Osteoporotic Fractures in Men Study. *Arch Intern Med* 2008;168:735–40. <https://doi.org/10.1001/archinte.168.7.735>.
- [123] Heidrich FE. Diuretic Drug Use and the Risk for Hip Fracture. *Ann Intern Med* 1991;115:1. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-115-1-1>.
- [124] Rejnmark L, Vestergaard P, Mosekilde L. Fracture risk in patients treated with loop diuretics. *Journal of Internal Medicine* 2006;259:117–24. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.2005.01585.x>.
- [125] Monreal M, Viñas L, Monreal L, Lavin S, Lafoz E, Angles AM. Heparin-related osteoporosis in rats. A comparative study between unfractionated heparin and a low-molecular-weight heparin. *Haemostasis* 1990;20:204–7. <https://doi.org/10.1159/000216128>.
- [126] Nishiyama M, Itoh F, Ujiie A. Low-molecular-weight heparin (dalteparin) demonstrated a weaker effect on rat bone metabolism compared with heparin. *Jpn J Pharmacol* 1997;74:59–68. <https://doi.org/10.1254/jjp.74.59>.

- [127] Barbour LA, Kick SD, Steiner JF, LoVerde ME, Heddleston LN, Lear JL, et al. A prospective study of heparin-induced osteoporosis in pregnancy using bone densitometry. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 1994;170:862–9. [https://doi.org/10.1016/S0002-9378\(94\)70299-3](https://doi.org/10.1016/S0002-9378(94)70299-3).
- [128] Douketis JD, Ginsberg JS, Burrows RF, Duku EK, Webber CE, Brill-Edwards P. The effects of long-term heparin therapy during pregnancy on bone density. A prospective matched cohort study. *Thromb Haemost* 1996;75:254–7.
- [129] Dahlman TC, Sjöberg HE, Ringertz H. Bone mineral density during long-term prophylaxis with heparin in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1994;170:1315–20. [https://doi.org/10.1016/s0002-9378\(94\)70149-0](https://doi.org/10.1016/s0002-9378(94)70149-0).
- [130] Pettilä V, Leinonen P, Markkola A, Hiilesmaa V, Kaaja R. Postpartum bone mineral density in women treated for thromboprophylaxis with unfractionated heparin or LMW heparin. *Thromb Haemost* 2002;87:182–6.
- [131] Monreal M, Lafoz E, Olive A, del Rio L, Vedia C. Comparison of subcutaneous unfractionated heparin with a low molecular weight heparin (Fragmin) in patients with venous thromboembolism and contraindications to coumarin. *Thromb Haemost* 1994;71:7–11.
- [132] Dahlman TC. Osteoporotic fractures and the recurrence of thromboembolism during pregnancy and the puerperium in 184 women undergoing thromboprophylaxis with heparin. *Am J Obstet Gynecol* 1993;168:1265–70. [https://doi.org/10.1016/0002-9378\(93\)90378-v](https://doi.org/10.1016/0002-9378(93)90378-v).
- [133] Pettilä V, Kaaja R, Leinonen P, Ekblad U, Kataja M, Ikkala E. Thromboprophylaxis with low molecular weight heparin (dalteparin) in pregnancy. *Thromb Res* 1999;96:275–82. [https://doi.org/10.1016/s0049-3848\(99\)00110-3](https://doi.org/10.1016/s0049-3848(99)00110-3).
- [134] Pearson DA. Bone Health and Osteoporosis: The Role of Vitamin K and Potential Antagonism by Anticoagulants. *Nutrition in Clinical Practice* 2007;22:517–44. <https://doi.org/10.1177/0115426507022005517>.
- [135] Szulc P, Arlot M, Chapuy M-C, Duboeuf F, Meunier PJ, Delmas PD. Serum undercarboxylated osteocalcin correlates with hip bone mineral density in elderly women. *Journal of Bone and Mineral Research* 1994;9:1591–5. <https://doi.org/10.1002/jbmr.5650091012>.
- [136] Rezaieyazdi Z, Falsoleiman H, Khajehdaluae M, Saghafi M, Mokhtari-Amirmajdi E. Reduced bone density in patients on long-term warfarin. *Int J Rheum Dis* 2009;12:130–5. <https://doi.org/10.1111/j.1756-185X.2009.01395.x>.
- [137] Gage BF, Birman-Deych E, Radford MJ, Nilasena DS, Binder EF. Risk of osteoporotic fracture in elderly patients taking warfarin: results from the National Registry of Atrial Fibrillation 2. *Arch Intern Med* 2006;166:241–6. <https://doi.org/10.1001/archinte.166.2.241>.
- [138] Caraballo PJ, Heit JA, Atkinson EJ, Silverstein MD, O’Fallon WM, Castro MR, et al. Long-term Use of Oral Anticoagulants and the Risk of Fracture. *Arch Intern Med* 1999;159:1750–6. <https://doi.org/10.1001/archinte.159.15.1750>.
- [139] Lindberg MK, Vandenput L, Movèrre Skrtic S, Vanderschueren D, Boonen S, Bouillon R, et al. Androgens and the skeleton. *Minerva Endocrinol* 2005;30:15–25.
- [140] Sugitani I, Fujimoto Y. Effect of postoperative thyrotropin suppressive therapy on bone mineral density in patients with papillary thyroid carcinoma: a prospective controlled study. *Surgery* 2011;150:1250–7. <https://doi.org/10.1016/j.surg.2011.09.013>.
- [141] Pan G, Wu X, McKenna MA, Feng X, Nagy TR, McDonald JM. AZT enhances osteoclastogenesis and bone loss. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2004;20:608–20. <https://doi.org/10.1089/0889222041217482>.
- [142] Carr A, Miller J, Eisman JA, Cooper DA. Osteopenia in HIV-infected men: association with asymptomatic lactic acidemia and lower weight pre-antiretroviral therapy. *AIDS* 2001;15:703–9. <https://doi.org/10.1097/00002030-200104130-00005>.
- [143] Barrios A, García-Benayas T, González-Lahoz J, Soriano V. Tenofovir-related nephrotoxicity in HIV-infected patients. *AIDS* 2004;18:960–3. <https://doi.org/10.1097/00002030-200404090-00019>.
- [144] Jain RG, Lenhard JM. Select HIV protease inhibitors alter bone and fat metabolism ex vivo. *J Biol Chem* 2002;277:19247–50. <https://doi.org/10.1074/jbc.C200069200>.

- [145] Fakruddin JM, Laurence J. HIV envelope gp120-mediated regulation of osteoclastogenesis via receptor activator of nuclear factor kappa B ligand (RANKL) secretion and its modulation by certain HIV protease inhibitors through interferon-gamma/RANKL cross-talk. *J Biol Chem* 2003;278:48251–8. <https://doi.org/10.1074/jbc.M304676200>.
- [146] Cozzolino M, Vidal M, Arcidiacono MV, Tebas P, Yarasheski KE, Dusso AS. HIV-protease inhibitors impair vitamin D bioactivation to 1,25-dihydroxyvitamin D. *AIDS* 2003;17:513–20. <https://doi.org/10.1097/00002030-200303070-00006>.
- [147] Brown T, Qaqish R. Antiretroviral therapy and the prevalence of osteopenia and osteoporosis: a meta-analytic review. *Aids* 2006;20:2165–74. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e32801022eb>.
- [148] Mondy K, Yarasheski K, Powderly WG, Whyte M, Claxton S, DeMarco D, et al. Longitudinal evolution of bone mineral density and bone markers in human immunodeficiency virus-infected individuals. *Clin Infect Dis* 2003;36:482–90. <https://doi.org/10.1086/367569>.
- [149] Bolland MJ, Grey AB, Horne AM, Briggs SE, Thomas MG, Ellis-Pegler RB, et al. Bone mineral density remains stable in HAART-treated HIV-infected men over 2 years. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2007;67:270–5. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2007.02875.x>.
- [150] Duvivier C, Kolta S, Assoumou L, Ghosn J, Rozenberg S, Murphy RL, et al. Greater decrease in bone mineral density with protease inhibitor regimens compared with nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor regimens in HIV-1 infected naive patients. *AIDS* 2009;23:817–24. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e328328f789>.
- [151] van Vonderen MGA, Lips P, van Agtmael MA, Hassink EAM, Brinkman K, Geerlings SE, et al. First line zidovudine/lamivudine/lopinavir/ritonavir leads to greater bone loss compared to nevirapine/lopinavir/ritonavir. *AIDS* 2009;23:1367–76. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e32832c4947>.
- [152] Blizotes MM, Eshleman AJ, Zhang XW, Wiren KM. Neurotransmitter action in osteoblasts: expression of a functional system for serotonin receptor activation and reuptake. *Bone* 2001;29:477–86.
- [153] Battaglino R, Fu J, Späte U, Ersoy U, Joe M, Sedaghat L, et al. Serotonin regulates osteoclast differentiation through its transporter. *J Bone Miner Res* 2004;19:1420–31. <https://doi.org/10.1359/JBMR.040606>.
- [154] Blizotes M, Eshleman A, Burt-Pichat B, Zhang X-W, Hashimoto J, Wiren K, et al. Serotonin transporter and receptor expression in osteocytic MLO-Y4 cells. *Bone* 2006;39:1313–21. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2006.06.009>.
- [155] Diem SJ, Blackwell TL, Stone KL, Yaffe K, Haney EM, Blizotes MM, et al. Use of antidepressants and rates of hip bone loss in older women: the study of osteoporotic fractures. *Arch Intern Med* 2007;167:1240–5. <https://doi.org/10.1001/archinte.167.12.1240>.
- [156] Bolton JM, Targownik LE, Leung S, Sareen J, Leslie WD. Risk of low bone mineral density associated with psychotropic medications and mental disorders in postmenopausal women. *J Clin Psychopharmacol* 2011;31:56–60. <https://doi.org/10.1097/JCP.0b013e3182075587>.
- [157] Takkouche B, Montes-Martínez A, Gill SS, Etminan M. Psychotropic medications and the risk of fracture: a meta-analysis. *Drug Saf* 2007;30:171–84. <https://doi.org/10.2165/00002018-200730020-00006>.
- [158] Vestergaard P, Rejnmark L, Mosekilde L. Anxiolytics, sedatives, antidepressants, neuroleptics and the risk of fracture. *Osteoporos Int* 2006;17:807–16. <https://doi.org/10.1007/s00198-005-0065-y>.
- [159] Kishimoto T, Watanabe K, Shimada N, Makita K, Yagi G, Kashima H. Antipsychotic-Induced Hyperprolactinemia Inhibits the Hypothalamo-Pituitary-Gonadal Axis and Reduces Bone Mineral Density in Male Patients With Schizophrenia. *J Clin Psychiatry* 2008;69:385–91.
- [160] Kinon BJ, Gilmore JA, Liu H, Halbreich UM. Prevalence of hyperprolactinemia in schizophrenic patients treated with conventional antipsychotic medications or risperidone. *Psychoneuroendocrinology* 2003;28 Suppl 2:55–68.

- [161] Knegtering H, van der Moolen AEGM, Castelein S, Kluiters H, van den Bosch RJ. What are the effects of antipsychotics on sexual dysfunctions and endocrine functioning? *Psychoneuroendocrinology* 2003;28 Suppl 2:109–23.
- [162] Seriwatanachai D, Krishnamra N, van Leeuwen JPTM. Evidence for direct effects of prolactin on human osteoblasts: Inhibition of cell growth and mineralization. *J Cell Biochem* 2009;107:677–85. <https://doi.org/10.1002/jcb.22161>.
- [163] Hamed SA. Markers of bone turnover in patients with epilepsy and their relationship to management of bone diseases induced by antiepileptic drugs. *Expert Rev Clin Pharmacol* 2016;9:267–86. <https://doi.org/10.1586/17512433.2016.1123617>.
- [164] Mintzer S, Boppana P, Toguri J, DeSantis A. Vitamin D levels and bone turnover in epilepsy patients taking carbamazepine or oxcarbazepine. *Epilepsia* 2006;47:510–5. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2006.00460.x>.
- [165] Bouillon R, Reynaert J, Claes JH, Lissens W, De Moor P. The Effect of Anticonvulsant Therapy on Serum Levels of 25-Hydroxy-Vitamin D, Calcium, and Parathyroid Hormone. *None* 1975;41:1130–5. <https://doi.org/10.1210/jcem-41-6-1130>.
- [166] Hunter J, Maxwell JD, Stewart DA, Parsons V, Williams R. Altered Calcium Metabolism in Epileptic Children on Anticonvulsants. *Br Med J* 1971;4:202–4.
- [167] Beerhorst K, Tan IY, De Krom M, Verschuure P, Aldenkamp AP. Antiepileptic drugs and high prevalence of low bone mineral density in a group of inpatients with chronic epilepsy. *Acta Neurol Scand* 2013;128:273–80. <https://doi.org/10.1111/ane.12118>.
- [168] Mattson RH, Gidal BE. Fractures, epilepsy, and antiepileptic drugs. *Epilepsy Behav* 2004;5 Suppl 2:S36–40. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2003.11.030>.
- [169] Bawor M, Bami H, Dennis BB, Plater C, Worster A, Varenbut M, et al. Testosterone suppression in opioid users: a systematic review and meta-analysis. *Drug Alcohol Depend* 2015;149:1–9. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2015.01.038>.
- [170] Katz N, Mazer NA. The impact of opioids on the endocrine system. *Clin J Pain* 2009;25:170–5. <https://doi.org/10.1097/AJP.0b013e3181850df6>.
- [171] Bawor M, Dennis BB, Samaan MC, Plater C, Worster A, Varenbut M, et al. Methadone induces testosterone suppression in patients with opioid addiction. *Sci Rep* 2014;4:6189. <https://doi.org/10.1038/srep06189>.
- [172] Rajagopal A, Vassilopoulou-Sellin R, Palmer JL, Kaur G, Bruera E. Symptomatic hypogonadism in male survivors of cancer with chronic exposure to opioids. *Cancer* 2004;100:851–8. <https://doi.org/10.1002/cncr.20028>.
- [173] Vestergaard P, Rejnmark L, Mosekilde L. Fracture risk associated with the use of morphine and opiates. *J Intern Med* 2006;260:76–87. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.2006.01667.x>.
- [174] Ensrud KE, Blackwell T, Mangione CM, Bowman PJ, Bauer DC, Schwartz A, et al. Central nervous system active medications and risk for fractures in older women. *Arch Intern Med* 2003;163:949–57. <https://doi.org/10.1001/archinte.163.8.949>.
- [175] Gotthardt F, Huber C, Thierfelder C, Grize L, Kraenzlin M, Scheidegger C, et al. Bone mineral density and its determinants in men with opioid dependence. *J Bone Miner Metab* 2017;35:99–107. <https://doi.org/10.1007/s00774-015-0732-9>.
- [176] Stevens PE, Levin A, Kidney Disease: Improving Global Outcomes Chronic Kidney Disease Guideline Development Work Group Members. Evaluation and management of chronic kidney disease: synopsis of the kidney disease: improving global outcomes 2012 clinical practice guideline. *Ann Intern Med* 2013;158:825–30. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-158-11-201306040-00007>.
- [177] Olié V, Cheddani L, Stengel B, Gabet A, Grave C, Blacher J, et al. Prévalence de la maladie rénale chronique en France, Esteban 2014–2016. *Néphrologie & Thérapeutique* 2021;17:526–31. <https://doi.org/10.1016/j.nephro.2021.05.006>.
- [178] Rapport annuel REIN 2019 - Agence de Biomédecine n.d. https://www.agence-biomedecine.fr/IMG/pdf/rapport_rein_2019_2021-10-14.pdf.

- [179] Vanholder R, De Smet R, Glorieux G, Argilés A, Baurmeister U, Brunet P, et al. Review on uremic toxins: classification, concentration, and interindividual variability. *Kidney Int* 2003;63:1934–43. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2003.00924.x>.
- [180] Vanholder R, Pletinck A, Schepers E, Glorieux G. Biochemical and Clinical Impact of Organic Uremic Retention Solutes: A Comprehensive Update. *Toxins (Basel)* 2018;10:E33. <https://doi.org/10.3390/toxins10010033>.
- [181] Liabeuf S, Barreto DV, Barreto FC, Meert N, Glorieux G, Schepers E, et al. Free p-cresylsulphate is a predictor of mortality in patients at different stages of chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2010;25:1183–91. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfp592>.
- [182] Barreto FC, Barreto DV, Liabeuf S, Meert N, Glorieux G, Temmar M, et al. Serum indoxyl sulfate is associated with vascular disease and mortality in chronic kidney disease patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009;4:1551–8. <https://doi.org/10.2215/CJN.03980609>.
- [183] Durantón F, Cohen G, De Smet R, Rodríguez M, Jankowski J, Vanholder R, et al. Normal and pathologic concentrations of uremic toxins. *J Am Soc Nephrol* 2012;23:1258–70. <https://doi.org/10.1681/ASN.2011121175>.
- [184] Hénaut L, Chillon J-M, Kamel S, Massy ZA. Updates on the Mechanisms and the Care of Cardiovascular Calcification in Chronic Kidney Disease. *Semin Nephrol* 2018;38:233–50. <https://doi.org/10.1016/j.semnephrol.2018.02.004>.
- [185] Six I, Flissi N, Lenglet G, Louvet L, Kamel S, Gallet M, et al. Uremic Toxins and Vascular Dysfunction. *Toxins (Basel)* 2020;12. <https://doi.org/10.3390/toxins12060404>.
- [186] Fujii H, Goto S, Fukagawa M. Role of Uremic Toxins for Kidney, Cardiovascular, and Bone Dysfunction. *Toxins (Basel)* 2018;10:E202. <https://doi.org/10.3390/toxins10050202>.
- [187] Graboski AL, Redinbo MR. Gut-Derived Protein-Bound Uremic Toxins. *Toxins (Basel)* 2020;12:590. <https://doi.org/10.3390/toxins12090590>.
- [188] Kuro-o M. Overview of the FGF23-Klotho axis. *Pediatr Nephrol* 2010;25:583–90. <https://doi.org/10.1007/s00467-009-1260-4>.
- [189] Miyamoto K, Ito M, Kuwahata M, Kato S, Segawa H. Inhibition of intestinal sodium-dependent inorganic phosphate transport by fibroblast growth factor 23. *Ther Apher Dial* 2005;9:331–5. <https://doi.org/10.1111/j.1744-9987.2005.00292.x>.
- [190] Shimada T, Hasegawa H, Yamazaki Y, Muto T, Hino R, Takeuchi Y, et al. FGF-23 is a potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis. *J Bone Miner Res* 2004;19:429–35. <https://doi.org/10.1359/JBMR.0301264>.
- [191] Hsu CH, Patel S. Uremic plasma contains factors inhibiting 1 alpha-hydroxylase activity. *J Am Soc Nephrol* 1992;3:947–52. <https://doi.org/10.1681/ASN.V34947>.
- [192] Wang L, Gao Z, Wang L, Gao Y. Upregulation of nuclear factor- κ B activity mediates CYP24 expression and reactive oxygen species production in indoxyl sulfate-induced chronic kidney disease. *Nephrology (Carlton)* 2016;21:774–81. <https://doi.org/10.1111/nep.12673>.
- [193] Canalejo R, Canalejo A, Martínez-Moreno JM, Rodríguez-Ortiz ME, Estepa JC, Mendoza FJ, et al. FGF23 fails to inhibit uremic parathyroid glands. *J Am Soc Nephrol* 2010;21:1125–35. <https://doi.org/10.1681/ASN.2009040427>.
- [194] Patel SR, Ke HQ, Vanholder R, Koenig RJ, Hsu CH. Inhibition of calcitriol receptor binding to vitamin D response elements by uremic toxins. *J Clin Invest* 1995;96:50–9. <https://doi.org/10.1172/JCI118061>.
- [195] Lewis R. Mineral and bone disorders in chronic kidney disease: new insights into mechanism and management. *Ann Clin Biochem* 2012;49:432–40. <https://doi.org/10.1258/acb.2012.012004>.
- [196] Isakova T, Wahl P, Vargas GS, Gutiérrez OM, Scialla J, Xie H, et al. Fibroblast growth factor 23 is elevated before parathyroid hormone and phosphate in chronic kidney disease. *Kidney Int* 2011;79:1370–8. <https://doi.org/10.1038/ki.2011.47>.
- [197] Isakova T, Wolf MS. FGF23 or PTH: which comes first in CKD ? *Kidney Int* 2010;78:947–9. <https://doi.org/10.1038/ki.2010.281>.

- [198] Olauson H, Vervloet MG, Cozzolino M, Massy ZA, Ureña Torres P, Larsson TE. New insights into the FGF23-Klotho axis. *Semin Nephrol* 2014;34:586–97. <https://doi.org/10.1016/j.semnephrol.2014.09.005>.
- [199] Lin C-J, Pan C-F, Chuang C-K, Liu H-L, Sun F-J, Wang T-J, et al. Association of Indoxyl Sulfate With Fibroblast Growth Factor 23 in Patients With Advanced Chronic Kidney Disease. *The American Journal of the Medical Sciences* 2014;347:370–6. <https://doi.org/10.1097/MAJ.0b013e3182989f26>.
- [200] Kim Y-H, Kwak K-A, Gil H-W, Song H-Y, Hong S-Y. Indoxyl sulfate promotes apoptosis in cultured osteoblast cells. *BMC Pharmacol Toxicol* 2013;14:60. <https://doi.org/10.1186/2050-6511-14-60>.
- [201] Bover J, Ureña P, Brandenburg V, Goldsmith D, Ruiz C, DaSilva I, et al. Adynamic bone disease: from bone to vessels in chronic kidney disease. *Semin Nephrol* 2014;34:626–40. <https://doi.org/10.1016/j.semnephrol.2014.09.008>.
- [202] Kurz P, Monier-Faugere MC, Bognar B, Werner E, Roth P, Vlachojannis J, et al. Evidence for abnormal calcium homeostasis in patients with adynamic bone disease. *Kidney Int* 1994;46:855–61. <https://doi.org/10.1038/ki.1994.342>.
- [203] Inaba M, Okuno S, Nagayama H, Yamada S, Ishimura E, Imanishi Y, et al. Restoration of parathyroid function after change of phosphate binder from calcium carbonate to lanthanum carbonate in hemodialysis patients with suppressed serum parathyroid hormone. *J Ren Nutr* 2015;25:242–6. <https://doi.org/10.1053/j.jrn.2014.10.013>.
- [204] Haris A, Sherrard DJ, Hercz G. Reversal of adynamic bone disease by lowering of dialysate calcium. *Kidney Int* 2006;70:931–7. <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5001666>.
- [205] Spasovski G, Gelev S, Masin-Spasovska J, Selim G, Sikole A, Vanholder R. Improvement of bone and mineral parameters related to adynamic bone disease by diminishing dialysate calcium. *Bone* 2007;41:698–703. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2007.06.014>.
- [206] Ok E, Asci G, Bayraktaroglu S, Toz H, Ozkahya M, Yilmaz M, et al. Reduction of Dialysate Calcium Level Reduces Progression of Coronary Artery Calcification and Improves Low Bone Turnover in Patients on Hemodialysis. *J Am Soc Nephrol* 2016;27:2475–86. <https://doi.org/10.1681/ASN.2015030268>.
- [207] Niwa H, Fukasawa H, Ishibuchi K, Kaneko M, Yasuda H, Furuya R. Effects of Lowering Dialysate Calcium Concentration on Bone Metabolic Markers in Hemodialysis Patients With Suppressed Serum Parathyroid Hormone: A Preliminary Study. *Ther Apher Dial* 2018;22:503–8. <https://doi.org/10.1111/1744-9987.12673>.
- [208] Brandenburg VM, Floege J. Adynamic bone disease-bone and beyond. *NDT Plus* 2008;1:135–47. <https://doi.org/10.1093/ndtplus/sfn040>.
- [209] Andress DL. Adynamic bone in patients with chronic kidney disease. *Kidney Int* 2008;73:1345–54. <https://doi.org/10.1038/ki.2008.60>.
- [210] Frazão JM, Martins P. Adynamic bone disease: clinical and therapeutic implications. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2009;18:303–7. <https://doi.org/10.1097/MNH.0b013e32832c4df0>.
- [211] Barreto FC, Barreto DV, Canziani MEF, Tomiyama C, Higa A, Mozar A, et al. Association between indoxyl sulfate and bone histomorphometry in pre-dialysis chronic kidney disease patients. *J Bras Nefrol* 2014;36:289–96. <https://doi.org/10.5935/0101-2800.20140042>.
- [212] Mozar A, Louvet L, Godin C, Mentaverri R, Brazier M, Kamel S, et al. Indoxyl sulphate inhibits osteoclast differentiation and function. *Nephrology Dialysis Transplantation* 2012;27:2176–81. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfr647>.
- [213] Yamamoto S, Kazama JJ, Omori K, Matsuo K, Takahashi Y, Kawamura K, et al. Continuous Reduction of Protein-Bound Uraemic Toxins with Improved Oxidative Stress by Using the Oral Charcoal Adsorbent AST-120 in Haemodialysis Patients. *Sci Rep* 2015;5:14381–14381. <https://doi.org/10.1038/srep14381>.
- [214] Iwasaki Y, Yamato H, Nii-Kono T, Fujieda A, Uchida M, Hosokawa A, et al. Administration of oral charcoal adsorbent (AST-120) suppresses low-turnover bone progression in uraemic rats. *Nephrol Dial Transplant* 2006;21:2768–74. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfl311>.

- [215] Slatopolsky E, Finch J, Clay P, Martin D, Sicard G, Singer G, et al. A novel mechanism for skeletal resistance in uremia. *Kidney International* 2000;58:753–61. [https://doi.org/10.1016/S0085-2538\(15\)47156-X](https://doi.org/10.1016/S0085-2538(15)47156-X).
- [216] Alonso V, Magyar CE, Wang B, Bisello A, Friedman PA. Ubiquitination-deubiquitination balance dictates ligand-stimulated PTHR sorting. *Journal of Bone and Mineral Research* 2011;26:2923–34. <https://doi.org/10.1002/jbmr.494>.
- [217] Divieti P, John MR, Jüppner H, Bringhurst FR. Human PTH-(7-84) inhibits bone resorption in vitro via actions independent of the type 1 PTH/PTHrP receptor. *Endocrinology* 2002;143:171–6. <https://doi.org/10.1210/endo.143.1.8575>.
- [218] Drüeke TB, Massy ZA. Changing bone patterns with progression of chronic kidney disease. *Kidney International* 2016;89:289–302. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2015.12.004>.
- [219] Sprague SM, Bellorin-Font E, Jorgetti V, Carvalho AB, Malluche HH, Ferreira A, et al. Diagnostic Accuracy of Bone Turnover Markers and Bone Histology in Patients With CKD Treated by Dialysis. *American Journal of Kidney Diseases* 2016;67:559–66. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2015.06.023>.
- [220] Evenepoel P, Bover J, Ureña Torres P. Parathyroid hormone metabolism and signaling in health and chronic kidney disease. *Kidney International* 2016;90:1184–90. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2016.06.041>.
- [221] Kazama JJ, Shigematsu T, Yano K, Tsuda E, Miura M, Iwasaki Y, et al. Increased circulating levels of osteoclastogenesis inhibitory factor (osteoprotegerin) in patients with chronic renal failure. *American Journal of Kidney Diseases* 2002;39:525–32. <https://doi.org/10.1053/ajkd.2002.31402>.
- [222] Gonnelli S, Montagnani A, Caffarelli C, Cadirni A, Campagna MS, Franci MB, et al. Osteoprotegerin (OPG) and receptor activator of NF- κ B ligand (RANK-L) serum levels in patients on chronic hemodialysis. *J Endocrinol Invest* 2005;28:534–9. <https://doi.org/10.1007/BF03347242>.
- [223] Mathew S, Davies M, Lund R, Saab G, Hruska KA. Function and effect of bone morphogenetic protein-7 in kidney bone and the bone-vascular links in chronic kidney disease. *Eur J Clin Invest* 2006;36 Suppl 2:43–50. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2362.2006.01663.x>.
- [224] Kramer I, Loots GG, Studer A, Keller H, Kneissel M. Parathyroid hormone (PTH)-induced bone gain is blunted in SOST overexpressing and deficient mice. *J Bone Miner Res* 2010;25:178–89. <https://doi.org/10.1359/jbmr.090730>.
- [225] Brandenburg VM, Verhulst A, Babler A, D’Haese PC, Evenepoel P, Kaesler N. Sclerostin in chronic kidney disease-mineral bone disorder think first before you block it! *Nephrol Dial Transplant* 2019;34:408–14. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfy129>.
- [226] Bellido T, Saini V, Pajevic PD. Effects of PTH on osteocyte function. *Bone* 2013;54:250–7. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2012.09.016>.
- [227] de Oliveira RA, Barreto FC, Mendes M, dos Reis LM, Castro JH, Britto ZML, et al. Peritoneal dialysis per se is a risk factor for sclerostin-associated adynamic bone disease. *Kidney Int* 2015;87:1039–45. <https://doi.org/10.1038/ki.2014.372>.
- [228] Moysés RMA, Schiavi SC. Sclerostin, Osteocytes, and Chronic Kidney Disease – Mineral Bone Disorder. *Seminars in Dialysis* 2015;28:578–86. <https://doi.org/10.1111/sdi.12415>.
- [229] Sherrard DJ, Hercz G, Pei Y, Maloney NA, Greenwood C, Manuel A, et al. The spectrum of bone disease in end-stage renal failure--an evolving disorder. *Kidney Int* 1993;43:436–42. <https://doi.org/10.1038/ki.1993.64>.
- [230] Malluche HH, Mawad H, Monier-Faugere M-C. The importance of bone health in end-stage renal disease: out of the frying pan, into the fire? *Nephrol Dial Transplant* 2004;19 Suppl 1:i9-13. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfh1002>.
- [231] Iwasaki Y, Kazama JJ, Yamato H, Shimoda H, Fukagawa M. Accumulated uremic toxins attenuate bone mechanical properties in rats with chronic kidney disease. *Bone* 2013;57:477–83. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2013.07.037>.

- [232] Ketteler M, Block GA, Evenepoel P, Fukagawa M, Herzog CA, McCann L, et al. Executive summary of the 2017 KDIGO Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD) Guideline Update: what's changed and why it matters. *Kidney Int* 2017;92:26–36. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2017.04.006>.
- [233] Bucur RC, Panjwani DD, Turner L, Rader T, West SL, Jamal SA. Low bone mineral density and fractures in stages 3-5 CKD: an updated systematic review and meta-analysis. *Osteoporos Int* 2015;26:449–58. <https://doi.org/10.1007/s00198-014-2813-3>.
- [234] Robertson L, Black C, Fluck N, Gordon S, Hollick R, Nguyen H, et al. Hip fracture incidence and mortality in chronic kidney disease: the GLOMMS-II record linkage cohort study. *BMJ Open* 2018;8:e020312. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2017-020312>.
- [235] Jadoul M, Albert JM, Akiba T, Akizawa T, Arab L, Bragg-Gresham JL, et al. Incidence and risk factors for hip or other bone fractures among hemodialysis patients in the Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study. *Kidney Int* 2006;70:1358–66. <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5001754>.
- [236] Chadban SJ, Ahn C, Axelrod DA, Foster BJ, Kasiske BL, Kher V, et al. Summary of the Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Clinical Practice Guideline on the Evaluation and Management of Candidates for Kidney Transplantation. *Transplantation* 2020;104:708–14. <https://doi.org/10.1097/TP.0000000000003137>.
- [237] Woodle ES, First MR, Pirsch J, Shihab F, Gaber AO, Van Veldhuisen P, et al. A prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled multicenter trial comparing early (7 day) corticosteroid cessation versus long-term, low-dose corticosteroid therapy. *Ann Surg* 2008;248:564–77. <https://doi.org/10.1097/SLA.0b013e318187d1da>.
- [238] Torres A, Lorenzo V, Salido E. Calcium metabolism and skeletal problems after transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:551–8. <https://doi.org/10.1681/ASN.V132551>.
- [239] Weisinger JR, Carlini RG, Rojas E, Bellorin-Font E. Bone disease after renal transplantation. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006;1:1300–13. <https://doi.org/10.2215/CJN.01510506>.
- [240] Kalantar-Zadeh K, Molnar MZ, Kovesdy CP, Mucsi I, Bunnapradist S. Management of mineral and bone disorder after kidney transplantation. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2012;21:389–403. <https://doi.org/10.1097/MNH.0b013e3283546ee0>.
- [241] Monier-Faugere M-C, Mawad H, Qi Q, Friedler RM, Malluche HH. High prevalence of low bone turnover and occurrence of osteomalacia after kidney transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2000;11:1093–9. <https://doi.org/10.1681/ASN.V1161093>.
- [242] Evenepoel P, Bammens B, Claes K, Kuypers D, Meijers BKI, Vanrenterghem Y. Measuring Total Blood Calcium Displays a Low Sensitivity for the Diagnosis of Hypercalcemia in Incident Renal Transplant Recipients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010;5:2085–92. <https://doi.org/10.2215/CJN.02460310>.
- [243] Alagoz S, Trabulus S. Long-Term Evaluation of Mineral Metabolism After Kidney Transplantation. *Transplant Proc* 2019;51:2330–3. <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2019.01.181>.
- [244] Cundy T, Kanis JA, Heynen G, Morris PJ, Oliver DO. Calcium metabolism and hyperparathyroidism after renal transplantation. *Q J Med* 1983;52:67–78.
- [245] Gwinner W, Suppa S, Mengel M, Hoy L, Kreipe HH, Haller H, et al. Early calcification of renal allografts detected by protocol biopsies: causes and clinical implications. *Am J Transplant* 2005;5:1934–41. <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2005.00938.x>.
- [246] Evenepoel P, Naesens M, Claes K, Kuypers D, Vanrenterghem Y. Tertiary “hyperphosphatonism” accentuates hypophosphatemia and suppresses calcitriol levels in renal transplant recipients. *Am J Transplant* 2007;7:1193–200. <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2007.01753.x>.
- [247] Bhan I, Shah A, Holmes J, Isakova T, Gutierrez O, Burnett SM, et al. Post-transplant hypophosphatemia: Tertiary “Hyper-Phosphatonism”? *Kidney Int* 2006;70:1486–94. <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5001788>.

