

Atlas des cellules et des cristaux du liquide synovial

André Lussier, MD *
Rinaldo de Medicis, PhD **
Vaclav Richter ***

Courriels :

* Édition posthume editée par Yves A Lussier MD, ylussier@bsd.uchicago.edu

**Rinaldo.de.Medicis@USherbrooke.ca

*** Vaclav.Richte@USherbrooke.ca (**informaticien**)

Version 1.1 (1-07-2010)

Introduction

Encore un atlas sur le liquide synovial...

Certains de nos amis, experts en la matière, nous ont incités à le produire à cause de l'iconographie particulière et des techniques complémentaires différentes de celles d'ouvrages précédents et en vertu de photos originales.

Nous avons donc limité notre présentation à la morphologie cellulaire et microcristalline de la synovianalyse. Les lecteurs pourront facilement retrouver les notions générales du liquide synovial normal et pathologique dans les livres de base classiques traitant de la synovianalyse en général.

Dans les deux premiers chapitres, nous traiterons à tour de rôle des cellules et des microcristaux. Les chapitres 3 et 4 décriront les mécanismes de l'inflammation dans les synovites microcristallines.

La microscopie en lumière polarisée est traitée d'une façon plus extensive dans un chapitre sur le sujet (chapitre 5)

Suivront les chapitres sur l'arthrose (chap. 6) et sur les arthrites à corps étrangers en élargissant le sujet des microcristaux aux particules (chap. 7).

Enfin le tout se résume au 8^e chapitre par une synthèse de la synovianalyse.

André Lussier (dernière annotation juillet 2008)

Table des matières

1.....	Cellules
.....	5
1.1 Synoviocytes	5
1.2 Neutrophiles.....	8
1.3 Éosinophiles.....	9
1.4 Lymphocytes.....	10
1.5 Lymphoblastes.....	10
1.6 Monocytes	11
1.7 Macrophages.....	12
1.8 La cellule L.E. ou cellule de Hargraves	13
1.9 Ragocytes Ragocytes	14
1.10 Cellule de Pekin	15
1.11 Cellules spumeuses	19
1.12 Cellule multinucléée	19
2.....	Cristaux
.....	21
2.1 Cristaux phlogogènes.....	21
2.1.1 Urate.....	21
2.1.2 Pyrophosphates	31
2.1.3 Apatites.....	38
2.1.4 Oxalates.....	53
2.1.5 Guanine (cristaux)	55
2.2 Cristaux peu ou pas phlogogènes.....	58
2.2.1 Cholestérol Index-f-cholestérol (crystals).doc	58
2.2.2 Lipides	62
2.3 Cristaux iatrogènes.....	64
2.4 Cristaux formés in vitro.....	66

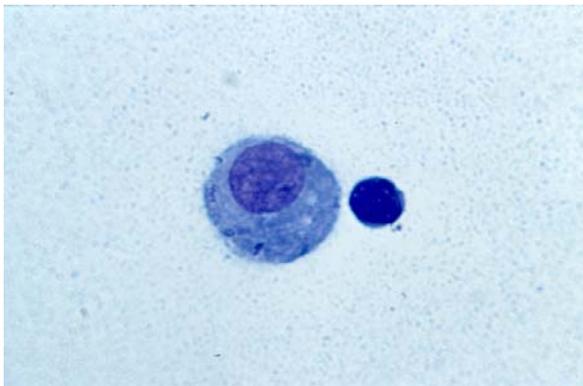
2.4.1 Cristaux de Charcot-Leyden	66
2.4.2 Cristaux d'hémoglobine	69
2.4.3 Différentes cristallisations in vitro de l'urate de sodium.....	71
2.5 Sphérolites	76
2.5.1. Lipides	78
2.5.2 Pyrophosphate de calcium	79
2.5.3 Urate :	81
2.5.4 Apatite	81
2.6 Artefacts et autres structures (cartilage, fibrilles...)	88
2.6.1 Cartilages (fragments)	88
2.6.2 ARTÉFACTS	90
3. Mécanisme de l'inflammation induite par des microcristaux	94
4. Synovites microcristallines	111
5. Microscope en lumière polarisée.....	160
6. Arthrose et ostéoarthrite	184
7. Arthrite à corps étrangers	221
8. La synovianalyse (Résumé)	229
9. Index alphabétique	232

