



**HAL**  
open science

# Contribution à la physiopathologie de l'arthropathie des dialysés : aluminium et amylose Béta2-microglobulinique

Isabelle Chary-Valckenaere

## ► To cite this version:

Isabelle Chary-Valckenaere. Contribution à la physiopathologie de l'arthropathie des dialysés : aluminium et amylose Béta2-microglobulinique. Médecine humaine et pathologie. Université Henri Poincaré - Nancy 1, 2001. Français. NNT : 2001NAN11304 . tel-01748636

**HAL Id: tel-01748636**

**<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01748636v1>**

Submitted on 29 Mar 2018

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

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



## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

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

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

Contact : [ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr](mailto:ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr)

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

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

[http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg\\_droi.php](http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php)

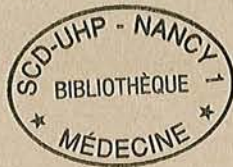
<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

01304  
158485

**THÈSE DE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ, NANCY 1**

**École Doctorale : BIOLOGIE, SANTÉ et ENVIRONNEMENT**

**Spécialité : GENIE BIOLOGIQUE ET MEDICAL**



**CONTRIBUTION À LA PHYSIOPATHOLOGIE DE  
L'ARTHROPATHIE DES DIALYSÉS.  
ALUMINIUM ET AMYLOSE  $\beta$ 2-MICROGLOBULINIQUE**

**THÈSE**

Présentée et soutenue publiquement

Le 22 février 2001

pour l'obtention du titre de

**DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ, NANCY 1**

par

**Isabelle CHARY-VALCKENAERE**

née le 29 Juillet 1966

à Briey (Meurthe et Moselle)

JURY :

Professeur Jean-Paul ESCHARD

Professeur Michèle KESSLER:

Professeur Patrick NETTER:

Professeur Jacques POUREL:

Professeur Daniel WENDLING

Rapporteur

Juge

Juge

Juge

Rapporteur





**THÈSE DE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ, NANCY 1**

**École Doctorale : BIOLOGIE, SANTÉ et ENVIRONNEMENT**

**Spécialité : GENIE BIOLOGIQUE ET MEDICAL**



**CONTRIBUTION À LA PHYSIOPATHOLOGIE DE  
L'ARTHROPATHIE DES DIALYSÉS.  
ALUMINIUM ET AMYLOSE  $\beta$ 2-MICROGLOBULINIQUE**

**THÈSE**

Présentée et soutenue publiquement

Le 22 février 2001

pour l'obtention du titre de

**DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ, NANCY 1**

par

**Isabelle CHARY-VALCKENAERE**

née le 29 Juillet 1966

à Briey (Meurthe et Moselle)

JURY :

Professeur Jean-Paul ESCHARD  
Professeur Michèle KESSLER:  
Professeur Patrick NETTER:  
Professeur Jacques POUREL:  
Professeur Daniel WENDLING

Rapporteur  
Juge  
Juge  
Juge  
Rapporteur

# SOMMAIRE

	<i>pages</i>
Liste des figures et tableaux .....	5
Liste des abbréviations .....	6
Préambule .....	7
Liste des publications relatives à la thèse .....	8
<b>Introduction .....</b>	<b>10</b>
<b><u>Chapitre I. L'Arthropathie des dialysés.</u> .....</b>	<b>13</b>
<b>1. Historique. Concept de l'arthropathie du dialysé.</b>	<b>14</b>
<b>2. Formes cliniques et radiologiques</b>	<b>15</b>
2.1. Syndromes canauxiers	15
2.2. Atteintes articulaires	16
2.3. Atteintes vertébrales	20
<b>3. Etiopathogénie.</b>	<b>23</b>
3.1. Amylose $\beta$ 2-M	23
3.2. Durée de dialyse	23
3.3. Age et facteurs mécaniques	24
3.4. Hyperparathyroïdie et microcristaux	24
3.5. Intoxication aluminique	25
3.6. Surcharge en fer	25
3.7. Membranes de dialyse.	25
<b>4. Principes thérapeutiques.</b>	<b>27</b>
4.1. Traitement préventif	27
4.2. traitement curatif ?	27
<b><u>Chapitre II. Etude expérimentale: Rôle de l'aluminium</u></b>	
<b><u>et des aluminosilicates</u> .....</b>	<b>28</b>
<b>1. Toxicité de l'aluminium</b>	<b>29</b>
1.1. Considérations thérapeutiques	29
1.2. Toxicité neurologique	29
1.3. Toxicité hématologique	30
1.4. Toxicité osseuse	30
1.5. Toxicité articulaire. Etat des connaissances.	33
<b><u>Publication 1: Articular toxicity of aluminum : possible involvement in dialysis - associated arthropathy.</u></b> Chary-Valckenaere I, Jouzeau JY, Fener P, Netter P, Payan E, Kessler M, Pourel J, Gaucher A. Revue du Rhumatisme [Engl Ed] 1994; 61: 55S-59S	<b>34</b>

	pages
<b>2. Etude expérimentale: Toxicité articulaire de composés aluminiques in vivo</b>	<b>40</b>
2.1. Bases et objectifs.	40
2.2. Résultats actuels	40
<b><u>2.2.1. Publication 2:</u> <i>Experimental articular toxicity of aluminum compounds in vivo.</i></b>	
Chary-Valckenaere I, Fener P, Jouzeau JY, Netter P, Payan E, Floquet J, Burnel D, Kessler M, Pourel J, Gaucher A. <i>Journal of Rheumatology</i> 1994; 21: 1542-1547	41
<b><u>2.2.2. Formation d'aluminosilicates in vivo</u></b>	<b>47</b>
<b><u>Publication 3:</u> <i>Commentary on the article of Mora et al. Aluminum-containing particles in synovial fluid of a patient with normal renal function and chondrocalcinosis.</i></b> Jouzeau JY, Chary-Valckenaere I, Kessler M, Netter P. <i>Journal of Clinical Rheumatology</i> 1999; 5: 88-89	54
2.3. Travaux en cours et perspectives:	61
<i>étude en microsonde ionique de prélèvements tissulaires de dialysés.</i>	
<b><u>Chapitre III. Etude clinique: Rôle des dépôts d'amylose <math>\beta</math>2-M</u></b>	<b>65</b>
<b>1. Amylose <math>\beta</math>2-M: généralités.</b>	<b>66</b>
1.1. $\beta$ 2-M et dialyse	66
1.2. Physiopathologie de l'amyloïdogénèse	70
1.2.1. <i>Elévations des taux de <math>\beta</math>2-M</i>	70
1.2.2. <i>Modifications de la <math>\beta</math>2-M native</i>	70
1.2.3. <i>Autres constituants des dépôts amyloïdes</i>	71
1.3. Mise en évidence de l'amylose $\beta$ 2-M	75
1.3.1. <i>Radiologie standard</i>	75
1.3.2. <i>Autres techniques d'imagerie</i>	77
1.3.3. <i>Méthodes isotopiques</i>	77
1.3.4. <i>Anatomie pathologique</i>	79
<b>2. Syndrome du canal carpien chez le dialysé: données actuelles.</b>	<b>84</b>
<b>3. Etude clinique: circonstances étiopathogéniques du syndrome du canal carpien chez le dialysé: Rôle des dépôts amyloïdes.</b>	<b>87</b>
<b><u>Publication 4:</u> <i>Carpal tunnel syndrome in patients receiving long-term hemodialysis: role of amyloid deposits.</i></b> Chary-Valckenaere I, Kessler M, Mainard D, Chanliau J, Champigneulle J, Schertz L, Pourel J, Netter P. <i>Arthritis and Rheumatism</i> 1997; 40: S48	91
<b><u>Publication 5:</u> <i>Syndrome du canal carpien chez l'hémodialysé chronique: amyloïde ou idiopathique ? A propos d'une série de 38 canaux carpiens opérés.</i></b>	
Schertz L, Kessler M, Mainard D, Chanliau J, Netter P, Champigneulle J, Pourel J, Chary-Valckenaere I. <i>Revue du Rhumatisme (Ed. Fr.)</i> 1997; 64: 389	91

**Publication 6:** *Amyloid and non-amyloid carpal tunnel syndrome in chronic renal dialysis patients.*

Chary-Valckenaere I, Kessler M, Mainard D, Schertz L, Chanliau J, Champigneulle J, Pourel J, Gaucher A, Netter P. *Journal of Rheumatology*, 1998;25:1164-70 92

**4. Travaux en cours et perspectives: 99****Publication 7:** *High-resolution MRI of the carpal tunnel in chronic dialysis patients: correlation with clinicosurgical and pathological findings.*

Chary-Valckenaere I, Kessler M, Blum A, Mainard D, Schertz L, Chanliau J, Champigneulle J, Pourel J, Netter P. Article soumis. 101

**Chapitre IV. Le hyaluronate: marqueur biologique de l'arthropathie du dialysé: 115****1. Généralités sur le hyaluronate 116**

1.1. Structure 116

1.2. Métabolisme 116

1.3. Propriétés biologiques et physico-chimiques 117

1.4. Variations physiologiques 118

1.5. Variations physiopathologiques 118

1.5.1. *Elévation des taux par défaut de clairance* 118

1.5.2. *Elévation des taux par augmentation de synthèse* 119

**2. Hyaluronate et arthropathie du dialysé. Données actuelles 121****3. Etude expérimentale et perspectives****Hyaluronate: marqueur de l'arthropathie du dialysé ? 122****Publication 8:** *Elevated circulating levels of hyaluronan in long-term hemodialysis patients with dialysis associated arthropathy : what does it mean ?*

Jouzeau JY, Chary-Valckenaere I, Cao-Huu T, Fener P, Netter P, Gaucher A, Kessler M. *Nephron* 1993; 64: 498-499. 124

**Conclusion ..... 126**

**Références bibliographiques ..... 129**



## Liste des Figures et Tableaux

pages

### Figures:

Figure 1: Radiographie d'épaule: amylose	18
Figure 2: Radiographie de hanche : amylose	19
Figure 3: Radiographie de rachis cervical: spondylarthropathie	21
Figure 4: IRM de la charnière cervico-occipitale	22
Figure 5: ostéodystrophie rénale: intrications aluminium et PTH	32
Figure 6: MEB: formation d'aluminosilicates in vivo	51
Figure 7: Principe de fonctionnement de la microsonde ionique	63
Figure 8: image bidimensionnelle de la synoviale de dialysés en microsonde ionique	64
Figure 9: Formation des dépôts amyloïdes	74
Figure 10: Radiographie du poignet: amylose	76
Figure 11: IRM de l'épaule: amylose	78
Figure 12: Microscopie optique: amylose (HES)	80
Figure 13: Microscopie en lumière polarisée: amylose (rouge congo)	81
Figure 14: Microscopie électronique: amylose	82
Figure 15: Immunohistochimie: amylose	83
Figure 16: Chirurgie du canal carpien amyloïde	89

### Tableaux:

Tableau I: Formation d'aluminosilicates chez le rat: protocole expérimental	48
Tableau II: Concentrations d'aluminium et silicium dans la poche à air	49
Tableau III: Recherche d'aluminosilicates en MEB dans la poche à air	50
Tableau IV: Classifications des amyloses humaines	67
Tableau V: Manifestations cliniques liées à l'amylose $\beta$ 2-M	69
Tableau VI: Constituants des dépôts d'amylose $\beta$ 2-M	73

## Liste des abréviations

$\beta$ 2-M: beta-2- microglobuline  
AEF: amyloid enhancing factor  
AGE: advanced glycation end-products  
Al: aluminium  
Fe: fer  
FGF: fibroblast growth factor  
HC: hémorragie cérébrale  
IFN  $\gamma$ : interféron gamma  
Ig: immunoglobuline  
IGF-1: insulin growth factor 1  
IL-1: interleukine 1  
IL-6: interleukine 6  
IRM: imagerie par résonance magnétique nucléaire  
Kda: kilodaltons  
LTB4: leucotriènes B4  
MEB: microscopie électronique à balayage  
PDGF: platelet-derived growth factor  
PGE2: prostaglandine E2  
PM: poids moléculaire  
PR: polyarthrite rhumatoïde  
PTH: parathormone  
RAGE: receptor for advanced glycation end-products  
SAA: serum amyloid A  
SAP: serum amyloid protein  
Si: silicium  
TGF  $\beta$ : transforming growth factor beta  
TIMP: tissular inhibitor of metalloproteases  
TNF $\alpha$ : Tumor necrosis factor alpha

## Préambule

Si une thèse, habituellement signée d'un seul nom, peut apparaître comme le produit d'une démarche individuelle, il est certain que tout travail de recherche repose sur une démarche d'équipe.

Ainsi, les résultats que nous présentons dans cet ouvrage sont le fruit du travail de l'ensemble du personnel du Laboratoire de Physiopathologie et Pharmacologie Articulaires, UMR 7561 CNRS, mené sous la direction de Messieurs les Professeurs P. Netter, A. Gaucher, J Pourel, P. Gillet et de Monsieur le Docteur JY. Jouzeau.

Ces travaux ont également bénéficié de l'étroite collaboration des praticiens des Services de Néphrologie du CHU de Nancy (Pr M. Kessler), du Centre de Dialyse du CHU de Nancy (Dr T. Cao-Huu), de l'Association Lorraine de Traitement de l'Insuffisance Rénale (ALTIR; Dr J. Chanliou), du Service de Chirurgie Orthopédique et Traumatologique (Pr JP Delagoutte, Pr D. Mainard), du Service d'Imagerie Guilloz (Pr J. Roland, Pr A. Blum), et du Laboratoire d'Anatomie Pathologique (Pr J. Floquet, Dr J. Champigneulle).

Les résultats présentés ont actuellement fait l'objet de cinq publications, dont un article soumis, et les études cliniques se poursuivent encore à l'heure actuelle, témoignant de l'intérêt de ce thème de recherche.

## Liste des publications et travaux en cours

### 1. Publications dans des revues nationales et internationales avec comité de lecture.

- Elevated circulating levels of hyaluronan in long-term hemodialysis patients with dialysis associated arthropathy : what does it mean ?  
JOUZEAU JY, CHARY-VALCKENAERE I, CAO-HUU T, FENER P, NETTER P, GAUCHER A, KESSLER M.  
Nephron 1993; 64: 498-499 ..... 124
- Articular toxicity of aluminum : possible involvement in dialysis - associated arthropathy.  
CHARY-VALCKENAERE I, JOUZEAU JY, FENER P, NETTER P, PAYAN E, KESSLER M, POUREL J, GAUCHER A.  
Revue du Rhumatisme [Engl Ed] 1994; 61: 55S-59S ..... 34
- Experimental articular toxicity of aluminum compounds *in vivo*.  
CHARY-VALCKENAERE I, FENER P, JOUZEAU JY, NETTER P, PAYAN E, FLOQUET J, BURNEL D, KESSLER M, POUREL J, GAUCHER A.  
Journal of Rheumatology 1994; 21: 1542-1547 ..... 41
- Amyloid and non-amyloid carpal tunnel syndrome in chronic renal dialysis patients.  
CHARY-VALCKENAERE I, KESSLER M, MAINARD D, SCHERTZ L, CHANLIAU J, CHAMPIGNEULLE J, POUREL J, GAUCHER A, NETTER P.  
Journal of Rheumatology, 1998;25:1164-70 ..... 92
- Commentary on the article of Mora *et al*. Aluminum-containing particles in synovial fluid of a patient with normal renal function and chondrocalcinosis.  
JOUZEAU JY, CHARY-VALCKENAERE I, KESSLER M, NETTER P.  
Journal of Clinical Rheumatology 1999; 5: 88-89 ..... 54
- High-resolution MRI of the carpal tunnel in chronic dialysis patients: correlation with clinicosurgical and pathological findings.  
CHARY-VALCKENAERE I, KESSLER M, BLUM A, MAINARD D, SCHERTZ L, CHANLIAU J, CHAMPIGNEULLE J, POUREL J, NETTER P.  
Article soumis ..... 101

## 2. Communications dans des Congrès nationaux et internationaux avec actes publiés

- Toxicité articulaire expérimentale de différents composés d'aluminium : implications possibles dans l'arthropathie des dialysés.

CHARY-VALCKENAERE I, FENER P, NETTER P, JOUZEAU JY, PAYAN E, FLOQUET J, BURNEL D, KESSLER M, POUREL J, GAUCHER A.

Communication aux 3ème Journées "d'Actualités en Physiopathologie et Pharmacologie Articulaires", Nancy, 12-13/5/1993, Masson Ed.: 220-224.

- Syndrome du canal carpien chez l'hémodialysé chronique: amyloïde ou idiopathique ? A propos d'une série de 38 canaux carpiens opérés.

SCHERTZ L, KESSLER M, MAINARD D, CHANLIAU J, NETTER P, CHAMPIGNEULLE J, POUREL J, CHARY-VALCKENAERE I.

Journées Nationales de la Société Française de Rhumatologie, Aix les Bains, 29-31/05/1997

Revue du Rhumatisme (Ed. Fr.) 1997; 64: 389.-----91

- Carpal tunnel syndrome in patients receiving long-term hemodialysis: role of amyloid deposits.

CHARY-VALCKENAERE I, KESSLER M, MAINARD D, CHANLIAU J, CHAMPIGNEULLE J, SCHERTZ L, POUREL J, NETTER P.

American College of Rheumatology, 61st National Scientific Meeting, Washington, 7-12/11/1997

Arthritis and Rheumatism 1997; 40: S48.-----92

## **INTRODUCTION GENERALE**

## Introduction

Les techniques de dialyse ont constitué un progrès fondamental, permettant la survie des patients en insuffisance rénale chronique. Cependant, la survie prolongée des insuffisants rénaux s'accompagne inéluctablement du développement d'un certain nombre de complications, en particulier ostéoarticulaires (142, 193, 214), qui compromettent le pronostic fonctionnel et altèrent la qualité de vie de ces patients.

Les complications musculo-squelettiques sont fréquentes, souvent à l'origine de douleurs chroniques et d'une limitation de la capacité fonctionnelle. Au cours de ces dernières décennies, un nouveau syndrome rhumatologique s'est individualisé, en dehors des complications osseuses et des arthropathies infectieuses ou microcristallines. Cette entité regroupe, sous le terme "d'arthropathie des dialysés", des manifestations cliniques (syndromes canaux, arthralgies), et radiologiques (géodes osseuses, destructions articulaires et vertébrales), qui l'ont rapidement placée au premier rang des facteurs limitant la qualité de vie des insuffisants rénaux dialysés.

Les mécanismes physiopathologiques de ces lésions sont encore loin d'être élucidés, mais les principaux facteurs étiologiques sont actuellement bien connus. La mise en évidence d'amylose constituée de  $\beta$ 2-microglobuline ( $\beta$ 2-M) au sein des lésions articulaires (14, 19, 90), a conduit certains auteurs à individualiser cette atteinte particulière (94). Cependant, l'amylose  $\beta$ 2-microglobulinique n'est pas le facteur exclusif de l'arthropathie chez le dialysé, et de nombreux autres éléments interviennent dans la genèse des lésions (vieillesse des tissus, glycations protéiques, hyperparathyroïdie, dépôts microcristallins, intoxication aluminique, surcharge en fer, stratégie de dialyse...)

La toxicité bien établie de l'aluminium dans le domaine neurologique (4), hématologique (183), et osseux (216), nous a conduit à rechercher cet effet toxique sur les tissus articulaires. Nous nous sommes attachés à définir le type de réponse obtenue dans deux modèles expérimentaux (injection intra-articulaire dans le genou de lapin et modèle de la poche à air chez le rat), avec des composés aluminiques de solubilité différente. L'aluminium pouvant être moins toxique sous une forme complexée (102), nous avons également

démontré, *in vivo*, chez le rat, la possibilité de former des composés insolubles d'aluminosilicates.

Le syndrome du canal carpien est la manifestation rhumatologique la plus fréquente chez le dialysé (20, 133, 142). Depuis la mise en évidence par Assenat *et al.* (14) de dépôts amyloïdes dans le canal carpien de patients hémodialysés, la survenue de cette complication leur a été attribuée. Bien que des dépôts systémiques aient été rapportés (174), l'amylose  $\beta$ 2-microglobulinique ( $\beta$ 2-M) est caractérisée par sa localisation préférentiellement ostéoarticulaire (19). Celle-ci pourrait être expliquée par la grande affinité de la  $\beta$ 2-M pour le collagène et les glycosaminoglycannes (112). Les relations entre amylose  $\beta$ 2-M et arthropathie des dialysés restent controversées. Si le diagnostic d'amylose  $\beta$ 2-M peut être posé avec une quasi-certitude en présence de géodes osseuses caractéristiques sur les radiographies de poignets, hanches ou épaules (113, 211), l'existence d'un syndrome du canal carpien clinique est également souvent considérée comme un témoin d'amylose  $\beta$ 2-M (133, 211). Cependant, celle-ci n'est pas mise en évidence de façon constante dans le canal carpien des dialysés.

Nous nous sommes donc proposés de définir la proportion de canaux carpiens avec dépôts d'amylose  $\beta$ 2-M détectés par une recherche histologique systématique et approfondie dans une population de dialysés opérés pour syndrome du canal carpien. Nous avons également tenté de déterminer les facteurs spécifiques aux canaux carpiens avec et sans amylose. Dans le même temps, nous avons entrepris une étude prospective visant à apprécier l'existence de dépôts amyloïdes dans le canal carpien par IRM haute résolution pré-opératoire avec corrélations clinico-chirurgicales.

Enfin, dans le but d'établir un diagnostic précoce et de rechercher des facteurs prédictifs de l'évolutivité de l'affection, nous étudions la valeur du hyaluronate comme marqueur de l'arthropathie du dialysé.



**CHAPITRE I.**  
**L'ARTHROPATHIE DES DIALYSES.**

# Chapitre I: L'arthropathie des dialysés.

## 1. Historique. Concept de l'arthropathie du dialysé.

Bien que la première tentative d'utilisation d'un rein artificiel date de 1944, le traitement de l'insuffisance rénale chronique par hémodialyse ne s'est développé qu'à partir de 1960 grâce à l'utilisation de shunts artério-veineux mis au point par Schribner. S'il est actuellement possible d'assurer une survie prolongée aux patients insuffisants rénaux chroniques, autrefois voués à une mort certaine, les progrès de l'hémodialyse sont à l'origine de complications sévères, liées en partie à l'insuffisance rénale chronique prolongée, mais aussi aux techniques d'épuration extra-rénales elles-mêmes.

Dès 1975, Warren (214) signale la fréquence anormalement élevée du syndrome du canal carpien chez les dialysés, ainsi qu'un certain nombre de caractéristiques qui le distingue du syndrome du canal carpien habituel dans la population générale. Dans le même temps, d'autres complications ostéoarticulaires sont rapportées avec une fréquence élevée chez les dialysés: infections ostéo-articulaires, ostéopathies métaboliques, pathologies microcristallines, nécroses osseuses ischémiques... (153). En 1980, Assenat *et al.* (14) mettent en évidence la présence de dépôts amyloïdes dans la synoviale et les gaines tendineuses de sept patients hémodialysés opérés d'un syndrome du canal carpien. En 1985, Gejyo *et al.* (90) identifient la protéine à l'origine de ces dépôts: il s'agit de la beta-2-microglobuline ( $\beta$ 2-M), protéine de 12 kDa, correspondant à la chaîne légère de la molécule HLA de classe I. Dès lors, s'individualise un ensemble de manifestations ostéo-articulaires qui semblent être en relation avec la présence de dépôts d'amylose  $\beta$ 2-M. En réalité, deux entités aux frontières mal définies sont décrites: d'une part " l'amylose des dialysés " (19, 94), caractérisée par la synovite amyloïde de définition anatomopathologique, et d'autre part " l'arthropathie des dialysés ", concept plus vaste, qui inclut des critères cliniques et radiologiques, dont l'amylose ne constituerait qu'un des facteurs étiologiques (20, 35, 133, 215).

Les mécanismes de l'amyloïdogénèse et la responsabilité des dépôts amyloïdes dans la symptomatologie clinique et la survenue des destructions articulaires et vertébrales restent controversées (23, 53, 215)

## **2. Formes cliniques et radiologiques**

### **2. 1. Syndromes canaux**

Le syndrome du canal carpien, résultant de l'atteinte du nerf médian au poignet, est actuellement reconnu comme la complication la plus fréquente de la dialyse chronique. Dans l'étude de Warren *et al.* (214), 23 des 36 patients ayant accepté de répondre à un questionnaire systématique, présentaient des signes fonctionnels évocateurs de syndrome du canal carpien. La prévalence de ce syndrome dans la population de dialysés varie énormément d'une étude à l'autre: de 6% pour Naito *et al.* (165) à 65% pour Bardin *et al.* (21). Ces variations peuvent en partie s'expliquer par des différences dans le recrutement des patients (envoi de questionnaires, volontaires, étude transversale systématique...) et également dans les critères utilisés pour le diagnostic du syndrome du canal carpien (questionnaire, examen clinique, étude électromyographique, canaux carpiens opérés...). Malgré tous ces biais possibles, Schwartz *et al.* (195) montrent, dès 1984, une corrélation positive entre la prévalence du syndrome du canal carpien et la durée de dialyse. Cette relation est par la suite confirmée par la plupart des auteurs (19, 133, 203). Ainsi, selon Spertini *et al.* (203), le syndrome du canal carpien est rencontré chez 5% des hémodialysés avant 4 ans de dialyse et 26% au delà. Il est intéressant de noter que cette prévalence de 5% avant 4 ans de dialyse est proche de celle rapportée dans la population générale (62). Seules les études portant sur des patients avec une durée moyenne de dialyse courte, ne retrouvent pas cette corrélation (157, 202). Selon Bardin (21), plus de 60% des dialysés sont concernés au delà de 10 ans de dialyse, et 100% au delà de 20 ans.

La symptomatologie clinique reste classique avec une recrudescence nocturne et parfois lors des séances de dialyse, certains patients constatant l'effet inverse (144). L'atteinte bilatérale est fréquente, et la disparition de la prédominance féminine caractéristique du syndrome du canal carpien chez le dialysé (6, 133, 195, 214).

Le traitement est essentiellement chirurgical, les infiltrations locales de dérivés cortisonés étant peu efficaces et aggravant le risque de ruptures tendineuses et d'infection chez ces patients fragiles (22). Comme le remarque la plupart des auteurs, le taux de récurrence postopératoire (environ 3%) semble plus fréquent que dans le syndrome du canal carpien

idiopathique (133, 144). En dehors du risque élevé de récurrence, le pronostic du syndrome du canal carpien reste réservé chez le dialysé (125, 133), même si certaines études font état de plus de deux tiers de bons résultats à court terme (6, 165). Les douleurs et les paresthésies disparaissent en quelques jours après l'intervention; la récupération sensitive et surtout motrice est plus longue (2 à 4 semaines) et plus aléatoire, en raison de l'importance de l'amyotrophie et de la durée d'évolution des symptômes avant l'intervention.

L'atteinte du nerf cubital au poignet (syndrome de Guyon) ou au coude est plus rare. Elle relève également d'un traitement chirurgical. Borgatti *et al.* (31) ont ainsi rapporté l'observation d'un patient présentant une amylose ostéoarticulaire diffuse, et une compression du nerf cubital dans le canal de Guyon par de volumineux dépôts amyloïdes.

## **2. 2. Atteintes articulaires**

Les arthralgies sont un symptôme fréquent chez le dialysé. Leur fréquence augmente avec la durée de dialyse, pour concerner plus de 50% des patients dialysés au-delà de 10 ans (21). Elles débutent le plus souvent aux épaules (37% des cas), où elles se bilatéralisent rapidement, puis touchent les poignets, mains, hanches et genoux. Souvent chroniques, elles adoptent un rythme inflammatoire avec des recrudescences nocturnes, et peuvent être exacerbées lors des séances de dialyse.

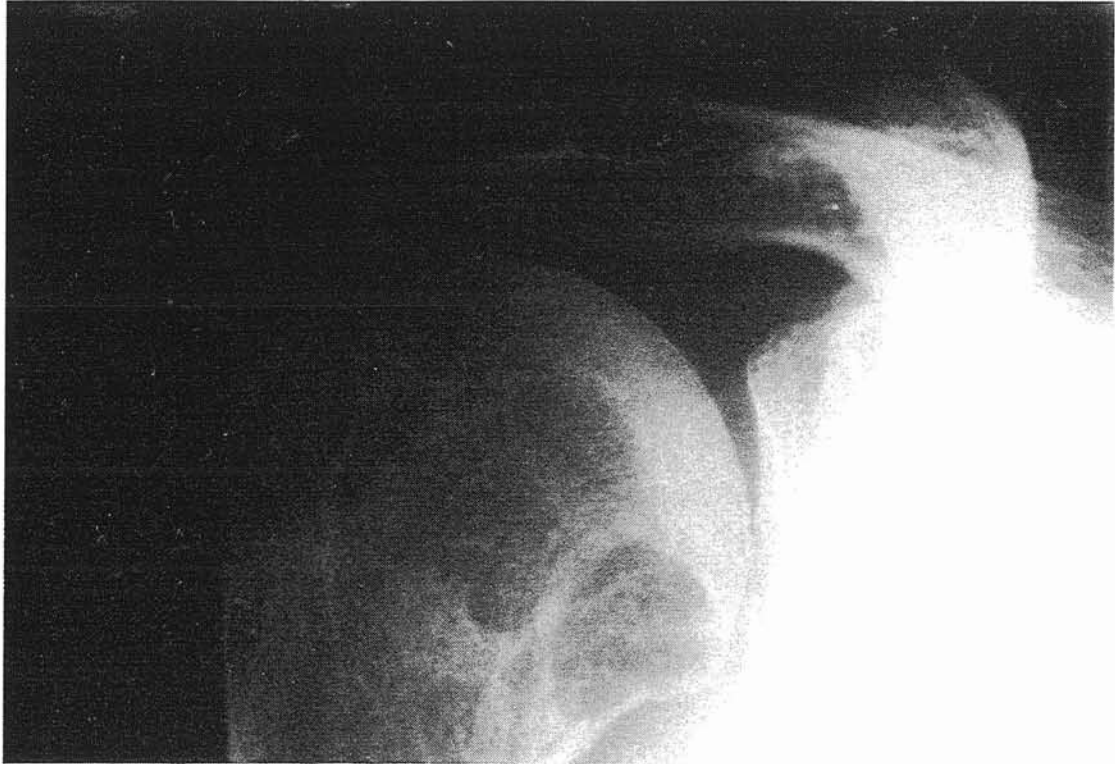
L'examen clinique note une limitation progressive de la mobilité articulaire et, parfois un gonflement de l'articulation. Celui-ci peut être le témoin d'un épanchement articulaire ou bien d'une synovite amyloïde. Les épanchements sont volontiers abondants et récidivants. La survenue de kystes poplités peut être un des modes de révélation d'une arthropathie.

La ponction d'un épanchement ramène un liquide de type mécanique, pauvre en cellules, souvent de nature hémorragique (193). Des hémarthroses à répétition peuvent aussi s'observer chez ces malades, favorisées par l'héparinothérapie itérative nécessaire lors des séances de dialyse. La mise en culture du liquide articulaire et la recherche de microcristaux doivent être systématiques, pour éliminer une arthrite septique ou microcristalline, en raison de la fréquence de ces complications (215). La présence d'amylose dans le liquide articulaire a pu être objectivée par l'utilisation de colorations spécifiques (79, 163).

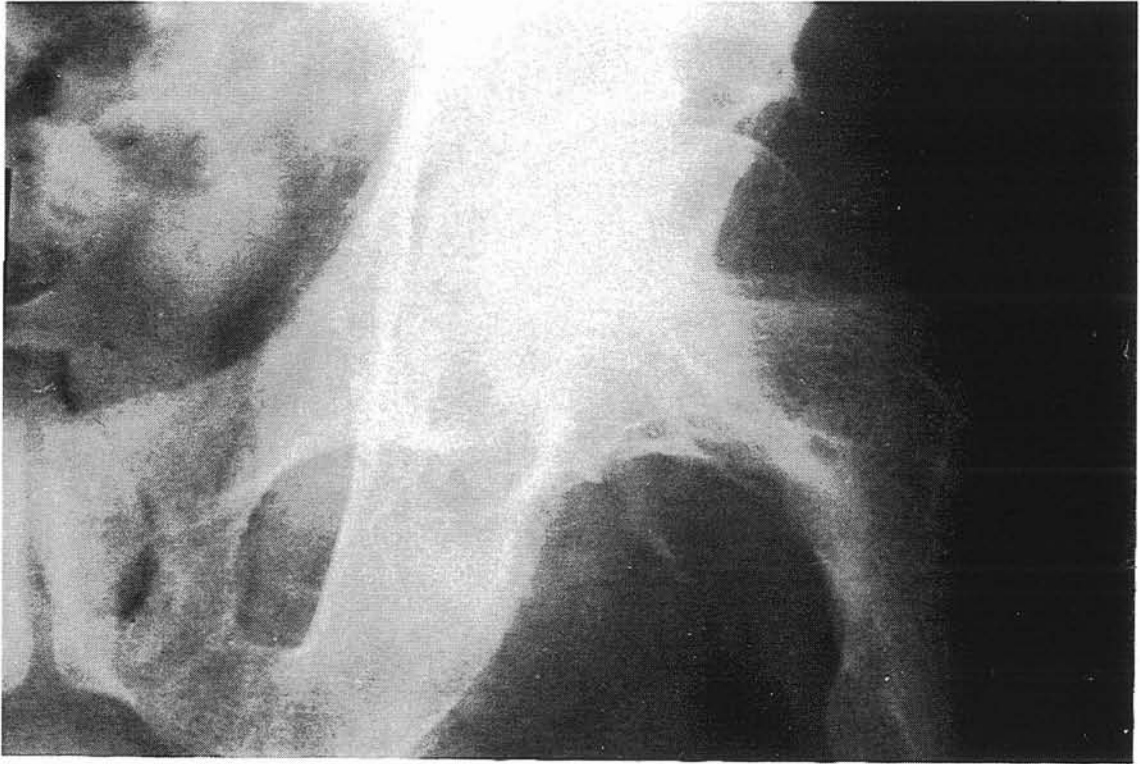
La biopsie synoviale montre le plus souvent une synovite amyloïde (19), qui épargne habituellement les vaisseaux. L'évolution se fait progressivement vers une polyarthropathie inflammatoire, déformante et enraidissante, à l'origine d'une impotence fonctionnelle souvent importante, parfois complète.

Les petites articulations des doigts peuvent être touchées, l'atteinte prédominant alors sur les articulations interphalangiennes distales et trapézo-métacarpiennes. L'atteinte articulaire est souvent associée à une atteinte des gaines tendineuses, en particulier à la main. Les ténosynovites chroniques des fléchisseurs sont les plus fréquentes. Elles sont à l'origine de phénomènes de doigt à ressaut, de douleurs chroniques et d'une limitation de la flexion et/ou de l'extension complète des doigts. Ces lésions, en association avec l'atteinte des petites articulations, aboutissent à la main "amyloïde" ou "amylosique" (13, 19, 25). Ces ténosynovites peuvent également être responsables d'un syndrome du canal carpien auquel elles sont fréquemment associées (22, 133). La rupture tendineuse est une complication rare de la ténosynovite chronique mais de mauvais pronostic chez le dialysé (8).

L'importance des lésions radiologiques n'est pas corrélée à l'intensité des signes cliniques. Elles consistent en des géodes et des érosions osseuses sous-chondrales, qui précèdent l'apparition du pincement articulaire (*Figures 1 et 2*). Ces lésions sont d'aggravation rapide sur des clichés successifs et aboutissent à des arthropathies destructrices caractérisées par l'absence d'ostéophytose (20, 21, 22). Des critères radiologiques précis ont été définis pour les distinguer de lésions d'ostéodystrophie rénale ou d'arthrose (211). Ces critères définissent en réalité des lésions évocatrices de dépôts amyloïdes (voir chapitre III.1. Amylose  $\beta$ 2-M), comme cela a pu être démontré par l'étude anatomopathologique (19, 133, 211).



*Figure 1: Radiographie d'épaule de face: volumineuses géodes de la tête humérale, bien cernées par un liseré de sclérose ; rupture du cintre omo-huméral avec ascension de la tête humérale et pincement gléno-huméral modéré.*



*Figure 2: Radiographie de hanche de face: volumineuses géodes encochant les contours de la tête et du col fémoraux avec déformation en “ trognon de pomme ”, géodes supra-acétabulaire externe et du fond de l’acetabulum communiquant avec l’espace articulaire*

## 2. 3. Atteintes vertébrales

Des douleurs rachidiennes, le plus souvent cervicales, sont fréquentes chez les dialysés de longue date. Les cervicalgies chroniques s'accompagnent, d'irradiations radiculaires brachiales, ou de névralgie d'Arnold (133). Les atteintes lombaires, plus rares, sont surtout responsables de lombalgies chroniques et d'une raideur rachidienne. Il peut exister des signes d'irritation radiculaire dans le territoire sciatique ou crural. Les atteintes dorsales sont exceptionnelles. Cette symptomatologie est en relation avec de véritables spondylarthropathies destructrices, décrites initialement par Kuntz *et al.* (142), qui en ont défini les critères radiologiques: affaissement de l'espace discal, érosions et géodes au sein des plateaux vertébraux adjacents et absence d'ostéophytose marquée (*Figure 3*). Ces lésions destructrices sont fréquemment multifocales, mais prédominent sur le rachis cervical bas (28, 178). Selon Bardin *et al.* (21), 43% des hémodialysés depuis plus de 10 ans présentent une atteinte du rachis cervical.

La charnière cervico-occipitale peut être également touchée (133, 192). Rousselin *et al.* (192), ont mis en évidence, par une IRM systématique, une atteinte cervico-occipitale avec volumineux dépôts péri-odontoïdiens chez 7 patients parmi 25 hémodialysés depuis plus de 10 ans. D'autres auteurs (99) ont mis en évidence des modifications radiologiques de la charnière cervico-occipitale chez 9 patients asymptomatiques parmi 23 dialysés depuis plus de 10 ans (38%) Dans un cas, il existait une fracture de l'odontoïde associée à des troubles neurologiques. Ces localisations peuvent être en effet à l'origine de compression médullaire (*Figure 4*) (132). L'aspect des lésions et la rapidité de leur développement peuvent en imposer pour une spondylodiscite infectieuse (188), mais l'imagerie (scanner ou IRM) permet d'éliminer ce diagnostic en l'absence d'abcès péri-lésionnel (80). Souvent de découverte radiologique fortuite, elles sont rarement compressives en raison du respect habituel de l'arc postérieur, malgré le risque d'effondrement des corps vertébraux qui s'accompagne d'une angulation et d'une instabilité manifeste (152).

A noter dans la littérature, une observation exceptionnelle rapportant une compression médullaire par dépôt extra-dural d'amylose  $\beta$ 2-M chez un dialysé (5).





*Figure 3: Radiographie du rachis cervical de profil: spondylarthropathies destructrices étagées en C5-C6 et C6-C7.*



*Figure 4: IRM de la charnière cervico-occipitale, pondération T1 après injection de gadolinium: érosions de l'odontoïde et volumineuse tuméfaction en regard de l'articulation atloïdo-odontoïdienne, de signal intermédiaire avec rehaussement hétérogène après gadolinium, refoulant vers l'arrière le cordon médullaire.*

### **3. Etiopathogénie**

#### **3. 1. Amylose $\beta$ 2-M**

La majorité des manifestations articulaires des dialysés semble associée à la présence d'un nouveau type d'amylose, dont la prévalence augmente avec la durée de survie (94). Assenat *et al.* (14) furent les premiers à rapporter la présence d'amylose tissulaire chez les hémodialysés. Ces dépôts ont rapidement été associés à la présence d'un syndrome du canal carpien et de géodes osseuses dans le cadre d'une synovite amyloïde (19). La présence d'amylose a également pu être démontrée dans le cadre de certaines spondylarthropathies destructrices (178, 188, 197) et, plus récemment, dans les arthropathies des petites articulations des doigts (7), rapportées plus généralement à des lésions liées à l'hyperparathyroïdie secondaire (13).

La présence d'une synovite amyloïde est associée à la production locale de cytokines pro-inflammatoires de type IL-1 et IL-6, pouvant stimuler la prolifération de cellules synoviales *in vitro* (158). La prédilection de l'amylose pour les structures ostéoarticulaires pourrait s'expliquer par l'intervention d'autres facteurs (lésions articulaires préexistantes, vieillissement prématuré des tissus, intoxication aluminique...). Certains auteurs ont suggéré l'intervention de cytokines systémiques, en particulier de l'IL-1 dont les taux s'élèvent chez le dialysé, dans la genèse des dépôts amyloïdes. Cela paraît toutefois moins vraisemblable qu'une stimulation locale. L'existence de dépôts amyloïdes asymptomatiques apparaît plus en faveur d'une thésaurismose de  $\beta$ 2-M (221). L'accumulation de  $\beta$ 2-M consécutive à l'insuffisance rénale puis à l'hémodialyse est probablement un facteur indispensable mais cependant non suffisant au développement de l'arthropathie amyloïde, puisque les taux circulants de  $\beta$ 2-M ne sont pas prédictifs de cette complication (91). D'autres facteurs étiologiques ont été proposés comme l'aluminium (169), le fer (48), qui sont retrouvés à des taux anormalement élevés dans les articulations des dialysés, ou encore l'hyperparathyroïdie dont les lésions ostéoarticulaires pourraient faire le lit de l'amylose (89).

### **3. 2. Durée de dialyse**

Il est maintenant clairement démontré que l'incidence des complications articulaires augmente avec la durée de dialyse, qu'il s'agisse du syndrome du canal carpien (133, 195, 211) ou des arthropathies destructrices (20, 133, 211).

### **3. 3. Age et facteurs mécaniques**

Le rôle prépondérant de l'âge dans la survenue des lésions d'arthropathie des dialysés a été mis en évidence par Gaucher *et al.* (88). En effet, à durée de dialyse égale, les patients porteurs d'une arthropathie sont significativement plus âgés que ceux qui en sont indemnes. De même pour l'amylose, il existe une corrélation inverse entre la période d'hémodialyse asymptomatique et l'âge de mise en dialyse (38). Ainsi, chez les patients débutant leur hémodialyse vers l'âge de 20 ans, les symptômes articulaires peuvent être attendus après 16 ans de dialyse; chez ceux qui commencent vers 50 ans, ils surviennent après 8 années de traitement, et chez les patients urémiques de 80 ans et plus, les symptômes peuvent survenir immédiatement, avant même la mise en dialyse.

Il est tout à fait remarquable que les lésions concernent, soit des articulations portantes (hanches, genou, rachis cervical bas), soit des articulations très mobiles (épaules). Ces localisations particulières suggèrent une place très importante des contraintes mécaniques dans la survenue des lésions. Cette hypothèse a pu être démontrée récemment par une recherche post-mortem systématique d'atteintes disco-vertébrales (178). De plus, certaines localisations articulaires sont superposables à celles de l'arthrose, semblant favorisées par le vieillissement prématuré des tissus.

### **3. 4. Hyperparathyroïdie et microcristaux**

L'hyperparathyroïdie est la conséquence de l'hypocalcémie par carence en 1,25(OH)2D3. Elle est responsable d'une résorption osseuse sous-chondrale et sous-périostée, conduisant à l'ostéoarthropathie érosive azotémique (193). Sa fréquence chez les sujets porteurs de spondylarthropathie destructrice est en faveur de son rôle dans ce type d'atteinte (3, 133, 215). Mac Carthy *et al.* (155) ont décrit trois cas de lésions disco-vertébrales survenant dans un contexte d'hyperparathyroïdie sévère, dont deux se sont améliorés après

parathyroïdectomie. Sa responsabilité paraît également très vraisemblable dans l'atteinte des petites articulations des doigts (133, 215), mais elle ne semble jouer aucun rôle dans la survenue du syndrome du canal carpien et de l'arthropathie des membres (133, 211). Cependant, des arthralgies peuvent, dans certains cas, être liées à l'hyperparathyroïdie secondaire, ou aux dépôts calciques périarticulaires.

La présence de cristaux d'apatite dans le disque intervertébral de patients porteurs de spondylarthropathie destructrice (142), ainsi que dans les structures articulaires de localisations arthropathiques (193), a suggéré un rôle pathogène de ces cristaux. Les dépôts apatitiques sont fréquents chez les hémodialysés (20, 133) en raison de l'augmentation du produit phosphocalcique et de l'hyperparathyroïdie secondaire. Ils peuvent s'accompagner d'épanchements articulaires de type mécanique. *In vitro*, ils peuvent stimuler la sécrétion de collagénase et de protéases neutres par des cellules synoviales en culture (154).

D'autres cristaux ont pu être mis en évidence avec une grande fréquence dans les lésions articulaires chez le dialysé, en particulier: oxalate de calcium et pyrophosphate de calcium dihydraté (127). Il faut rappeler qu'à l'inverse de la goutte, la chondrocalcinose articulaire est rarement observée chez le dialysé.

Ces dépôts cristallins sont cependant mis en évidence de façon inconstante au sein des lésions ostéoarticulaires (178), et leur intervention reste discutée.

### **3. 5. Intoxication aluminique**

Son rôle sera détaillé dans le chapitre II.

### **3. 6. Surcharge en fer**

Selon Cary *et al.* (48), les dépôts articulaires d'hémosidérine résultant de transfusions multiples et/ou d'hémarthroses à répétition, pourraient être à l'origine d'arthropathies périphériques. Des interactions entre aluminium et fer sont possibles car ils partagent la même protéine porteuse: la transferrine.

### 3. 7. Membranes de dialyse

Aucun type de dialyse ne protège de la survenue d'une arthropathie. Le débat continue concernant le rôle éventuellement protecteur de certaines membranes hautement biocompatibles et perméables par rapport aux membranes traditionnelles. Chanard (51), dès 1989, signale une incidence plus faible du syndrome du canal carpien chez les patients dialysés sur membranes synthétiques de type AN69, par rapport à ceux dialysés sur membrane cellulosique (cuprophane). Les études ultérieures mettent en évidence une incidence moindre ou une apparition plus tardive des manifestations rhumatologiques chez les patients dialysés sur membranes synthétiques sauf, de façon étonnante, en ce qui concerne le syndrome du canal carpien (133, 211). Chez les hémodialysés, les douleurs articulaires seraient souvent améliorées par le remplacement des membranes de dialyse de cuprophane par des membranes à plus forte perméabilité, ou par la mise en dialyse péritonéale (22). Deux hypothèses sont avancées pour expliquer cet effet de membrane:

- les membranes synthétiques, hautement perméables permettent une élimination plus importante de la  $\beta_2$ -M.
- les membranes synthétiques sont biocompatibles et limitent les réactions immunologiques dues au contact de la membrane avec les éléments sanguins.

Ces mécanismes pourraient être complémentaires, mais les études réalisées *in vitro* et *in vivo* apportent leur lot de résultats contradictoires. Ainsi, le potentiel de différents types de membranes à induire l'activation du complément ou la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires est variable. Les endotoxines bactériennes, présentes dans certains circuits de dialyse malgré les précautions prise pour assurer la stérilité des bains, semblent intervenir. Ainsi, la production d'IL-1 peut augmenter pendant la séance de dialyse en l'absence d'activation du complément par la membrane (137). Néanmoins, la responsabilité de taux élevés de cytokines circulantes dans la genèse des lésions ostéoarticulaires reste à démontrer.

Enfin, il faut rappeler que tous les modes de dialyse sont concernés par la survenue d'une arthropathie, en particulier la dialyse péritonéale, avec une fréquence similaire à celle observée chez les hémodialysés (57, 119). D'autre part, chez les sujets âgés insuffisants rénaux chroniques, des lésions d'arthropathie amyloïde ont été rapportées avant même la mise en dialyse (136, 222).

## **4. Principes thérapeutiques**

### **4. 1. Traitement préventif**

En prévention, il paraît logique, dans la mesure du possible, d'agir sur les facteurs étiologiques décrits au chapitre I.3. Ainsi, l'utilisation de membranes hautement perméables et biocompatibles, en augmentant la clairance de la  $\beta_2$ -M et diminuant l'activation du complément, semble retarder l'apparition de l'arthropathie (211). De même, l'amélioration de la purification du dialysat permet de réduire l'activation du complément par les LPS et les endotoxines bactériennes. La surveillance stricte de la teneur en aluminium des bains de dialyse et l'utilisation d'alternatives aux gels d'alumine comme chélateurs du phosphore a sans aucun doute permis de voir régresser les complications sévères de la surcharge aluminique. Après parathyroïdectomie, on peut parfois observer une stabilisation, voire une régression des lésions vertébrales de spondylarthropathies destructrices.

Ces mesures préventives ont, semble-t-il, permis de réduire l'incidence de survenue des complications ostéoarticulaire chez le dialysé. Cependant, selon certains auteurs, elles ne permettraient en réalité que de retarder l'apparition des lésions (133, 134).

### **4. 2. Traitement curatif ?**

Lorsque l'arthropathie est installée, les mêmes mesures sont applicables afin de ralentir l'évolution de l'affection. Le traitement symptomatique reste souvent limité aux antalgiques simples. Les injections locales de corticoïdes sont peu utilisées en raison du risque septique et de leur efficacité transitoire. La corticothérapie générale à faible posologie semble efficace sur la symptomatologie fonctionnelle, mais cette prescription doit rester prudente en raison du pronostic cardiovasculaire (20).

La chirurgie locale est indiquée dans les lésions évoluées (remplacements prothétiques des grosses et moyennes articulations, cures de canal carpien), associée à une prise en charge kinésithérapique et ergothérapique permettant de lutter contre le handicap fonctionnel.

Enfin, la transplantation rénale assure le plus souvent la régression de la symptomatologie fonctionnelle et la stabilisation des lésions radiologiques, alors que les dépôts amyloïdes persistent (23, 135). L'amélioration clinique observée chez les patients greffés pourrait être en partie liée à la consommation de traitements immunosuppresseurs et de corticoïdes par voie générale.

**CHAPITRE II.**  
**ETUDE EXPERIMENTALE**  
**RÔLE DE L'ALUMINIUM ET DES**  
**ALUMINOSILICATES**



# **Chapitre II: Etude experimentale**

## **Rôle de l'aluminium et des aluminosilicates**

### **1.Toxicité de l'aluminium**

#### **1.1. Considérations thérapeutiques**

L'amélioration de la qualité des dialysats et des techniques de dialyse, ainsi que l'utilisation de carbonate de calcium comme chélateurs du phosphore en remplacement des gels d'aluminium, ont considérablement réduit la fréquence et la sévérité des complications liées à l'intoxication aluminique chez le dialysé (60). Cependant, certains patients, en raison d'une intolérance digestive ou d'une hypercalcémie, ne peuvent bénéficier de chélateurs contenant du calcium, et doivent toujours recourir aux gels d'aluminium. De plus, l'absorption de l'aluminium à partir d'hydroxyde d'aluminium pourrait être augmentée par la prise concomitante de carbonate de calcium (146). Chez l'hémodialysé, les taux sériques d'aluminium post-dialyse sont supérieurs aux taux pré-dialyse (147). Une surveillance de la teneur en aluminium sérique, à défaut de biopsie osseuse, reste nécessaire. Le test à la desferrioxamine permet de mieux apprécier la surcharge tissulaire. Quand elle est installée, l'intoxication aluminique doit être traitée rapidement par administration de desferrioxamine qui complexe l'aluminium et permet son élimination (18). Les protocoles de traitement ne sont cependant pas standardisés, ni dénués d'effets secondaires potentiellement graves (60). De plus, il semble que les altérations morphologiques liées aux dépôts d'aluminium, appréciées par la présence d'inclusions argyrophiles dans le tissu nerveux et les organes périphériques, ne régressent ni à l'arrêt de l'intoxication, ni après transplantation rénale (190).