- [248] Baia LC, Heilberg IP, Navis G, de Borst MH, NIGRAM investigators. Phosphate and FGF-23 homeostasis after kidney transplantation. *Nat Rev Nephrol* 2015;11:656–66. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2015.153>.
- [249] Evenepoel P, Meijers BKI, de Jonge H, Naesens M, Bammens B, Claes K, et al. Recovery of hyperphosphatemia and renal phosphorus wasting one year after successful renal transplantation. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008;3:1829–36. <https://doi.org/10.2215/CJN.01310308>.
- [250] Stein EM, Shane E. Vitamin D in organ transplantation. *Osteoporos Int* 2011;22:2107–18. <https://doi.org/10.1007/s00198-010-1523-8>.
- [251] McGregor R, Li G, Penny H, Lombardi G, Afzali B, Goldsmith DJ. Vitamin D in renal transplantation - from biological mechanisms to clinical benefits. *Am J Transplant* 2014;14:1259–70. <https://doi.org/10.1111/ajt.12738>.
- [252] Liabeuf S, Cheddani L, Massy ZA. Uremic Toxins and Clinical Outcomes: The Impact of Kidney Transplantation. *Toxins (Basel)* 2018;10. <https://doi.org/10.3390/toxins10060229>.
- [253] Quarles LD. FGF23, PHEX, and MEPE regulation of phosphate homeostasis and skeletal mineralization. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003;285:E1–9. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00016.2003>.
- [254] Muirhead N, Zaltman JS, Gill JS, Churchill DN, Poulin-Costello M, Mann V, et al. Hypercalcemia in renal transplant patients: prevalence and management in Canadian transplant practice. *Clin Transplant* 2014;28:161–5. <https://doi.org/10.1111/ctr.12291>.
- [255] Messa P, Sindici C, Cannella G, Miotti V, Risaliti A, Gropuzzo M, et al. Persistent secondary hyperparathyroidism after renal transplantation. *Kidney Int* 1998;54:1704–13. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.1998.00142.x>.
- [256] Grotz WH, Mundinger FA, Rasenack J, Speidel L, Olschewski M, Exner VM, et al. Bone loss after kidney transplantation: a longitudinal study in 115 graft recipients. *Nephrol Dial Transplant* 1995;10:2096–100.
- [257] Perrin P, Caillard S, Javier RM, Braun L, Heibel F, Borni-Duval C, et al. Persistent hyperparathyroidism is a major risk factor for fractures in the five years after kidney transplantation. *Am J Transplant* 2013;13:2653–63. <https://doi.org/10.1111/ajt.12425>.
- [258] Giannini S, D'Angelo A, Carraro G, Nobile M, Rigotti P, Bonfante L, et al. Alendronate prevents further bone loss in renal transplant recipients. *J Bone Miner Res* 2001;16:2111–7. <https://doi.org/10.1359/jbmr.2001.16.11.2111>.
- [259] Horber FF, Casez JP, Steiger U, Czerniak A, Montandon A, Jaeger P. Changes in bone mass early after kidney transplantation. *J Bone Miner Res* 1994;9:1–9. <https://doi.org/10.1002/jbmr.5650090102>.
- [260] Julian BA, Laskow DA, Dubovsky J, Dubovsky EV, Curtis JJ, Quarles LD. Rapid Loss of Vertebral Mineral Density after Renal Transplantation. <http://DxDoiOrg/101056/NEJM199108223250804> 2010. <https://doi.org/10.1056/NEJM199108223250804>.
- [261] Julian BA, Laskow DA, Dubovsky J, Dubovsky EV, Curtis JJ, Quarles LD. Rapid loss of vertebral mineral density after renal transplantation. *N Engl J Med* 1991;325:544–50. <https://doi.org/10.1056/NEJM199108223250804>.
- [262] Abbott KC, Oglesby RJ, Hypolite IO, Kirk AD, Ko CW, Welch PG, et al. Hospitalizations for fractures after renal transplantation in the United States. *Ann Epidemiol* 2001;11:450–7. [https://doi.org/10.1016/s1047-2797\(01\)00226-5](https://doi.org/10.1016/s1047-2797(01)00226-5).
- [263] Nikkel L, Hollenbeak C, Fox E, Uemura T, Ghahramani N. Risk of Fractures After Renal Transplantation in the United States. *Transplantation* 2009;87:1846–51. <https://doi.org/10.1097/TP.0b013e3181a6bbda>.
- [264] Vautour LM, Melton LJ, Clarke BL, Achenbach SJ, Oberg AL, McCarthy JT. Long-term fracture risk following renal transplantation: a population-based study. *Osteoporos Int* 2004;15:160–7. <https://doi.org/10.1007/s00198-003-1532-y>.
- [265] Opelz G, Döhler B. Association of mismatches for HLA-DR with incidence of posttransplant hip fracture in kidney transplant recipients. *Transplantation* 2011;91:65–9. <https://doi.org/10.1097/tp.0b013e3181fa94d6>.

- [266] Nisbeth U, Lindh E, Ljunghall S, Backman U, Fellström B. Increased fracture rate in diabetes mellitus and females after renal transplantation. *Transplantation* 1999;67:1218–22. <https://doi.org/10.1097/00007890-199905150-00004>.
- [267] Akaberi S, Simonsen O, Lindergård B, Nyberg G. Can DXA Predict Fractures in Renal Transplant Patients? *American Journal of Transplantation* 2008;8:2647–51. <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2008.02423.x>.
- [268] Evenepoel P, Claes K, Meijers B, Laurent MR, Bammens B, Naesens M, et al. Bone mineral density, bone turnover markers, and incident fractures in de novo kidney transplant recipients. *Kidney Int* 2019;95:1461–70. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2018.12.024>.
- [269] Conley E, Muth B, Samaniego M, Lotfi M, Voss B, Armbrust M, et al. Bisphosphonates and bone fractures in long-term kidney transplant recipients. *Transplantation* 2008;86:231–7. <https://doi.org/10.1097/TP.0b013e318176b40f>.
- [270] Iyer SP, Nikkel LE, Nishiyama KK, Dworakowski E, Cremers S, Zhang C, et al. Kidney transplantation with early corticosteroid withdrawal: paradoxical effects at the central and peripheral skeleton. *J Am Soc Nephrol* 2014;25:1331–41. <https://doi.org/10.1681/ASN.2013080851>.
- [271] Marques IDB, Araújo MJCLN, Gracioli FG, Dos Reis LM, Pereira RMR, Alvarenga JC, et al. A Randomized Trial of Zoledronic Acid to Prevent Bone Loss in the First Year after Kidney Transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2019;30:355–65. <https://doi.org/10.1681/ASN.2018060656>.
- [272] Segaud N, Legroux I, Hazzan M, Noel C, Cortet B. Changes in bone mineral density after kidney transplantation: 2-year assessment of a French cohort. *Osteoporos Int* 2018;29:1165–75. <https://doi.org/10.1007/s00198-018-4383-2>.
- [273] Naylor KL, Jamal SA, Zou G, McArthur E, Lam NN, Leslie WD, et al. Fracture Incidence in Adult Kidney Transplant Recipients. *Transplantation* 2016;100:167–75. <https://doi.org/10.1097/TP.0000000000000808>.
- [274] Nair SS, Lenihan CR, Montez-Rath ME, Lowenberg DW, Chertow GM, Winkelmayr WC. Temporal Trends in the Incidence, Treatment and Outcomes of Hip Fracture After First Kidney Transplantation in the United States. *Am J Transplant* 2014;14:943–51. <https://doi.org/10.1111/ajt.12652>.
- [275] Salter ML, Liu X, Bae S, Chu NM, Dunham AM, Humbyrd C, et al. Fractures and subsequent graft loss and mortality among older kidney transplant recipients. *J Am Geriatr Soc* 2019;67:1680–8. <https://doi.org/10.1111/jgs.15962>.
- [276] Evenepoel P, Behets GJ, Viaene L, D’Haese PC. Bone histomorphometry in de novo renal transplant recipients indicates a further decline in bone resorption 1 year posttransplantation. *Kidney Int* 2017;91:469–76. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2016.10.008>.
- [277] Keronen S, Martola L, Finne P, Burton IS, Kröger H, Honkanen E. Changes in Bone Histomorphometry after Kidney Transplantation. *Clin J Am Soc Nephrol* 2019;14:894–903. <https://doi.org/10.2215/CJN.09950818>.
- [278] Meng C, Jørgensen HS, Verlinden L, Bravenboer N, de Loo H, D’Haese PC, et al. Contemporary kidney transplantation has a limited impact on bone microarchitecture. *Bone Rep* 2022;16:101172. <https://doi.org/10.1016/j.bonr.2022.101172>.
- [279] Jørgensen HS, Behets G, Bammens B, Claes K, Meijers B, Naesens M, et al. Natural History of Bone Disease following Kidney Transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2022;33:638–52. <https://doi.org/10.1681/ASN.2021081081>.
- [280] Ferreira AC, Mendes M, Silva C, Cotovio P, Aires I, Navarro D, et al. Bone densitometry versus bone histomorphometry in renal transplanted patients: a cross-sectional study. *Transpl Int* 2021;34:1065–73. <https://doi.org/10.1111/tri.13888>.
- [281] Sista SK, Arum SM. Management of adynamic bone disease in chronic kidney disease: A brief review. *J Clin Transl Endocrinol* 2016;5:32–5. <https://doi.org/10.1016/j.jcte.2016.07.002>.
- [282] André C, Bennis Y, Titeca-Beauport D, Caillard P, Cluet Y, Kamel S, et al. Two rapid, accurate liquid chromatography tandem mass spectrometry methods for the quantification of seven uremic toxins: An application for describing their accumulation kinetic profile in a context of

- acute kidney injury. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2020;1152:122234. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2020.122234>.
- [283] Kim Y, Lee E, Lee M-J, Park B, Park I. Characteristics of fracture in patients who firstly starts kidney replacement therapy in Korea: a retrospective population-based study. *Sci Rep* 2022;12:3107. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-07178-4>.
- [284] Lindquist M. VigiBase, the WHO Global ICSR Database System: Basic Facts. *Drug Information Journal* 2008;42:409–19. <https://doi.org/10.1177/009286150804200501>.
- [285] Montastruc J-L, Sommet A, Bagheri H, Lapeyre-Mestre M. Benefits and strengths of the disproportionality analysis for identification of adverse drug reactions in a pharmacovigilance database. *Br J Clin Pharmacol* 2011;72:905–8. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.2011.04037.x>.
- [286] André C, Choukroun G, Bennis Y, Kamel S, Lemaire-Hurtel AS, Masmoudi K, et al. Potential interactions between uremic toxins and drugs: an application in kidney transplant recipients treated with calcineurin inhibitors. *Nephrol Dial Transplant* 2021. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfab114>.
- [287] Keyes KM, Utz RL, Robinson W, Li G. What is a cohort effect? Comparison of three statistical methods for modeling cohort effects in obesity prevalence in the United States, 1971–2006. *Soc Sci Med* 2010;70:1100–8. <https://doi.org/10.1016/j.socscimed.2009.12.018>.
- [288] Keronen S, Martola L, Finne P, Burton IS, Tong XF, Kröger H, et al. Bone volume, mineral density, and fracture risk after kidney transplantation. *PLoS One* 2022;17:e0261686. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0261686>.
- [289] Kosoku A, Iwai T, Kabei K, Nishide S, Maeda K, Kumada N, et al. Hyperpolypharmacy and Frailty in Kidney Transplant Recipients. *Transplantation Proceedings* 2022;54:367–73. <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2021.11.026>.
- [290] Low JK, Crawford K, Manias E, Williams A. Quantifying the medication burden of kidney transplant recipients in the first year post-transplantation. *Int J Clin Pharm* 2018;40:1242–9. <https://doi.org/10.1007/s11096-018-0678-9>.
- [291] Woźniak I, Kolonko A, Chudek J, Nowak Ł, Farnik M, Więcek A. Influence of Polypharmacy on the Quality of Life in Stable Kidney Transplant Recipients. *Transplant Proc* 2018;50:1896–9. <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2018.02.128>.
- [292] Morrissey PE, Flynn ML, Lin S. Medication noncompliance and its implications in transplant recipients. *Drugs* 2007;67:1463–81. <https://doi.org/10.2165/00003495-200767100-00007>.
- [293] Bril F, Castro V, Centurion IG, Espinosa J, Keller GA, Gonzalez CD, et al. A Systematic Approach to Assess the Burden of Drug Interactions in Adult Kidney Transplant Patients. *Curr Drug Saf* 2016;11:156–63. <https://doi.org/10.2174/157488631102160429003742>.
- [294] Recommandations HAS - Médicaments inhibiteurs de la pompe à protons chez l'adulte (2009) n.d. https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2009-04/argumentaire_ipp_2009-04-27_14-15-18_458.pdf.
- [295] Yadlapati R, Kahrilas PJ. When is proton pump inhibitor use appropriate? *BMC Med* 2017;15:36. <https://doi.org/10.1186/s12916-017-0804-x>.
- [296] Wei X, Yu J, Xu Z, Wang C, Wu Y. Incidence, Pathogenesis, and Management of Proton Pump Inhibitor-Induced Nephrotoxicity. *Drug Saf* 2022. <https://doi.org/10.1007/s40264-022-01181-4>.
- [297] Eccleston C, Fisher E, Thomas KH, Hearn L, Derry S, Stannard C, et al. Interventions for the reduction of prescribed opioid use in chronic non-cancer pain. *Cochrane Database Syst Rev* 2017;2017:CD010323. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD010323.pub3>.
- [298] Mathieson S, Maher CG, Ferreira GE, Hamilton M, Jansen J, McLachlan AJ, et al. Deprescribing Opioids in Chronic Non-cancer Pain: Systematic Review of Randomised Trials. *Drugs* 2020;80:1563–76. <https://doi.org/10.1007/s40265-020-01368-y>.
- [299] Recommandations HAS - Bon usage des médicaments opioïdes : antalgie, prévention et prise en charge du trouble de l'usage et des surdoses (2022) n.d. https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2022-03/reco_opioides.pdf.

- [300] Lafargue M-C, Caliskan Y, Lentine KL, Riella LV. Opioids and Kidney Transplantation. *Semin Nephrol* 2021;41:42–53. <https://doi.org/10.1016/j.semnephrol.2021.02.005>.
- [301] Tantisattamo E, Molnar MZ, Ho BT, Reddy UG, Dafoe DC, Ichii H, et al. Approach and Management of Hypertension After Kidney Transplantation. *Frontiers in Medicine* 2020;7.
- [302] Sandal S, Bansal P, Cantarovich M. The evidence and rationale for the perioperative use of loop diuretics during kidney transplantation: A comprehensive review. *Transplant Rev (Orlando)* 2018;32:92–101. <https://doi.org/10.1016/j.trre.2017.11.002>.
- [303] Casper J, Schmitz J, Bräsen JH, Khalifa A, Schmidt BMW, Einecke G, et al. Renal transplant recipients receiving loop diuretic therapy have increased urinary tract infection rate and altered medullary macrophage polarization marker expression. *Kidney Int* 2018;94:993–1001. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2018.06.029>.
- [304] Knauf H, Cawello W, Schmidt G, Mutschler E. The saluretic effect of the thiazide diuretic bemetizide in relation to the glomerular filtration rate. *Eur J Clin Pharmacol* 1994;46:9–13. <https://doi.org/10.1007/BF00195908>.
- [305] Dussol B, Moussi-Frances J, Morange S, Somma-Delpero C, Mundler O, Berland Y. A randomized trial of furosemide vs hydrochlorothiazide in patients with chronic renal failure and hypertension. *Nephrol Dial Transplant* 2005;20:349–53. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfh650>.
- [306] Vasco RFV, Takayama L, Pereira RMR, Moyses RMA, Elias RM. Effects of diuretics furosemide and hydrochlorothiazide on CKD-MBD: A prospective randomized study. *Bone Reports* 2021;14:100746. <https://doi.org/10.1016/j.bonr.2021.100746>.
- [307] Verhave JC, Tagalakis V, Suissa S, Madore F, Hébert M-J, Cardinal H. The risk of thromboembolic events in kidney transplant patients. *Kidney Int* 2014;85:1454–60. <https://doi.org/10.1038/ki.2013.536>.
- [308] Zhang Y, Souverein PC, Gardarsdottir H, van den Ham HA, Maitland-van der Zee A-H, de Boer A. Risk of major bleeding among users of direct oral anticoagulants combined with interacting drugs: A population-based nested case-control study. *Br J Clin Pharmacol* 2020;86:1150–64. <https://doi.org/10.1111/bcp.14227>.
- [309] Chan N, Sobieraj-Teague M, Eikelboom JW. Direct oral anticoagulants: evidence and unresolved issues. *Lancet* 2020;396:1767–76. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32439-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32439-9).
- [310] Steffel J, Collins R, Antz M, Cornu P, Desteghe L, Haeusler KG, et al. 2021 European Heart Rhythm Association Practical Guide on the Use of Non-Vitamin K Antagonist Oral Anticoagulants in Patients with Atrial Fibrillation. *Europace* 2021;23:1612–76. <https://doi.org/10.1093/europace/euab065>.
- [311] Zakko J, Ganapathi AM, Whitson BA, Mokadam NA, Henn MC, Lampert B, et al. Safety of direct oral anticoagulants in solid organ transplant recipients: A meta-analysis. *Clin Transplant* 2022;36:e14513. <https://doi.org/10.1111/ctr.14513>.
- [312] Bixby AL, Shaikh SA, Naik AS, Cotiguala L, McMurry K, Samaniego-Picota MD, et al. Safety and efficacy of direct-acting oral anticoagulants versus warfarin in kidney transplant recipients: a retrospective single-center cohort study. *Transpl Int* 2020;33:740–51. <https://doi.org/10.1111/tri.13599>.
- [313] Parker K, Chu J, Morton M, Bhutani S, Picton M, Mitra S, et al. Can direct oral anticoagulants be used in kidney transplant recipients? *Clin Transplant* 2021;35:e14474. <https://doi.org/10.1111/ctr.14474>.
- [314] Bégaud B, Dangoumau J. [Pharmacoepidemiology: definitions, problems, methodology]. *Therapie* 2000;55:113–7.
- [315] International Society for Pharmacoepidemiology (ISPE) - International Society for Pharmacoepidemiology n.d. <https://www.pharmacoepi.org/> (accessed May 9, 2022).
- [316] Umscheid CA, Margolis DJ, Grossman CE. Key Concepts of Clinical Trials: A Narrative Review. *Postgrad Med* 2011;123:194–204. <https://doi.org/10.3810/pgm.2011.09.2475>.
- [317] Anderson WB. The media battle between Celebrex and Vioxx: influencing media coverage but not content. *Public Relations Review* 2001;27:449–60. [https://doi.org/10.1016/S0363-8111\(01\)00100-X](https://doi.org/10.1016/S0363-8111(01)00100-X).

- [318] Abou Taam M, Rossard C, Cantaloube L, Bouscaren N, Roche G, Pochard L, et al. Analysis of patients' narratives posted on social media websites on benfluorex's (Mediator®) withdrawal in France. *J Clin Pharm Ther* 2014;39:53–5. <https://doi.org/10.1111/jcpt.12103>.
- [319] EPI-PHARE - Surveillance pharmaco-épidémiologique des vaccins contre la COVID-19 n.d. <https://www.epi-phare.fr/rapports-detudes-et-publications/surveillance-pharmaco-epidemiologique-des-vaccins-contre-la-covid-19/>.
- [320] Mehra NK, Baranwal AK. Clinical and immunological relevance of antibodies in solid organ transplantation. *Int J Immunogenet* 2016;43:351–68. <https://doi.org/10.1111/iji.12294>.
- [321] Accueil | SNDS n.d. <https://www.snds.gouv.fr/SNDS/Accueil> (accessed May 9, 2022).
- [322] Suissa S. *Novel Approaches to Pharmacoepidemiology Study Design and Statistical Analysis*. Pharmacoepidemiology, John Wiley & Sons, Ltd; 2006, p. 811–29. <https://doi.org/10.1002/9780470059876.ch48>.
- [323] Austin PC, Stuart EA. Moving towards best practice when using inverse probability of treatment weighting (IPTW) using the propensity score to estimate causal treatment effects in observational studies. *Stat Med* 2015;34:3661–79. <https://doi.org/10.1002/sim.6607>.
- [324] Austin PC, Grootendorst P, Anderson GM. A comparison of the ability of different propensity score models to balance measured variables between treated and untreated subjects: a Monte Carlo study. *Stat Med* 2007;26:734–53. <https://doi.org/10.1002/sim.2580>.
- [325] Myers JA, Rassen JA, Gagne JJ, Huybrechts KF, Schneeweiss S, Rothman KJ, et al. Effects of adjusting for instrumental variables on bias and precision of effect estimates. *Am J Epidemiol* 2011;174:1213–22. <https://doi.org/10.1093/aje/kwr364>.
- [326] Maclure M, Mittleman MA. Should we use a case-crossover design? *Annu Rev Public Health* 2000;21:193–221. <https://doi.org/10.1146/annurev.publhealth.21.1.193>.
- [327] Whitaker HJ, Farrington CP, Spiessens B, Musonda P. Tutorial in biostatistics: the self-controlled case series method. *Stat Med* 2006;25:1768–97. <https://doi.org/10.1002/sim.2302>.
- [328] Chardon B, Host S, Pedrono G, Gremy I. [Contribution of case-crossover design to the analysis of short-term health effects of air pollution: reanalysis of air pollution and health data]. *Rev Epidemiol Sante Publique* 2008;56:31–40. <https://doi.org/10.1016/j.respe.2007.11.002>.
- [329] Pazzagli L, Linder M, Zhang M, Vago E, Stang P, Myers D, et al. Methods for time-varying exposure related problems in pharmacoepidemiology: An overview. *Pharmacoepidemiology and Drug Safety* 2018;27:148–60. <https://doi.org/10.1002/pds.4372>.
- [330] Gardarsdottir H, Egberts TCG, Heerdink ER. The association between patient-reported drug taking and gaps and overlaps in antidepressant drug dispensing. *Ann Pharmacother* 2010;44:1755–61. <https://doi.org/10.1345/aph.1P162>.
- [331] Zhang Z, Reinikainen J, Adeleke KA, Pieterse ME, Groothuis-Oudshoorn CGM. Time-varying covariates and coefficients in Cox regression models. *Ann Transl Med* 2018;6:121. <https://doi.org/10.21037/atm.2018.02.12>.
- [332] Detry MA, Ma Y. Analyzing Repeated Measurements Using Mixed Models. *JAMA* 2016;315:407–8. <https://doi.org/10.1001/jama.2015.19394>.
- [333] Ali MS, Groenwold RHH, Belitser SV, Souverein PC, Martín E, Gatto NM, et al. Methodological comparison of marginal structural model, time-varying Cox regression, and propensity score methods: the example of antidepressant use and the risk of hip fracture. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2016;25 Suppl 1:114–21. <https://doi.org/10.1002/pds.3864>.
- [334] Robins JM, Hernán MA, Brumback B. Marginal structural models and causal inference in epidemiology. *Epidemiology* 2000;11:550–60. <https://doi.org/10.1097/00001648-200009000-00011>.
- [335] Courbebaisse M, Thervet E, Souberbielle JC, Zuber J, Eladari D, Martinez F, et al. Effects of vitamin D supplementation on the calcium-phosphate balance in renal transplant patients. *Kidney Int* 2009;75:646–51. <https://doi.org/10.1038/ki.2008.549>.
- [336] Tsujita M, Doi Y, Obi Y, Hamano T, Tomosugi T, Futamura K, et al. Cholecalciferol Supplementation Attenuates Bone Loss in Incident Kidney Transplant Recipients: A Prespecified

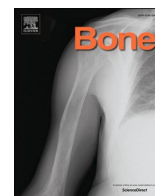
- Secondary Endpoint Analysis of a Randomized Controlled Trial. *J Bone Miner Res* 2022;37:303–11. <https://doi.org/10.1002/jbmr.4469>.
- [337] Palmer SC, Strippoli GFM. Interventions for Preventing Bone Disease in Kidney Transplant Recipients: Editorial Summary of a Cochrane Review. *Am J Kidney Dis* 2020;75:807–9. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2019.10.019>.
- [338] Berczi C, Asztalos L, Kincses Z, Balogh A, Lócsey L, Balázs G, et al. Comparison of calcium and alfacalcidol supplement in the prevention of osteopenia after kidney transplantation. *Osteoporos Int* 2003;14:412–7. <https://doi.org/10.1007/s00198-003-1389-0>.
- [339] Cueto-Manzano AM, Konel S, Freemont AJ, Adams JE, Mawer B, Gokal R, et al. Effect of 1,25-dihydroxyvitamin D3 and calcium carbonate on bone loss associated with long-term renal transplantation. *Am J Kidney Dis* 2000;35:227–36. [https://doi.org/10.1016/s0272-6386\(00\)70331-3](https://doi.org/10.1016/s0272-6386(00)70331-3).
- [340] Battaglia Y, Bellasi A, Bortoluzzi A, Tondolo F, Esposito P, Provenzano M, et al. Bone Mineral Density Changes in Long-Term Kidney Transplant Recipients: A Real-Life Cohort Study of Native Vitamin D Supplementation. *Nutrients* 2022;14:323. <https://doi.org/10.3390/nu14020323>.
- [341] De Sévaux RGL, Hoitsma AJ, Corstens FHM, Wetzels JFM. Treatment with vitamin D and calcium reduces bone loss after renal transplantation: a randomized study. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:1608–14. <https://doi.org/10.1097/01.asn.0000016082.70875.36>.
- [342] Josephson MA, Schumm LP, Chiu MY, Marshall C, Thistlethwaite JR, Sprague SM. Calcium and calcitriol prophylaxis attenuates posttransplant bone loss. *Transplantation* 2004;78:1233–6. <https://doi.org/10.1097/01.tp.0000137937.44703.42>.
- [343] Khairallah P, Nickolas TL. Bone and Mineral Disease in Kidney Transplant Recipients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2022;17:121–30. <https://doi.org/10.2215/CJN.03410321>.
- [344] Coco M, Glicklich D, Faugere MC, Burris L, Bognar I, Durkin P, et al. Prevention of Bone Loss in Renal Transplant Recipients: A Prospective, Randomized Trial of Intravenous Pamidronate. *JASN* 2003;14:2669–76. <https://doi.org/10.1097/01.ASN.0000087092.53894.80>.
- [345] Haas M, Leko-Mohr Z, Roschger P, Kletzmayer J, Schwarz C, Mitterbauer C, et al. Zoledronic acid to prevent bone loss in the first 6 months after renal transplantation. *Kidney Int* 2003;63:1130–6. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2003.00816.x>.
- [346] Coco M, Pullman J, Cohen HW, Lee S, Shapiro C, Solorzano C, et al. Effect of Risedronate on Bone in Renal Transplant Recipients. *J Am Soc Nephrol* 2012;23:1426–37. <https://doi.org/10.1681/ASN.2011060623>.
- [347] Toth-Manikowski SM, Francis JM, Gautam A, Gordon CE. Outcomes of bisphosphonate therapy in kidney transplant recipients: a systematic review and meta-analysis. *Clin Transplant* 2016;30:1090–6. <https://doi.org/10.1111/ctr.12792>.
- [348] Prolia - Summary of Product Characteristics (SmPC) - (emc) n.d. <https://www.medicines.org.uk/emc/product/568/smpc> (accessed May 10, 2022).
- [349] Bonani M, Frey D, Brockmann J, Fehr T, Mueller TF, Saleh L, et al. Effect of Twice-Yearly Denosumab on Prevention of Bone Mineral Density Loss in De Novo Kidney Transplant Recipients: A Randomized Controlled Trial. *Am J Transplant* 2016;16:1882–91. <https://doi.org/10.1111/ajt.13692>.
- [350] Cianciolo G, Tondolo F, Barbuto S, Iacovella F, Zavatta G, Altieri P, et al. Denosumab-Induced Hypocalcemia and Hyperparathyroidism in de novo Kidney Transplant Recipients. *AJN* 2021;52:611–9. <https://doi.org/10.1159/000518363>.
- [351] Brunova J, Kratochvilova S, Stepankova J. Osteoporosis Therapy With Denosumab in Organ Transplant Recipients. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2018;9:162. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00162>.
- [352] MS TN MD. The Effects of 12-months of Denosumab on Bone Density, Quality and Strength in Prevalent Kidney Transplant Recipients. clinicaltrials.gov; 2022.
- [353] Zanchetta MB, Boailchuk J, Massari F, Silveira F, Bogado C, Zanchetta JR. Significant bone loss after stopping long-term denosumab treatment: a post FREEDOM study. *Osteoporos Int* 2018;29:41–7. <https://doi.org/10.1007/s00198-017-4242-6>.