1. Cellules

1.1 Synoviocytes :

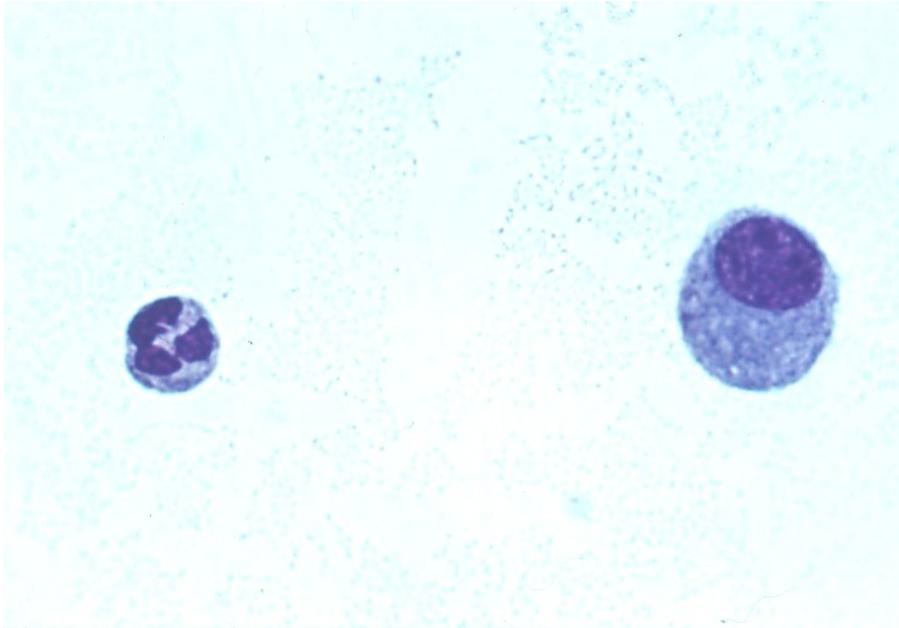
Index-f-synoviocytes.doc

Les cellules de la membrane articulaire (synoviale) ne sont pas fréquemment visualisées dans le liquide synovial mais jouent un rôle primordial dans la fonction de la barrière hémovsynoviale. Elles seraient les premières à phagocyter les cristaux et à déclencher le processus inflammatoire .

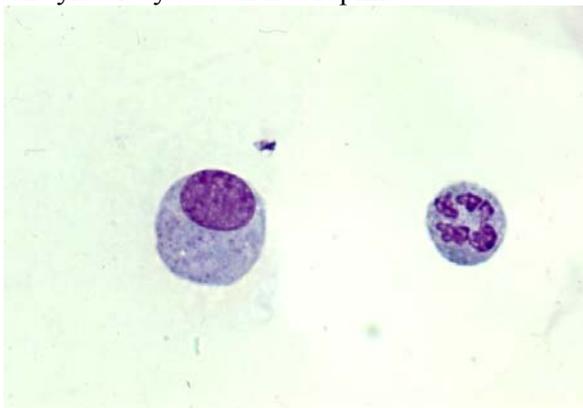


Ja24\$0001 Un synoviocyte et un lymphocyte. Coloration de Wright.

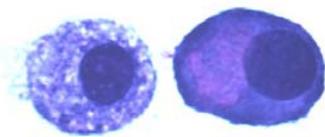
Le synoviocyte se présente comme une cellule mononucléée avec un noyau arrondi et excentrique. Le synoviocyte de type A est une cellule phagocytaire avec un appareil de Golgi bien développé et les synoviocytes de type B possèdent un ergastoplasme développé correspondant à leur rôle sécréteur.



Jy24-056
Un synoviocyte et un neutrophile.

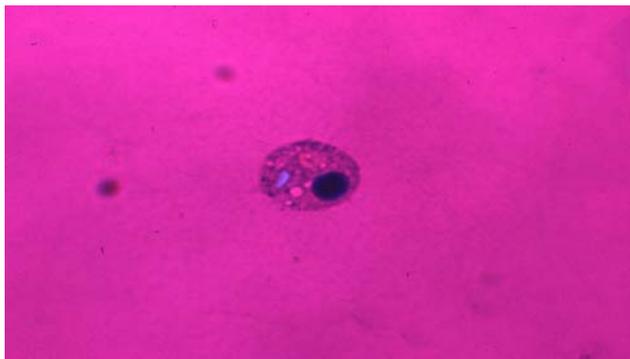


Jy30-241
Dans un autre champ, un synoviocyte et un neutrophile.



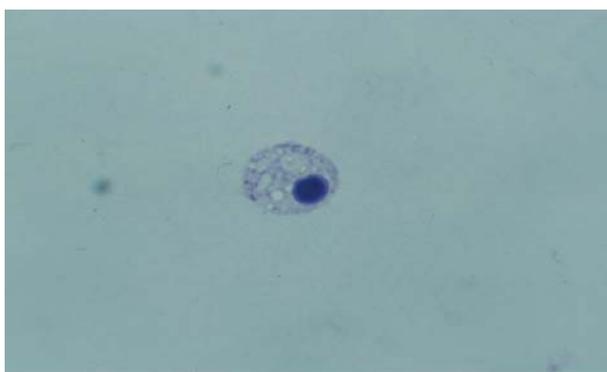
Jy24058

Un synoviocyte A(soit de type phagocytaire) à gauche et à droite un synoviocyte B du type sécréteur.



Jy29-038

Un microcristal de pyrophosphate de calcium phagocyté par un synoviocyte A
Polarisation avec filtre rouge de premier ordre.