#### **1. 2. Toxicité neurologique**

L'encéphalopathie des dialysés, liée à l'accumulation d'aluminium dans le cortex, a été décrite par Alfrey *et al.* dès 1976 (4). L'origine de l'intoxication est souvent mixte: bains de dialyse et gels d'aluminium utilisés comme chélateurs du phosphore. Les lésions

histologiques se rapprochent de celles observées dans la maladie d'Alzheimer (perte neuronale, plaques séniles et dégénérescence neurofibrillaire). Actuellement, la teneur en aluminium dans les bains de dialyse et la prise de chélateurs du phosphore étant bien contrôlées, cette complication, d'issue parfois fatale, est devenue rarissime, et surtout le fait d'intoxications aiguës (9, 210).

Le rôle de l'aluminium dans la physiopathologie de la maladie d'Alzheimer et dans la démence sénile, reste actuellement en suspens (9). Il semble, en effet, que la prévalence de la maladie d'Alzheimer soit plus élevée chez les populations consommant une eau de boisson riche en aluminium. De plus, des dépôts aluminiques et d'aluminosilicates ont été mis en évidence au sein des plaques séniles (184), étroitement associés à des dépôts d'amylose A4. L'analogie avec l'association aluminium et amylose  $\beta$ 2-M rencontrée chez l'hémodialysé laisse supposer que cette relation n'est pas fortuite (170). Expérimentalement, l'intoxication aluminique reproduit chez l'animal les lésions neuronales de la maladie d'Alzheimer. Evans (75) a montré, *in vitro*, la capacité des aluminosilicates à induire la synthèse de radicaux libres par les cellules gliales. Mais, plus récemment, il a été suggéré que le silicium aurait un rôle protecteur vis à vis de la toxicité aluminique, en complexant l'aluminium (69), et en inversant les mécanismes de dégénérescence neurofibrillaire induits par l'aluminium (77).

Le rôle de l'aluminium dans la sclérose latérale amyotrophique épidémique de l'île de Guam et dans certaines formes de la maladie de Parkinson semble établi.

### **1.3. Toxicité hématologique**

L'aluminium est responsable chez l'hémodialysé d'une anémie microcytaire, hypochrome, normosidérémique, qui répond à l'utilisation de dialysats à faible teneur en aluminium (183). Cette toxicité érythrocytaire passe par l'inhibition directe de la synthèse de l'hémoglobine et des voies de synthèse de l'hème (2) et elle est favorisée par l'affinité de la transferrine pour l'aluminium (46).

Plus récemment, il a été suggéré que l'aluminium pouvait être en partie responsable du prurit urémique, dont l'étiologie est probablement multifactorielle, chez le dialysé (86).

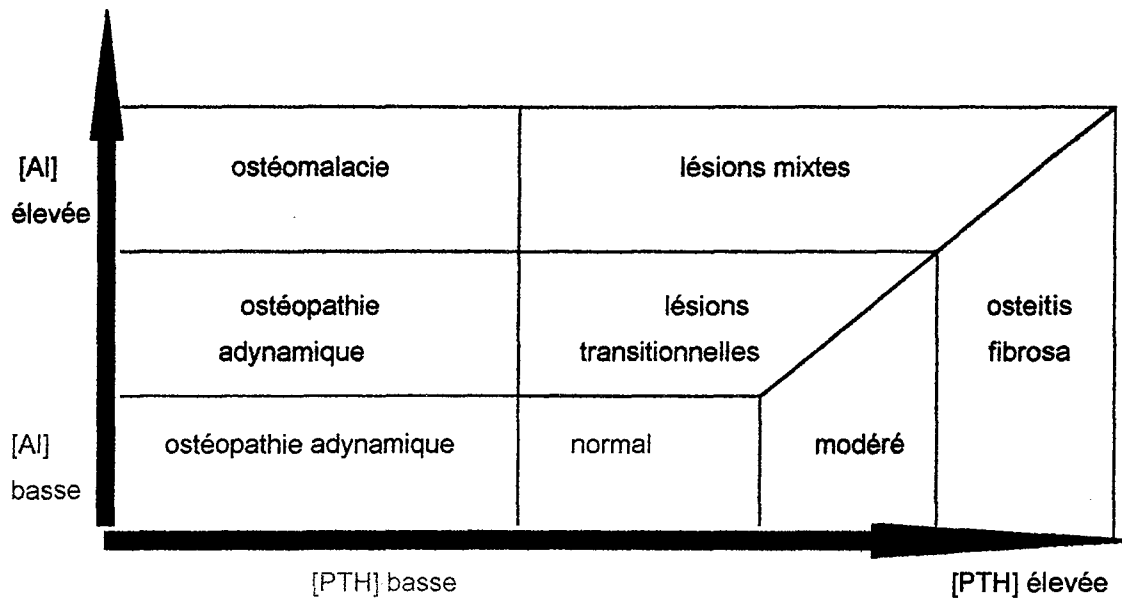
## 1. 4. Toxicité osseuse

Les manifestations cliniques en rapport avec la toxicité osseuse de l'aluminium peuvent inclure des douleurs osseuses diffuses et sévères, une faiblesse musculaire et des fractures spontanées (60, 216). L'ostéodystrophie rénale (24) et le rôle de la surcharge aluminique dans sa pathogénie sont connus de longue date (201). Cette entité peut en réalité être divisée en deux sous-groupes de lésions très différentes par leurs aspects histologiques et physiopathologiques: les lésions osseuses à haut niveau de remodelage de l'hyperparathyroïdie secondaire, et l'ostéopathie aluminique, elle-même subdivisée en ostéomalacie aluminique et ostéopathie adynamique ou os aplastique, caractérisées par la diminution de la formation osseuse (24, 63). Les intrications entre ces pathologies sont résumées sur la *figure 5*.

Ainsi un taux élevé de parathormone (PTH) protège de l'ostéopathie aluminique (90, 216), ce qui est démontré par l'aggravation de la surcharge aluminique osseuse après parathyroïdectomie (201). L'ostéopathie aluminique, elle-même, s'accompagne d'une hypoparathyroïdie par surcharge aluminique des glandes parathyroïdes (64, 216). Une étude récente, portant sur 1429 biopsies iliaques systématiques réalisées entre 1985 et 1994, fait état d'une fréquence constante de l'ostéopathie adynamique, qui se maintient à environ 15% des patients, alors que l'accumulation osseuse d'aluminium, appréciée par coloration histochimique a baissé de 36 à 4% des patients (17). Ceci suppose l'intervention d'autres facteurs inhibant la formation et la minéralisation osseuse chez le dialysé, comme la déplétion phosphorée et les faibles concentrations de calcitriol (45). L'ostéomalacie aluminique est liée à un contenu osseux en aluminium très élevé (>70µg/g), mais les lésions histologiques sont surtout en relation avec la localisation particulière des dépôts d'aluminium au niveau du front de calcification et en bordure des surfaces osseuses inactives (63). Le défaut de minéralisation est en partie dû à l'inhibition directe et réversible de la formation des cristaux d'hydroxyapatite par les dépôts aluminiques en surface du front de calcification (altération des "cross-links" entre molécules de collagène, formation de réseaux hydrophobes à la surface de l'ostéoïde par précipitation d'hydroxyde et de phosphate d'aluminium (90).

Mais ce sont les effets toxiques de l'aluminium sur les ostéoblastes qui portent la responsabilité majeure des lésions ostéomalaciques. La diminution de la formation osseuse dans les deux types d'ostéopathie aluminique résulte d'une diminution du nombre d'ostéoblastes associée à une inhibition de leur activité. Cet effet peut être indirect, médié par

l'hypoparathyroïdie, mais l'aluminium lui-même peut diminuer l'activité phosphatase alcaline et la synthèse de collagène d'ostéoblastes en culture primaire (145). Paradoxalement, il a été démontré que l'aluminium peut stimuler la formation osseuse *in vivo* (187) et peut posséder un effet mitogène sur certaines lignées ostéoblastiques en culture (145). L'explication de ces effets opposés réside dans la variété des composés utilisés (aluminium libre ou complexé), et dans la différence de susceptibilité à l'aluminium des préostéoblastes et des ostéoblastes matures (acquisition de récepteurs à la transferrine permettant l'entrée de l'aluminium dans la cellule). Le rôle de facteurs systémiques ou locaux modulant la toxicité de l'aluminium sur l'ostéoblaste n'est pas à négliger (PTH, 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, facteurs de croissance osseuse comme l'IGF-1...).



*Figure 5: Ostéodystrophie rénale: lésions osseuses observées en fonction des taux respectifs de PTH et aluminium*

Selon Goodman WG et Leite Duarte ME (90).

## 1. 5. Toxicité articulaire

Si l'ostéopathie aluminique est bien connue, le rôle de l'intoxication aluminique dans la genèse des lésions articulaires de l'hémodialysé demeure discuté. Cependant, elle est présente chez 60% des hémodialysés chroniques porteurs d'arthropathie des grosses articulations et de spondylarthropathie destructrice (21). En dehors de la synovite amyloïde, les arthralgies ont pu être rapportées à l'intoxication aluminique dans quelques cas où elles ont rapidement disparu après traitement par desferrioxamine (121).

Netter *et al.* ont montré que les concentrations en aluminium du cartilage articulaire et de la synoviale des patients hémodialysés porteurs d'arthropathie, sont significativement supérieures à celles de patients hémodialysés sans arthropathie (168, 169). De plus, des aluminosilicates ont été mis en évidence dans le liquide synovial de patients souffrant d'atteintes articulaires (171), ainsi que dans le cartilage articulaire et le tissu synovial amyloïde (55). Ces mêmes auteurs ont également démontré la survenue d'une inflammation synoviale après injection de phosphate d'aluminium dans le genou de lapin (65).

L'aluminium peut être responsable de destructions articulaires en stimulant la production de radicaux superoxydes par les polynucléaires neutrophiles (204). Il est également démontré que le chlorure d'aluminium stimule la peroxydation des lipides membranaires Fe-dépendante (104) et est responsable de la production d'IL-1 par des cellules fibroblastiques en culture. Ensuite, une synergie entre aluminium et  $\beta$ 2-M est envisageable. En effet, les modifications conduisant au dépôts de  $\beta$ 2-M modifiée peuvent être provoquées *in vitro* par des radicaux libres.

Articular toxicity of aluminum : possible involvement in dialysis - associated arthropathy.

CHARY-VALCKENAERE I, JOUZEAU JY, FENER P, NETTER P,  
PAYAN E, KESSLER M, POUREL J, GAUCHER A.

Revue du Rhumatisme [Engl Ed.] 1994; 61: 55S-59S

## ARTICULAR TOXICITY OF ALUMINUM: POSSIBLE INVOLVEMENT IN DIALYSIS-ASSOCIATED ARTHROPATHY\*

I. CHARY-VALCKENAERE, J-Y. JOUZEAU, P. FENER, P. NETTER, E. PAYAN, M. KESSLER,  
J. POUREL, A. GAUCHER

---

**Key words:** Aluminum - Joint - Dialysis -  
Associated arthropathy - Experimental models.

---

---

**Mots clés :** Aluminium - Articulation -  
Arthropathie des hémodialysés - Modèles expé-  
rimentaux.

---

Long-term survival of patients with chronic renal failure treated with regular hemodialysis is accompanied with many complications including dialysis-associated arthropathy (DAA) and renal osteodystrophy [1,2]. Apart from renal osteodystrophy which strongly correlates with aluminum intoxication and secondary hyperparathyroidism, aluminum accumulates in joints of hemodialysed patients taking aluminum compounds such as phosphate-binders [3], with higher concentrations in cartilage and synovial tissue of those developing DAA [4]. Furthermore, amorphous aluminosilicate complexes have been found in the synovial fluid [5], articular cartilage and amyloid synovial tissue [6] of hemodialyzed patients with DAA. Experimental findings also support the hypothesis that aluminum is toxic to articular structures in the rabbit [7]. In vitro studies suggest that aluminum compounds can stimulate the production of free radicals by human neutrophils [8] or accelerate the peroxidation of membrane lipids [9].

To assess whether aluminum may damage articular tissues and contribute to joint disorders in patients with aluminum overload such as DAA patients, we investigated the effect of a single injection

of aluminum derivatives into rabbit knee and in the synovial-like air pouch cavity in rat. Administered compounds were chosen according to several criteria: frequent use as phosphate-binder amongst aluminum derivatives and insolubility in biological fluids for aluminum hydroxide, chemical stability and high diffusibility in experimental models for aluminum lactate, all solutions being brought to a neutral pH prior to administration. Histological and laboratory studies were carried out in rabbits whereas the air pouch model was used to study the release of eicosanoids.

### MATERIALS AND METHODS

#### Chemicals

Aluminum hydroxide was obtained from the Centre de Recherche et d'Etudes sur la Géologie de l'Uranium, (CREGU, Vandoeuvre-les-Nancy, France). Aluminum lactate was purchased from Prolabo, (Paris, France), and sodium lactate from Sigma Chimie, (l'Isle d'Abeau Chesnes, France). Soluble forms were dissolved and aluminum hydroxide was suspended in normal saline; the pH was adjusted to 7.3 with sodium hydroxide and preparations were heated 20 minutes at 121°C in a steam sterilizer before administration.

#### Animals

Animals were supplied by Charles River France (Cléon, France). They were kept in rooms with a 12h/12h day-night light cycle, and were given free access to standard food pellets and tap water, according to current standards concerning the confinement of laboratory animals. New-Zealand White male rabbits (n=18), weighing 2 to 2,5 kg and maintained in individual cages, were used to study the joint-lesions induced by an intra-articular injection. Female Wistar rats (n=74), weighing 170 to 180 g and maintained in groups of 4 to 5 in solid bottomed plastic cages, were used in the air pouch model experiment.

---

\*Departments of Rheumatology, Pharmacology, and Nephrology, and URA CNRS 1288, CHU de Nancy-Brabois, Vandoeuvre-lès-Nancy, France.

Address for reprint request: Pr P. Netter, URA CNRS 1288, BP 184, 54505 VANDOEUVRE-LÈS-NANCY, France. Tel.: (33) 83.59.26.22. Fax.: (16) 83.59.26.21.

This work was done in the URA CNRS 1288 and was supported by the District of Nancy, the Conseil Général de Meurthe et Moselle and the INSERM.

### Joint toxicity of aluminum after a single injection into rabbit knees

Animals were anesthetized with an intramuscular injection of 0.3 ml/kg of acepromazine maleate acid (Sanofi Santé Animale, La Ballastière, France) and ketamine hydrochloride (Rhône Mérieux, Lyon, France) mixture (1:3, v/v). Four rabbits per group were given, under sterile conditions, an intra-articular injection of 0.25 ml of either sterile saline, sodium lactate or aluminum lactate (300 mg/ml, pH 7.3) into their right knee. Two days later, animals were sacrificed by an overdose (0.2 ml/kg) of intravenous thiopental (Rhône-Mérieux, Lyon, France).

#### Aluminum concentrations in liver, kidney and synovium

Two days after intra-articular injection of aluminum derivatives or normal saline into rabbit knee, aluminum levels were determined by argon plasma emission spectrometry (Spectra Span V, Beckman) in liver, kidney and controlateral synovium. Tissue samples were previously treated with nitric acid. Detection limit of the method was 1 $\mu$ g/l.

#### Cell counts in articular washout fluid

The joint fluids (injected and controlateral knees) were collected as follows: 1 ml of sterile saline solution was injected into each knee, and 0.5 ml was withdrawn into EDTA (10 mM final concentration) for cell counts in an automatic counter (Technicon H1<sup>SM</sup>).

#### Tissue collection and histological examination

Thereafter, the joints were opened and synovial tissue, articular tibial and femoral cartilage were excised and immediately fixed in Bouin's fluid. Then, the tissues were decalcified during 24 hours in a RDO solution (Eurobio, Paris, France), sagittally cut, dehydrated and embedded in paraffin. Representative 10  $\mu$ m thick sections, which included the whole joint, were mounted on glass slides and histologically examined by one of us, who was blind to the treatment, after a standard hematoxylin-eosin and an alcian blue staining. The following changes were qualitatively assessed: vascular congestion, neoangiogenesis, synovial villous hypertrophy, number of synovial lining cell layers, infiltration by inflammatory cells and cartilage loss. Non-injected knees served as controls.

#### Inflammatory effect of aluminum compounds in the air-pouch model

Air pouches were produced by the method of Edwards et al [10]. Briefly, 20 ml of sterile air was injected under light ether anesthesia into the subcutaneous tissue of the back. The injection, but this time of 10 ml, was repeated at 3 and 6 days to keep the cavity inflated. The response to intra-pouch injection of 5 ml of sterile saline, aluminum lactate, aluminum hydroxide or sodium lactate solution (10 mg/ml) was monitored at 0, 1, 3, 6, 10, 24, 48 and 72 h by irrigating the cavity with 5 ml of normal saline and withdrawing 4 ml for assays. In each group, 6 animals were long-time studied and 2 animals were sacrificed at each time to evaluate the volume of spontaneous exudate in the cavity.

#### Leukocyte count

A 1 ml sample of pouch-washout fluid was removed immediately and collected into EDTA (10 mM final concentration) for further leukocyte count in an automatic counter (Technicon H1<sup>SM</sup>).

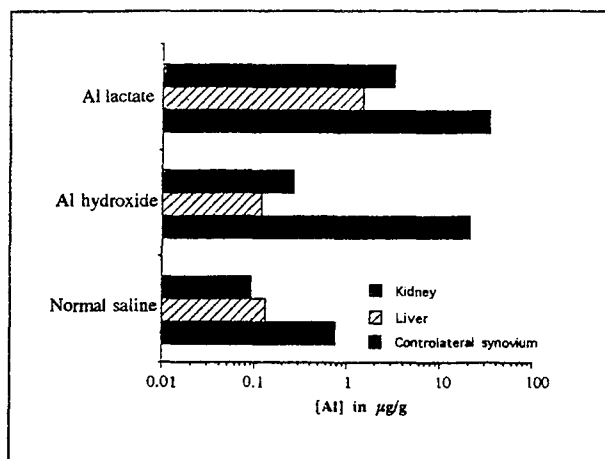


Fig. 1. — Aluminum distribution in controls and after a single intra-articular injection of aluminum compounds into one rabbit knee. Animals received a single intra-articular injection of 0.25 ml of normal saline, aluminum hydroxide or aluminum lactate (300 mg/ml) in the right knee. Aluminum was evaluated 48 h after injection by argon plasma emission spectrometry. Each value is the mean of 2 measurements.

#### Assay for eicosanoids

The remainder of the pouch fluid was centrifuged (1200 g for 5 min) and a 500  $\mu$ l sample of the supernatant was stored at -80 °C until assay. PGE2 and LTB4 levels were assayed by a competitive enzyme immunoassay marketed by Euromedex (Schiltigheim, France). Results were expressed as %B/B0 and the standard curve ranged from 3,9 to 500 ng/l for PGE2 and from 7,8 to 1000 ng/l for LTB4.

#### Statistical analysis

Data points were indicative of mean  $\pm$  standard deviation (SD). Statistical analysis was accomplished by non parametric tests (Kruskall-Wallis and Wilcoxon).

## RESULTS

### Injection of aluminum derivatives into rabbit knee

Two days after their intra-articular administration, aluminum compounds were sequestered within the joint, as reflected by the high aluminum levels in the synovium (Fig. 1). Nonetheless, aluminum hydroxide may remain within synovial fluid since aluminum levels were not different from controls in liver and kidney, whereas high levels encountered with aluminum lactate strongly suggest its rapid diffusion in the body. In addition, an hemorrhagic joint effusion was observed only after aluminum lactate injection. Examination of joint washout fluid confirmed that the effusion was hemorrhagic in nature (high red blood cells and platelets counts) and was not attributable to lactate alone. White blood cells (WBC) counts were significantly increased (Fig. 2) and leukocytes were



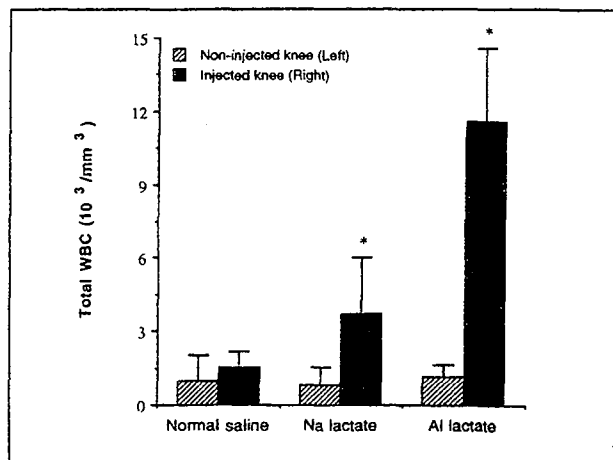


Fig. 2. — WBC counts in joint washout fluid in controls and after a single injection of aluminum lactate into one rabbit knee. Rabbits received a single intra-articular injection of 0.25 ml of normal saline solution, sodium lactate or aluminum lactate (300 mg/ml) in the right knee. Cell count was done in joint washout fluids 48 h after injection. Each value is the mean of at least 4 measurements  $\pm$  SD. \* :  $p < 0.05$  (Wilcoxon test in comparison with uninjected knee).

mainly of the polymorphonuclear lineage (55 to 80 %), thus suggesting that aluminum lactate induced a joint effusion of the inflammatory type.

Synovitis was observed macroscopically in aluminum lactate injected knees and was confirmed by histological examination. On the one hand, congestion and edema were marked and diffuse in subsynovial tissue. On the other hand, infiltration by inflammatory cells was mild and sparse in the synovium, consisting mainly of monocyte-macrophage cell type. A decreased staining of superficial articular cartilage was observed after alcian blue staining. This suggested a loss in proteoglycan content that was not observed after the injection of normal saline, sodium lactate, or in non-injected knees.

#### Injection of aluminum derivatives in the rat air pouch model

WBC and eicosanoids were monitored in the exudate of rat air pouch from 1 to 72 h after a single injection of aluminum lactate, aluminum hydroxide, sodium lactate or normal saline. Total volume in the pouch cavity depended, as usual with this model, both on the injected solution and on the delay for fluid collection. However, in view of the little changes observed between groups, results were expressed as numbers of cells per ml equally to numbers of cells per cavity.

The injection of aluminum hydroxide resulted in a significant increase in numbers of WBC in pouch-washout fluid. Polymorphonuclear leukocytes were predominant in the exudate and peaked from 3 to 24

h after aluminum hydroxide injection (Table I). PGE2 and LTB4 levels were little modified (Table II).

In contrast, aluminum lactate injection did not increase the leukocyte count, and even induced a transient leukopenia in comparison with controls (Table I). Eicosanoid synthesis was stimulated by such compound, since PGE2 peaked from 3 to 10 h after its injection and was significantly higher than in controls or in rats given sodium lactate or aluminum hydroxide (Table II). LTB4 levels also peaked significantly at 6 h though differences between groups remained weaker than with PGE2.

#### DISCUSSION

During the past two decades aluminum intoxication has been a major cause of morbidity and mortality in dialysis patients responsible for myoclonic encephalopathy, microcytic anemia and osteomalacia [11]. Nevertheless, its role in the arthropathy of dialysis patients and its relation to amyloid  $\beta$ 2-microglobulin ( $\beta$ 2M) deposits remain unclear when compared with its well established toxicity to the central nervous system. In uremic patients, aluminum overload mainly results from intestinal absorption due to oral intake of large amounts of aluminum-containing phosphate-binders for long periods of time. Nowadays, aluminum hydroxide is less frequently used and calcium salts other than citrate have been proposed as a less toxic alternative [12]. Experimental studies have showed pro-inflammatory properties of aluminum in vivo as reflected by the ability of aluminum phosphate to induce acute synovitis and ultrastructural cartilaginous lesions in rabbit joints [7]. The persistence of aluminum in some tissues after aluminum lactate infusion in rabbit suggests that it may bind to cellular components of various cell types [13] although the mechanisms by which aluminum accumulates within synovial cells remains unknown. The accompanying anion which is able to modulate the cellular uptake of biologically active aluminum [14] may influence its delivery to physiological binders within joints, transferrin being a putative efficient system due to its receptor-mediated transport into cells.

In the present work, we showed that a single intra-articular injection of aluminum lactate into rabbit knees resulted in severe acute synovitis in the injected knee with congestion of vascular structures, neoangiogenesis and peri-vascular edema. Surprisingly, a sparse subsynovial infiltration by monocyte-macrophages lineage and some proliferation of the synovial lining cell layer were observed. These lesions resembled those reported in experimental models of arthritis in rabbits [15] and

TABLE I. — Changes in total WBC counts in the exudate of rat air pouch.

Time (h)	Normal saline (10 <sup>6</sup> /l)	Sodium lactate (10 <sup>6</sup> /l)	Al lactate (10 <sup>6</sup> /l)	Al hydroxide (10 <sup>6</sup> /l)
0	147 ± 121	105 ± 26	67 ± 21	67 ± 22
1	81 ± 32	90 ± 13	54 ± 31	195 ± 120
3	165 ± 46	122 ± 28	75 ± 33	410 ± 85*
6	150 ± 131	158 ± 39	89 ± 51	435 ± 306*
10	280 ± 157	260 ± 104	55 ± 21	690 ± 526
24	354 ± 233	178 ± 85	93 ± 27**	1148 ± 801*
48	232 ± 231	115 ± 57	67 ± 59	144 ± 54
72	45 ± 13	46 ± 13	72 ± 50	72 ± 43

Animals were injected with 5 ml of normal saline, sodium lactate, aluminum lactate or aluminum hydroxide solutions (10 mg/ml) into the pouch cavity. The inflammatory time-response was monitored by irrigating the cavity with 5 ml normal saline and withdrawing 4 ml for assays. Data were expressed as mean ± SD of white blood cells, each value being representative of more than 6 rats. Statistical analysis was performed using the non parametric Kruskal-Wallis test: \*p < 0.05; \*\*p < 0.005, in comparison with controls.

TABLE II. — Changes in eicosanoids levels in the exudate or rat air pouch.

Time (h)		Normal saline	Sodium lactate	Al lactate	Al hydroxide
0	PGE2 ng/l	156.0 ± 377.0	24.4 ± 12.8	14.2 ± 8.0	29.2 ± 25.8
	LTB4 ng/l	10.0 ± 4.2	7.8 ± 1.4	10.0 ± 5.2	11.6 ± 9.2
1	PGE2 ng/l	57.4 ± 43.9	41.6 ± 44.9	100.3 ± 73.0	46.2 ± 57.4
	LTB4 ng/l	11.0 ± 4.0	9.4 ± 4.2	10.7 ± 4.5	15.0 ± 5.1
3	PGE2 ng/l	123.2 ± 102.3	115.6 ± 102.4	699.0 ± 220.1**	99.30 ± 83.8
	LTB4 ng/l	22.5 ± 14.2	10.5 ± 4.0	33.9 ± 22.0	25.7 ± 19.0
6	PGE2 ng/l	125.1 ± 75.0	131.6 ± 84.4	563.8 ± 219.3**	254.8 ± 211.8
	LTB4 ng/l	16.6 ± 1.7	11.7 ± 2.1	41.1 ± 16.9**	17.8 ± 11.8
10	PGE2 ng/l	67.8 ± 73.2	33.0 ± 17.6	870.7 ± 264.3**	286.1 ± 216.7*
	LTB4 ng/l	17.0 ± 8.6	8.9 ± 1.9*	13.9 ± 7.1	15.5 ± 6.3
24	PGE2 ng/l	16.6 ± 8.0	15.6 ± 4.8	102.0 ± 71.0	48.3 ± 77.1
	LTB4 ng/l	10.0 ± 2.8	8.0 ± 2.8	9.2 ± 3.5	22.5 ± 9.0*
48	PGE2 ng/l	15.6 ± 9.2	11.8 ± 3.0	92.7 ± 61.3	14.0 ± 6.8
	LTB4 ng/l	16.6 ± 5.0	9.8 ± 3.0	8.6 ± 3.3	9.8 ± 2.0

Animals were injected with 5 ml of normal saline, sodium lactate, aluminum lactate or aluminum hydroxide solutions (10 mg/ml) into the pouch cavity. The inflammatory time-response was monitored by irrigating the cavity with 5 ml normal saline and withdrawing 4 ml for assays. Data were expressed as mean ± SD, each value being representative of more than 6 rats. Statistical analysis was performed using the non parametric Kruskal-Wallis test: \*p < 0.05; \*\*p < 0.005, in comparison with controls.

shared similarities with some histological observations made in patients with DAA during articular effusion.

Pouches formed by the subcutaneous injection of air into the dorsum of rats develop an inner lining structure with histological features resembling synovial tissue and provide a suitable space for the induction of inflammation [10]. In the present work, aluminum hydroxide significantly increased the number of leukocytes in the cavity although the response remained weaker than that obtained with crystals [16] and was rather close to that observed with artificial ceramic beads [17]. In contrast to that was obtained with inflammatory crystals [16] and ceramics [17], eicosanoids levels were little affected by such injection suggesting that aluminum hydroxide may provoke leukocyte migration due to its particle form. In similar experimental conditions, aluminum lactate triggered the production of

PGE2 in the exudate to reach levels comparable to those reported after injection of crystals [16] whilst LTB4 levels were less modified. In this group, WBC counts even revealed a relative leukopenia when compared with controls, that might reflect the total clearance of aluminum lactate from the cavity and/or its ability to reduce the number of blood borne inflammatory cells entering the air pouch. These independent changes in eicosanoid levels and leukocyte counts in the pouch exudate suggest a moderate activation of leukocytes (low LTB4 production) and their limited contribution to PGE2 synthesis, the later possibly being formed by tissue cells and influenced by the presence of the lining tissue.

Our results suggest that a single exposure of articular and synovial-like structures to aluminum may induce tissular injuries either directly or by stimulating the release of eicosanoids. The highly diffu-

sible aluminum lactate seems very toxic despite some dissimilarities depending probably on the experimental model used. Such inflammatory effect may have some relevance in patients with severe aluminum intoxication who develop joint disorders, the more so that aluminum might promote  $\beta$ 2M amyloidosis as hypothesized from in vitro experiment with synthetic amyloid  $\beta$ -protein in Alzheimer's disease [18].

#### Acknowledgements

The authors thank Pr J. Floquet from the Department of Pathology and Pr D. Burnel from the Department of Chemistry, Université de Nancy I, for their excellent contribution to this study.

**SUMMARY.** — Several factors, in addition to  $\beta$ 2M amyloid may play a role in the pathogenesis of dialysis-associated arthropathy. In order to investigate the articular toxicity of aluminum derivatives in vivo, an insoluble derivative (hydroxide) or a soluble one (lactate) were single-injected into the rabbit knee or the synovial-like air pouch cavity in the rat. Histological and laboratory studies were carried out on rabbits whereas the air pouch model served for studying the release of eicosanoids. Aluminum levels were measured in liver, kidney and synovium of rabbits, 48 h after intra-articular injection. After injection into rabbit knee, aluminum lactate resulted in an hemorrhagic effusion and a congestive synovitis. Perivascular edema was associated with sparse infiltration of inflammatory cells in the synovium. These lesions coexisted with an apparent loss of proteoglycan in superficial zones of tibial and femoral cartilages. Aluminum hydroxide did not affect joint structures. In the air pouch experiment, aluminum hydroxide increased leukocyte count in pouch-washout fluid from 3 to 24 hours after its injection when PGE2 and LTB4 levels were little modified. In contrast, aluminum lactate increased PGE2 levels from 3 to 10 hours after its injection, in the absence of leukocyte migration into the cavity. LTB4 levels peaked less markedly after 6 hours. Aluminum compounds may damage joint structures either directly or through stimulating the secretion of eicosanoids by synovial-like cells. These mechanisms could be of some relevance in hemodialyzed patients with aluminum overload, who develop dialysis-associated arthropathy.

#### REFERENCES

1. Gaucher A., Kessler M., Netter P. — Dialysis-associated arthropathy. *J. Rheumatol.*, 1992, 19, 1659-1662.
2. Kuntz D., Naveau B., Bardin T., Drücke T., Trèves R., Dryll A. — Destructive spondylarthropathy in hemodialyzed patients: a new syndrome. *Arthritis Rheum.*, 1984, 27, 369-375.
3. Netter P., Kessler M., Burnel D., Hutin MF., Delons S., Benoit J., Gaucher A. — Aluminum in the joint tissues of chronic renal failure patients treated with regular hemodialysis and aluminum compounds. *J. Rheumatol.*, 1984, 11, 66-70.
4. Netter P., Kessler M., Gaucher A., Gillet P., Delons S., Burnel D., Benoit J., Got C. — Aluminum and dialysis arthropathy. *Lancet*, 1988, 1, 886-887.
5. Netter P., Fener P., Steinmetz J., Burnel D., Gillet A., Kessler M., Pourel J., Bardin T., Bannwarth B. — Amorphous aluminosilicates in synovial fluid in dialysis-associated arthropathy. *Lancet*, 1991, 1, 554-555.
6. Chaussidon M., Netter P., Kessler M., Membre H., Fener P., Delons S., Albaredo F. — Dialysis-associated arthropathy: Secondary Ion Mass Spectrometry evidence of aluminum silicate in  $\beta$ 2-microglobulin amyloid synovial tissue and articular cartilage. *Nephron*, 1993, 65, 559-563.
7. Delongas J.L., Netter P., Boz P., Faure G., Royer R.J., Gaucher A. — Experimental synovitis induced by aluminum phosphate in rabbits. *Biomedicine*, 1984, 38, 44-48.
8. Stankovic A., Mitrovic DR. — Aluminum salts stimulate luminal-enhanced chemiluminescence production by human neutrophils. *Free Rad. Res. Comm.*, 1991, 14, 47-55.
9. Gutteridge J.M.C., Quinlan G.J., Clark I., Halliwell B. — Aluminum salts accelerate peroxidation of membrane lipids stimulated by iron salts. *Biochim. Biophys. Acta*, 1985, 835, 441-447.
10. Edwards J.C.W., Sedgwick A.D., Willoughby D.A. — The formation of a structure with the features of synovial lining by subcutaneous injection of air: an in-vivo tissue culture system. *J. Pathol.*, 1981, 134, 147-156.
11. Alfrey AC. — Aluminum toxicity in patients with chronic renal failure. *Ther. Drug. Monit.*, 1993, 15, 593-597.
12. Fournier A., Morinière P., Hamida FB., El Esjer N., Shenovda M., Ghazali A., Bouzernidj M., Achard J.M., Westeel F. — Use of alkaline calcium salts as phosphate binder in uremic patients. *Kidney Int.*, 1992, 42, S50-S61.
13. Yokel R.A., Mc Namara P.J. — Elevated aluminum persists in serum and tissues of rabbits after a six-hour infusion. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1989, 99, 133-138.
14. Levine S., Saltzman A., Drakontides A.B. — Parenteral aluminum compounds produce a local toxic myopathy in rats: importance of the anion. *Toxicol. Pathol.*, 1992, 20, 405-415.
15. Edwards J.C.W., Read N., Treftly B., Coulstock J., Henderson B. — Quantitative histological analysis of antigen-induced arthritis in the rabbit. *Br. J. Exp. Pathol.*, 1991, 69, 739-748.
16. Brooks PM., Burton D., Forrest MJ. — Crystal-induced inflammation in the rat subcutaneous air-pouch. *Br. J. Pharmacol.*, 1987, 90, 413-419.
17. Nagase M., Baker D.G., Schumacher H.R. Jr. — Prolonged inflammatory reactions induced by artificial ceramics in the rat air-pouch model. *J. Rheumatol.*, 1988, 15, 1334-1338.
18. Kawahara M., Muramoto K., Kobayashi K., Mori H., Kuroda Y. — Aluminum promotes the aggregation of Alzheimer's amyloid  $\beta$ -protein in vitro. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1994, 198, 531-535.

## **2. Etude expérimentale:**

### **Toxicité articulaire de composés aluminiques *in vivo*.**

#### **2.1. Bases et objectifs.**

Nous nous sommes proposés de préciser expérimentalement l'effet délétère de l'aluminium sur les structures articulaires. Nous avons ainsi exploré la réponse obtenue avec des composés aluminiques de solubilité différente dans deux modèles expérimentaux: injection intra-articulaire dans le genou de lapin pour préciser les lésions histologiques, et injection dans un modèle de poche à air chez le rat pour l'étude de la réponse cellulaire et humorale.

#### **2.2. Résultats actuels**

##### ***2.2.1. Toxicité expérimentale de composés aluminiques *in vivo****

Nous avons tout d'abord pu démontrer que l'effet obtenu dépend de la forme, soluble ou insoluble, du composé aluminique utilisé. L'injection de lactate d'aluminium (soluble), dans le genou de lapin, provoque une synovite avec un épanchement abondant et hémorragique. ceci est à rapprocher des épanchements récidivants souvent hémorragiques survenant chez les patients dialysés. Nous avons également observé que cette injection de lactate d'aluminium entraîne une diminution du contenu en protéoglycannes des zones superficielles du cartilage articulaire du lapin. En revanche, l'injection d'hydroxyde d'aluminium (insoluble), à la même concentration, n'altère ni macroscopiquement, ni microscopiquement les structures articulaires.

Pour approfondir les mécanismes en cause, nous avons mis au point un procédé de "poche à air" chez le rat, modèle de cavité synoviale, obtenu par injections sous-cutanées répétées d'air stérile. Les analogies ultrastructurales et immunologiques de la cavité néoformée avec la membrane synoviale sont remarquables. Nous avons constaté que l'injection d'hydroxyde d'aluminium dans cette cavité provoque un afflux de leucocytes, avec prédominance marquée de polynucléaires neutrophiles ; mais, la production d'eicosanoïdes (PGE2 et LTB4), n'est alors que faiblement stimulée. En revanche, l'injection de lactate d'aluminium est responsable d'une augmentation importante du taux de PGE2 dans l'exsudat de la poche à air (équivalente à celle engendrée par l'injection de microcristaux d'urate de

sodium), contrastant avec l'absence de migration leucocytaire associée. La production de LTB4 est augmentée de façon sensiblement moindre. En l'absence d'hyperleucocytose, nous pouvons supposer que cette production d'eicosanoïdes est due aux cellules pariétales de la cavité.

Experimental articular toxicity of aluminum compounds *in vivo*.

CHARY-VALCKENAERE I, FENER P, JOUZEAU JY, NETTER P, PAYAN E,  
FLOQUET J, BURNEL D, KESSLER M, POUREL J, GAUCHER A.

Journal of Rheumatology 1994;21:1542-7.

# Experimental Articular Toxicity of Aluminum Compounds *In Vivo*

ISABELLE CHARY-VALCKENAERE, PATRICK FENER, JEAN-YVES JOUZEAU, PATRICK NETTER, ELISABETH PAYAN, JEAN FLOQUET, DANIEL BURNEL, MICHÈLE KESSLER, JACQUES POUREL, and ALAIN GAUCHER

**ABSTRACT. Objective.** To investigate the articular toxicity of 2 aluminum derivatives, one insoluble (hydroxide) and/or the other soluble (lactate), after a single administration in rabbits and rats.

**Methods.** First, aluminum levels in plasma, urine, synovial tissue, liver and kidney were measured in saline treated rabbits and 1 to 2 days after an articular injection of 75 mg of aluminum compounds into their right knee. The methodology used was argon plasma emission spectrometry. Thereafter, the joint toxicity of aluminum lactate at the same dose regimen was evaluated for 2 days by a qualitative histological examination of synovial tissue and articular surfaces and a colorimetric assay (1,9-DMB) of patellar articular cartilage proteoglycan content. Secondly, the single injection of 50 mg of aluminum derivatives as an inducer of inflammation was studied in the rat subcutaneous air pouch, a model for a synovial-like space. Leukocytes and eicosanoids levels were measured in pouch washout fluids from 1 to 72 h after injection.

**Results.** After injection into rabbit knee, aluminum lactate largely distributed within the body while hydroxide remained locally. However, aluminum lactate resulted in perivascular edema, sparse infiltration of inflammatory cells in the synovium and a hemorrhagic effusion. Proliferation of the synovial cell layer coexisted with an apparent loss of proteoglycan in superficial zones of tibial and femoral cartilages when patellar proteoglycan content remained unchanged. Aluminum hydroxide did not affect joint structures. In the air pouch experiment, aluminum lactate increased prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) levels from 3 to 10 h after its injection and less intensively leukotriene B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>) levels after 6 h, in the absence of leukocytes migration into the cavity. In contrast, aluminum hydroxide increased leukocytes count in pouch-washout fluid from 3 to 24 h after its injection when PGE<sub>2</sub> and LTB<sub>4</sub> levels were little modified.

**Conclusion.** Although some differences attributable to dissimilarities in the experimental model used, aluminum compounds, even in a soluble form, may damage joint structures either directly or through stimulating the secretion of eicosanoids by synovial-like cells. (*J Rheumatol* 1994;21:1542-7)

#### Key Indexing Terms:

ALUMINUM  
EICOSANOIDS

JOINT

RABBIT  
AIR POUCH  
DIALYSIS-ASSOCIATED ARTHROPATHY

Patients with chronic renal diseases treated with regular hemodialysis appear to suffer many complications including joint disorders. These include carpal tunnel syndrome, arthralgia, juxtaarticular bone cysts, destructive arthropathies of the limbs<sup>1,2</sup> and destructive spondyloarthropathies<sup>3</sup>. These clinical and radiological signs are grouped under the

term dialysis associated arthropathy (DAA). With renal osteodystrophy, they are the main limiting factors for the quality of life of such patients. Although the pathophysiology of DAA is poorly understood, several etiological factors have been proposed in the development of osteoarticular lesions: amyloid deposition consisting of  $\beta_2$  microglobulin ( $\beta_2$ -m)<sup>4-6</sup>, age at the onset of dialysis<sup>7</sup> and duration of dialysis, local mechanical stress<sup>8</sup>, deposits of apatite and calcium pyrophosphate crystals independent of any pseudogout-type arthropathy<sup>3</sup>, secondary hyperparathyroidism<sup>9</sup>, biocompatibility of dialysis membranes although sometimes controversial<sup>10,11</sup>, local production of cytokines such as interleukin 1 and interleukin 6<sup>12</sup>, and finally, iron overload alone or together with aluminum overload<sup>13</sup>.

Apart from renal osteodystrophy which is strongly correlated with aluminum intoxication and secondary hyperparathyroidism, aluminum accumulates in joints of patients receiving hemodialysis taking aluminum compounds as phosphate binders<sup>14,15</sup>. Furthermore, aluminum concentrations in cartilage and synovial tissue are significantly higher in patients with DAA than in those without<sup>16</sup>. Amorphous aluminosilicate complexes have been found in the synovial

---

From the Departments of Rheumatology, Pharmacology, Nephrology and Pathology, URA CNRS 1288, and the Department of Chemistry, Université de Nancy I and CHU de Nancy-Brabois, Vandoeuvre-les-Nancy, France.

Support at the URA CNRS 1288 by assistance from the District of Nancy, the Conseil Général de Meurthe et Moselle and the INSERM.

I. Chary-Valckenaere, MD, Department of Rheumatology; P. Fener, MD, Department of Rheumatology; J-Y. Jouzeau, Pharm Sci D, Department of Pharmacology; P. Netter, MD, Professor of Pharmacology, Department of Pharmacology; E. Payan, Pharm Sci D, Department of Pharmacology; J. Floquet, MD, Professor of Pathology, Department of Pathology; D. Burnel, Professor of Chemistry, Department of Chemistry; M. Kessler, MD, Professor of Nephrology, Department of Nephrology; J. Pourel, MD, Professor of Rheumatology, Department of Rheumatology; A. Gaucher, MD, Professor of Rheumatology, Department of Rheumatology.

Address reprint requests to Pr P. Netter, URA CNRS 1288, Faculté de Médecine, BP 1B4, 54505, Vandoeuvre-les-Nancy, France.

Submitted March 24, 1993 revision accepted January 21, 1994.

fluid (SF)<sup>17</sup>, articular cartilage and amyloid synovial tissue<sup>18</sup> of patients with DAA. Experimental findings also support the idea that aluminum is toxic to articular structures: intra-articular injection of aluminum phosphate in rabbit knees causes synovitis with articular effusion<sup>19</sup>; *in vitro*, aluminum compounds stimulate the production of free radicals by human neutrophils<sup>20</sup> and accelerate the peroxidation of membrane lipids which is stimulated by iron salts<sup>21</sup>.

To assess whether aluminum may damage articular tissues and might contribute to joint disorders in patients with aluminum overload such as patients with DAA, we investigated the effect of a single injection of aluminum derivatives in the rabbit knee and in the synovial-like air pouch cavity in the rat. To prevent any toxicity due to a nonphysiological pH, aluminum suspensions were neutralized prior to administration. Aluminum compounds were chosen according to several criteria: frequent use as phosphate binder and insolubility in biological fluids for aluminum hydroxide, chemical stability and high diffusibility in experimental models for aluminum lactate. In addition, such accompanying anions have never been identified as sequestering aluminum within joint structures, in contrast to our pioneering experiment with aluminum phosphate<sup>19</sup>. Histological and laboratory studies were carried out on rabbits whereas the air pouch model served for studying the release of eicosanoids.

## MATERIALS AND METHODS

**Chemicals.** Aluminum hydroxide was obtained from the Centre de Recherche et d'Etudes sur la Géologie de l'Uranium (CREGU, Vandoeuvre-les-Nancy, France). Aluminum lactate was purchased from Prolabo (Paris, France), and sodium lactate from Sigma Chimie (l'Isle d'Abeau Chesnes, France). Soluble forms were dissolved and aluminum hydroxide was suspended in normal saline; the pH was adjusted to 7.3 with sodium hydroxide and preparations were heated 20 min at 121°C in a steam sterilizer before administration.

**Animals.** Animals were supplied by Charles River France (Cléon, France). They were kept in rooms with a 12 h/12 h day-night light cycle, and were given free access to standard food pellets and tap water, according to current standards concerning the confinement of laboratory animals. New Zealand White male rabbits (n = 18), weighing 2 to 2.5 kg and maintained in individual cages, were used to study both the tissular distribution of aluminum and the joint lesions induced by its intraarticular injection. Female Wistar rats (n = 74), weighing 170 to 180 g and maintained in group of 4 to 5 in solid bottomed plastic cages, were used in the air pouch model experiment.

**Distribution of aluminum after single injection into rabbit knees.** Animals were anesthetized with an intramuscular injection of 0.3 ml/kg of acepromazine maleate acid (Sanofi Santé Animale, La Ballastière, France) and ketamine hydrochloride (Rhône Mérieux, Lyon, France) mixture (1:3, v/v). Two rabbits/group were given an intraarticular injection of 0.25 ml of either sterile saline, aluminum lactate or aluminum hydroxide (300 mg/ml, pH 7.3) into their right knee under sterile conditions. One and 2 days later, the aluminum concentration was determined in plasma, urine, liver and kidney by argon plasma emission spectrometry (Spectra Span V. Beckman). Biological fluids were assayed untreated, whereas tissue samples were previously treated with nitric acid. The assay was in 3 steps: nebulization, volatilization and atomization of samples obtained at very high temperature. The detection limit of the method is 1 µg/l.

**Joint toxicity of aluminum after single injection into rabbit knees.** Animals

were sedated as described above and 4 rabbits/group were given, under sterile conditions, an intraarticular injection of 0.25 ml of either sterile saline, sodium lactate or aluminum lactate (300 mg/ml, pH 7.3) into their right knee. Two days later, animals were euthanized by an overdose (0.2 ml/kg) of intravenous thiopental (Rhône-Mérieux, Lyon, France).

**Cell counts in articular washout fluid.** The joint fluids (injected and controlateral knees) were collected as follows: 1 ml of sterile saline solution was injected into each knee, and 0.5 ml was withdrawn into EDTA (10 mM final concentration) for cell counts in an automatic counter (Technicon H<sub>1</sub><sup>®</sup>).

**Tissue collection and histological examination.** Thereafter, the joints were opened and synovial tissue, articular tibial and femoral cartilage were excised and immediately fixed in Bouin's fluid. Then, the tissues were decalcified for 24 h in a RDO solution (Eurobio, Paris, France), sagittally cut, dehydrated and embedded in paraffin. Representative 10 µm thick sections, which included the whole joint, were mounted on glass slides and histologically examined by one of us, who was blind to the treatment, after a standard hematoxylin-eosin and an alcian blue staining. The following changes were qualitatively assessed: vascular congestion, neoangiogenesis, synovial villous hypertrophy, number of synovial lining cell layers, infiltration by inflammatory cells and cartilage loss. Noninjected knees served as controls. At the same time, the patellas were collected and frozen at -20°C until proteoglycan content assessment.

**Dimethylmethylene blue assay.** Proteoglycan concentrations in rabbit patellas were expressed as chondroitin sulfate equivalent in a colorimetric dimethylmethylene blue (1,9-DMB, Aldrich Chimie, Saint-Quentin Fallavier, France) assay according to Farndale, *et al*<sup>22</sup>. Standard solutions (in the range of 5 to 100 µg/ml) were prepared from a 1 mg/ml solution of shark's-fin chondroitin 6-sulfate (Institut Jacques Boy, Reims, France).

**Inflammatory effect of aluminum compounds in the air pouch model.** Air pouches were produced by the method of Edwards, *et al*<sup>23</sup>. Briefly, 20 ml of sterile air were injected under light ether anesthesia into the subcutaneous tissue of the back. The injection, this time of 10 ml, was repeated at 3 and 6 days to keep the cavity inflated. The response to intrapouch injection of 5 ml of sterile saline, aluminum lactate, aluminum hydroxide or sodium lactate solution (10 mg/ml) was monitored at 0, 1, 3, 6, 10, 24, 48 and 72 h by irrigating the cavity with 5 ml of normal saline and withdrawing 4 ml for assays. In each group, 2 animals were sacrificed at each time to evaluate the volume of spontaneous exudate in the cavity and 6 animals continued to be studied.

**Leukocyte count.** A 1 ml sample of pouch washout fluid was removed immediately and collected into EDTA (10 mM final concentration) for further leukocyte count in an automatic counter (Technicon H1<sup>®</sup>).

**Assay for eicosanoids.** The remainder of the pouch fluid was centrifuged (1200 g for 5 min) and a 500 µl sample of the supernatant was stored at -80°C until assay. Prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) and leukotriene B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>) levels were assayed by a competitive enzyme immunoassay developed by Maclouf, *et al*<sup>24</sup> and marketed by Euromedex (Schiltigheim, France). Results were expressed as %B/B<sub>0</sub> and the standard curve ranged from 3.9 to 500 ng/l for PGE<sub>2</sub> and from 7.8 to 1000 ng/l for LTB<sub>4</sub>.

**Statistical analysis.** Data points were indicative of mean ± standard deviation (SD). Statistical analysis was accomplished by nonparametric tests (Kruskall-Wallis and Wilcoxon).

## RESULTS

**Injection of aluminum compounds into rabbit knees.** In rabbits 24 and 48 h after a single intraarticular injection of 0.25 ml of aluminum lactate or aluminum hydroxide solution (300 mg/ml), the aluminum concentrations reached higher values in serum, urine, liver, kidney and synovial tissue with the lactate, which is more soluble than hydroxide (Table 1).