- [354] Anastasilakis AD, Papapoulos SE, Polyzos SA, Appelman-Dijkstra NM, Makras P. Zoledronate for the Prevention of Bone Loss in Women Discontinuing Denosumab Treatment. A Prospective 2-Year Clinical Trial. *J Bone Miner Res* 2019;34:2220–8. <https://doi.org/10.1002/jbmr.3853>.
- [355] Kondo H, Okimoto N, Yoshioka T, Akahoshi S, Fuse Y, Ogawa T, et al. Zoledronic acid sequential therapy could avoid disadvantages due to the discontinuation of less than 3-year denosumab treatment. *J Bone Miner Metab* 2020;38:894–902. <https://doi.org/10.1007/s00774-020-01126-w>.
- [356] Cejka D, Benesch T, Krestan C, Roschger P, Klaushofer K, Pietschmann P, et al. Effect of teriparatide on early bone loss after kidney transplantation. *Am J Transplant* 2008;8:1864–70. <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2008.02327.x>.
- [357] Padhi D, Jang G, Stouch B, Fang L, Posvar E. Single-dose, placebo-controlled, randomized study of AMG 785, a sclerostin monoclonal antibody. *J Bone Miner Res* 2011;26:19–26. <https://doi.org/10.1002/jbmr.173>.
- [358] Cosman F, Crittenden DB, Adachi JD, Binkley N, Czerwinski E, Ferrari S, et al. Romosozumab Treatment in Postmenopausal Women with Osteoporosis. *N Engl J Med* 2016;375:1532–43. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1607948>.
- [359] Saag KG, Petersen J, Brandi ML, Karaplis AC, Lorentzon M, Thomas T, et al. Romosozumab or Alendronate for Fracture Prevention in Women with Osteoporosis. *N Engl J Med* 2017;377:1417–27. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1708322>.
- [360] Lewiecki EM, Blicharski T, Goemaere S, Lippuner K, Meisner PD, Miller PD, et al. A Phase III Randomized Placebo-Controlled Trial to Evaluate Efficacy and Safety of Romosozumab in Men With Osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2018;103:3183–93. <https://doi.org/10.1210/jc.2017-02163>.
- [361] European Medicines Agency - Evenity n.d. <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/evenity>.
- [362] Haute Autorité de Santé - Evenity n.d. https://www.has-sante.fr/jcms/p_3243905/fr/evenity-romosozumab.
- [363] Cejka D, Parada-Rodriguez D, Pichler S, Marculescu R, Kramer I, Kneissel M, et al. Only minor differences in renal osteodystrophy features between wild-type and sclerostin knockout mice with chronic kidney disease. *Kidney Int* 2016;90:828–34. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2016.06.019>.
- [364] Moe SM, Chen NX, Newman CL, Organ JM, Kneissel M, Kramer I, et al. Anti-sclerostin antibody treatment in a rat model of progressive renal osteodystrophy. *J Bone Miner Res* 2015;30:499–509. <https://doi.org/10.1002/jbmr.2372>.
- [365] Miller PD, Adachi JD, Albergaria B-H, Cheung AM, Chines AA, Gielen E, et al. Efficacy and Safety of Romosozumab Among Postmenopausal Women With Osteoporosis and Mild-to-Moderate Chronic Kidney Disease. *Journal of Bone and Mineral Research* n.d.;n/a. <https://doi.org/10.1002/jbmr.4563>.
- [366] Sato M, Inaba M, Yamada S, Emoto M, Ohno Y, Tsujimoto Y. Efficacy of romosozumab in patients with osteoporosis on maintenance hemodialysis in Japan; an observational study. *J Bone Miner Metab* 2021;39:1082–90. <https://doi.org/10.1007/s00774-021-01253-y>.
- [367] Green J, Debby H, Lederer E, Levi M, Zajicek HK, Bick T. Evidence for a PTH-independent humoral mechanism in post-transplant hypophosphatemia and phosphaturia. *Kidney Int* 2001;60:1182–96. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2001.0600031182.x>.
- [368] Van Staa TP, Leufkens HGM, Abenhaim L, Zhang B, Cooper C. Use of oral corticosteroids and risk of fractures. June, 2000. *J Bone Miner Res* 2005;20:1487–94; discussion 1486. <https://doi.org/10.1359/jbmr.2005.20.8.1486>.
- [369] van Staa TP, Leufkens HGM, Cooper C. The epidemiology of corticosteroid-induced osteoporosis: a meta-analysis. *Osteoporos Int* 2002;13:777–87. <https://doi.org/10.1007/s001980200108>.
- [370] Lagos BR, Maibach HI. Topical corticosteroids: unapproved uses, dosages, or indications. *Clinics in Dermatology* 2002;20:490–2. [https://doi.org/10.1016/S0738-081X\(02\)00279-1](https://doi.org/10.1016/S0738-081X(02)00279-1).

- [371] Hengge UR, Ruzicka T, Schwartz RA, Cork MJ. Adverse effects of topical glucocorticosteroids. *Journal of the American Academy of Dermatology* 2006;54:1–15.
<https://doi.org/10.1016/j.jaad.2005.01.010>.
- [372] Meyer N, Paul C, Joly P. Management of Autoimmune Bullous Diseases in France: A Nationwide Network of 30 Centers. *Dermatologic Clinics* 2011;29:659–62.
<https://doi.org/10.1016/j.det.2011.06.017>.

Annexe 1

Associations between osteoporosis and drug exposure:
A post-marketing study of the World Health
Organization pharmacovigilance database (VigiBase®)



Full Length Article

Associations between osteoporosis and drug exposure: A post-marketing study of the World Health Organization pharmacovigilance database (VigiBase®)

Benjamin Batteux^{a,b,c,d,*}, Youssef Bennis^{a,c}, Sandra Bodeau^{a,c}, Kamel Masmoudi^a, Anne-Sophie Hurtel-Lemaire^a, Said Kamel^{c,e}, Valérie Gras-Champel^{a,c}, Sophie Liabeuf^{a,c}

^a Department of Pharmacology, Amiens University Medical Center, F-80054 Amiens, France

^b Department of Rheumatology, Saint-Quentin Medical Center, F-02321 Saint-Quentin, France

^c MP3CV Laboratory, EA7517, Jules Verne University of Picardie, F-80054 Amiens, France

^d RECIF, Amiens-Picardie University Medical Center, F-80054 Amiens, France

^e Biochemistry Laboratory, Amiens University Medical Center, F-80000 Amiens, France



ARTICLE INFO

Keywords:

Osteoporosis
Drug
Pharmacology
Pharmacoepidemiology
Pharmacovigilance

ABSTRACT

Background: Bone remodeling is a complex process, and many conditions (including drug exposure) lead to osteoporosis. Here, we sought to detect new disproportionality signals for drugs associated with osteoporosis.

Methods: We performed a disproportionality analysis of the World Health Organization's VigiBase® pharmacovigilance database through April 12, 2020. The frequency of reports on osteoporosis for all identified drug classes was compared with that for all other drugs and quoted as the reporting odds ratio (ROR) [95% confidence interval (CI)].

Results: Of the 7,594,968 cases spontaneously recorded to VigiBase®, 4758 concerned osteoporosis. New disproportionality signals with a pharmacologically plausible mechanism were found for drugs used in neurology (levodopa (ROR [95%CI]: 10.18 [4.33–25.10]), selective serotonin agonists (4.22 [2.34–7.00]) and memantine (4.10 [1.56–8.93])), hematology (romiplostim (4.93 [1.15–21.10])), pulmonology (macitentan (3.02 [1.84–4.90])), ophthalmology (ranibizumab (3.31 [1.00–10.51])) and rheumatology (tofacitinib (3.65 [3.00–4.40])). The robustness of these new results is supported by the significant RORs for the vast majority of drugs already known to induce osteoporosis and/or increase the fracture risk, namely glucocorticoids, gonadotropin-releasing hormone analogs, anti-aromatases, androgen receptor blockers, thyroid hormones, proton pump inhibitors, thiazolidinediones, vitamin K antagonists, loop diuretics, protease inhibitors, nucleoside and nucleotide reverse transcriptase inhibitors, and enzyme-inducing antiepileptics including barbiturates and derivatives, hydantoin derivatives, carboxamide derivatives and fatty acid derivatives.

Conclusion: We established up a comprehensive list of drugs potentially associated with osteoporosis and highlighted those with pharmacologically plausible mechanisms leading to bone fragility. Our results might pave the way for additional exploration of these mechanisms.

Abbreviations: 5-HT, 5-hydroxytryptamine (serotonin); ADR, adverse drug reaction; AI, aromatase inhibitor; ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; BMD, bone mineral density; CI, confidence interval; COX, cyclooxygenase; DMARD, disease modifying anti-rheumatic drug; ET-1, endothelin-1; GnRH, gonadotropin-releasing hormone; HCQ, hydroxychloroquine; ICSR, individual case safety report; IL, interleukin; IRD, inflammatory rheumatic disease; JAK, Janus kinase; MedDRA, Medical Dictionary for Regulatory Activities; Mpl, myeloproliferative leukemia virus oncogene; MS, multiple sclerosis; MTX, methotrexate; NFκB, nuclear factor-kappa B; NMDA, N-methyl-D-aspartate; NNRT, nucleoside and nucleotide reverse transcriptase; OB, osteoblast; OC, osteoclast; PDE-5, phosphodiesterase-5; PG, prostaglandin; PI, protease inhibitor; PPI, proton pump inhibitor; RA, rheumatoid arthritis; RANKL, receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand; ROR, reporting odds ratio; SD, standard deviation; sGC, soluble guanylate cyclase; SMQ, standardized MedDRA query; SSRI, selective serotonin reuptake inhibitor; STAT, signal transducers and activators of transcription; TPO, thrombopoietin; TTR, transthyretin; VEGF, endothelial growth factor; VKA, vitamin K antagonist; WHO, World Health Organization.

* Corresponding author at: Department of Clinical Pharmacology, Amiens University Medical Center, Rue du Professeur Christian Cabrol, F-80000 Amiens, France.

E-mail address: batteux.benjamin@chu-amiens.fr (B. Batteux).

<https://doi.org/10.1016/j.bone.2021.116137>

Received 20 April 2021; Received in revised form 13 July 2021; Accepted 28 July 2021

Available online 31 July 2021

8756-3282/© 2021 The Authors.

Published by Elsevier Inc.

This is an open access article under the CC BY-NC-ND license

(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

1. Introduction

Osteoporosis is a systemic skeletal disease characterized by low bone mineral density (BMD), microarchitectural deterioration of the bone tissue, and a consequential increase in bone fragility [1]. Bone fractures (the main complication of osteoporosis) have a major impact on health and quality of life and constitute a significant economic burden [2].

The conditions or factors that lead to osteoporosis and/or an elevated fracture risk include age, sex, race, smoking, alcohol consumption, body weight, poor nutrition or any cause of malabsorption, low calcium and vitamin D intakes, chronic inflammatory rheumatic diseases (IRDs, particularly rheumatoid arthritis (RA)), other inflammatory diseases, endocrine disorders, bone marrow disorders, immobilization, a history of fractures, and the fall risk [3].

Furthermore, several drugs are known to induce osteoporosis and/or increase the fracture risk: systemic, inhaled and topical glucocorticoids [4], some hormone preparations (gonadotropin-releasing hormone (GnRH) analogs [5], aromatase inhibitors (AIs) [6], androgen receptor blockers [7], and thyroid hormones [8]), proton pump inhibitors (PPIs) [9], thiazolidinediones [10], vitamin K antagonists (VKAs) [11], loop diuretics [12], protease inhibitors (PIs), nucleoside and nucleotide reverse transcriptase (NNRT) inhibitors [13,14], opioids [15,16], anti-epileptics [17], antipsychotics [18,19], benzodiazepines [20], antidepressants (mainly selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs)) [21], vitamin A [22], and heparin during pregnancy [23].

Although phase III studies are very robust tools for assess drug effectiveness, they are less able to evaluate adverse drug reactions (ADRs) because of the small sample sizes, highly selected populations, and short follow-up periods [24]. Hence, post-marketing pharmacoepidemiologic studies are important for detecting rare or long-term ADRs, such as osteoporosis in long-term users of PPIs [9] or VKAs [11]. Disproportionality analysis lies at the interface between pharmacovigilance and pharmacoepidemiology. It is usually based on the assessment of spontaneous individual case safety reports (ICSRs) and can detect early disproportionality signals for specific ADRs, which must then be confirmed by more specific pharmacoepidemiologic studies [25]. For example, a disproportionality signal (defined as reports of events that are significantly disproportionate, *i.e.* an observed/expected ratio exceeding a specific threshold [26]) was detected for rofecoxib and thrombotic ADRs as early as the end of 2001 [27]. The drug was withdrawn from the market for this reason in September 2004.

Pharmacovigilance and pharmacoepidemiologic studies have identified a broad range of drug classes associated with an osteoporotic risk. The safety of recently marketed drugs must be assessed regularly. Dardonville et al. recently analyzed drug-induced osteoporosis in the French and Spanish pharmacovigilance databases but did not perform a disproportionality analysis that might have detected new disproportionality signals [28].

Consequently, we analyzed a global pharmacovigilance database in order to (i) provide an overview of drugs already known to induce osteoporosis and/or increase the fracture risk, and (ii) detect new disproportionality signals for osteoporosis and discuss potential mechanisms underlying bone fragility.

2. Methods

2.1. Data source

ICSRs were collected from VigiBase® — the world's largest pharmacovigilance database, curated by the World Health Organization (WHO) [29]. Each ICSR includes anonymous administrative data (the country, and the reporter's qualification), patient information (age and sex), drug information (the international non-proprietary name or the trade name, Anatomical Therapeutic Chemical (ATC) classification, indication, start date, withdrawal date, dosage, and administration route), and information on the suspected ADR (coded according to the

Medical Dictionary for Regulatory Activities (MedDRA)) [30]. There are five levels in the MedDRA hierarchy, ranging from very general to very specific. MedDRA also includes standardized MedDRA queries (SMQs), which are collections of MedDRA terms consistent with a description of a clinical syndrome associated with an ADR and drug exposure [31]. As such, SMQs are useful for wide-ranging searches. There are two types of SMQ: the narrow SMQ contains fewer MedDRA terms than the broad SMQ and is therefore more specific. If a drug is considered to be at least probably responsible for the ADR, it is defined as “suspect” or “interacting” in the ICSR. If not, it is defined as “concomitant.” Probability scales are based on a variety of temporal, semiologic, and/or bibliographic criteria [32]. Full information on ICSRs is given on the Uppsala Monitoring Centre's website [26].

2.2. Study design

Using the narrow SMQ “Osteoporosis/osteopenia” (including the MedDRA preferred terms “Bone density decreased”, “Bone formation decreased”, “Bone loss”, “Bone marrow oedema syndrome”, “Osteopenia”, “Osteoporosis”, “Osteoporosis postmenopausal”, “Osteoporotic fracture”, “Resorption bone increased”, “Senile osteoporosis”), we selected ICSRs recorded in VigiBase between January 1, 1967, and April 12, 2020. In order to analyze only the best-documented ICSRs (particular with regard to the nature of adverse drug reactions and the suspected or concomitant medications), we selected ICSRs filed by physicians, pharmacists, or other health professionals. Lastly, we analyzed only ICSRs for which the sex and age (18 or over) were reported. We then analyzed drugs reported as being “suspect” in least in three ICSRs [33]. Given the large number of suspect drugs at the 5th level of the ATC classification, we pooled the active substances at the 3rd level (the pharmacological subgroup) or the 4th level (the chemical subgroup) corresponding to the mechanism of action. In order to avoid the question of poor drug effectiveness, we excluded ICSRs for which the suspected, interacting, or concomitant drugs were indicated in osteoporosis, *i.e.* bisphosphonates (ATC M05BA and M05BB), denosumab (ATC M05BX04), burosumab (ATC M05BX05), romosozumab (ATC M05BX06), teriparatide (ATC H05AA02), abaloparatide (ATC H05AA04), strontium renalate (ATC M05BX03 and M05BX53), selective estrogen receptor modulators (ATC GX03XC), estrogen replacement therapy (ATC G03AA, G03AB, G03C, G03EA, G03EB, G03F, L02AA), calcitonin preparations (ATC H05BA), calcium (ATC A12A), and vitamin D and its analogs (ATC A11CC).

2.3. Statistical analysis

In our descriptive analysis, categorical variables were expressed as the number (percentage), and continuous variables were expressed as the mean \pm standard deviation (SD) or, as appropriate, the median (range).

Several types of disproportionality analysis are available in the literature. Here, we chose to calculate reporting odds ratio (ROR) and its 95% confidence interval (CI) as a gauge of the association between a suspected drug and osteoporosis in the ICSRs filtered over the study period. This case/non-case approach is the best way to deal with the limitations of a database of spontaneous reports and to interpret the results optimally [34]. The ROR calculation method has been described elsewhere [25]. Briefly, $ROR = (a/c) / (b/d)$, where (a) is the number of osteoporosis ADRs with the suspected drug, (b) is the number of osteoporosis ADRs with all other drugs, (c) is the number of ADRs other than osteoporosis with the suspected drug, and (d) is the number of ADRs other than osteoporosis with all other drugs. If the ROR and the lower boundary of its 95%CI are above than 1, the ADR of interest is reported more frequently with the drug of interest than with all other drugs. It has been suggested that an ROR above 4 corresponds to a “large” effect size [25].

Given that many conditions can lead to osteoporosis, we expected to

see false-positive RORs confounded by the disease itself and “disease spill-over” (i.e. aspects of the treated disease coded as an ADR, namely osteoporosis). In this case, the disproportionality signal would reflect the risk associated with the indication and not with the drug itself. Thus, we minimized this indication bias by stratifying the RORs by therapeutic area; we defined the comparator as the suspected drug’s therapeutic or pharmacological class, rather than all other drugs [35]. The therapeutic areas considered in the analyses are summarized in Supplementary Table S1. The RORs were adjusted for age and sex, using logistic regressions.

Bias due to competition between events might mask interesting RORs and can be observed when the suspected drug is strongly associated with another ADR [36,37]. This bias can be minimized by removing the competitor event [37]. We therefore performed sensitivity analyses when RORs were not significant for drugs already known to be associated with osteoporosis by removing the most frequently reported ADR for each drug concerned from the analysis. Overall, this case was encountered only for antithrombotic agents, where the SMQ “Haemorrhages” was removed from the analysis for this drug class.

We performed sensitivity analyses by applying the above-mentioned method to (i) the broad SMQ “osteoporosis/osteopenia”, which includes ADRs related to fractures, a decrease in BMD, and changes in markers of bone turnover (such as elevated urine levels of collagen cross-linked N-telopeptide and elevated serum levels of collagen C-telopeptide), and (ii) the MedDRA terms related to fractures. The MedDRA terms related to the broad and narrow SMQs and to fractures are given in Supplementary Table S2.

All analyses were performed using R software (version 3.6.0, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

3. Results

3.1. Study population

After the exclusion of drugs indicated in osteoporosis, 4758 of the 7,594,968 ICSRs in adult patients of known age and sex reported by physicians, pharmacists or other health professionals to Vigibase® between January 1, 1967, and April 12, 2020, matched the narrow SMQ “osteoporosis/osteopenia”. There was a single suspect drug in 2798 (58.8%) of the ICSRs. The mean \pm SD age was 57.1 ± 15.6 . The cases predominantly occurred in females (65.9%). The characteristics of the

Table 1
Characteristics of ICSRs.

Characteristics	Broad SMQ « Osteoporosis » n = 4758
Age (years) \pm SD	51.1 \pm 15.6
Sex, n (%)	
Male	1621 (34.1)
Female	3137 (65.9)
Reporter qualification, n (%)	
Physicians	2933 (61.6)
Pharmacists	383 (8.0)
Other health professionals	1059 (30.4)
Continent, n (%)	
North America	2184 (45.9)
Europe	1785 (37.5)
Asia	645 (13.6)
Other regions ¹	144 (3.0)
Seriousness of ADRs ² , n (%)	
Death	157 (3.3)
Life-threatening event	62 (1.3)
Disability/incapacity	542 (11.4)
Hospitalization (caused or prolonged)	2679 (56.3)
Others	2684 (56.4)

ADR, adverse drug reaction; ICSRs, individual case safety reports; SMQ, standardized medical dictionary for regulatory activities queries.

¹ Including Oceania, Africa and South America.

² ADRs of a unique ICSR can have a different seriousness.

study population are summarized in Table 1.

3.2. Disproportionality analysis

3.2.1. Drugs already known to induce osteoporosis and/or increase the fracture risk

The adjusted RORs (aRORs) [95%CI] were significant for PPIs (12.12 [6.79–24.21]), thiazolidinediones (1.80 [1.11–2.82]), heparins (3.69 [2.75–4.92]), high-ceiling diuretics (2.37 [1.19–4.84]), systemic, inhaled and topical corticosteroids (14.14 [13.17–15.18], 2.55 [2.02–3.24] and 13.06 [12.17–14.00], respectively), antiandrogens (7.76 [3.78–14.84]), thyroid hormones (2.44 [1.64–3.46]), PIs (1.75 [1.38–2.18]), NNRT inhibitors (2.78 [2.37–3.25]), GnRH analogs (4.21 [3.25–5.45]), AIs (4.21 [3.25–4.45]), and enzyme-inducing antiepileptics, including barbiturates and derivatives (7.35 [5.05–10.43]), hydantoin derivatives (7.89 [1.32–2.64]), carboxamide derivatives (1.93 [1.42–2.59]) and fatty acid derivatives (2.06 [1.50–2.79]). The RORs are represented graphically in Figs. 1 and 2.

These results were consistent with sensitivity analyses (Supplementary Figs. S1–S42), with the exception of the following drugs. The aROR for heparin was not significant in the broad SMQ (0.69 [0.58–0.81], Supplementary Fig. S5) but was significant in the fractures subset (3.69 [2.72–5.00], Supplementary Fig. S6). The aROR for thyroid hormones was not significant in the broad SMQ (0.83 [0.62–1.08], Supplementary Fig. S17) but was significant in the fractures subset (2.65 [1.75–3.81], Supplementary Fig. S18). The aROR for opioids was significant in the broad SMQ (1.67 [1.47–1.89], Supplementary Fig. S29) and not in the fractures subset (1.21 [0.83–1.71], Supplementary Fig. S30). The aROR for benzodiazepine-related hypnotics and sedatives was significant in the broad SMQ (1.34 [1.12–1.60], Supplementary Fig. S29) but not in the fractures subset (0.55 [0.22–1.14], Supplementary Fig. S30). The aROR for retinoids in treatment of psoriasis was significant in the fractures subset (6.16 [1.44–42.22], Supplementary Fig. S12).

For VKAs, the aROR was significant after removing the SMQ “Haemorrhages” from the analysis (1.68 [1.52–1.86], Fig. 3) but not before (0.37 [0.31–0.44]; Supplementary Figs. S4–S6). The RORs were not significant for platelet aggregation inhibitors, even the SMQ “Haemorrhages” had been removed from the analysis.

3.2.2. New disproportionality signals

In group A of the ATC classification, the aROR [95%CI] was significant for imiglucerase (4.87 [1.24–20.33], Fig. 1).

In group B of the ATC classification, the aROR was significant for romiplostim (4.93 [1.15–21.10]), Fig. 1).

In group C of the ATC classification, the aRORs were significant for antihypertensives for pulmonary arterial hypertension (particularly macitentan (3.02 [1.84–4.90]) and riociguat (2.83 [1.25–5.59]), Fig. 1).

In group G of the ATC classification, the aROR was significant for sildenafil (2.84 [1.29–5.63]), Fig. 1).

In group L of the ATC classification, the aRORs were significant for interferon beta-1a (9.49 [6.66–13.73], Fig. 1), mycophenolic acid (2.53 [1.99–3.16]), sirolimus (2.12 [1.02–3.85]), leflunomide (4.84 [3.84–6.03]), abatacept (5.06 [4.08–6.20]), belimumab (3.17 [1.25–6.46]), tofacitinib (3.65 [3.00–4.40]), tocilizumab (6.16 [5.08–7.41]), calcineurin inhibitors (1.43 [1.11–1.80]), and azathioprine (2.26 [1.69–2.96]), Fig. 2).

In group M of the ATC classification system, the aRORs were significant for nonsteroidal anti-inflammatory drugs (1.25 [1.11–1.40]), particularly for cyclooxygenase inhibitors (coxibs: 10.28 [8.06–13.19], Fig. 2).

In group N of the ATC classification, the aRORs were significant for selective serotonin (5-HT) agonists (4.22 [2.34–7.00]), dopaminergic agents particularly dopa and its derivatives (10.18 [4.33–25.10]), memantine (4.10 [1.56–8.93]), sodium oxybate (4.79 [2.75–7.66]) and amifampridine (43.60 [13.51–104.15]), Fig. 2).

In group P of the ATC classification, the aROR was significant for

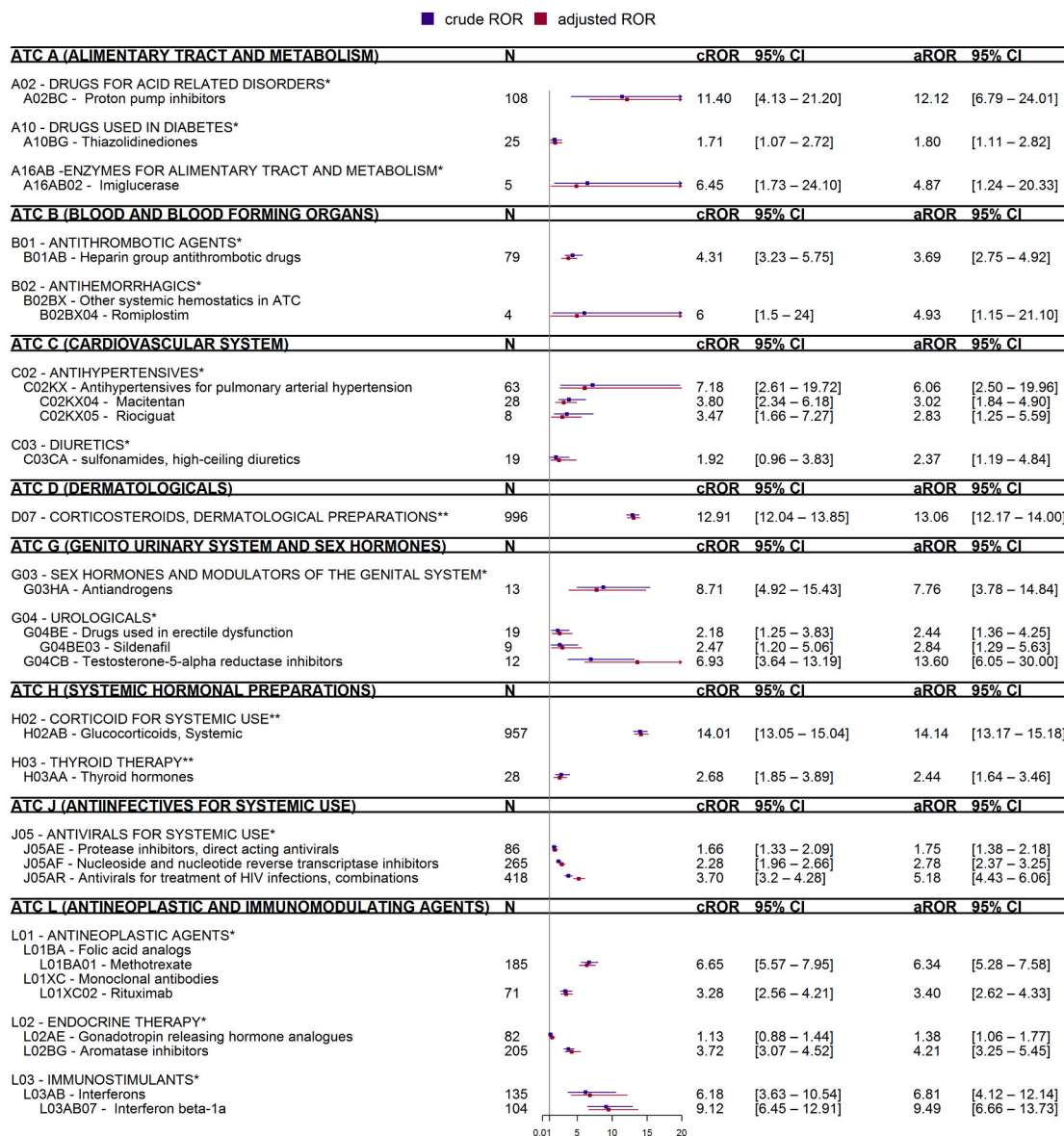


Fig. 1. Significant RORs for osteoporosis (narrow SMQ) with drugs in the ATC groups A, B, C, D, G, H, J and L. *ROR calculation performed for the corresponding therapeutic area. **ROR calculation not stratified by therapeutic area (the corresponding drugs are almost the only ones in their therapeutic area). ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.

hydroxychloroquine (7.91 [6.70–9.26], Fig. 2).

In group R of the ATC classification system, the aRORs were significant for omalizumab (2.38 [1.67–3.29]) and mepolizumab (2.94 [1.51–5.12], Fig. 2).

In group S of the ATC classification, the aROR was significant for ranizumab (3.31 [1.00–10.51], Fig. 2).

In group V of the ATC classification, the RORs were significant for iron-chelating agents (4.20 [2.58–6.39]) and radium Ra 223 dichloride (5.13 [1.27–13.36], Fig. 2).

All these results were consistent with those of the sensitivity analyses, with the exception of imiglucerase (3.75 [0.86–16.24], Supplementary Fig. S3), romiplostim (2.43 [0.33–12.68], Supplementary Fig. S6), and radium Ra 223 dichloride (4.05 [0.67–12.55], Supplementary Fig. S42) in the fractures subset, and for riociguat (1.09 [0.82–1.42], Supplementary Fig. S8), mycophenolic acid (0.67 [0.57–0.78], Supplementary Fig. S23), sirolimus (0.87 [0.58–1.24], Supplementary Fig. S23), belimumab (1.59 [0.95–2.49], Supplementary Fig. S23), calcineurin inhibitors (0.57 [0.49–0.65], Supplementary Fig. S23), azathioprine (0.80 [0.66–0.92], Supplementary Fig. S23), and

nonsteroidal anti-inflammatory drugs (0.72 [0.67–0.77], Supplementary Fig. S26) in the broad SMQ.

4. Discussion

Our results are in line with the literature data and provide a comprehensive overview of drugs associated with osteoporosis and the risk of fracture. Furthermore, we report on new disproportionality signals for (i) drugs previously linked via clinical studies to a lower BMD and/or a higher fracture risk, (ii) drugs whose pharmacological properties provide a rationale for a potential effect on bone metabolism, and (iii) drugs that do not belong to either of the previous categories.

4.1. Drugs with previously published clinical data on a potential association with osteoporosis

The aRORs were significant for the vast majority of drugs already known to induce osteoporosis and/or increase the fracture risk, namely systemic, inhaled and topical glucocorticoids, GnRH analogs, AIs,

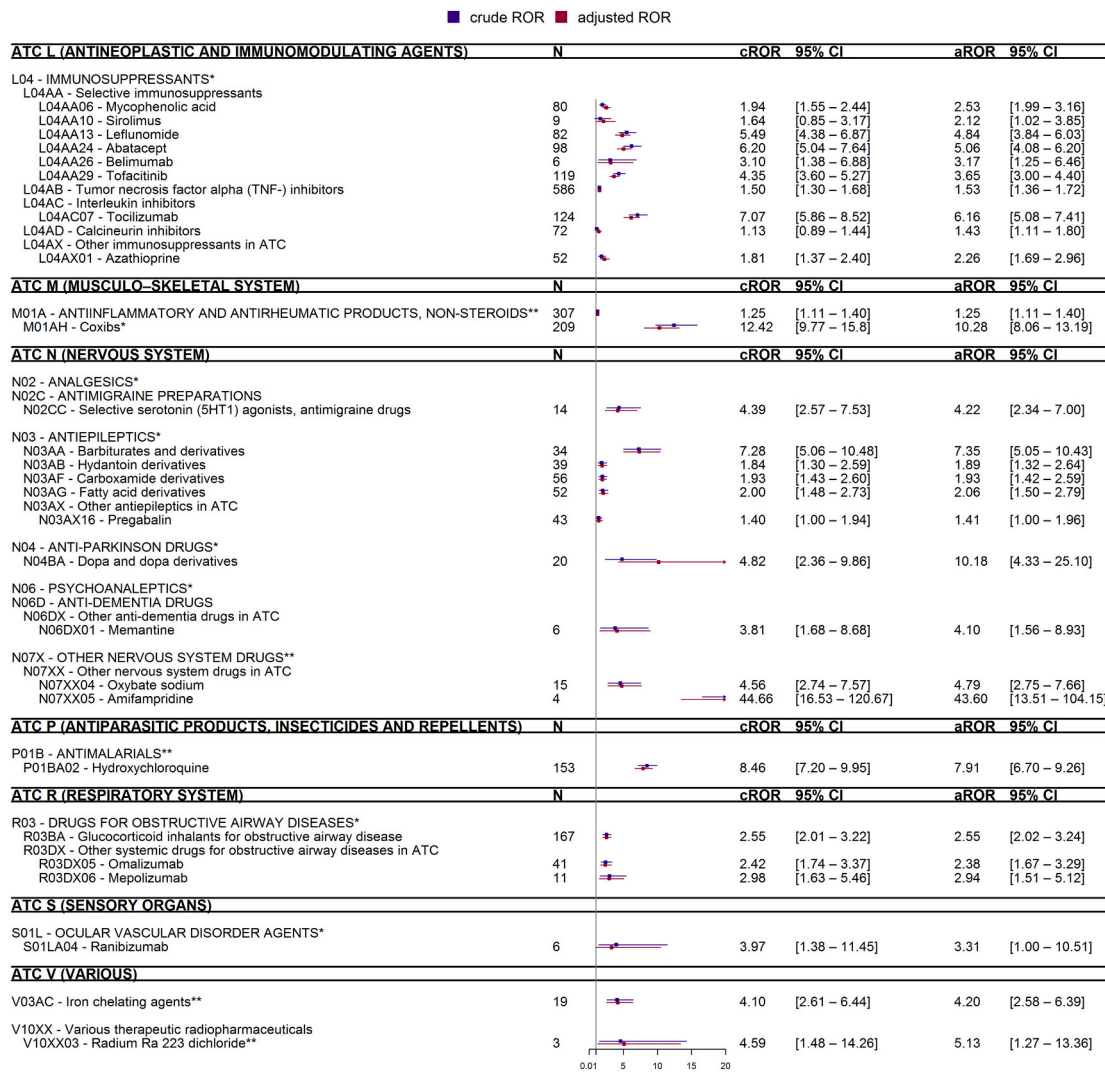


Fig. 2. Significant RORs for osteoporosis (narrow SMQ) with drugs in the ATC groups L, M, N, P, R, S and V. *ROR calculation performed in the corresponding therapeutic area. **ROR calculation not stratified by therapeutic area (the corresponding drugs are almost the only ones in their therapeutic area). ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.