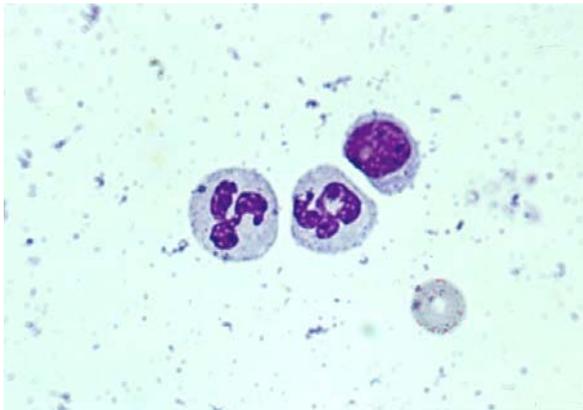


Jy29-037

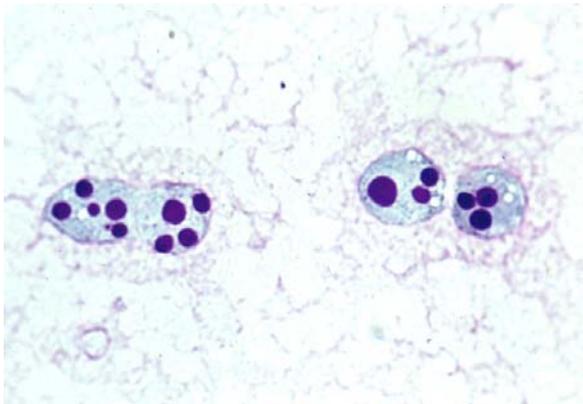
Même champ en lumière normale..

1.2 Neutrophiles

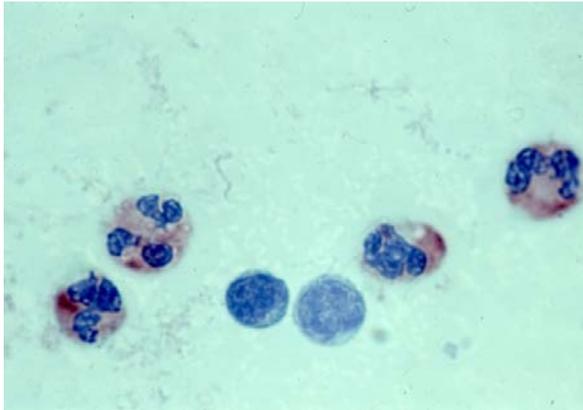
Index-f-Neutrophile.doc



Jy30-238 Deux neutrophiles, un lymphocyte et un érythrocyte.

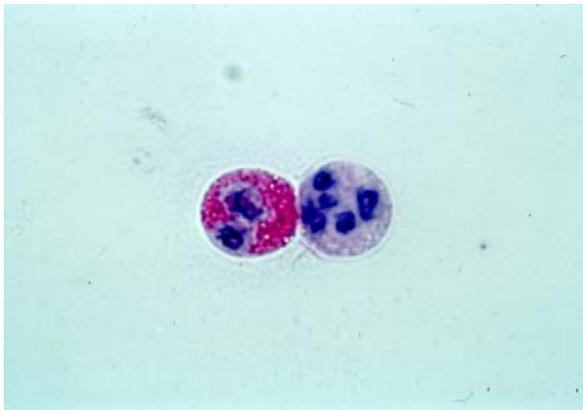


Jy30-221 quatre neutrophiles en dégénérescence.



Ja24\$0000 Coloration spécifique des neutrophiles par la chloroacétyl-estérase .

1.3 Éosinophiles



M07\$0005 Coloration spéciale de Andrew & Johnson. Objectif 100 x .

Cette photo présente un éosinophile flamboyant à gauche à côté d'un neutrophile à droite. . (34) Ref. 2.12

Il s'agit d'un cas d'arthrose suite à des injections intra-articulaires de hylan à laquelle le patient a développé une réaction allergique modérée.

À noter que les éosinophiles dégénèrent souvent en libérant des cristaux de Charcot-Leyden . Voir chapitre 2.4.1 (Index-f-Charcot-Leyden.doc).

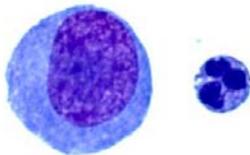
1.4 Lymphocytes



Jy24-050

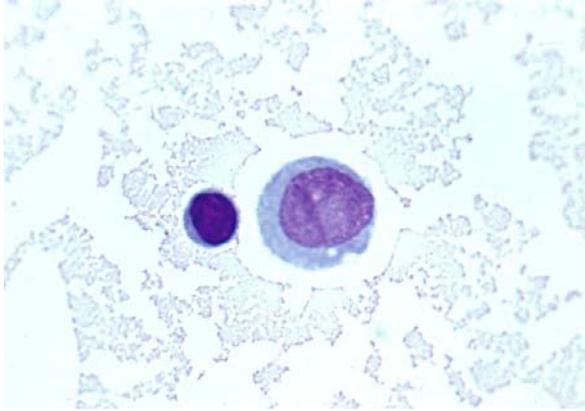
Un lymphocyte à droite. Et à gauche un immunoblaste ou lymphocyte activé qui entre en mitose. Ce phénomène est rare dans l'arthrose. Il est plus fréquent dans la polyarthrite rhumatoïde (PR), l'arthrite psoriasique et les spondylarthropathies. (23)

1.5 Lymphoblastes *Atlas-2-Lymphoblastes*



1.4.1
Jy30-227

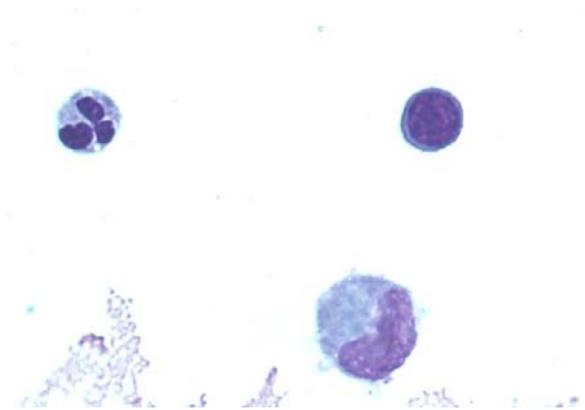
Lymphocyte activé ou lymphoblaste (immunoblaste) à gauche et un neutrophile à droite. La première cellules présente un volume plusieurs fois celui du neutrophile .