Aluminum lactate distributed rapidly in serum and organs,

Table 1. Aluminum distribution in controls and after a single intraarticular injection of aluminum compounds into rabbit knees

Injected Compound	Plasma ( $\mu\text{g/l}$ )	Urine ( $\mu\text{g}/24\text{ h}$ )	Synovial Tissue* ( $\mu\text{g/g}$ )	Liver ( $\mu\text{g/g}$ )	Kidney ( $\mu\text{g/g}$ )
Normal saline	32	15	0.76	0.13	0.09
Aluminum hydroxide					
Day 1	36	14	5.5	0.17	0.31
Day 2	29	22	21	0.12	0.26
Aluminum lactate					
Day 1	115	430	34	1.9	2.1
Day 2	130	125	34	1.5	3.2

\* In injected knee.

whereas aluminum levels following injection of the hydroxide form remained similar to physiological values (saline treated animals) except in synovial tissue. Data differed from one animal to another. Obvious synovitis with hemorrhagic joint effusion was observed after injection of the lactate but not of the hydroxide. Aluminum lactate was therefore used for the rest of this experiment.

Cell counts in SF obtained by articular washout confirmed hemorrhagic effusion by increased erythrocyte numbers (Table 2). At the aluminum lactate concentration used, the effusion was inflammatory, with high numbers of total leukocytes, mainly of the polymorphonuclear lineage.

The proteoglycan content of articular cartilage after aluminum lactate injection seemed lower than in the uninjected knee, but the difference was not statistically significant as expected for an acute process.

The injected joints showed severe congestive and hemorrhagic synovitis in the animals given aluminum lactate. Synovitis was confirmed by light microscopy: congestion and edema were marked and diffuse in subsynovial tissue, whereas infiltration by inflammatory cells was mild, consisting mainly of monocyte-macrophages. Alcian blue staining showed a decreased staining of superficial articular cartilage after the aluminum lactate injection. Such lesions were not observed after the injection of normal saline or sodium

lactate, nor in noninjected knees. To sum up, aluminum lactate caused severe congestive and hemorrhagic synovitis with inflammatory effusion and loss of proteoglycans from the superficial articular cartilage.

*Injection of aluminum compounds in the air pouch model in rats.* Eicosanoids and white blood cells (WBC) were monitored in the exudate of rat air pouch after a single injection of aluminum lactate, aluminum hydroxide, sodium lactate or normal saline. In view of small changes in total volume in the pouch depending on which solution was injected, results were expressed as numbers of cells/ml rather than estimated numbers of cells/animal. The injection of aluminum hydroxide resulted in a significant increase in numbers of WBC (Figure 1), particularly polymorphonuclear leukocytes, whereas aluminum lactate injection did not increase the leukocyte count, and even induced significant leukopenia

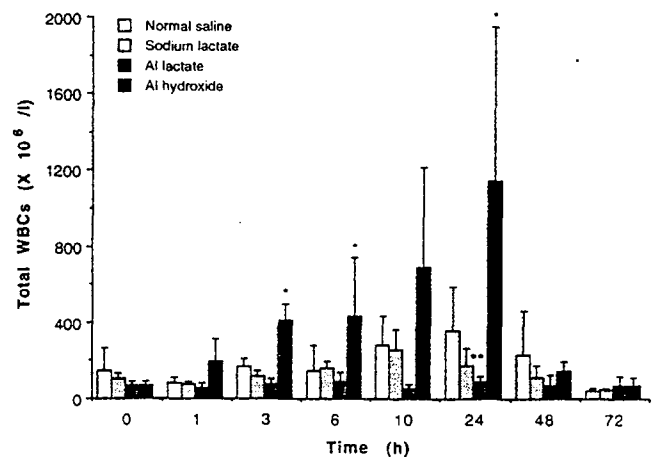


Fig. 1. Changes in total WBC counts in exudate from the rat air pouch. Five milliliters of normal saline, sodium lactate, aluminum lactate or aluminum hydroxide solutions (10 mg/ml) were injected into the air pouch. The inflammatory response was monitored in the exudate by irrigating the cavity with 5 ml normal saline and withdrawing 4 ml for assays. Each bar represents the mean for at least 6 rats  $\pm$  standard deviation, and is expressed as the number of estimated cells per liter. Statistical analysis was with the nonparametric Kruskal-Wallis test; \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.005$ , in comparison with controls.

Table 2. Cell counts in joint washout fluid in controls and after a single intraarticular injection of aluminum lactate into rabbit knees.

Injected Compound	Knee	WBC ( $10^3/\text{mm}^3$ )	PMN (%)	RBC ( $10^3/\text{mm}^3$ )	Platelets ( $10^3/\text{mm}^3$ )
Normal saline	Left	$1.00 \pm 1.04$	$37.8 \pm 5.2$	$13.3 \pm 5.8$	$5 \pm 2.6$
	Right	$1.53 \pm 0.65$	$38.9 \pm 4.9$	$20 \pm 17.3$	$8.8 \pm 2.1$
Sodium lactate	Left	$0.82 \pm 0.73$	$37.5 \pm 6.6$	$12.5 \pm 15$	$4.7 \pm 2.4$
	Right	$3.73 \pm 2.27^*$	$38.7 \pm 6.9$	$10 \pm 0$	$6.3 \pm 1.7$
Aluminum lactate	Left	$1.15 \pm 0.51$	$37.3 \pm 6.4$	$10 \pm 0$	$5.3 \pm 1.5$
	Right	$11.63 \pm 3.00^*$	$61.8 \pm 7.7$	$85 \pm 31.1^*$	$58 \pm 35.4^*$

Rabbits received a single intraarticular injection of 0.25 ml of normal saline solution, sodium lactate or aluminum lactate (300 mg/ml) in the right knee. Cell counts were done in joint washout fluid 48 h after injection. Each value is the mean of at least 6 measurements  $\pm$  standard deviation. \*:  $p < 0.05$  (Wilcoxon test in comparison with uninjected knee).



in comparison with controls. However, lactate did stimulate eicosanoid production. PGE<sub>2</sub> peaked between 3 and 10 h after injection, and were significantly higher than in controls or in rats given sodium lactate or aluminum hydroxide (Figure 2A). The increase in LTB<sub>4</sub> was weaker but was still significantly different from controls and peaked at 6 h (Figure 2B). To sum up, aluminum hydroxide stimulated an increase in leukocytes, whereas aluminum lactate injection resulted in relative leukopenia and increased secretion of eicosanoids.

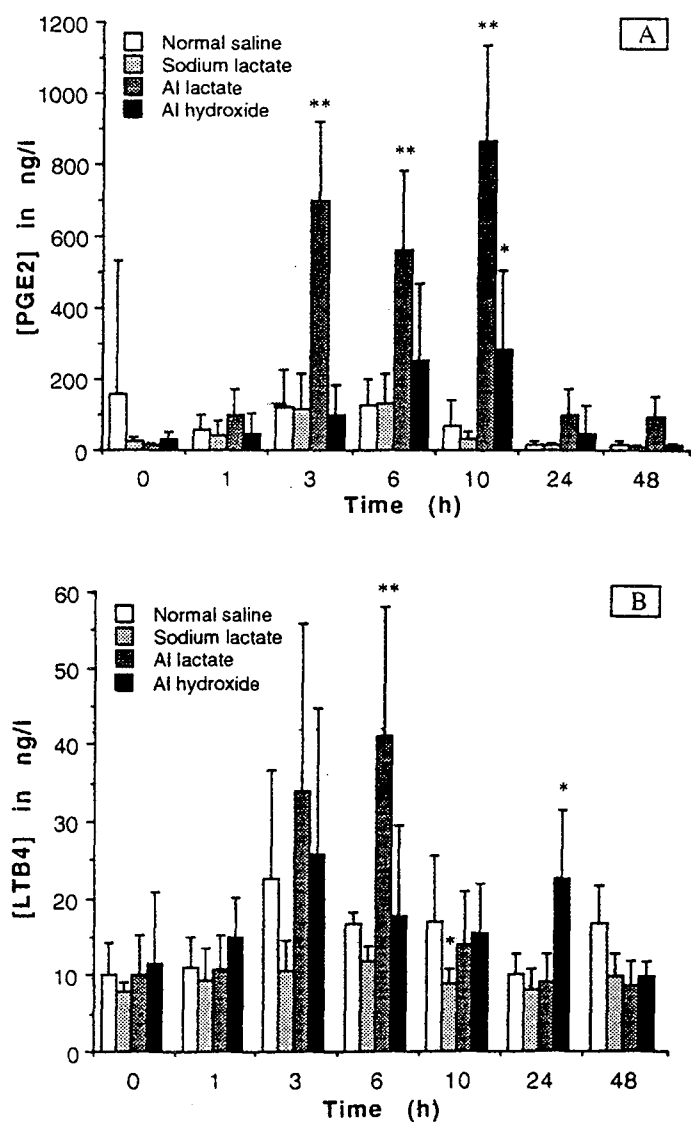


Fig. 2. Kinetics of PGE<sub>2</sub> (2A) and LTB<sub>4</sub> (2B) in the exudate of rat air pouch after injection of 5 ml of normal saline, sodium lactate, aluminum lactate or aluminum hydroxide solutions (10 mg/ml) into the pouch cavity. The inflammatory response was monitored at regular intervals by irrigating the cavity with 5 ml normal saline and withdrawing 4 ml for assays. Each bar represents the mean for at least 6 rats ± standard deviation, and is expressed as the level of eicosanoid per liter. Statistical analysis was with the nonparametric Kruskal-Wallis test; \* p < 0.05; \*\* p < 0.005, in comparison with controls.

## DISCUSSION

In the past, the cumulative toxicity of aluminum within tissues had contributed to several clinical disorders in patients receiving hemodialysis, such as myoclonic encephalopathy, microcytic anemia and osteomalacia<sup>25</sup>. Nowadays, aluminum hydroxide is used only rarely as phosphate binder, but most patients undergoing longterm hemodialysis had received aluminum salts in the past. If the toxicity of aluminum to the central nervous system and to bone seems indisputable, its role in the patients with DAA and its relation to amyloid β<sub>2</sub>-m deposits remains unclear. Thus, in several studies, aluminum accumulates in the joints in many patients undergoing maintenance dialysis<sup>15,16,26</sup>. This may occasionally be due to parenteral exposure to aluminum contaminated dialysate solution, but it usually results from the intestinal absorption of aluminum in patients given large amounts of aluminum containing phosphate binders for long periods<sup>27</sup>. Moreover, the presence of intracellular aluminum associated with phosphate, in synovial cells and cerebral cells, in patients undergoing dialysis with severe aluminum intoxication shows that lysosomes are sites of concentration and precipitation of mineral elements<sup>25,27</sup>. On the other hand, experimental studies have shown the inflammatory effect of aluminum *in vivo*. Aluminum phosphate injected into rabbit knees has been shown to induce acute synovitis with partial ulceration of the synovial lining and its replacement by fibrinoleukocyte aggregates, and moderate cartilaginous lesions, visible only in a transmission electron microscope<sup>19</sup>. In addition, the persistence of aluminum in some tissues after aluminum lactate infusion suggests that it may bind to cellular components of various cell types in rabbits<sup>28</sup>.

In our study, aluminum concentrations in plasma and tissues 48 h after intraarticular injection differed greatly between the aluminum lactate and the aluminum hydroxide groups. Values for the latter illustrated the lack of uniformity of the distribution of aluminum hydroxide at the concentration used. Aluminum hydroxide is therefore not recommended for studying the toxicity due to exchangeable aluminum in animal models, as reflected by circulating levels identical to those observed in saline treated animals and as reported for healthy rabbits<sup>28,29</sup>. Furthermore, the pH of the hydroxide cannot be made physiological without causing it to precipitate, whereas the lactate can. The major route of aluminum elimination is through the kidneys<sup>29</sup>. Our results agree with those of Yokel, *et al* who showed that some organs, such as liver, spleen and kidney, store a considerable amount of aluminum, and release it slowly<sup>28</sup>. These organs can serve as reservoirs for prolonged distribution of aluminum to other target organs such as bone, brain and possibly joint structures. The mechanisms by which aluminum accumulates within synovial cells remain unknown and a role of the accompanying anion is possible in modulating cellular uptake and tissue distribution of biologically active aluminum<sup>29</sup>. Many physiological ligands may be involved

such as transferrin, citrate, phosphate, pyrophosphate and silicic acid. As iron overload is reported in patients receiving dialysis<sup>13</sup>, the binding of aluminum to transferrin and its subsequent uptake into cells via specific receptors may represent an important pathway by which aluminum can induce cell injury in various tissues<sup>30</sup>.

Concerning the potential inflammatory effects of aluminum, we showed that a single intraarticular injection of aluminum lactate into rabbit knees resulted in severe acute synovitis in the injected knee. Congestion of vascular structures, neoangiogenesis and perivascular edema were clearly visible in light microscopy and, surprisingly, were associated with sparse subsynovial infiltration of inflammatory cells, of predominantly monocyte-macrophage lineage. Some proliferation of the synovial lining cell layer was also found and coexisted with an apparent loss of proteoglycan in superficial zones of the tibial and femoral articular cartilage. Cartilage damage may however be moderate or affect a limited area since no significant loss in patellar articular proteoglycan content was observed relative to the uninjected knees. The synovial lesions resembled those observed in experimental models of arthritis in rabbits<sup>31</sup> and mimicked some histologic findings reported in patients with DAA including articular effusion<sup>1,32</sup>.

Pouches formed and kept inflated by the subcutaneous injection of air into the dorsum of rats develop an inner lining structure with histological features resembling synovial tissue and provide a suitable space for the induction of inflammation by a variety of substances<sup>23</sup>. Pouches 6 days old are highly responsive to irritants and produce both a structure which has some similarities to an inflamed human synovium and an inflammatory reaction having many of the characteristics of inflammation found in the arthritis joint<sup>33</sup>. One of the main advantages provided by the air pouch model is the relative ease with which several findings of the inflammatory reaction can be quantitatively expressed. In our study, aluminum hydroxide significantly increased the number of leukocytes in the cavity, mainly polymorphonuclear cells, but the response was weaker than that obtained with monosodium urate (MSU)<sup>33-35</sup> or calcium pyrophosphate dihydrate (CPPD) crystals<sup>33,34,36</sup>. The increase was similar to that obtained with artificial ceramic beads<sup>35</sup> or crystalline silica<sup>37</sup> although the kinetics of leukocytes migration sometimes differed. Eicosanoids were little modified by hydroxide injection; that was not the case with inflammatory crystals<sup>33,34,36</sup> and ceramics<sup>35</sup>. By contrast, aluminum lactate strongly increased the production of eicosanoids in the exudate, especially PGE<sub>2</sub>, without affecting the leukocyte count. In this group, WBC counts even revealed a transient relative leukopenia when compared with controls, that might reflect the total clearance of aluminum lactate from the cavity and/or ability to reduce the number of blood borne inflammatory cells entering the air pouch. Nonetheless, PGE<sub>2</sub> levels in pouch washing reached those reported after injection of

MSU or CPPD crystals<sup>35</sup> but were lower than after injection of powerful irritants such as carrageenan<sup>38</sup> or zymosan<sup>39</sup>. LTB<sub>4</sub> levels were less affected by aluminum lactate injection and remained low when compared to those observed after challenge with MSU<sup>34</sup> or zymosan<sup>39</sup>. Taken together, these results suggest that aluminum hydroxide may induce leukocyte migration due to its particle form when aluminum lactate may not. In addition, the lack of correlation between eicosanoid levels and leukocyte count within the exudate may suggest that (1) leukocytes are not in an activated state after a single aluminum injection (low LTB<sub>4</sub> production) (2) leukocytes may contribute to PGE<sub>2</sub> synthesis only to a limited degree or not at all, the PGE<sub>2</sub> possibly being formed by tissue cells and influenced by the presence of the lining tissue.

To sum up, our results suggest that a single exposure of articular and synovial-like structures to aluminum may induce cell tissue lesions either directly or by stimulating local release of eicosanoids. In both experiments, aluminum lactate seems very efficient for toxicity although some dissimilarities exist (leukocyte migration) probably attributable to differences in the models used. Thus, the air pouch lining is histologically related to the synovium but the pouch cavity is not identical to a joint. An ultrastructural and histological study of the vascular structures showed that the small blood vessels in the pouch wall are unrelated to the highly fenestrated endothelium of the synovium<sup>40</sup>. Moreover, the pouch model was not adapted for reproducing the "flare" reaction to secondary antigenic challenge that can be easily done in joints in mouse arthritis<sup>41</sup>. The inflammatory effect of "soluble" aluminum may have some relevance in patients with severe aluminum intoxication who develop joint disorders, the more so that aluminum accumulation may be associated with  $\beta_2$ -m amyloidosis<sup>27</sup>. The experimental toxicity of repeated intraarticular injection of aluminum is currently being investigated in our laboratory.

#### ACKNOWLEDGMENT

The authors thank Dr. C. N'Guyen from CREGU, Dr. A. Kohler from the department of microscopic scanning of the University of Sciences (Vandoeuvre), and Dr. J.C. Humbert, Centre régional de Transfusion Sanguine (Vandoeuvre) for their excellent contribution to this study.

#### REFERENCES

1. Bardin T, Kuntz D: The arthropathy of chronic hemodialysis. *Clin Exp Rheumatol* 1987;5:379-86.
2. Gaucher A, Kessler M, Netter P: Dialysis-associated arthropathy. *J Rheumatol* 1992;19:1659-62.
3. Kuntz D, Naveau B, Bardin T, Druke T, Treves R, Dryll A: Destructive spondylarthropathy in hemodialyzed patients: a new syndrome. *Arthritis Rheum* 1984;27:369-75.
4. Bardin T, Kuntz D, Zingraff J, Voisin MC, Zelmar A, Lansman J: Synovial amyloidosis in patients undergoing long-term hemodialysis. *Arthritis Rheum* 1985;28:1052-8.
5. Gejyo F, Yamado T, Odani S, et al: A new form of amyloid protein associated with hemodialysis was identified as  $\beta_2$  microglobulin. *Biochem Biophys Res Commun* 1985;129:701-6.

6. Kessler M, Netter P, Grignon B, *et al*: Destructive  $\beta_2$  microglobulin amyloid arthropathy of the cervico-occipital hinge in a hemodialyzed patient. *Arthritis Rheum* 1990;33:602-4.
7. Gaucher A, Kessler M, Netter P, Azoulay E, Péré P, Mur JM: Dialysis arthropathy: the effect of age. *J Rheumatol* 1988;15:1880-1.
8. Ohashi K, Hara M, Kawai R, *et al*: Cervical discs are more susceptible to beta 2-microglobulin deposition in the vertebral column. *Kidney Int* 1992;41:1646-52.
9. Kaplan P, Resnick D, Murphy M, *et al*: Destructive non infectious spondylarthropathy in hemodialysis patients: a report of four cases. *Radiology* 1987;162:241-4.
10. Van Ypersele De Strihou C, Jadoul M, Malghem J, *et al*: Effect of dialysis membrane and patient's age on signs of dialysis-related amyloidosis. *Kidney Int* 1991;39:1012-9.
11. Kessler M, Netter P, Azoulay E, Mayeux L, Péré P, Gaucher A: Dialysis associated arthropathy. A multicentre survey of 171 patients receiving haemodialysis for over 10 years. *Br J Rheumatol* 1992;31:157-62.
12. Miyasaka N, Sato K, Kitano Y, Higaki M, Nishioka K, Ota K: Aberrant cytokine production from tenosynovium in dialysis-associated amyloidosis. *Ann Rheum Dis* 1992;51:797-802.
13. Cary NRB, Sethi D, Brown EA, Erhardt CC, Woodraw DF, Gower PE: Dialysis arthropathy: amyloid or iron? *BMJ* 1986;293:1392-4.
14. Netter P, Burnel D, Hutin MF, Kessler M, Faure G: Aluminium in joint tissues of patients taking aluminium hydroxide. *Lancet* 1981;1:1056-7.
15. Netter P, Kessler M, Burnel D, *et al*: Aluminium in the joint tissues of chronic renal failure patients treated with regular hemodialysis and aluminium compounds. *J Rheumatol* 1984;11:66-70.
16. Netter P, Kessler M, Gaucher A, *et al*: Aluminium and dialysis arthropathy. *Lancet* 1988;1:886-7.
17. Netter P, Fener P, Steinmetz J, *et al*: Amorphous aluminosilicates in synovial fluid in dialysis-associated arthropathy. *Lancet* 1991;1:554-5.
18. Chaussidon M, Netter P, Kessler M, Membre H, Fener P, Delons S, Albarede F: Dialysis-associated arthropathy: SIMS evidence of aluminosilicate in  $\beta_2m$  amyloid synovial tissue and articular cartilage. *Nephron* 1993;65:559-63.
19. Delongas JL, Netter P, Boz P, Faure G, Royer RJ, Gaucher A: Experimental synovitis induced by aluminium phosphate in rabbits. *Biomedicine* 1984;38:44-8.
20. Stankovic A, Mitrovic DR: Aluminium salts stimulate luminal-enhanced chemiluminescence production by human neutrophils. *Free Rad Res Comm* 1991;14:47-55.
21. Gutteridge JMC, Quinlan GJ, Clark I, Halliwell B: Aluminium salts accelerate peroxidation of membrane lipids stimulated by iron salts. *Biochim Biophys Acta* 1985;835:441-7.
22. Farndale RW, Buttle DJ, Barret AJ: Improved quantitation and discrimination of sulfated glycosaminoglycans by use of dimethylmethylene blue. *Biochim Biophys Acta* 1986;883:173-7.
23. Edwards JCW, Sedgwick AD, Willoughby DA: The formation of a structure with the features of synovial lining by subcutaneous injection of air: an in-vivo tissue culture system. *J Pathol* 1981;134:147-56.
24. Maclouf J, Grassi J, Pradelles P: Development of enzyme-immunoassay techniques for measurement of eicosanoids. In: Walden TL Jr, Hughes HV, eds. *Prostaglandins and Lipid Metabolism in Radiation Injury*. New York: Plenum, 1987:355-64.
25. Netter P, Kessler M, Gaucher A, Bannwarth B: Does aluminium have a pathogenic role in dialysis associated arthropathy? *Ann Rheum Dis* 1990;49:573-5.
26. Cavanese C, Pacitti A, Portigliatti M, *et al*: Aluminium and dialysis arthropathy. *Nephron* 1990;56:455-6.
27. Alfrey AC, Legendre GR, Kaehny WD: The dialysis encephalopathy syndrome. Possible aluminium intoxication. *N Engl J Med* 1976;294:184-8.
28. Yokel RA, McNamara PJ: Elevated aluminium persists in serum and tissues of rabbits after a six-hour infusion. *Toxicol Appl Pharmacol* 1989;99:133-8.
29. Yokel RA, McNamara PJ: Influence of renal impairment, chemical form and serum protein binding on intravenous and oral aluminium kinetics in the rabbit. *Toxicol Appl Pharmacol* 1988;95:32-43.
30. Quarles LD: Paradoxical toxic and trophic osseous actions of aluminium: Potential explanations. *Miner Electrolyte Metab* 1991;17:233-9.
31. Edwards JCW, Read N, Treftly B, Coulstock J, Henderson B: Quantitative histological analysis of antigen-induced arthritis in the rabbit. *Br J Exp Pathol* 1991;69:739-48.
32. Rubin LA, Fam AG, Rubenstein J, Campbell J, Saiphoo C: Erosive azotemic osteoarthropathy. *Arthritis Rheum* 1984;27:1086-94.
33. Sedgwick AD, Sin YM, Edwards JCW, Willoughby DA: Increased inflammatory reactivity in newly formed lining tissue. *J Pathol* 1983;141:483-95.
34. Brooks PM, Burton D, Forrest MJ: Crystal-induced inflammation in the rat subcutaneous air-pouch. *Br J Pharmacol* 1987;90:413-9.
35. Nagase M, Baker DG, Schumacher HR Jr: Prolonged inflammatory reactions induced by artificial ceramics in the rat air-pouch model. *J Rheumatol* 1988;15:1334-8.
36. Watanabe W, Baker DG, Schumacher HR Jr: Comparison of the acute inflammation induced by calcium pyrophosphate dihydrate, apatite and mixed crystals in the rat air pouch model of a synovial space. *J Rheumatol* 1992;19:1453-7.
37. Paska W, McDonald KJ: Induction of a silica air-pouch granuloma in rat. *Agents Actions* 1988;24:283-91.
38. Sedgwick AD, Lees P: Studies of eicosanoids production in the air pouch model of synovial inflammation. *Agents Actions* 1986;18:429-38.
39. Ferrandiz ML, Foster SJ: Tumour necrosis factor production in a rat air-pouch model of inflammation: role of eicosanoids. *Agents Actions* 1991;32:289-94.
40. Balasubramaniam GS, Hurley JV: The structure and reactions of the microcirculation in a subcutaneous air pouch in the rat. *J Pathol* 1987;151:139-46.
41. Hambleton P, Miller P: Studies on immunological air pouch inflammation in the rat. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1988;87:70-5.

### 2.2.1. Formation d'aluminosilicates *in vivo*

Nous avons également démontré *in vivo* chez le rat, avec ce modèle de poche à air, la possibilité de former des composés insolubles d'aluminosilicates (résultats non publiés).

#### **METHODES**

##### - Protocole expérimental (Tableau I)

Le modèle de la poche à air induite par la carragénine  $\lambda$  (Sigma Chimie, Isle d'Abeau Chesnes, France) permet, dans cette partie de l'étude, d'apprécier la formation de composés d'aluminosilicates *in vivo*, dans une cavité comparable par de nombreux aspects à la cavité synoviale. Dans tous les cas, on utilise un mélange équimolaire ( $250\mu\text{M/ml}$ ) d'aluminium (gel hydraté d'hydroxyde d'aluminium,  $\text{Al}(\text{OH})_3$ , CREGU, Vandoeuvre, France ou lactate d'aluminium,  $\text{Al}(\text{CH}_3\text{CHOHCOO})_3$ , Prolabo, Paris, France) et de silicium (gel hydraté d'acide silicique,  $\text{Si}(\text{OH})_4$ , CREGU, Vandoeuvre, France).

##### Paramètres étudiés:

- mesure du pH de l'exsudat sur un échantillon de liquide de la poche (4 ml) prélevé avant l'injection des composés.
- concentrations d'aluminium et de silicium dans le plasma et le surnageant du liquide de poche par spectrométrie d'émission à l'Argon ou Torche à Plasma (Spectra Span V Beckman). Le seuil de détection de la méthode de dosage est inférieur à  $1\mu\text{g/l}$ .
- microscopie électronique à balayage (MEB) sur la totalité du liquide prélevé dans la poche qui est centrifugé, puis le surnageant est filtré, sous pompe à vide, sur filtre Millipore  $0,22\mu\text{m}$  et lavé à l'eau distillée filtrée. Les mélanges conservés *in vitro* sont préparés de la même façon.

Les fragments de paroi de la poche, prélevés par dissection après sacrifice de l'animal, sont fixés dans du glutaraldéhyde à 2% puis dans le paraformaldéhyde à 2% en tampon phosphaté, puis déshydratés dans des bains d'éthanol de concentration croissante jusqu'à l'alcool absolu.

Les prélèvements de paroi et les filtres sont ensuite collés avec une laque conductrice sur un support en laiton; puis, ils sont recouverts, sous vide, d'une fine couche uniforme de carbone, permettant une meilleure diffusion de l'énergie du faisceau électronique. Les échantillons ainsi préparés sont alors examinés au microscope électronique à balayage (Hitachi S 2500 LB de résolution 2,5 nm), couplé à un système d'analyse X par dispersion d'énergie (Kevex Quantum), permettant de détecter les éléments légers (résolution 140eV).

**Tableau I: Formation d'aluminosilicates chez le rat: Protocole expérimental.**

J0→J6 :	Formation et entretien de la poche à air chez le rat
J6 :	Induction de l'inflammation aiguë par la carragénine
J14 :	Injection intra-cavitaire des mélanges à tester (chez le rat) - Al(OH) <sub>3</sub> + Si(OH) <sub>4</sub> (rats 1 à 3). - Lactate d'aluminium + Si(OH) <sub>4</sub> (rats 4 à 6) - NaCl 0,9% (rats 7 à 9) Mélange <i>in vitro</i> de ces mêmes composés
J14 + 10 :	Etude MEB <sup>1</sup> de l'exsudat chez les rats 1, 4, 7 Etude MEB des mélanges réalisés <i>in vitro</i>
J14 + 20 :	Etude MEB de l'exsudat chez les rats 2, 5, 8 Etude MEB des mélanges réalisés <i>in vitro</i>
J14 + 30 :	Etude MEB de l'exsudat chez les rats 3, 6, 9 Etude MEB des mélanges réalisés <i>in vitro</i>

<sup>1</sup> MEB: microscopie électronique à balayage

## RESULTATS

- Le pH de l'exsudat induit par l'injection de carragénine  $\lambda$  dans la poche de six jours est de 7,3 en moyenne (7,1 à 7,4).

*Tableau II: Concentrations d'aluminium et de silicium dans le plasma et le liquide de poche à air après injection intra-cavitaire d'aluminium et silicium.*

n° rat	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>Produit</b>	<b>Al(OH)<sub>3</sub> + Si(OH)<sub>4</sub></b>			<b>Lactate Al+ Si(OH)<sub>4</sub></b>			<b>NaCl 0,9 %</b>		
dose par rat	6,75 mg + 7 mg			6,75 mg + 7 mg			-		
Sacrifice	<b>J10</b>	<b>J20</b>	<b>J30</b>	<b>J10</b>	<b>J20</b>	<b>J30</b>	<b>J10</b>	<b>J20</b>	<b>J30</b>
<b>Plasma</b>									
[Al] (µg/l)	87	172	140	110	321	156	62	10	10
[Si] (µg/l)	63	249	186	75	157	167	74	70	47
<b>Exsudat</b>									
volume (ml)	3	0,5	50	29	42	57	2	52	52
[Al] (µg/l)	115	-	92	335	1320	798	-	28	39
[Al] (µg/rat)	0,345	-	4,6	9,17	55,4	45,49	-	1,46	2,03
[Si] (µg/l)	110	-	116	-	137	144	-	57	54
[Si] (µg/rat)	0,33	-	5,8	-	5,75	8,21	-	2,96	2,81

En ce qui concerne les dosages réalisés sur l'exsudat, les résultats sont exprimés en concentration (µ/l) et également en quantité d'élément par rat (µg/rat) en raison de la grande variabilité du volume de l'exsudat dans la poche lors du sacrifice. Les concentrations et quantités d'aluminium sont 10 fois plus élevées chez les rats injectés avec la forme lactate que dans le groupe injecté avec la forme hydroxyde.

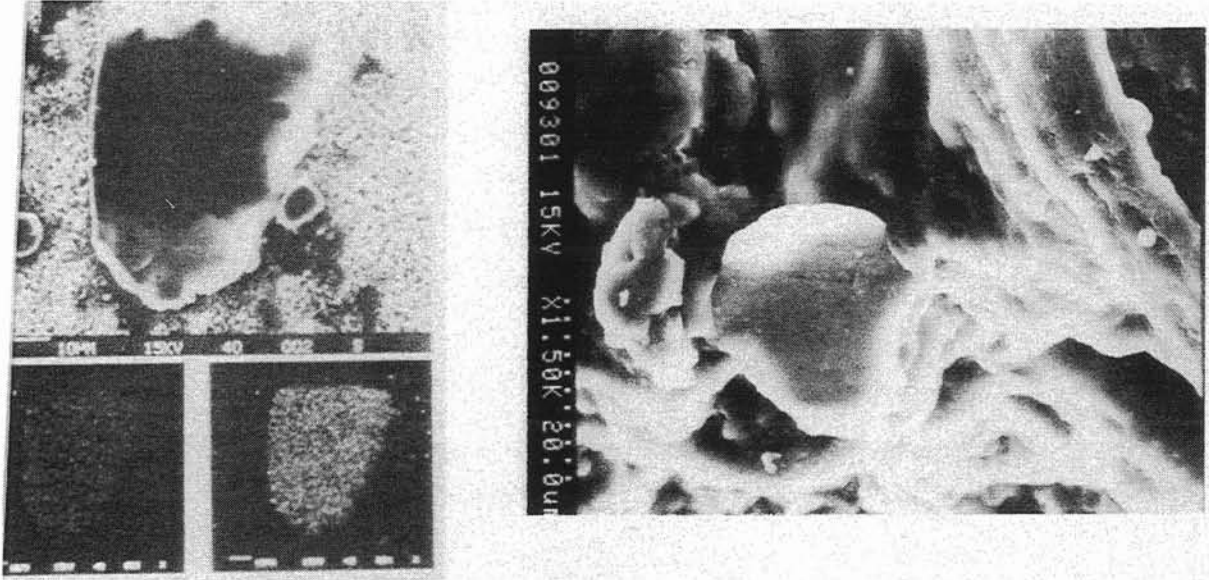
- Examen MEB du liquide d'exsudat de la poche à air (*Tableau III et figure 6*)

- *In vitro*, aucun aluminosilicate n'est retrouvé à l'examen du premier mélange (J+10). Un (J+20) à 6 (J+30) aluminosilicates par filtre sont mis en évidence lors des examens ultérieurs.

*Tableau III: Recherche d'aluminosilicates en microscopie électronique à balayage sur le liquide d'exsudat de la poche:*

Date	<b>Al(OH)3+Si(OH)4</b>	<b>Lactate Al+Si(OH)4</b>	<b>NaCl 0,9%</b>
<b>J+ 10</b>			
particules	nombreuses, amas	nombreuses,	3
composition	silice++, Al	silice++, Al3+, AlSi	contamination
taille	60 µm	2 à 5 µm	20 µm
<b>J+ 20</b>			
particules	nombreuses, amas	nombreuses	0
composition	silice++, Al	AlSi++, silice, AlCl	
taille		3 à 10 µm	
<b>J+ 30</b>			
particules	nombreuses	nombreuses	1
composition	silice++, SiCa	AlSi, silice, AlCl	contamination
taille	6 µm	2 à 7 µm	20 µm

Voir Figure 6.



*Figure 6: Aluminosilicate mis en évidence dans le liquide synovial d'un patient hémodialysé (image de gauche) et aluminosilicate formé dans la poche à air du rat (image de droite), observés en microscopie électronique à balayage.*



## DISCUSSION:

L'évolution des concentrations d'aluminium et de silicium plasmatiques en fonction du temps laisse supposer une diffusion progressive de ces éléments vers le compartiment circulant, à partir de la poche qui sert de réservoir. Elle confirme aussi la plus grande solubilité de la forme lactate. L'équilibre entre la forme soluble, qui diffuse librement dans les différents compartiments liquidiens et la forme insoluble qui reste dans la poche, se vérifie pour les trois composés utilisés: hydroxyde d'aluminium, lactate d'aluminium, et acide silicique (seul l'aluminium ou le silicium dissous sont dosés).

D'après les données de la littérature, les concentrations d'aluminium et de silicium chez les rats témoins sont trop faibles pour permettre la formation d'aluminosilicates (55). Le plus grand nombre de ces composés est retrouvé chez les rats injectés avec le lactate d'aluminium (où il est associé parfois avec d'autres composés organiques). Cette constatation indique clairement que seule la concentration en aluminium soluble est importante, car il est alors apte à s'associer à d'autres éléments pour former des composés solides. Ainsi, chez les rats injectés, on observe, en plus des aluminosilicates, la formation de chlorure d'aluminium avec la forme lactate, en raison de sa grande disponibilité.

Les aluminosilicates formés dans la poche présentent de grandes similitudes avec ceux mis en évidence dans le liquide articulaire de patients hémodialysés chroniques porteurs d'arthropathies périphériques (171). De petite taille (2 à 7  $\mu\text{m}$ ), ils ont un aspect de plaquette, peu dense aux électrons, et associent dans leur composition d'autres éléments chimiques comme le fer, le calcium, le potassium, ou encore le phosphore. Leur petite taille ne permet pas d'analyse par diffraction aux rayons X afin de déterminer la nature de leur structure, cependant, leur morphologie au MEB est fortement évocatrice d'un composé amorphe (171).

L'examen en MEB des solutions conservées *in vitro* a mis en évidence un type d'aluminosilicate d'aspect totalement différent. L'enchevêtrement de très fines aiguilles qui le compose, est hautement évocateur d'une structure cristalline. De plus, il n'entre aucun autre élément chimique dans sa composition. Ces différences morphologiques et de composition proviennent bien entendu de la richesse du milieu biologique, mais également de la différence de pH, dont le rôle est fondamental pour la précipitation de ces éléments.

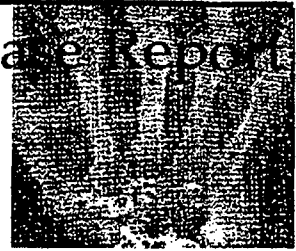
Chaussidon *et al.* (55) ont montré, en utilisant une technique de spectrométrie par microsonde ionique, qu'à pH physiologique, et aux concentrations présentes dans les liquides articulaires de sujets hémodialysés chroniques, la formation de composés d'aluminosilicates est possible. Nos résultats confirment que les aluminosilicates peuvent se former *in vivo* dans une cavité physiologique comparable à la cavité synoviale, à des concentrations toutefois supérieures, en ce qui concerne l'aluminium, à celles mesurées chez les hémodialysés chroniques (168, 169).

Ces composés sont capable d'induire *in vitro* la production de radicaux superoxydes par certains types cellulaires (75) et pourrait alors être responsables de lésions cellulaires. D'autres auteurs considèrent que l'aluminium sous forme complexée présente une toxicité moindre (90). La formation de composés d'aluminosilicates constituerait, dans ce cas, une protection contre la toxicité aluminique.

Commentary on the article of Mora *et al.* Aluminum-containing particles in synovial fluid of a patient with normal renal function and chondrocalcinosis.

JOUZEAU JY, CHARY-VALCKENAERE I, KESSLER M, NETTER P.

Journal of Clinical Rheumatology 1999; 5: 88-89



# Aluminum-Containing Particles in Synovial Fluid of a Patient with Normal Renal Function and Chondrocalcinosis

Gabriela F. Mora, Ana G. Leyva, María A. Benyacar, Luis M. Cayetti, Horacio O. Venarotti

A 48-year-old Caucasian woman presented a tender effusion of small volume, with a mild increase in skin temperature in her right knee and widespread chondrocalcinosis found radiologically. She had normal renal function, had undergone a gastrectomy, and was receiving therapeutic doses of aluminum hydroxide antacids. Synovial fluid analysis showed small, irregular, nonbirefringent particles that stained intensely positive with the alizarin red stain. Scanning electron microscopy, energy dispersive X-ray analysis, and microprobe analysis showed aluminum and variable concentrations of chlorine and/or oxygen in isolated small spherical particles (average diameter about 15  $\mu$ ). Neither phosphorus nor calcium was ever detected in the aluminum containing particles. These findings strongly suggest the presence of a mixture of aluminum hydroxide and some form of aluminum hydroxide chloride; neither was previously reported in synovial fluid of patients with normal renal function. Aluminum-containing particles should be considered an explanation for unexplained particles in joint fluid and may be a factor in some arthritis. (*J Clin Rheumatol* 1999;5:83-89)

**Key words:** Synovial fluid, Aluminum, Chondrocalcinosis

Synovial fluid and tissue deposits of aluminum phosphate were first described in a group of French patients undergoing chronic hemodialysis (1). Oral exposure to aluminum comes from natural sources, such as water used in food preparation, food additives, contamination resulting from the use of aluminum utensils and containers, and pharmaceutical products (2). For many authors, it has been considered unlikely that, in therapeutical doses, alu-

minium hydroxide antacids cause a high retention rate in patients with normal renal function (3-5). Deposition in bone rather than in soft tissues characterizes organ deposition of this element, either in healthy or uremic patients (2-8). We report a 48-year-old woman who was receiving antacid medication composed of aluminum hydroxide, magnesium hydroxide, simethicone, and citric acid before and after surgery. She had normal renal function and had undergone

a gastrectomy. The patient developed a knee effusion in which we identified particles containing aluminum as the main component. To our knowledge, the presence of particles containing a mixture of aluminum hydroxide and some form of aluminum chloride hydroxide in synovial fluid of patients with normal renal function has not been previously described.

## CASE REPORT

A 48-year-old woman was seen in December 1996 because of sporadic arthralgias in both knees and wrists lasting a few months. In August 1996, a total gastrectomy was performed for a gastric cancer and there was no adjuvant treatment after surgery. A few months before surgery, she had complained of epigastric pain and esophageal reflux and started taking cisapride 10 mg/day, omeprazole 20 mg/day, and an aluminum hydroxide antacid 5 mL 4 times/

Rheumatology Service, Hospital Militar Central, (GFM, LMC, HOV), Comisión Nacional de Energía Atómica (AGL, MAB), Buenos Aires, Argentina.

Address correspondence to: Gabriela F. Mora, MD, Rheumatology Service, Hospital Militar Central, Luis M. Campos 726, Buenos Aires (1426), Argentina. Fax: +54-1- 772-7003 / 779-9183.

Copyright © 1999 by Lippincott Williams & Wilkins, Inc.

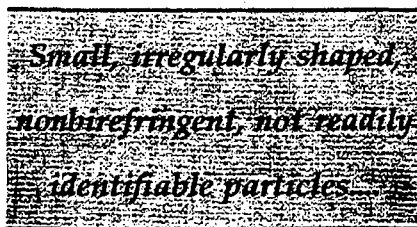
day. Five mL of this compound contain 400 mg aluminum hydroxide, 400 mg magnesium hydroxide, 40 mg simethicone, 1.1 mg sodium, and a mixture of citric acid, sorbitol, and sodium hypochlorite. For a woman weighing 55 kg, this dose gave an oral load of aluminum hydroxide of approximately 29.1 mg/kg body weight/day. When asked about how long she took antacid, the patient said she continued taking the drug after surgery because of persistent pain. She lived in the city of Buenos Aires, she used no aluminum tools or containers, and the piping in her house was made of a copper and lead alloy. She did not receive parenteral nutrition before or after surgery (another cause of aluminum toxicity). Her family history revealed early osteoarthritis in several of her relatives, psoriatic arthritis in a brother, and 2 sons with sporadic arthralgias in large joints. Her 65-year-old sister had widespread chondrocalcinosis and had not lived with the patient for more than 25 years.

The physical examination revealed a tender effusion of small volume with mild increase of skin temperature in her right knee and a psoriatic rash in the scalp and elbows. The remainder of the examination findings were normal, and there were no signs or symptoms of malabsorption or dumping. Laboratory tests showed normal renal function, negative results of latex fixation and Waaler-Rose tests for rheumatoid factors, and normal serum calcium and phosphorus levels.

Radiographs showed early signs of patellofemoral osteoarthritis, and calcific deposits in knee menisci and hyaline cartilages, rib cartilage, vertebral discs, subacromial bursa, and the triangular ligament of the wrist.

Arthrocentesis yielded < 1 mL of a clear synovial fluid with normal viscosity and < 500 cells/mm<sup>3</sup>. Synovial fluid analysis was performed according to American College of Rheumatology guide-

lines (9). Small, irregularly shaped, nonbirefringent, not readily identifiable particles (resembling neither calcium pyrophosphate dihydrate (CPPD) nor apatite crystals)



were seen by ordinary and compensated polarized light microscopy giving an intensely positive Alizarin red stain.

Meloxicam 7.5 mg/day brought complete symptomatic relief after 2 weeks. The patient died of peritoneal carcinomatosis in October 1997. An autopsy was not performed.

The patient's synovial fluid and 2 control samples were analyzed by scanning electron microscopy (SEM), energy dispersive X ray analysis (EDAX) (Philips PSEM 500), and microprobe analysis (EPMA) (CAMECA SX 50). The control samples were taken from a young man with unilateral knee osteoarthritis who was not receiving antacid medication (control sample A), and from the patient's 65-year-old sister who had widespread chondrocalcinosis (control sample B). An ordinary and compensated polarized light microscopy and an Alizarin red stain test were performed on all the samples. The control sample A revealed < 100 cells/mL with low viscosity, and no crystals or particles were observed; the alizarin red staining result was negative. The control sample B showed 200 cells/mL with low viscosity; clumps of hydroxyapatite crystals were observed diffusely over the smear; and the alizarin red stain result was strongly positive.

For SEM and EDAX, the synovial fluid deposited on the SEM sample holder was air-dried in a Petri dish to avoid contamination

from atmospheric particles. These dried samples were studied a) without further processing and b) after they were washed with double distilled water to remove the sodium chloride crystals present. Copper sample holders were used to avoid spurious aluminum peaks; samples were carbon coated to ensure a good electrical conductivity. Three samples were prepared from the patient's fluid. Aluminum was found in all of them in a concentration of about 60% atomic, in nearly spherical particles, with diameters ranging from a few  $\mu\text{m}$  to 25  $\mu\text{m}$  (Table 1). Chlorine and/or oxygen were always found in association with aluminum (EPMA); neither phosphorus nor calcium was ever detected in these particles. For >60 particles analyzed using EDAX and SEM, 59 particles contained aluminum as the main cation present and neither calcium nor phosphorus was detected; only one calcium and phosphate-bearing, elongated particle (with a Ca/P ratio of 1, typical of calcium pyrophosphate crystals) was detected. The phosphate concentration was negligible when compared with the high concentration of aluminum-containing spheres observed (Fig. 1). Figure 2a shows typical EDAX spectra obtained from a typical sphere.

In control sample A only sodium and chloride were detected as main components (Fig. 2b). In control sample B irregular particles containing phosphorus and calcium but no aluminum were observed. The Ca/P ratio was 1.6, implying the presence of hydroxyapatite as the main component (> 90%) (Fig. 2c); some CPPD crystals in very low concentrations (< 5%) were detected. Table 1 shows typical semiquantitative analytical results obtained from the patient and control samples.

## DISCUSSION

Aluminum is a potential dietary toxin in several situations; its

TABLE 1. Semiquantitative analysis of typical particles contained in patient and control samples

ELEMENT	PATIENT SAMPLE (ATOMIC %)	CONTROL A SAMPLE (ATOMIC %)	CONTROL B SAMPLE (ATOMIC %)
Na	12.7	67.1	
Al	60.3	2.5	
P	0.6	0.4	38.16
S	2.4	2.2	
Cl	22.3	33	
K	1.4	0.4	
C	0.0	0.0	16.04

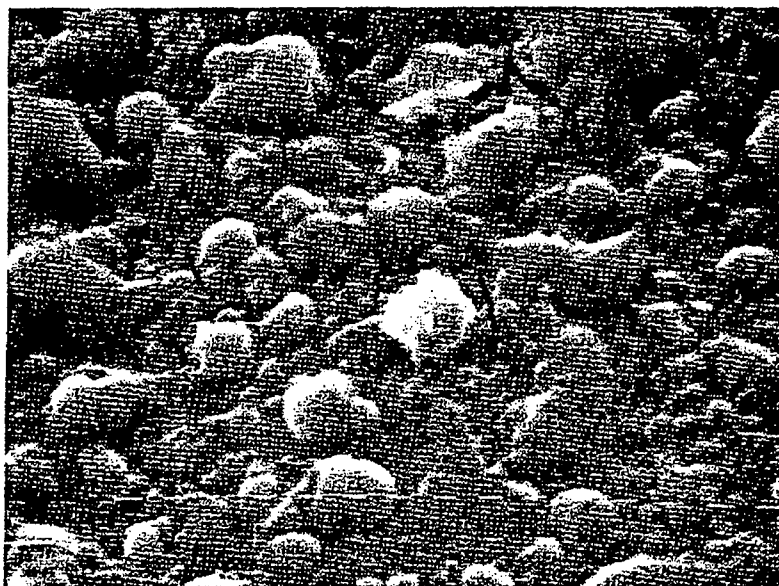


FIGURE 1. Typical unwashed dried patient's sample showing aluminum containing spheres of a few mm in diameter. Scanning electron microscopy. The bar = 1  $\mu$ m.

absorption mechanisms are poorly understood. Factors influencing aluminum toxicity include age, renal function, drug dosage, treatment duration, and absorption surface. The most common sources of aluminum intoxication in hemodialysis patients are related to contamination of dialysate solution with aluminum and ingestion of high amounts of phosphate binders composed of aluminum hydroxide to maintain the calcium  $\times$  phosphate serum product. Some investigators think that high concentrations of aluminum in drinking water and even in food may

lead to toxic effects in sensitive individuals, even with normal renal function. Known or possible clinical manifestations of aluminum overload include osteomalacia, adynamic bone disease, osteitis fibrosa, mood disorders, dementia, lateral amyotrophic sclerosis, and Parkinson's disease (2).

The absorption mechanisms of oral aluminum include active and facilitated transport processes, as well as passive passage through enterocytes (2). Antacid intake, either by rats or by human volunteers with gastrointestinal symptoms and normal renal function,

rarely results in a retention rate > 0.1% when vehicles like alantoinates are used. This rate is increased to > 5% when citrate or sodium citrate is used (2-4). In rats that had undergone gastrectomies it was shown that, despite the potential for hydroxypolymerization of aluminum at intestinal pH, the aluminum-citrate complex absorption in the small bowel and colon is passive and paracellular, whereas in rats with conserved stomachs it does not occur (10). Gómez Alonso et al. (11) have shown the potential risk of intoxication with oral aluminum hydroxide or chloride in amounts comparable to that of human antacid treatment 4 times/day. Those animals receiving oral aluminum hydroxide showed increased urinary and tissue aluminum levels as well as significant alteration in behavior compared with controls (11). Other in vivo studies have demonstrated that aluminum can be incorporated in tissues even with normal renal function (12). These experiments provide support for the possible aluminum overload in our patient. The aluminum compound she was receiving contained citrate and sodium citrate and she had undergone a gastrectomy, both of which could have enhanced the aluminum absorption along her small bowel and colon.

Musculoskeletal and osteoarticular disorders other than renal osteodystrophy have been documented in hemodialysis patients. In a study of 80 patients with hemodialysis-related osteoarthropathy, Hardouin et al. (13) found that lesions such as erosive spondyloarthropathy, multiple diaphyseal lacunae, and bone cysts found on radiographs, were proved by biopsy to be amyloid deposits. They described microcrystals not identifiable by standard microscopic testing in the synovial fluid of one patient and in 2 synovial surgical specimens; finally they did not rule out the possible pathogenic role of microcrystals in a multifactorial

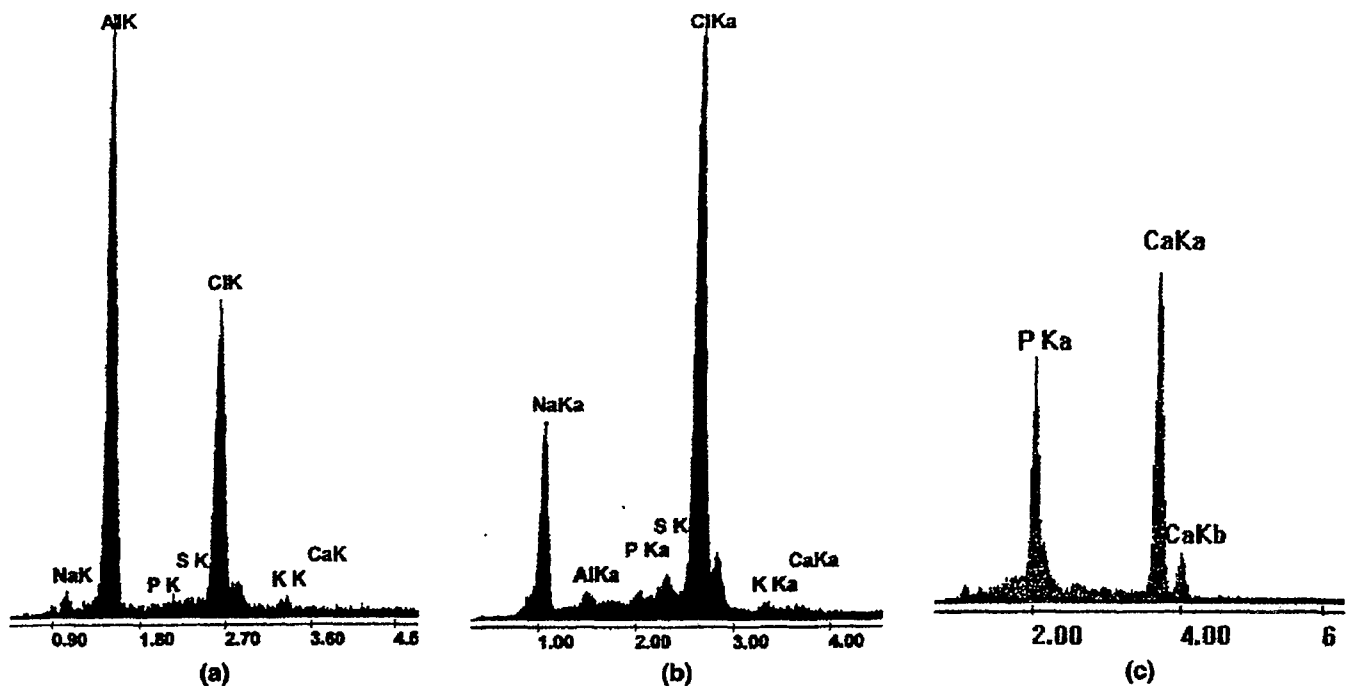


FIGURE 2. (a) EDAX spectra of a sphere in a patient's unwashed sample. The main peaks are unambiguously assigned to Al and Cl. The remaining identified elements are nearly negligible. (b) EDAX spectra of particles present in unwashed control A sample. The main components are Na and Cl with virtually no aluminum. (c) EDAX spectra of particles present in unwashed control B sample. The main components are Ca and P.