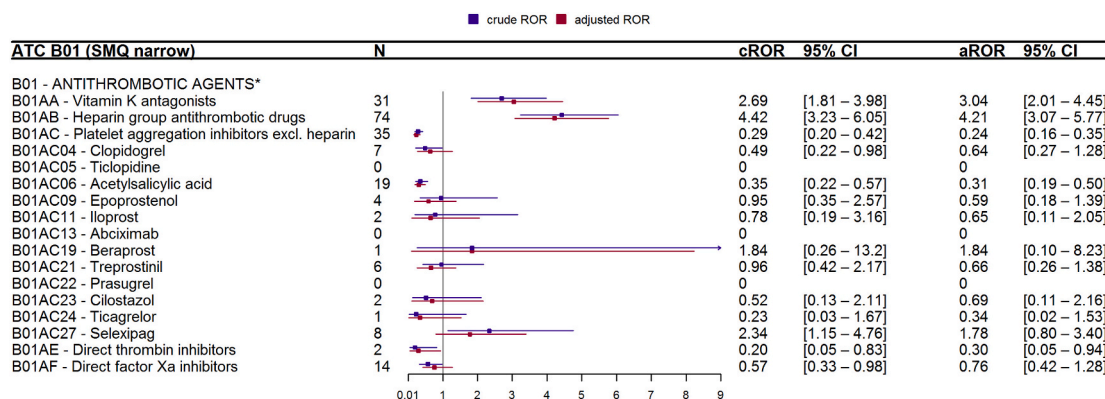


Fig. 3. RORs for osteoporosis (narrow SMQ) with antithrombotic agents after exclusion of the SMQ “Haemorrhages”. ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; MAO, monoamine oxidase; ROR, reporting odds ratio; SMQ, standardized MedDRA query.

androgen receptor blockers, thyroid hormones, PPIs, thiazolidinediones, VKAs, loop diuretics, PIs, NNRT inhibitors and enzyme-inducing anti-epileptics; however, the aRORs were also significant for opioids and benzodiazepines in the broad SMQ [4–21]. When considering vitamin A

and its derivatives, the aROR was significant only for retinoids for the treatment of psoriasis in the fractures subset but not in the broad or narrow SMQs. Their use in clinical studies is associated with a lower BMD and a higher fracture risk [22,38] through osteoblast (OB)

inhibition, osteoclast (OC) differentiation, and an antagonism of vitamin D's action [39–41]. Vitamin A and its derivatives are scattered across the ATC classification system (with vitamin A [A11CA01], retinoids for treatment of psoriasis [D05BB], topical retinoids for acne [D10AD], systemic retinoids for acne [D10BA], retinoids for cancer treatment [L01XF], and retinol eye drops [S01XA02]); this prevented us from calculating the overall ROR for this drug class.

We found a significant ROR for radium 223 dichloride, which is indicated in metastatic prostate cancer. This calcium-mimetic radioisotope was recently shown to induce osteoporosis with a high risk of vertebral fractures, independently of androgen deprivation therapy and abiraterone therapy [42]. This radioisotope binds selectively to hydroxyapatite in areas of increased bone remodeling; the short-range emission of high-energy alpha particles probably leads to bone fragility [43].

Testosterone-5-alpha reductase inhibitors (used in prostate cancer) prevent the conversion of testosterone to dihydrotestosterone. Low concentrations of dihydrotestosterone predispose men to a risk of osteoporosis [44] because this hormone is approximately ten times more potent than its precursor testosterone, and is the preferred ligand for androgen receptor transactivation [45]. Nevertheless, observational studies have yielded inconsistent findings [46–48].

Methotrexate (MTX, indicated in several chronic IRDs at low doses but also used to treat cancer at very high doses) appears to induce osteoporosis and increase the fracture risk in a dose-dependent manner. At high doses, MTX induces osteoporosis and fractures regardless of corticosteroid use [49–51] in a way that has not yet been fully elucidated — possibly through increased urinary calcium excretion [52]. At low doses in IRDs, MTX use is not associated with lower BMD or a higher fracture risk [53–57].

In vivo, calcineurin inhibitors (indicated in patients undergoing organ transplantation) cause bone loss and increase the fracture risk [58] due to increased bone resorption — notably because of changes in T-cell cytokine production and altered vitamin D metabolism, with secondary hyperparathyroidism [59].

Azathioprine inhibits purine synthesis and also leads to autophagy [60]. A recent *in vivo* study found that the use of this drug is associated with a deterioration in the bone's trabecular microarchitecture, which might induce the autophagy pathway [60]. Azathioprine's detrimental effects on bone have already been described *in vivo* [61], and the results of an observational study showed an elevated fracture risk [62].

The involvement of non-steroidal anti-inflammatory drugs in bone remodeling appears to be complex and depends on the type of cyclooxygenase (COX) inhibited, sex, and hormone status. Prostaglandin (PG) E2 and prostacyclin have complex roles in bone remodeling cycle; they may stimulate bone resorption (particularly PGE2) as well as bone formation [63–65]. The literature data are contradictory. In a systematic review, aspirin (which inhibits COX-1 at low doses and both COX-1 and COX-2 at high doses) is associated with a decrease in the fracture risk and an increase in BMD in both men and women [66]. In a multicenter cohort study, COX-2-specific inhibitors are associated with a lower BMD in men and with a higher BMD in postmenopausal women not using estrogen replacement therapy [67]. In a large cohort study, the combination of coxibs with low-dose aspirin was associated with an increase in BMD in both men and women [68]. Nevertheless, we found a significant aROR only for coxibs.

4.2. Drugs with a pharmacological rationale for a potential bone effect but that have not yet been investigated in clinical studies

Romiplostim – indicated in immune thrombocytopenia – activates c-myceloproliferative leukemia virus oncogene (c-Mpl); this is the receptor for thrombopoietin (TPO) present in megakaryocytes and OCs, which are derived from the same hematopoietic precursor [69]. *In vitro*, TPO increases OC formation and differentiation through the mitogen-activated protein kinases, Janus kinases (JAKs)/signal transducers and activators of transcription (STAT), and nuclear factor-kappa B (NFκB)

signaling pathways by activating c-Mpl [70]; this mechanism might explain our results.

We found a significant aROR for macitentan — an endothelin-1 (ET-1) receptor antagonist indicated in pulmonary arterial hypertension. This finding is consistent with *in vitro* studies showing that exogenous ET-1 stimulates OB proliferation/differentiation and type I collagen production and inhibits osteoclastic resorption [71–73]. Moreover, ET-1 levels in a clinical study were positively correlated with BMD at the lumbar spine in non-osteoporotic women [74]. However, the drug class's possible direct effect on bone was not evaluated.

It is well known that Parkinson's disease is associated with bone loss through immobilization or hypokinesia. However, dopaminergic depression alters the sympathetic innervation of bone, which is fundamental for bone homeostasis [75,76]. Furthermore, the breakdown of L-dopa by catechol-O-methyltransferase results in greater homocysteine formation [77]. In turn, high level of homocysteine lead to osteoporosis and fractures — possibly through impaired collagen cross-linking [78]. This has been confirmed in mice but not in humans, where dopamine replacement treatment with levodopa further reduces the bone mass and raises the serum level of homocysteine [76].

The use of SSRIs appears to be associated with a reduction in BMD and an elevated risk of fracture [79]. SSRIs increase serum serotonin concentrations, and it has been suggested that serum 5-HT down-regulates osteoblast proliferation, bone formation, and bone mass via the 5-HT_{1B} receptor [80–82]. On the same lines, selective 5-HT₁ agonists (some of which are indicated in migraine) bind to 5-HT_{1B/D} receptors, which might impair bone formation. Nevertheless, no clinical data on this topic have been published.

The N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor antagonist memantine is indicated in dementia. Mechanical loading (which contributes to the normal bone remodeling process [83]) increases the expression of NMDA receptors on OBs and OCs [84]. Accordingly, experiments *in vitro* and in an animal model showed that the downregulation of NMDA receptor expression decreased osteogenesis [85].

Ranibizumab – indicated in age-related macular degeneration – is a vascular endothelial growth factor (VEGF)-A inhibitor that has an important role in angiogenesis and osteogenesis [86]. A recent study showed that enhancing VEGF-A expression promotes osteogenesis in the context of postmenopausal osteoporosis [87]. Hence, ranibizumab might impair bone homeostasis.

Tofacitinib – indicated in RA – is a JAK1/JAK3 inhibitor. *In vivo*, JAK1 inhibition can lead to an osteoporotic bone phenotype [88] and JAK3 inhibition via the inactivation of signal transducers and activation of transcription 3 (STAT3) in OBs [89]. Moreover, STAT3 deficiency activates osteoclastogenesis [90]. Nevertheless, no clinical data on this topic are available.

The drugs with a pharmacologically plausible mechanism of osteoporosis induction are summarized in Table 2.

4.3. Drugs with disproportionality signals identified in the present study but that are not in line with the literature data

It is well known that Gaucher's disease (glycocerebrosidase deficiency) induces osteoporosis through the accumulation of glucosylceramide. The enzyme replacement therapy imiglucerase is associated with dose-related, long-term increases in BMD [91]. The significant ROR for imiglucerase might be related to drug ineffectiveness, rather than a direct effect on bone.

For certain vasodilator agents (namely the phosphodiesterase-5 (PDE-5) inhibitors sildenafil and tadalafil and the soluble guanylate cyclase (sGC) agonist riociguat, we also found significant RORs — a finding that contrasts with the literature data. In animal models, PDE-5 inhibitors prevent cGMP degradation and thus stimulate cGMP-dependent protein kinase (PKG) 1/2, leading to an increase in BMD via OB proliferation and differentiation [92]. The sGCs (Gucy1a2 and Gucy1a3) are expressed in mouse skeletal tissue, and the sGC agonists'

Table 2

Indications and mechanisms of action of molecules having a pharmacological plausibility to induce osteoporosis.

Molecules	Indications	Mechanisms of action	Pharmacological plausibility
Selective 5-HT ₁ agonists	Migraine	Selective 5-HT ₁ agonists	Binding to 5-HT _{1B} OB receptors → ↓ OB proliferation [80–82]
L-dopa	Parkinson disease	Dopamine substitution	Breakdown of L-dopa by COMT → ↑ Hcy → ↓ collagen cross-linking [78]
Memantine	Dementia	NMDA receptor antagonist	Down-regulation of NMDA receptors → ↓ osteogenesis [85]
Romiplostim	ITP	TPO receptor activation (c-Mpl)	Activation of MAPK, JAK/STAT and NFκB → ↑ OC formation and differentiation [70]
Macitentan	Pulmonary arterial hypertension	ET-1 receptors antagonists	ET-1 antagonism → ↓ OB proliferation and differentiation → ↓ type I collagen production → ↑ OC resorption [71–73]
Ranibizumab	Age-related macular degeneration	VEGF-A inhibitor	↓ VEGF-A → ↓ osteogenesis [86,87]
Tofacitinib	Rheumatoid arthritis	JAK1/JAK3 inhibitor	JAK1 inhibition → osteoporotic bone phenotype [88] JAK1/JAK3 inhibition → ↓ STAT3 → osteoclastogenesis [90]

c-Mpl, myeloproliferative leukemia virus oncogene; COMT, catechol-*O*-methyltransferase; CRBN, cereblon; ET-1, endothelin-1; Hcy, homocystein; ITP, immune thrombocytopenic purpura; JAK, Janus kinases; MAPK, mitogen-activated protein kinases; NFκB, nuclear factor-kappa B; NMDA, *N*-methyl-*D*-aspartate; OB, osteoblast; OC, osteoclast; sGC, soluble guanylate cyclase; VEGF, vascular endothelial growth factor.

effects appear to be driven by osteoblasts. *In vivo*, the sGC agonist cinaciguat enhanced osteoblast proliferation and differentiation and reversed trabecular bone loss in ovariectomized mice [92].

We found significant RORs for disease-modifying antirheumatic drugs (DMARDs) used to treat chronic IRDs: leflunomide, TNF inhibitors, tocilizumab, abatacept, rituximab, and hydroxychloroquine. In the present study population, the use of co-medications (e.g. glucocorticoids) not addressed in the analysis or an indication bias (despite stratification by therapeutic area) might explain these discrepancies. All these DMARDs are known to be associated with a reduction in the osteoporosis risk through a decrease in systemic inflammation. *In vitro* and in an animal model, leflunomide suppresses receptor activator of NFκB ligand (RANKL)-activated intracellular signaling and OC differentiation, and this effect is independent of its suppressive effect on T cells [93]. However, a clinical study found that patients with RA exposed to leflunomide for an average of 2.4 years did not have a significant change in BMD [94]. It is well known that interleukin (IL)-6 induces osteoporosis by activating osteoclastogenesis [95]. Biologic DMARDs targeting TNF and IL-6 inhibit the expression of RANKL on synovial cells and T cells, which leads to the subsequent suppression of osteoclast maturation and bone damage through RANKL; however, biologic DMARDs are not known to affect bone metabolism and osteoporosis [96]. The use of the IL-6 inhibitor tocilizumab is associated with lower levels of bone-resorbing markers and higher levels of bone formation markers [97,98]. Nevertheless, the use of tocilizumab in RA patients appears to be associated with a bone mass gain only in individuals who are positive for anti-citrullinated protein antibodies [99]. Abatacept (a fusion protein containing the FC region of IgG1 and the extracellular domain of cytotoxic T-lymphocyte-associated protein-4) inhibits the differentiation and maturation of OCs [100]. A clinical study found that patients treated with abatacept had a greater BMD at the lumbar spine

than patients treated with tumor necrosis factor inhibitors or tocilizumab [101]. Few literature data on the anti-B-cell (anti-CD20) rituximab are available. The use of this agent appears to be associated with a reduction in levels of the bone resorption marker deoxypyridinoline [102], although the results of a clinical study were not conclusive [103]. Hydroxychloroquine (HCQ) was shown to reduce OC differentiation *in vitro* and levels of β-carboxy-terminal collagen *in vivo* [104]. One clinical study confirmed these preclinical results: HCQ use was associated with higher BMD in patients with systemic lupus erythematosus [105]. However, a recent study did not show an association between HCQ and the fracture risk in postmenopausal women with RA [106].

In mice, interferon beta – indicated in multiple sclerosis (MS) – appears to have beneficial effects on bone by interfering with the RANKL-induced expression of c-Fos and thus inhibition of osteoclastogenesis [107]. In one clinical study, the use of interferon beta by patients with MS was associated with lower osteoclastogenesis in response to RANKL [108]. In another clinical study, however, its use was associated with lower BMD in men with MS and no change in BMD in women with MS [109].

Omalizumab – indicated in allergic asthma, sinonasal polyposis, and chronic spontaneous urticaria – binds IgE specifically, whereas mepolizumab – indicated in severe eosinophilic refractory asthma – binds IL-5 specifically. These actions result in lower histamine levels and lower leukotriene and proinflammatory mediator levels via inhibition of mast cell degranulation and eosinophils, respectively [110,111]. In theory, these mechanisms of action should prevent bone loss [112]; again, no clinical data are available.

As mentioned above, iron accumulation harms bone [113,114]. Accordingly, a clinical study found that iron-chelating agents can restore iron-induced bone damage [115].

4.4. Drugs with neither clinical data or nor a pharmacological rationale for a potential association with osteoporosis

Mycophenolic acid and sirolimus inhibit inosine-5'-monophosphate dehydrogenase and IL-2 and other cytokine receptor-dependent signal transduction mechanisms via an action on mTOR. The two drugs inhibit T and B lymphocyte proliferation and do not appear to harm bone in kidney transplant patients [116].

Amifampridine – indicated in MS and Lambert-Eaton myasthenic syndrome, respectively – are broad-spectrum voltage-dependent potassium channel blockers that enhance synaptic transmission. No clinical or preclinical data are available.

Tafamidis – indicated in transthyretin (TTR) amyloidosis – binds the TTR tetramer and prevents it from dissociating into monomers. Only one clinical study has shown that TTR levels were positively correlated with BMD but only in patients without amyloidosis; in this context, TTR is a nutritional marker [117]. Bone effects of TTR accumulation in the subset of patients with amyloidosis were not investigated.

The mechanism of action of sodium oxybate – indicated in narcolepsy with cataplexy or excessive daytime sleepiness – is not well understood [118]. Hence, no hypothesis can be made as to its possible harmful bone effects.

4.5. Study limitations and strengths

Our study had several limitations, most of which are inherent to all pharmacovigilance and case/non-case designs [25]. Firstly, we were not able to provide the absolute frequency of drugs associated with osteoporosis — notably because of underreporting. However, widespread underreporting would not affect the results of a disproportionality analysis [25]. Secondly, we did not have information on the severity of the diseases for which the studied drugs were administered; this might have created false positives in the ROR calculation. As a result, several RORs might be falsely significant even after stratification by therapeutic area: certain drugs used to treat IRDs, the imiglucerase used in Gaucher's

disease. The significant ROR in this example probably reflects certain aspects of the disease itself. Nevertheless, many of the contrasting literature data comes from preclinical studies and have not always been confirmed in clinical studies. On the same lines, our analyses did not address the concomitant use of certain medications (e.g. glucocorticoids in patients with IRDs) or previous medication use that was not documented in the database, which could have led to falsely significant RORs. Thirdly, our analyses took account of age and sex but not other conditions leading to osteoporosis (due to lack of data), which could result in confounding bias. Fourthly, event competition bias (as seen with VKAs) might have prevented us from detecting other disproportionality signals masked by other ADRs strongly associated with the drugs of interest. Fifthly, we cannot assert that fracture events in ICSRs are all low-energy osteoporotic fractures.

In contrast, our study has several major strengths, due to its case/non-case design [25]. We studied the world's largest pharmacovigilance database, which reflects routine medication use. The case/non-case design is a validated means of investigating disproportionality between reports and drugs [25]. A recent study showed that in most cases, the ADR risk obtained in meta-analyses is correlated with the ROR from the disproportionality analysis [119]. In the present study, the RORs for the vast majority of drugs already known to induce osteoporosis or increase the fracture risk were significant, which testifies to the robustness of our results.

5. Conclusion

Our results are consistent with the literature data on drugs already known to induce osteoporosis or increase the fracture risk: glucocorticoids, GnRH analogs, AIs, androgen receptor blockers, thyroid hormones, PPIs, thiazolidinediones, VKAs, loop diuretics, PIs, NNRT inhibitors, opioids, enzyme-inducing antiepileptics, benzodiazepines, heparin, radium 223 dichloride, and high-dose MTX. We found new disproportionality signals with a pharmacologically plausible mechanism (requiring confirmation in clinical studies) in the fields of neurology (selective 5-HT₁ agonists, levodopa and memantine), hematology (romiplostim), pulmonology (macitentan), ophthalmology (ranibizumab), and rheumatology (tofacitinib).

Funding statement

This research did not receive any specific funding from agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Ethics approval statement

Not applicable.

Patient consent statement

Not applicable.

Data availability statement

The data that support the findings of this study are available on request from the corresponding author. The data are not publicly available due to privacy or ethical restrictions.

Disclaimer

The interpretation of data in the present study represents the opinions of the authors only and not those of the WHO.

CRedit authorship contribution statement

Benjamin Batteux: Conceptualization, Methodology, Investigation,

Formal analysis, Data curation, Writing – original draft, Writing – review & editing, Validation. **Youssef Bennis:** Formal analysis, Data curation, Writing – review & editing, Validation. **Sandra Bodeau:** Formal analysis, Data curation, Writing – review & editing, Validation. **Kamel Masmoudi:** Formal analysis, Data curation, Writing – review & editing, Validation. **Anne-Sophie Hurtel-Lemaire:** Formal analysis, Data curation, Writing – review & editing, Validation. **Said Kamel:** Formal analysis, Data curation, Writing – review & editing, Validation. **Valérie Gras-Champel:** Formal analysis, Data curation, Writing – review & editing, Validation. **Sophie Liabeuf:** Conceptualization, Methodology, Investigation, Formal analysis, Data curation, Writing – original draft, Writing – review & editing, Validation.

Declaration of competing interest

The authors declare that they have no competing interests.

Acknowledgements

The authors acknowledge the Uppsala Monitoring Centre (UMC), which provided and gave permission to use the data analyzed in this present study. The authors are also grateful to the National Pharmacovigilance Centers that contributed data.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.bone.2021.116137>.

References

- [1] Consensus development conference: diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis, *Am. J. Med.* 94 (1993) 646–650, [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(93\)90218-e](https://doi.org/10.1016/0002-9343(93)90218-e).
- [2] J.E. Compston, M.R. McClung, W.D. Leslie, Osteoporosis, *Lancet* 393 (2019) 364–376, [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)32112-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)32112-3).
- [3] G.C. Kasturi, D.X. Cifu, R.A. Adler, A review of osteoporosis: part I. impact, pathophysiology, diagnosis and unique role of the physiatrist, *PM&R* 1 (2009) 254–260, <https://doi.org/10.1016/j.pmrj.2008.12.005>.
- [4] G. Adami, K.G. Saag, Glucocorticoid-induced osteoporosis update, *Curr. Opin. Rheumatol.* 31 (2019) 388–393, <https://doi.org/10.1097/BOR.0000000000000608>.
- [5] M.R. Smith, W.C. Lee, J. Brandman, Q. Wang, M. Botteman, C.L. Pashos, Gonadotropin-releasing hormone agonists and fracture risk: a claims-based cohort study of men with nonmetastatic prostate cancer, *JCO* 23 (2005) 7897–7903, <https://doi.org/10.1200/JCO.2004.00.6908>.
- [6] L. Folkestad, N.H. Bjarnason, J.K. Bjerregaard, K. Brixen, The effect of aromatase inhibitors on bone metabolism, *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 104 (2009) 3–10, <https://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2008.00337.x>.
- [7] L.G. Taylor, S.E. Canfield, X.L. Du, Review of major adverse effects of androgen-deprivation therapy in men with prostate cancer, *Cancer* 115 (2009) 2388–2399, <https://doi.org/10.1002/cncr.24283>.
- [8] I. Sugitani, Y. Fujimoto, Effect of postoperative thyrotropin suppressive therapy on bone mineral density in patients with papillary thyroid carcinoma: a prospective controlled study, *Surgery* 150 (2011) 1250–1257, <https://doi.org/10.1016/j.surg.2011.09.013>.
- [9] S.L. Gray, A.Z. LaCroix, J. Larson, J. Robbins, J.A. Cauley, J.E. Manson, Z. Chen, Proton pump inhibitor use, hip fracture, and change in bone mineral density in postmenopausal women: results from the Women's Health Initiative, *Arch. Intern. Med.* 170 (2010) 765–771, <https://doi.org/10.1001/archinternmed.2010.94>.
- [10] A. Grey, Thiazolidinedione-induced skeletal fragility—mechanisms and implications, *Diabetes Obes. Metab.* 11 (2009) 275–284, <https://doi.org/10.1111/j.1463-1326.2008.00931.x>.
- [11] Z. Rezaeiyazdi, H. Falsoleiman, M. Khajehdaluae, M. Saghafi, E. Mokhtari-Amirmajidi, Reduced bone density in patients on long-term warfarin, *Int. J. Rheum. Dis.* 12 (2009) 130–135, <https://doi.org/10.1111/j.1756-185X.2009.01395.x>.
- [12] L. Rejnmark, P. Vestergaard, L. Mosekilde, Fracture risk in patients treated with loop diuretics, *J. Intern. Med.* 259 (2006) 117–124, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.2005.01585.x>.
- [13] G. Pan, X. Wu, M.A. McKenna, X. Feng, T.R. Nagy, J.M. McDonald, AZT enhances osteoclastogenesis and bone loss, *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 20 (2004) 608–620, <https://doi.org/10.1089/088922041217482>.
- [14] R.G. Jain, J.M. Lenhard, Select HIV protease inhibitors alter bone and fat metabolism *ex vivo*, *J. Biol. Chem.* 277 (2002) 19247–19250, <https://doi.org/10.1074/jbc.C200069200>.

- [15] P. Vestergaard, L. Rejnmark, L. Mosekilde, Fracture risk associated with the use of morphine and opiates, *J. Intern. Med.* 260 (2006) 76–87, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.2006.01667.x>.
- [16] F. Gotthardt, C. Huber, C. Thierfelder, L. Grize, M. Kraenzlin, C. Scheidegger, C. Meier, Bone mineral density and its determinants in men with opioid dependence, *J. Bone Miner. Metab.* 35 (2017) 99–107, <https://doi.org/10.1007/s00774-015-0732-9>.
- [17] K. Beerhorst, I.Y. Tan, M. De Krom, P. Verschuure, A.P. Aldenkamp, Antiepileptic drugs and high prevalence of low bone mineral density in a group of inpatients with chronic epilepsy, *Acta Neurol. Scand* 128 (2013) 273–280, <https://doi.org/10.1111/ane.12118>.
- [18] J.M. Bolton, L.E. Targownik, S. Leung, J. Sareen, W.D. Leslie, Risk of low bone mineral density associated with psychotropic medications and mental disorders in postmenopausal women, *J. Clin. Psychopharmacol.* 31 (2011) 56–60, <https://doi.org/10.1097/JCP.0b013e3182075587>.
- [19] B. Takkouche, A. Montes-Martínez, S.S. Gill, M. Etminan, Psychotropic medications and the risk of fracture: a meta-analysis, *Drug Saf.* 30 (2007) 171–184, <https://doi.org/10.2165/00002018-200730020-00006>.
- [20] T.N. Poly, M.M. Islam, H.-C. Yang, Y.-C.J. Li, Association between benzodiazepines use and risk of hip fracture in the elderly people: a meta-analysis of observational studies, *Joint Bone Spine.* 87 (2020) 241–249, <https://doi.org/10.1016/j.jbspin.2019.11.003>.
- [21] R. Rizzoli, C. Cooper, J.-Y. Reginster, B. Abrahamsen, J.D. Adachi, M.L. Brandi, O. Bruyère, J. Compston, P. Ducy, S. Ferrari, N.C. Harvey, J.A. Kanis, G. Karsenty, A. Laslop, V. Rabenda, P. Vestergaard, Antidepressant medications and osteoporosis, *Bone.* 51 (2012) 606–613, <https://doi.org/10.1016/j.bone.2012.05.018>.
- [22] L.S. Lim, L.J. Harnack, D. Lazovich, A.R. Folsom, Vitamin A intake and the risk of hip fracture in postmenopausal women: the Iowa Women's Health Study, *Osteoporos. Int.* 15 (2004) 552–559, <https://doi.org/10.1007/s00198-003-1577-y>.
- [23] L.A. Barbour, S.D. Kick, J.F. Steiner, M.E. LoVerde, L.N. Heddleston, J.L. Lear, A. E. Baron, P.L. Bartón, A prospective study of heparin-induced osteoporosis in pregnancy using bone densitometry, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 170 (1994) 862–869, [https://doi.org/10.1016/S0002-9378\(94\)70299-3](https://doi.org/10.1016/S0002-9378(94)70299-3).
- [24] C.A. Umscheid, D.J. Margolis, C.E. Grossman, Key concepts of clinical trials: a narrative review, *Postgrad Med.* 123 (2011) 194–204, <https://doi.org/10.3810/pgm.2011.09.2475>.
- [25] J.-L. Montastruc, A. Sommet, H. Bagheri, M. Lapeyre-Mestre, Benefits and strengths of the disproportionality analysis for identification of adverse drug reactions in a pharmacovigilance database, *Br. J. Clin. Pharmacol.* 72 (2011) 905–908, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.2011.04037.x>.
- [26] Vigibase (n.d.), <https://www.who-umc.org/vigibase/vigibase/>.
- [27] A. Sommet, S. Grolleau, H. Bagheri, M. Lapeyre-Mestre, J.L. Montastruc, French Network of Regional Pharmacovigilance Centres, Was the thrombotic risk of rofecoxib predictable from the French Pharmacovigilance Database before 30 September 2004? *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 64 (2008) 829–834, <https://doi.org/10.1007/s00228-008-0497-3>.
- [28] Q. Dardonville, E. Salguero, V. Rousseau, L. Chebane, J.L. Faillie, S. Gautier, J. L. Montastruc, A. Carvajal, H. Bagheri, Drug-induced osteoporosis/osteomalacia: analysis in the French and Spanish pharmacovigilance databases, *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 75 (2019) 1705–1711, <https://doi.org/10.1007/s00228-019-02743-9>.
- [29] M. Lindquist, VigiBase, the WHO global ICSR database system: basic facts, *Drug Inform. J.* 42 (2008) 409–419, <https://doi.org/10.1177/009286150804200501>.
- [30] E.G. Brown, L. Wood, S. Wood, The medical dictionary for regulatory activities (MedDRA), *Drug-Safety.* 20 (1999) 109–117, <https://doi.org/10.2165/00002018-199920020-00002>.
- [31] International Conference of Harmonization (ICH), Introductory guide for standardised MedDRA queries (SMQs) version 21.0. https://www.meddra.org/sites/default/files/guidance/file/smq_intguide_21_0_english.pdf, 2018.
- [32] C.A. Naranjo, U. Busto, E.M. Sellers, P. Sandor, I. Ruiz, E.A. Roberts, E. Janecek, C. Domecq, D.J. Greenblatt, A method for estimating the probability of adverse drug reactions, *Clin. Pharmacol. Ther.* 30 (1981) 239–245.
- [33] E. Roux, F. Thiessard, A. Fourrier, B. Bégaud, P. Tubert-Bitter, Evaluation of statistical association measures for the automatic signal generation in pharmacovigilance, *IEEE Trans. Inf. Technol. Biomed.* 9 (2005) 518–527, <https://doi.org/10.1109/itb.2005.855566a>.
- [34] K.J. Rothman, S. Lanes, S.T. Sacks, The reporting odds ratio and its advantages over the proportional reporting ratio, *Pharmacoepidemiol. Drug Saf.* 13 (2004) 519–523, <https://doi.org/10.1002/pds.1001>.
- [35] B. Grundmark, L. Holmberg, H. Garmo, B. Zethelius, Reducing the noise in signal detection of adverse drug reactions by standardizing the background: a pilot study on analyses of proportional reporting ratios-by-therapeutic area, *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 70 (2014) 627–635, <https://doi.org/10.1007/s00228-014-1658-1>.
- [36] A. Pariente, P. Avillach, F. Salvo, F. Thiessard, G. Miremont-Salamé, A. Fourrier-Reglat, F. Haramburu, B. Bégaud, N. Moore, Association Française des Centres Régionaux de Pharmacovigilance (CRPV), effect of competition bias in safety signal generation, *Drug Saf.* 35 (2012) 855–864, <https://doi.org/10.1007/BF03261981>.
- [37] F. Salvo, F. Leborgne, F. Thiessard, N. Moore, B. Bégaud, A. Pariente, A potential event-competition bias in safety signal detection: results from a spontaneous reporting research database in France, *Drug Saf.* 36 (2013) 565–572, <https://doi.org/10.1007/s40264-013-0063-5>.
- [38] H. Melhus, Excessive dietary intake of vitamin A is associated with reduced bone mineral density and increased risk for hip fracture, *Ann. Intern. Med.* 129 (1998) 770, <https://doi.org/10.7326/0003-4819-129-10-199811150-00003>.
- [39] A. Togari, M. Kondo, M. Arai, S. Matsumoto, Effects of retinoic acid on bone formation and resorption in cultured mouse calvaria, *Gen. Pharmacol.* 22 (1991) 287–292.
- [40] B.A. Scheven, N.J. Hamilton, Retinoic acid and 1,25-dihydroxyvitamin D3 stimulate osteoclast formation by different mechanisms, *Bone.* 11 (1990) 53–59.
- [41] C.M. Rohde, M. Manatt, M. Clagett-Dame, H.F. DeLuca, Vitamin A antagonizes the action of vitamin D in rats, *J. Nutr.* 129 (1999) 2246–2250, <https://doi.org/10.1093/jn/129.12.2246>.
- [42] G. Mazziotti, M. Rodari, F. Gelardi, G. Tosi, P.A. Zucali, G. Pepe, A. Chiti, Morphometric vertebral fractures in patients with castration-resistant prostate cancer undergoing treatment with radium-223: a longitudinal study in the real-life clinical practice, *Endocrine.* 69 (2020) 204–211, <https://doi.org/10.1007/s12020-020-02277-6>.
- [43] Ø.S. Bruland, S. Nilsson, D.R. Fisher, R.H. Larsen, High-linear energy transfer irradiation targeted to skeletal metastases by the alpha-emitter ²²³Ra: adjuvant or alternative to conventional modalities? *Clin. Cancer Res.* 12 (2006) 6250s–6257s, <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-06-0841>.
- [44] R. Ilangovan, S. Sittadjody, M. Balaganesh, R. Sivakumar, B. Ravi Sankar, K. Balasubramanian, S. Srinivasan, C. Subramanian, D.M. Thompson, L. Queimado, N. Srinivasan, Dihydrotestosterone is a determinant of calcaneal bone mineral density in men, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 117 (2009) 132–138, <https://doi.org/10.1016/j.jsmb.2009.08.004>.
- [45] T. Saartok, E. Dahlberg, J.A. Gustafsson, Relative binding affinity of anabolic-androgenic steroids: comparison of the binding to the androgen receptors in skeletal muscle and in prostate, as well as to sex hormone-binding globulin, *Endocrinology.* 114 (1984) 2100–2106, <https://doi.org/10.1210/endo-114-6-2100>.
- [46] D. Robinson, H. Garmo, P. Stattin, K. Michaëlsson, Risk of fractures and falls during and after 5- α reductase inhibitor use: a nationwide cohort study, *PLoS One* 10 (2015), e0140598, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0140598>.
- [47] P. Vestergaard, L. Rejnmark, L. Mosekilde, Risk of fractures associated with treatment for benign prostate hyperplasia in men, *Osteoporos. Int.* 22 (2011) 731–737, <https://doi.org/10.1007/s00198-010-1320-4>.
- [48] W.-L. Lin, Y.-W. Hsieh, C.-L. Lin, F.-C. Sung, C.-H. Wu, C.-H. Kao, A population-based nested case-control study: the use of 5- α -reductase inhibitors and the increased risk of osteoporosis diagnosis in patients with benign prostate hyperplasia, *Clin. Endocrinol.* 82 (2015) 503–508, <https://doi.org/10.1111/cen.12599>.
- [49] S.C. Kaste, D. Jones-Wallace, S.R. Rose, J.M. Boyett, R.H. Lustig, G.K. Rivera, C. H. Pui, M.M. Hudson, Bone mineral decrements in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: frequency of occurrence and risk factors for their development, *Leukemia.* 15 (2001) 728–734, <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2402078>.
- [50] S. Stanisavljevic, A.L. Babcock, Fractures in children treated with methotrexate for leukemia, *Clin. Orthop. Relat. Res.* (1977) 139–144.
- [51] M. Nesbit, W. Krivit, R. Heyn, H. Sharp, Acute and chronic effects of methotrexate on hepatic, pulmonary, and skeletal systems, *Cancer.* 37 (1976) 1048–1057, [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(197602\)37:2+<1048::aid-cncr2820370811>3.0.co;2-v](https://doi.org/10.1002/1097-0142(197602)37:2+<1048::aid-cncr2820370811>3.0.co;2-v).
- [52] H.B. Nevnyun, M.J. Krant, E.W. Moore, Metabolic studies of the effects of methotrexate, *Metabolism.* 14 (1965) 135–140, [https://doi.org/10.1016/s0026-0495\(65\)80035-x](https://doi.org/10.1016/s0026-0495(65)80035-x).
- [53] O. di Munno, M. Mazzantini, L. Sinigaglia, G. Bianchi, G. Minisola, M. Muratore, R. la Corte, L. di Matteo, B. Canesi, M. Caminiti, M. Brogini, S. Adams, Effect of low dose methotrexate on bone density in women with rheumatoid arthritis: results from a multicenter cross-sectional study, *J. Rheumatol.* 31 (2004) 1305–1309.
- [54] K. Arai, T. Hanyu, H. Sugitani, T. Murai, J. Fujisawa, K. Nakazono, N. Kondo, N. Endo, Risk factors for vertebral fracture in menopausal or postmenopausal Japanese women with rheumatoid arthritis: a cross-sectional and longitudinal study, *J. Bone Miner. Metab.* 24 (2006) 118–124, <https://doi.org/10.1007/s00774-005-0657-9>.
- [55] A.B. Cranney, R.J. McKendry, G.A. Wells, D.S. Ooi, N.D. Kanigsberg, G.R. Kraag, C.D. Smith, The effect of low dose methotrexate on bone density, *J. Rheumatol.* 28 (2001) 2395–2399.
- [56] N.J. Minaur, D. Kounali, S. Vedi, J.E. Compston, J.N. Beresford, A.K. Bhalla, Methotrexate in the treatment of rheumatoid arthritis. II. In vivo effects on bone mineral density, *Rheumatology (Oxford).* 41 (2002) 741–749, <https://doi.org/10.1093/rheumatology/41.7.741>.
- [57] M.L. Bianchi, R. Cimaz, E. Galbiati, F. Corona, R. Cherubini, M. Bardare, Bone mass change during methotrexate treatment in patients with juvenile rheumatoid arthritis, *Osteoporos. Int.* 10 (1999) 20–25, <https://doi.org/10.1007/s001980050189>.
- [58] C.A.M. Kulak, V.Z.C. Borba, J. Kulak Júnior, E. Shane, Transplantation osteoporosis, *Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.* 50 (2006) 783–792, <https://doi.org/10.1590/s0004-27302006000400023>.
- [59] C. Movsowitz, S. Epstein, F. Ismail, M. Fallon, S. Thomas, Cyclosporin A in the oophorectomized rat: unexpected severe bone resorption, *J. Bone Miner. Res.* 4 (1989) 393–398, <https://doi.org/10.1002/jbmr.5650040314>.
- [60] S. Morgan, K.M. Hooper, E.M. Milne, C. Farquharson, C. Stevens, K.A. Staines, Azathioprine has a deleterious effect on the bone health of mice with DSS-induced inflammatory bowel disease, *Int. J. Mol. Sci.* 20 (2019) 6085, <https://doi.org/10.3390/ijms20236085>.