Jy30-242 Un lymphocyte normal à gauche et un lymphoblaste à droite..

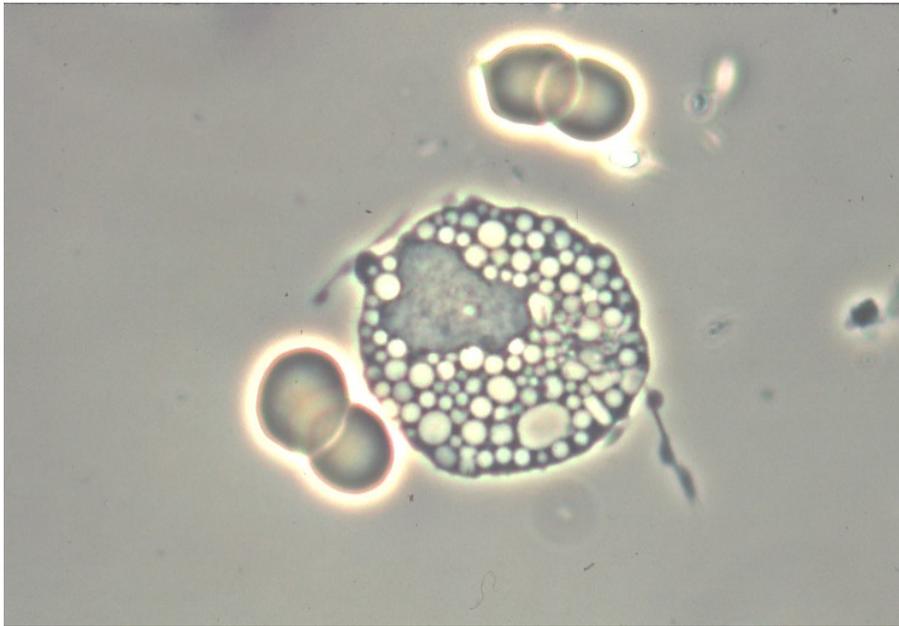
1.6 Monocytes:

Index-f-monocyte.doc

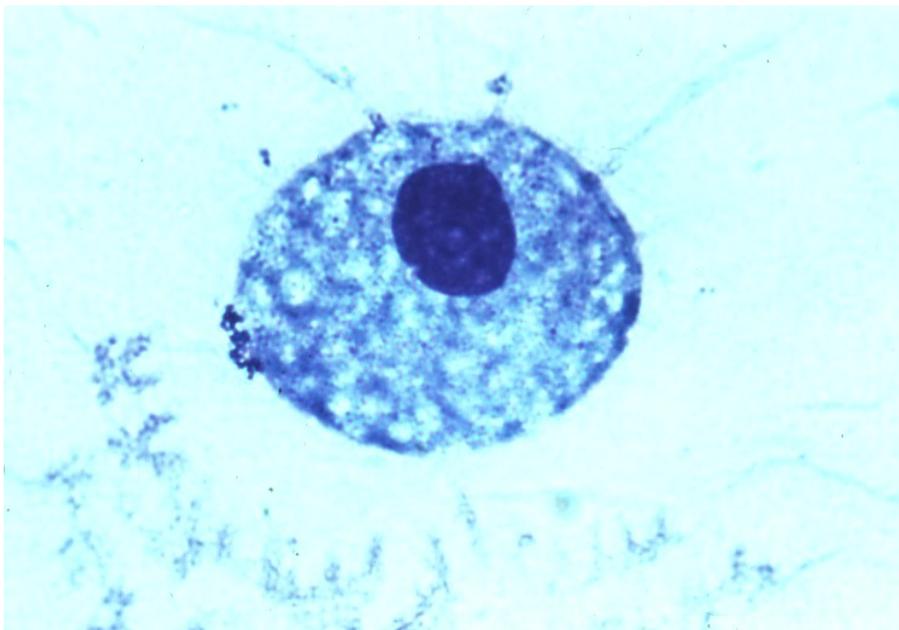


Jy24-052
Monocyte en bas voisinant un neutrophile et un lymphocyte.

1.7 Macrophages



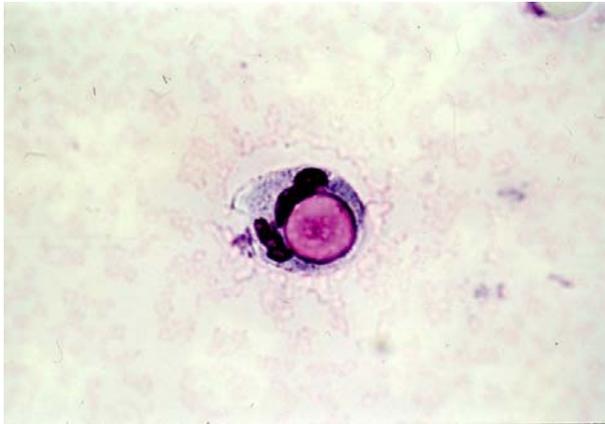
Jy29-036 Un grand macrophage spumeux en contraste de phase. Quelques globules rouges l'accompagnent.