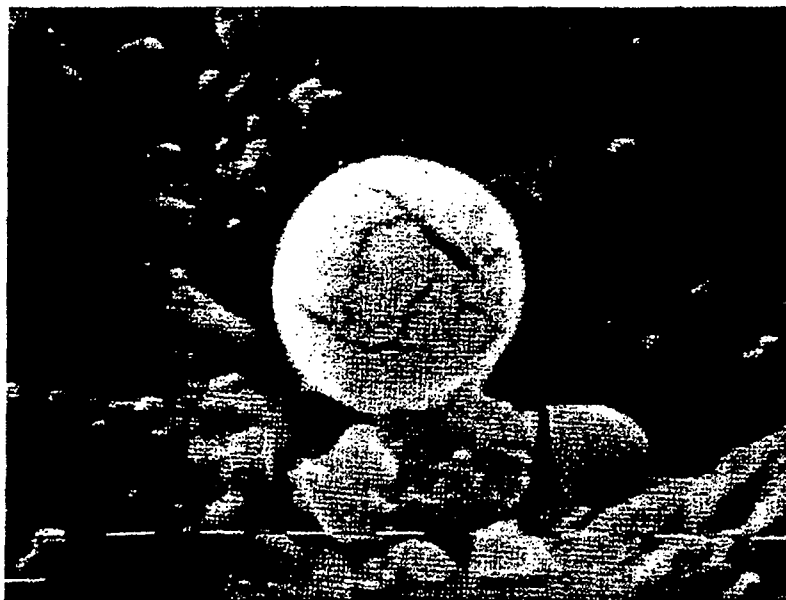


FIGURE 3. Small aluminum-containing sphere cracked under SEM ambient conditions. The bar = 1  $\mu$ m.

joint disease. Aluminum serum levels were increased in only one of the 23 patients with lesions found radiologically, and an x-ray diffraction study could not identify any known microcrystals (13). They stated that those crystals did

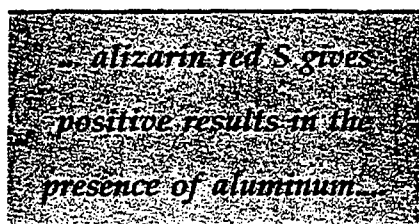
not seem to be monosodium urate or any kind of calcium phosphate, findings that could resemble those in the synovial fluid of our patient.

Chaussidon et al. identified by secondary ion mass SEMS (14), aluminum silicates and possibly

hydroxides in amyloid synovial tissue and articular cartilage of patients with hemodialysis arthropathy. Similar results were found in the forebrain of this type of patient and in the core of senile plaques in Alzheimer's disease (2). Crystalline and amorphous aluminum phosphate can experimentally induce synovitis in rabbits. Lysosomal inclusions of aluminum associated with phosphate were found with transmission electron microscopy (TEM), SEM, and EMPA (15). Netter et al. found that aluminum crosses the synovial barrier, is found in synovial tissue and fluid, and accumulates in joint structures in patients with chronic renal failure who are undergoing hemodialysis (16). Our results suggest that aluminum is probably present as a mixture of aluminum hydroxide and some form of aluminum chloride hydroxide, although the presence of small amounts of aluminum organic salts cannot be ruled out. Figure 3 supports this hypothesis for some of the aluminum-containing spheres, which showed a

low Cl/Al ratio, cracking under the electron-beam heating in the low pressure sample chamber.

In a report of tumoral calcifications in 10 hemodialysis patients, some of whom were suspected of aluminum intoxication, at the Necker Hospital in France, it was concluded that hyperphosphatemia, but not secondary hyperparathyroidism, is a prerequisite for development of tumoral calcinosis. Aluminum intoxication leads to a mineralization defect, and this calcification disturbance or aluminum itself (which enhances apatite



precipitation) may predispose to soft tissue deposition of calcium and phosphate. The investigators could not demonstrate the presence of aluminum in the removed deposits by microprobe analysis, and they stated in the discussion that aluminum was suggested to induce an increase in collagen cross-linking, predisposing the development of dystrophic or metastatic calcification (17). It is interesting that our patient had been seen for spontaneous upper chest pain in June. X ray films showed 2 rib fractures, possibly related to osteomalacia, although her serum calcium and phosphorus levels were normal.

Whether our patient's joint symptoms were related to her psoriasis or her familial osteoarthritis, or whether these aluminum particles found in the synovial fluid played a pathogenic role or were coincidental to chondrocalcinosis is very intriguing for us. It is not clear whether this chondrocalcinosis in our patient was familial or secondary to aluminum overload. Because many of their relatives

had early osteoarthritis, the existence of widespread chondrocalcinosis in the patient's sister (mainly caused by apatite crystals) is probably related to familial disease. We could not make a definite diagnosis of calcium crystals deposition disease in our patient because we had no microscopic or ultramicroscopic evidence of apatite crystals in synovial fluid, and only one particle was defined as CPPD. Unfortunately, we could not obtain any serum aluminum determination or bone, synovial tissue, or cartilage specimens, because when these results were checked and confirmed, the patient was undergoing surgery for occlusive jaundice; she died a few weeks later in another institution. The fact that no apatite crystals and only one crystal of CPPD (the latter by EDAX) were identified in the synovial fluid may be explained in part because the sample we obtained by puncture of the knee was scant. Pitfalls in crystal identification, such as sampling of a sympathetic effusion or clumping of cellular and crystalline elements in vivo (18), could explain the absence of calcium crystals, in spite of the picture of widespread chondrocalcinosis. The positive result of the alizarin red stain test in this synovial fluid sample may not be related to the presence of calcium; its nonspecificity as a routine test has been well documented (19); in particular alizarin red S gives positive results in the presence of aluminum (20).

Finally, the role of antacid intake in therapeutic doses and aluminum overload with normal renal function should be assessed in humans. Further studies should be developed to clarify the potential risk of synovial deposits of aluminum and its pathologic role in patients with functioning kidneys who receive antacids. Ours seems to be the first case in which particles containing aluminum hydroxide/chloride hydroxide have been documented in the synovial fluid of a patient with normal renal function.

#### REFERENCES

- Netter P, Kessler M, Gauciver A, Gillet P, Delons S, Burnel D, et al. Aluminum and dialysis arthropathy (letter). *Lancet* 1988;8590:886-7.
- Greger JL. Aluminum metabolism. *Annu Rev Nutr* 1993;13:43-63.
- Schonholzer KW, Sutton RA, Walker VR, Sossi V, Schulzer M, Orvig C, et al. Intestinal absorption of trace amounts of aluminum in rats studied with <sup>26</sup>aluminum and accelerator mass spectrometry. *Clin Sci (Colch)* 1997;92:379-83.
- Priest ND, Talbot RJ, Austin JG, Day JP, King SJ, Fifield K, et al. The bioavailability of <sup>26</sup>Al-labeled aluminum and aluminum hydroxide in volunteers. *Biometals* 1996;9:221-8.
- Nagy E, Jobst K. The kinetics of aluminum containing antacid absorption in man. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1994;32:119-21.
- Sanchez DJ, Gomez M, Llobet JM, Corbella J, Domingo JL. Effects of aluminum on the mineral metabolism of rats in relation to age. *Pharmacol Toxicol* 1997;80:11-7.
- Alfrey AC. Aluminum toxicity in patients with chronic renal failure. *Ther Drug Monit* 1993;15:593-7.
- Ittel TH. Determinants of gastrointestinal absorption and distribution of aluminum in health and uremia. *Nephrol Dial Transplant* 1993;8:17-24.
- Gatter RA, Andrews RP, Cooley DA, Fiechtner JJ, Minna DA, Phelps P, et al. American College of Rheumatology Guidelines for Performing Office Synovial Fluid Examinations. *J Clin Rheumatol* 1995;3:194-99.
- Whitehead MW, Farrar G, Christie GL, Blair JA, Thompson RP, Powell JJ. Mechanisms of aluminum absorption in rats. *Am J Clin Nutr* 1997;65:1446-52.
- Gómez Alonso J, Fernández Martín JL, Menéndez P, Fernández Soto I, Virgós Soriano MJ, Cannata JB. Acúmulo de aluminio en presencia de función renal normal: riesgo de intoxicación por vía oral. *Nefrología* 1990;10:386-92.
- Cannata JB, Gómez Alonso C, Fernández Menéndez MJ, Fernández Soto I, Mc Gregor S, Menéndez Fraga P, et al. Iron uptake in aluminum overload: In vivo and in vitro studies. *Nephrol Dial Transplant* 1991;6:637-42.
- Hardouin P, Lecomte-Houcke M, Flipo RM, Parent M, Foissac-Gegoux P, Gamot AP. Current aspects of osteoarticular pathology in patients undergoing hemodialysis: study of 80 patients. Part 2. Laboratory and pathologic analysis. Discussion of the pathogenic mechanism. *J Rheumatol* 1987;14:784-7.
- Chaussidon M, Netter P, Kessler M, Membre H, Fener P, Delons S, et al. Dialysis associated arthropathy: secondary ion mass spectrometry evidence of aluminum silicate in beta 2-microglobulin amyloid synovial tissue and articular cartilage. *Nephron* 1993;65:559-63.
- Delongas JL, Netter P, Boz P, Faure G, Royer RJ, Gaucher A. Experimental synovitis induced by aluminum phosphate in rabbits. Comparison of the changes produced in synovial tissue and in articular cartilage by aluminum phosphate, carageenan, calcium hydrogen phosphate dihydrate and natural diamond powder. *Biomed Pharmacother* 1984;38:44-8.
- Netter P, Kessler M, Burnel D, Hutin MF, Delones S, Benoit J, et al. Aluminum in the joint tissues of chronic renal failure patients

treated with regular hemodialysis and aluminum compounds. *J Rheumatol* 1984;11:66-70.

17. Zins B, Zingraff J, Basile C, Pettilerc T, Urefia P, Bardin T, et al. Tumoral calcification in hemodialysis patients: possible role of aluminum intoxication. *Nephron* 1992;60:260-7.
18. McCarty DJ. Crystal identification in human synovial fluids. In: McCarty DJ, editor. *Crystalline deposition diseases*. Saunders; 1988. p. 253-67.
19. Paul H, Reginato A, Schumacher R. Alizarin red S staining as a screening test to detect calcium compounds in synovial fluid. *Arthritis Rheum* 1983;26:191-200.
20. Burriel Martí F, Lucena Conde F, Arribas Jimeno S. *Química analítica cualitativa*. Madrid: Faraninfo; 1970. p. 235.

## COMMENTARY

What is the pathophysiological relevance of aluminum in joint diseases? In the past 2 decades, aluminum was identified as a major cause of morbidity in dialysis patients because it can cause osteomalacia, microcytic anemia, and myoclonic encephalopathy (1). Besides, aluminum was shown to accumulate in joint tissues of patients undergoing hemodialysis (2) and was found in higher concentrations in both synovial fluid and cartilage of those developing dialysis-associated arthropathy (DAA) (3), sometimes as amorphous aluminosilicate complexes (4, 5). These results led us to suggest that aluminum may contribute to DAA, especially since experimental models further supported the toxicity of aluminum compounds for joint (6) and synovial-like (7) tissues. DAA is a classical complication of long-term dialysis and probably has a multifactorial origin. Various factors have been implicated in its pathogenesis, including advanced age at time undergoing dialysis, dialysis duration, and  $\beta_2$ -microglobulin ( $\beta_2$ -m) retention (8). The poor biocompatibility of dialysis membranes was suggested to favor  $\beta_2$ -m amyloidosis, although this remained somewhat controversial and is not supported by the similar prevalence of  $\beta_2$ -m amyloidosis in patients undergoing continuous ambulatory peritoneal

dialysis (9). Physiopathologic studies have shown successively that  $\beta_2$ -m was found either as an intact form, or a proteolytically cleaved form, or an advanced glycation end product modified form within amyloid fibrils, and very elegant theories have been proposed to explain the possible trapping of  $\beta_2$ -m by collagenic components (10). From this point of view, aluminum could be mainly considered a confounding factor, but its possible pathophysiological role was recently updated in a study of  $\beta_2$ -m amyloidosis prevalence in 1988 compared with the role identified in 1996 (11).

Apart from uncommon acute intoxications resulting from accidental contamination of dialysate by a filter (12) or chronic use of aluminum pump (13), the following two major routes have been identified for aluminum exposure in dialysis patients: the dialysate and the gastrointestinal tract. The former has been strongly reduced by the use of water treatment tailored for the individual water supply (14). The latter was mainly supported by the use of aluminum-containing phosphate binders for controlling hyperphosphatemia and subsequent renal osteodystrophy. Again, the careful use of alternative phosphate binders (15) reduced the risk for aluminum overload in dialysis patients. However, we must keep in mind that other dietary sources of aluminum still exist, drinking water being a major one, and that, for everyone, enteral absorption of aluminum from food and water is strongly influenced by environmental components such as silicon (16) and fluoride (17). Finally, we must remember that, to be toxic, aluminum must probably be bound to a target ligand in sufficient amounts at a sufficient rate and for a sufficient period of time (18). This explains, at least in part, why its apparently simple chemistry may contrast with the complexity of its biologic effects, but this illustrates

how difficult it is to demonstrate whether aluminum complexes are causative rather than secondary to a disease state.

With this in mind, we were very interested in the case report of Mora and collaborators. The authors report the presence of aluminum-containing particles in the synovial fluid of a patient with widespread chondrocalcinosis but having normal renal function. It is interesting that the patient had received aluminum hydroxide antacid before a total gastrectomy but had continued the treatment by self prescription after surgery, which resulted in a long-term exposure to aluminum. Thus, this case has similarities with those of dialysis patients we reported and further highlights the possibility of aluminum particle formation in joints of patients with probable aluminum overload. Whether aluminum is responsible for joint symptomatology cannot be addressed on a single case, since the patient had a history of rheumatologic disorders, but this is a good reminder that aluminum may have an exquisite attraction for joint tissues.

Jean-Yves Jouzeau  
Department of Pharmacology  
Isabelle Chary-Valckenaere  
Department of Rheumatology  
Michele Kessler  
Department of Nephrology  
Patrick Netter  
Department of Pharmacology  
School of Medicine, UMR  
CNRS-UHP 7561  
Vandœuvre-les-Nancy, France

## REFERENCES

1. Alfrey AC. Aluminum toxicity in patients with chronic renal failure. *Ther Drug Monit* 1993;15:593-7.
2. Netter P, Kessler M, Burnel D, Hutin MF, Delons S, Benoit J, et al. Aluminum in the joint tissues of chronic renal failure patients treated with regular hemodialysis and aluminum compounds. *J Rheumatol* 1984;11:66-70.
3. Netter P, Kessler M, Gaucher A, Gillet P, Delons S, Burnel D, et al. Aluminum and dialysis arthropathy. *Lancet* 1988;1:896-7.
4. Netter P, Fener P, Steinmetz J, Burnel D, Gillet P, Gaucher A, et al. Amorphous aluminosili-



- cates in synovial fluid in dialysis-associated arthropathy. *Lancet* 1991;1:554-5.
5. Chaussidon M, Netter P, Kessler M, Membre H, Fener P, Delons S, et al. Dialysis-associated arthropathy: secondary ion mass spectrometry evidence of aluminum silicate in  $\beta_2$ -microglobulin amyloid synovial tissue and articular cartilage. *Nephron* 1993;65:559-63.
  6. Delongas JL, Netter P, Boz P, Faure G, Royer RJ, Gaucher A. Experimental synovitis induced by aluminum phosphate in rabbits. *Biomedicine* 1984;38:44-8.
  7. Chary-Valckenaere I, Fener P, Jouzeau J-Y, Netter P, Payan E, Floquet J, et al. Experimental articular toxicity of aluminum compounds in vivo. *J Rheumatol* 1994;21:1542-7.
  8. Gaucher A, Kessler M, Netter P. Dialysis-associated arthropathy. Can we prevent it? Can it be treated? *J Rheumatol* 1992;19:1659-62.
  9. Jadoul M, Garbar C, Vanholder R, Sennesael J, Michel C, Robert A, et al. Prevalence of histological  $\beta_2$ -microglobulin amyloidosis in CAPD patients compared with hemodialysis patients. *Kidney Int* 1998;54:956-9.
  10. Kay J.  $\beta_2$ -microglobulin amyloidosis. *Int J Exp Clin Invest* 1997;4:187-211.
  11. Schwalbe S, Holzhauser M, Scheffer J, Galanski M, Koch KM, Floege J, et al.  $\beta_2$ -microglobulin associated amyloidosis: a vanishing complication of long-term hemodialysis? *Kidney Int* 1997;52:1077-83.
  12. Cummings AD, Simpson AM, Bell D, et al. Acute aluminum intoxication in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis (letter). *Lancet* 1982;9:103-4.
  13. Burwen DR, Olsen SM, Bland LA, Ardiumo MJ, Reid MH, Jarvis WR. Epidemic aluminum intoxication in hemodialysis patients traced to use of an aluminum pump. *Kidney Int* 1995; 48:469-74.
  14. Kerr DNS, Ward MK, Ellis HA, et al. In: Aluminum in biology and medicine. Ciba Foundation Symposium 169. John Wiley & Sons; 1992. pp. 123-41.
  15. Salusky IB, Foley J, Nelson P, Goodman WG. Aluminum accumulation during treatment with aluminum hydroxide and dialysis in children and young adults with chronic renal disease. *N Engl J Med* 1991;324:527-31.
  16. Edwardson JA, Moore FB, Ferrier IN, Lilley JS, Newton GW, Barker J, et al. Effect of silicon on gastrointestinal absorption of aluminum. *Lancet* 1993;342:211-2.
  17. Rifat SL. Aluminum hypothesis lives. *Lancet* 1994;343:3-4.
  18. Edey C, Birchall JD. The cellular toxicity of aluminium. *J Theor Biol* 1992;159:83-98.

## VII INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON SJÖGREN'S SYNDROME

Venice, Italy — 2-4 December 1999

### Main topics of the Symposium:

Epidemiology, Classification criteria, Activity and outcome measures, New animal models, Role of epithelial cells in chronic sialadenitis, Susceptibility genes, Viruses, Sex hormones and autoimmunity, Apoptosis, Autoantigens and autoantibodies, Lymphocytes and chemokines, Lymphoproliferation and lymphomagenesis, Pathogenesis of dry eyes, New methods for the assessment of dry eyes, Pathogenesis of dry mouth, New methods for the assessment of dry mouth, Treatment of topical and systemic manifestations, Immune intervention.

**Deadline for abstract submission: August 15, 1999.**

*For information please contact the Organizing Committee:*

Prof. S. Bombardieri, c/o Clinical & Experimental Rheumatology,  
via Santa Maria 31, 56126 Pisa, Italy.

Tel.: +39-050-40124; fax: +39-050-502299.

e-mail: [bombardieri@clinexprheumatol.org](mailto:bombardieri@clinexprheumatol.org)

or: [marconcini@clinexprheumatol.org](mailto:marconcini@clinexprheumatol.org)

## 2. 3. Travaux en cours et perspectives

Ce travail expérimental est actuellement poursuivi par l'exploitation d'une très importante collection d'échantillons synoviaux rassemblés à l'UMR CNRS 7561 grâce au réseau INSERM " Physiopathologie de l'arthropathie des Dialysés " qui a été animé par M. le Professeur Th. Bardin. Nous procédons à une étude *in situ* de l'aluminium et des éléments associés, grâce à la microsonde ionique très performante, couplée à un système d'imagerie qui équipe le laboratoire du Centre de Recherches Pétrographiques et Géochimiques (M. Chaussidon, Institut Lorrain des Géosciences, Nancy), afin de préciser la surcharge aluminique dans les conditions de la pratique clinique: localisation, forme des composés aluminiques, éléments associés (silicium, phosphore, amylose...).

### *Constitution d'une tissuthèque*

Depuis 1990, des prélèvements de liquides synoviaux réalisés chez des patients hémodialysés ont été stockés dans le but de rechercher des particules d'aluminium ou aluminosilicates par une étude en microscopie électronique à balayage. Depuis 1992, ceci a été complété par le recueil et le stockage de prélèvements tissulaires de patients hémodialysés opérés (remplacements prothétiques, canaux carpiens, épaules amyloïdes). Tous ces prélèvements ont bénéficié d'une étude anatomopathologique systématique (coloration HES, rouge congo, immunohistochimie pour typage de la protéine amyloïde). Les fragments restants sont conservés à -80°C. Une partie de ces prélèvements sera utilisée pour l'étude à la sonde ionique.

### *Intérêt de la microsonde ionique.*

Des travaux récents utilisant une sonde ionique de type Cameca IMS 3F ont déjà permis de confirmer la présence d'aluminium et de silicium avec un ratio d'environ 1 dans le tissu synovial et le cartilage articulaire chez un patient dialysé chronique présentant une arthropathie amyloïde et une intoxication aluminique (55). Ces résultats sont compatibles avec la quantité totale d'aluminium et de silicium dissous, proche du seuil de saturation (168), et le pH mesuré dans le liquide synovial. De faibles modifications de pH pourraient entraîner la précipitation d'aluminosilicates dans l'articulation, à partir de concentrations d'aluminium et de silicium même proches de la normale. Ils suggèrent la présence de composés d'aluminosilicates (kaolinite) voire d'hydroxyde d'aluminium (gibbsite) dans les structures articulaires, en association étroite avec les dépôts amyloïdes.

Il faut en rapprocher des résultats similaires concernant la distribution anormale de l'aluminium mesurée par la sonde ionique dans le proencéphale de patients dialysés (44) et de la présence de composés amorphes d'aluminosilicates identifiés dans le noyau des plaques séniles de la maladie d'Alzheimer (42, 184). Les conditions de précipitation des aluminosilicates peuvent être similaires chez les hémodialysés et chez les patients présentant une maladie d'Alzheimer (30) ou une démence sénile (43), même si les mécanismes de leur toxicité sont différents. La toxicité articulaire de l'aluminium dans l'arthropathie pourrait être soit indirecte par production de radicaux libres, interactions avec le fer et/ou la  $\beta$ 2-M, soit directe par inflammation tissulaire causée par les composés amorphes ou cristallins contenant de l'aluminium. C'est pourquoi il est nécessaire de pouvoir identifier l'aluminium dans les structures articulaires des dialysés, de préciser sa localisation exacte et les interactions établies avec d'autres composés *in vivo* afin de mieux comprendre la physiopathologie de la toxicité aluminique chez le dialysé.

La nouvelle sonde ionique Cameca IMS 1270 est un instrument d'analyse permettant de mesurer, à une échelle microscopique, les concentrations et les compositions isotopiques de tous les éléments connus, même à des teneurs très faibles (jusqu'à 1 mg/ tonne). Cette sonde ionique de grande sensibilité est installée à Nancy depuis Décembre 1996. Il s'agit du deuxième instrument de ce type, après le prototype installé à l'Université de Californie à Los Angeles (UCLA).

*Principe de fonctionnement de la sonde ionique:*

L'échantillon étudié, placé sous vide, est bombardé par un faisceau d'ions primaires (oxygène, césium). Les particules arrachées à l'échantillon sont triées et analysées dans le tube principal par les secteurs électrostatique et magnétique, puis mesurées sur des détecteurs à très haute sensibilité, capables de compter les atomes un par un (*Figure 7*). Le traitement informatique du signal permet d'obtenir des spectres de composition très précis et des images en trois dimensions de l'échantillon.

Les possibilités d'exploitation sont très importantes:

- analyse des micro-particules
- cartographie des éléments en trois dimensions
- mesures précises des éléments en faibles teneurs.

*Mise au point de la méthode d'analyse, grille de repérage*

Les difficultés viennent de l'étude d'échantillons biologiques qui seront détériorés lors de l'analyse ionique. Il est donc nécessaire de disposer d'un moyen de repérage afin de situer les éléments étudiés dans le tissu. Plusieurs solutions ont été proposées et sont à l'étude: grille de repérage en métal (sans aluminium), cartographie d'ions intracellulaires et extracellulaires (sodium/potassium), cartographie des membranes cellulaires par image de l'ion calcium... Il est également indispensable d'opérer sur des coupes suffisamment épaisses (minimum 10  $\mu\text{m}$ ) congelées ou incluses dans la résine (Epon). Ceci ne permet pas une bonne observation en microscopie optique et encore moins en microscopie électronique pour établir des comparaisons avec les images obtenues par l'analyse ionique. Les coupes sont ensuite collées sur un support en laiton et recouvertes sous vide par un film d'or qui permet d'assurer une bonne conductivité et de réaliser l'étude de surface. Les données de la microsonde sont corrélées à celles obtenues en microscopie électronique.

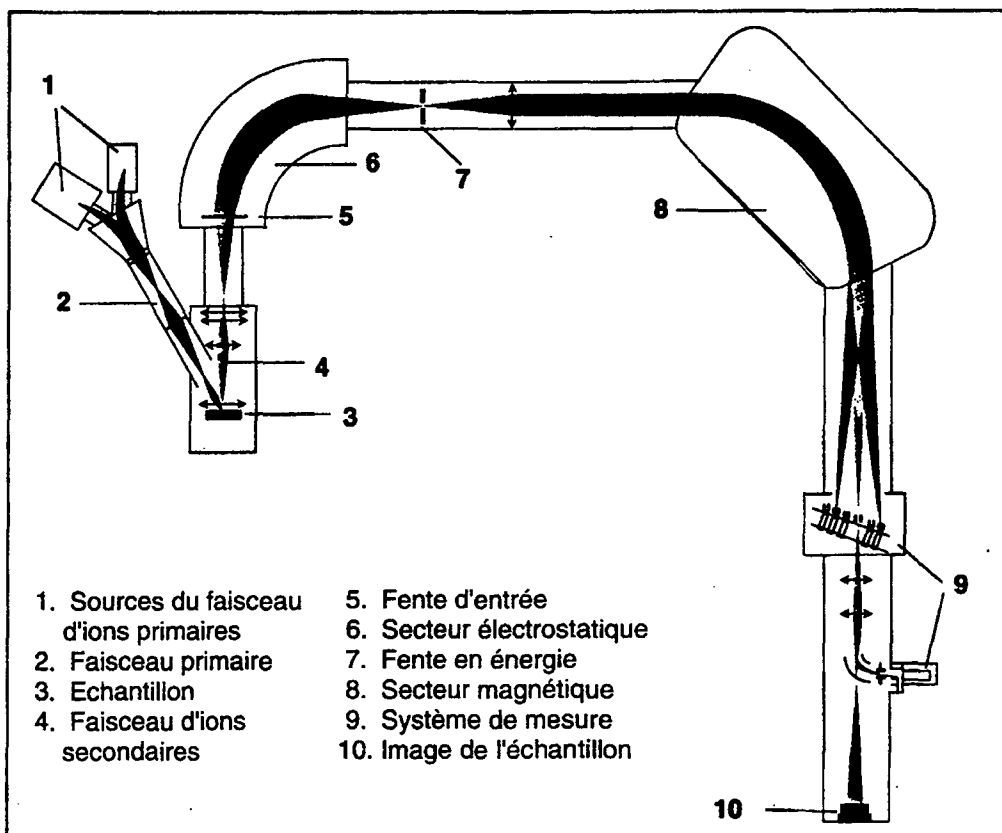
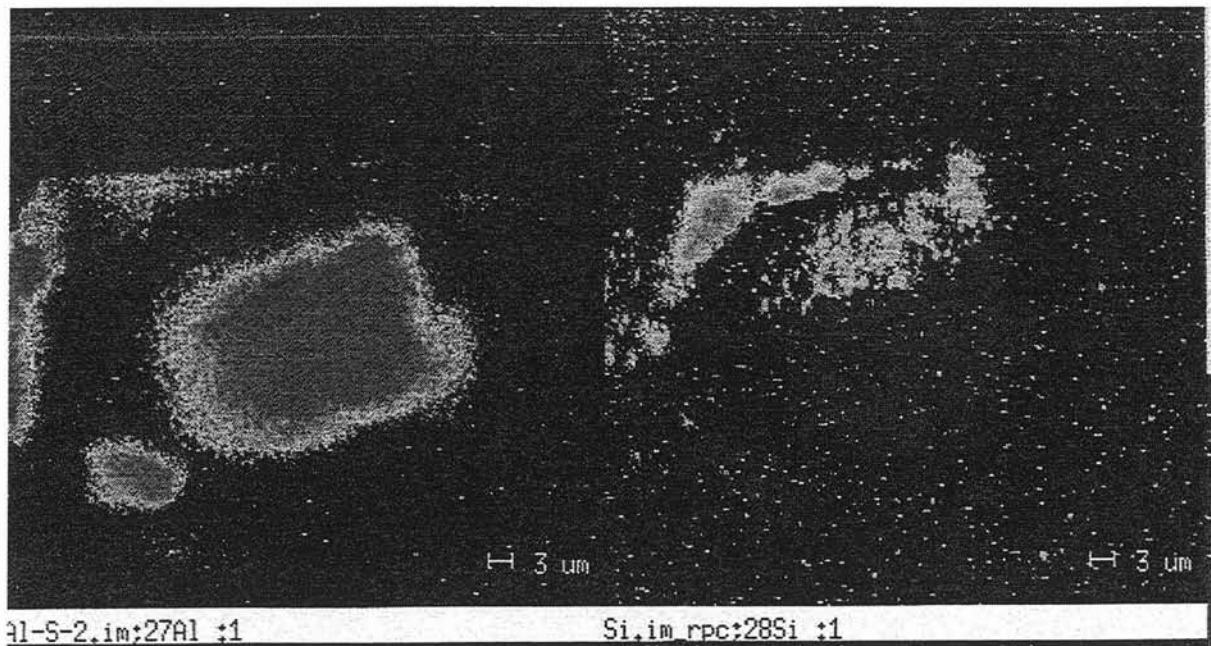


Figure 7: Principe de fonctionnement de la microsonde ionique CAMECA IMS 1270

### *Résultats préliminaires*

Nos résultats confirment l'existence d'une accumulation tissulaire importante d'aluminium chez les patients dialysés présentant des dépôts d'amylose  $\beta$ 2-M. La surcharge aluminique est intracellulaire. Elle se répartit de façon hétérogène et semble intriquée avec les métabolismes protidiques, comme l'indique sa colocalisation avec les éléments soufre, carbone et azote dans les structures cellulaires. D'autre part, nous avons pu constater que les dépôts d'aluminium contenus dans les prélèvements sont distincts des dépôts de silicium. Ces derniers sont présents en faible quantité, et sont en situation extra-cellulaire, dans le tissu conjonctif. Ceci n'est donc pas en faveur d'un stockage de l'aluminium sous la forme d'aluminosilicates, et concorde avec le caractère exceptionnel de l'observation de composés d'aluminosilicates chez le dialysé.



*Figure 8: Image bidimensionnelle en microsonde ionique de la synoviale de dialysés: localisation intracellulaire de l'aluminium(image de gauche) et extracellulaire du silicium(image de droite).*

**CHAPITRE III.**  
**ETUDE CLINIQUE**  
**RÔLE DES DEPOTS AMYLOÏDES**

### 1. AMYLOSE $\beta$ 2-M: GENERALITES

#### 1.1. $\beta$ 2-M et dialyse

Les manifestations cliniques de l'arthropathie du dialysé semblent en relation étroite avec l'accumulation d'une substance amyloïde dans les structures articulaires: membranes synoviales, capsules, os sous-chondral (*Tableaux IV et V*). Les localisations viscérales de ces dépôts amyloïdes sont rares et souvent asymptomatiques (32, 40), cependant elles peuvent être à l'origine de complications graves (10). Comme pour les localisations ostéoarticulaires, leur survenue semble corrélée à la durée de dialyse (121).

#### *Métabolisme de la $\beta$ 2-M :*

La protéine constitutive des dépôts amyloïdes chez le dialysé a été identifiée en 1985 par Gejyo *et al.* (90), comme étant la  $\beta$ 2-M. Déjà isolée par Berggard en 1968 chez des patients atteints de néphropathie tubulaire (27), il s'agit d'une chaîne polypeptidique simple composée de 99 acides aminés, de poids moléculaire 11 800 Daltons, qui inclue dans sa structure un pont disulfure. Elle est synthétisée et exprimée par toutes les cellules qui portent les antigènes de classe I du complexe majeur d'histocompatibilité. La  $\beta$ 2-M est une sous-unité de cette molécule HLA de classe I, dont elle constitue la chaîne légère, et y est associée avec une chaîne lourde alpha. La  $\beta$ 2-M est relarguée dans le sérum à partir des membranes cellulaires et est ensuite catabolisée par le rein. Le turn over de la protéine est de 150 à 200 mg/jour. Dans les conditions physiologiques, la  $\beta$ 2-M est filtrée à 97% par le glomérule, puis elle est réabsorbée par les cellules épithéliales du tube contourné proximal pour y être dégradée en acides aminés. Ceci explique les taux faibles circulants chez le sujet sain (1 à 2 mg/l), et l'augmentation des taux chez le sujet âgé et l'insuffisant rénal, dont la filtration glomérulaire est diminuée (176).

Tableau IV : Classification des amyloses humaines (selon Droz et Nochy (66)).

Classe	Protéine amyloïde	modification	Forme clinique de l'amylose
AA	SAA		Amyloïdose réactionnelle Fièvre Méditerranéenne Familiale Syndrome de Muckle et Wells
AL	Chaîne légère d'Ig $\lambda$ et $\kappa$		Amylose primitive Myélome Maladie de Waldenström Formes localisées
AH	Chaîne lourde d'Ig		Maladie des chaînes lourdes
ATTR	Transthyrétine	mutation aucune	Neuropathie familiale amylose sénile cardiaque
AApoA1	Apolipoprotéine A1	mutation	Neuropathie familiale
Agel	Gelsoline	mutation	Neuropathie familiale
Acyst	Cystacine C	mutation	HC* héréditaire (Islande)
A $\beta$	Protéine $\beta$ PP	aucune	Maladie d'Alzheimer Démence sénile Trisomie 21
A $\beta$ 2M	$\beta$ 2-microglobuline	mutation multiples	HC* familiale (Hollande) Amylose des dialysés
Ascr	Précurseur de la protéine scrapie		Encéphalopathie de Creutzfeldt-Jakob Syndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker
ACal	(pro)calcitonine		Cancer médullaire de la thyroïde
AIAPP	polypeptide amyloïde des îlots (amyline)		Insulinome Diabète de type 2
AANF	facteur natriurétique auriculaire Lysosyme Chaîne $\alpha$ fibrinogène		Amylose auriculaire isolée  Amylose systémique familiale Amylose rénale familiale

\*HC: hémorragie cérébrale



### ***Variations pathologiques:***

La  $\beta$ 2-M étant synthétisée par les cellules exprimant les molécules HLA de classe I, ce sont les lymphocytes qui en produisent la plus grande quantité. La synthèse de  $\beta$ 2-M est ainsi augmentée dans de nombreuses maladies qui comportent une prolifération lymphoïde: lymphomes, infection virale, lupus érythémateux disséminé... Dans ces maladies, les taux sériques de  $\beta$ 2-M sont modérément élevés.

Il en va différemment dans l'insuffisance rénale, où l'augmentation de la  $\beta$ 2-M est proportionnelle à la baisse de la filtration glomérulaire. Chez l'hémodialysé, la  $\beta$ 2-M s'accumule dans le sang, pouvant atteindre des taux jusqu'à 50 fois la normale, car elle n'est pas épurée par les techniques de dialyse conventionnelle (213).

Les taux de  $\beta$ 2-M varient au cours de la séance de dialyse. Les membranes celluloseuses (cuprophane) lui sont totalement imperméables et ne peuvent l'adsorber. Les membranes synthétiques (polyacrylonitrile, polysulfones) la filtrent ou l'adsorbent partiellement (52, 212). Certaines membranes hautement perméables permettent ainsi d'éliminer une partie de la production journalière de  $\beta$ 2-M et de compléter la petite clairance extra-rénale. Cependant, il est impossible d'obtenir un équilibre, la dialyse ne s'effectuant pas de façon quotidienne. De plus, il est possible que se produise un effet rebond sur la concentration de  $\beta$ 2-M après la séance d'épuration extra-rénale (134). *In vitro*, l'incubation de cellules leucocytaires au contact de membranes celluloseuses ou synthétiques n'induit pas d'augmentation de la sécrétion de  $\beta$ 2-M par ces cellules (138). Le contact entre des lymphocytes et des membranes de dialyse peut au contraire diminuer la libération de  $\beta$ 2-M (194). En revanche, celle-ci est augmentée en cas d'activation des cellules macrophagiques par des lipopolysaccharides, de l'interféron gamma, du  $\text{TNF}\alpha$  ou de l'IL-1 (138). Or, chez l'hémodialysé, les taux circulants de ces cytokines sont plus élevés que chez le sujet sain (185).

**Tableau V : Manifestations cliniques liées à l'amylose  $\beta$ 2-M (selon Brancaccio et al. (32)).**

Organes cibles	Signes cliniques et radiologiques
<b>Localisations fréquentes</b>	
canal carpien (tendons, ligaments)	syndrome du canal carpien
os périarticulaire	géodes osseuses
capsule articulaire et cartilage synoviale	arthralgies, rupture tendineuse, épanchement
disques intervertébraux	kystes poplités
gaines tendineuses	spondylarthropathie destructrice
	ténosynovites
<b>Localisations rares</b>	
muqueuse digestive	hémorragie, diarrhée
langue	macroglossie villeuse
graisse sous-cutanée	masse pseudo-tumorale
coeur	hypokinésie
rein	lithiases
prostate	infection

## 1.2. Physiopathologie de l'amyloïdogénèse

### 1.2.1. *Elévation des taux sériques de $\beta$ 2-M*

La structure moléculaire de la  $\beta$ 2-M est similaire à celle des immunoglobulines, et donc riche en structure  $\beta$ -plissée qui est essentielle à la formation des dépôts amyloïdes. Selon Gejyo (96), l'amylose  $\beta$ 2-M ne serait qu'une conséquence de l'urémie. Aucune technique d'épuration extra-rénale actuelle ne permet une élimination suffisante de  $\beta$ 2-M pour éviter la survenue d'une amylose. Comme la  $\beta$ 2-M n'est plus épurée par la dialyse, elle s'accumule chez les patients (92). La  $\beta$ 2-M en excès se dépose alors sous forme de fibrilles amyloïdes, ce qui aboutit à la formation d'amylose. Les mécanismes de la fibrillogénèse sont encore imparfaitement connus. L'accumulation de  $\beta$ 2-M semble un facteur indispensable mais non suffisant à l'amyloïdogénèse, puisque les taux de  $\beta$ 2-M sérique (91) et articulaire (199) ne sont pas corrélés à l'existence de l'amylose. Celle-ci pourrait être favorisée par l'immunodépression de l'insuffisance rénale associée à une stimulation antigénique prolongée (191). Il reste à déterminer plus clairement si l'amylose est cause ou conséquence des désordres immunologiques locaux dans l'arthropathie du dialysé.

### 1.2.2. *Modifications de la $\beta$ 2-M*

Les premiers travaux ont suggéré que la  $\beta$ 2-M serait présente sous une forme intacte dans les dépôts amyloïdes (90) et son potentiel amyloïdogène spontané a été confirmé chez l'homme (103) et *in vitro* (39). Cependant, des travaux récents ont montré que la  $\beta$ 2-M peut être partiellement modifiée chez les dialysés, et qu'elle existe sous forme multimérique au sein des dépôts amyloïdes (150). En effet, l'amylose est constituée de molécules de  $\beta$ 2-M native, mais également de protéines modifiées présentant souvent un point isoélectrique inférieur. L'hypothèse actuelle est que les fragments protéiques résultant d'une protéolyse incomplète du précurseur acquièrent des propriétés d'autoaggrégation ou d'interaction avec d'autres précurseurs, entraînant alors la polymérisation et la formation des fibrilles (66). Trois types de modifications biochimiques de la  $\beta$ 2-M ont pu être mises en évidence chez le dialysé:

- une protéolyse partielle avec des sites de clivage majoritaire sur les lysines en position 6 ou 19 de l'extrémité C-terminale de la molécule (191, 149),
- une substitution d'une asparagine en position 17 par un acide aspartique qui générerait une forme plus acide de  $\beta$ 2-M (150),
- une glycation pouvant également conduire à des formes de  $\beta$ 2-M dotées d'un point isoélectrique abaissé (115, 160).

Certaines de ces modifications peuvent être obtenues *in vitro* par l'action de radicaux oxygénés sur la  $\beta$ 2-M native (47). Ces formes modifiées de  $\beta$ 2-M se révèlent également amyloïdogènes (177).

L'accumulation de protéines glyquées est un phénomène qui peut s'observer lors du vieillissement, mais aussi dans certaines pathologies comme le diabète sucré. Ces protéines glyquées possèdent un certain nombre de propriétés communes: elles sont effectivement moins susceptibles à la dégradation protéolytique, sont capables d'établir de fortes liaisons covalentes, et d'induire la production de radicaux libres oxygénés. Chez les patients en insuffisance rénale et/ou dialysé, le taux de protéines glyquées s'élève par défaut de clairance, mais il se normalise après transplantation rénale. Selon certains auteurs, la  $\beta$ 2-M modifiée par glycation pourrait ainsi jouer un rôle primordial dans le processus d'amyloïdogénèse chez le dialysé, mais aussi dans ses conséquences: le développement de l'arthropathie (115, 130). En effet, expérimentalement, la liaison de la  $\beta$ 2-M glyquée à un récepteur membranaire de 35 kD, membre de la superfamille des immunoglobulines (RAGE), induit la synthèse et la sécrétion de cytokines par des monocytes-macrophages humains et, dans le même temps, agit comme un facteur chimiotactique (160). Chez le rat, ces protéines glyquées sont à l'origine d'une augmentation de la résorption osseuse induite par les ostéoclastes (161). Enfin, s'il existe déjà une affinité particulière entre  $\beta$ 2-M et collagène de type I, cette liaison est encore majorée par les produits de glycation (115). Ces mêmes mécanismes de glycation semblent également jouer un rôle primordial dans le développement des dépôts amyloïdes dans la maladie d'Alzheimer, mais aussi dans d'autres types d'amyloses, dont les formes systémiques (218). Ceci pourrait donc constituer une autre voie physiopathologique commune entre amylose A $\beta$  des démences séniles et amylose A $\beta$ 2-M des dialysés (en plus de la toxicité aluminique, voir Chapitre II).

### 1.2.3. Autres constituants des dépôts amyloïdes

Une fois déposées, toutes les fibrilles amyloïdes partagent la particularité de persister dans les tissus. Cette accumulation permanente est à l'origine des perturbations morphologiques et fonctionnelles progressives qui caractérisent les tissus amyloïdes. Une des explications de la résistance *in vivo* des fibrilles amyloïdes aux processus normaux de catabolisme protéique est leur configuration en feuillets  $\beta$ -plissés dont l'axe est perpendiculaire au grand axe de la fibrille.

D'autre part, si les dépôts amyloïdes sont constitués de 85 à 95% de  $\beta$ 2-M, ils contiennent d'autres protéines (*Tableau VI*) dont le composant P, glycoprotéine commune à tous les types d'amylose, qui, *in vitro*, inhibe l'activité protéolytique de l'élastase, ainsi que certaines antiprotéases comme l' $\alpha$ 2-macroglobuline qui pourrait intervenir dans l'amyloïdogénèse (87). Dans les tissus, les dépôts amyloïdes sont intimement associés à la présence de glycosaminoglycannes et de protéoglycannes, qui pourraient jouer un rôle dans la pathogénie de l'amylose. Gejyo *et al.* (95) ont rapporté la coexistence d'amylose et de dépôts calciques (hydroxyapatite, oxalate). Ceux-ci pourraient jouer un rôle de nucleus pour la formation des dépôts d'amylose. Les petites fibrilles amyloïdes elles-mêmes peuvent avoir un rôle de nucléation qui permet la croissance des dépôts amyloïdes (172).

De nombreuses cellules, dont les macrophages, les cellules du système réticulo-endothélial, les fibroblastes, les plasmocytes, semblent impliquées dans la formation des fibrilles. L'existence d'un facteur cellulaire stimulant la formation de l'amylose (AEF) semble prouvée (166); il n'est cependant pas encore totalement identifié.

Bien que la localisation ostéoarticulaire de l'amylose  $\beta$ 2-M soit préférentielle (19), les dépôts amyloïdes peuvent aussi être retrouvés dans la paroi des vaisseaux de nombreux tissus (121, 174, 175). Sans que l'on connaisse précisément la raison de cette spécificité tissulaire, elle pourrait s'expliquer par l'affinité de la  $\beta$ 2-M pour le collagène (112) mais aussi démontrée plus récemment pour les glycosaminoglycannes (15, 162).

*Tableau VI : Constituants des dépôts d'amylose  $\beta$ 2-M selon Gejyo (97)*

---

Fibrilles amyloïdes $\beta$ 2-M
- $\beta$ 2-M intacte : monomère, dimère, polymère
- $\beta$ 2-M modifiée : tronquée, nouvelle (déamidation), radicaux, AGEs (advanced glycation end products)
Composant P
Éléments inorganiques (calcium, aluminium, fer...)
Matrice extracellulaire (Glycosaminoglycannes: chondroïtine sulfate, acide hyaluronique, collagène)
Inhibiteurs des protéases : sérine protéase, $\alpha$ 2-macroglobuline, antithrombine III, TIMP-1, A1- protéase inhibiteur
Protéine de 85 kDa
Apolipoprotéine E
Macrophages (CD 68)

---

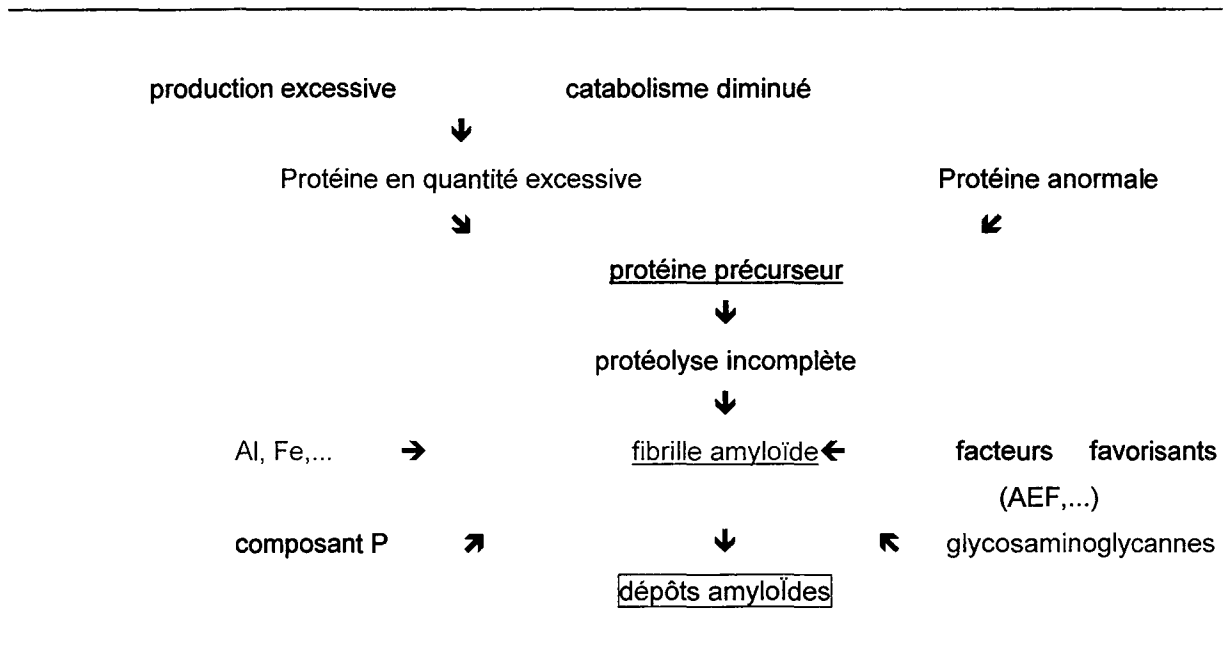


Figure 9: Formation des dépôts amyloïdes, adapté selon D. Droz et D. Nochy (66).

## 1. 3. Mise en évidence de l'amylose $\beta$ 2-M

### 1. 3. 1. Radiologie standard

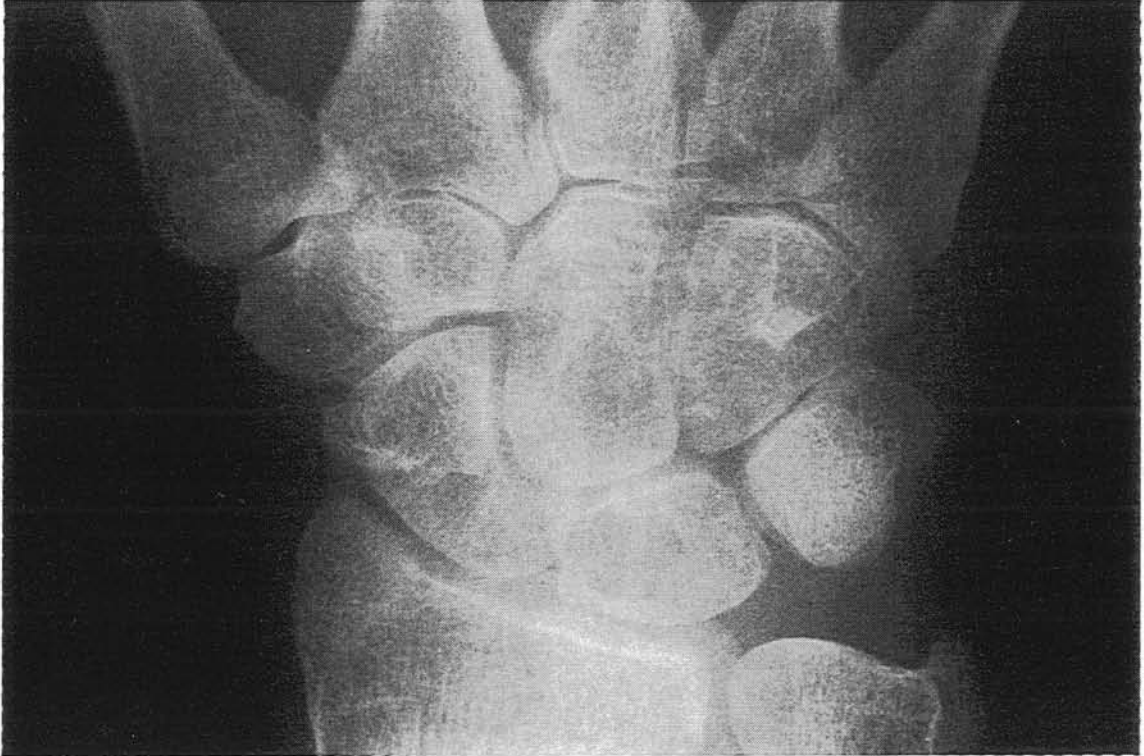
Le diagnostic d'amyloïdose osseuse peut être posé par la radiographie standard. En effet, les géodes osseuse de nature amyloïde sont définies par des critères très stricts. Ainsi, Van Ypersele *et al.* (211) ont montré la présence d'amylose  $\beta$ 2-M dans dans tous les cas chez 8 patients ayant bénéficié d'une biopsie du contenu de géodes caractéristiques. Elles se situent dans les zones d'insertion capsulo-ligamentaires, et concernent principalement les os du carpe, les épaules, les hanches et les genoux. Afin de les différencier des lésions liées à l'hyperparathyroïdie et d'exclure les lésions d'origine arthrosique, les géodes sont prises en considération si et seulement si :

- les encoches ou géodes mesurent au minimum 5 mm de diamètre dans le carpe, et 10 mm dans l'épaule ou la hanche
- de localisation périarticulaire, elles sont situées dans les zones de réflexion de la synoviale et de la capsule articulaire, en dehors des zones portantes
- l'interligne articulaire en regard est longtemps conservé
- leur croissance est rapide avec une augmentation de volume d'au moins 30% par an.