- [61] U. Cegiela, I. Kaczmarczyk-Sedlak, M. Pytlik, J. Folwarczna, B. Nowińska, J. Fronczek-Sokół, Alendronate prevents development of the skeletal changes induced by azathioprine in rats, *Acta Pol. Pharm.* 70 (2013) 309–315.
- [62] P. Vestergaard, L. Rejnmark, L. Mosekilde, Methotrexate, azathioprine, cyclosporine, and risk of fracture, *Calcif. Tissue Int.* 79 (2006) 69–75, <https://doi.org/10.1007/s00223-006-0060-0>.
- [63] W.S. Jee, Y.F. Ma, The in vivo anabolic actions of prostaglandins in bone, *Bone*. 21 (1997) 297–304, [https://doi.org/10.1016/s8756-3282\(97\)00147-6](https://doi.org/10.1016/s8756-3282(97)00147-6).
- [64] O.M. Faye-Petersen, W.H. Johnson, W.A. Carlo, G.L. Hedlund, A.D. Pacifico, H. C. Blair, Prostaglandin E1-induced hyperostosis: clinicopathologic correlations and possible pathogenetic mechanisms, *Pediatr. Pathol. Lab. Med.* 16 (1996) 489–507, <https://doi.org/10.1080/15513819609168686>.
- [65] L.G. Raisz, C.C. Pilbeam, P.M. Fall, Prostaglandins: mechanisms of action and regulation of production in bone, *Osteoporos. Int.* 3 (Suppl. 1) (1993) 136–140, <https://doi.org/10.1007/BF01621888>.
- [66] A.L. Barker, S.-E. Soh, K.M. Sanders, J. Pasco, S. Khosla, P.R. Ebeling, S.A. Ward, G. Peeters, J. Talevski, R.G. Cumming, E. Seeman, J.J. McNeil, Aspirin and fracture risk: a systematic review and exploratory meta-analysis of observational studies, *BMJ Open* 10 (2020), <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2018-026876>.
- [67] J.B. Richards, L. Joseph, K. Schwartzman, N. Kreiger, A. Tenenhouse, D. Goltzman, Canadian Multicentre Osteoporosis Study Group, The effect of cyclooxygenase-2 inhibitors on bone mineral density: results from the Canadian Multicentre Osteoporosis Study, *Osteoporos. Int.* 17 (2006) 1410–1419, <https://doi.org/10.1007/s00198-006-0142-x>.
- [68] L.D. Carbone, F.A. Tylavsky, J.A. Cauley, T.B. Harris, T.F. Lang, D.C. Bauer, K. D. Barrow, S.B. Kritchevsky, Association between bone mineral density and the use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and aspirin: impact of cyclooxygenase selectivity, *J. Bone Miner. Res.* 18 (2003) 1795–1802, <https://doi.org/10.1359/jbmr.2003.18.10.1795>.
- [69] T.E. Meijome, J.T. Baughman, R.A. Hooker, Y.-H. Cheng, W.A. Giovacco, S. M. Balamohan, T.L. Srinivasan, B.R. Chitteti, P.P. Eleniste, M.C. Horowitz, E. F. Srour, A. Bruzzaniti, R.K. Fuchs, M.A. Kacena, C-Mpl is expressed on osteoblasts and osteoclasts and is important in regulating skeletal homeostasis, *J. Cell. Biochem.* 117 (2016) 959–969, <https://doi.org/10.1002/jcb.25380>.
- [70] M. Bethel, C.L.T. Barnes, A.F. Taylor, Y.-H. Cheng, B.R. Chitteti, M.C. Horowitz, A. Bruzzaniti, E.F. Srour, M.A. Kacena, A novel role for thrombopoietin in regulating osteoclast development in humans and mice, *J. Cell. Physiol.* 230 (2015) 2142–2151, <https://doi.org/10.1002/jcp.24943>.
- [71] H.P. von Schroeder, C.J. Veillette, J. Payandeh, A. Qureshi, J.N.M. Heersche, Endothelin-1 promotes osteoprogenitor proliferation and differentiation in fetal rat calvarial cell cultures, *Bone*. 33 (2003) 673–684, [https://doi.org/10.1016/s8756-3282\(03\)00215-1](https://doi.org/10.1016/s8756-3282(03)00215-1).
- [72] Y. Takuwa, Y. Ohue, N. Takuwa, K. Yamashita, Endothelin-1 activates phospholipase C and mobilizes Ca²⁺ from extra- and intracellular pools in osteoblastic cells, *Am. J. Phys.* 257 (1989) E797–E803, <https://doi.org/10.1152/ajpendo.1989.257.6.E797>.
- [73] C.H. Kasperk, I. Börcsök, H.U. Schairer, U. Schneider, P.P. Nawroth, F. U. Niethard, R. Ziegler, Endothelin-1 is a potent regulator of human bone cell metabolism in vitro, *Calcif. Tissue Int.* 60 (1997) 368–374, <https://doi.org/10.1007/s002239900245>.
- [74] I. Gulhan, L. Kebapçilar, A. Alacacioglu, S. Bilgili, T. Kume, B. Aytac, R. Gunaydin, Postmenopausal women with osteoporosis may be associated with high endothelin-1, *Gynecol. Endocrinol.* 25 (2009) 674–678, <https://doi.org/10.1080/09513590903015429>.
- [75] A. Kondo, A. Togari, In vivo stimulation of sympathetic nervous system modulates osteoblastic activity in mouse calvaria, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 285 (2003) E661–E667, <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00026.2003>.
- [76] K. Handa, S. Kiyohara, T. Yamakawa, K. Ishikawa, M. Hosonuma, N. Sakai, A. Karakawa, M. Chatani, M. Tsuji, K. Inagaki, Y. Kiuchi, M. Takami, T. Negishi-Koga, Bone loss caused by dopaminergic degeneration and levodopa treatment in Parkinson's disease model mice, *Sci. Rep.* 9 (2019), <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50336-4>.
- [77] R.B. Postuma, A.E. Lang, Homocysteine and levodopa: should Parkinson disease patients receive preventative therapy? *Neurology*. 63 (2004) 886–891, <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000137886.74175.5a>.
- [78] J.B.J. van Meurs, R.A.M. Dhonukhe-Rutten, S.M.F. Pluijm, M. van der Klift, R. de Jonge, J. Lindemans, L.C.P.G.M. de Groot, A. Hofman, J.C.M. Wittman, J.P.T. M. van Leeuwen, M.M.B. Breteler, P. Lips, H.A.P. Pols, A.G. Uitterlinden, Homocysteine levels and the risk of osteoporotic fracture, *N. Engl. J. Med.* 350 (2004) 2033–2041, <https://doi.org/10.1056/NEJMoa032546>.
- [79] P. Vestergaard, L. Rejnmark, L. Mosekilde, Selective serotonin reuptake inhibitors and other antidepressants and risk of fracture, *Calcif. Tissue Int.* 82 (2008) 92–101, <https://doi.org/10.1007/s00223-007-9099-9>.
- [80] V.K. Yadav, J.-H. Ryu, N. Suda, K.F. Tanaka, J.A. Gingrich, G. Schütz, F. H. Glorieux, C.Y. Chiang, J.D. Zajac, K.L. Insogna, J.J. Mann, R. Hen, P. Ducey, G. Karsenty, Lrp5 controls bone formation by inhibiting serotonin synthesis in the duodenum, *Cell*. 135 (2008) 825–837, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.09.059>.
- [81] S.Q. Dai, L.P. Yu, X. Shi, H. Wu, P. Shao, G.Y. Yin, Y.Z. Wei, Serotonin regulates osteoblast proliferation and function in vitro, *Braz. J. Med. Biol. Res.* 47 (2014) 759–765, <https://doi.org/10.1590/1414-431X20143565>.
- [82] B. Lavoie, J.B. Lian, G.M. Mawe, Regulation of bone metabolism by serotonin, *Adv. Exp. Med. Biol.* 1033 (2017) 35–46. doi:https://doi.org/10.1007/978-3-319-66653-2_3.
- [83] R.B. Martin, Toward a unifying theory of bone remodeling, *Bone*. 26 (2000) 1–6, [https://doi.org/10.1016/s8756-3282\(99\)00241-0](https://doi.org/10.1016/s8756-3282(99)00241-0).
- [84] R.W. Cowan, E.P. Seidnitz, G. Singh, Glutamate signaling in healthy and diseased bone, *Front. Endocrinol. (Lausanne)* 3 (2012), <https://doi.org/10.3389/fendo.2012.00089>.
- [85] M.-L. Ho, T.-N. Tsai, J.-K. Chang, T.-S. Shao, Y.-R. Jeng, C. Hsu, Down-regulation of N-methyl D-aspartate receptor in rat-modeled disuse osteopenia, *Osteoporos. Int.* 16 (2005) 1780–1788, <https://doi.org/10.1007/s00198-005-1928-y>.
- [86] K. Hu, B.R. Olsen, The roles of vascular endothelial growth factor in bone repair and regeneration, *Bone*. 91 (2016) 30–38, <https://doi.org/10.1016/j.bone.2016.06.013>.
- [87] Z. Wang, X. Ge, Y. Wang, Y. Liang, H. Shi, T. Zhao, Mechanism of dexmedetomidine regulating osteogenesis-angiogenesis coupling through the miR-361-5p/VEGFA axis in postmenopausal osteoporosis, *Life Sci.* (2021), 119273, <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119273>.
- [88] X.-D. Chen, P. Xiao, S.-F. Lei, Y.-Z. Liu, Y.-F. Guo, F.-Y. Deng, L.-J. Tan, X.-Z. Zhu, F.-R. Chen, R.R. Recker, H.-W. Deng, Gene expression profiling in monocytes and SNP association suggest the importance of the STAT1 gene for osteoporosis in both Chinese and Caucasians, *J. Bone Miner. Res.* 25 (2010) 339–355, <https://doi.org/10.1359/jbmr.090724>.
- [89] H. Zhou, A.B. Newnum, J.R. Martin, P. Li, M.T. Nelson, A. Moh, X.-Y. Fu, H. Yokota, J. Li, Osteoblast/osteocyte-specific inactivation of Stat3 decreases load-driven bone formation and accumulates reactive oxygen species, *Bone*. 49 (2011) 404–411, <https://doi.org/10.1016/j.bone.2011.04.020>.
- [90] Z. Zhang, T. Welte, N. Troiano, S.E. Maher, X.-Y. Fu, A.L.M. Bothwell, Osteoporosis with increased osteoclastogenesis in hematopoietic cell-specific STAT3-deficient mice, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 328 (2005) 800–807, <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.01.019>.
- [91] R.J. Wenstrup, K.A. Kacena, P. Kaplan, G.M. Pastores, A. Prakash-Cheng, A. Zimran, T.N. Hangartner, Effect of enzyme replacement therapy with imiglucerase on BMD in type 1 Gaucher disease, *J. Bone Miner. Res.* 22 (2007) 119–126, <https://doi.org/10.1359/jbmr.061004>.
- [92] S.-M. Kim, T. Yuen, J. Iqbal, M.R. Rubin, M. Zaidi, The NO-cGMP-PKG pathway in skeletal remodeling, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1487 (2021) 21–30, <https://doi.org/10.1111/nyas.14486>.
- [93] M. Urushibara, H. Takayanagi, T. Koga, S. Kim, M. Isobe, Y. Morishita, T. Nakagawa, M. Löeffler, T. Kodama, H. Kurosawa, T. Taniguchi, The antirheumatic drug leflunomide inhibits osteoclastogenesis by interfering with receptor activator of NF-kappa B ligand-stimulated induction of nuclear factor of activated T cells c1, *Arthritis Rheum.* 50 (2004) 794–804, <https://doi.org/10.1002/art.20206>.
- [94] A. Pfeil, J. Lippold, T. Eidner, G. Lehmann, P. Oelzner, D.M. Renz, A. Hansch, G. Wolf, G. Hein, W.A. Kaiser, J. Böttcher, Effects of leflunomide and methotrexate in rheumatoid arthritis detected by digital X-ray radiogrammetry and computer-aided joint space analysis, *Rheumatol. Int.* 29 (2009) 287–295, <https://doi.org/10.1007/s00296-008-0682-9>.
- [95] T. Wang, C. He, TNF- α and IL-6: the link between immune and bone system, *Curr. Drug Targets* 21 (2020) 213–227, <https://doi.org/10.2174/1389450120666190821161259>.
- [96] Y. Tanaka, Managing osteoporosis and joint damage in patients with rheumatoid arthritis: an overview, *J. Clin. Med.* 10 (2021) 1241, <https://doi.org/10.3390/jcm10061241>.
- [97] P. Garner, E. Thompson, T. Woodworth, J.S. Smolen, Rapid and sustained improvement in bone and cartilage turnover markers with the anti-interleukin-6 receptor inhibitor tocilizumab plus methotrexate in rheumatoid arthritis patients with an inadequate response to methotrexate: results from a substudy of the multicenter double-blind, placebo-controlled trial of tocilizumab in inadequate responders to methotrexate alone, *Arthritis Rheum.* 62 (2010) 33–43, <https://doi.org/10.1002/art.25053>.
- [98] M.A. Karsdal, G. Schett, P. Emery, O. Harari, I. Byrjalsen, A. Kenwright, A.C. Bay-Jensen, A. Platt, IL-6 receptor inhibition positively modulates bone balance in rheumatoid arthritis patients with an inadequate response to anti-tumor necrosis factor therapy: biochemical marker analysis of bone metabolism in the tocilizumab RADIATE study (NCT00106522), *Semin. Arthr. Rheum.* 42 (2012) 131–139, <https://doi.org/10.1016/j.semarthrit.2012.01.004>.
- [99] A.M. Dubrovsky, M.J. Lim, N.E. Lane, Osteoporosis in rheumatic diseases: anti-rheumatic drugs and the skeleton, *Calcif. Tissue Int.* 102 (2018) 607–618, <https://doi.org/10.1007/s00223-018-0401-9>.
- [100] R. Axmann, S. Herman, M. Zaiss, S. Franz, K. Polzer, J. Zwerina, M. Herrmann, J. Smolen, G. Schett, CTLA-4 directly inhibits osteoclast formation, *Ann. Rheum. Dis.* 67 (2008) 1603–1609, <https://doi.org/10.1136/ard.2007.080713>.
- [101] M. Tada, K. Inui, Y. Sugioka, K. Mamoto, T. Okano, T. Koike, H. Nakamura, FRI0062 influence of biologic agents on bone mineral density and bone mineral markers in patients with rheumatoid arthritis: data from the airtight study, *Ann. Rheum. Dis.* 74 (2015) 441–442, <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2015-eular.2214>.
- [102] G. Hein, T. Eidner, P. Oelzner, M. Rose, A. Wilke, G. Wolf, S. Franke, Influence of Rituximab on markers of bone remodeling in patients with rheumatoid arthritis: a prospective open-label pilot study, *Rheumatol. Int.* 31 (2011) 269–272, <https://doi.org/10.1007/s00296-010-1560-9>.
- [103] G. Wheeler, M. Elshahaly, K. Naraghi, S.P. Tuck, H.K. Datta, J.M. van Laar, Changes in bone density and bone turnover in patients with rheumatoid arthritis treated with rituximab, results from an exploratory, prospective study, *PLoS One* 13 (2018), e0201527, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201527>.
- [104] T. Both, M.C. Zillikens, M. Schreuders-Koedam, M. Vis, W.-K. Lam, A.E.A. M. Weel, J.P.T.M. van Leeuwen, P.M. van Hagen, B.C.J. van der Eerden, P.L.A. van Daele, Hydroxychloroquine affects bone resorption both in vitro and in vivo, *J. Cell. Physiol.* 233 (2018) 1424–1433, <https://doi.org/10.1002/jcp.26028>.

- [105] S. Lakshminarayanan, S. Walsh, M. Mohanraj, N. Rothfield, Factors associated with low bone mineral density in female patients with systemic lupus erythematosus, *J. Rheumatol.* 28 (2001) 102–108.
- [106] L. Carbone, S. Vasan, R. Elam, S. Gupta, O. Tolaymat, C. Crandall, J. Wactawski-Wende, K.C. Johnson, The association of methotrexate, sulfasalazine, and hydroxychloroquine use with fracture in postmenopausal women with rheumatoid arthritis: findings from the Women's Health Initiative, *JBMR Plus.* 4 (2020), e10393, <https://doi.org/10.1002/jbmr4.10393>.
- [107] H. Takayanagi, S. Kim, K. Matsuo, H. Suzuki, T. Suzuki, K. Sato, T. Yokochi, H. Oda, K. Nakamura, N. Ida, E.F. Wagner, T. Taniguchi, RANKL maintains bone homeostasis through c-Fos-dependent induction of interferon-beta, *Nature.* 416 (2002) 744–749, <https://doi.org/10.1038/416744a>.
- [108] B. Weinstock-Guttman, J. Hong, R. Santos, M. Tamaño-Blanco, D. Badgett, K. Patrick, M. Baier, J. Feichter, E. Gallagher, N. Garg, M. Ramanathan, Interferon-beta modulates bone-associated cytokines and osteoclast precursor activity in multiple sclerosis patients, *Mult. Scler.* 12 (2006) 541–550, <https://doi.org/10.1177/1352458506070605>.
- [109] J.L. Pérez Castrillón, M. Cano-del Pozo, S. Sanz-Izquierdo, J. Velayos-Jiménez, W. Dib-Wobakin, Bone mineral density in patients with multiple sclerosis: the effects of interferon, *Rev. Neurol.* 36 (2003) 901–903.
- [110] A.P. Kaplan, A.M. Giménez-Arnau, S.S. Saini, Mechanisms of action that contribute to efficacy of omalizumab in chronic spontaneous urticaria, *Allergy.* 72 (2017) 519–533, <https://doi.org/10.1111/all.13083>.
- [111] L. Fala, Nucala (mepolizumab): first IL-5 antagonist monoclonal antibody FDA approved for maintenance treatment of patients with severe asthma, *Am. Health Drug Benefits* 9 (2016) 106–110.
- [112] M.M. Sirufo, M. Suppa, L. Ginaldi, M. De Martinis, Does allergy break bones? Osteoporosis and its connection to allergy, *Int. J. Mol. Sci.* 21 (2020), <https://doi.org/10.3390/ijms21030712>.
- [113] F. Rossi, S. Perrotta, G. Bellini, L. Luongo, C. Tortora, D. Siniscalco, M. Francese, M. Torella, B. Nobili, V.D. Marzo, S. Maione, Iron overload causes osteoporosis in thalassemia major patients through interaction with transient receptor potential vanilloid type 1 (TRPV1) channels, *Haematologica* 99 (2014) 1876–1884, <https://doi.org/10.3324/haematol.2014.104463>.
- [114] L. Valenti, M. Varenna, A.L. Fracanzani, V. Rossi, S. Fargion, L. Sinigaglia, Association between iron overload and osteoporosis in patients with hereditary hemochromatosis, *Osteoporos. Int.* 20 (2009) 549–555, <https://doi.org/10.1007/s00198-008-0701-4>.
- [115] M. Poggi, F. Sorrentino, P. Pugliese, M.P. Smacchia, C. Daniele, F. Equitani, F. Terlizzi, M.R. Guitarrini, S. Monti, L. Maffei, A. Losardo, M. Pasin, V. Toscano, Longitudinal changes of endocrine and bone disease in adults with β -thalassemia major receiving different iron chelators over 5 years, *Ann. Hematol.* 95 (2016) 757–763, <https://doi.org/10.1007/s00277-016-2633-y>.
- [116] R. Westenfeld, G. Schlieper, M. Wöltje, A. Gawlik, V. Brandenburg, P. Rutkowski, J. Floege, W. Jahnen-Dechent, M. Ketteler, Impact of sirolimus, tacrolimus and mycophenolate mofetil on osteoclastogenesis—implications for post-transplantation bone disease, *Nephrol. Dial. Transplant.* 26 (2011) 4115–4123, <https://doi.org/10.1093/ndt/gfr214>.
- [117] C. Chupeerach, T. Harnroongroj, B. Phonrat, A. Tungtrongchitr, F.J. Schweigert, R. Tungtrongchitr, S. Preutthipan, Decreased retinol transport proteins in Thai post-menopausal women with osteoporosis, *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 42 (2011) 1515–1520.
- [118] W. van den Brink, G. Addolorato, H.-J. Aubin, A. Benyamina, F. Caputo, M. Dematteis, A. Gual, O.-M. Lesch, K. Mann, I. Maremmanni, D. Nutt, F. Paille, P. Perney, J. Rehm, M. Reynaud, N. Simon, B. Söderpalm, W.H. Sommer, H. Walter, R. Spanagel, Efficacy and safety of sodium oxybate in alcohol-dependent patients with a very high drinking risk level, *Addict. Biol.* 23 (2018) 969–986, <https://doi.org/10.1111/adb.12645>.
- [119] C. Khouri, C. Petit, M. Tod, M. Lepelley, B. Revol, M. Roustit, J.-L. Cracowski, Adverse drug reaction risks obtained from meta-analyses and pharmacovigilance disproportionality analyses are correlated in most cases, *J. Clin. Epidemiol.* 134 (2021) 14–21, <https://doi.org/10.1016/j.jclinepi.2021.01.015>.

Supplementary Table S1: Number of osteoporosis cases found in exposed patients and in controls and therapeutic areas used for each drug-event pair.

Drugs	Number of osteoporosis cases		Therapeutic area
	Exposed patients	Controls	
A02 - DRUGS FOR ACID RELATED DISORDERS			
A02BA - Histamine H2 receptor antagonists	25	265	A02 - DRUGS FOR ACID RELATED DISORDERS
A02BC - Proton pump inhibitors	240	49	A02 - DRUGS FOR ACID RELATED DISORDERS
A07E - INTESTINAL ANTIINFLAMMATORY AGENTS			
A07EC - Aminosalicilic acid and similar agents	78	1231	A07E - INTESTINAL ANTIINFLAMMATORY AGENTS
A09 - DIGESTIVES, INCL. ENZYMES			
A09AA - Enzyme preparations, digestives	29	8	A09 - DIGESTIVES, INCL. ENZYMES
A10 - DRUGS USED IN DIABETES			
A10A - Insulins and analogues	162	610	A10 - DRUGS USED IN DIABETES
A10BA - Biguanides	50	722	A10 - DRUGS USED IN DIABETES
A10BB - Sulfonylureas for blood glucose lowering	29	743	A10 - DRUGS USED IN DIABETES
A10BG - Thiazolidinediones, blood glucose lowering drugs	250	522	A10 - DRUGS USED IN DIABETES
A10BH - Dipetidyl peptidase 4 (DPP-4) inhibitors for blood glucose lowering	118	654	A10 - DRUGS USED IN DIABETES
A10BJ - Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) analogues	32	740	A10 - DRUGS USED IN DIABETES
A10BK - Sodium-glucose co-transporter 2 (SGLT2) inhibitors	91	681	A10 - DRUGS USED IN DIABETES
A16AB - ENZYMES FOR ALIMENTARY TRACT AND METABOLISM			
A16AB02 - Imiglucerase	64	40	A16AB - ENZYMES FOR ALIMENTARY TRACT AND METABOLISM
A16AB03 - Agalsidase alfa	10	94	A16AB - ENZYMES FOR ALIMENTARY TRACT AND METABOLISM
A16AB04 - Agalsidase beta	13	91	A16AB - ENZYMES FOR ALIMENTARY TRACT AND METABOLISM
A16AB07 - Alglucosidase alfa	6	98	A16AB - ENZYMES FOR ALIMENTARY TRACT AND METABOLISM
B01 - ANTITHROMBOTIC AGENTS			
B01AA - Vitamin K antagonists	159	1427	B01 - ANTITHROMBOTIC AGENTS
B01AB - Heparin group antithrombotic drugs	160	1426	B01 - ANTITHROMBOTIC AGENTS
B01AC - Platelet aggregation inhibitors excl. heparin	743	843	B01 - ANTITHROMBOTIC AGENTS
B01AE - Direct thrombin inhibitors	214	1372	B01 - ANTITHROMBOTIC AGENTS
B01AF - Direct factor Xa inhibitors	386	1200	B01 - ANTITHROMBOTIC AGENTS
B02 - ANTIHEMORRHAGICS			
B02BD - Blood coagulation factors	29	60	B02 - ANTIHEMORRHAGICS
B02BX - Other systemic hemostatics in ATC	52	37	B02 - ANTIHEMORRHAGICS
B02BX04 - Romiplostim	28	61	B02 - ANTIHEMORRHAGICS
B02BX05 - Eltrombopag	20	69	B02 - ANTIHEMORRHAGICS
B03 - ANTIANEMIC PREPARATIONS			
B03A - Iron antianemic preparation	31	369	B03 - ANTIANEMIC PREPARATIONS
B03BB - Folic acid and derivatives as antianemics	63	337	B03 - ANTIANEMIC PREPARATIONS
B03XA - Other antianemic preparations in ATC	308	92	B03 - ANTIANEMIC PREPARATIONS
B03XA01 - Erythropoietin human	59	341	B03 - ANTIANEMIC PREPARATIONS
B03XA02 - Darbepoetin alfa	229	171	B03 - ANTIANEMIC PREPARATIONS
B03XA03 - Methoxy polyethylene glycol-epoetin beta	25	375	B03 - ANTIANEMIC PREPARATIONS
C01 - CARDIAC THERAPY			
C01AA - Digitalis glycosides	17	375	C01 - CARDIAC THERAPY
C01BD - Antiarrhythmics, class III	57	335	C01 - CARDIAC THERAPY
C01CA - Adrenergic and dopaminergic cardiac stimulants	64	328	C01 - CARDIAC THERAPY
C01CA27 - Droxidopa	60	332	C01 - CARDIAC THERAPY
C02 - ANTIHYPERTENSIVES			
C02CA - Alpha-adrenoreceptor antagonists, peripherally acting	26	1105	C02 - ANTIHYPERTENSIVES
C02KX - Antihypertensives for pulmonary arterial hypertension	1092	39	C02 - ANTIHYPERTENSIVES
C02KX01 - Bosentan	424	707	C02 - ANTIHYPERTENSIVES
C02KX02 - Ambrisentan	136	995	C02 - ANTIHYPERTENSIVES
C02KX04 - Macitentan	409	722	C02 - ANTIHYPERTENSIVES
C02KX05 - Riociguat	55	1076	C02 - ANTIHYPERTENSIVES
C03 - DIURETICS			
C03AA - Thiazides, plain	41	168	C03 - DIURETICS
C03BA - sulfonamides, low-ceiling diuretics, plain	22	187	C03 - DIURETICS
C03CA - sulfonamides, high-ceiling diuretics, plain	113	96	C03 - DIURETICS
C03DA - Aldosterone antagonists	37	172	C03 - DIURETICS
D05 - ANTIPSORIATICS			
D05BB - Retinoids for treatment of psoriasis	11	17	D05 - ANTIPSORIATICS
D07 - CORTICOSTEROIDS, DERMATOLOGICAL PREPARATIONS			
D07	1716	22969	None
D10 ANTI-ACNE PREPARATIONS			
D10AD - Retinoids for topical use in acne	20	538	D10 ANTI-ACNE PREPARATIONS
G03 - SEX HORMONES AND MODULATORS OF THE GENITAL SYSTEM			
G03AC - Progestogen systemic hormonal contraceptives	133	60	G03 - SEX HORMONES AND MODULATORS OF THE GENITAL SYSTEM
G03HA - Antiandrogens, plain	15	178	G03 - SEX HORMONES AND MODULATORS OF THE GENITAL SYSTEM