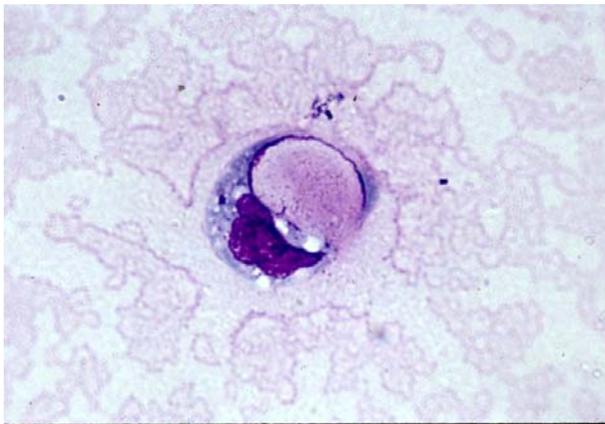
Jy24-054
Macrophage

1.8 La cellule L.E. ou cellule de Hargraves

Index-f-cellule L.E.doc



Ag14-027 La cellule L.E. (typique du lupus érythémateux disséminé ou systémique) ou cellule de Hargraves. Le noyau phagocyté est lysé de façon homogène (tel qu'illustrée ci-haut). Il faut la distinguer des « tart cell » où la lyse incomplète du noyau comme dans la photo suivante offre des vestiges de structure nucléaire.



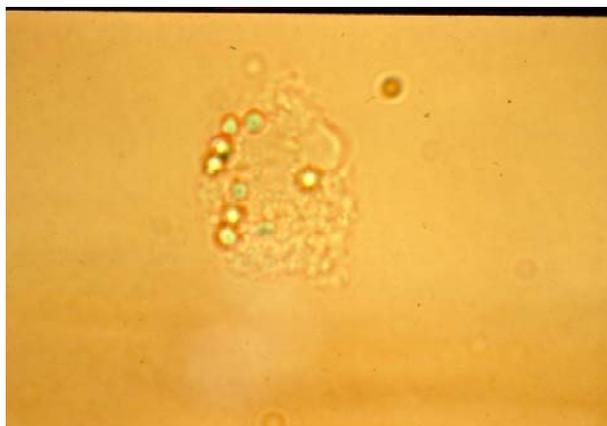
Ag14-028
Jy29-043

1.9 Ragocytes

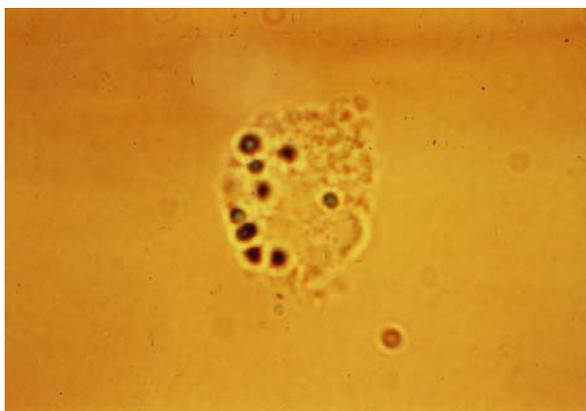
Ragocytes :

Index-f-ragocyte.doc

Cellules en dégénérescence rencontrées dans le liquide synovial de toute pathologie inflammatoire, mais plus fréquemment dans la polyarthrite rhumatoïde d'où le terme impropre (« RA cell » pour « rheumatoid arthritis cell » utilisé au début..



Ja27\$0001 Technique : microscopie photonique. Les globules intracytoplasmiques peuvent apparaître clairs ou foncés selon la mise au point.



Jy23-043 Même cellule avec mise au point différente.

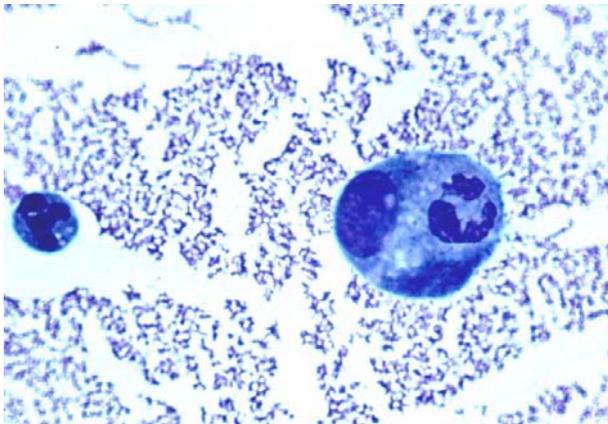


Ja27\$0002 Même cellule en microscopie interférentielle (Nomarski)

1.10 Cellule de Pekin

Index-f-cellule de Pekin.doc

...