La maladie amyloïde osseuse est alors définie par l'atteinte d'au moins 2 articulations, avec au minimum deux lésions par articulation s'il s'agit d'un poignet (*Figure 10*). Les arthropathies destructrices des doigts ne semblent pas en rapport avec l'amylose (une seule étude signale la présence d'amylose  $\beta$ 2-M dans les interphalangiennes distales (7), mais témoignent plutôt de lésions d'hyperparathyroïdie (13, 89, 215).

Ces géodes sont bien limitées, de contours réguliers, et communiquent habituellement avec la cavité articulaire voisine, comme le montre l'examen tomодensitométrique ou l'imagerie par résonance magnétique (56). L'augmentation de la taille des géodes peut se compliquer classiquement de fractures, en particulier lorsqu'elles sont situées dans le col fémoral (146) ou dans le scaphoïde carpien (76).





*Figure 10: Radiographie du poignet de face. Présence de multiples géodes disséminées dans les os du carpe, de diamètre supérieur à 5 mm, évoquant une amylose osseuse.*

### **1.3.2. Autres techniques d'imagerie.**

Les autres techniques d'imagerie se révèlent des méthodes de choix pour l'exploration des lésions amyloïdes:

- Le scanner permet de visualiser plus tôt les géodes osseuses, d'apprécier leur communication avec la cavité articulaire et un risque de fracture éventuel (56).

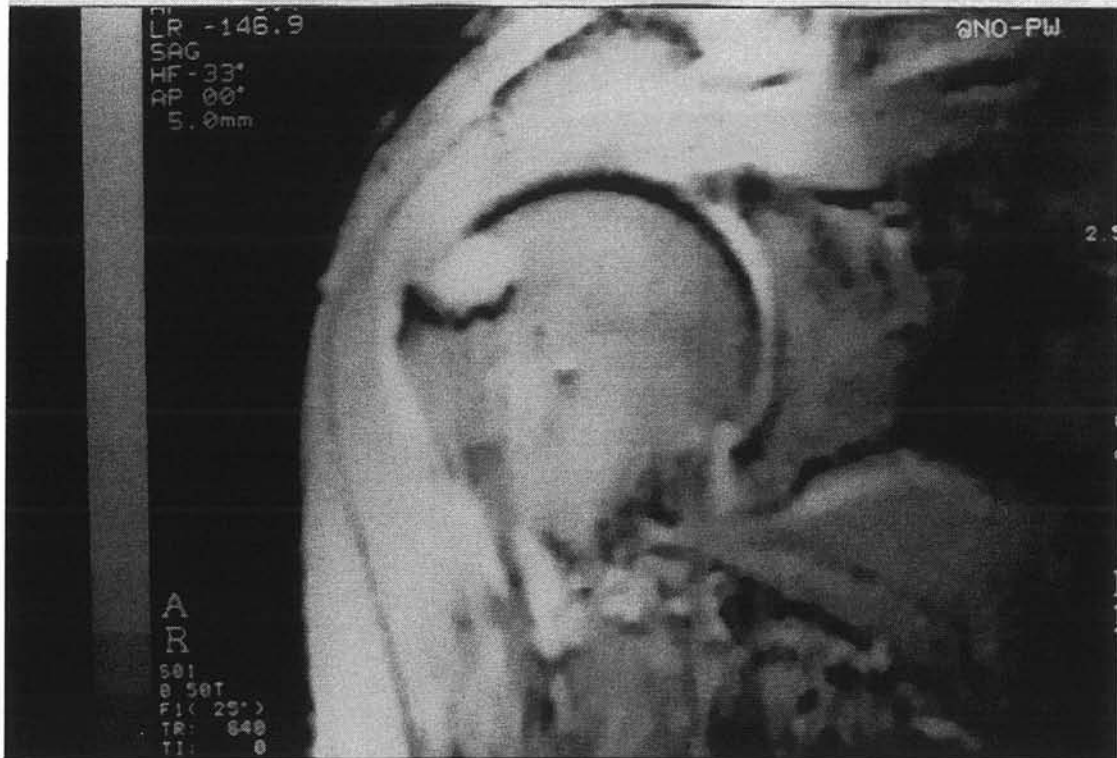
- L'IRM est particulièrement contributive dans l'exploration des lésions rachidiennes à la recherche de complications neurologiques (80, 188). Dans les atteintes articulaires, les modifications de signal permettent habituellement de différencier l'amylose d'une pathologie inflammatoire ou d'une tumeur brune. Le signal apparaît alors intermédiaire en pondération T1 et T2. Le polymorphisme du contenu des géodes est cependant considérable. Il est fréquent en effet d'observer des modifications de signal associant des composants de type liquidien, grasseux et/ou fibreux. La prolifération synoviale associée semble rare et habituellement modérée (*Figure 11*).

- Les explorations ultrasonographiques peuvent être utilisées en pratique en raison de leur caractère non-invasif et de leur faible coût. L'échographie de l'épaule ou de la hanche montre l'épaississement des capsules articulaires et tendons infiltrés, et un éventuel épanchement articulaire (118, 129).

Toutes ces images ne sont cependant pas spécifiques de l'amylose.

### **1.3.3. Méthodes isotopiques**

L'utilisation de traceurs isotopiques spécifiques des dépôts amyloïdes permet d'établir une cartographie de ces dépôts dans le corps entier et de suivre leur évolution. Il s'agit cependant le plus souvent de protéines amyloïdes marquées à l'iode radioactif, ce qui induit une irradiation corporelle non négligeable et ne permet pas la répétition des examens de façon rapprochée. Le composant P marqué, ou son précurseur la glycoprotéine sérique SAP, marqués à l'iode 123 permet de localiser et de quantifier *in vivo* par scintigraphie les dépôts amyloïdes de toutes les variétés d'amylose humaine (67, 107). La scintigraphie au composant sérique amyloïde P marqué à l'iode 131 est une alternative, mais elle ne permet pas d'établir la cartographie espérée de l'amylose (167). L'étude scintigraphique de la distribution de la  $\beta_2$ -M humaine reconstituée marquée à l'iode 131 (81) ou à l'indium 111 (82) a été proposée pour visualiser spécifiquement les dépôts amyloïdes chez les patients dialysés. Si les résultats sont meilleurs qu'avec le composant P marqué (82), l'importance de l'irradiation ne permet pas de l'utiliser en pratique.



*Figure 11: IRM d'épaule en pondération T2: Epaisseur considérable de la coiffe des rotateurs et géode bien cerclée de la tête humérale en regard du trochiter, apparaissant en hypersignal.*

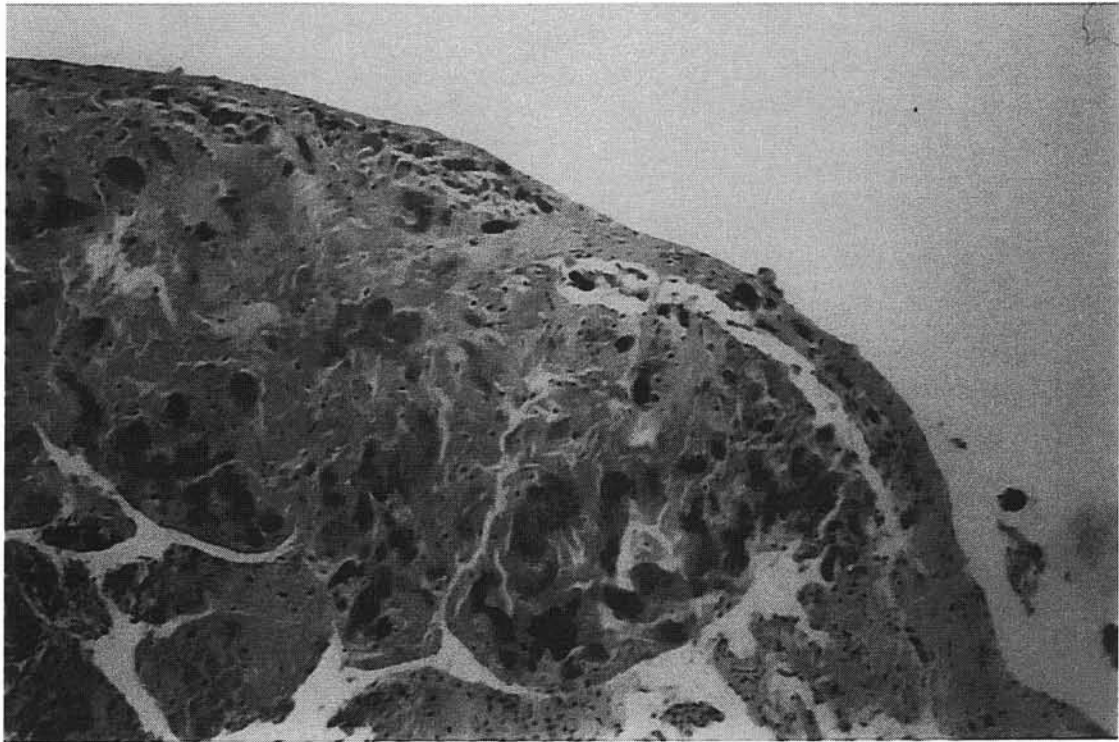
#### 1.3.4. Anatomie pathologique

Le diagnostic de certitude de l'amylose repose essentiellement sur l'examen histologique. Observés en microscopie optique, en coloration standard (hématoxyline-éosine-safran), les dépôts amyloïdes apparaissent sous forme de dépôts bruns orangés, amorphes, acellulaires, anhistes (*Figure 12*). Ils se forment au contact des matrices extracellulaires dans les parois vasculaires ou dans le tissu conjonctif interstitiel. Ils n'entraînent généralement que peu de réaction inflammatoire avoisinante, mais peuvent être entourés de cellules inflammatoires à prédominance macrophagique.

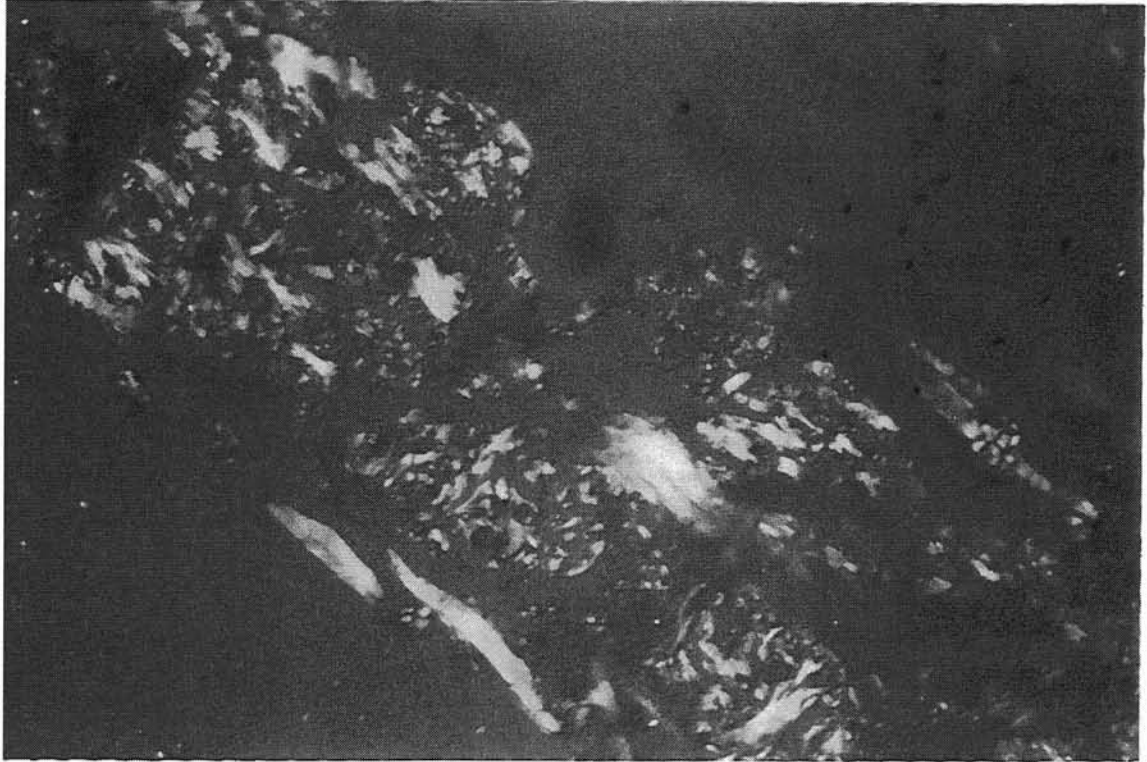
La mise en évidence formelle repose sur l'observation en lumière polarisée d'une coupe histologique colorée par le Rouge Congo, qui est la seule coloration spécifique de l'amylose. La biréfringence observée avec dichroïsme jaune-vert découle de la structure  $\beta$ -plissée de la protéine amyloïde (*Figure 13*). L'amylose présente par ailleurs de nombreuses affinités tinctoriales non spécifiques qui n'ont pas de valeur diagnostique fiable: éosinophilie, positivité au PAS, métachromasie au cristal violet, coloration par la thioflavine T.

L'étude ultrastructurale permet parfois seule de mettre en évidence de petits dépôts amyloïdes, qui présentent, en microscopie électronique à transmission, un aspect fibrillaire caractéristique (*Figure 14*): amas ou faisceaux de fibrilles enchevêtrées, situés souvent entre les fibres collagènes, ainsi qu'à l'intérieur ou autour des cellules macrophagiques (173). Le diagnostic d'amylose posé, il convient d'identifier la protéine amyloïde. La technique d'oxydation par le permanganate de potassium (réaction de Wright) permet de différencier les amyloses sensibles, avec disparition de la coloration au rouge congo et de la biréfringence (amyloses AA,  $\beta$ 2-M), de celles qui sont résistantes (amylose AL, transthyrétine).

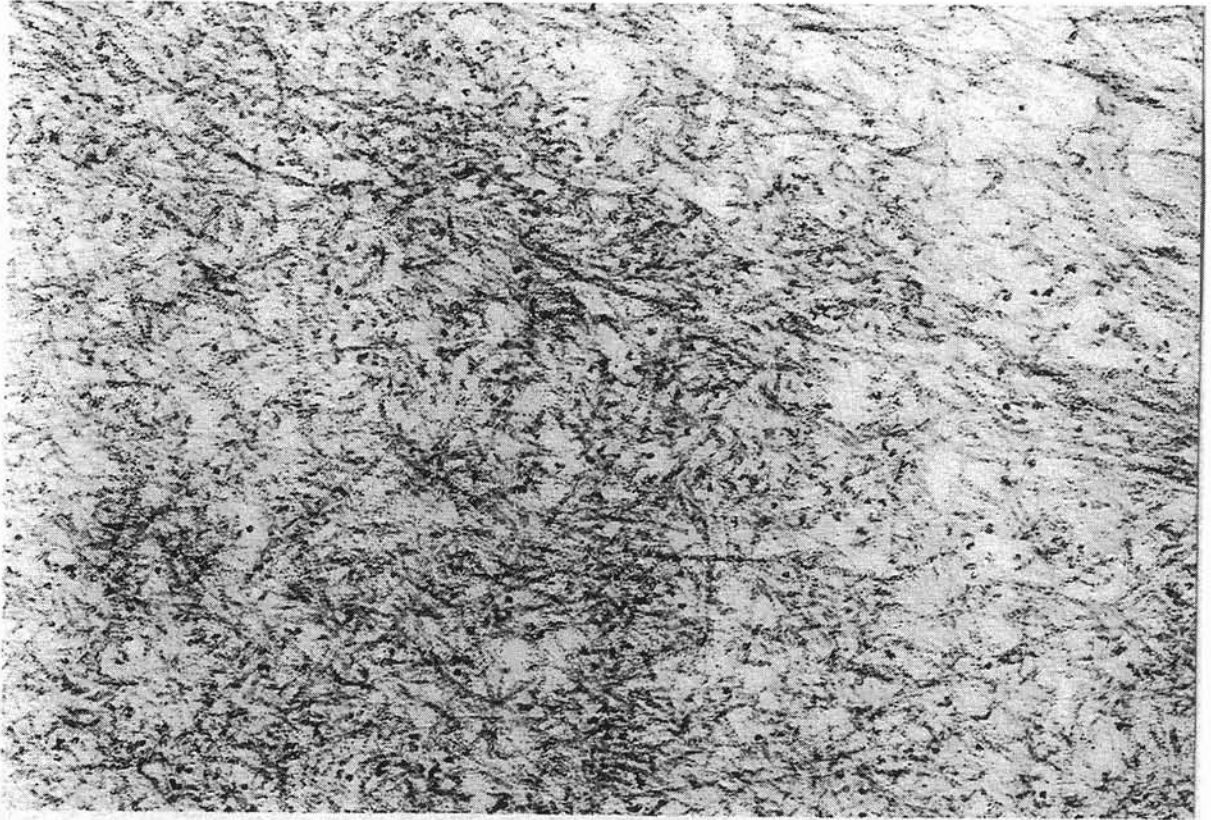
Pour typer l'amylose, il est actuellement, préférable de recourir à l'utilisation d'anticorps monoclonaux qui sont disponibles pour différentes protéines amyloïdes, dont la  $\beta$ 2-M (*Figure 15*). Les complexes formés par l'anticorps et la protéine amyloïde sont ensuite révélés par différentes méthodes: immunohistochimiques, immunofluorescentes ou immunoenzymatiques.



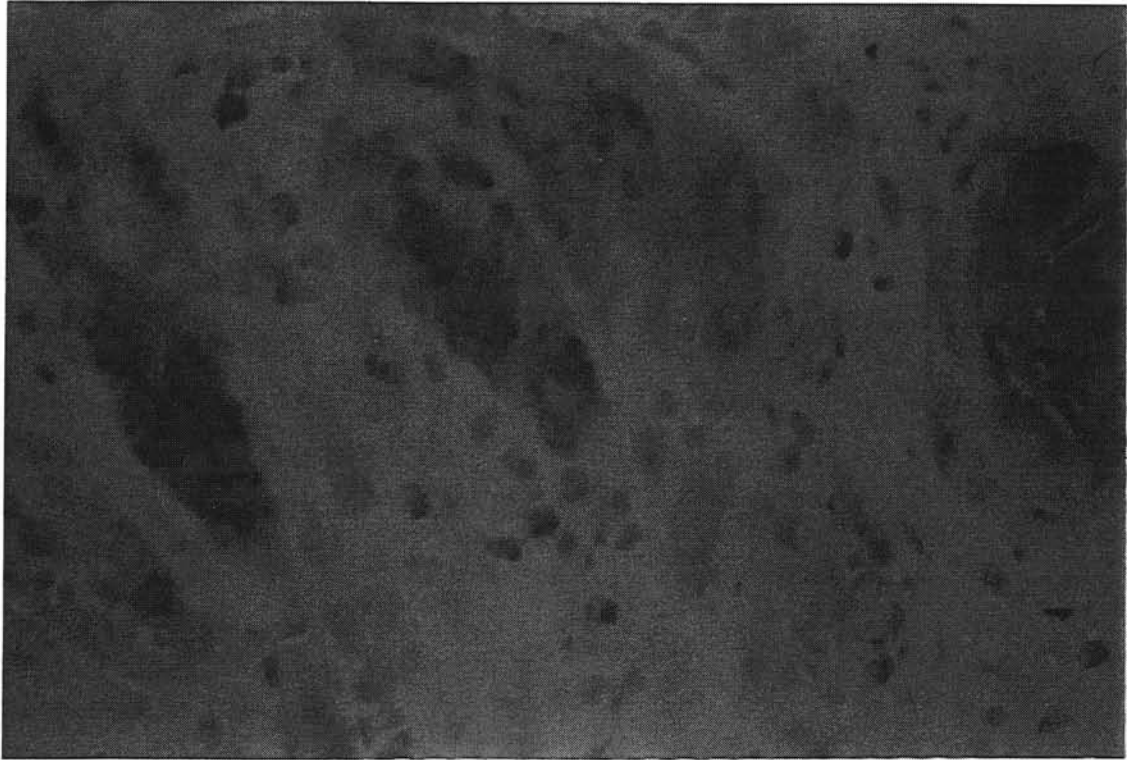
*Figure 12: Microscopie standard. En coloration à l'hématoxyline-éosine-safran, les dépôts d'amylose apparaissent orangés.*



*Figure 13: Microscopie polarisante. Biréfringence caractéristique des dépôts amyloïdes colorés par le rouge congo avec dichroïsme jaune-vert.*



*Figure 14: Microscopie électronique: aspect fibrillaire correspondant à des faisceaux de fibrilles amyloïdes enchevêtrées (Grossissement x 39).*



*Figure 15: Immunohistochimie. Anticorps spécifiques anti $\beta$ 2-M humaine (Complexe avidin-biotine-peroxydase). Mise en évidence des dépôts amyloïdes, qui apparaissent en coloration brunâtre.*



## **2. SYNDROME DU CANAL CARPIEN ET AMYLOSE $\beta$ 2-M** **CHEZ LE DIALYSE: DONNEES ACTUELLES.**

Si les mécanismes impliqués dans l'amylose  $\beta$ 2-M font l'objet de nombreuses recherches, le rôle des dépôts amyloïdes dans les manifestations articulaires des dialysés n'est toujours pas établi de façon formelle. Homma *et al.* (113) ont rapporté une forte corrélation entre l'existence de géodes osseuses de type amyloïde dans le carpe et l'existence d'un syndrome du canal carpien. En effet, dans leur série de 26 patients opérés d'un syndrome du canal carpien, 76,9% présentaient des géodes carpiennes. De façon similaire, d'autres auteurs ont suggéré que la présence de géodes osseuses carpiennes présentant une croissance rapide et donc évocatrices d'une amyloïdose osseuse serait un bon indicateur du syndrome du canal carpien débutant chez le dialysé (140). *In vitro*, la  $\beta$ 2-M inhibe l'action des ostéoblastes en culture (128). *In vivo*, l'injection de  $\beta$ 2-M dans le tissu sous-cutané de la région occipitale chez la souris, induit une résorption osseuse de voisinage de la même façon que l'injection de PTH (126). Chez le rat, en revanche, la  $\beta$ 2-M semble être un facteur de croissance osseuse (15419). Ce même effet a été retrouvé *in vitro* sur des cellules osseuses en culture (50, 74).

Chez certains dialysés souffrant de syndrome du canal carpien, la diffusion systémique du processus amyloïde a pu être démontré (209). Il n'y a cependant pas encore de certitude quant à la responsabilité des dépôts d'amylose  $\beta$ 2-M dans le syndrome du canal carpien du dialysé. Si dans certains cas, ils sont suffisamment importants pour comprimer le nerf médian (8, 13), leur taille est très variable, et une compression macroscopique n'est pas toujours visible lors de l'intervention. La présence d'amylose n'est parfois authentifiée que par l'examen anatomopathologique avec colorations spécifiques.

Plusieurs études *in vivo* ont montré la présence d'une accumulation de cellules macrophagiques autour des dépôts de  $\beta$ 2-M dans le tissu ténosynovial prélevé chez des dialysés avec amylose connue et opérés d'un canal carpien (11, 158). De plus, le surnageant de culture de ces tissus ténosynoviaux contient de l'IL-1 et de l'IL-6, cytokines qui stimulent la prolifération des cellules synoviales (158). Les techniques de RT-PCR et d'immunohistochimie ont montré une activation des gènes codant pour les cytokines

inflammatoires et des molécules d'adhésion dans les tissus téno-synoviaux de canal carpien avec dépôts amyloïdes (117). Ceci pourrait être à l'origine de la téno-synovite souvent associée. Selon Bardin (19) et Le Viet (144), cette téno-synovite jouerait elle-même un rôle dans la compression du nerf médian dans plus de 40% des mains amyloïdes.

Cependant, selon Argilès *et al.* (11), les cellules macrophagiques entourant les dépôts amyloïdes sont présentes en faible nombre et ne paraissent pas exprimer les antigènes de surface de macrophages activés. L'amylose est inconstante dans le canal carpien. Sa fréquence varie de 50% (95) à 100% (14, 93) des cas selon les séries. Par ailleurs, des biopsies de l'articulation sterno-costo-claviculaire réalisées de façon systématique lors d'intervention pour parathyroïdectomie mettent en évidence des dépôts d'amylose  $\beta$ 2-M chez des patients totalement asymptomatiques (221). Ceci se vérifie également pour d'autres sites de prélèvement (205). De même, des géodes osseuses caractéristiques d'une amylose osseuse peuvent être de découverte fortuite sur des radiographies standard chez des dialysés (19, 113, 133). Il faut noter également que, si la transplantation rénale s'accompagne de la disparition des signes cliniques d'arthropathie du dialysé chez la plupart des patients, les dépôts amyloïdes déjà présents persistent, et la taille des géodes osseuses peut même augmenter (23, 135), ce qui ne plaide pas en faveur de leur responsabilité directe dans la symptomatologie clinique.

D'autres facteurs paraissent impliqués dans le développement du syndrome du canal carpien chez le dialysé, soit de façon isolée, soit en relation avec l'amylose  $\beta$ 2-M. Ainsi, l'existence d'une neuropathie périphérique associée, liée à l'insuffisance rénale chronique, pourrait d'une part contribuer à fragiliser le nerf médian, en le rendant plus vulnérable à la compression, et d'autre part, freiner la récupération postopératoire (125, 157, 207). Signalée dans 25% des cas (202, 207), elle est rarement recherchée par une étude électromyographique systématique, et sa fréquence est sans doute sous-estimée (40% des patients dans notre étude personnelle).

Le rôle de la fistule artério-veineuse (FAV) reste très discuté. Sa responsabilité directe a été suspectée par de nombreux auteurs en raison de la prédominance du syndrome du canal carpien du côté non-dominant, site habituel de la FAV (6, 157, 165, 207, 214). Les mécanismes envisagés sont multiples: oedème local et augmentation de la pression intracanaulaire, compression directe du nerf par les veines dilatées ou encore ischémie du nerf

médian par syndrome de “ vol artériel radial ” lié à la présence du shunt (6, 36, 215). Une analyse plus fine par Gilbert *et al.* (99) a montré une corrélation entre le côté de la FAV utilisée le plus longtemps, et le côté du canal carpien, mais 11 des patients de cette étude présentaient tout de même une atteinte bilatérale. Or, l’augmentation de volume local liée à la présence de la FAV ne peut rendre compte de la fréquence des atteintes bilatérales. De plus, la proportion de syndrome du canal carpien avec FAV homolatérale, varie dans la littérature de 100% (214) à 55% seulement (58, 144). En revanche, les modifications hémodynamiques générales liées à l’insuffisance rénale chronique et la dialyse pourraient intervenir (131).

Onishi *et al.* (179) décrivent l’association de lésions de type osteitis fibrosa avec des dépôts osseux d’amylose  $\beta$ 2-M. En dehors de l’étude de Corradi *et al.* en 89 (58) qui rapporte une forte association entre antécédents de parathyroïdectomie et syndrome du canal carpien, l’hyperparathyroïdie ne semble cependant pas avoir d’influence sur la survenue du syndrome du canal carpien (99, 133, 173, 202, 211), de même que l’intoxication aluminique ou la surcharge en fer (19, 173). Une seule étude fait état de la présence de microcristaux d’apatite associés aux dépôts amyloïdes dans le canal carpien (19). Le rôle favorisant des membranes celluloses, hypothèse avancée par Chanard *et al.* (51), est difficile à vérifier en pratique. La plupart des études ne montrent pas de différence significative entre membranes celluloses et membranes synthétiques biocompatibles en terme de prévalence du syndrome du canal carpien (133, 211). L’utilisation de membranes biocompatibles retarderait, plus qu’elle n’empêcherait l’apparition de l’arthropathie (211). De plus, si le canal carpien amyloïde a été décrit initialement chez les insuffisants rénaux traités par hémodialyse chronique, tous les modes d’épuration extra-rénales peuvent être concernés: hémofiltration (189), dialyse péritonéale (49, 57, 119). L’amylose peut même se développer chez le sujet âgé insuffisant rénal, avant épuration extra-rénale (222). Un authentique syndrome du canal carpien avec dépôts histologiques d’amylose  $\beta$ 2-M a été rapporté chez un insuffisant rénal chronique, avant même la mise en dialyse (136).

### **3. ETUDE CLINIQUE:**

#### **Etude des circonstances étiopathogéniques du syndrome du canal carpien chez le dialysé: rôle des dépôts amyloïdes.**

##### **3.1. Bases et objectifs**

Devant la variabilité des données de la littérature, il nous a paru nécessaire de démembler ce groupe très hétérogène de patients dialysés avec syndrome du canal carpien. Nous avons entrepris une étude prospective visant à déterminer la proportion exacte de syndromes du canal carpien avec dépôts amyloïdes chez des patients dialysés opérés depuis 1989 dans le service de Chirurgie Orthopédique et Traumatologique (Pr Delagoutte et Pr Mainard). Nous avons également analysé les circonstances étiopathogéniques de survenue des canaux carpiens avec et sans amylose dans cette même population.

Les patients ont bénéficié d'une étude clinique, électromyographique, biologique et radiologique systématique, ainsi que d'un examen macroscopique et de prélèvements per-opératoires systématiques de la synoviale, des tendons fléchisseurs, du nerf médian et du ligament annulaire du carpe, ainsi que sur toute zone évoquant des dépôts d'amylose. Ces prélèvements ont ensuite été étudiés en microscopie optique, en lumière polarisée après coloration par le rouge congo, ainsi qu'en microscopie électronique et enfin, en immunohistochimie avec des anticorps anti  $\beta$ 2-M, anti-chaînes légères, et anti-amylose AA permettant de typer l'amylose. Ceci nous a permis de déterminer la proportion exacte de canaux carpiens avec dépôts d'amylose  $\beta$ 2-M, de comparer les données de l'examen macroscopique et microscopique, et surtout de déterminer les facteurs spécifiques aux canaux carpiens avec et sans amylose.

##### **3.2. Résultats actuels.**

Nous avons réuni une série de 41 canaux carpiens opérés chez 30 patients âgés en moyenne de 58 ans et dialysés depuis en moyenne 10 ans au moment de la première intervention. Onze patients ont été opérés de façon bilatérale. L'examen macroscopique per-opératoire notait la présence de dépôts évocateurs d'amylose dans 16 canaux carpiens (39%) (*Figure 16*). L'examen microscopique systématique n'a pas confirmé l'amylose chez 3

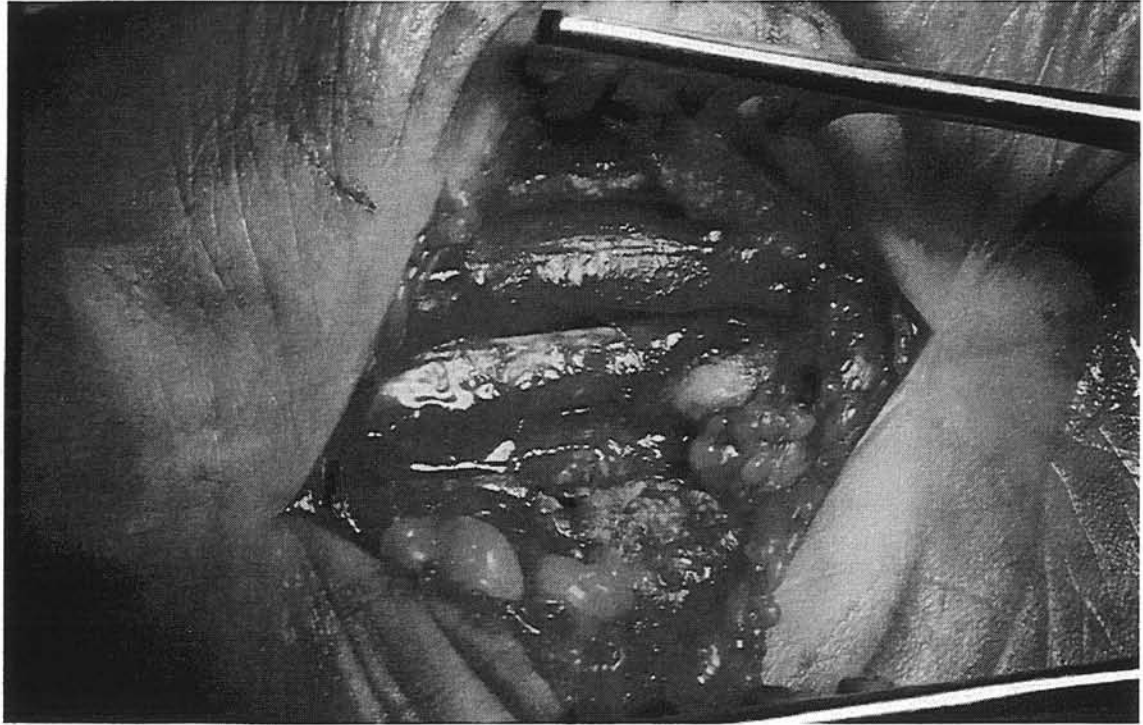
d'entre eux. De plus, il s'est montré plus performant en détectant la présence d'amylose dans 26 canaux carpiens soit 63,4% des cas. Dans un cas, seule l'étude ultrastructurale a permis de révéler la présence d'amylose. La protéine amyloïde déterminée par immunohistochimie était toujours de type  $\beta$ 2-M.

L'analyse de cette série, portant sur les données démographiques, les conditions de dialyse, les données biologiques et radiologiques, les constatations per-opératoires et anatomopathologiques, a permis d'isoler deux types de canaux carpiens:

- Les syndromes du canal carpien avec dépôts d'amylose, toujours de type  $\beta$ 2-M, s'intègrent réellement dans le cadre d'une arthropathie du dialysé. Sans prédominance féminine, souvent bilatéraux et récidivants, ils sont associés de façon statistiquement significative avec une durée de dialyse prolongée, et des arthralgies touchant préférentiellement les épaules. De même, la présence de géodes osseuses est retrouvée avec une fréquence plus élevée.

- Les syndromes du canal carpien sans dépôts amyloïdes prennent les caractéristiques d'un syndrome du canal carpien idiopathique. Il reste cependant à déterminer si leur fréquence est la même que dans la population générale.

Il n'existe pas de différence significative entre ces deux groupes en terme de fréquence de l'hyperparathyroïdie, de neuropathie périphérique, de fistule artério-veineuse homolatérale ou de membranes utilisées. Les données de l'examen clinique et électromyographique sont en faveur d'une atteinte plus sévère en cas d'amylose histologique associée, mais sans différence statistiquement significative. Les données biologiques (bilan phosphocalcique, PTH, aluminémie) sont comparables entre les deux groupes.



*Figure 16: Canal carpien après ouverture du flexor retinaculum: abondants dépôts amyloïdes, jaunâtres, granuleux sur les tendons fléchisseurs, le nerf médian associés à une prolifération synoviale inflammatoire modérée*

En conclusion, les dépôts amyloïdes, recherchés par une étude anatomopathologique, ultrastructurale et immunohistologique systématiques, étaient présents dans 63,4% de nos syndromes du canal carpien. Seuls les syndromes du canal carpien amyloïdes s'intégraient dans le cadre d'une arthropathie. Aussi, en l'absence d'amylose  $\beta$ 2-M histologiquement prouvée, ou lorsque la durée de dialyse est inférieure à 15 ans, le syndrome du canal carpien ne semble pas constituer à lui seul un critère d'arthropathie du dialysé.

Amyloid and non-amyloid carpal tunnel syndrome in chronic dialysis patients.

CHARY-VALCKENAERE I, KESSLER M, MAINARD D, SCHERTZ L, CHANLIAU J, CHAMPIGNEULLE J, POUREL J, GAUCHER A, NETTER P.

Journal of Rheumatology, 1998;25:1164-70

C 09

MANIFESTATIONS RHUMATOLOGIQUES REVELATRICES  
D'UNE MALADIE DE BUERGER. 3 CAS

P. Chazeraïn<sup>1</sup>, O. Lambotte<sup>1</sup>, C. Vinciguerra<sup>1</sup>, O. Meyer<sup>2</sup>, JM. Ziza<sup>1</sup>  
<sup>1</sup> Service de Rhumatologie - Hôpital de la Croix Saint Simon - 75020 PARIS  
<sup>2</sup> Service de rhumatologie - Hôpital Bichat - 75018 PARIS

Les manifestations articulaires sont rares et exceptionnellement révélatrices de la maladie de Buerger (MB). Nous en rapportons 3 cas.

Observation n°1 : Homme de 34 ans, fumeur (29 paquets-année : PA) consulte pour un syndrome du canal carpien bilatéral. Deux mois plus tard survient une ischémie des pulpes des trois derniers doigts des deux mains. L'artériographie montre une thrombose de l'artère cubitale et de multiples sténoses des artères interosseuse et interdigitale. L'évolution est favorable sous Diprostat ® et arrêt définitif du tabac.

Observation n°2 : Homme de 31 ans, atteint d'un syndrome de Raynaud depuis trois ans, fumeur (13 PA) consulte pour des polyarthralgies inflammatoires des MCP, des IFF s'accompagnant secondairement d'une ischémie du pied gauche avec une thrombophlébite superficielle saphène interne. L'artériographie montre un aspect grêle de la tibiale antérieure à son tiers moyen et son amputation à son tiers distal. L'évolution est favorable avec une anti-coagulation efficace et après arrêt définitif du tabac.

Observation n°3 : Homme de 31 ans, fumeur (20 PA) adressé pour une polyarthrite aiguë symétrique des coudes, des épaules, des genoux, des chevilles et des poignets avec présence de synovites. Syndrome de Raynaud des quatre membres compliqué rapidement d'ulcérations et de nécroses pulpaire des trois premiers doigts des deux mains. L'artériographie des membres supérieurs montre une artériopathie distale évocatrice de MB avec disparition de certains troncs interdigitaux. L'évolution est favorable après arrêt définitif du tabac et traitement vasodilatateur par inhibiteur calcique. Un bilan complet étiologique de thrombose est resté négatif dans ces 3 observations.

Les manifestations ostéo-articulaires associées à la MB semblent rares mais sont sans doute méconnues. Elles ne sont pas signalées dans les grandes séries de la littérature. Puéchal (Rev Rhum 1995, 10, 699) a rapporté 11 patients parmi une série de 106 MB avec manifestations articulaires périphériques. Quenneville (Angiology 1981, 32, 424-432) a observé 2 patients avec des symptômes articulaires au cours d'une MB. La physiopathologie de ces manifestations reste à préciser mais ce mode de révélation doit être connu car il peut permettre un diagnostic précoce de MB améliorant le pronostic fonctionnel de ces patients.

C 10

MANIFESTATIONS RHUMATISMALES DES SYNDROMES  
MYELOYDYSPLASIQUES ET MYELOPROLIFÉRATIFS

V. Dehlinger, J. Leone, JP. Vihque, AM. Blaise, B. Pignon, JL. Pennaforte, JP. Eschard, JC. Etienne

Si les manifestations systémiques au cours des syndromes myélodysplasiques et myéloprolifératifs sont connues, le recours aux traitements de fond devant une corticorésistance reste à débattre. Nous rapportons six observations parmi lesquelles un traitement de fond est introduit dans trois cas.

Trois polyarthrites (oedémateuses :2, rhumatoïde :1), un lupus, des arthromyalgies, une oligoarthritis sont respectivement associés à une anémie réfractaire, une splénomégalie myéloïde, une polyglobulie, deux leucémies myélomonocytaires chroniques et une leucémie myéloïde chronique. Sexe ratio : 1/1. Age moyen : 59 ans.

Une atteinte systémique s'exprime par des lésions cutanées (5/6), une fièvre (2/6), une glomérulonéphrite (1/6), une diarrhée (1/6). L'apparition de l'atteinte articulaire marque l'aggravation de l'hémopathie dans la moitié des cas. Le syndrome inflammatoire est constant, des anticorps antinucléaires (>1/2000) présents dans trois quart des cas. L'étude histologique montre deux vascularites, une glomérulonéphrite.

Si la corticothérapie à faible dose contrôle le rhumatisme (3/6), elle permet au delà de 0,5 mg/kg/j une correction transitoire des anomalies hématologiques. Le recours au Methotrexate, à la Dapsone ou à la Salazopyrine devant trois cas de corticorésistance est efficace sur les manifestations rhumatismales avec une bonne tolérance hématologique. L'aggravation contemporaine des manifestations hématologiques et systémiques, la réponse favorable à la corticothérapie plaident en faveur d'une origine auto-immune. L'utilisation des traitements de fond, voire d'immunosuppresseurs est envisageable en cas de corticorésistance.

C 11

PATHOLOGIES TENDINEUSES ET FLUORO-QUINOLONES

A. Dumolard\*, Ph. Gaudin\*, B. Raffard\*, M. Mallaret\*\*, M. Bolland\*\*, X. Pheilo\*

\*Service de Rhumatologie, \*\*Centre Régional de Pharmacovigilance - CHU - BP 217 - 38043 GRENOBLE CEDEX -

\*\*\* Laboratoire de Physiologie et Pharmacologie - UFR de Pharmacie - Domaine de la Mérci - 38706 LA TRONCHIE CEDEX

Les fluoro-quinolones prennent une importance croissante en thérapeutique anti-infectieuse de par leur large spectre antibactérien, leurs qualités pharmacocinétiques et leur bonne tolérance. Cependant, l'utilisation croissante de ces antibiotiques coïncide avec la description de nouvelles complications rhumatologiques, notamment tendineuses, potentiellement graves sur le plan fonctionnel. Le but de cette mise au point est de préciser les caractéristiques des tendinopathies sous fluoro-quinolones et de définir d'éventuels facteurs de risque de développer cet effet indésirable. Après un rappel sur les quinolones, notamment leurs indications et leurs effets indésirables en rhumatologie, nous pourrions aborder les caractéristiques des tendinopathies survenant sous traitement par fluoro-quinolones. Pour cela, seront confrontés les résultats de l'enquête nationale de pharmacovigilance réalisée en 1994, un revue de la littérature portant sur 33 cas, enfin l'analyse de 10 nouveaux cas rapportés par le Centre Régional de Pharmacovigilance de Grenoble.

C 12

SYNDROME DU CANAL CARPIEN CHEZ L'HEMODIALYSE  
CHRONIQUE : AMYLOÏDE OU IDIOPATHIQUE ?

A PROPOS D'UNE SERIE DE 38 CANAUX CARPIENS OPERES.  
L. Schartz, M. Kessler, D. Mainard, J. Chanliau, P. Netter, J. Chamoigneulle, J. Pourcel, I. Valckenburg. CHU Nancy-Brabois, 54500 Vandœuvre-les-Nancy.

Le syndrome du canal carpien (SCC) représente la complication rhumatologique la plus fréquente de l'hémodialyse chronique (HD).

**Objectif :** Préciser l'étiopathogénie du SCC de l'HD par l'analyse des constatations clinico-radiologiques, opératoires et anatomopathologiques.

**Méthode :** Etude rétrospective de 38 canaux carpiens opérés chez 28 dialysés chroniques (27 HD, 1 dialyse péritonéale), dont 24 femmes et 14 hommes, d'un âge moyen de 59 ans (29-78 ans). Tous les patients ont bénéficié d'un examen clinique et d'explorations biologiques, radiologiques et électromyographiques. L'analyse lésionnelle per-opératoire a porté sur le nerf médian, l'aspect de la synoviale, du ligament annulaire du carpe et des tendons fléchisseurs. Les prélèvements histologiques ont été étudiés en microscopie optique avec coloration spécifique de l'amylose, en microscopie électronique et en immunohistochimie pour typage de la protéine amyloïde.

**Résultats :**

SCC	Nb	âge m	♂/♀	durée HD m (ans)	fistule homolat	arthralgies associées	ténosynovite fléchisseurs
amyloïde	24	60	11/13	13,7	58 %	46%	38%
idiopathique	14	57	3/11	7,3*	42%	7%**	14%

m : moyenne ; \* p<0,05 test t de Student ; \*\* p<0,05 test  $\chi^2$

Dans 63% des cas, le SCC est lié à des dépôts amyloïdes, toujours de type  $\beta$ -2-microglobuline ( $\beta$ 2m) et survient dans un contexte d'arthralgies. Dans ce cas, la durée d'HD est longue, et le sex ratio de 1. Il s'y associe une synovite abondante et adhérente ainsi qu'une ténosynovite des fléchisseurs.

**Conclusion :** Si le SCC de l'HD survient le plus souvent dans le cadre d'une amylose  $\beta$ 2m, il faut noter que, dans plus du tiers des cas, le SCC demeure idiopathique et de bon pronostic. Il ne doit donc pas être systématiquement considéré comme un critère d'arthropathie amyloïde de l'hémodialysé.



ACR Poster Session A  
Crystal-Induced Arthritis  
103 Sunday, November 9, 1997, 8:00 AM-9:30 AM

THE MITOGENIC RESPONSE TO BASIC CALCIUM PHOSPHATE (BCP) CRYSTALS IS ASSOCIATED WITH INDUCTION OF THE TRANSCRIPTION FACTOR NUCLEAR FACTOR  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) IN BALB-c/3T3 AND HUMAN FIBROBLASTS. Geraldine M. McCarthy, Pamela A. Christopherson, Albert S. Baldwin\*, Robert L. Scheinman\*, Medical College of Wisconsin, Milwaukee, WI, 53226. University of North Carolina, Chapel Hill, NC 27599\* and University of Colorado Health Sciences Center, Denver, CO 80262.\*

Synovial fluid BCP crystals are associated with severe degenerative arthritis and marked synovial proliferation. BCP crystals induce mitogenesis in cultured fibroblasts. The mitogenic response involves activation of protein kinase C (PKC) and is inhibited in the presence of the PKC inhibitor staurosporine. Transcription factor NF- $\kappa$ B is critical to many signal transduction pathways and is induced during mitogenesis in mouse fibroblasts. The induction of NF- $\kappa$ B involves the modification of inhibitor  $\kappa$ B (I $\kappa$ B) by direct PKC-catalyzed phosphorylation.

Using a radio-labeled probe and electrophoretic mobility shift assays, we investigated the induction of NF- $\kappa$ B by BCP crystals in Balb-c/3T3 and human fibroblasts (HF). In Balb-c/3T3 fibroblasts, DNA-binding was maximal in nuclear extracts harvested 1 hour following stimulation with BCP crystals. Recombinant I $\kappa$ B completely inhibited DNA-binding of the protein complex. The addition of a polyclonal antibody against the C-terminal of the human p50 subunit of NF- $\kappa$ B to the binding reaction resulted in a supershifted complex.

In HF, DNA binding was maximal in nuclear extracts harvested 4 hours following stimulation with BCP crystals. The addition of polyclonal antibodies against the p50 and p65 subunits of NF- $\kappa$ B to the binding reaction resulted in supershifted complexes. When HF were stimulated with BCP crystals in the presence of the PKC inhibitor staurosporin, there was a concentration-dependent inhibition of DNA binding.

These data confirm the ability of BCP crystals to induce NF- $\kappa$ B in fibroblasts and suggest that PKC plays a role in its induction. NF- $\kappa$ B may be an important mediator of the mitogenic response of fibroblasts to BCP crystals.

104

REGULATION OF ANGIOGENIN (ANG) PRODUCTION: ROLE OF MONOSODIUM URATE (MSU) CRYSTALS AND TRANSFORMING GROWTH FACTOR BETA (TGF $\beta$ ). Elisabé R. Champy, T. Bardin, Laboratoire d'Histopathologie Synoviale (ER254), Hôpital Lariboisière, Université Paris VII, Paris, France.

ANG and TGF $\beta$  are two growth factors present in synovial fluids (SFs) from various arthritis. Recently, ANG SF levels have been correlated with SF cell number, therefore suggesting a regulatory control in acute inflammation. ANG is secreted by cultured human synovial fibroblasts (FB) but its regulation is unknown. TGF $\beta$  is associated with anti-inflammatory properties and could act as a regulatory cytokine in MSU crystal-induced acute inflammation.

**Aim of the study and methods:** We studied: i) the distribution and kinetics of ANG in SF during the resolution of acute gouty attacks, and ii) the role of TGF $\beta$  on the regulation of the production of ANG by FB. ANG levels were measured by ELISA (R&D Systems, UK) in human SF and in supernatants from cultured FB. SFs were obtained from 8 patients (pts) with acute gout (G), 4 with CPPD attack and 9 pts with osteoarthritis (OA) of the knee. In addition, serial (2-4) SF samples were obtained from 3 pts with gout. FB were isolated from RA synovium according to standard procedures and subcultured (5.10<sup>6</sup> cells/well - 24 well plates - HAM:F12 medium/ 10% FCS) with or w/o i) sterile MSU crystals for 48 hours or ii) 5 ng/ml human recombinant TGF $\beta$  (R&D Systems, UK) for 6 days.

**Results:** Mean ANG levels were significantly higher in SF from pts with CPPD or G compared to OA (p<0.001). ANG level was correlated with total SF cell count. With respect to good outcome, ANG levels decreased in all gouty joints sampled serially within 1 to 5 days after diagnosis. *In vitro* studies showed that the production of ANG by FB was significantly decreased after 48 hours with MSU crystals compared to spontaneous production (p=0.03). No cytotoxicity was observed in FB cultures. TGF $\beta$  stimulated FB proliferation as compared to controls (p=0.006) but reduced by 52% the secretion of ANG related to cell number (p=0.003) after 6 days of culture.

**Conclusion:** These results confirm that ANG is present in acute SF triggered by microcrystals and correlates with the cell number. It suggests two possible regulatory pathways of ANG secretion by FB since both MSU crystals and TGF $\beta$ , a cytokine with anti-inflammatory properties, are able to reduce ANG production by FB *in vitro*.

105

IDENTIFICATION OF INTERLEUKIN-8 PRODUCING CELLS IN MONOSODIUM URATE CRYSTAL-INDUCED ARTHRITIS IN RABBITS. Akito Nishimura, Tohru Akahoshi, Sumiaki Tanaka, Shigeru Hosaka, Kenji Takagishi, Moritoshi Itohan and Hirobumi Kondo, Kitasato University and Gunma University, Japan.