G04 - UROLOGICALS			
G04BD - Drugs for urinary frequency and incontinence	180	240	G04 - UROLOGICALS
G04BE - Drugs used in erectile dysfunction	162	258	G04 - UROLOGICALS
G04BE03 - Sildenafil	86	334	G04 - UROLOGICALS
G04BE08 - Tadalafil	33	387	G04 - UROLOGICALS
G04CA - Alpha-adrenoreceptor antagonists, benign prostatic hypertrophy	48	372	G04 - UROLOGICALS
G04CB - Testosterone-5-alpha reductase inhibitors for benign prostatic hypertrophy	24	396	G04 - UROLOGICALS
H01 - PITUITARY AND HYPOTHALAMIC HORMONES AND ANALOGUES			
H01AC - Somatropin and somatropin agonists	48	347	H01 - PITUITARY AND HYPOTHALAMIC HORMONES AND ANALOGUES
H01CB - Somatostatin and analogues	176	219	H01 - PITUITARY AND HYPOTHALAMIC HORMONES AND ANALOGUES
H02 - CORTICOID FOR SYSTEMIC USE			
H02AB - Glucocorticoids, Systemic	1655	23030	None
H03 - THYROID THERAPY			
H03AA - Thyroid hormones	50	24635	None
J05 - ANTIVIRALS FOR SYSTEMIC USE			
J05AB - Nucleosides and nucleotides excl. reverse transcriptase inhibitors	103	1120	J05 - ANTIVIRALS FOR SYSTEMIC USE
J05AE - Protease inhibitors, direct acting antivirals	120	1103	J05 - ANTIVIRALS FOR SYSTEMIC USE
J05AF - Nucleoside and nucleotide reverse transcriptase inhibitors	433	790	J05 - ANTIVIRALS FOR SYSTEMIC USE
J05AG - Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors	55	1168	J05 - ANTIVIRALS FOR SYSTEMIC USE
J05AP - Antivirals for treatment of HCV infections	193	1030	J05 - ANTIVIRALS FOR SYSTEMIC USE
J05AR - Antivirals for treatment of HIV infections, combinations	517	706	J05 - ANTIVIRALS FOR SYSTEMIC USE
L01 - ANTINEOPLASTIC AGENTS			
L01AA - Nitrogen mustard analogues	169	4489	L01 - ANTINEOPLASTIC AGENTS
L01AX - Other alkylating agents in ATC	28	4630	L01 - ANTINEOPLASTIC AGENTS
L01BA - Folic acid analogs, antimetabolites	547	4111	L01 - ANTINEOPLASTIC AGENTS
L01BA01 - Methotrexate	589	4069	L01 - ANTINEOPLASTIC AGENTS
L01BA04 - Pemetrexed	21	4637	L01 - ANTINEOPLASTIC AGENTS
L01BC - Pyrimidine analogues, antineoplastic antimetabolites	265	4393	L01 - ANTINEOPLASTIC AGENTS
L01CA - Vinca alkaloids and analogues, antineoplastic	57	4601	L01 - ANTINEOPLASTIC AGENTS
L01CB - Podophylloxin derivatives, antineoplastic drugs	26	4632	L01 - ANTINEOPLASTIC AGENTS
L01CD - Taxanes, antineoplastic	162	4496	L01 - ANTINEOPLASTIC AGENTS
L01DB - Anthracyclines and related substances	121	4537	L01 - ANTINEOPLASTIC AGENTS
L01E - Protein kinase inhibitors	935	3723	L01 - ANTINEOPLASTIC AGENTS
L01XA - Platinum compounds, antineoplastic drugs	138	4520	L01 - ANTINEOPLASTIC AGENTS
L01XC - Monoclonal antibodies, antineoplastic	784	3874	L01 - ANTINEOPLASTIC AGENTS
L01XC02 - Rituximab	264	4394	L01 - ANTINEOPLASTIC AGENTS
L01XC03 - Trastuzumab	60	4598	L01 - ANTINEOPLASTIC AGENTS
L01XC06 - Cetuximab	30	4628	L01 - ANTINEOPLASTIC AGENTS
L01XC07 - Bevacizumab	152	4506	L01 - ANTINEOPLASTIC AGENTS
L01XC08 - Panitumumab	17	4641	L01 - ANTINEOPLASTIC AGENTS
L01XC11 - Ipilimumab	29	4629	L01 - ANTINEOPLASTIC AGENTS
L01XC12 - Brentuximab vedotin	9	4649	L01 - ANTINEOPLASTIC AGENTS
L01XC13 - Pertuzumab	28	4630	L01 - ANTINEOPLASTIC AGENTS
L01XC14 - Trastuzumab emtansine	15	4643	L01 - ANTINEOPLASTIC AGENTS
L01XC15 - Obinutuzumab	2	4656	L01 - ANTINEOPLASTIC AGENTS
L01XC17 - Nivolumab	80	4578	L01 - ANTINEOPLASTIC AGENTS
L01XC18 - Pembrolizumab	44	4614	L01 - ANTINEOPLASTIC AGENTS
L01XC21 - Ramucirumab	11	4647	L01 - ANTINEOPLASTIC AGENTS
L01XC23 - Elotuzumab	10	4648	L01 - ANTINEOPLASTIC AGENTS
L01XC24 - Daratumumab	24	4634	L01 - ANTINEOPLASTIC AGENTS
L01XC32 - Atezolizumab	21	4637	L01 - ANTINEOPLASTIC AGENTS
L01XF - Retinoids for cancer treatment	5	4653	L01 - ANTINEOPLASTIC AGENTS
L01XX - Other antineoplastic agents in ATC	1947	2711	L01 - ANTINEOPLASTIC AGENTS
L01XX05 - Hydroxycarbamide	10	4648	L01 - ANTINEOPLASTIC AGENTS
L01XX41 - Eribulin	14	4644	L01 - ANTINEOPLASTIC AGENTS
L01XX44 - Aflibercept	27	4631	L01 - ANTINEOPLASTIC AGENTS
L01XX52 - Venetoclax	12	4646	L01 - ANTINEOPLASTIC AGENTS
L02 - ENDOCRINE THERAPY			
L02AB - Progestogens, endocrine therapy drugs	117	775	L02 - ENDOCRINE THERAPY
L02AE - Gonadotropin releasing hormone analogues, endocrine therapy drugs	206	686	L02 - ENDOCRINE THERAPY
L02BA - Anti-estrogens	66	826	L02 - ENDOCRINE THERAPY
L02BB - Anti-androgen hormone antagonists and related agents	117	775	L02 - ENDOCRINE THERAPY
L02BG - Aromatase inhibitors	361	531	L02 - ENDOCRINE THERAPY
L02BX - Other hormone antagonists and related agents in ATC	86	806	L02 - ENDOCRINE THERAPY
L02BX02 - Degarelix	11	881	L02 - ENDOCRINE THERAPY
L02BX03 - Abiraterone	74	818	L02 - ENDOCRINE THERAPY
L03 - IMMUNOSTIMULANTS			
L03AA - Colony stimulating factors	38	1086	L03 - IMMUNOSTIMULANTS
L03AB - Interferons	953	171	L03 - IMMUNOSTIMULANTS
L03AB05 - Interferon alfa-2b	8	1116	L03 - IMMUNOSTIMULANTS
L03AB07 - Interferon beta-1a	793	331	L03 - IMMUNOSTIMULANTS
L03AB08 - Interferon beta-1b	62	1062	L03 - IMMUNOSTIMULANTS
L03AB10 - Peginterferon alfa-2b	32	1092	L03 - IMMUNOSTIMULANTS
L03AB11 - Peginterferon alfa-2a	34	1090	L03 - IMMUNOSTIMULANTS
L03AB13 - Peginterferon beta-1a	13	1111	L03 - IMMUNOSTIMULANTS

L03AX - Other immunostimulants in ATC	124	1000	L03 - IMMUNOSTIMULANTS
L03AX17 - Sipuleucel-T	26	1098	L03 - IMMUNOSTIMULANTS
L04 - IMMUNOSUPPRESSANTS			
L04AA - Selective immunosuppressants	2090	5999	L04 - IMMUNOSUPPRESSANTS
L04AA06 - Mycophenolic acid	161	7928	L04 - IMMUNOSUPPRESSANTS
L04AA10 - Sirolimus	27	8062	L04 - IMMUNOSUPPRESSANTS
L04AA13 - Leflunomide	169	7920	L04 - IMMUNOSUPPRESSANTS
L04AA15 - Alefacept	5	8084	L04 - IMMUNOSUPPRESSANTS
L04AA23 - Natalizumab	487	7602	L04 - IMMUNOSUPPRESSANTS
L04AA24 - Abatacept	592	7497	L04 - IMMUNOSUPPRESSANTS
L04AA25 - Eculizumab	20	8069	L04 - IMMUNOSUPPRESSANTS
L04AA26 - Belimumab	17	8072	L04 - IMMUNOSUPPRESSANTS
L04AA27 - Fingolimod	104	7985	L04 - IMMUNOSUPPRESSANTS
L04AA29 - Tofacitinib	432	7657	L04 - IMMUNOSUPPRESSANTS
L04AA11 - Teriflunomide	25	8064	L04 - IMMUNOSUPPRESSANTS
L04AA32 - Apremilast	74	8015	L04 - IMMUNOSUPPRESSANTS
L04AA33 - Vedolizumab	45	8044	L04 - IMMUNOSUPPRESSANTS
L04AA34 - Alemtuzumab	43	8033	L04 - IMMUNOSUPPRESSANTS
L04AA36 - Ocrelizumab	18	8071	L04 - IMMUNOSUPPRESSANTS
L04AA37 - Baricitinib	8	8081	L04 - IMMUNOSUPPRESSANTS
L04AB - Tumor necrosis factor alpha (TNF-) inhibitors	3483	4606	L04 - IMMUNOSUPPRESSANTS
L04AC - Interleukin inhibitors	612	7477	L04 - IMMUNOSUPPRESSANTS
L04AC01 - Daclizumab	4	8085	L04 - IMMUNOSUPPRESSANTS
L04AC02 - Basiliximab	6	8083	L04 - IMMUNOSUPPRESSANTS
L04AC03 - Anakinra	10	8079	L04 - IMMUNOSUPPRESSANTS
L04AC05 - Ustekinumab	96	7993	L04 - IMMUNOSUPPRESSANTS
L04AC07 - Tocilizumab	347	7742	L04 - IMMUNOSUPPRESSANTS
L04AC10 - Secukinumab	88	8001	L04 - IMMUNOSUPPRESSANTS
L04AC13 - Ixekizumab	12	8077	L04 - IMMUNOSUPPRESSANTS
L04AC14 - Sarilumab	6	8083	L04 - IMMUNOSUPPRESSANTS
L04AD - Calcineurin inhibitors	217	7872	L04 - IMMUNOSUPPRESSANTS
L04AX - Other immunosuppressants in ATC	2558	5531	L04 - IMMUNOSUPPRESSANTS
L04AX01 - Azathioprine	95	7994	L04 - IMMUNOSUPPRESSANTS
L04AX02 - Thalidomide	178	7911	L04 - IMMUNOSUPPRESSANTS
L04AX04 - Lenalidomide	13338	6751	L04 - IMMUNOSUPPRESSANTS
L04AX05 - Pirfenidone	59	8030	L04 - IMMUNOSUPPRESSANTS
L04AX06 - Pomalidomide	224	7865	L04 - IMMUNOSUPPRESSANTS
L04AX07 - Dimethyl fumarate	146	7943	L04 - IMMUNOSUPPRESSANTS
M01A - ANTIINFLAMMATORY AND ANTIRHEUMATIC PRODUCTS, NON-STERIODS	901	23784	None
M01AB - Acetic acid derivatives and related substances	77	824	M01A - ANTIINFLAMMATORY AND ANTIRHEUMATIC PRODUCTS, NON-STERIODS
M01AC - Oxycams, antiinflammatory and antirheumatic drugs	35	866	M01A - ANTIINFLAMMATORY AND ANTIRHEUMATIC PRODUCTS, NON-STERIODS
M01AH - Coxibs	627	274	M01A - ANTIINFLAMMATORY AND ANTIRHEUMATIC PRODUCTS, NON-STERIODS
N02A - OPIOIDS	573	1068	
N02AA - Natural opium alkaloid analgesics	294	1347	N02 - ANALGESICS
N02AB - Phenylpiperidine derivatives, opioid analgesics	99	1542	N02 - ANALGESICS
N02AC - Diphenylpropylamine derivative analgesics	46	1595	N02 - ANALGESICS
N02AE - Oripavine derivatives analgesics	36	1605	N02 - ANALGESICS
N02AX - Other opioids in ATC	105	1539	N02 - ANALGESICS
			N02 - ANALGESICS
N02C - ANTIMIGRAINE PREPARATIONS			
N02CC - Selective serotonin (5HT1) agonists, antimigraine drugs	27	1614	N02 - ANALGESICS
N03 - ANTIEPILEPTICS			
N03AA - Barbiturates and derivatives	58	941	N03 - ANTIEPILEPTICS
N03AB - Hydantoin derivatives, antiepileptics	91	908	N03 - ANTIEPILEPTICS
N03AE - Benzodiazepine derivative antiepileptics	156	843	N03 - ANTIEPILEPTICS
N03AF - Carboxamide derivatives, antiepileptics	97	902	N03 - ANTIEPILEPTICS
N03AG - Fatty acid derivatives, antiepileptics	108	891	N03 - ANTIEPILEPTICS
N03AX - Other antiepileptics in ATC	630	369	N03 - ANTIEPILEPTICS
N03AX09 - Lamotrigine	49	950	N03 - ANTIEPILEPTICS
N03AX11 - Topiramate	21	978	N03 - ANTIEPILEPTICS
N03AX12 - Gabapentin	95	904	N03 - ANTIEPILEPTICS
N03AX14 - Levetiracetam	72	927	N03 - ANTIEPILEPTICS
N03AX16 - Pregabalin	400	599	N03 - ANTIEPILEPTICS
N03AX18 - Lacosamide	27	972	N03 - ANTIEPILEPTICS
N03AX22 - Perampanel	12	987	N03 - ANTIEPILEPTICS
N04 - ANTI-PARKINSON DRUGS			
N04B - DOPAMINERGIC AGENTS	174	284	N04 - ANTI-PARKINSON DRUGS
N04BA - Dopa and dopa derivatives	220	238	N04 - ANTI-PARKINSON DRUGS
N04BB - Adamantane derivatives, dopaminergic	13	445	N04 - ANTI-PARKINSON DRUGS
N04BC - Dopamine agonists	127	331	N04 - ANTI-PARKINSON DRUGS
N04BD - MAO B Inhibitors, dopaminergic anti-parkinson drugs	19	439	N04 - ANTI-PARKINSON DRUGS
N04BX - Other dopaminergic agents in ATC	24	434	N04 - ANTI-PARKINSON DRUGS
N04BX01 - Tolcapone	12	446	N04 - ANTI-PARKINSON DRUGS
N04BX02 - Entacapone	12	446	N04 - ANTI-PARKINSON DRUGS
N05 - PSYCHOLEPTICS			

N05A - ANTIPSYCHOTICS			
N05AD - Butyrophenone derivatives, antipsychotics	49	1783	N05 - PSYCHOLEPTICS
N05AH - Diazepines, oxazepines, thiazepines and oxeines antipsychotic drugs	422	1410	N05 - PSYCHOLEPTICS
N05AL - Benzamide antipsychotics	21	1811	N05 - PSYCHOLEPTICS
N05AN - Lithium antipsychotics	20	1812	N05 - PSYCHOLEPTICS
N05AX - Other antipsychotics in ATC			
N05AX08 - Risperidone	70	1762	N05 - PSYCHOLEPTICS
N05AX12 - Aripiprazole	69	1763	N05 - PSYCHOLEPTICS
N05AX13 - Paliperidone	35	1797	N05 - PSYCHOLEPTICS
N05AX16 - Brexpiprazole	4	1828	N05 - PSYCHOLEPTICS
N05AX17 - Pimavanserin	79	1753	N05 - PSYCHOLEPTICS
N05B - ANXIOLYTICS			
N05BA - Benzodiazepine derivative anxiolytics	233	1599	N05 - PSYCHOLEPTICS
N05C - HYPNOTICS AND SEDATIVES			
N05CD - Benzodiazepine derivative hypnotics and sedatives	66	1766	N05 - PSYCHOLEPTICS
N05CF - Benzodiazepine related hypnotics and sedatives	130	1702	N05 - PSYCHOLEPTICS
N05CM - Other hypnotics and sedatives in ATC	48	1784	N05 - PSYCHOLEPTICS
N06 - PSYCHOANALEPTICS			
N06A - ANTIDEPRESSANTS			
N06AA - Non-selective monoamine reuptake inhibitors	76	859	N06 - PSYCHOANALEPTICS
N06AB - Selective serotonin reuptake inhibitors	261	674	N06 - PSYCHOANALEPTICS
N06AX - Other antidepressants in ATC			
N06AX05 - Trazodone	37	898	N06 - PSYCHOANALEPTICS
N06AX11 - Mirtazapine	59	876	N06 - PSYCHOANALEPTICS
N06AX12 - Bupropion	61	874	N06 - PSYCHOANALEPTICS
N06AX16 - Venlafaxine	89	846	N06 - PSYCHOANALEPTICS
N06AX21 - Duloxetine	70	865	N06 - PSYCHOANALEPTICS
N06AX23 - Desvenlafaxine	11	924	N06 - PSYCHOANALEPTICS
N06B - PSYCHOSTIMULANTS			
N06BA - Centrally acting sympathomimetics	37	898	N06 - PSYCHOANALEPTICS
N06BC - Xanthine derivatives	9	929	N06 - PSYCHOANALEPTICS
N06D - ANTI-DEMENTIA DRUGS			
N06DX - Other anti-dementia drugs in ATC			
N06DX01 - Memantine	61	874	N06 - PSYCHOANALEPTICS
N07B - DRUGS USED IN ADDICTIVE DISORDERS			
N07BA - Drugs used in nicotine dependence	97	93	N07B - DRUGS USED IN ADDICTIVE DISORDERS
N07BA01 - Nicotine	11	179	N07B - DRUGS USED IN ADDICTIVE DISORDERS
N07BA03 - Varenicline	35	155	N07B - DRUGS USED IN ADDICTIVE DISORDERS
N07BB - Drugs used in alcohol dependence			
N07BB04 - Naltrexone	32	158	N07B - DRUGS USED IN ADDICTIVE DISORDERS
N07BC - Drugs used in opioid dependence			
N07BC01 - Buprenorphine	21	169	N07B - DRUGS USED IN ADDICTIVE DISORDERS
N07BC02 - Methadone	31	159	N07B - DRUGS USED IN ADDICTIVE DISORDERS
N07X - OTHER NERVOUS SYSTEM DRUGS			
N07XX - Other nervous system drugs in ATC			
N07XX02 - Riluzole	6	24679	N07X - OTHER NERVOUS SYSTEM DRUGS
N07XX04 - Oxybate sodium	102	24583	N07X - OTHER NERVOUS SYSTEM DRUGS
N07XX05 - Amifampridine	7	24618	N07X - OTHER NERVOUS SYSTEM DRUGS
N07XX06 - Tetrabenazine	14	24671	N07X - OTHER NERVOUS SYSTEM DRUGS
N07XX07 - Fampridine	80	24605	N07X - OTHER NERVOUS SYSTEM DRUGS
N07XX08 - Tafamidis	6	24679	N07X - OTHER NERVOUS SYSTEM DRUGS
N07XX13 - Valbenazine	12	24673	N07X - OTHER NERVOUS SYSTEM DRUGS
P01B - ANTIMALARIALS			
P01BA02 - Hydroxychloroquine	459	24226	None
R03 - DRUGS FOR OBSTRUCTIVE AIRWAY DISEASES			
R03AC - Selective beta-2-adrenoreceptor agonist inhalants	120	804	R03 - DRUGS FOR OBSTRUCTIVE AIRWAY DISEASES
R03BA - Glucocorticoid inhalants for obstructive airway disease	437	487	R03 - DRUGS FOR OBSTRUCTIVE AIRWAY DISEASES
R03BB - Anticholinergics inhalants for obstructive airway diseases	83	841	R03 - DRUGS FOR OBSTRUCTIVE AIRWAY DISEASES
R03DC - Leukotriene receptor antagonists for obstructive airway diseases	24	900	R03 - DRUGS FOR OBSTRUCTIVE AIRWAY DISEASES
R03DX - Other systemic drugs for obstructive airway diseases in ATC	205	719	R03 - DRUGS FOR OBSTRUCTIVE AIRWAY DISEASES
R03DX05 - Omalizumab	148	776	R03 - DRUGS FOR OBSTRUCTIVE AIRWAY DISEASES
R03DX06 - Mepolizumab	40	884	R03 - DRUGS FOR OBSTRUCTIVE AIRWAY DISEASES
S01L - OCULAR VASCULAR DISORDER AGENTS			
S01LA04 - Ranibizumab	93	178	S01L - OCULAR VASCULAR DISORDER AGENTS
S01LA05 - Aflibercept	27	244	S01L - OCULAR VASCULAR DISORDER AGENTS
V03AC - Iron chelating agents			
V03AE - Drugs for treatment of hyperkalemia and hyperphosphatemia	41	24644	None
V03AF - Detoxifying agents for antineoplastic treatment	48	24637	None
V08CA - Paramagnetic contrast media	6	24679	None
V10XX - Various therapeutic radiopharmaceuticals			
V10XX03 - Radium Ra 223 dichloride	63	24622	None

Supplementary Table S2: MedDRA Preferred Terms related to the broad and narrow SMQs "osteoporosis/osteopenia" and to fractures

				MedDRA Preferred Terms
Broad SMQ	Fractures	Narrow SMQ		Bone density decreased
				Bone formation decreased
				Bone loss
				Bone marrow oedema syndrome
				Osteopenia
				Osteoporosis
				Osteoporosis postmenopausal
				Resorption bone increased
				Senile osteoporosis
				Osteoporotic fracture
		Acetabulum fracture		
		Femoral neck fracture		
		Femur fracture		
		Forearm fracture		
		Fracture		
		Fractured sacrum		
		Hip fracture		
		Ilium fracture		
		Lumbar vertebral fracture		
		Multiple fractures		
		Pelvic fracture		
		Radius fracture		
		Rib fracture		
		Sacroiliac fracture		
		Spinal fracture		
		Thoracic vertebral fracture		
		Wrist fracture		
		Atypical femur fracture		
		Body height abnormal		
		Body height below normal		
		Body height decreased		
		Bone density abnormal		
		Bone formation test abnormal		
		Bone metabolism biochemical marker increased		
		Bone metabolism disorder		
		Bone resorption test abnormal		
		Carpectomy		
		Cervical vertebral fracture		
		Closed fracture manipulation		
		C-telopeptide increased		
		Deoxypyridinoline urine increased		
		External fixation of fracture		
		Fracture treatment		
		Hip arthroplasty		
		Hip surgery		
		Iliocostal friction syndrome		
		Internal fixation of fracture		
		Kyphoscoliosis		
		Kyphosis		
		N-telopeptide urine increased		
		Open reduction of fracture		
		Open reduction of spinal fracture		
	Osteocalcin increased			
	Osteoporosis prophylaxis			
	Pathological fracture			
	Pathological fracture prophylaxis			
	Post-traumatic osteoporosis			
	Pyridinoline urine increased			
	Sacroiliac fusion			
	Serum procollagen type I N-terminal propeptide decreased			
	Short stature			
	Spinal compression fracture			
	Spinal deformity			

				Stress fracture
				Subchondral insufficiency fracture
				Tartrate-resistant acid phosphatase decreased
				Vertebral body replacement
				Vertebroplasty
				Wrist surgery

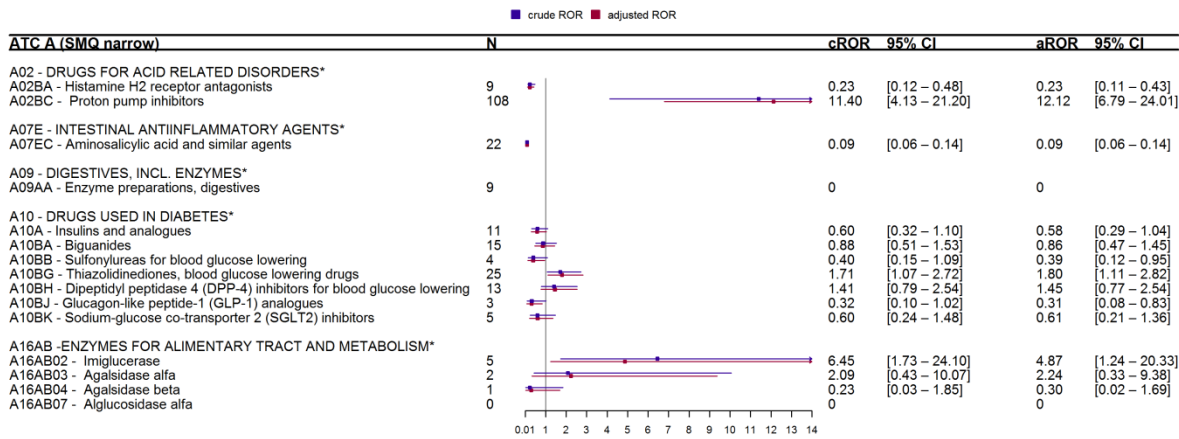


Fig. S1: RORs for osteoporosis (narrow SMQ) with drugs in group A of the ATC classification. *ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.*

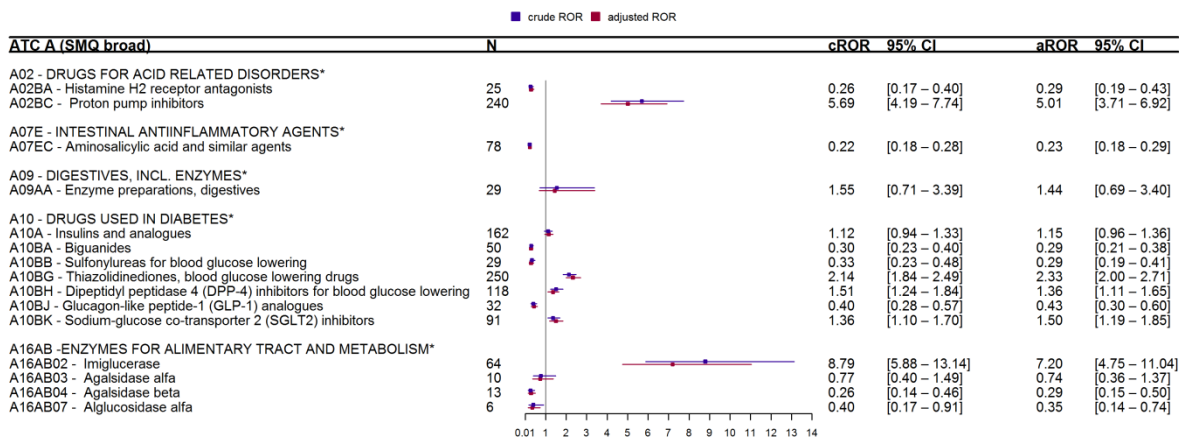


Fig. S2: RORs for osteoporosis (broad SMQ) with drugs in group A of the ATC classification. *ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.*

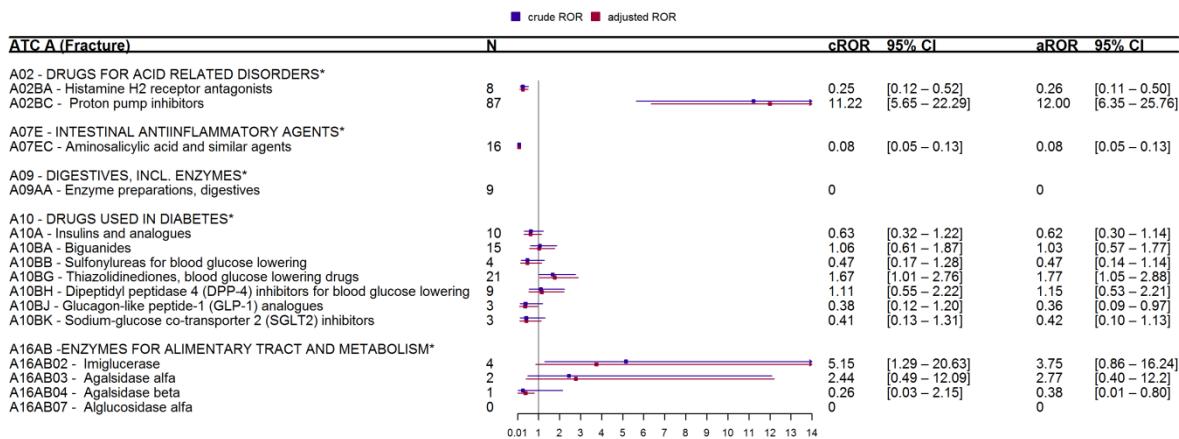


Fig. S3: RORs for osteoporosis (fracture) with drugs in group A of the ATC classification. *ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.*

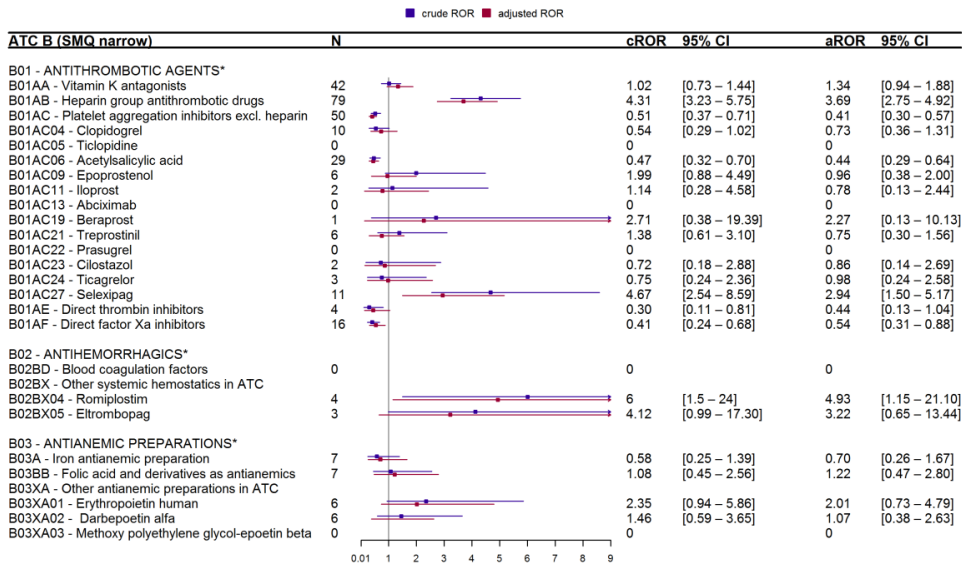


Fig. S4: RORs for osteoporosis (narrow SMQ) with drugs in group B of the ATC classification. ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.