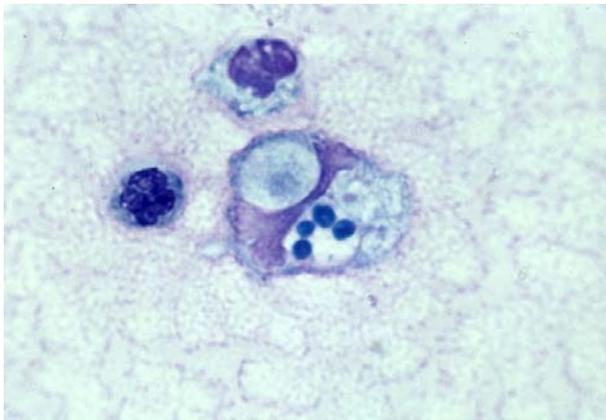


Jy30-116

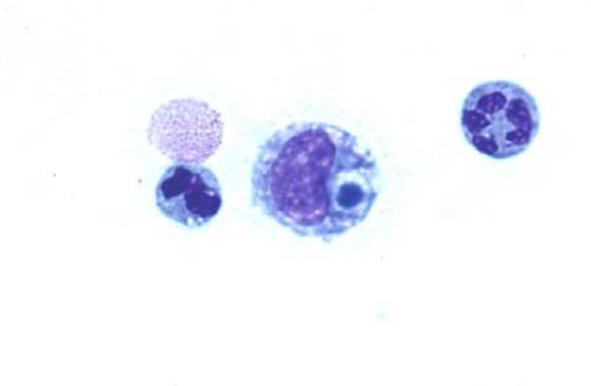
Un neutrophile à gauche et à droite une cellule de Pekin. La cellule de Pekin est un macrophage qui a phagocyté un neutrophile. Dans ce cas-ci le neutrophile est encore reconnaissable à l'intérieur du macrophage..Ce type de leucophagocytose se retrouve dans les spondylarthropathies particulièrement dans le syndrome de Fiessinger-Leroy-Reiter .



Scan10001
Dans ce cas-ci, le neutrophile commence à être digéré.

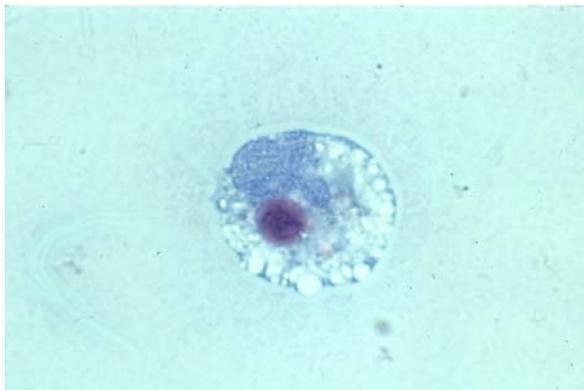


Jy30-118 Et voici un cas de phagocytose multiple présentant des étapes de digestion différentes.

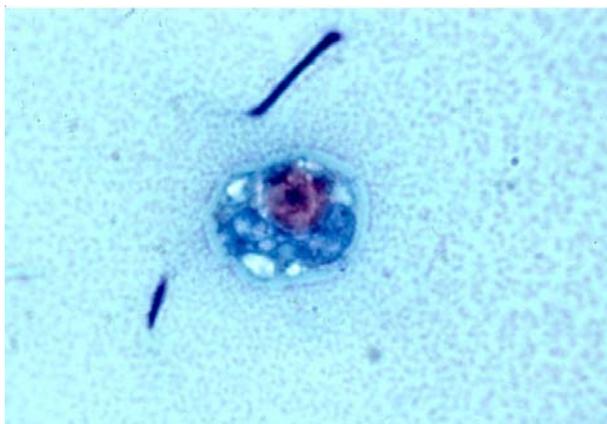


Jy30-114

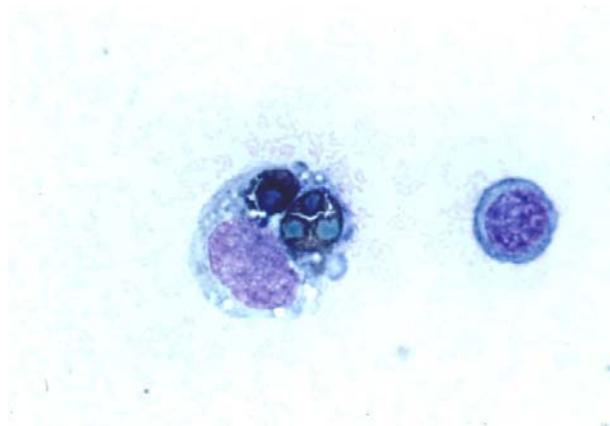
Parfois il ne subsiste que le noyau condensé du neutrophile phagocytée sous forme d'un globule bleu intense



Jy30-120 On peut confirmer l'origine du noyau condensé par un marquage spécifique du neutrophile à la chloro-acétyl estérase.



Jy30-121 À nouveau démonstration de la coloration spécifique du neutrophile (chloro-acétyl estérase) mettant en évidence le noyau condensé d'un neutrophile phagocyté



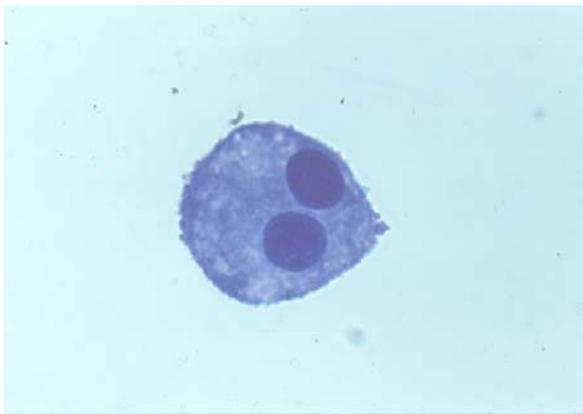
Jy30-127

Le neutrophile phagocyté peut aussi être mis en évidence par la coloration au noir Soudan.