Neutrophils have been shown to have a crucial role in the pathogenesis of monosodium urate (MSU) crystal-induced gouty arthritis. We previously reported the attenuation of neutrophil recruitment by a neutralizing antibody against interleukin-8 (IL-8) in acute gouty arthritis in rabbits. Thus, we further investigate IL-8 producing cells in acute gouty arthritis. IL-8 production was determined by a specific ELISA, immunostaining and RT-PCR. Injection of MSU crystals (10mg) into rabbit knee joints caused a rapid and massive accumulation of neutrophils in synovial fluids (SF), starting at 6hr and reaching a maximum at 12hr. The injection of the crystals also induced an elevation in SF IL-8 levels, reaching a peak level at 2hr. Immunoreactive IL-8 was detected in infiltrating neutrophils as early as 3 to 24hr, and in synovial lining cells at 12 to 24hr following the injection. Expression of IL-8 mRNA was found in both the infiltrating neutrophils and the inflamed synovial tissue at 12 to 24hr following the injection. These provide evidence on the IL-8 production of infiltrating neutrophils and synovial lining cells in acute gouty arthritis.

106

EARLY INCREASE OF MAST CELLS IN THE RAT AIR-POUCH MEMBRANE DURING EXPERIMENTAL MONOSODIUM URATE (MSU) CRYSTAL INDUCED INFLAMMATION. AN HISTOMORPHOMETRIC ANALYSIS. C. Schütz, F. Prud'hommeaux, F. Liéba, R. Champy, A. Meunier, T. Bardin, Lab. d'Histopathologie Synoviale, UR 254, Université Paris VII \*\*; LRO, URA CNRS 1432, Paris, France.

**Aim:** Changes in the synovial fluid during experimental MSU crystal-induced inflammation have been well documented but the synovial membrane has been less studied. The aim of this work was to investigate by an histomorphometric method (A&R, 1986, 38, S402) the sequence of events in rat air-pouch membranes following injection of MSU crystals.

**Methods:** Subcutaneous air pouches were obtained according to Edward's method in Sprague Dawley rats and injected with 5 mg of sterile synthetic MSU crystals resuspended in 5ml of saline or with saline alone as control. Rats (at least 6 per group) were sacrificed 2, 4, 6, 24, and 48 hours after injection. Retrieved membranes were processed for histology. Membrane contours, vessels, and cells according to their types, were digitized using a graphic tablet connected to an optical microscope at a x400 magnification. Membrane thickness and linear densities (LD) of vessels and of each type of cell were computed. As cell distributions exhibited a non Gaussian spectrum, non-parametric tests were used for statistical analysis of LDs.

**Results:** MSU crystals induced an edematous thickening of the air pouch membrane, which was maximum 24h after crystal injection (p<0.04 vs controls). Vessels LD was therefore reduced in the membrane of crystal-injected pouches 6 and 24h after injection (p<0.05 and 0.02 respectively, vs controls). LDs of polymorphonuclear cells (PMN) and mast cells exhibited significant differences between saline- and crystal-injected pouches. Membrane PMN LD peaked 24 hours after crystal injection (p<0.05 vs controls), simultaneously with PMN count in the air pouch fluid. Most interestingly, membrane mast cell LD was significantly increased in crystal-injected pouches as soon as 2 hours (p<0.034 vs control) and 6 hours (p<0.006) after crystal injection. Other cell types did not differ across crystal-injected and control pouches.

**Conclusions:** This quantitative study demonstrates that significant mast cell infiltration of air pouch membrane precedes PMN influx suggesting a role for mast cells in the early phase of MSU-induced inflammation in this model.

107

ANALYSIS OF THE METHODS FOR THE CLASSIFICATION OF RENAL HANDLING OF URATE IN GOUT. Perez-Ruiz F, Calabozo M, Alonso-Ruiz A, Ruiz-Lucea E, Herrero-Berres A, Hospital de Cruces and Hospital de Gortiz, País Vasco, SPAIN.

**PURPOSE:** To evaluate three methods (24h urinary urate excretion [24hUur], clearance of urate [Cur] and excretion of urate [EurGF]) for the classification of gouty patients as underexcretors.

**METHOD:** 24h Uur, Cur and EurGF were measured in 74 patients with chronic gout prior to therapy and in 42 patients after achieving normal serum urate levels with allopurinol (the 32 left were treated with uricosurics). Patients showing renal failure (clearance of creatinin [Cor]<50 ml/min) were not included. Patients were classified as underexcretors when 24hUur<700mg/day, Cur<6 ml/min and EurGF<0.5 mg/dlGF.

**RESULTS:** In the 74 patients studied prior to therapy, correlation between 24hUur and Cur was r=0.91(0.87-0.95), showing a kappa index of 0.83 (0.40-0.86). 24hUur and EurGF showed a correlation of r=0.52(0.33-0.67) and a kappa index of 0.27 (0.04-0.50). The correlation between 24hUur and EurGF, but not between 24hUur and Cur, was dependent on renal function. The 42 patients treated with allopurinol showed the following results (number of patients classified as underexcretors in brackets):

	24hUur (mg/day)	Cur (ml/min)	EurGF (mg/dlGF)
Basal	697±173 (22/42)	5.81±1.58 (24/42)	0.485±0.181 (25/42)
Final	470±151 (39/42)	5.83±1.57 (23/42)	0.290±0.099 (41/42)

**CONCLUSIONS:** 1) Cur, but not EurGF, shows a good correlation with 24hUur in the hyperuricemic state; 2) Cur, but not 24hUur or EurGF, does not change despite variations in serum urate levels; 3) Cur is a measure of urate renal handling capacity while 24hUur and EurGF reflect net excretion of urate.

108

CARPAL TUNNEL SYNDROME IN PATIENTS RECEIVING LONG-TERM HEMODIALYSIS: ROLE OF AMYLOID DEPOSITS. Isabelle Chary-Valckenaere, Michèle Kessler, Didier Maignan, Jacques Chanseau, Jacqueline Champagnolle, Laurence Schertz, Jacques Poullet, Patrick Neitser, CHU Nancy and URA CNRS 1288, Nancy, France.

**Background:** Carpal tunnel syndrome (CTS) is recognized as a common complication of long-term hemodialysis (HD). Although local amyloid deposits are thought to be its primary cause, they are not consistently found among patients treated surgically.

**Objective:** To determine the incidences of amyloid and non-amyloid CTS among patients undergoing HD, and to investigate associated factors.

**Methods:** Retrospective study of consecutive cases of CTS among long-term HD patients surgically treated in the same unit between 1989 and 1997. The diagnosis of CTS was based on clinical and electromyographic findings. Additional data were obtained by plain radiography, MR imaging, and laboratory investigation. Surgery included systematic macroscopic examination, and biopsy of epineurium, transverse carpal ligament, synovium, and flexor tendon sheaths. Samples were stained for amyloid and observed under plain and polarized light microscopy, and under electron microscopy. Amyloid protein was immunologically typed.

**Results:** Forty-one CTS from 30 patients were included (11 bilateral cases)

CTS	N	Age (Mean)	Male/Female	HD duration	Ipsilateral fistula	Associated arthropathy	Flexor synovitis
amyloid(+)	26	60	7/11	14.0 years	71.4 %	50 %	40 %
non-amyloid	15	57	3/9	7.7* years	57.1 %	0 %**	20 %

(\*) p<0.05 Mann-Whitney test, \*\*p<0.05  $\chi^2$  Fischer test  
**Conclusions:** The two groups were statistically significantly different with regard to duration of HD and associated arthropathy. The relatively high incidence of cases without amyloid suggests that CTS may not be a satisfactory criterion for the diagnosis of amyloid arthropathy in a patient receiving HD.

# Amyloid and Non-Amyloid Carpal Tunnel Syndrome in Patients Receiving Chronic Renal Dialysis

ISABELLE CHARY-VALCKENAERE, MICHELE KESSLER, DIDIER MAINARD, LAURENCE SCHERTZ, JACQUES CHANLIAU, JACQUELINE CHAMPIGNEULLE, JACQUES POUREL, ALAIN GAUCHER, and PATRICK NETTER

**ABSTRACT.** *Objective.* To determine the prevalence of amyloid deposits among patients with carpal tunnel syndrome (CTS) receiving dialysis, and to investigate the factors associated with amyloid and non-amyloid CTS.

*Methods.* Subjects for this prospective study were dialysis patients who underwent surgery for CTS in the same surgical unit between 1989 and 1997. CTS was diagnosed from clinical and electromyographic (EMG) findings. Systematic standard radiographs and laboratory data were also obtained. Surgical investigations included systematic macroscopic examination and biopsy of the epineurium, flexor retinaculum, synovium, and flexor tendon sheaths. Samples were stained for amyloid and examined by plain and polarized light microscopy, immunohistochemistry, and electron microscopy.

*Results.* Forty-one samples from 30 patients (11 bilateral cases) were examined. Amyloid deposits were found in 26 samples from 18 patients (7 M, 11 F). Fifteen samples from 12 patients (3 M, 9 F) showed no amyloid deposits. Amyloid CTS was statistically significantly associated with arthralgia and longterm dialysis [mean 13.3 (range 5.5–23) vs 7.5 yrs (range 3 mo–14 yrs)] in non-amyloid CTS. Flexor tenosynovitis and carpal bone erosion occurred more frequently in amyloid CTS. There were no statistically significant differences between the 2 groups in clinical, laboratory or EMG findings, type of dialysis membrane, or frequency of ipsilateral fistula. Only amyloid CTS was recurrent.

*Conclusion.* Amyloid deposits were confirmed microscopically in 63.4% of patients. The relatively large number of cases of non-amyloid CTS without signs of dialysis associated arthropathy suggests that CTS is not a satisfactory criterion for diagnosis of dialysis arthropathy or  $\beta_2$ -microglobulin amyloidosis unless the presence of amyloid has been confirmed or duration of dialysis treatment has been at least 15 years. (J Rheumatol 1998; 25:1164–70)

## Key Indexing Terms:

CARPAL TUNNEL SYNDROME  
AMYLOIDOSIS

HEMODIALYSIS  
DIALYSIS ASSOCIATED ARTHROPATHY

Carpal tunnel syndrome (CTS) was first described by Warren<sup>1</sup> in 1975, and has since been recognized as a common complication among patients receiving longterm dialysis<sup>2</sup>. Dialysis related CTS increases with duration of therapy<sup>2-4</sup> and differs from idiopathic CTS in several ways:

it is frequently bilateral, it recurs after surgery, and it is no more common in women than in men<sup>1,2,4,5</sup>.

Increasingly, CTS is reported as part of "dialysis associated arthropathy"<sup>3,4,6</sup>, occurring alone or in association with destructive arthropathies and/or spondyloarthropathies<sup>7</sup>. CTS among dialysis patients was first attributed to amyloid deposition by Assenat, *et al*<sup>8</sup>. Dialysis related amyloidosis is now thought to result from the deposition of beta-2-microglobulin ( $\beta_2$ -m) fibrils<sup>9</sup>. Extrasosseous deposits have been reported<sup>10</sup>, but bones and joints are usually affected<sup>3,9</sup>, perhaps because of the very high affinity of  $\beta_2$ -m for collagens and glycosaminoglycans<sup>11</sup>. However, the relationship between dialysis arthropathy and  $\beta_2$ -m amyloidosis is controversial. The latter condition may be suspected if cystic radiolucencies are found on standard radiographs<sup>3,12,13</sup>. Although the index of suspicion is also often considered high among medical or surgical cases<sup>4,13</sup>, amyloid deposits are not always seen in patients who have undergone surgery for CTS<sup>2,4,14</sup>.

We prospectively studied dialysis patients who had surgery for their CTS as well as systematic macroscopic and

From the Clinique Rhumatologique, Service de Néphrologie, Service de Chirurgie Orthopédique et Traumatologique and Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Centre Hospitalier Universitaire de Nancy and UMR CNRS 7561, Vandoeuvre les Nancy, France.

I. Chary-Valckenaere, MD, Assistant Professor, Clinique Rhumatologique; M. Kessler, MD, Professor of Nephrology, Service de Néphrologie; D. Mainard, MD, Professor of Orthopaedic Surgery, Service de Chirurgie Orthopédique et Traumatologique; L. Schertz, Resident, Clinique Rhumatologique; J. Chanliou, MD, Service de Néphrologie; J. Champigneulle, MD, Laboratoire d'Anatomie Pathologique; J. Poureil, MD, Professor of Rheumatology; A. Gaucher, MD, Professor of Rheumatology, Clinique Rhumatologique; P. Netter, MD, Professor of Clinical Pharmacology, UMR CNRS 7561.

Address reprint requests to Dr. I. Chary-Valckenaere, Service de Rhumatologie, Centre Hospitalier Universitaire de Nancy, 54511 Vandoeuvre les Nancy cedex, France.

E-mail: pourel@pharmaco-med.u-nancy.fr

Submitted July 30, 1997 revision accepted December 15, 1997.

microscopic examination to determine whether amyloid deposits are associated with CTS in patients receiving longterm dialysis, and to investigate factors specific to amyloid and non-amyloid CTS in this population.

## MATERIALS AND METHODS

Subjects were chronic dialysis patients operated on by one of us (DM) in the same surgical unit between June 1989 and June 1997. Before surgery, each underwent standard rheumatological examination and electromyographic (EMG) analysis, including testing for CTS and peripheral neuropathy. Additional data obtained from records included: etiology of nephropathy, dialysis start date, date and result of renal transplantation, date of parathyroidectomy, and dialysis strategy. Serum calcium, phosphorus, and alkaline phosphatase values were obtained, and assays were carried out for immunoreactive parathyroid hormone, aluminum (flameless atomic absorption), and ferritin. To detect signs of possible hyperparathyroidism and/or dialysis associated arthropathy, standard radiographs were taken of the wrists, hands, shoulders, knees, pelvis, cervical, dorsal and lumbar spine, and skull.

**Surgical procedure.** All surgery was performed by the same person. Patients were dialysed on the day before and at least 36 hours after surgery. A brachial plexus block was used in all cases. Pneumatic tourniquets were not used when the neurolysis was on the side of the vascular fistula. The median nerve, synovium, and flexor retinaculum and flexor digitorum tendons and their sheaths were examined macroscopically. Neurolysis of the median nerve was followed by synovectomy and/or tenosynovectomy of the flexors if necessary. For all patients, samples were routinely taken of the epineurium, flexor retinaculum, synovium and flexor tendon sheaths, and from lesions that appeared to contain amyloid deposits.

**Pathology.** All samples were extensively examined by an experienced pathologist in the same pathology laboratory. Tissue samples were fixed in 10% formalin and embedded in paraffin; 5 µm sections were cut, followed by removal of the paraffin, staining with hematoxylin and eosin or Congo red, and examination under plain and polarized light microscopy before and after treatment with potassium permanganate (Wright reaction). Amyloid was identified histologically by positive staining with Congo red and characteristic green birefringence under polarized light that disappeared after the addition of potassium permanganate. Perls staining was used to detect iron overload.

The typical fibrillar structure of amyloid was systematically sought by transmission electron microscopy (TEM). Samples for ultrastructural examination were fixed in 2.5% glutaraldehyde for 2 h, rinsed with cacodylate buffer for 1 h, postfixed in 1% aqueous osmium tetroxide for 90 min, rinsed in cacodylate, dehydrated, and embedded in Epon. Ultrathin sections, 0.8 µm thick, were stained with uranyl acetate and lead nitrate and examined in a Philips CM 10 electron microscope.

Finally, amyloid protein was immunologically typed in all Congo red positive samples. Immunohistochemical staining was performed on paraffin sections using an avidin-biotin immunoperoxidase complex with specific anti-β<sub>2</sub>-m, anti-light chains, and anti-AA antibodies (Dako, Denmark).

**Statistical analysis.** Means and standard deviations were calculated for all variables. Patient characteristics were analyzed with nonparametric tests at time of first surgery. Comparisons were made using Fisher's exact test for qualitative variables and the Mann-Whitney U test for quantitative variables. The level of significance was set at  $p < 0.05$ .

## RESULTS

**Demographic features of dialysed patients.** A total of 41 CTS sites were operated on in 30 patients (20 women, 10 men); 11 patients were treated bilaterally, with an interval of one month to 7 years between the 2 operations (<2 yrs in 7

cases). Average age at initial surgery was 58 years (range 29–78), and average dialysis duration was 10.4 years (3 mo–23 yrs). Postoperative followup was for an average of 3.8 years (1 mo–8 yrs). Seven patients died during followup.

Causes of renal failure included pyelonephritis and chronic interstitial nephritis (30%), chronic glomerulonephritis (30%), renal vascular disease (10%), hereditary nephropathy (7%), and renal malformation (7%); the cause was unknown in 16% of cases. No patient had amyloid nephropathy. Twenty-six patients had been receiving hemodialysis for an average of 11 years (3 mo–23 yrs); 4 had been receiving continuous ambulatory peritoneal dialysis for an average of one year (11–13 mo) at the time of surgery; of those, 3 had had hemodialysis. Seven patients had undergone unsuccessful renal transplantation. The only patient with a successful renal transplant retained a functioning vascular fistula. Six patients had undergone parathyroidectomy.

**Surgical and pathologic findings.** In 16 cases (39%), surgery revealed yellow granular deposits very like amyloid in the synovium, particularly on the flexor tendons, where they formed blocks surrounding the tendons (Table 1). Half the wrists operated on exhibited an abnormal flexor retinaculum, with thickening (18 cases) or thinning (2 cases), and a damaged median nerve. Synovial proliferation to varying degrees was common, as were adhesions in the amyloid CTS. Tenosynovitis of the flexors necessitating tenosynovectomy was 3 times more frequent among patients with amyloid.

Microscopy revealed amyloid deposits with typical tinctorial properties in 26/41 samples (63.4%). In 3 cases, macroscopic evidence of amyloid at surgery was not confirmed by microscopic examination. Immunohistochemistry showed that amyloid deposits always contained β<sub>2</sub>-m. Amyloid was found in the synovium in 23 cases, in the tendon sheaths in 15, in the flexor retinaculum in 15, epineurium in 10, and in all samples in 9 cases (Table 2). Its presence was associated with nonspecific synovitis with

Table 1. Surgical findings and treatment in 41 CTS samples.

Carpal Tunnel Syndrome	Amyloid* (n = 26) (%)	Non-amyloid* (n = 15) (%)	p
<b>Intraoperative findings</b>			
Amyloid deposits	13 (50)	3 (20)	NS
Synovitis	18 (69)	10 (66)	NS
Altered flexor retinaculum	12 (46)	8 (53)	NS
Median nerve striction	13 (50)	7 (46)	NS
<b>Surgical treatment</b>			
Synovectomy	4 (15)	4 (26)	NS
Flexor tenosynovectomy	11 (42)	3 (20)	NS

\* Determined by microscopic examination; NS: nonsignificant; Fisher exact test.

moderate inflammatory infiltration, and a macrophage reaction around the amyloid deposits. Fibrosis was observed in most cases, with or without amyloid, with proliferation of collagen in the connective tissue. No microcrystalline compounds and no iron overload were found in the biopsy samples. In all cases, ultrastructural studies confirmed amyloid deposits detected by light microscopy. Amyloid deposits were shown by TEM alone in one case.

*Clinical, radiological, and laboratory findings in amyloid and non-amyloid CTS.* Demographic characteristics of patients with amyloid and non-amyloid CTS are shown in Table 3. The ages of the 2 groups at the time of first surgery were essentially the same, as were their ages when dialysis was initiated. The sex ratio was close to 1 among amyloid CTS patients, but there were more women than men in the non-amyloid group. Amyloid CTS patients had been receiving dialysis for much longer than non-amyloid patients. The difference was statistically significant. All subjects who had been receiving dialysis treatment for 15 years or more had amyloid deposits, whereas no deposits were observed in patients who had been dialysed for 5 years or less (Figure 1). Biocompatible synthetic membranes were used most often in both groups.

Clinical and radiological findings in patients with

amyloid and non-amyloid CTS are summarized in Table 4. Clinical symptomatology was typical, with pain and paresthesia in the territory of the median nerve that was more severe at night. Symptoms were aggravated by dialysis in 4 patients (3 amyloid and one non-amyloid), but 2 (one amyloid, one non-amyloid) reported that their pain eased during dialysis sessions. Although objective neurological signs did not differ significantly between the 2 groups, hypoesthesia tended to be more frequent among amyloid CTS patients. EMG signs of median nerve damage were more severe in the amyloid CTS group, but the difference was not significant. Peripheral neuropathy was detected by EMG in 40% of both groups. Flexor tenosynovitis indicated by palmar swelling and limited active digital flexion was more frequent in the amyloid group, but again the difference did not reach statistical significance. Arthralgia, mostly in the shoulders and knees, was significantly more common in the amyloid CTS group. Bone cysts suggesting  $\beta_2$ -m amyloidosis were more frequent in association with amyloid CTS, and occurred mostly in the wrists. Radiological signs of hyperparathyroidism were observed with similar frequencies in both groups. Eighty-seven percent of non-amyloid patients presented with only one feature possibly related to dialysis associated arthropathy (i.e., operated CTS), whereas 73% of the amyloid patients had at least 2.

Table 2. Distribution of amyloid deposits in 26 tissue samples of amyloid carpal tunnel syndrome.

Case Number*	1	3	4	5R	5L	11	12L	12R	15	16	17	20	21R	21L	22	23	25L	25R	26	27	28R	28L	29L	29R	7R	10R	Total	
Synovium Tendon sheaths	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	23
Flexor retinaculum	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	15
Epineurium	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	10
All samples	+	+						+	+		+						+	+				+	+		+	+	9	

\* Patient's case number (n = 30) and side of CTS in bilateral surgery (R: right, L: left): Patients 7 and 10: 2nd CTS surgery (first was non-amyloid).

Table 3. Patient characteristics at time of first surgery.

Carpal Tunnel Syndrome	Amyloid*	Non-Amyloid*	p
No. of patients	18	12	NS
Age, yrs (mean $\pm$ SD)	60 $\pm$ 11	57 $\pm$ 13	NS
Sex ratio (F:M)	1.1	4.1	NS
Dialysis			
Age at onset (mean $\pm$ SD)	45.8 $\pm$ 14.5	46.9 $\pm$ 17.6	NS
Duration, yrs (mean $\pm$ SD)	13.3 $\pm$ 3.0	7.5 $\pm$ 5.2	p < 0.05†
Synthetic membrane** (%)	11 (61)	7 (58)	NS
Weekly time on dialysis (h)	15 $\pm$ 5.3	12.5 $\pm$ 6.1	NS
CAPD (No. of patients)	2	2***	NS
Renal transplantation	0	1	NS
Parathyroidectomy (%)	4 (20)	2 (20)	NS

\* Determined by microscopic examination; NS: nonsignificant, Fisher exact test or Mann-Whitney U test.

† Mann-Whitney U test. \*\* Used most of the time. \*\*\* One patient was receiving continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD) at time of first operation and hemodialysis at the time of contralateral intervention.

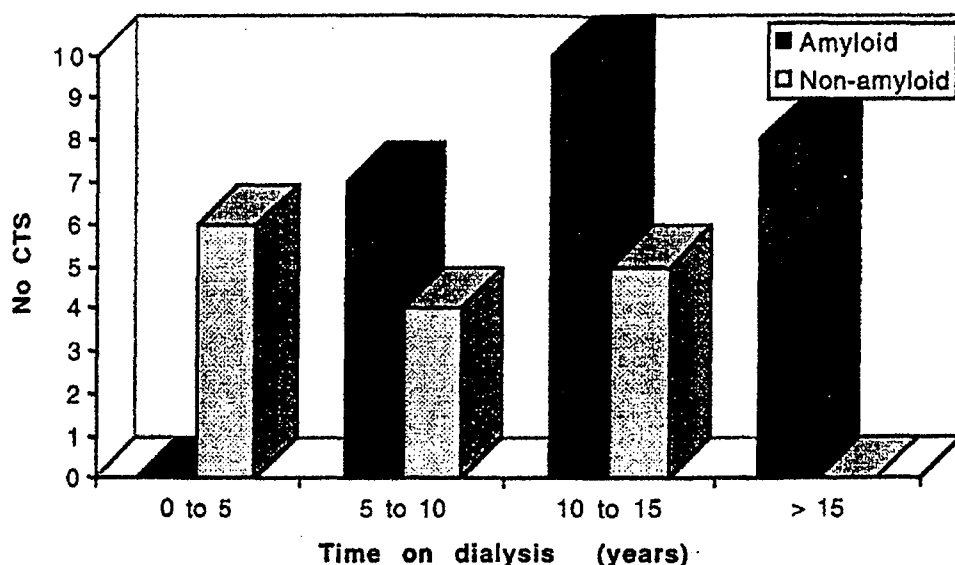


Figure 1. Distribution of amyloid and non-amyloid CTS according to duration of dialysis.

Table 4. Clinical and radiological findings in amyloid and non-amyloid CTS.

Carpal Tunnel Syndrome	Amyloid* (n = 26)	Non-Amyloid* (n = 15)	p
Clinical manifestations (%)			
Hypoesthesia	18 (69)	6 (38)	NS
Weakness	17 (65)	11 (73)	NS
APB atrophy	13 (50)	6 (40)	NS
EMG analysis (mean value $\pm$ SD)			
Distal motor latency (ms)	7.8 $\pm$ 4.2	6.5 $\pm$ 2.5	NS
Median motor NCV elbow (m/s)	41 $\pm$ 8	47 $\pm$ 7	NS
Median motor NCV wrist (m/s)	21 $\pm$ 7	27 $\pm$ 12	NS
Peripheral neuropathy, %	40	43	NS
Ipsilateral fistula (%)	17 (65)	9 (60)	NS
Associated manifestations (%)			
Tenosynovitis	11 (42)	3 (20)	NS
Radiological signs of hyperparathyroidism	7 (27)	5 (33)	NS
Individual features possibly related to dialysis associated arthropathy (No. and % of patients)			
Arthralgia	10 (55)	1 (7)	* p < 0.05
Bone cysts	5 (28)	1 (7)	NS
Destructive arthropathy	3 (17)	0	NS
Destructive spondyloarthropathy	2 (11)	0	NS

\* Determined by microscopic examination; NS: nonsignificant; \* Fisher exact test. APB: abductor pollicis brevis. NCV: nerve conduction velocity.

Laboratory findings were essentially the same in both groups (Table 5).

The outcome was less favorable among amyloid CTS patients, of whom 2 derived no benefit from surgery; 2 others immediately developed complications, one hematoma and one a ruptured tendon. Both groups showed good sensory recovery, but motor recovery was poorest in those patients whose initial amyotrophy had been most

severe. Relapses (7.7%) occurred only in amyloid CTS patients. Bilateral CTS was frequent in both groups: 18/26 in the amyloid group and 9/15 in the non-amyloid group. Of the 11 patients who underwent bilateral surgery, 7 had amyloid CTS, all but one of whom had amyloid deposits on both sides. The 4 patients whose initial CTS was non-amyloid included 2 whose second CTS surgery yielded amyloid.

Table 5. Biological data in amyloid and non-amyloid CTS\*.

Carpal Tunnel Syndrome	Amyloid* (n = 26)	Non-Amyloid* (n = 15)	p
Calcium (NV 2.25-2.6 mmol/l)	1.93 ± 1.0	2.02 ± 0.93	NS
Phosphorus (NV 0.8-1.35 mmol/l)	1.38 ± 0.67	1.18 ± 0.48	NS
Alkaline phosphatase (NV 70-260 U/l)	130 ± 54	178 ± 115	NS
Ferritin (NV 27-298 mg/l)	272 ± 303	345 ± 302	NS
Aluminum (NV 2-6.5 µg/l)	48 ± 24	42 ± 25	NS
PTH (NV 15-65 pg/ml)	152 ± 106	324 ± 334	NS

\* Mean value ± SD. \* Determined by microscopic examination. PTH: parathyroid hormone; NS: nonsignificant, Mann-Whitney U test. NV: normal values.

## DISCUSSION

We compared characteristics of CTS with and without amyloid deposits detected by a routine light and electron microscopic examination in dialysis patients. At surgery for CTS, 39% of subjects were found to have macroscopic deposits suggestive of amyloid, most commonly within the synovium and on the flexor tendons. Microscopy failed to confirm amyloid in 3 of these cases. Furthermore, microscopic examination was found to be more sensitive than macroscopic examination, as routine use of microscopy detected amyloid deposits in 63.4% of cases versus 39%. Previous studies of hemodialysis patients operated on for CTS observed amyloid deposits in 50%<sup>2,14</sup> to 85%<sup>3,15,16</sup> of cases. However, histological investigation was generally not done in those studies unless amyloid was suggested by macroscopic appearance during surgery, and comparisons between studies are difficult because of variations in subject recruitment.

There is still no agreement on whether amyloid deposits are responsible for CTS. Although they may in some cases be large enough to compress the median nerve<sup>15,16</sup>, size varies greatly and macroscopic compression is not always evident. In nearly half the cases of amyloid CTS in our study, amyloid was observed only by microscopic examination and was insufficient to cause a compartmental syndrome. Light and electron microscopy revealed a macrophage reaction around the amyloid deposits suggesting a process of phagocytosis. Several other *in vivo* studies also found an accumulation of macrophage-like cells around  $\beta_2$ -m amyloid deposits in the tenosynovial tissues of CTS patients with hemodialysis associated amyloidosis<sup>17,18</sup>. In addition, supernatants from culture of tenosynovial tissues have been shown to contain interleukin 1 (IL-1) and IL-6, which stimulate synovial cell proliferation<sup>17</sup>. Reverse transcription polymerase chain reaction and immunohistochemical studies have reported increased activity of the genes encoding inflammatory cytokines and adhesion molecules in CTS tenosynovium with amyloid deposits<sup>19</sup>. This may underlie the flexor tenosynovitis that Bardin<sup>3</sup> and Le Viet<sup>20</sup> suggest plays an etiopathogenic role in the genesis of CTS in 40% of amyloid hands. However, cells surrounding

amyloid deposits were found only in moderate numbers and did not appear to be activated<sup>18</sup>. Routine biopsies of the sternoclavicular joint<sup>21</sup> or the discovery of characteristic bone cysts<sup>3,4,14</sup> may reveal amyloid deposits in completely asymptomatic patients. Furthermore, even though renal transplantation results in the loss of clinical signs of dialysis associated arthropathy, the previously formed amyloid deposits may persist<sup>22,23</sup>.

Our findings indicate CTS is associated with dialysis arthropathy only when amyloid deposits are present. In agreement with this, there was evidence for frequent bilateral involvement with no sex bias towards women in amyloid patients only, a situation known to be characteristic of dialysis CTS<sup>1-5</sup>. Amyloid CTS was associated with a higher number of individual features possibly related to dialysis associated arthropathy, and particularly with arthralgia, mainly involving the shoulders and knees. Radiological bone cysts, mostly in the wrists, were also present in 27% of these patients. A somewhat higher association was reported by Homma, *et al*<sup>13</sup>, who found that 76.9% of 26 patients with CTS had carpal cystic lesions. Similarly, Konishiike, *et al*<sup>24</sup> suggested that growing cysts in the carpal bones may indicate the onset of CTS in dialysis patients. The presence of amyloid deposits in CTS was strongly correlated with duration of dialysis therapy. Patients who had been receiving dialysis for a prolonged period showed a correlation between duration of therapy and CTS<sup>2,4,15</sup>. This relationship was not seen in patients who had been treated for a shorter time<sup>25,26</sup>, and no amyloid deposits were found in individuals who had been receiving dialysis for 5 years or less. There was no evidence in this study that patient age has any influence, as it classically does in the occurrence of osteoarticular complications linked to amyloid in dialysis patients<sup>12,27</sup>.

Other factors appear to be involved in the development of dialysis CTS, either alone or in association with amyloid. The general changes in hemodynamics that occur in chronic renal insufficiency and dialysis may play a role<sup>28</sup>, but increased local pressure and edema due to the fistula cannot account for the bilateral involvement. Gilbert, *et al*<sup>29</sup> found a correlation between the side the fistula was mostly used on

and CTS, but 11 of their patients had bilateral involvement. We found that the fistula has no significant influence, although it is frequently suspected<sup>1,5,25,30,31</sup>. Similarly, we found that hyperparathyroidism had no influence on the incidence of CTS, as confirmed by most studies<sup>4,12,24,26,29</sup>. The effect of aluminum overload has been documented in clinical<sup>32</sup> and experimental<sup>33</sup> investigations, but was not significant in our patients, although assays of plasma aluminum are a poor indication of tissue load<sup>32</sup>. Similarly, there was no evidence for the iron overload that Brown<sup>6</sup> suggests is linked to amyloid deposits. Chanard<sup>34</sup> stated that CTS may be more prevalent in patients dialysed with cellulose membranes, but studies on the influence of dialysis membranes are inconclusive<sup>4,12</sup>. In addition, amyloid CTS initially found in hemodialysis patients may, like  $\beta_2$ -m amyloidosis and dialysis associated arthropathy in general, occur no matter what sort of extra-renal filtration is used, particularly with continuous ambulatory peritoneal dialysis<sup>35,36</sup>. Patients with renal insufficiency may be affected even before they begin dialysis<sup>37</sup>.

Dialysis CTS seems to recur post-surgically more often than idiopathic CTS<sup>4,14,20</sup>. The incidence of recurrence among our subjects was 4.5%, similar to published figures. However, only amyloid CTS patients were affected, and they made up 7.7% of that group. Apart from the risk of recurrence, the functional prognosis for dialysis CTS is generally uncertain<sup>4,38</sup>, even though some studies have reported good short term outcomes in over three-quarters of operated cases<sup>5,30</sup>. Sensory problems frequently disappear after surgery, but recovery of the motor deficit is less certain. Peripheral neuropathy present in 40% of both groups in our study was less frequent in previous studies<sup>26,29</sup>. It may contribute to damage of the median nerve, making it more vulnerable to compression and slowing its recovery after surgery<sup>25,31,38</sup>.

Thus, in our study,  $\beta_2$ -m amyloid deposits were found in 63.4% of CTS patients receiving chronic dialysis who underwent surgery. Only CTS patients with amyloid deposits confirmed by microscopy were classified as having dialysis associated arthropathy. Definitive diagnosis of amyloidosis requires histological examination of tissue samples taken from dialysis patients at surgery. Therefore, CTS may only be a satisfactory criterion for diagnosing either dialysis associated arthropathy or  $\beta_2$ -m amyloidosis if amyloid has been microscopically confirmed, or patients have undergone dialysis for at least 15 years.

#### ACKNOWLEDGMENT

We are grateful to Drs. Brigitte Gilson and Pascal Bindi for referring patients. We thank Francis Guillermin for statistical advice and William Francis for improving the manuscript.

#### REFERENCES

- Warren DJ, Otieno LS. Carpal tunnel syndrome in patients on intermittent hemodialysis. *Postgrad Med J* 1975;51:450-2.
- Schwartz A, Keller F, Seyfert S, Poll W, Molzahn M, Distler A. Carpal tunnel syndrome: a major complication in long term haemodialysis patients. *Clin Nephrol* 1984;22:133-7.
- Bardin T, Kuntz D, Zingraff J, Voisin MC, Zelmar A, Lansaman J. Synovial amyloidosis in patients undergoing long term haemodialysis. *Arthritis Rheum* 1985;28:1052-8.
- Kessler M, Netter P, Azoulay E, Mayeux D, Pere P, Gaucher A. Dialysis-associated arthropathy: a multicentre survey of 171 patients receiving haemodialysis for over 10 years. *Br J Rheumatol* 1992;31:157-62.
- Allieu Y, Asencio G, Mailhe D, Baldet P, Mion C. Syndrome du canal carpien chez l'hémodialysé chronique: approche étiopathogénique à propos de 31 cas opérés [Carpal tunnel syndrome in chronic dialysis patients: ethiopathogenesis in 31 surgical cases]. *Rev Chir Orthop* 1983;69:233-8.
- Brown EA, Arnold JR, Gower PE. Dialysis arthropathy: complication of long term treatment with haemodialysis. *BMJ* 1986;292:163-6.
- Kuntz D, Naveau B, Bardin T, Drüeke T, Treves R, Dryll A. Destructive spondylarthropathy in hemodialysed patients: a new syndrome. *Arthritis Rheum* 1984;27:369-75.
- Assenat H, Calémard E, Charra B, Laurent G, Terrat JC, Vanel T. Hémodialyse, syndrome du canal carpien et substance amyloïde [Hemodialysis, carpal tunnel syndrome and amyloid] [letter]. *Nouv Presse Med* 1980;9:1715.
- Noel LH, Zingraff J, Bardin T, Atienza C, Kuntz D, Drüeke T. Tissue distribution of dialysis amyloidosis. *Clin Nephrol* 1987;27:175-8.
- Gejyo F, Yamada T, Odani S. A new form of amyloid protein associated with chronic haemodialysis was identified as beta 2 microglobulin. *Biochem Biophys Res Commun* 1985;129:701-6.
- Homma N, Gejyo F, Isemura M, Arakawa M. Collagen-binding affinity of beta-2-microglobulin, a preprotein of haemodialysis-associated amyloidosis. *Nephron* 1989;53:37-40.
- Homma N, Gejyo F, Kobayashi H, et al. Cystic radiolucencies of carpal bones, distal radius and ulna as a marker for dialysis-associated amyloid osteoarthropathy. *Nephron* 1992;62:6-12.
- Van Ypersele de Strihou C, Jadoul M, Malghem J, Maldague B, Jamar J and the working party on dialysis amyloidosis. Effect of dialysis membrane and patient's age on signs of dialysis-related amyloidosis. *Kidney Int* 1991;39:1012-9.
- Benoit J, Guiziou B, Godinger JJ, Delons S, Got C. Le syndrome du canal carpien chez l'hémodialysé [Carpal tunnel syndrome in hemodialysis patients] [letter]. *Rev Chir Orthop* 1988;74:162-7.
- Allieu Y, Chammas M, Idoux O, Hixson M, Mion C. Le syndrome du canal carpien et les téno-synovites amyloïdes chez l'hémodialysé chronique. Evolution et traitement à propos de 130 cas [Carpal tunnel syndrome and amyloid tenosynovitis in chronic dialysis patients. Evolution and treatment in 130 cases]. *Ann Chir Main* 1994;13:113-21.
- Asencio G, Rigout C, Ramperez P, et al. Haemodialysis related lesions of the hand. *Rev Rhum [Engl Ed]* 1995;62:233-40.
- Miyasaka N, Sato K, Kitano Y, Higaki M, Nishioka K, Ohta K. Aberrant cytokine production from tenosynovium in dialysis associated amyloidosis. *Ann Rheum Dis* 1992;51:797-802.
- Argilès A, Mourad G, Kerr PG, Garcia M, Collins B, Demaille JG. Cells surrounding haemodialysis-associated amyloid deposits are mainly macrophages. *Nephrol Dial Transplant* 1994;9:662-7.
- Inoue H, Saito I, Nakazawa R, et al. Expression of inflammatory cytokines and adhesion molecules in haemodialysis-associated amyloidosis. *Nephrol Dial Transplant* 1995;10:2077-82.
- Le Viet D, Gandon F. Syndrome du canal carpien chez l'hémodialysé. Analyse de 110 cas opérés [Carpal tunnel syndrome in hemodialysis patients. Analysis of 110 surgical cases] [letter]. *Chirurgie* 1992;118:546-50.

21. Zingraff J, Drücke T, Bardin T. Dialysis related amyloidosis in the sternoclavicular joint [letter]. *Nephron* 1989;52:367.
22. Bardin T, Lebaïl-Darné JL, Zingraff J, et al. Dialysis arthropathy: outcome after renal transplantation. *Am J Med* 1995;99:243-8.
23. Kessler M, Netter P, Gaucher A. Outcome of dialysis associated arthropathy and dialysis-related  $\beta_2$ -microglobulin amyloid after renal transplantation. *Rev Rhum [Engl Ed]* 1994;61:93-6S.
24. Konishiike T, Hashizume H, Nishida K, Inoue H, Nanba T. Cystic radio-lucency of carpal bones in haemodialysis patients. An early indicator of the onset of carpal tunnel syndrome. *J Hand Surg* 1994;19B:630-5.
25. Minami A, Ogino T. Carpal tunnel syndrome in patients undergoing haemodialysis. *J Hand Surg* 1987;12A:93-7.
26. Sivri A, Celiver R, Sungur C, Gokçe-Kutsal Y. Carpal tunnel syndrome: a major complication in haemodialysis patients. *Scand J Rheumatol* 1994;23:287-90.
27. Gaucher A, Kessler M, Netter P, Azoulay E, Pere P, Mur JM. Dialysis arthropathy: the effect of age. *J Rheumatol* 1988;15:1880-1.
28. Kerwin G, Williams CS, Seiler JG. The pathophysiology of carpal tunnel syndrome. *Hand Clin* 1996;12:243-51.
29. Gilbert MS, Robinson A, Baez A, Gupta S, Glabman S, Haimov M. Carpal tunnel syndrome in patients who are receiving long-term renal haemodialysis. *J Bone Joint Surg* 1988;70A:1145-53.
30. Naito M, Ogata K, Goya T. Carpal tunnel syndrome in chronic renal dialysis patients: clinical evaluation of 62 hands and results of operative treatment. *J Hand Surg* 1987;12B:366-74.
31. Teitz CC, DeLisa JA, Halter SK. Results of carpal tunnel release in renal haemodialysis patients. *Clin Orthop Rel Res* 1984;198:197-200.
32. Netter P, Kessler M, Burnel D, et al. Aluminium in the joint tissues of chronic renal failure patients treated with regular haemodialysis and aluminium compounds. *J Rheumatol* 1984;11:66-70.
33. Chary-Valckenaere I, Fener P, Jouzeau JY, et al. Experimental articular toxicity of aluminum compounds *in vivo*. *J Rheumatol* 1994;21:1542-7.
34. Chanard J, Bindi P, Lavaud S, Toupance O, Maheut H, Lacour F. Carpal tunnel syndrome and type of dialysis membrane. *BMJ* 1989;298:867-8.
35. Gagnon FR, Olough J, Bourgoïn AP. Carpal tunnel syndrome and amyloidosis associated with continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Can Med Assoc J* 1988;139:753-5.
36. Cornelis F, Bardin T, Faller B, et al. Rheumatic syndromes and  $\beta_2$ -microglobulin amyloidosis in patients receiving long-term peritoneal dialysis. *Arthritis Rheum* 1989;32:785-8.
37. Kessler M, Hestin D, Aymard B, et al. Carpal tunnel syndrome with  $\beta_2$ -microglobulin amyloid deposits and erosive arthropathy of the wrist and spine in uraemic patient before chronic haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 1995;10:298-9.
38. Jugnet AM, Maynou C, Forgeois P, Mestdagh H, Hurtevent JF. Le syndrome du canal carpien chez l'hémodialysé (à propos de 17 cas) [Carpal tunnel syndrome in hemodialysis patients (report of 17 cases)]. *Acta Orthop Belgica* 1995;61:183-9.



#### **4. TRAVAUX EN COURS ET PERSPECTIVES:**

##### **Etude en IRM Haute-résolution du canal carpien du dialysé** **Corrélations clinico-chirurgicales et anatomopathologiques.**

L'imagerie par résonance magnétique peut mettre en évidence dans le syndrome du canal carpien idiopathique un certain nombre d'anomalies: un oedème du nerf médian diffus ou localisé, situé généralement à hauteur du pisiforme , parfois remplacé par un épaissement ou une atrophie du nerf, des modifications du *flexor retinaculum*, un épaissement des gaines synoviales des tendons fléchisseurs...

Cependant, l'IRM ne permet pas de mesurer de façon fiable les dimensions du canal carpien ou d'apprécier directement le conflit intra-canalalaire. Les études réalisées portent souvent sur un petit nombre de patients (156), et sont peu documentées en ce qui concerne la clinique et l'examen électromyographique. Les corrélations anatomiques ne sont pas bien démontrées. Seule une étude récente (33) offre des corrélations précises entre les données cliniques, électromyographiques, IRM et opératoires.

L'étude par IRM des lésions d'arthropathies des hémodialysés a déjà été envisagée (29, 56) et les données restent rares et discordantes. La plupart des auteurs décrivent des anomalies de signal hétérogènes, peu spécifiques (56). Faure *et al.* (78) montre des anomalies de signal plus spécifiques des lésions amyloïdes mais qui restent à confirmer.

L'intérêt manifeste de l'imagerie par résonance magnétique (IRM) dans l'étude du syndrome du canal carpien idiopathique et des lésions d'arthropathie du dialysé nous a conduit à entreprendre une étude prospective par IRM Haute-Résolution (Service de Radiologie, Pr A. Blum) des canaux carpiens opérés chez des patients hémodialysés. L'utilisation d'un aimant puissant (1,5 Tesla) et de séquences d'acquisition volumique en écho de gradient pondérées T1 après injection de gadolinium et suppression du signal de la graisse, permet sur des coupes axiales de 1 mm d'épaisseur, une analyse lésionnelle fine. Cette étude, outre l'analyse des conditions étiopathogéniques précédemment citées, vise à établir des corrélations entre les

données de l'IRM et les constatations chirurgicales et histologiques chez des patients dialysés opérés d'un syndrome du canal carpien (*Figure* ). L'étude, débutée en 1996, sera menée sur une durée minimale de deux ans.

Les résultats préliminaires, qui font l'objet d'un article soumis, montrent une excellente corrélation entre les lésions évaluées sur les coupes IRM et les constatations per-opératoires (état du nerf médian, des tendons, du ligament annulaire du carpe). L'IRM permet d'évoquer l'existence de dépôts amyloïdes dans le canal carpien, qui apparaissent en hyposignal hétérogène sur toutes les séquences utilisées. Elle permet également de suspecter la présence d'amylose infraclinique, confirmée par l'étude anatomopathologique, devant l'existence d'une réaction synoviale inflammatoire bien visualisée par les séquences choisies. Enfin, l'IRM montre autour des dépôts amyloïdes, quand ils existent, une réaction inflammatoire synoviale périphérique, confirmée également par l'histologie. L'utilisation de ces techniques d'imagerie très performantes pourrait améliorer la compréhension de la pathogénie du syndrome du canal carpien chez le dialysé et contribuer à une meilleure prise en charge.

High-resolution MRI of the carpal tunnel in chronic dialysis patients:  
correlation with clinicosurgical and pathological findings.

CHARY-VALCKENAERE I, BLUM A, KESSLER M, MAINARD D,  
SCHERTZ L, CHANLIAU J, CHAMPIGNEULLE J, NETTER P.

Annals of the Rheumatic Diseases, soumis

**High-resolution MRI of the carpal tunnel in chronic dialysis patients:  
correlation with clinicosurgical and pathological findings.**

Isabelle Chary-Valckenaere<sup>1,2</sup>, Alain Blum<sup>1,3</sup>, Michèle Kessler<sup>1,4</sup>, Didier Mainard<sup>1,5</sup>, Laurence Schertz<sup>2</sup>, Jacques Chanliau<sup>4</sup>, Jacqueline Champigneulle<sup>6</sup>, Jacques Pourel<sup>1,2</sup>, Patrick Netter<sup>1,2</sup>.

1. UMR CNRS 7561
2. Department of Rheumatology
3. Department of Radiology
4. Department of Nephrology
5. Department of Orthopaedic Surgery
6. Pathology Laboratory

Centre Hospitalier Universitaire de Nancy, Vandoeuvre-les-Nancy, France.

Correspondence to: Dr I. Chary-Valckenaere, Service de Rhumatologie, Centre Hospitalier  
Universitaire de Nancy, 54511 Vandoeuvre-les-Nancy cedex, France.

Phone: (33) 3 83 15 31 96

Fax: (33) 3 83 15 31 90

E-mail: [i.valckenaere@chu-nancy.fr](mailto:i.valckenaere@chu-nancy.fr).

## **Abstract**

*Objective:* To assess the value of high-resolution MRI in distinguishing between amyloid and non-amyloid carpal tunnel syndromes (CTS) in chronic dialysis patients.

*Methods:* Consecutive chronic dialysis patients who underwent surgery for CTS in the same unit from September 1997 to September 1999 were recruited prospectively. Patients received a complete rheumatological examination, electromyography, and standard radiography prior to undergoing high-resolution MRI of the carpal tunnel (Signa 1.5 T) using a wrist coil and specific sequences. Intraoperative gross findings were compared with those from pathological examination of surgical specimens of the flexor retinaculum, synovium, flexor tendon sheaths, and epineurium. Specimens were examined with plain and polarised light microscopy following congo red staining, electron microscopy, and immunohistochemistry to detect  $\beta$ 2-microglobulin ( $\beta$ 2-M) amyloid.

*Results:* Six patients (2M, 4F) were included in the study. They had a mean age of 55 years (range, 33-76) and a mean duration of dialysis of 166 months (range, 20-240). Clinical features suggestive of amyloid CTS were seen in 3 cases. MRI revealed amyloid deposits in all of them, and a peritendinous inflammatory synovial reaction in 2 other patients. Macroscopic amyloid deposits were visualised only in the first three cases, although pathological examination demonstrated  $\beta$ 2-M deposits in four cases. In the last case, MRI revealed no evidence of amyloidosis - a finding confirmed by macroscopic examination and histology.

*Conclusion:* High-resolution MRI may provide early and precise positive diagnosis of amyloid disorders in CTS among dialysis patients, by revealing either amyloid deposits and their locations or, by default, an inflammatory synovial reaction. MRI could thus contribute to the pathogenetic investigation of CTS and guide therapy.

**Key words:** carpal tunnel syndrome, beta-2-microglobulin amyloidosis, chronic dialysis, magnetic resonance imaging.

**Running title:** High-resolution MRI of dialysis CTS.

Carpal tunnel syndrome (CTS) is the most common rheumatological complication observed in chronic dialysis patients. It differs from the idiopathic disorder in that females do not predominate, bilateral localisation is common, and recurrence is seen after surgery (1, 2, 3). First described by Warren in 1975 (4), it was rapidly attributed to the presence of amyloid deposits, as demonstrated by Assenat in 1980 (5). The amyloid content of the deposits was subsequently found to be  $\beta$ 2-microglobulin ( $\beta$ 2-M) (6), which has a strong affinity for bones and joints (2). This way, CTS, together with joint and disco-vertebral destructions, is usually considered as giving evidence of dialysis-associated arthropathy, a disabling complication of long-term dialysis, related to  $\beta$ 2-M amyloid deposits (3, 7). However, we have recently demonstrated that CTS is not a satisfactory criterion for diagnosis of dialysis arthropathy or  $\beta$ 2-M amyloidosis unless the presence of amyloid has been confirmed by microscopic examination (8). Actually,  $\beta$ 2-M amyloid deposits are not a constant feature of CTS in operated dialysis patients: they were confirmed microscopically in 63,4% of patients in our case series and the reported frequency varied from 50% (1) to 100% (5, 9) in the literature.

MRI has been found to contribute to the study of idiopathic CTS (10), but has not yet been used to study CTS in dialysis patients. In the present study, high-resolution MRI was used to identify and localise amyloid deposits in the carpal tunnel in dialysis patients with CTS. Relevant lesions of the median nerve, tendons, and carpus were also sought. The aim was to look for correlations between MRI data and clinical features, the intraoperative macroscopic aspect, and pathological findings.

## **Methods**

### **PATIENTS**

Chronic dialysis patients who had clinically patent CTS confirmed by electromyography (EMG) and who were candidates for surgery were prospectively recruited. Individuals with an amyloid nephropathy were excluded.