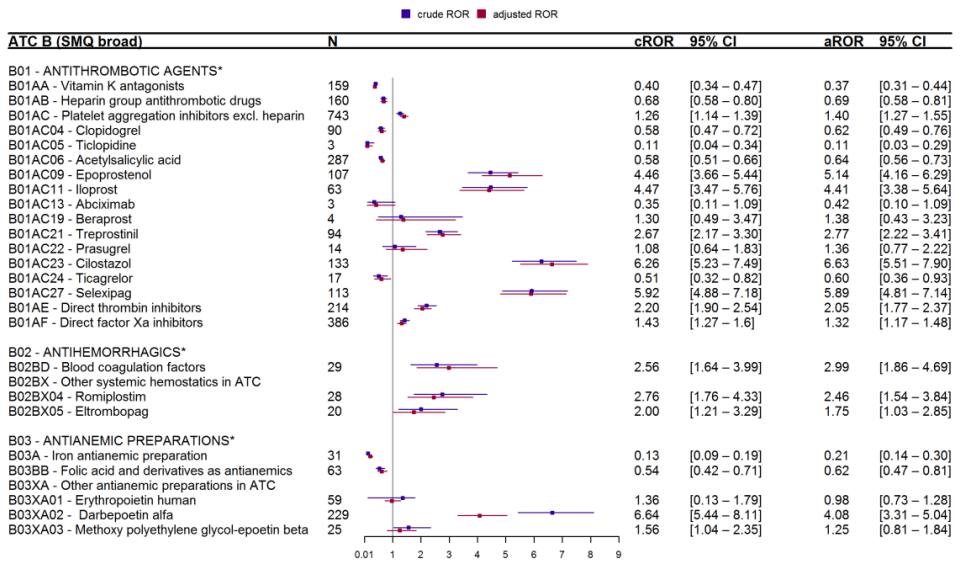


Fig. S5: RORs for osteoporosis (broad SMQ) with drugs in group B of the ATC classification. ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.

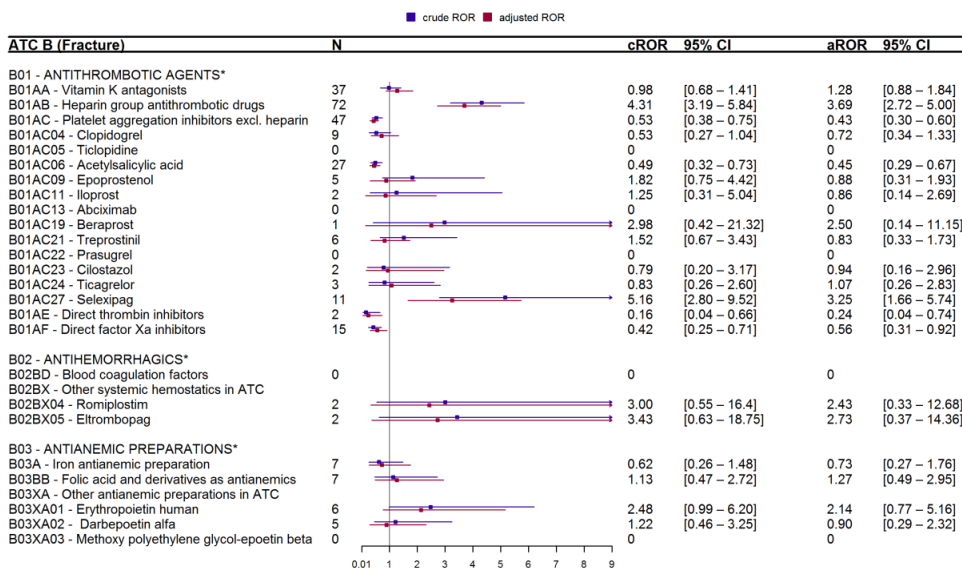


Fig. S6: RORs for osteoporosis (fracture) with drugs in group B of the ATC classification. ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.

■ crude ROR ■ adjusted ROR

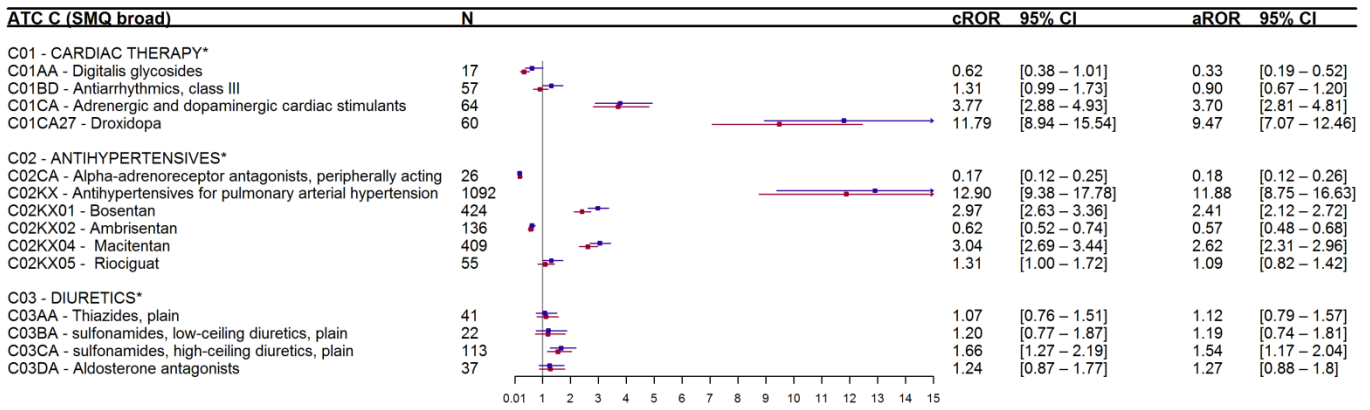


Fig. S7: RORs for osteoporosis (narrow SMQ) with drugs in group C of the ATC classification. ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.

■ crude ROR ■ adjusted ROR

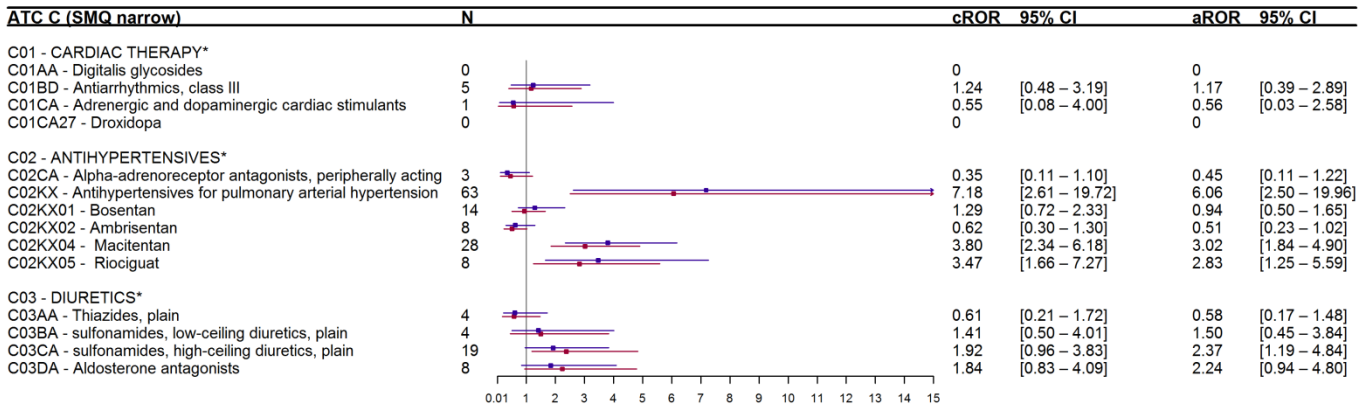


Fig. S8: RORs for osteoporosis (broad SMQ) with drugs in group C of the ATC classification. ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.

■ crude ROR ■ adjusted ROR

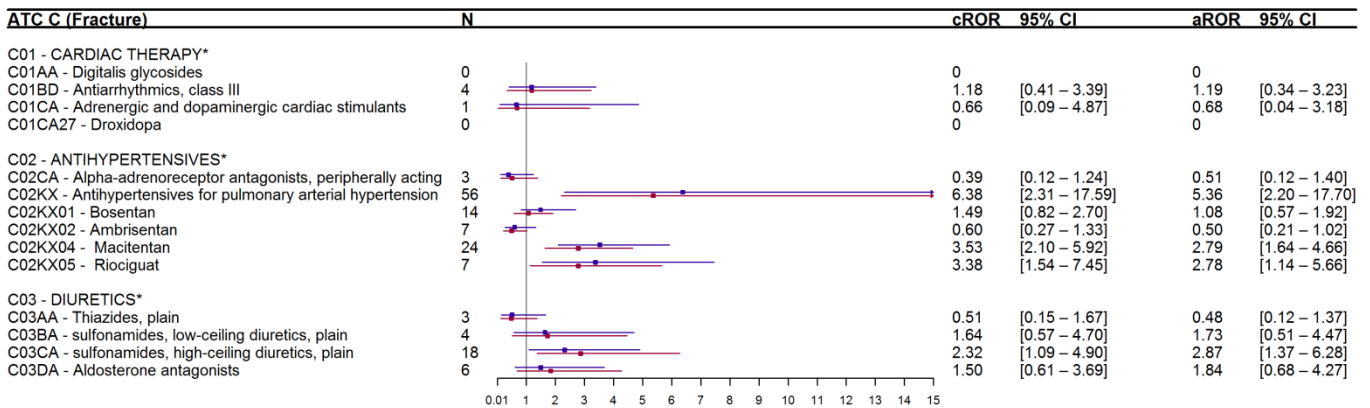


Fig. S9: RORs for osteoporosis (fracture) with drugs in group C of the ATC classification. ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.

■ crude ROR ■ adjusted ROR

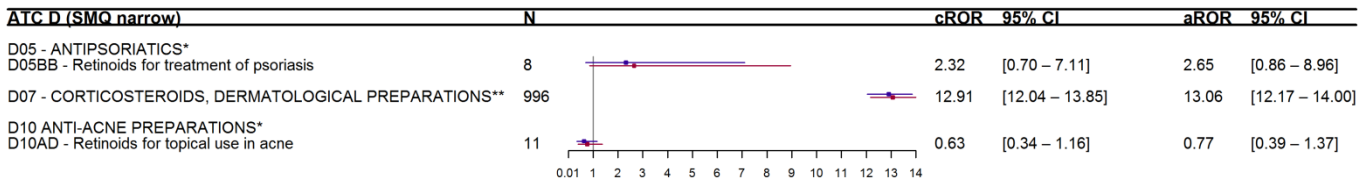


Fig. S10: RORs for osteoporosis (narrow SMQ) with drugs in group D of the ATC classification. *ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.*

■ crude ROR ■ adjusted ROR

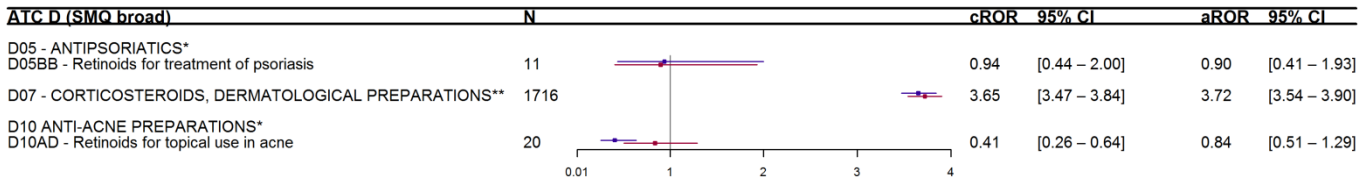


Fig. S11: RORs for osteoporosis (broad SMQ) with drugs in group D of the ATC classification. *ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.*

■ crude ROR ■ adjusted ROR

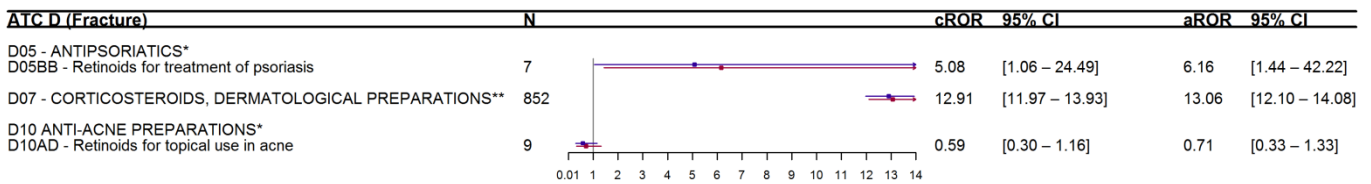


Fig. S12: RORs for osteoporosis (fracture) with drugs in group D of the ATC classification. *ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.*

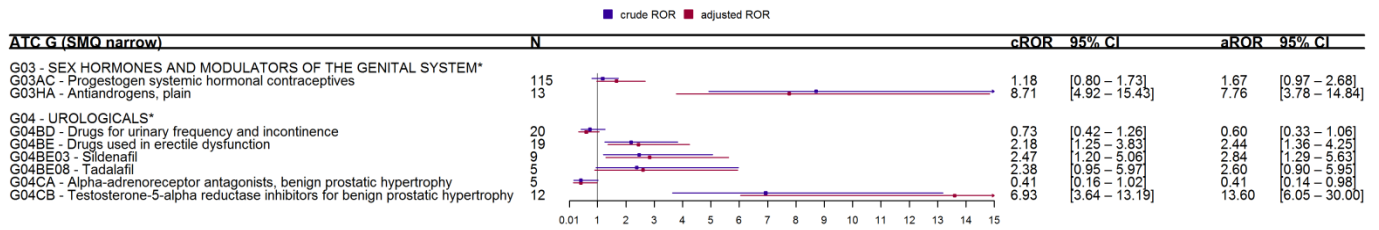


Fig. S13: RORs for osteoporosis (narrow SMQ) with drugs in group G of the ATC classification. ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.

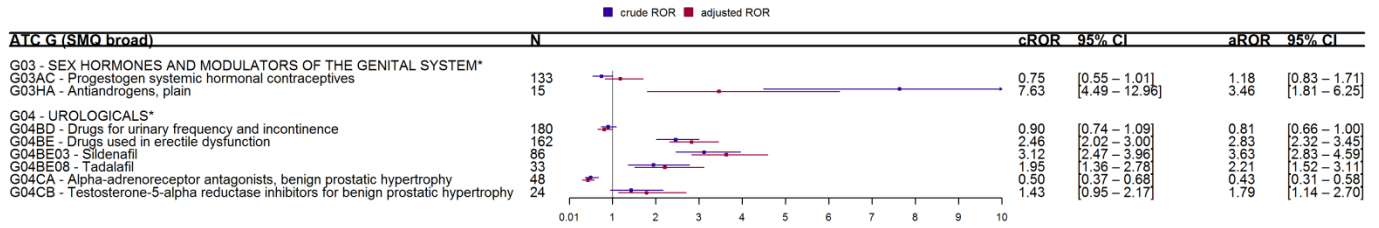


Fig. S14: RORs for osteoporosis (broad SMQ) with drugs in group G of the ATC classification. ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.

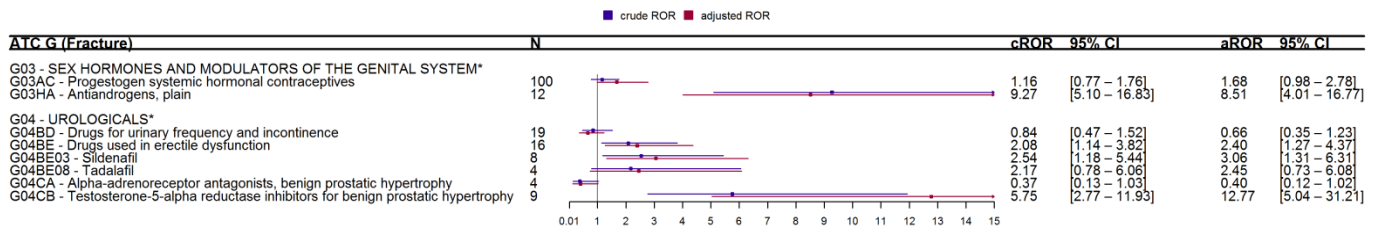


Fig. S15: RORs for osteoporosis (fracture) with drugs in group G of the ATC classification. ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.

■ crude ROR ■ adjusted ROR

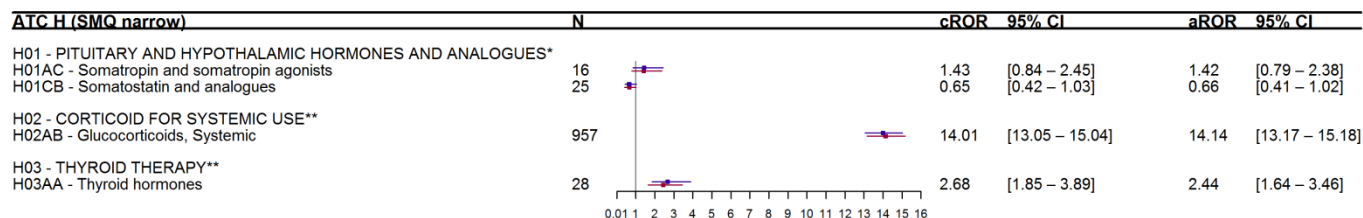


Fig. S16: RORs for osteoporosis (narrow SMQ) with drugs in group H of the ATC classification. *ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.*

■ crude ROR ■ adjusted ROR

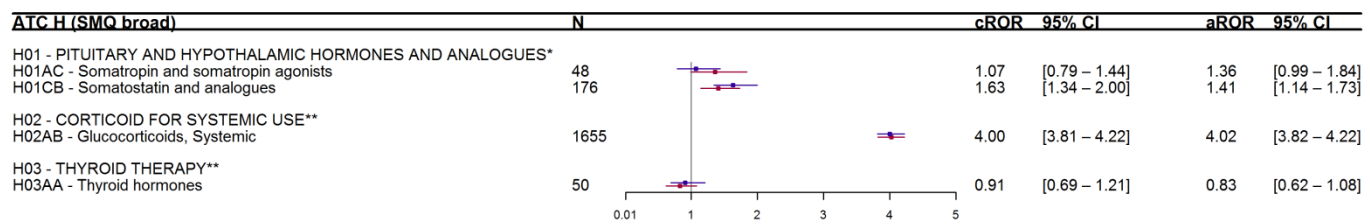


Fig. S17: RORs for osteoporosis (broad SMQ) with drugs in group H of the ATC classification. *ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.*

■ crude ROR ■ adjusted ROR

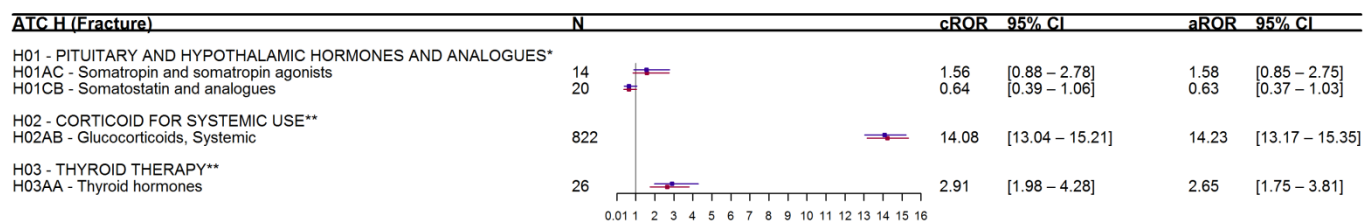


Fig. S18: RORs for osteoporosis (fracture) with drugs in group H of the ATC classification. *ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.*

■ crude ROR ■ adjusted ROR

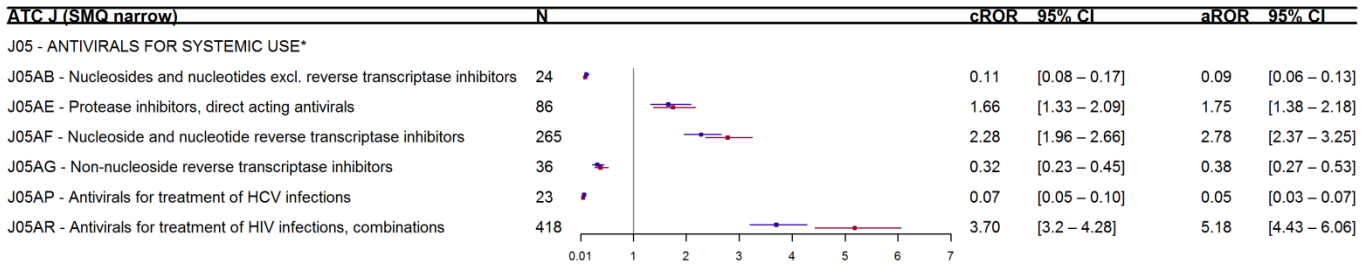


Fig. S19: RORs for osteoporosis (narrow SMQ) with drugs in group J of the ATC classification. ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.

■ crude ROR ■ adjusted ROR

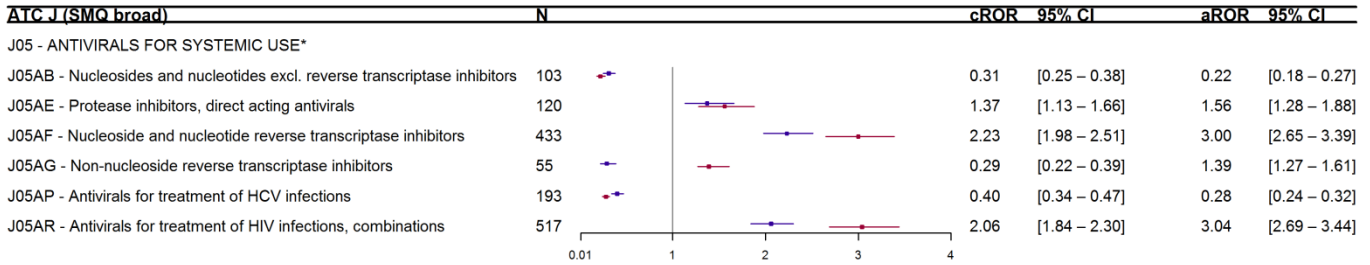


Fig. S20: RORs for osteoporosis (broad) with drugs in group J of the ATC classification. ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.

■ crude ROR ■ adjusted ROR

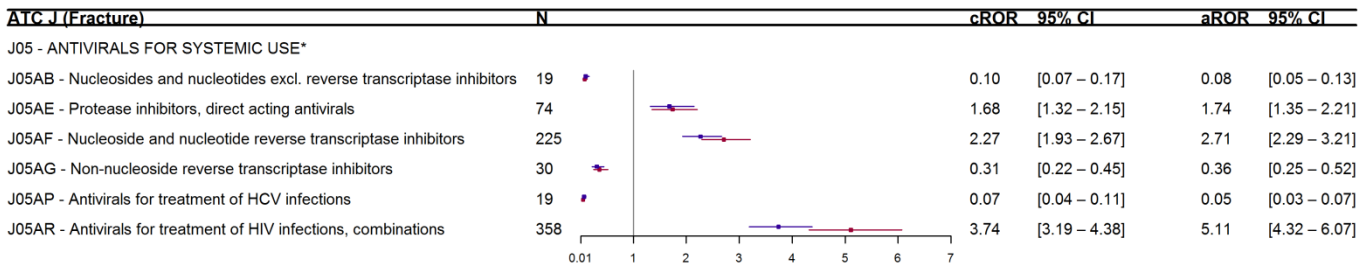


Fig. S21: RORs for osteoporosis (fracture) with drugs in group J of the ATC classification. ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.

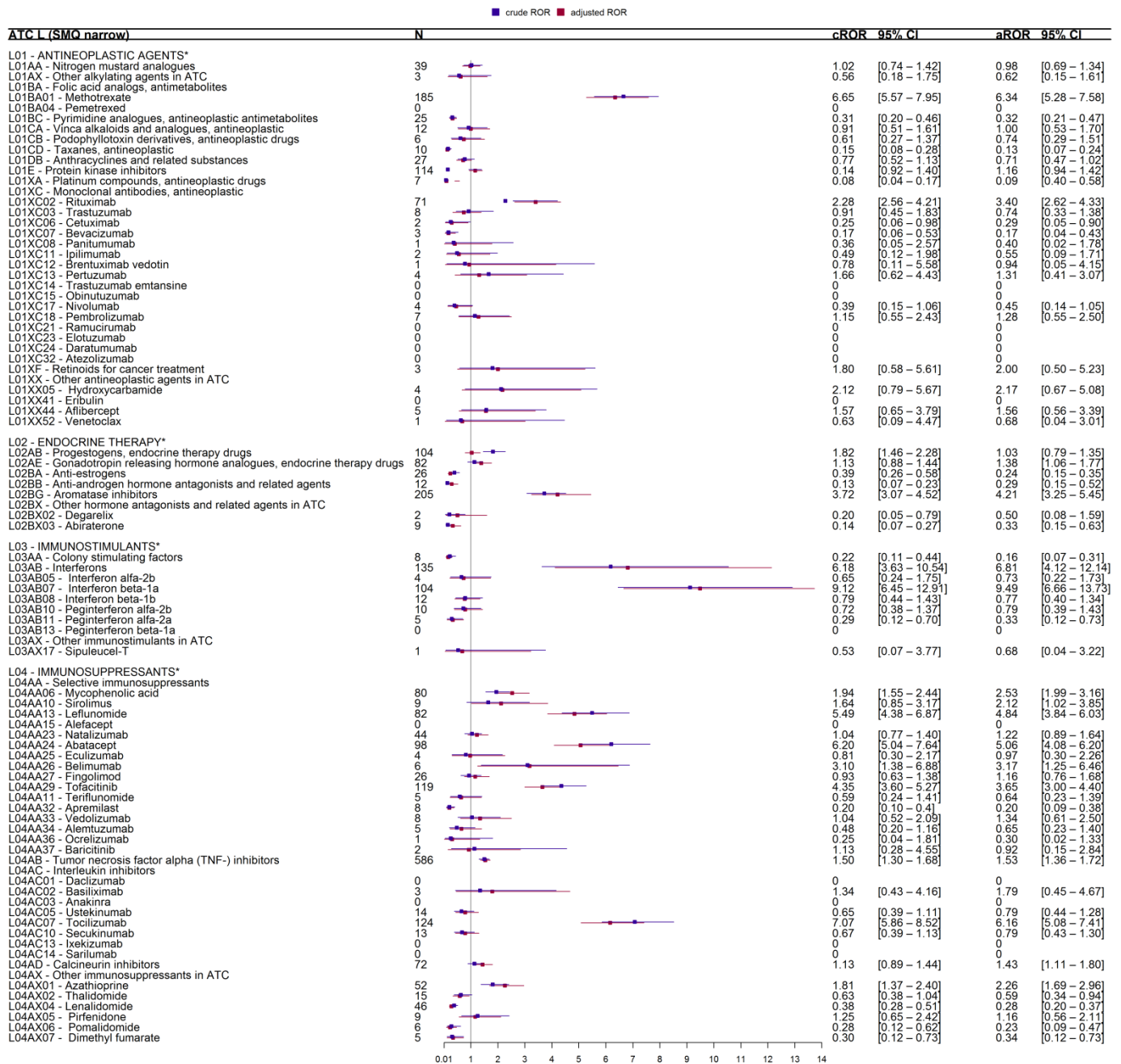


Fig. S22: RORs for osteoporosis (narrow SMQ) with drugs in group L of the ATC classification. ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.

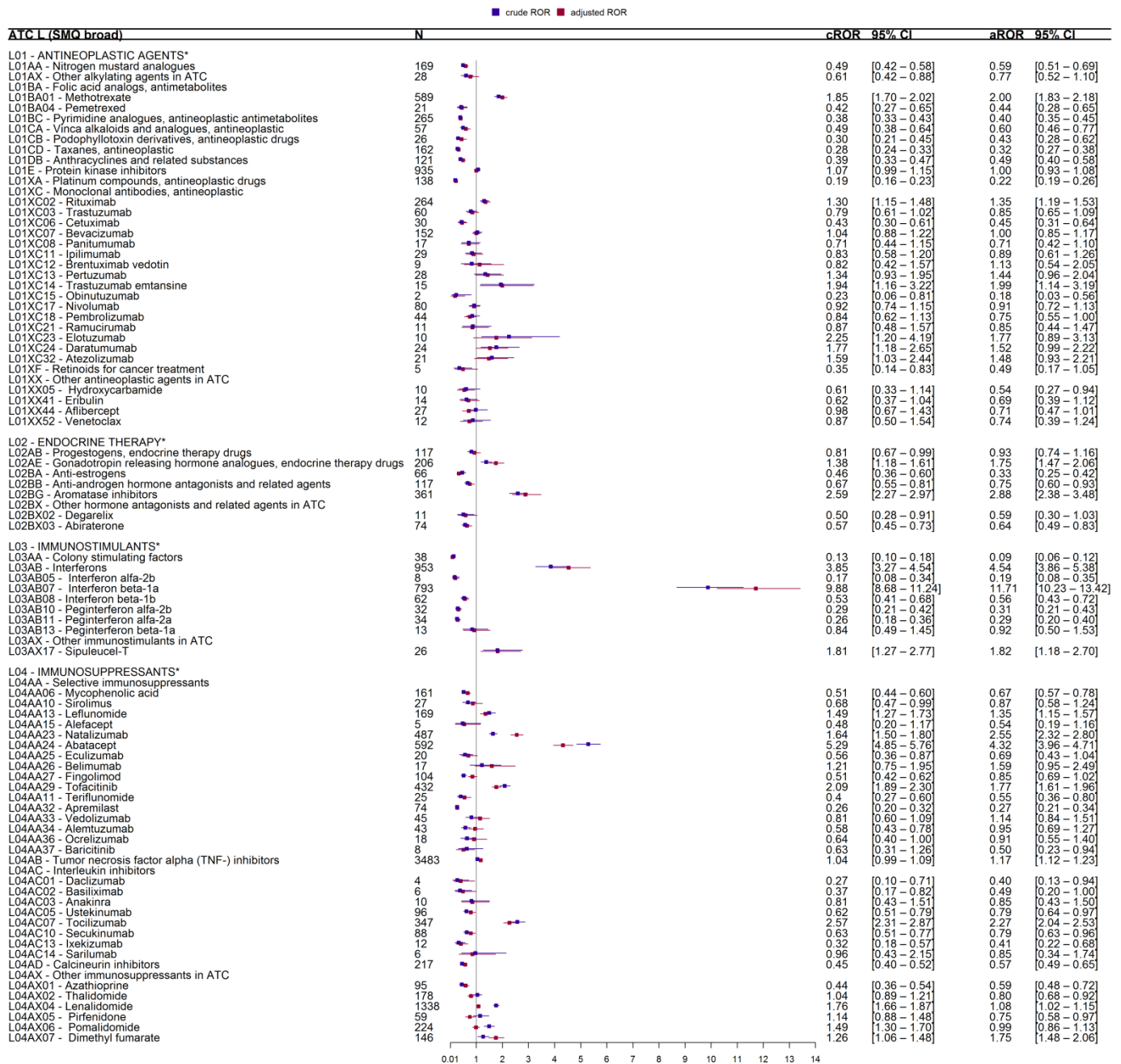


Fig. S23: RORs for osteoporosis (broad SMQ) with drugs in group L of the ATC classification. ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.