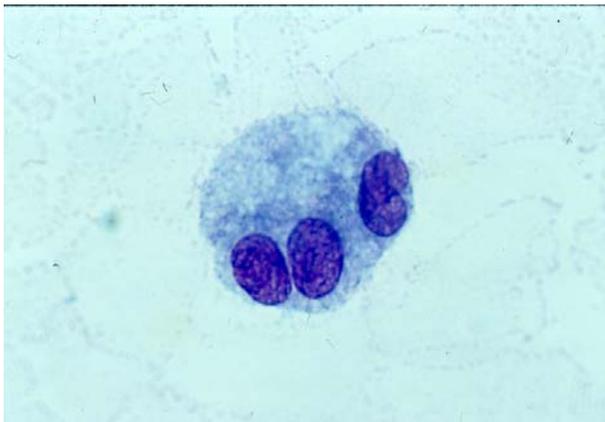
1.11 Cellules spumeuses *voir macrophages ou jy29-036*

1.12 Cellule multinucléée *Index-f-cellules multinucléées.doc*

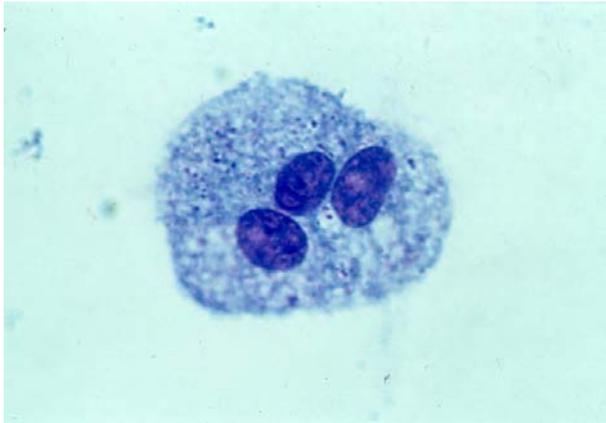
Cellules retrouvées particulièrement dans des arthroses érosives



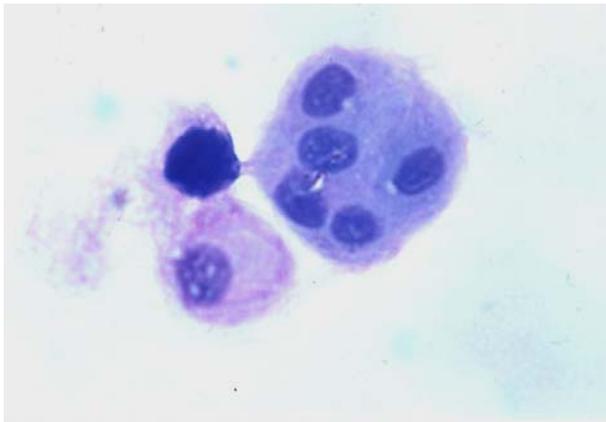
Ag14-031 Cellule binucléée



Ag14-030 Cellule trinucleée



Ag14-045
Autre cellule trinuéclée



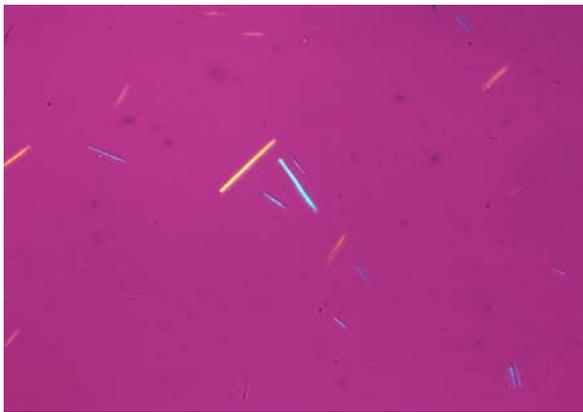
Jy30-312 Cellule géante multinuéclée dans un liquide synovial d'arthrose érosive. Serait-ce un ostéoclaste?.

2. Cristaux

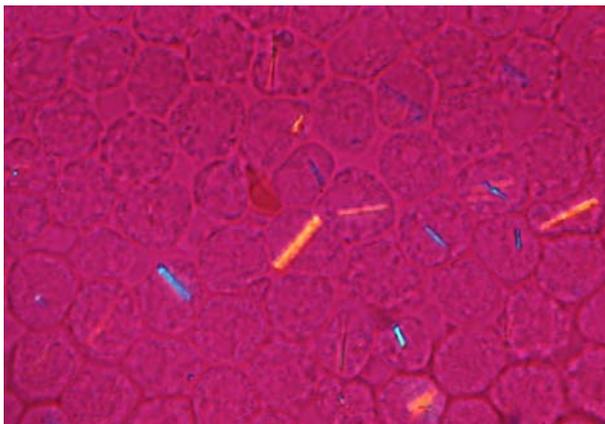
2.1 Cristaux phlogogènes

2.1.1 Urate

Index-f-urates.doc



Ag04-192 Liquide synovial de patient goutteux. Cristaux d'urate de sodium extracellulaires négativement biréfringents. Microscope polarisant avec filtre rouge de premier ordre