Patients underwent complete rheumatological examination, electromyography to explore the median nerve and search for peripheral neuropathy, and standard x-rays of the hands, wrists, shoulders, knees, pelvis, cervico-dorso-lumbar spine and skull to look for signs of hyperparathyroidism, bone cysts suggestive of amyloidosis (7), and joint and/or vertebral destructions. History-taking incorporated a review of each patient's entire medical file.

Dialysis was carried out the day before surgery and at least 36 hours following surgery.

### **MAGNETIC RESONANCE IMAGING**

Magnetic resonance images were obtained for all patients during the interval between the pre-operative dialysis session and surgery. A 1.5 Tesla device (Signa Echospeed G.E. Medical Systems, Milwaukee, USA) was used, operating with very intense gradients and a phased-array wrist coil. The study protocol for the carpal tunnel systematically included the following sequences: coronal spin-echo T1- (TR 500 ms/ TE 9 ms), coronal and axial Fast spin-echo T2- weighted images (TR 2800 ms/ TE 45-68 ms), and axial spin-echo T1-weighted and 3D/FSPGR (TR 21.5/ TE 2.5 ms/ flip angle 30°) images after intravenous gadoterate meglumine injection. Fat suppression was applied to all sequences except for coronal spin-echo T1-weighted images. The field of view was 8x8 cm<sup>2</sup>, and the matrix size was 256x192 (pixel size 312x417 µm) except for the 3D/FSPGR sequence where the matrix size was 256x160 (pixel size 312x500 µm) and the slice thickness was 1 mm.

Magnetic resonance images were interpreted by two of the authors, immediately after acquisition, without knowledge of the clinical situation. Deposits in the carpal tunnel presenting a low signal on T2-weighted images and no contrast enhancement were considered to be amyloid. Tissue enhancement after gadolinium injection on spin-echo and/or on 3D/FSPGR T1-weighted images was considered to indicate synovial proliferation. Enlargement and high signal on T2-weighted images of the median nerve in the carpal tunnel were considered to be signs of median nerve oedema.

## SURGERY

Patients underwent a surgical procedure for CTS under loco-regional anaesthesia by axillary block. The pneumatic tourniquet was not used when the neurolysis was on the side of the vascular fistula. The carpal tunnel was exposed by a palmar incision and a short S-shaped antebrachial incision to allow macroscopic examination of the flexor retinaculum, the median nerve, flexor tendons and sheaths, and synovium. Neurolysis was completed by synovectomy and/or tenosynovectomy of the flexors if necessary. Biopsy specimens of the flexor retinaculum, the epineurium, the flexor tendon sheaths and the synovium were taken in all patients.

## PATHOLOGY

All samples were extensively examined by an experienced pathologist in the same Pathology Laboratory. Samples were fixed in 10% formalin and embedded in paraffin. Histological sections were examined by light microscopy following haematoxylin and eosin staining, and under polarised light following congo red staining, before and after treatment with potassium permanganate (Wright reaction). Immunohistochemistry was performed in all patients with specific human anti- $\beta$ 2-M antibodies (Dako, Denmark).

Other samples were prepared for transmission electron microscopy (TEM) in order to search for small amyloid deposits with a characteristic fibrillar aspect (Philips CM 10 electron microscope).

## **Results**

Six consecutive patients were included in the study from September 1997 to September 1999. The two men and four women had a mean age of 55 years (range 33-76), and a mean dialysis duration of 166 months (range 20-240). Demographic data and clinical features are summarised in Table I.

Three patients had a bilateral CTS at the time of the study. Two of them had undergone curative surgery for CTS in the past and were suffering from recurrence. Symptoms worsened during dialysis sessions in four patients. Two patients showed severe sensory-motor deficit with thenar amyotrophy, while the others only had sensory signs in the median nerve territory. Physical examination detected volar tumefaction of the carpus in 3 patients, associated with nodular tendinitis of the flexor tendons with deficient digital flexion in 2 of them. Four patients complained of diffuse joint pain predominantly affecting the shoulders and knees. Standard X-rays showed bone cysts suggestive of amyloidosis in 3 of them and signs of hyperparathyroidism in 2 others. Only one patient had neither clinical or radiological signs suggestive of dialysis-associated arthropathy nor  $\beta$ 2-M amyloidosis.

In case 1, MRI of the left wrist revealed oedema of the median nerve on spin-echo and 3D/FSPGR T1-weighted images after gadolinium injection. No visible amyloid deposits or abnormalities were detected along the tendon sheaths or the synovial membrane. In cases 2 and 6, MRI revealed oedema of the median nerve, thickening of the flexor retinaculum together with an inflammatory synovial reaction posterior to the flexor tendons, without patent amyloid deposits (Figure 1). In the other cases, all MRI sequences visualised more or



less voluminous deposits with heterogenous low signal intensity among the flexor tendons. They were surrounded by a moderate inflammatory synovial reaction producing intense signal after iv gadolinium injection (Figure 2). The median nerve appeared flattened and gave isointense signal in 2 of the patients. Geodes with high signal content were also visualised in carpal bones of these patients.

The intraoperative macroscopic aspect revealed in 4 cases a tumefaction of the median nerve beyond the flexor retinaculum which compressed the nerve. Amyloid deposits were visualised in 3 patients as a highly adherent lumpy mass that involved the flexor tendons. The synovial membrane was usually thick but moderately abundant in all patients, except in the vicinity of amyloid deposits.

Systematic pathological examination showed evidence of amyloid deposits composed of  $\beta$ 2-M in 4 cases. They were usually detected in the synovium or peritendinous synovial tissue, surrounding by a mild inflammatory cell reaction in the fibrous connective tissue. In 2 cases, amyloid deposits contained numerous macrophage-like cells with occasional intracellular amyloid deposits. In cases 1 and 6, microscopic and ultrastructural examinations revealed no amyloid deposits.

## **Discussion**

MRI has been used in dialysis patients to provide evidence of bone amyloidosis in the shoulder (11, 12), the hip, the carpus (11) and the spine (13). Although abnormal signals are reported to be non-specific and often heterogeneous, they do allow differentiation between amyloidosis and an inflammatory or septic process (11, 13). The contribution of MRI is particularly important because, unlike computed tomography, excellent resolution and contrast allow soft tissue to be analysed.

In the present patients, amyloid deposits produced signals of intermediate intensity in all sequences. They are predominantly located around the heterogeneous and infiltrated tendon structures. The median nerve can be oedematous or compressed, but never seems to be infiltrated. The contents of certain bone cysts, seen as high intensity signal on the different sequences, may correspond to inflammatory synovial tissue, possibly associated with fluid effusion. In two cases, MRI did not visualise amyloid deposits but did reveal a local inflammatory reaction as an intense signal near the flexor tendons. The biopsy specimen in this area was macroscopically devoid of amyloid substance but was found on microscopic examination to contain  $\beta$ 2-M amyloid in case 2.

The role of amyloid deposits in CTS among dialysis patients has not been formally established. In certain cases, deposits are sufficiently voluminous to compress the median nerve (2, 14), whereas in others the size of the deposits is quite variable and macroscopic compression is not always seen at surgery. Sometimes, amyloid deposits can only be detected by pathological examination using specific staining techniques. In the present patients, modifications in the synovial signal on MRI sequences suggested local inflammatory reactions in the vicinity of the amyloid deposits. This could be another possible mechanism of CTS in these patients. Several *in vivo* studies have demonstrated macrophage accumulation and production of inflammatory cytokines around  $\beta$ 2-M deposits in tenosynovial tissue from CTS patients with dialysis-related amyloidosis (15, 16). RT-PCR and immunohistochemical techniques have demonstrated the activation of genes coding for inflammatory cytokines and adhesion molecules in the tenosynovial tissue of amyloid CTS (17). This could underlie the often associated tenosynovitis which can in itself cause median nerve compression. Although microscopic examination varied greatly in our patients, fibrous alterations and mild inflammatory synovial reaction were the predominant findings. Macrophage accumulation

surrounding amyloid deposits was observed in only two of our patients, associated with intracellular deposits suggesting phagocytosis of the amyloid.

MRI provides detailed information about the locations and extent of lesions in CTS among dialysis patients. Infraclinical amyloid deposits can be detected by visualising the inflammatory synovial reaction in contact with them. MRI demonstrates the primary role of amyloid substance in certain cases of CTS among dialysis patients, as an element of either a compartment syndrome or the local inflammatory reaction which can damage the median nerve. The precision of the information obtained with MRI suggests that it may be an important tool in therapeutic management.

We would like to thank Professor Alain Gaucher for his contribution to this study, and William Francis for improving the manuscript.

1. Schwartz A, Keller F, Seyfert S, Poll W, Molzahn M, Distler A. Carpal tunnel syndrome: a major complication in long term hemodialysis patients. *Clin Nephrol* 1984;22:133.
2. Bardin T, Kuntz D, Zingraff J, Voisin MC, Zelmar A, Lansaman J. Synovial amyloidosis in patients undergoing long term hemodialysis. *Arthritis Rheum* 1985;28:1052-8.
3. Kessler M, Netter P, Azoulay E, Mayeux D, Pere P, Gaucher A. Dialysis-associated arthropathy: a multicentre survey of 171 patients receiving haemodialysis for over 10 years. *Br J Rheumatol* 1992;31:157-62.
4. Warren DJ, Otieno LS. Carpal tunnel syndrome in patients on intermittent haemodialysis. *Postgrad Med J* 1975;51:450-2.
5. Assenat H, Calemard E, Charra B, Laurent G, Terrat JC, Vanel T. Hémodialyse, syndrome du canal carpien et substance amyloïde. *Nouv Presse Med* 1980;9:1715.

6. Gejyo F, Yamada T, Odani S. A new form of amyloid protein associated with chronic hemodialysis was identified as beta 2 microglobulin. *Biochem Biophys Res Commun* 1985;129:701-6.
7. Van Ypersele de Strihou C, Jadoul M, Malghem J, Maldague B, Jamart J and the working party on dialysis amyloidosis. Effect of dialysis membrane and patient's age on signs of dialysis-related amyloidosis. *Kidney Intern* 1991;39:1012-9.
8. Chary-Valckenaere I, Kessler M, Mainard D, Schertz L, Chanliau J, Champigneulle J, Pourel J, Gaucher A, Netter P. Amyloid and non-amyloid carpal tunnel syndrome in patients receiving chronic renal dialysis. *J Rheumatol* 1998;25:1164-70.
9. Gejyo F, Homma N, Arakawa M. Carpal tunnel syndrome and  $\beta$ 2-microglobulin-related amyloidosis in chronic hemodialysis patients. *Blood Purif* 1988;6:125-131.
10. Britz GW, Haunor DR, Kuntz C, Goodkin R, Gitter A, Kliot M; Carpal tunnel syndrome: correlation of magnetic resonance imaging, clinical, and operative findings. *Neurosurgery* 1995;37:1097-1103.
11. Claudon M, Regent D, Gaucher A, Kessler M, Fabre JL, Grignon B, Netter P. MR patterns of dialysis arthropathy. *J Comput Assist Tomogr* 1990;14:968-74.
12. Bernageau J, Bardin T, Gouttalier D, Voisin MC, Bard M. Magnetic resonance imaging findings in shoulders of hemodialyzed patients. *Clin Orthop Rel Res* 1994;304:91-6.
13. Flipo RM, Cotten A, Chastanet P, Ardaens Y, Foissac-Gegoux P, Duquesnoy B, Delcambre B. Evaluation of destructive spondyloarthropathies in hemodialysis by computerized tomographic scan and magnetic resonance imaging. *J Rheumatol* 1996;23:869-873.
14. Asencio G, Rigout C, Ramperez P, Branger B, Oules R, Bertin R, et al. Haemodialysis related lesions of the hand. *Rev Rhum [Engl. Ed.]* 1995;62:233-40.

15. Miyasaka N, Sato K, Kitano Y, Higaki M, Nishioka K, Ohta K. Aberrant cytokine production from tenosynovium in dialysis associated amyloidosis. *Ann Rheum Dis* 1992;51:797-802.
16. Argilès A, Mourad G, Kerr PG, Garcia M, Collins B, Demaille JG. Cells surrounding haemodialysis-associated amyloid deposits are mainly macrophages. *Nephrol Dial Transplant* 1994;9:662-667.
17. Inoue H, Saito I, Nakazawa R, Mukaida N, Matsushima K, Azuma N, Suzuki M, Miyazaka N. Expression of inflammatory cytokines and adhesion molecules in haemodialysis-associated amyloidosis. *Nephrol Dial Transplant* 1995;10:2077-2082.

## Figure legend

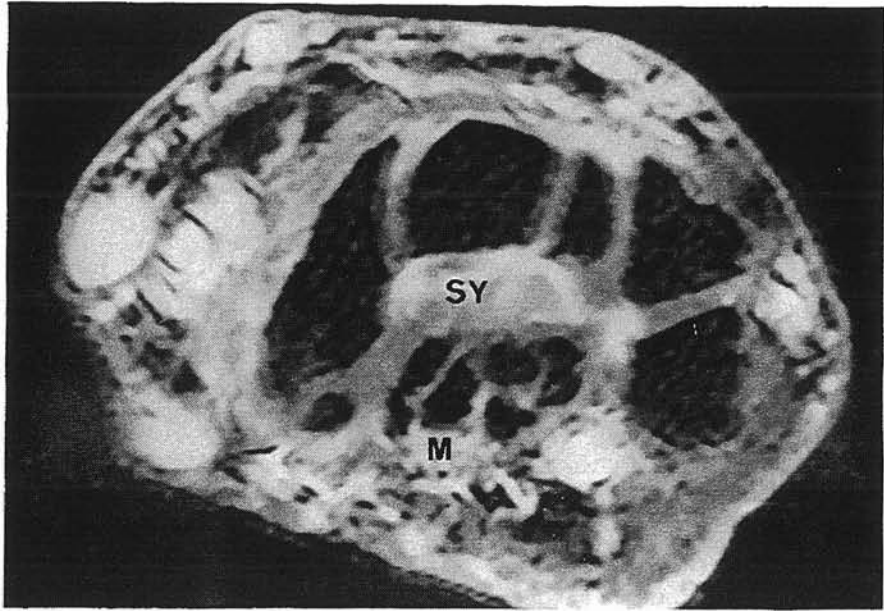
Figure 1. Case 2. Axial MR image. 3D/FSPGR T1-weighted images after gadolinium injection through the carpal tunnel. The intense signal in the median nerve (M) corresponds to oedema. Synovial inflammatory reaction (SY) appears as an area of high signal intensity posterior to the flexor tendons.

Figure 2. Case 3. Axial MR images. (A) Spin-echo T1-weighted images after gadolinium injection through the carpal tunnel and (B) 3D/FSPGR T1-weighted image after gadolinium injection through the first row of carpal bones. Note the voluminous heterogeneous mass (AM) giving a low-intensity signal in the carpal tunnel posterior to the profundus and the superficialis flexor tendons extending towards the carpus and displacing the median nerve (M) subcutaneously. A thin, high-intensity rim surrounding the mass is evidence of an inflammatory synovial reaction (SY and ä) in contact with the deposits. The content of bone cysts in the scaphoid (S) and the lunatum (L) gives a high-intensity signal.

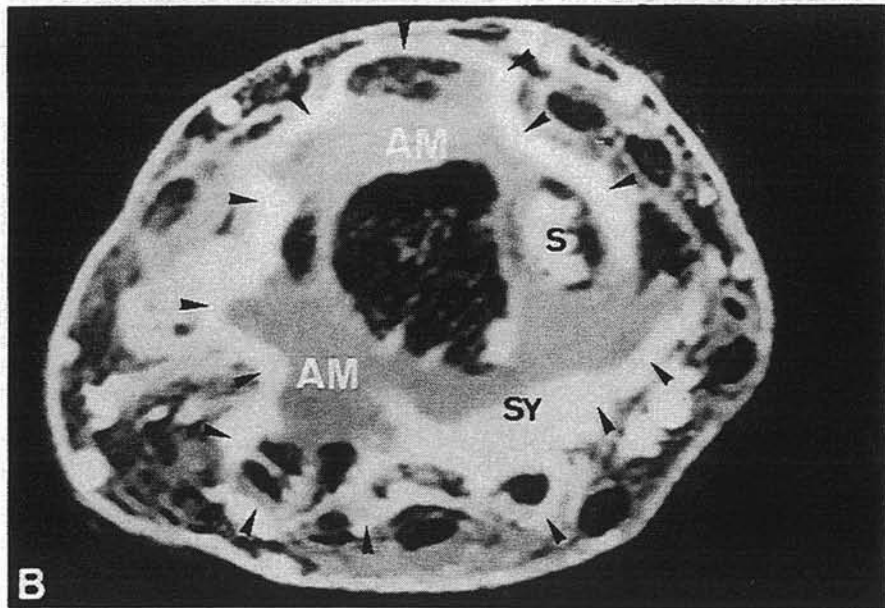
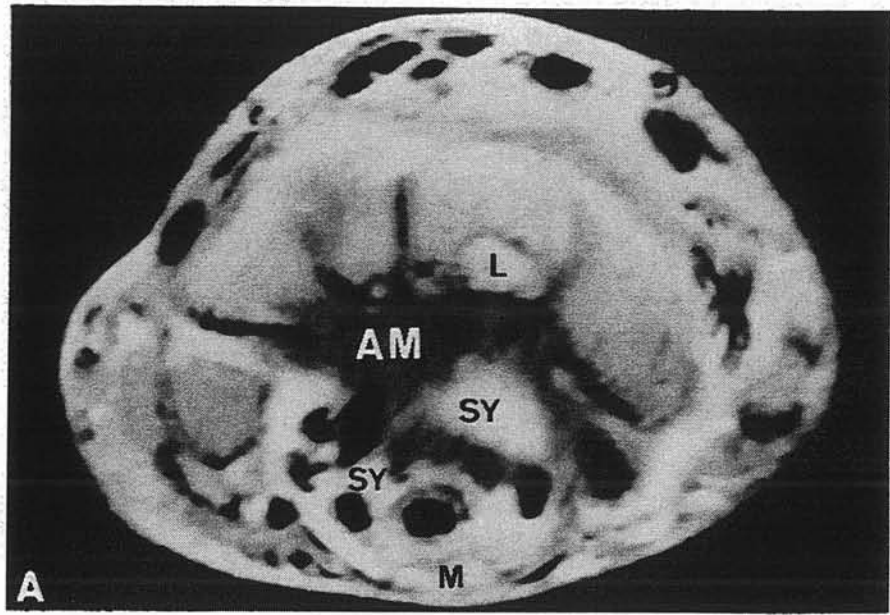
Table 1. Clinical features and laboratory findings in dialysis patients operated for carpal tunnel syndrome (CTS)

Case	Age (yr)	Sex	Dialysis			CTS		Features suggesting amyloid CTS					
			Duration (months)	Aetiology renal failure	Graft (duration)	AVF	Side	EMG (DL, NCV)	Clinical*	Radiological**	MRI	Macroscopy	Microscopy
1	48	M	20	CGN (hypertension)	Yes 48 months	L	L	7,3 45-30 peripheral neuropathy	-	-	-	-	-
2	51	M	172	hyalinosis (hypertension)	No	L	L	3,5 35-20	-	- (HPT)	S	-	+
3	50	F	240	CGN (infection)	Yes 1 month	R	R	4,4 43-25 peripheral neuropathy	+	+	A	+	+
4	72	F	192	RP	No	L	L	8,4 43-25 peripheral neuropathy	+	-	A	+	+
5	76	F	142	CGN	No	L	R	5,3 40-20	+	+	A	+	+
6	33	F	228	CGN (infection)	No	L	L	4,5 45-30	-	- (HPT)	S	-	-
<b>TOTAL amyloid</b>									<b>3</b>	<b>2</b>	<b>3 (5)</b>	<b>3</b>	<b>4/6</b>

\* carpal tumefaction; \*\* bone cysts; AVF: arterio-venous fistula; L: left; R: right; DL: distal latency (ms); NCV: nerve conduction velocity (forearm and wrist, m/s); CGN: chronic glomerular nephropathy; RP: renal polycystosis; HPT: hyperparathyroidism; S: synovitis; A: amyloid deposits.







**CHAPITRE IV.**  
**LE HYALURONATE:**  
**MARQUEUR BIOLOGIQUE DE**  
**L'ARTHROPATHIE DU DIALYSE**

## **Chapitre IV. Le hyaluronate: marqueur biologique de l'arthropathie du dialysé**

### **1. Généralités sur le hyaluronate**

#### **1. 1. Structure.**

Le hyaluronate est un constituant essentiel de la matrice extra-cellulaire des tissus conjonctifs. Il appartient à la famille des glycosaminoglycannes, et est constitué de la répétition d'un motif disaccharidique de base (N-acétyl-D-glucosamine et acide D-glucuronique), composant un polyside linéaire non sulfaté. La masse moléculaire du polysaccharide achevé varie de  $10^4$  à  $10^7$  Da selon les tissus. Dans la circulation générale, il se présente sous la forme de hyaluronate de sodium.

La conformation tertiaire hélicoïdale, permet à la molécule de hyaluronate de contenir une grande quantité de molécules d'eau (seulement 0,1% de polysaccharides), et également d'incorporer des phospholipides grâce à la présence de poches hydrophobes formées par des ponts hydrogènes intramoléculaires (196). Pour des concentrations supérieures ou égales à 1g/l, les chaînes de hyaluronate commencent à s'entremêler et s'organisent en un réseau tridimensionnel qui est à l'origine de l'augmentation de viscosité du milieu.

#### **1. 2. Métabolisme.**

Le hyaluronate est synthétisé par la hyaluronane synthétase des fibroblastes du tissu conjonctif, à partir des dérivés nucléosidiques issus du métabolisme du glucose (186). Dans la cavité articulaire, il est produit par les synoviocytes de type B et certains chondrocytes. De nombreux facteurs peuvent modifier la synthèse de hyaluronate: hormones, cytokines (IL-1, IL-6, TNF, IFN  $\gamma$ ), facteurs de croissance (TGF  $\beta$ , PDGF, FGF, cellules tumorales), facteurs physico-chimiques (température et pH), et même certains glycosaminoglycannes de masse moléculaire élevée.

L'essentiel de la métabolisation du hyaluronate se fait après drainage lymphatique, qui constitue la principale voie d'élimination du hyaluronate tissulaire. Une fraction est métabolisée dans les ganglions lymphatiques. La fraction efférente gagne la circulation sanguine par le canal thoracique, puis est rapidement captée par le foie (83), où elle est séquestrée par les cellules endothéliales des sinusoides via un récepteur membranaire.

Cependant, dans le cartilage où il forme des complexes macromoléculaires avec les aggrécanes, il est peu mobilisable (demi-vie: 20 jours, versus 2 jours dans le tissu cutané). Il est alors dégradé en partie localement. La demi-vie du hyaluronate circulant varie de 2,5 à 5,5 mn (84). L'élimination urinaire est faible et concerne les fragments oligosaccharidiques de petite taille (4 à 12 kDa) (143).

Trois enzymes interviennent dans la métabolisation du hyaluronate et sa dégradation en monosaccharides :

- la hyaluronidase, de distribution ubiquitaire,
- la  $\beta$ -D-glucuronidase, présente dans les lysosomes et le reticulum endoplasmique,
- la  $\beta$ -N-acétyl-D-hexosaminidase.

Les monosaccharides libérés sont ensuite réutilisés pour la synthèse de nouveaux polymères ou pour la production d'énergie par voie de la glycolyse.

### **1. 3. Propriétés biologiques et physico-chimiques.**

Outre son rôle de soutien en tant que constituant essentiel de la matrice extracellulaire des tissus conjonctifs, le hyaluronate présente des propriétés physico-chimiques et biologiques variées. Ainsi, son affinité pour les molécules d'eau emprisonnées dans une structure en réseau lui confère des propriétés de gel visco-élastique, concourant à la lubrification de l'articulation et l'amortissement des chocs. Lors des mouvements, les liaisons intermoléculaires sont susceptibles de se rompre, la viscosité va alors diminuer, puis, au repos, revenir à sa valeur initiale. Par ailleurs, la formation de volumineux polymères permet, par la pression osmotique exercée, de limiter la mobilisation des flux aqueux dans la matrice extracellulaire (105). Le hyaluronate joue également un rôle régulateur sur le transport des molécules solubles dans la matrice extracellulaire. En effet, l'organisation en réseau permet de filtrer les molécules selon leur taille, leur conformation et leur charge ionique. A concentrations élevées, il constitue un halo péricellulaire limitant les interactions cellulaires, et par là même, capable de réduire la mobilité des lymphocytes, leur réponse aux mitogènes et de protéger de la cytotoxicité médiée par les lymphocytes. Cet effet immunosuppresseur non sélectif permet, chez les transplantés, de supprimer la réaction du greffon contre l'hôte. Il pourrait également favoriser la survie de cellules cancéreuses synthétisant du hyaluronate en grande quantité.

Indépendamment de ses propriétés rhéologiques, le hyaluronate peut interagir avec de nombreuses cellules par l'intermédiaire de récepteurs membranaires (récepteur cellulaire

CD44, récepteur des cellules endothéliales hépatiques...) ou de protéines extracellulaires (fibronectine, hyaluronectine, domaine G1 des agrécanes, " link protein " du cartilage...).

En tant que ligand du récepteur cellulaire CD44 (Lymphocyte homing receptor), le hyaluronate peut se comporter comme une molécule d'adhésion, intervenant dans la communication intercellulaire (12). Le récepteur CD44 présente des fonctions biologiques multiples et ses interactions avec le hyaluronate pourrait rendre compte de sa participation dans l'adhérence des cellules épithéliales aux membranes basales, la liaison des leucocytes aux cellules endothéliales vasculaires, le " homing " des lymphocytes dans les organes lymphoïdes secondaires et les sites inflammatoires, ou l'aggrégation des leucocytes (108). Ceci lui permet de jouer un rôle dans la régulation des fonctions des cellules inflammatoires, inhibant ou stimulant ces cellules selon la concentration de hyaluronate (206).

Le rôle du hyaluronate dans la cicatrisation résulterait de ses différentes propriétés. Ainsi, il formerait en interagissant avec la fibrine une matrice dense, favorable à la migration cellulaire, tout en étant capable localement de moduler l'activité des cellules inflammatoires et de favoriser l'angiogénèse par ses fragments de faible masse moléculaire (100).

#### **1. 4. Variations physiologiques.**

Les concentrations de hyaluronate circulant varient avec l'âge, sans différence selon le sexe (148): élevés chez le nouveau-né, en raison de l'immaturation hépatique, les taux se stabilisent chez l'enfant et l'adolescent entre 20 et 30 $\mu$ g/l, puis augmentent chez l'adulte de 15  $\mu$ g/l par tranche de 10 ans, et de façon plus importante encore chez le vieillard.

Chassagne *et al.* (54) ont mis en évidence un rythme nycthéméral qui existe aussi bien chez les sujets sains, que chez des patients atteints de polyarthrite rhumatoïde. Ces variations sont étroitement corrélées aux périodes d'activité physique et de repos et traduisent la mobilisation du hyaluronate de la cavité synoviale vers la circulation générale via les vaisseaux lymphatiques (54, 73).

Les taux de hyaluronate varient également selon la méthode de dosage utilisée: seuil de détection variant de 1 à 15 $\mu$ g/l pour les méthodes par affinité, seuils de détection respectivement entre 1 et 5 mg/l pour la colorimétrie et entre 0,1 et 0,5 mg/l pour la chromatographie. Dans le liquide synovial, le hyaluronate représente 95% des glycosaminoglycannes, et sa concentration est proche de 3g/l.

## **1. 5. Variations physiopathologiques.**

De nombreuses conditions pathologiques peuvent s'accompagner d'une élévation des taux sériques de hyaluronate qu'elles soient responsables d'une augmentation de sa production (maladies inflammatoires, tumeurs) ou d'un défaut de son catabolisme (pathologies hépatiques et rénales).

### ***1. 5. 1. Elévation des taux par défaut de clairance.***

En raison de son catabolisme essentiellement hépatique, les taux de hyaluronate circulants s'élèvent en cas de pathologie hépatique, tout particulièrement au cours de la cirrhose alcoolique et de la cirrhose biliaire primitive (72). En revanche, les hépatites aiguës virales et médicamenteuses ne s'accompagnent pas d'une élévation des taux circulants.

Bien que le foie soit le principal site de dégradation du hyaluronate, une fraction de faible masse moléculaire apparaît dans les urines (143). Chez les patients insuffisants rénaux traités par hémodialyse, une élévation modérée des taux a été décrite (106). Elle reste corrélée à l'âge du sujet et est indépendante de l'étiologie de l'insuffisance rénale chronique (voir paragraphe 2).

D'autres sites de dégradation du hyaluronate existent, comme le système réticulo-endothélial, et en particulier les ganglions lymphatiques. En cas d'infection grave, des taux circulants élevés semblent constituer un marqueur de mauvais pronostic (26).

### ***1. 5. 2. Elévation des taux par augmentation de synthèse.***

#### ***- Pathologies articulaires***

Les maladies inflammatoires s'accompagnent d'une augmentation de la synthèse de hyaluronate et d'une élévation des taux circulants. Il est ainsi considéré comme un marqueur de l'inflammation synoviale dans la PR (124), où les taux sériques pourraient être directement corrélés à l'importance de la prolifération synoviale (108, 101). Selon Engström-Laurent (73), le hyaluronate pourrait s'accumuler dans la synoviale rhumatoïde pendant la nuit, entraînant une gêne mécanique reflétée par la raideur articulaire matinale. Dans la PR précoce, le taux de hyaluronate est corrélé aux indices cliniques et biologiques de l'activité inflammatoire: indice de Ritchie, nombre d'articulations tuméfiées, durée du dérouillage articulaire, vitesse de sédimentation et protéine C-réactive (54, 182). Cette relation disparaît pour la plupart des paramètres après 12 mois de suivi (182). En revanche, le taux de hyaluronate à l'inclusion est corrélé avec l'importance des destructions radiologiques

mesurées par le score de Larsen à 12 mois, et reste élevé s'il existe une progression des lésions radiologiques. Le taux circulant de hyaluronate serait donc non seulement un indicateur des PR sévères, mais aussi un facteur pronostique de l'évolution vers une polyarthrite érosive.

Les traitements de fond (111) et les traitements anti-inflammatoires non stéroïdiens (54, 71, 122) n'ont aucune influence sur les taux de hyaluronate circulant. Seuls les corticoïdes, pour des posologies supérieures à 15 mg/j, semblent exercer un effet inhibiteur sur la synthèse de hyaluronate par les synoviocytes et chondrocytes (71). Pour les posologies habituellement utilisées dans la PR, soit de 5 à 10 mg de prednisone par jour, il n'existe pas d'effet des corticoïdes sur le taux de hyaluronate (54, 122).

Chez les patients atteints de spondylarthropathie, les taux de hyaluronate circulant restent dans les valeurs normales, même s'il existe des signes cliniques et biologiques d'inflammation sévères (71). En revanche, les taux sériques sont deux à trois fois plus élevés chez les patients porteurs de psoriasis cutané que chez les sujets sains. Les valeurs les plus élevées sont observées chez les patients présentant les lésions cutanées les plus sévères ou une atteinte articulaire associée. Les taux circulants de hyaluronate sont alors corrélés aux marqueurs biologiques de l'inflammation.

Dans l'arthrose, la provenance du hyaluronate est multiple: dégradation du cartilage, liquide synovial et synoviale articulaire (101). Les premières études réalisées ont rapporté une élévation modérée des taux circulants de hyaluronate chez des patients souffrant de gonarthrose (109). Les taux les plus élevés sont associés à une aggravation du pincement de l'interligne articulaire, témoin de la chondrolyse. En réalité, à la lumière de travaux plus récents, l'élévation modérée du hyaluronate serait plutôt liée à la présence d'une synovite (101, 110). Les taux de hyaluronate ne semblent pas corrélés aux paramètres de l'inflammation chez les patients arthrosiques. Le hyaluronate aurait surtout une valeur prédictive de l'évolution de la gonarthrose (200).

#### - Pathologies tumorales

Une augmentation des taux sériques de hyaluronate a pu être démontrée dans de nombreuses pathologies tumorales. C'est le cas en particulier du mésothéliome pleural (85). Les taux circulants de hyaluronate semblent associés à un stade avancé de la maladie et une

mauvaise réponse au traitement, leur conférant un certain intérêt pronostique. Une élévation des taux dans le myélome multiple a également été rapportée, mais sans valeur pronostique (1). Chez l'enfant, les taux de hyaluronate sont élevés en cas de tumeurs d'origine rénale (141).

Les taux circulants de hyaluronate n'apparaissent pas augmentés dans le cas des lymphomes, tumeurs sarcomateuses, cancer bronchique et cancer du sein (61).

- Pathologies dermatologiques

Outre le psoriasis, les taux de hyaluronate sont élevés chez les patients atteints de sclérodermie (70). Cette augmentation des taux serait également liée à une synthèse cutanée accrue. Ils seraient directement corrélés au score de gravité de la maladie.



## **2. Hyaluronate et arthropathie du dialysé. Données actuelles**

Il existe une élévation modérée des taux de hyaluronate chez les patients présentant une insuffisance rénale, les taux restant, comme chez les sujet sain, corrélés à l'âge des sujets (106, 114). En revanche, les paramètres témoignant de la fonction rénale résiduelle (créatininémie, clairance de la créatinine,  $\beta$ 2-M) ne sont pas corrélés aux taux de hyaluronate.

L'augmentation du hyaluronate est plus importante chez les sujets traités par hémodialyse chronique, et encore plus chez les hémodialysés présentant une arthropathie (114, 181). Ainsi, une augmentation significative des taux de hyaluronate a été rapportée chez des dialysés porteurs de syndrome du canal carpien par rapport à des patients hémodialysés sans arthropathie appariés pour l'âge (181). Les taux les plus élevés sont observés chez les patients présentant des géodes osseuses du carpe ou des têtes humérales. Honkanen *et al.* (114) observent les taux de hyaluronate les plus élevés chez deux patients présentant un syndrome du canal carpien et des arthralgies des épaules. En revanche, Turney *et al.* (208) ne relèvent aucune élévation significative des taux de hyaluronate chez leurs patients présentant une arthropathie, les critères utilisés pour ce diagnostic n'étant cependant pas précisés.

Dans toutes ces études, il persiste une corrélation des taux de hyaluronate avec l'âge des patients (106, 114, 181), ce qui peut être à l'origine d'un biais, puisque les patients souffrant d'arthropathie sont généralement plus âgés que ceux qui en sont indemnes. Une corrélation a également été décrite avec la durée de dialyse (114, 208), mais n'est pas signalée par tous les auteurs (106, 181). Là encore, les patients avec arthropathie présentent une durée de dialyse plus longue, ce qui peut être source de confusion. En l'absence d'arthropathie, une élévation du hyaluronate circulant semble associé à un mauvais pronostic (106, 208) puisque les taux de hyaluronate circulants sont, indépendamment des autres facteurs, inversement corrélés à la survie des malades (217).

La question de l'origine et de la signification de cette élévation du hyaluronate reste entière. S'agit-il simplement du reflet de la fonction rénale résiduelle? S'agit-il d'un témoin du vieillissement accéléré des tissus conjonctifs chez le dialysé, ou existe-t-il une production accrue de hyaluronate médiée par l'augmentation des cytokines pro-inflammatoires circulantes, ou localement libérées par le tissu synovial? Le rôle des membranes de dialyse a été évoqué car elles pourraient modifier l'élimination du hyaluronate. Cependant, il n'a pas été mis en évidence de différence significative entre les taux de hyaluronate mesuré avant et après la séance de dialyse (201, 220), ni entre les taux sériques observés chez les patients dialysés sur membranes en cuprophane et ceux dialysés sur membranes biocompatibles (114).

### **3. Etude expérimentale et perspectives:**

#### **Hyaluronate: marqueur de l'arthropathie du dialysé ?**

Nous avons réalisé une étude rétrospective sur un échantillon de patients hémodialysés afin de déterminer si les concentrations sériques de hyaluronate pouvaient être corrélées à l'existence de lésions articulaires. Cette étude a porté sur 40 patients hémodialysés chroniques (Services de Néphrologie et Centre de Dialyse, CHU Nancy-Brabois). Les patients ont été distingués selon qu'ils avaient ou non une arthropathie du dialysé (arthropathies et/ou spondylarthropathies destructrices, syndrome du canal carpien, arthralgies associées). Deux patients ont été exclus de l'étude en raison d'une perturbation des enzymes hépatiques. Treize patients présentaient une arthropathie du dialysé selon les critères cités. Les dosages radiométriques de hyaluronate circulants chez ces patients étaient significativement plus élevés que chez les patients hémodialysés dépourvus d'arthropathie. Cependant, il faut noter que l'âge des patients et la durée de dialyse étaient aussi significativement plus élevés dans le groupe arthropathie, ce qui pourrait introduire un biais dans les résultats observés.

Elevated circulating levels of hyaluronan in long-term hemodialysis patients with dialysis associated arthropathy : what does it mean ?

JOUZEAU JY, CHARY-VALCKENAERE I, CAO-HUU T, FENER P, NETTER P, GAUCHER A, KESSLER M.

Nephron 1993; 64: 498-499

La constatation d'une forte corrélation entre les taux sériques de hyaluronate et la présence d'une arthropathie du dialysé, nous a donc conduit à entreprendre une étude prospective sur une population de patients appariés sur l'âge et la durée de dialyse, afin de confirmer la valeur diagnostique et/ou pronostique du hyaluronate dans l'arthropathie du dialysé.

J.Y. Jouzeau<sup>a</sup>  
I. Chary-Valckenaere<sup>a,b</sup>  
T. Cao-Huu<sup>b</sup>  
P. Fener<sup>a,b</sup>  
P. Netter<sup>a,b</sup>  
A. Gaucher<sup>a,b</sup>  
M. Kessler<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> URA CNRS 1288, Faculté de Médecine;

<sup>b</sup> Services de Néphrologie et de Rhumatologie,  
Hôpital de Nancy-Brabois, Vandœuvre,  
France

Dear Sir,

We were very interested in the paper of Dr Ozasa [1] relative to plasma levels of hyaluronan (HA) in chronic hemodialysis patients exhibiting characteristic symptoms of dialysis-associated arthropathy (DAA). As it is ubiquitous by nature, HA is not disease specific, but recent studies in joint disorders suggest that it may be a marker of synovial inflammation rather than of the systemic inflammatory reaction [2]. As such, it would be very exciting to look for an association of HA as a potential marker of synovitis with amyloid deposits in joints of long-term hemodialysis patients. Using a highly sensitive radiometric assay ('HA test 50' Pharmacia, Sweden), we found that patients with DAA according to previously published criteria [3] exhibited significantly higher serum HA levels ( $524 \pm 499 \mu\text{g/l}$ , mean  $\pm$  SD;  $n = 13$ ) than control hemodialysis patients ( $249 \pm 196 \mu\text{g/l}$ ;  $n = 25$ ;  $p < 0.01$ ). These preliminary results are in good agreement with those of Ozasa et al. [1] and confirm Honkanen's et al. [4] who reported the highest HA levels in 2 dialysis patients with, respectively, carpal tunnel syndrome and bilateral shoulder pain. In contrast, Turney et al. [5] observed a 'normal' median HA level in DAA ( $200 \mu\text{g/l}$ ), but their criteria for DAA diagnosis were not specified. HA levels appeared increased in DAA, but the question is why?

Age may confound our results since DAA patients were significantly older ( $69.7 \pm 11.3$  years) than hemodialysis controls ( $60.0 \pm 17.5$  years;  $p < 0.05$ ), much more so that HA levels increase with age in health and uremia [6].

## Elevated Circulating Levels of Hyaluronan in Long-Term Hemodialysis Patients with Dialysis-Associated Arthropathy: What Does It Mean?

Nevertheless, looking for a correlation between age and serum HA levels in DAA then would be very difficult, since the frequency of DAA increases with age [7] while HA levels are simultaneously influenced by the course of the disease as in joint disorders.

Dialysis duration may also confound our study, since DAA patients underwent hemodialysis for longer time periods than the hemodialysis controls ( $7.3 \pm 5.3$  vs.  $3.8 \pm 3.7$  years). In their pioneering study, Hällgren et al. [6] reported no correlation between HA levels and duration of dialysis as do Ozasa et al. [1]. Other recent studies suggest a close correlation between circulating HA and the duration of dialysis, confirmed by a relationship with serum  $\beta_2$ -microglobulin levels [4, 5]. To date, however, no analogous study has been done comparing DAA with dialysis controls matched for dialysis duration.

As serum HA levels are significantly increased in patients with chronic renal failure independent of hemodialysis [4, 6], one may ask whether circulating HA actually reflects renal impairment. The lack of permanent correlation between HA and either serum creatinine, type of dialysis [4-6] or dialysis membranes used [4] and the reduced proportion of small-molecular-weight fragments of HA in serum [5] suggest that diminished renal clearance is probably not the main source of elevated HA levels. In addition, the influence of residual renal function can easily be reduced when studies are done in virtually anuric DAA patients [1] or oligoanuric patients whose urinary output is assessed.

The results of Turney et al. [5] raise the question of the origin of high-molecular-weight HA in the serum of dialysis patients. Based on the molecular-weight-dependent uptake of HA in the liver, a generalized dysfunction of the endothelial system has been evoked through possible endothelial receptor blockade. Further studies are required to investigate if the proportion of high-molecular-weight circulating HA is larger in DAA patients than in hemodialysis controls.

Another explanation involves an increased HA outflow to the circulation, as a reflection of an accelerated 'aging' of the connective tissue [6]. As the incidence of DAA increases with age at the beginning of dialysis [7], longitudinal studies are needed to investigate whether DAA strengthens the disturbed connective-tissue metabolism inherent in chronic renal failure.

Finally, excessive HA synthesis has to be considered. As numerous studies have reported elevated circulating cytokine levels in chronic hemodialysis patients [8, 9], a cytokine-mediated HA increase has been suggested [1, 5]. However, a 'circulating' mechanism seems unlikely in DAA, since cytokines with major roles in the acute phase response should trigger acute phase reactants (APR) rather than HA synthesis, even with different kinetics. Moreover, studies of C-reactive protein suggest that chronic inflammatory reactions occur in long-term hemodialysis patients, but an inflammatory basis for DAA remains controversial [1, 10]. With this in mind, the contrast between the high HA lev-

els and the medium APR levels in DAA could simply reflect that these abnormalities are the consequence of separate pathways related to the disease, including an increased HA synthesis in the synovium of the affected joints [1]. This hypothesis requires subsequent demonstration, but recent work [11] using tenosynovial tissues from patients with carpal tunnel syndrome showed a mononuclear cell infiltration with high production of IL-1 and IL-6-like activities. As these cytokines are able to trigger HA synthesis by resident cells and to induce cellular proliferation within the connective tissue [12], a local overload of HA is then plausible.

In conclusion, we confirm the potential use of circulating HA as a biological marker of DAA, although much more work is required to evaluate its physiopathological relevance in this disease.

## References

- 1 Ozasa H, Chichibu K, Tanaka Y, et al: Relationship between plasma levels of hyaluronic acid and amyloid-associated osteoarthropathy in chronic hemodialysis patients. *Nephron* 1992; 61:187-191.
- 2 Jouzeau J-Y, Payan E, Gillet P, et al: Clinical significance of hyaluronan in rheumatic diseases. *Arthritis Rheum* 1992;35:1253-1254.
- 3 Kessler M, Netter P, Azoulay E, et al: Dialysis-associated arthropathy: A multicenter survey of 171 patients receiving haemodialysis for over 10 years. *Br J Rheumatol* 1992;31:157-162.
- 4 Honkanen E, Fröseth B, Grönhagen-Riska C: Serum hyaluronic acid and procollagen III amino terminal propeptide in chronic renal failure. *Am J Nephrol* 1991;11:201-206.
- 5 Turney JH, Davison AM, Forbes MA, et al: Hyaluronic acid in end-stage renal failure treated by haemodialysis: Clinical correlates and implications. *Nephrol Dial Transplant* 1991;6:566-570.
- 6 Hällgren R, Engström-Laurent A, Nisbeth U: Circulating hyaluronate. A potential marker of altered metabolism of the connective tissue in uremia. *Nephron* 1987;46:150-154.
- 7 Gaucher A, Kessler M, Netter P, et al: Dialysis arthropathy. The effect of age. *J Rheumatol* 1988;15:1880-1881.
- 8 Bingel M, Lonnemann G, Koch KM, et al: Plasma interleukin-1 activity during hemodialysis. The influence of dialysis membranes. *Nephron* 1988;50:273-276.
- 9 Haeffner-Cavaillon N, Cavaillon J-M, Ciancioni C, et al: In vivo induction of interleukin-1 during hemodialysis. *Kidney Int* 1989;35:1212-1218.
- 10 Docci D, Bilancioni R, Buscaroli A, et al: Elevated serum levels of C-reactive protein in hemodialysis patients. *Nephron* 1990;56:364-367.
- 11 Miyasaka N, Sato K, Kitano Y, et al: Aberrant cytokine production from tenosynovium in dialysis associated amyloidosis. *Ann Rheum Dis* 1992;51:797-802.
- 12 Wells AF, Klareskog L, Lindblad S, et al: Correlation between increased hyaluronan localized in arthritic synovium and the presence of proliferating cells. A role for macrophage-derived factors. *Arthritis Rheum* 1992;35:391-396.

## **CONCLUSION GENERALE**

## Conclusion

La revue de la littérature témoigne de nombreuses controverses et de résultats contradictoires, liés en partie à l'ambiguïté (56) entre le concept restrictif " d'arthropathie amyloïde " (5, 9, 15), dont la définition doit être purement histologique, et celui plus vaste " d'arthropathie du dialysé " (12, 19), dont le diagnostic repose sur des critères cliniques (syndrome du canal carpien, arthralgies) et radiologiques (géodes osseuses, destructions articulaires et vertébrales). Ces deux pathologies sont intimement liées et constituent des complications inéluctables de la dialyse prolongée. Elles apparaissent dans des délais d'autant plus brefs que l'âge des patients lors de la mise en dialyse est élevé (15, 57).

L'importance physiopathologique de l'amylose  $\beta$ 2-M reste primordiale dans le développement des lésions ostéoarticulaires chez le dialysé. Ainsi, dans notre étude clinique, le SCC ne s'intègre dans le cadre d'une arthropathie du dialysé que lorsque la présence d'amylose  $\beta$ 2-M est prouvée par l'étude anatomopathologique. De plus, ces dépôts amyloïdes sont entourés par une réaction synoviale inflammatoire, bien mise en évidence par l'IRM haute résolution, même dans le cadre de dépôts microscopiques. De nombreuses cytokines, produites par les tissus articulaires infiltrés par l'amylose peuvent induire la prolifération des cellules synoviales (51).

Cependant, l'amylose  $\beta$ 2-M n'est pas le facteur exclusif de l'arthropathie, et d'autres facteurs interviennent, comme l'intoxication aluminique. L'aluminium s'accumule dans les structures ostéoarticulaires chez le dialysé (90). Il est responsable, après injection intra-articulaire d'un composé soluble dans le genou de lapin, d'une synovite hémorragique sévère. Sa toxicité pourrait être médiée par une sécrétion d'eicosanoïdes par les cellules synoviales, comme le laissent supposer nos résultats expérimentaux dans le modèle de la poche à air chez le rat. La formation d'aluminosilicates *in vivo*, ou de tout autre complexe, constitue une forme de protection vis à vis de la toxicité aluminique, en empêchant sa liaison à la transferrine qui permet son entrée dans les cellules portant les récepteurs adéquats (11). Des interactions synergiques entre l'aluminium et la  $\beta$ 2-M sont possibles chez le dialysé, et sont à rapprocher

des données cliniques et expérimentales rapportées dans la maladie d'Alzheimer (76). L'hyperparathyroïdisme secondaire joue également un rôle prépondérant dans certaines localisations (10, 46, 56, 59). De même que les lésions préexistantes à la dialyse, il pourrait faire le lit de l'amylose.

Actuellement, aucune technique de dialyse ne permet d'éviter le développement de lésions d'arthropathie du dialysé. Le contrôle de la teneur en aluminium des bains de dialyse et de l'utilisation de gels d'aluminium comme chélateurs du phosphore permet d'éviter les complications neurologiques gravissimes de l'intoxication aluminique, mais ne supprime pas l'accumulation d'aluminium dans les structures ostéoarticulaires des dialysés et ses conséquences. Chez l'insuffisant rénal chronique âgé, des dépôts amyloïdes ont été décrits avant le début de la dialyse (67, 68). La transplantation rénale permet la disparition des signes cliniques d'arthropathie, mais les géodes osseuses (22) les dépôts amyloïdes et l'ostéopathie aluminique (73) persistent.

Une meilleure compréhension physiopathologique de l'amylose  $\beta_2$ -M et de l'arthropathie du dialysé reste nécessaire, afin d'en contrôler les facteurs étiologiques et de prévoir le plus rapidement possible, chez les sujets à risque, une transplantation rénale qui reste actuellement la seule solution thérapeutique efficace. Les similitudes mises en évidence entre l'amylose des dialysés et d'autres types d'amylose, en particulier en ce qui concerne l'amyloïdogénèse et la toxicité aluminique, permettrait d'envisager des solutions thérapeutiques ou préventives communes dès lors que leur physiopathogénie sera élucidée.

**REFERENCES**

**BIBLIOGRAPHIQUES**



1. Abildgaard N, Nielsen JL, Heickendorff L. Connective tissue components in serum in multiple myeloma: analyses of propeptides of type I and type III procollagens, type I collagen telopeptide and hyaluronan. *Am J Hematol* 1994;46:173-178.
2. Abreo K, Glass J, Sella MC. Aluminium inhibits hemoglobin synthesis but enhances iron uptake in Friend erythroleukemia cells. *Kidney Int* 1990;37:677-681.
3. Alcalay M, Goupy MC, Azais I, Bontoux D. Hemodialysis is not essential for the development of destructive spondylarthropathy in patients with chronic renal failure. *Arthritis Rheum* 1987;30:1182-1186.
4. Alfrey AC, Legendre GR, Kaehni WD. The dialysis encephalopathy syndrome. Possible aluminium intoxication. *N Engl J Med* 1976;294:184-188.
5. Allain TJ, Stevens PE, Bridges LR, Phillips ME. Dialysis myelopathy. quadriplegia due to extradural amyloid of beta-2-microglobulin origin. *Br Med J* 1988;296:752-753.
6. Allieu Y, Asencio G, Mailhe D, Baldet P, Mion C: Syndrome du canal carpien chez l'hémodialysé chronique: approche étiopathogénique à propos de 31 cas opérés. *Rev Chir Orthop* 1983;69:233-8.
7. Allieu Y, Benichou M, Clémencet F, Ouaknine R, Mion Ch, Canaud B. Les arthropathies amyloïdes à la main chez les hémodialysés. *Ann Chir Main* 1990;4:282-289.
8. Allieu Y, Chammas M, Idoux O, Hixson M, Mion C. Le syndrome du canal carpien et les ténosynovites amyloïdes chez l'hémodialysé chronique. Evolution et traitement à propos de 130 cas. *Ann Chir Main* 1994;13:113-21.
9. Altmann P, Cunningham J, Dhanesha U, Ballard M, Thompson J. Disturbance of cerebral function in people exposed to drinking water contaminated with aluminum sulphate: retrospective study of the Camelford water incident. *Br Med J* 1999;319:807-11.
10. Araki H, Muramoto H, Oda K, Koni I, Mabuchi H, Mizukami Y, Nonomura A. Severe gastrointestinal complications of dialysis-related amyloidosis in two patients on long-term hemodialysis. *Am J Nephrol* 1996;16:149-153.
11. Argilès A, Mourad G, Kerr PG, Garcia M, Collins B, Demaille JG. Cells surrounding haemodialysis-associated amyloid deposits are mainly macrophages. *Nephrol Dial Transplant* 1994;9:662-667.
12. Aruffo A, Stamenkovic I, Melnick M, Underhill CB, Seed B. CD 44 is the principal cell surface receptor for hyaluronate. *Cell* 1990;61:1303-1313.
13. Asencio G, Rigout C, Ramperez P, Branger B, Oules R, Bertin R, Megy B, leonardi C. Hemodialysis related lesions of the hand. *Rev Rhum [Engl. Ed.]* 1995;62:233-40.
14. Assenat H, Calemard E, Charra B, Laurent G, Terrat JC, Vanel T. Hémodialyse, syndrome du canal carpien et substance amyloïde. *Nouv Presse Med* 1980;9:1715.
15. Athanasou NA, Puddle B, Sallie B. Highly sulphated glycosaminoglycans in articular cartilage and other tissues containing  $\beta$ 2-microglobulin dialysis amyloid deposits. *Nephrol Dial Transplant* 1995;10:1672-1678.