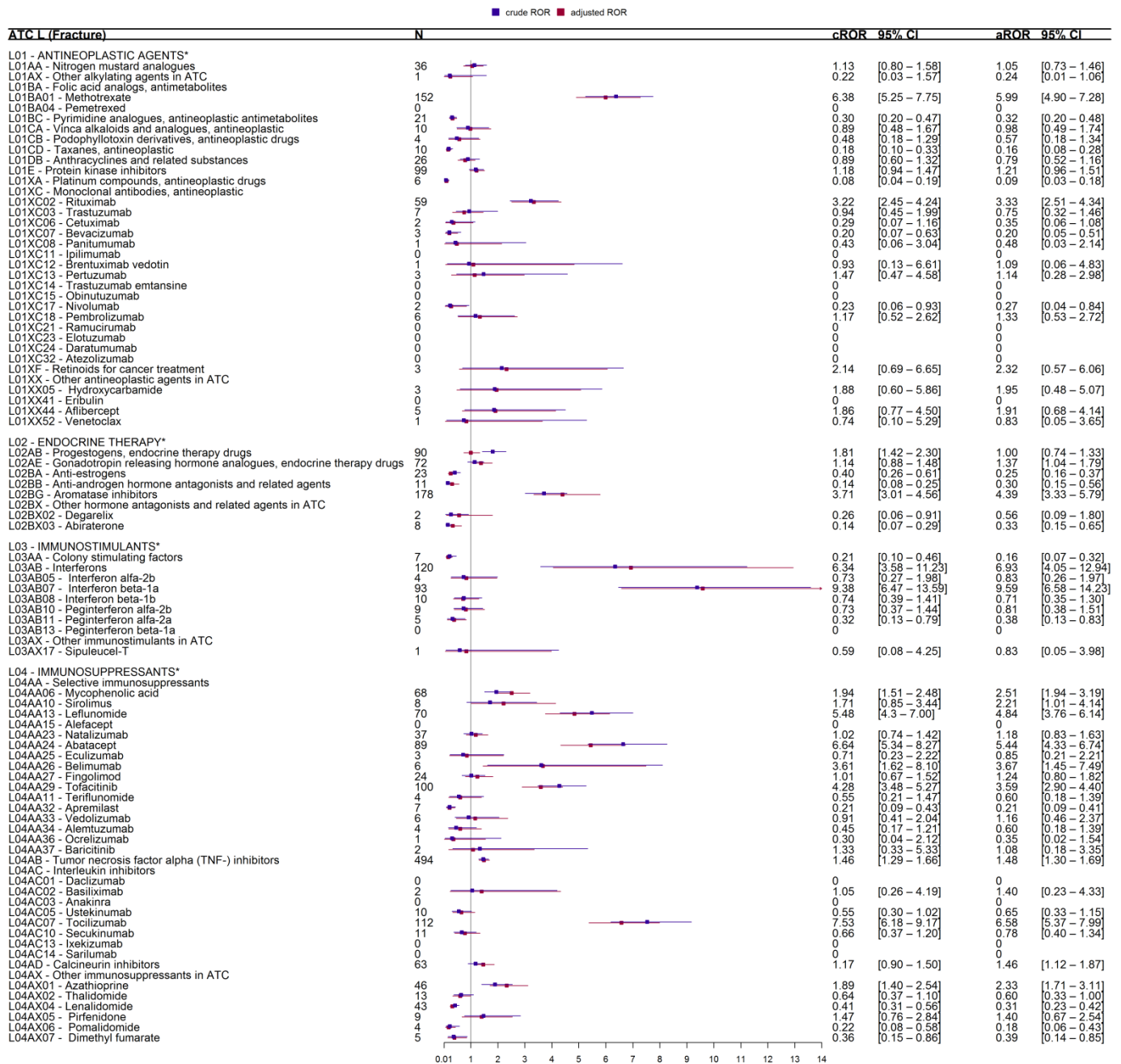


Fig. S24: RORs for osteoporosis (fracture) with drugs in group L of the ATC classification. ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.

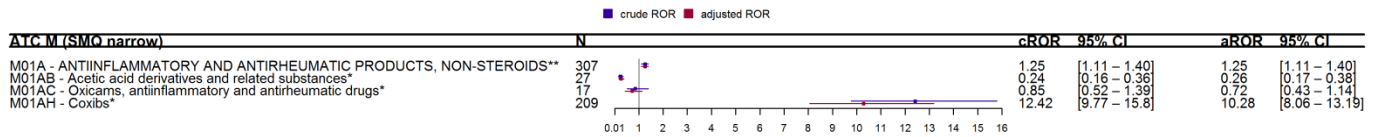


Fig. S25: RORs for osteoporosis (narrow SMQ) with drugs in group M of the ATC classification.
ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.

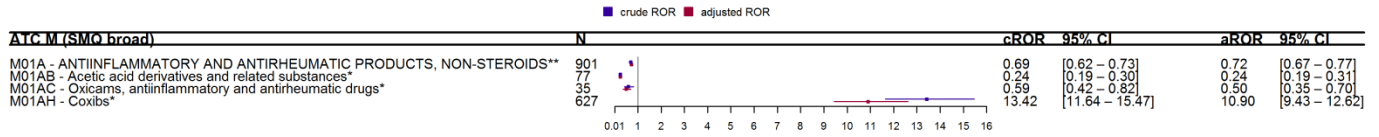


Fig. S26: RORs for osteoporosis (broad SMQ) with drugs in group M of the ATC classification.
ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.

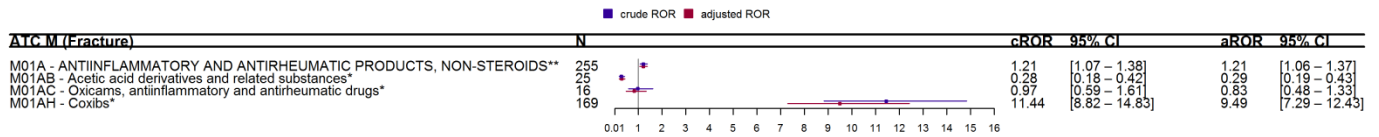


Fig. S27: RORs for osteoporosis (fracture) with drugs in group M of the ATC classification.
ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.

■ crude ROR ■ adjusted ROR

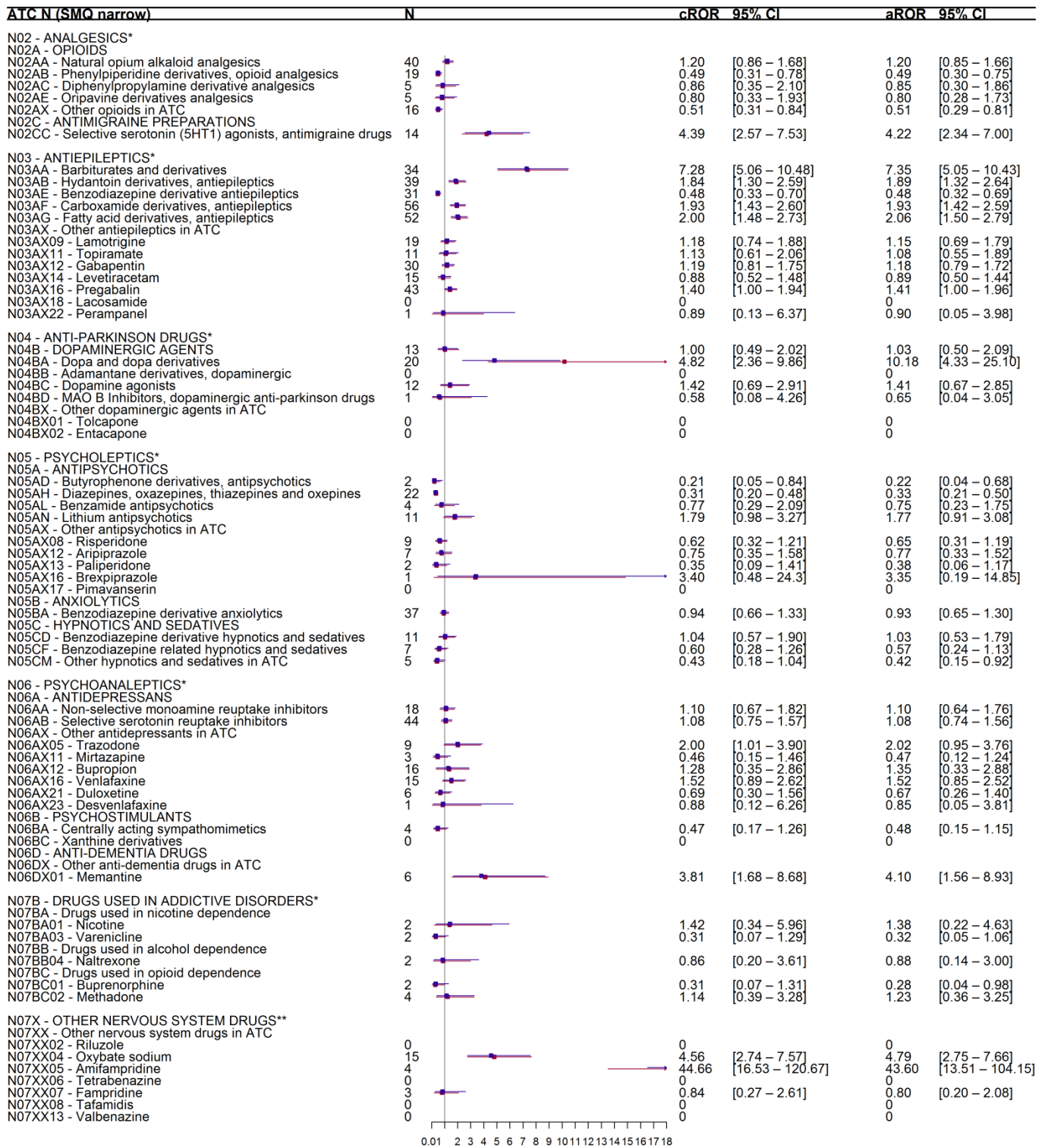


Fig. S28: RORs for osteoporosis (narrow SMQ) with drugs in group N of the ATC classification. ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.

■ crude ROR ■ adjusted ROR

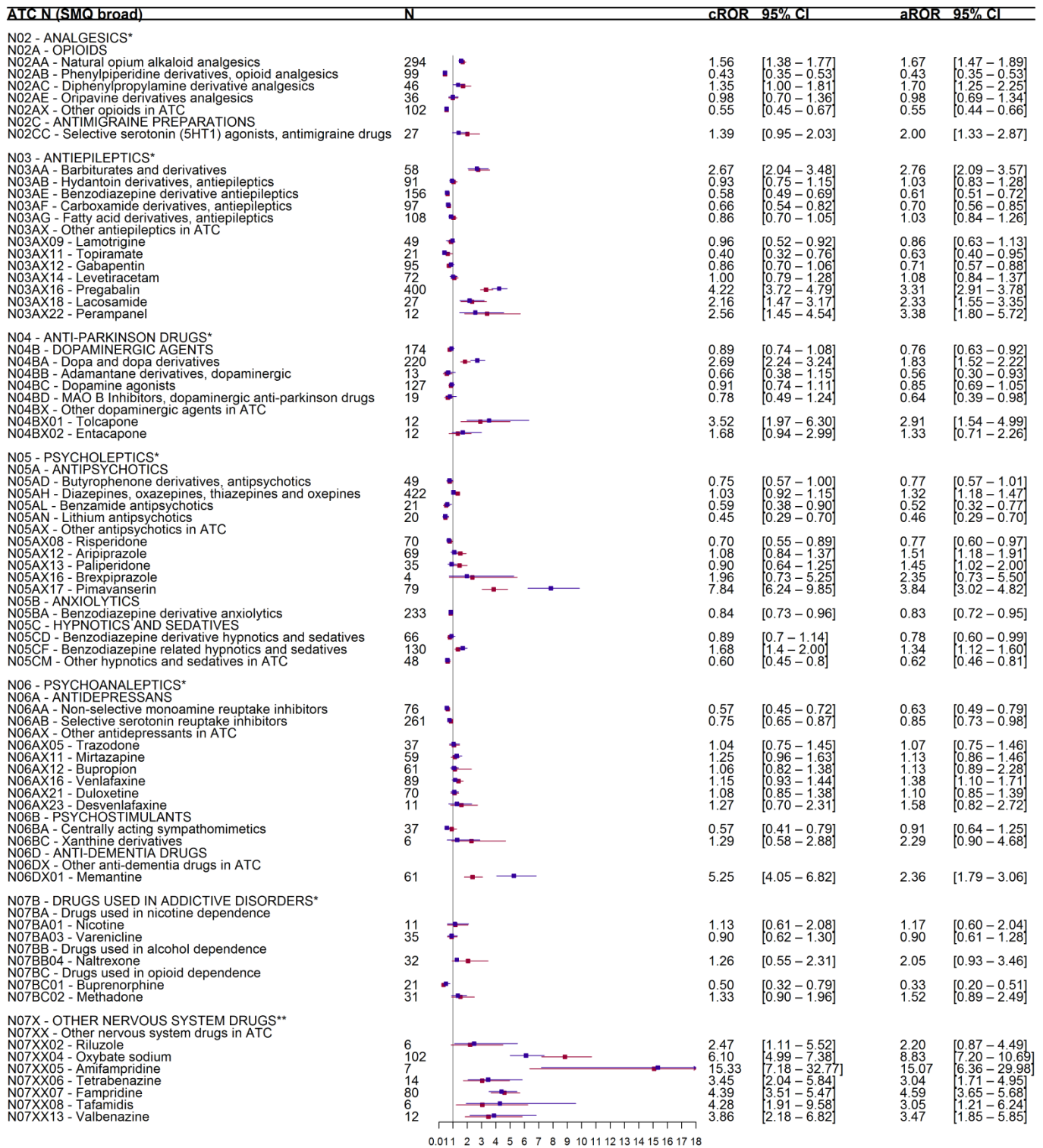


Fig. S29: RORs for osteoporosis (broad) with drugs in group N of the ATC classification. ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.

■ crude ROR ■ adjusted ROR

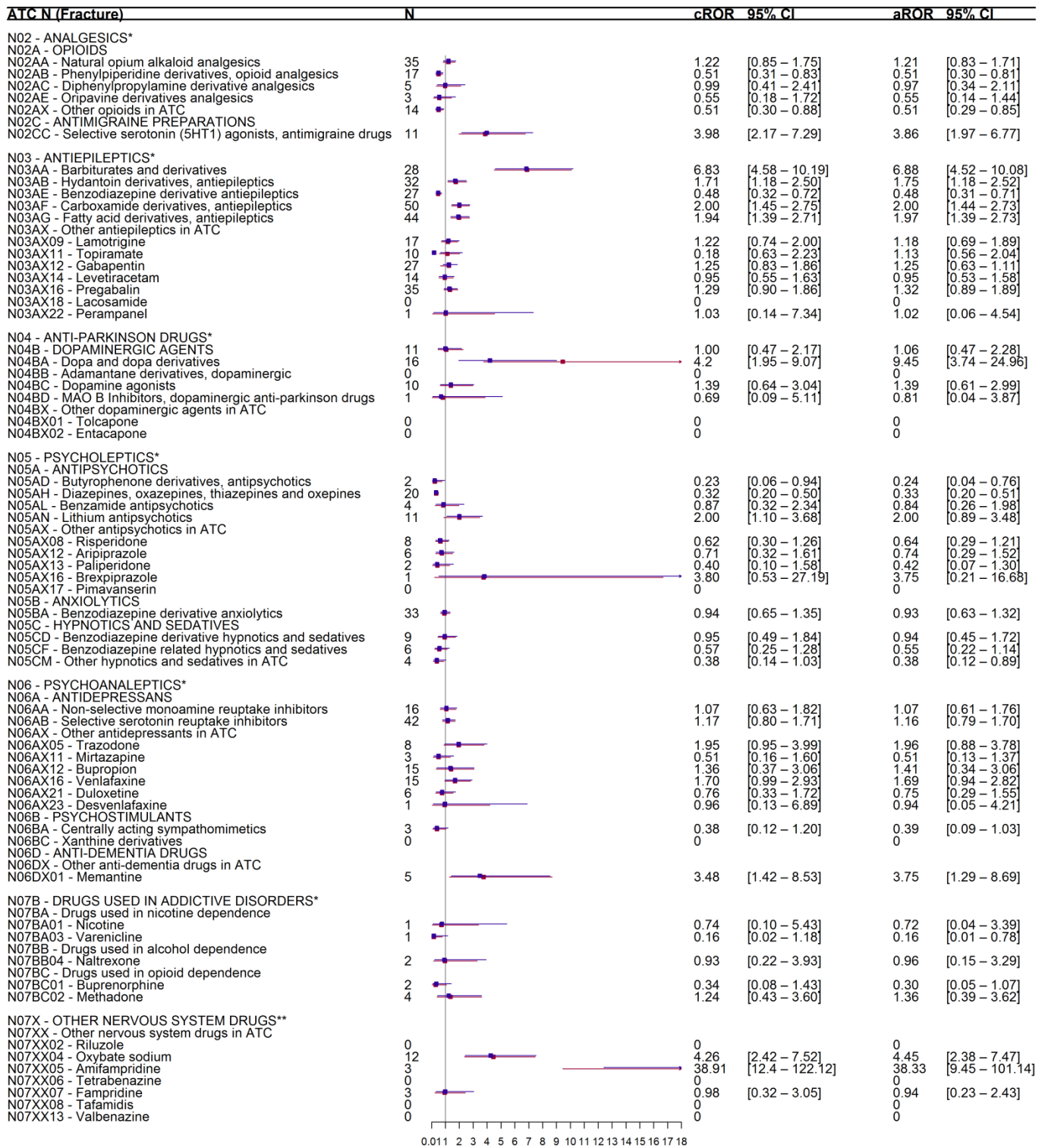


Fig. S30: RORs for osteoporosis (fracture) with drugs in group N of the ATC classification. ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.

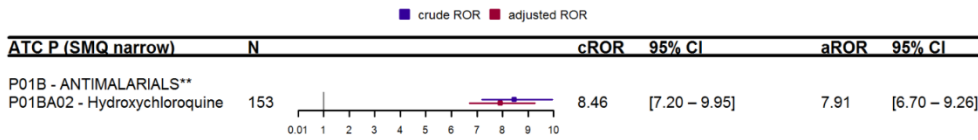


Fig. S31: RORs for osteoporosis (narrow SMQ) with drugs in group P of the ATC classification. *ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.*

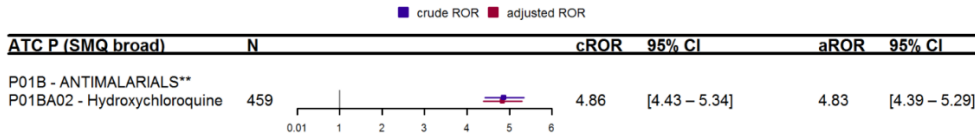


Fig. S32: RORs for osteoporosis (broad SMQ) with drugs in group P of the ATC classification. *ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.*

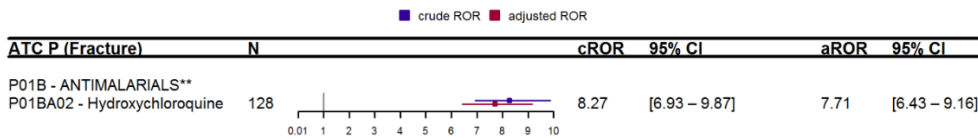


Fig. S33: RORs for osteoporosis (fracture) with drugs in group P of the ATC classification. *ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.*

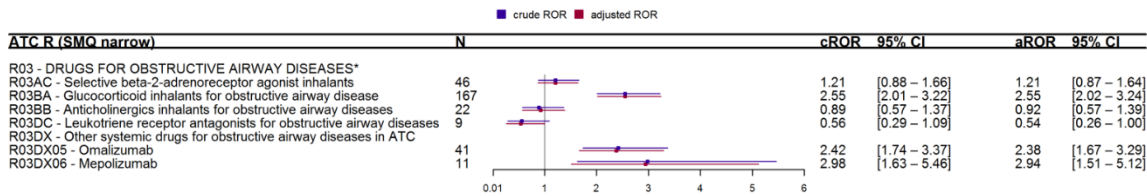


Fig. S34: RORs for osteoporosis (narrow SMQ) with drugs in group R of the ATC classification. *ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.*

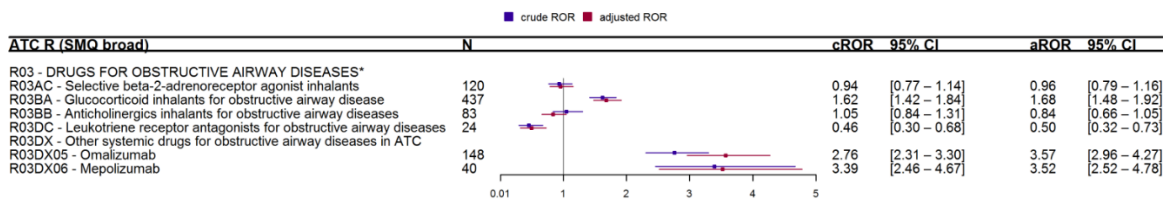


Fig. S35: RORs for osteoporosis (broad SMQ) with drugs in group R of the ATC classification. *ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.*

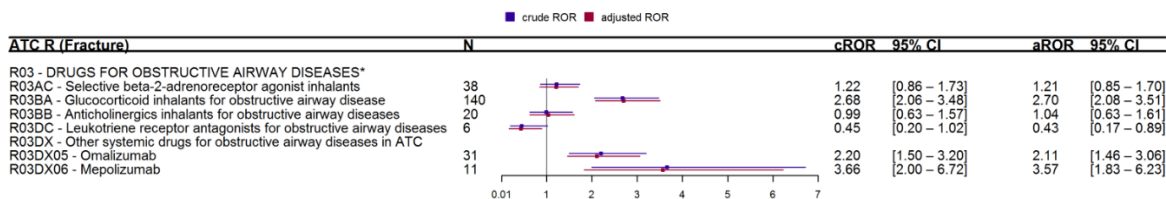


Fig. S36: RORs for osteoporosis (fracture) with drugs in group R of the ATC classification. *ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.*

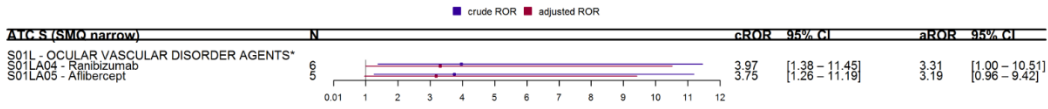


Fig. S37: RORs for osteoporosis (narrow SMQ) with drugs in group S of the ATC classification. ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.

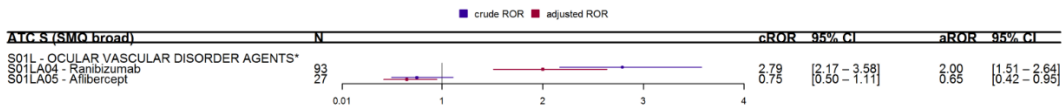


Fig. S38: RORs for osteoporosis (broad SMQ) with drugs in group S of the ATC classification. ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.

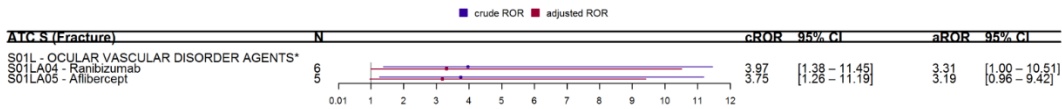


Fig. S39: RORs for osteoporosis (fracture) with drugs in group S of the ATC classification. ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.

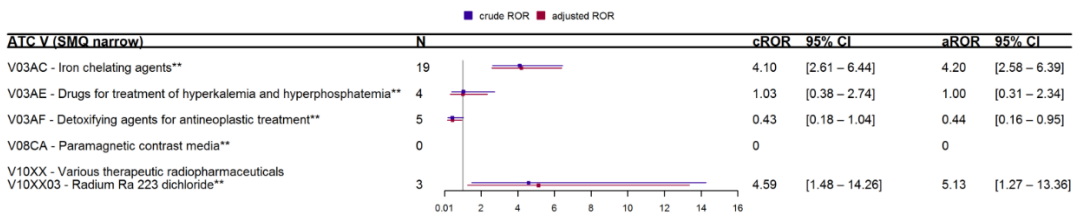


Fig. S40: RORs for osteoporosis (narrow SMQ) with drugs in group V of the ATC classification. ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.

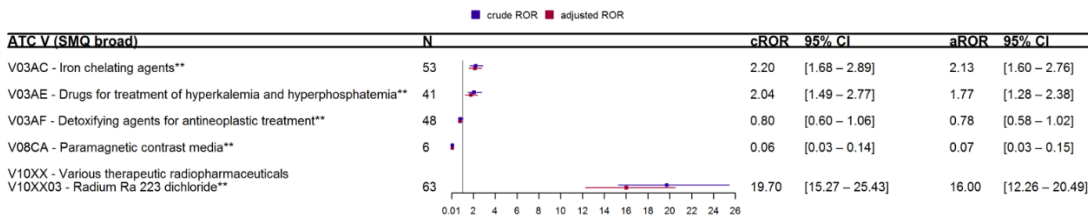


Fig. S41: RORs for osteoporosis (broad SMQ) with drugs in group V of the ATC classification. ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.

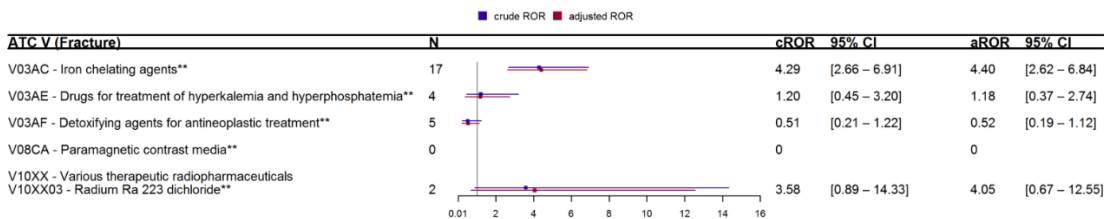


Fig. S42: RORs for osteoporosis (fracture) with drugs in group V of the ATC classification. ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.

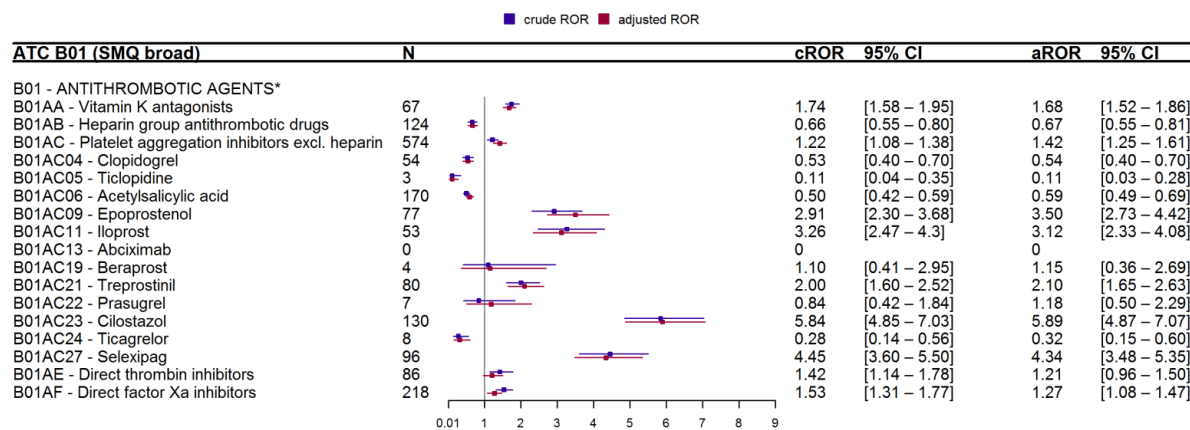


Fig. S43: RORs for osteoporosis (broad SMQ) with drugs in group B01 of the ATC classification (after removing the SMQ “Haemorrhages” from the analysis)

ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.

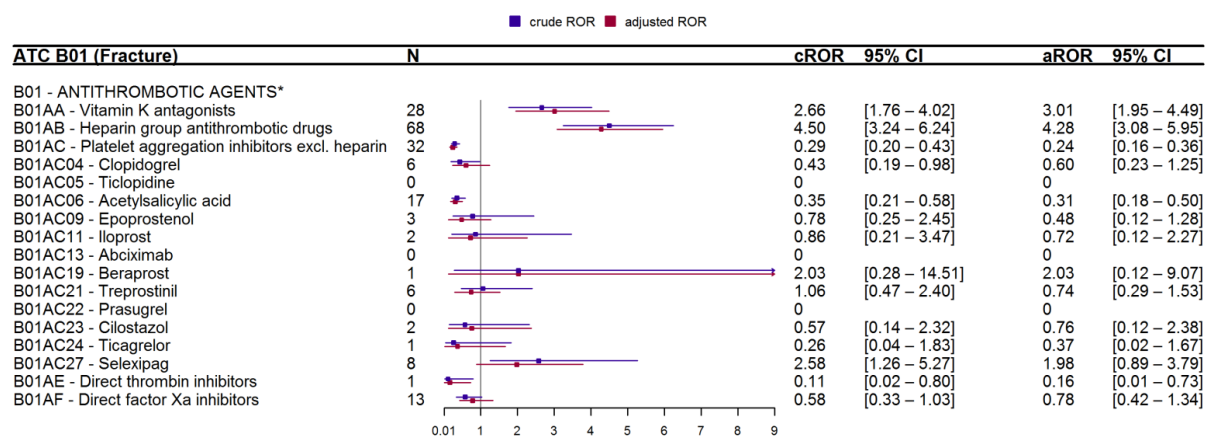


Fig. S44: RORs for osteoporosis (fracture) with drugs in group B01 of the ATC classification (after removing the SMQ “Haemorrhages” from the analysis)

ATC, Anatomical Therapeutic Chemical; CI, confidence interval; ROR, reporting odds ratio.

Résumé

Les fractures par fragilité osseuse sont fréquentes après transplantation rénale et sont responsables d'une mortalité et d'une morbidité élevées. Elles sont en partie la conséquence de l'ostéodystrophie rénale préexistante à la transplantation dont certaines toxines urémiques (TU) liées aux protéines plasmatiques, difficilement épurées par dialyse, contribuent à sa physiopathologie. Par ailleurs, d'autres facteurs de risque de fracture après transplantation ont été identifiés, tels que l'âge, le sexe féminin, l'exposition aux corticoïdes ou encore une carence en vitamine D. L'identification de nouveaux facteurs de risque de fragilité osseuse est nécessaire à la prévention de ces fractures. Nous avons ainsi constitué une cohorte rétrospective de patients transplantés rénaux afin d'identifier des facteurs de risque de déminéralisation osseuse et/ou de fracture, à savoir les TU liées aux protéines plasmatiques et certains médicaments. Les concentrations en TU liées aux protéines plasmatiques au moment de la transplantation (reflétant leur accumulation en période de dialyse) n'étaient pas prédictives d'une baisse de densité minérale osseuse (DMO) et n'étaient pas associées aux fractures incidentes dans les 2 ans suivant la transplantation rénale. En ce qui concerne les médicaments, l'arrêt précoce de la corticothérapie après transplantation rénale, comparativement à la corticothérapie prolongée, était associé à une augmentation plus importante de la DMO au rachis lombaire (0,036 g/cm², p<0,001), correspondant à un gain de T-score de 0,299 (p<0,001) et au col fémoral (0,020 g/cm², p=0,035), correspondant à un gain de T-score de 0,121 (p=0,013). L'exposition aux diurétiques de l'anse (Hazard Ratio (HR) [intervalle de confiance à 95 %] : 2,11 [1,17-3,79]) et aux opioïdes (HR : 5,94 [2,14-16,52]) était associée aux fractures incidentes. L'exposition aux diurétiques de l'anse était associée à une diminution du T-score au rachis lombaire (p=0,022) et au poignet (p=0,028). Ce travail apporte une meilleure connaissance sur les facteurs de risque de fragilité osseuse après transplantation rénale, notamment en lien avec l'exposition médicamenteuse, et ouvre la voie à de futures recherches sur des cohortes plus importantes afin d'identifier d'autres facteurs de risque et des facteurs prédictifs de fracture.

Mots-clés : transplantation rénale, ostéoporose, fracture, médicaments, toxines urémiques, pharmacoépidémiologie.

Abstract

Bone fragility fractures are frequent in kidney transplant recipients and are responsible for high mortality and morbidity. They are partly the consequence of pre-existing renal osteodystrophy, for which some protein-bound uremic toxins (UTs), which are difficult to remove by dialysis, contribute to its physiopathology. In addition, other fracture risk factors in kidney transplant recipients have been identified, such as age, female gender, exposure to corticosteroids or vitamin D deficiency. The identification of new bone fragility risk factors is necessary to prevent fractures. Thus, we have constituted a retrospective cohort of kidney transplant recipients in order to identify risk factors for bone demineralization and/or fractures, namely protein-bound UTs and certain drugs. Protein-bound UT concentrations at the time of transplantation (reflecting their accumulation during the dialysis period) were not predictive of decrease in bone mineral density (BMD) and were not associated with incident fractures within 2 years of kidney transplantation. Concerning drugs, early steroid withdrawal after kidney transplantation, compared to long-term corticosteroid therapy, was associated with an increase in BMD at the lumbar spine (0.036 g/cm², p<0.001), corresponding to a T-score gain of 0.299 (p<0.001), and at the femoral neck (0.020 g/cm², p=0.035), corresponding to a T-score gain of 0.121 (p=0.013). Exposure to loop diuretics (Hazard Ratio (HR) [95% confidence interval]: 2.11 [1.17-3.79]) and opioids (HR: 5.94 [2.14-16.52]) was associated with incident fractures. Loop diuretic exposure was associated with a decrease in T-scores at the lumbar spine (p=0.022) and at wrist (p=0.028). This work provides a better knowledge of bone fragility risk factors in kidney transplant recipients, particularly concerning drug exposure, and paves the way for future research on larger cohorts to identify other risk factors and predictors of fractures.

Keywords: kidney transplantation, osteoporosis, fracture, drugs, uremic toxins, pharmacoepidemiology.