16. Balasubramanian GS, Hurley JV. The structure and reactions of the microcirculation in a subcutaneous air pouch in the rat. *J Pathol* 1987;157:139-146.
17. Ballanti Q, Wedard BM, Bonucci E. Frequency of adynamic bone disease and aluminium storage in Italian uraemic patients. retrospective study of 1429 iliac crest biopsies. *Nephrol Dial Transplant* 1996;11:663-667.
18. Barata JD, D'Haese PC, Pires C, Lamberts LV, Simoes J, De Broe ME. Low-dose (5 mg/kg) desferrioxamine treatment in acutely aluminium-intoxicated haemodialysis patients using two drug administration schedules. *Nephrol Dial Transplant* 1996;11:125-132.
19. Bardin T, Kuntz D, Zingraff J, Voisin MC, Zelmar A, Lansaman J. Synovial amyloidosis in patients undergoing long term hemodialysis. *Arthritis Rheum* 1985;28:1052-8.
20. Bardin T, Kuntz D. The arthropathy of chronic haemodialysis. *Clin Exp Rheum* 1987;5:379-386.
21. Bardin T, Vasseur M, De Vernejoul MC, Raymond P, Lafforgue B, Judith C, Zingraff J, Kuntz D. Etude prospective de l'atteinte articulaire des malades hémodialysés depuis plus de 10 ans. *Rev Rhum Mal Osteoartic* 1988;55:131-134.
22. Bardin T. Les complications rhumatologiques des dialysés. *Ann Radiol* 1993;36:74-80.
23. Bardin T, Lebaill-Darné JL, Zingraff J, Laredo JD, Voisin MC, Kreis H, Kuntz D. Dialysis arthropathy: outcome after renal transplantation. *Am J Med* 1995;99:243-248.
24. Bardin T. Renal osteodystrophy. *Rev Rhum [Engl Ed]* 1997;64 (Suppl 6):114-118.
25. Benoit J, Guiziou B, Godinger JJ, Delons S, Got Cl. Le syndrome du canal carpien chez l'hémodialysé. *Rev Chir Orthop* 1988;74:162-7.
26. Berg S, Brodin B, Hesselvik F, Laurent TC, Maller R. Elevated levels of plasma hyaluronan in septicemia. *Scand J Clin Lab Invest* 1988;48:727-732.
27. Bergaard I, Bearn AG. Isolation and properties of a low molecular weight  $\beta$ 2-globulin occurring in human biological fluids. *J Biol Chem* 1968;243:4095-4103.
28. Bergemer AM, Fouquet B, Cotty P, Blanchier D, Tauveron P, Goupille P, Pengloan J, Valat JP. Dialyse périodique chronique et atteinte du rachis cervical. Etude transversale de 55 cas. *Rev Rhum* 1989;56:533-538.
29. Bernageau J, Bardin T, Goutallier D, Voisin MC, Bard M. Magnetic resonance imaging findings in shoulders of hemodialyzed patients. *Clin Orthop Rel Res* 1994;304:91-96.
30. Birchall JD, Chappel JS. The chemistry of aluminum and silicon in relation to Alzheimer's disease. *Clin Chem* 1988;34:265-267.
31. Borgatti PP, Lusenti T, Franco V, Anelli A, Brancaccio D. Guyon's syndrome in a long-term haemodialysis patient. *Nephrol Dial transplant* 1991;6:734-735.
32. Brancaccio D, Cozzolino M, Gallieni M. Dialysis amyloidosis: clinical aspects and therapeutic approach. *Nephrol Dial Transplant* 1996;11 (suppl):102-105.

33. Britz GW, Haynor DR, Kuntz C, Goodkin R, Gitter A, Kliot M. Carpal tunnel syndrome: correlation of magnetic resonance imaging, clinical, electrodiagnostic, and operative findings. *Neurosurgery* 1995;37:1097-1103.
34. Brooks PM, Burton D, Forrest MJ. Crystal-induced inflammation in the rat subcutaneous air-pouch. *Br J Pharmacol* 1987;90:413-419.
35. Brown EA, Arnold JR, Gower PE. Dialysis arthropathy: complication of long term treatment with haemodialysis. *Br Med J* 1986;292:163-6.
36. Bussell JA, Abbott JA, Lim RC. Radial steal syndrome with arteriovenous fistula for hemodialysis. *Ann Intern Med* 1971;75:387
37. Butler DM, Vitti GF, Leizer T, Hamilton JA. Stimulation of the hyaluronic acid levels of the human synovial fibroblasts by recombinant human tumor necrosis factor  $\alpha$ , tumor necrosis factor  $\beta$  (lymphotoxin), interleukin-1 $\alpha$ , and interleukin-1 $\beta$ . *Arthritis Rheum* 1988;31:1281-1289.
38. Cala S, Pavlovic D, Kordic D, Jankovic N. Age at start of dialysis determines the onset of symptoms of osteoarticular amyloidosis. *Nieren Hochdruck* 1997;26:21-23.
39. Campistol JM, Solé M, Bombi JA, Rodriguez R, Mirapeix E, Munoz-Gomez J, Revert LI. In vitro spontaneous synthesis of  $\beta$ 2-microglobulin. *Am J Pathol* 1992;41:241-248.
40. Campistol JM, Argiles A. Dialysis-related amyloidosis: visceral involvement and protein constituents. *Nephrol Dial Transplant* 1996;11 (suppl):142-145.
41. Canalis E, Mc Carthy T, Centrella M. A bone-derived growth factor from rat calvariae is beta2 microglobulin. *Endocrinology* 1987;121:1198-1200.
42. Candy JM, Oakley AE, Klinowski J, Carpenter T, Perry R, Attack J, Perry E, Blessed G, Fairbairn A, Edwardson J. Aluminosilicates and senile plaque formation in Alzheimer's disease. *Lancet* 1986;1:354-357.
43. Candy JM, Oakley AE, Gauvreau D, Chalker P, Bishop HE, Moon D, Staines G, Edwardson JA. Association of aluminum and silicon with neuropathological changes in the ageing brain. *Interdiscipl Topics Geront* 1988;25:140-155.
44. Candy JM, Oakley AE, Mounford SA, Bishop HE, Taylor GA, Morris CM, Edwardson JA. The distribution of aluminium in the forebrain of chronic renal dialysis patients in relation with the Alzheimer's disease using SIMS. In: *SIMS VII*, Benninghoven A, Evans CA, McKeegan KD, Storms HA & Verner HW eds, John Wiley 1Sons, New York, 1990: 323-326.
45. Cannata JB, Briges JD, Junor BJR, Gordons SF, Beastall G. Effect of acute aluminium overload on calcium and parathyroid hormone metabolism. *Lancet* 1983;1:501-503.
46. Cannata JB, Diaz Lopez JB. Insights into complex aluminium and iron relationship. *Nephrol Dial Transplant* 1991;6:605-607.

47. Capeillère-Blandin C, Delaveau T, Descamp-Latscha B. Structural modifications of human  $\beta$ 2 microglobulin treated with oxygen-derived radicals. *Biochem J* 1991;277:175-182.
48. Cary NRB, Sethi D, Brown EA, Erhardt CC, Woodrow DF, Gower PE. Dialysis arthropathy: amyloid or iron? *Br Med J*, 1986;293:1392-1394.
49. Catizone L, Viglietta G, Cocchi R, Dadone C, De Vecchi A, Giangrande A, Lindner G, Manizi L, Querques M, Ramello A, Sau G, Scanziani R, Strippoli P, Viglino G. Dialysis-related amyloidosis in a large CAPD population. *Adv Perit Dial* 1995;11:214-217.
50. Centrella M, MC Carthy TL, Canalis E.  $\beta$ 2-microglobulin enhances insulin-like growth factor I receptor levels and synthesis in bone cell culture. *J Biol Chem* 1989;264:18268-18271.
51. Chanard J, Bindi P, Lavaud S, Toupance O, Maheut H, Lacour F. Carpal tunnel syndrome and type of dialysis membrane 1989;298:867-868.
52. Chanard J. The membrane effects in dialysis amyloidosis: role of membrane permeability and biocompatibility. *Rev Rhum [Engl Ed.]* 1994;61 (suppl 4):79-84.
53. Charra B, Calemard E, Yzan M, Terra JC, Vanel T, Laurent G. Carpal tunnel syndrome, shoulder pain and amyloid deposits in long term hemodialysis patients. *Proc Eur Dial transplant* 1985;21:291-295.
54. Chassagne P, Le Loet X, Delpech B, Levesque H, Menard JF, Maingonnat C, Deshayes P. Etude des variations nyctémérales du taux sérique d'acide hyaluronique au cours de la polyarthrite rhumatoïde. *Rev Rhum* 1989;56:775-779.
55. Chaussidon M, Netter P, Kessler M, Membre H, Fener P, Delons S, Albarède F. Dialysis-associated arthropathy: secondary ion mass spectrometry evidence of aluminum silicate in  $\beta$ 2-microglobulin amyloid synovial tissue and articular cartilage. *Nephron* 1993;65:559-563.
56. Claudon M, Régent D, Gaucher A, Kessler M, Fabre JL, Grignon B, Netter P. MR patterns of dialysis arthropathy. *J Comput Assist Tomogr* 1990;14:968-974.
57. Cornelis F, Bardin T, Faller B, Verger C, Allouache M, Raymond P, Rottembourg J, tourlière D, Benhamou C, Noël LH, Kuntz D. Rheumatic syndromes and  $\beta$ 2-microglobulin amyloidosis in patients receiving long-term peritoneal dialysis. *Arthritis Rheum* 1989;32:785-788.
58. Corradi M, Paganelli E, Pavesi G. Carpal tunnel syndrome in long-term hemodialyzed patients. *J Reconstr Microsurg* 1989;5:103-110.
59. Costantini S, Giordano R, Ioppola A, Mantovani A, Ballanti P, Mocetti P, Bonucci E. Distribution of aluminium following intraperitoneal injection of aluminium lactate in the rat. *Pharmacol Toxicol* 1989;64:47-50.
60. D'Haese PC, Couttenye MM, De Broe ME. Diagnosis and treatment of aluminium bone disease. *Nephrol Dial transplant* 1996;11 (suppl 3):74-79.

61. Dahl IMS, Laurent TC. Concentration of hyaluronan in the serum of untreated cancer patients with special reference to patients with mesothelioma. *Cancer* 1988;62:326-330.
62. De Krom MCTFM, Knipschild PG, Kester ADM, Thijs CT, Bekkoi PF, Spaans F. Carpal tunnel syndrome: prevalence in the general population. *J Clin Epidemiol* 1992;45:373-376.
63. De Vernejoul MC, Belenguer R, Halkidou H, Buisine A, Bielakoff J, Miravel T. Histomorphometric evidence of deleterious effect of aluminum on osteoblasts. *Bone* 1985;6:15-20.
64. De Vernejoul MC. Ostéodystrophie rénale. *Rev Prat* 1990;613-618.
65. Delongas JL, Netter P, Boz P, Faure G, Royer RJ, Gaucher A. Experimental synovitis induced by aluminium phosphate in rabbits. *Biomedicine* 1984;38:44-48.
66. Droz D, Nochy D. Substance amyloïde et amyloïdoses. *Ann Pathol* 1995;15:11-20.
67. Duquesnoy B, Flipo RM, Deveaux M, Foissac-Gegoux P, Marchandise X. Imaging of dialysis-related amyloid deposits with iodine-123-labeled serum amyloid P component. *Rev Rhum [Engl Ed.]* 1994;61 (suppl):33-37.
68. Edwards JCW, Sedgwick AD, Willoughby DA. The formation of a structure with the features of synovial lining by subcutaneous injection of air: an in vivo tissue culture system. *J Pathol* 1981;134:147-156.
69. Edwardson JA, Moore PB, Ferrier IN. Effect of silicon on gastrointestinal absorption of aluminium. *Lancet* 1993;342:211-212.
70. Engström-Laurent A, Feltelius N, Hällgren R, Wasteson A. Raised serum hyaluronate in scleroderma: an effect of growth factor induced activation of connective tissue cells? *Ann Rheum Dis* 1985;44:614-620.
71. Engström-Laurent A, Hällgren R. Circulating hyaluronate in rheumatoid arthritis: relationship to inflammatory activity and the effect of corticosteroid therapy. *Ann Rheum Dis* 1985;44:83-88.
72. Engström-Laurent A, Löf L, Nyberg A, Schröder T. Increased serum levels of hyaluronate in liver disease. *Hepatology* 1985;5:638-642.
73. Engström-Laurent A, Hällgren R. Circulating hyaluronate levels vary with physical activity in healthy subjects and in rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Rheum* 1987;30:1333-1339.
74. Evans DB, Thavarajah M, Kanis JA. Immunoreactivity and proliferative actions of  $\beta$ 2-microglobulin on human bone-derived cells in vitro. *Biochem Biophys Res Comm* 1991;175:795-803.
75. Evans PH, Peterhans E, Bürge T, Klinowski J. Aluminosilicate-induced free radical generation by murine glial cells in vitro: potential significance in the aetiopathogenesis of Alzheimer's dementia. *Dementia* 1992;3:1-16.

76. Fardellone P, Canaud B, Flavier JL. Arthropathie des patients hémodialysés depuis plus de 10 ans, à propos de 84 malades. *Rev Rhum Mal Osteoartic* 1988;55:269-270.
77. Fasman GO, Moore CD. The solubilization of model Alzheimer tangles: reversing the  $\beta$ -sheet conformation model induced by aluminum with silicates. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;11:11232-11235.
78. Faure C, Venin B, Bousquet JC, Bochu M. Amylose osseuse primitive. Aspects en IRM. *J Radiol* 1995;76:1025-1027.
79. Ferrari AL, Rothfuss S, Schumacher HR Jr. Dialysis arthropathy: a subset of patients with unexplained inflammatory effusion. *J Rheumatol* 1997;24:1780-1786.
80. Flipo RM, Cotten A, Chastanet P, Ardaens Y, Foissac-Gegoux P, Duquesnoy B, Delcambre B. Evaluation of destructive spondyloarthropathies in hemodialysis by computerized tomographic scan and magnetic resonance imaging. *J Rheumatol* 1996;23:869-873.
81. Floege J, Burchert W, Brandis A, Gielow P, Nonnast-Daniel B, Spindler E, Hundeshagen H, Shaldon S, Koch KM. Imaging of dialysis-related amyloid deposits with  $^{131}\text{I}$ - $\beta$ 2microglobulin. *Kidney int* 1990;38:1169-1176.
82. Floege J, Schaeffer J, Koch KM. Diagnosis of  $\beta$ 2-microglobulin associated amyloidosis by scintigraphy. *Rev Rhum [Engl Ed.]* 1994;61 (suppl):39-42.
83. Fraser JRE, Laurent TC, Pertoft H, Baxter E. Plasma clearance, tissue distribution and metabolism of hyaluronic acid injected intravenously in the rabbit. *Biochem J* 1981;200:415-424.
84. Fraser JRE, Laurent TC, Engström-Laurent A, Laurent UGB. Elimination of hyaluronic acid from the blood stream in the human. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1984;11:17-25.
85. Frébourg T, Lerebourg G, Delpech B, Benhamou D, Bertrand P, Maingonnat C, Boutin C, Nouvet G. Serum hyaluronate in malignant pleural mesothelioma. *Cancer* 1987;59:2104-2107.
86. Friga V, Linos A, Linos DA. Is aluminum toxicity responsible for uremic pruritus in chronic hemodialysis patients? *Nephron* 1995;75:48-53.
87. Garcia-Garcia M, Garcia-Valero J, Mourad G, Argiles A. Protein constituents of amyloid deposits in  $\beta$ 2-microglobulin amyloidosis. *Rev Rhum [Engl Ed.]* 1994;61 (suppl 4):7-11.
88. Gaucher A, Kessler M, Netter P, Azoulay E, Pere P, Mur JM. Dialysis arthropathy: the effect of age. *J Rheumatol* 1988;15:1880-1.
89. Gaucher A, Kessler M, Netter P. Dialysis-related arthropathy and beta2M amyloidosis. *Rev Rhum [Engl Ed.]* 1995;62:225-227.
90. Gejyo F, Yamada T, Odani S, Nakagawa Y, Kunimoto T, Kataoka H, Suzuki M, Hirasawa Y, ShiraHama T, Cohen AS, Schmid K. A new form of amyloid protein associated with chronic hemodialysis was identified as beta 2 microglobulin. *Biochem Biophys Res Commun* 1985;129:701-6.

91. Gejyo F, Homma N, Suzuki Y, Arakawa M. Serum levels of  $\beta$ 2 microglobulin as a new form of amyloid protein in patients undergoing long-term dialysis. *N Engl J Med* 1986;314:585-586.
92. Gejyo F, Odani S, Yamada T, Honma N, Saito H, Suzuki Y, Nakagawa Y, Kobayashi H, Maruyama Y, Hirasawa Y, Suzuki M, Arakawa M.  $\beta$ 2-microglobulin: a new form of amyloid protein associated with chronic hemodialysis. *Kidney Int* 1986;30:385-390.
93. Gejyo F, Homma N, Arakawa M. Carpal tunnel syndrome and  $\beta$ 2-microglobulin-related amyloidosis in chronic hemodialysis patients. *Blood Purif* 1988;6:125-131.
94. Gejyo F, Brancaccio D, Bardin T. *Dialysis amyloidosis*, Wichtig ed., Milan, 1989, 153 p.
95. Gejyo F, Homma N, Arakawa M.  $\beta$ 2-microglobulin-derived amyloid and calcium deposition in dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1989;4 (suppl):11-13.
96. Gejyo F, Homma N, Arakawa M. Long-term complications of dialysis: pathogenic factors with special reference to amyloidosis. *Kidney Int* 1993;41:S78-S82.
97. Gejyo F, Maruyama H, Terramura T, Kazama J, Ei I, Arakawa M. Role of macrophages in  $\beta$ 2-microglobulin-related dialysis amyloidosis. In: Maeda K, Shizato T eds: *Dialysis-related amyloidosis*. *Contrib Nephrol*, Basel, Karger, 1995;112:97-104.
98. Gerster JC, Carruzzo PA, Ginalski JM, Wauters JP. Cervicooccipital hinge changes during longterm hemodialysis. *J Rheumatol* 1989;16:1469-1473.
99. Gilbert MS, Robinson A, Baez A, Gupta S, Glabman S Haimov M. Carpal tunnel syndrome in patients who are receiving long-term renal hemodialysis. *J Bone Joint Surg* 1988;70A:1145-1153.
100. Goa KL, Benfield P. Hyaluronic acid: a review of its pharmacology and use as a surgical aid in ophthalmology, and its therapeutic potential in joint disease and wound healing. *Drugs* 1994;47:536-566.
101. Goldberg RL, Huff JP, Lenz ME, Glickman P, Katz R, Thonar EJ-MA. Elevated plasma levels of hyaluronan in patients with osteoarthritis and rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1991;34:799-807.
102. Goodman WG, Leite-Duarte ME. Aluminium. effects on bone and role in the pathogenesis of renal osteodystrophy. *Miner Electrolyte Metab* 1991;17:221-232.
103. Gorevic PD, Casey TT, Stone WJ, Di Raimondo CR, Prelli FC, Francione B. Beta-2-microglobulin is an amyloidogenic protein in man. *J Clin Invest* 1985;76:2425-2429.
104. Gutteridge JMC, Quinlan GJ, Clark I, Halliwell B. Aluminium salts accelerate peroxydation of membrane lipids stimulated by iron salts. *Biochem Biophys Acta* 1985;835:441-447.
105. Hadler NM, Napier MA. Structure of hyaluronic acid in synovial fluid and its influence on the movements of solutes. *Sem Arthritis Rheum* 1977;7:141-152.

106. Hällgren R, Engström-Laurent A, Nisbeth U. Circulating hyaluronate. A potential marker of altered metabolism of the connective tissue in uremia. *Nephron* 1987;46:150-154.
107. Hawkins PN, Lavender JP, Pepys MB. Evaluation of systemic amyloidosis by scintigraphy with <sup>123</sup>P. Labeled serum amyloid P-component. *N Engl J Med* 1990;23:508-513.
108. Haynes BF, Liao HX, Patton KL. The transmembrane hyaluronate receptor (CD44): multiple functions, multiple forms. *Cancer Cells* 1991;3:347-350.
109. Hedin PJ, Engström-Laurent A, Weitoft T. Circulating hyaluronan in osteoarthritis. *Scand J Rheumatol* 1987;16:457 (abstract).
110. Hedin PJ, Weitoft T, Hedin H, Engström-Laurent A, Saxne T. Serum concentrations of hyaluronan and proteoglycan in joint disease. Lack of association. *J Rheumatol* 1991;18:1601-1605.
111. Hoerslev-Petersen K, Bentsen KD, Engström-Laurent A, Junker P, Halberg P, Lorezen I. Serum aminoterminal type III procollagen peptide and serum hyaluronan in rheumatoid arthritis: relation to clinical and serological parameters of inflammation during 8 and 24 month's treatment with levamisole, penicillamine, or azathioprine. *Ann Rheum Dis* 1988;47:116-126.
112. Homma N, Gejyo F, Isemura M, Arakawa M. Collagen-binding affinity of beta-2-microglobulin, a preprotein of hemodialysis-associated amyloidosis. *Nephron* 1989;53:37-40.
113. Homma N, Gejyo F, Kobayashi H, Saito H, Sakai S, Suzuki M. Cystic radiolucencies of carpal bones, distal radius and ulna as a marker for dialysis-associated amyloid osteoarthropathy. *Nephron* 1992;62:6-12.
114. Honkanen E, Frøseth B, Grönhagen-Riska C. Serum hyaluronic acid and procollagen III amino terminal propeptide in chronic renal failure. *Am J Nephrol* 1991;11:201-206.
115. Hou FF, Chertow GM, Kay J, Boyce J, Lazarus JM, Braatz JA, Owen WF Jr. Interaction between  $\beta$ 2-microglobulin and advanced glycation end products in the development of dialysis-related amyloidosis. *Kidney Intern* 1997;51:1514-9.
116. Huaux JP, Noël H, Bastien P, Malghem J, Maldague B, Devogelaer JP, Nagant de Deuxchaisnes c. Amylose articulaire, fracture du col fémoral et hémodialyse périodique chronique. *Rev Rhum Mal Osteoartic* 1985;52:179-182.
117. Inoue H, Saito I, Nakazawa R, Mukaida N, Matsushima K, Azuma N, Suzuki M, Miyasaka N. Expression of inflammatory cytokines and adhesion molecules in haemodialysis-associated amyloidosis. *Nephrol Dial Transplant* 1995;10:2077-2082.
118. Jadoul M, Malghem J, Vande Berg B, Van Ypersele de Strihou C. Ultrasonographic detection of thickened joint capsules and tendons as marker of dialysis-related amyloidosis: a cross sectionnal and longitudinal study. *Nephrol Dial transplant* 1993;8:1104-1109.



119. Jadoul M, Garbar C, Vanholder R, Sennesael J, Michel C, Robert A, Noël H, van Ypersele de Strihou C. Prevalence of histological  $\beta$ 2-microglobulin amyloidosis in CAPD patients compared with hemodialysis patients. *Kidney Intern* 1998;54:956-9.
120. Javier RM, Sibilia J, Nerisson T, Hannedouche T, Kuntz JL. Calcinose pseudotumorale multifocale chez un hémodialysé: régression après traitement chirurgical couplé à une chélation aluminique. *Rev Rhum* 1995;64:728 (résumé).
121. Jimenez RE, Price DA, Pinkus GS, Gunes B, Owen WF, Lazarus JM, Kay J, Turner JR. Development of gastrointestinal  $\beta$ 2-microglobulin amyloidosis correlates with time on dialysis. *Am J Surg Pathol* 1998;22:729-35.
122. Jorgetti V, Ricco Soero NM, Mendes V, Pereira RC, Crivarelli ME, Coutris G, Borelli A, Ribeiro-Leite MO, Nussenzweig I, Marcondes M, Drüeke T, Cournot G. Aluminum-related osteodystrophy and desferrioxamine treatment: role of phosphorus. *Nephrol Dial Transplant* 1994;9:668-674.
123. Jouzeau JY, Payan E, Bertin P, Gillet P, Péré P, Netter P, Gaucher A. Variations de l'acide hyaluronique au cours de diverses affections rhumatologiques. In: *Actualités en physiopathologie et pharmacologie articulaires*, A Gaucher, P Netter, J Pourel, D Régent Ed, Masson, Paris, 1991: 184-191.
124. Jouzeau JY, Payan E, Gillet P, Pere P, Netter P, Gaucher A. Clinical significance of circulating hyaluronate in rheumatic diseases. *Arthritis Rheum* 1992;35:1253-1254.
125. Jugnet AM, Maynou C, Forgeois P, Mestdagh H, Hurtevent JF. Le syndrome du canal carpien chez l'hémodialysé (à propos de 17 cas). *Acta Orthop Belgica* 1995;61:183-9.
126. Kang MS, Li CC, Petersen J. In vivo effect of  $\beta$ 2-microglobulin on bone resorption in mice. *Kidney Int* 1990;37:304 (abstract).
127. Kaplan PK, Resnick D, Murphey M, Heck L, Phalen J, Egan D, Rutsky E. Destructive non infectious spondyloarthropathy in hemodialysis patients: a report of four cases. *Radiology* 1987;162:241-244.
128. Kataoka H, Gejyo F, Yamada S, Kunimoto T, Arakawa M. Inhibitory effects of  $\beta$ 2-microglobulin on in vitro calcification of osteoblastic cells. *Biochem Biophys Res Comm* 1986;141:360-361.
129. Kay J, Benson CB, Lester S, Corsow JM, Pinkus GS, Lazarus JM, Owen WF Jr. Utility of high resolution ultrasound for the diagnosis of dialysis-related amyloidosis. *Arthritis Rheum* 1992;35:926-932.
130. Kay J.  $\beta$ 2-microglobuline amyloidosis. *Amyloid: Int J Exp Clin Invest* 1997; 4:187-211.
131. Kerwin G, Williams CS, Seiler JG. The pathophysiology of carpal tunnel syndrome. *Hand Clin* 1996;12:243-251.
132. Kessler M, Netter P, Grignon B, Bertheau JM, Aymard B, Azoulay E, Gaucher A. Destructive  $\beta$ 2-microglobulin amyloid arthropathy of the cervico-occipital hinge in a hemodialyzed patient. *Arthritis Rheum* 1990;33:602-604.

133. Kessler M, Netter P, Azoulay E, Mayeux D, Pere P, Gaucher A, and the co-operative group on dialysis-associated arthropathy. Dialysis-associated arthropathy: a multicentre survey of 171 patients receiving haemodialysis for over 10 years. *Br J Rheumatol* 1992;31:157-62.
134. Kessler M, Netter P, Gaucher A. Dialysis membranes and dialysis-associated arthropathy. *Rev Rhum [Engl Ed]* 1994;61 (suppl 4):71-74.
135. Kessler M, Netter P, Gaucher A. Outcome of dialysis associated arthropathy and dialysis-related  $\beta$ 2-microglobulin amyloid after renal transplantation. *Rev Rhum [Engl. Ed.]* 1994;61(suppl 4):93-96.
136. Kessler M, Hestin D, Aymard B, Mainard D, Claudon M, Netter P, Gaucher A. Carpal tunnel syndrome with  $\beta$ 2-microglobulin amyloid deposits and erosive arthropathy of the wrist and spine in uraemic patient before chronic haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 1995;10:298-299.
137. Kleinman KS, Coburn JW. Amyloid syndromes associated with hemodialysis. *Kidney Int* 1989;35:567-575.
138. Knudsen PJ, Leon J, Ng AK, Shaldon S, Floege J, Koch KM. Hemodialysis-related induction of beta-2-microglobulin and interleukin-1 synthesis and release by mononuclear phagocytes. *Nephron* 1989;53:188-193.
139. Kolibas LM, Goldberg RL. Effect of cytokines and anti-arthritis drugs on glycosaminoglycan synthesis by bovine articular chondrocytes. *Agents Actions* 1989;27:245-249.
140. Konishiike T, Hashizume H, Nishida K, Inoue H, Nanba T. Cystic radio-lucency of carpal bones in haemodialysis patients. An early indicator of the onset of carpal tunnel syndrome. *J Hand Surg* 1994;19B:630-635.
141. Kumar S, West DC, Ponting JM, Gattamaneni HR. Sera of children with renal tumors contain low-molecular-mass hyaluronic acid. *Int J Cancer* 1989;44:445-448.
142. Kuntz D, Naveau B, Bardin T, Druëke T, Treves R, Dryll A. Destructive spondylarthropathy in hemodialysed patients: a new syndrome. *Arthritis Rheum* 1984;27:369-75.
143. Laurent TC, Lilja K, Brännberg L, Engström-Laurent A, Laurent UBG, Lindqvist U, Murata K, Ytterberg D. Urinary excretion of hyaluronan in man. *Scand J Clin Lab Invest* 1987;47:793-99.
144. Le Viet D, Gandon F: Syndrome du canal carpien chez l'hémodialysé. Analyse de 110 cas opérés. *Chirurgie* 1992;118:546-50.
145. Lieberherr B, Grosse B, Cournot-Witner G, Hermann-Erlee MPM, Balsan S. Aluminium actions on mouse bone cell metabolism and response to PTH and 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>. *Kidney Int* 1987;31:736-743.

146. Lin JL, Leu ML. Calcium carbonate can enhance aluminium absorption from aluminium hydroxyde in patients with impaired renal function. *Nephrol Dial transplant* 1996;11:1891-1893.
147. Lin TH, Chen JG, Liaw JM, Juang JG. Trace elements and lipid peroxydation in uremic patients on hemodialysis. *Biol Trace Element Res* 1996;5:277-283.
148. Lindqvist U, Laurent TC. Serum hyaluronan and aminoterminal propeptide of type III procollagen: variations with age. *Scand J Clin Lab Invest* 1992;52:613-621.
149. Linke RP, Hampl H, Lobeck H, Ritz E, Bommer J, Waldherr R, Eulitz M. Lysine-specific cleavage of  $\beta$ 2-microglobulin in amyloid deposits associated with hemodialysis. *Kidney Int* 1989;36:675-681.
150. Linke RP. Altered  $\beta$ 2-microglobulin in the genesis of AB-amyloidosis in uremic patients. *Rev Rhum [Engl Ed.]* 1994;61(suppl 4):1-5.
151. Lioté F, Prudhommeaux F, Schiltz C, Champy R, Herbelin A, Ortiz-Bravo E, bardin T. Inhibition and prevention of monosodium urate monohydrate crystal-induced acute inflammation in vivo by transforming growth factor  $\beta$ 1. *Arthritis Rheum* 1996;39:1192-1198.
152. Maruyama H, Gejyo F, Arakawa M. Clinical studies of destructive spondylarthropathy in long term hemodialysis patients. *Nephron* 1992;61:37-44.
153. Massry JR, Bluestone R, Klinenberg JR, Coburn JW. Abnormalities of the muskuloskeletal system in hemodialysis patients. *Semin Arthritis Rheum* 1975;4:321-349.
154. Mc Carthy DJ, Halverson PJ, Carrera GF, Brewer BJ, Kosin F. Milwaukee shoulder-association of microspheroids containing hydroxyapatite crystals, active collagenase, and neutral protease with rotator cuff defects. I. Clinical aspects. *Arthritis Rheum* 1981;24:464-473.
155. Mc Carthy JT, Dahlberg PJ, Kriegshauser JS, Valente RM, Swee RG, O'Duffy JD, Kurtz SB, Johnson WJ. Erosive spondyloarthropathy in long-term dialysis patients: relationship to severe hyperparathyroidism. *Mayo Clin Proc* 1988;63:446-452
156. Mesgardzadeh M, Schneck CD, Bonakdarpour A, Mitra A, Conaway D. Carpal tunnel: MR imaging. Part II: carpal tunnel syndrome. *Radiology* 1989;171:749-754.
157. Minami A, Ogino T: Carpal tunnel syndrome in patients undergoing hemodialysis. *J Hand Surg* 1987;12A:93-7.
158. Miyasaka N, Sato K, Kitano Y, Higaki M, Nishioka K, Ohta K: Aberrant cytokine production from tenosynovium in dialysis associated amyloidosis. *Ann Rheum Dis* 1992;51:797-802.
159. Miyata T, Hori O, Zhang JH, Yan SD, Ferran L, Iida Y, Schmidt AM. The receptor for advanced glycation end products (RAGE) is a central mediator of the interaction of AGE- $\beta$ 2-microglobulin with human mononuclear phagocytes via an oxydant-sensitive pathway: implications for the pathogenesis of dialysis-related amyloidosis. *J clin Invest* 1996;98:1088-94.

160. Miyata T, Sprague SM. Advanced Glycation of  $\beta$ 2-microglobulin in the pathogenesis of bone lesions in dialysis-associated amyloidosis. *Nephrol Dial Transplant* 1996;11 (suppl):86-90.
161. Miyata T, Notoya K, Yoshida K, Horie K, Maeda K, Kurukawa K, Taketomi S. Advanced glycation end products enhance osteoclast-induced bone resorption in cultured mouse unfractionated bone cells and in rats implanted subcutaneously with devitalized bone particles. *J Am Soc Nephrol* 1997;8:260-70.
162. Morita H, Cai Z, Shinzato T, David G, Mizutani A, Itano N, Habuchi H, Yoneda M, Maeda K, Kimata K. Glycosaminoglycans in dialysis-related amyloidosis. In: Maeda K, Shinzato T eds: *Dialysis-related amyloidosis*. Contrib Nephrol, Basel, Karger, 1995;112:83-89.
163. Munoz-Gomez J, Bergada-Barado E, Gomez-Perez R, Llopart-buisan E, Subias-Sobrevia E, Rotes-Querol J, Soles-Arques M. Amyloid arthropathy in patients undergoing periodical haemodialysis for chronic renal failure: a new complication. *Ann Rheum Dis* 1985;44:729-733.
164. Nagase M, Baker DG, Schumacher HR Jr. Prolonged inflammatory reactions induced by artificial ceramics in the rat air pouch model. *J Rheumatol* 1988;15:1334-1338.
165. Naito M, Ogata K, Goya T: Carpal tunnel syndrome in chronic renal dialysis patients. clinical evaluation of 62 hands and results of operative treatment. *J Hand Surg* 1987;12B:366-74.
166. Nakashima Y, Akizawa T, Nagai T, Koshikawa S. Role of uremic and endothelial factors in the development of  $\beta$ 2-microglobulin amyloidosis. *Kidney Int* 1993;43:88-95.
167. Nelson SR, Hawkins PN, Richardson S, Lavender JP, Sethi D, Gower PE, Pugh CW, Winearls CG, Oliver DO, Pepys MB. Imaging of haemodialysis-associated amyloidosis with  $^{125}\text{I}$ -serum amyloid P component. *Lancet* 1991;338:335-339.
168. Netter P, Kessler M, Burnel D, Hutin MF, Delons S, Benoit J, Gaucher A. Aluminium in the joint tissues of chronic renal failure patients treated with regular hemodialysis and aluminium compounds. *J Rheumatol* 1984;11:66-70.
169. Netter P, Kessler M, Gaucher A, Gillet P, Delons S, Benoit J, Got C. Aluminium and dialysis arthropathy. *Lancet* 1988;1:886-887.
170. Netter P, Kessler M, Gaucher A, Bannwarth B. Does aluminium have a pathogenic role in dialysis associated arthropathy? *Ann Rheum Dis* 1990;49:573-575.
171. Netter P, Fener P, Steinmetz J, Burnel D, Gillet P, Gaucher A, Kessler M, Pourel J, Berdin T, Bannwarth B. Amorphous aluminosilicates in synovial fluid in dialysis-associated arthropathy. *Lancet* 1991;337:554-555.
172. Niewold TA, Hol PR, Van Andel ACJ, Lutz ETG, Gruys E. Enhancement of amyloid induction by amyloid fibril fragments in hamster. *Lab Invest* 1987;56:544-549.

173. Nishi S, Ogino S, Maruyama Y, Honma N, Gejyo F, Morita T, Arakawa M. Electron-microscopic and immunohistochemical study of beta-2-microglobulin-related amyloidosis. *Nephron* 1990;56:357-363.
174. Noël LH, Zingraff J, Bardin T, Atienza C, Kuntz D, Druëke T. Tissue distribution of dialysis amyloidosis. *Clin Nephrol* 1987;27:175-8.
175. Noël LH, Zingraff J, Druëke T. Systemic character and visceral involvement of dialysis amyloidosis. *Clin Nephrol* 1988;29:205-210.
176. Odell RA, Slowiaczek P, Moran JE, Schindhelm K. Beta2-microglobulin kinetics in end-stage renal failure. *Kidney Int* 1991;39:909-919.
177. Ogawa H, Saito A, Ono M, Oda O, Nakajima M, Chung TG. Novel  $\beta$ 2-microglobulin and its amyloidogenic predisposition in patients on haemodialysis. *Nephrol Dial transplant* 1989;4 (suppl):14-18.
178. Ohashi K, Hara M, Kawai R, Ogura Y, Honda K, Nikei H, Minura N. Cervical discs are most susceptible to beta2-microglobulin amyloid deposition in the vertebral column. *Kidney Int* 1992;41:1646-1652.
179. Onishi S, Andress DL, Maloney NA, Coburn JW, Sherrard DJ. Beta2-microglobulin deposition in bone in chronic renal failure. *Kidney Int* 1991;39:990-995.
180. Owen WF Jr, Hou FF, Stuart RO, Kay J Boyce J, Chertow GM, Schmidt AM.  $\beta$ 2-microglobulin modified with advanced glycation end products modulates collagen synthesis by human fibroblasts. *Kidney Intern* 1998;53:1365-73.
181. Ozasa H, Chichibu K, Tanaka Y, Kondo T, Kitajima K, Ota K. Relationship between plasma levels of hyaluronic acid and amyloid-associated osteoarthropathy in chronic hemodialysis patients. *Nephron* 1992;61:187-191.
182. Pameila L, Heiskanen A, Kurki P, Helue T, Leirisalo-Repo M. serum hyaluronate level as a predictor of radiologic progression in early rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1991;34:815-821.
183. Parkinson IS, Ward MK, Keer DNS. Dialysis encephalopathy, bone disease and anaemia: the aluminum intoxication syndrome during regular haemodialysis. *J Clin Pathol* 1981;34:1285-1294.
184. Pearl DP, Brodie AR. Alzheimer's disease: X-ray spectrometric evidence of aluminium accumulation in neurofibrillary tangle bearing neurons. *Science* 1980;208:297-299.
185. Pereira BJJ. Implications of cytokine measurements during in vitro and clinical haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 1995;10 (suppl):18-26.
186. Prehm P: Identification and regulation of the eukaryotic hyaluronate synthase. In: Ciba Foundation Symposium 143, ed. *The biology of hyaluronan*. Chichester: Wiley & Sons, 1989:21-40.
187. Quarles LD. Paradoxical toxic and trophic osseous actions of aluminium: potential explanations. *Miner Electrolyte Metab* 1991;17:233-239.

188. Raccaud O, Wendling D, Chaubert P, Genton CY, Wauters IP, Gerster JC. Spondylarthropathies lombaires rapidement destructrices au cours des hémodialyses chroniques. *Schweiz Med Wochenschr* 1992;122:339-344.
189. Renaud H, Fournier A, Morinière Ph, Westeel PF, Esper NEL, Belbrik S, Marie A, Cohen-Solal HE, Sebert JL. Erosive osteoarthropathy associated with  $\beta$ 2-microglobulin amyloidosis in a uraemic patient treated exclusively by long-term haemofiltration with biocompatible membranes. *Nephrol Dial Transplant* 1988;3:820-822.
190. Reusche E, Koch V, Friedrich HJ, Nünninghoff D, Stein P, Rob PM. Correlation of drug-related aluminum intake and dialysis treatment with deposition of argyrophilic aluminum-containing inclusions in CNS and in organ systems of patients with dialysis-associated encephalopathy. *Clin Neuropathol* 1996;15:342-347.
191. Revillard JP, Vincent C, Ramackers JM.  $\beta$ 2 microglobulin. structure, metabolism and alterations in diseases. In GejyoF, Brancaccio D, Bardin T. *Dialysis amyloidosis*, Wichtig ed, Milan, 1989:7-33.
192. Rousselin B, Helenon O, Zingraff J, Delons S, Drueke T, Bardin T, Moreau JF. Pseudotumor of the crano-cervical junction during long-term hemodialysis. *Arthritis Rheum* 1990;33:1567-1573.
193. Rubin LA, Fam AG, Rubinstein J, Campbell J, Saiphoo C. Erosive azotemic osteoarthropathy *Arthritis Rheum* 1984, 27:1086-1094
194. Schaeffer RM, paczek L, Heidland A. Suppression of  $\beta$ 2-microglobulin release from lymphocytes by dialysis membranes. *Nephrol Dial Transplant* 1991;Suppl3:53-56.
195. Schwartz A, Keller F, Seyfert S, Poll W, Molzahn M, Distler A: Carpal tunnel syndrome: a major complication in long term hemodialysis patients. *Clin Nephrol* 1984;22:133-7.
196. Scott JE, Cummings C, Brass A, Chen Y: Secondary and tertiary structures of hyaluronan in aqueous solution, investigated by rotary shadowing-electron microscopy and computer simulation. *Biochem J* 1991;274:699-705.
197. Sebert JC, Fardellone P, Deramond H, Marie A, Lansaman J, Bardin T, Lambrey G, Gheerbrant JD, Legars D, Galibert P, Smadja A, Fournier A. Spondylarthropathie destructrice avec dépôts amyloïdes chez 3 patients en hémodialyse chronique. *Rev Rhum Mal Osteoartic* 1986;53:459-465.
198. Sedgwick AD, Sin YM, Edwards JCW, Willoughby DA. Increased inflammatory reactivity in newly formed lining tissue.
199. Sethi D, Gower PE. Synovial fluid  $\beta$ 2-microglobulin levels in dialysis arthropathy. *N Engl J Med* 1986;315:1419-1420.
200. Sharif M, George E, Shepstone L, Knudson W, Thonar EJ-MA, Cushnagan J, Dieppe P. Serum hyaluronic acid level as a predictor of disease progression in osteoarthritis of the knee. *Arthritis Rheum* 1995;38:760-767.

201. Sherrard DJ, Ott S, Maloney NA, Andress D, Coburn J. Uremic osteodystrophy: classification, cause and treatment. In : Frame B, Potts JT eds. *Clinical disorders of bone and mineral metabolism*. Excerpta Medica, Amsterdam, 1983:306-323.
202. Sivri A, Celiver R, Sungur C, Gokçe Kutsal Y: Carpal tunnel syndrome: a major complication in hemodialysis patients. *Scand J Rheumatol* 1994;23:287-90.
203. Spertini F, Wauters JP, Poulenas I. Carpal tunnel syndrome: a frequent invalidating, long-term complication of chronic hemodialysis. *Clin Nephrol* 1984;21:98-101.
204. Stankovic A, Mitrovic DR. Aluminium salts stimulate luminal-enhanced chemiluminescence production by human neutrophils. *Free Rad Res Comms* 1991;14:47-55.
205. Stein G, Schneider A, Thoss K, Ritz E, Schaeffer K, Müller M, Sperschneider H, Marzoll I.  $\beta$ 2-microglobulin serum concentrations and associated amyloidosis in dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1991;suppl 3:57-61.
206. Suzuki Y, Yamagushi T. Effects of hyaluronic acid on macrophage phagocytosis and active oxygen release. *Agents Actions* 1993;38:32-37.
207. Teitz CC, DeLisa JA, Halter SK. Results of carpal tunnel release in renal hemodialysis patients. *Clin Orthop Rel Res* 1984;198:197-200.
208. Turney JH, Davison AM, Forbes MA, Cooper EH. Hyaluronic acid in end-stage renal failure treated by haemodialysis: clinical correlates and implications. *Nephrol Dial Transplant* 1991;6:566-570.
209. Ullian ME, Hammond WS, Alfrey AC, Schultz A, Molitoris BA. Beta-2-microglobulin-associated amyloidosis in chronic hemodialysis patients with carpal tunnel syndrome. *Medicine* 1989;68:107-115.
210. Van Landeghem F, D'Haese PC, Lamberts LV, Barata JD, De Broe ME. Aluminum speciation in cerebrospinal fluid of acutely aluminum-intoxicated dialysis patients before and after desferrioxamine treatment; a step in the understanding of the element's neurotoxicity. *Nephrol Dial Transplant* 1997;12:1692-1698.
211. Van Ypersele de Strihou C, Jadoul M, Malghem J, Maldague B, Jamart J and the working party on dialysis amyloidosis. Effect of dialysis membrane and patient's age on signs of dialysis-related amyloidosis. *Kidney Int* 1991;39:1012-9.
212. Vienken J, Harding M. Dialysis membranes and  $\beta$ 2-microglobulin: interactions, limitations and perspectives. *Nephrol Dial Transplant* 1989;61 (suppl 4):27-31.
213. Vincent C, Revillard JP, Galland M, Traeger J. Serum-beta-2-microglobulin in hemodialyzed patients. *Nephron* 1978;21:260-268.
214. Warren DJ, Otieno LS. Carpal tunnel syndrome in patients on intermittent haemodialysis. *Postgrad Med J* 1975;51:450-2.
215. Wendling D, Guidet M. Manifestations articulaires et périarticulaires de l'hémodialyse chronique chez l'adulte. *Rev Rhum Mal Ostéartic* 1986;53:715-721.

216. Wendling D, Guidet M. Os et aluminium. Rev Rhum Mal Ostéoartic 1986;53:705-713.
217. Woodrow G, Turney JH, Davison AM, Cooper EH. Serum hyaluronan concentrations predict survival in patients with chronic renal failure on maintenance haemodialysis. Nephrol Dial Transplant 1996;11:98-100.
218. Yan SD, Zhu H, Zhu A, Golabek A, Du H, Roher A, Jin Y, Soto C, Schmidt AM, Stern D, Kindy M. Receptor-dependent cell stress and amyloid accumulation in systemic amyloidosis. Nature Medicine 2000;6:643-51.
219. Yokel RA, Mc Namara PJ. Influence of renal impairment, chemical form and serum protein binding on intravenous and oral aluminium kinetics in the rabbit. Toxicol Appl Pharmacol 1988;95:32-43.
220. Yokel RA, Mc Namara PJ. Elevated aluminium persists in serum and tissues of rabbits after a six-hours infusion. Toxicol Appl Pharmacol 1989;99:133-138.
221. Zingraff J, Drüeke T, Bardin T: Dialysis related amyloidosis in the sternoclavicular joint. Nephron 1989;52:367.
222. Zingraff J, Noël LH, Bardin T, Atienza C, Zins B, Drüeke T, Kuntz D.  $\beta$ 2-microglobulin amyloidosis in chronic renal failure. N Engl J Med 1990;323:1070-1071.







Nom : Mme CHARY épouse VALCKENAERE  
Prénom : Isabelle

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ, NANCY 1

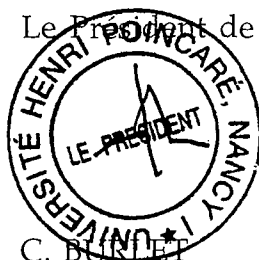
en BIOLOGIE SANTÉ ENVIRONNEMENT

Spécialité : GÉNIE BIOLOGIQUE ET MÉDICAL

VU, APPROUVÉ ET PERMIS D'IMPRIMER

Nancy, le 5 mars 2001 n° 428

Le Président de l'Université





## **Contribution à la physiopathologie de l'arthropathie des dialysés. Aluminium et amylose $\beta$ 2-microglobulinique.**

L'arthropathie du dialysé est une complication de la dialyse prolongée, dont le diagnostic repose sur des critères cliniques (syndrome du canal carpien (SCC), arthralgies) et radiologiques (géodes osseuses, destructions articulaires et vertébrales). L'importance physiopathologique de l'amylose  $\beta$ 2-microglobulinique ( $\beta$ 2-M) est primordiale. Ainsi, nous montrons que seuls les SCC renfermant des dépôts de  $\beta$ 2-M histologiquement prouvés, s'intègrent dans le cadre d'une arthropathie du dialysé. Une compression macroscopique du nerf médian par l'amylose ou la ténosynovite associée n'est pas constante, mais une réaction inflammatoire au voisinage des dépôts de  $\beta$ 2-M est mise en évidence par l'IRM haute résolution du canal carpien. D'autres facteurs interviennent, seuls ou en association avec l'amylose. Ainsi, l'aluminium s'accumule dans les tissus articulaires du dialysé. Sous forme soluble, il induit une synovite hémorragique sévère chez le lapin et sa toxicité semble médiée par une sécrétion accrue d'eicosanoïdes par les cellules de la cavité synoviale, comme l'indique nos résultats expérimentaux. La formation d'aluminosilicates, ou de tout autre complexe, constitue une protection vis à vis de la toxicité aluminique. Ce travail suggère, par ailleurs, que le hyaluronate circulant pourrait être un marqueur de l'arthropathie du dialysé. L'élévation des taux, probablement d'origine multifactorielle, refléterait la participation synoviale chez les patients porteurs de lésions ostéoarticulaires.

### **Arthropathie des dialysés - Aluminium - Amylose - Beta-2-microglobuline**

---

#### **Dialysis-associated arthropathy: Role of aluminum overload and $\beta$ 2-microglobulin amyloidosis**

Dialysis-associated arthropathy (DAA) is recognised as a complication of long-term dialysis. Its diagnosis is based on clinical (carpal tunnel syndrome (CTS), arthralgia) and radiological criteria (cystic bone radiolucencies, destructive arthropathy and spondylarthropathy).  $\beta$ 2-microglobulin ( $\beta$ 2-M) amyloidosis has been shown to be of pathophysiological relevance. In our study, only CTS containing  $\beta$ 2-M amyloid deposits confirmed by microscopic examination, were associated with other signs of DAA. Macroscopic compression of the median nerve by amyloid deposits or an associated flexor tenosynovitis was inconstant, but an inflammatory synovial reaction surrounding amyloid deposits was well demonstrated by MR imaging of the carpal tunnel. Other factors may play a role in DAA, alone or in association with amyloidosis. Aluminum accumulates in osteoarticular structures of dialysis patients. We have demonstrated that soluble aluminum compounds induced a severe synovitis with haemorrhagic effusion in the rabbit knee. As shown by our results in the rat subcutaneous air-pouch model, this toxicity may be due to an increased secretion of eicosanoids by parietal cells. Aluminosilicates and other aluminum complexes may protect against aluminum articular toxicity. Our results also suggest that circulating hyaluronan may reflect synovial proliferation in dialysis patients suffering from DAA.

#### **Dialysis-associated arthropathy - Aluminum - Amyloidosis - Beta-2-microglobulin.**