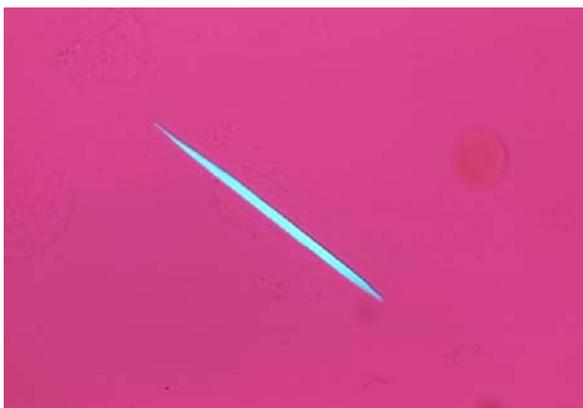
Ag05-096 Cristaux d'urate en « bâtonnets » dans un cas de goutte.. Microscope polarisant avec filtre rouge de premier ordre



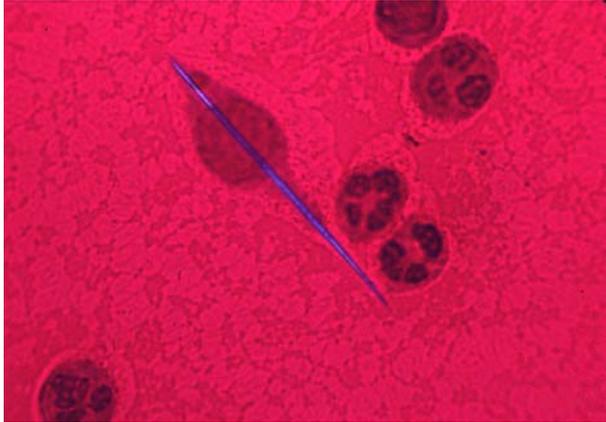
Jy22-033 Cristal d'urate de sodium négativement biréfringent extracellulaire. .
Microscope polarisant avec filtre rouge de premier ordre



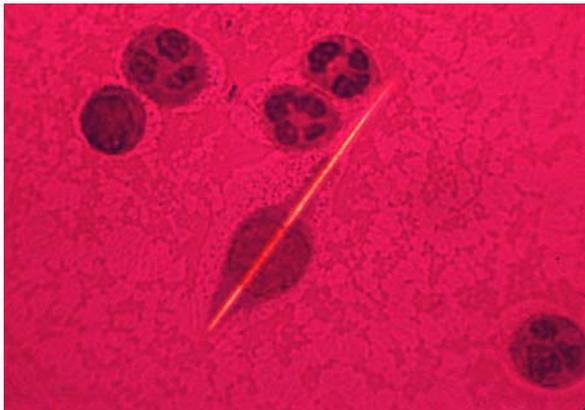
Jy22-034 Le même cristal avec une rotation de 45 degrés. Le cristal d'urate est triclinique, et donne donc une extinction imparfaite.



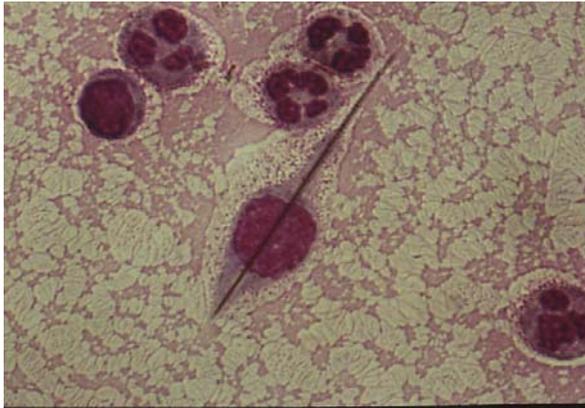
Jy22-035 Le même cristal d'urate de sodium avec une rotation supplémentaire de 45 degrés.. Microscope polarisant avec filtre rouge de premier ordre.



Ag04-244 Phagocytose par un monocyte d'un cristal d'urate de sodium (longueur : 45 microns) . Microscope polarisant avec filtre rouge de premier ordre. Coloration de Wright.

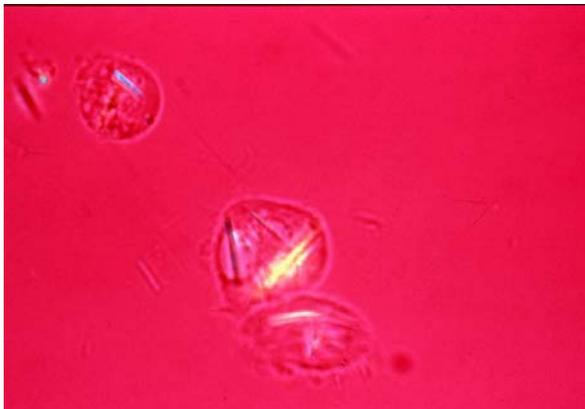


Ag04-243 Même champ. Avec une rotation de 90 degrés



Ag04-246 Même champ sans polarisation. Coloration de Wright.

Nous allons maintenant considérer une séquence de phagocytose dans les prochaines photos.



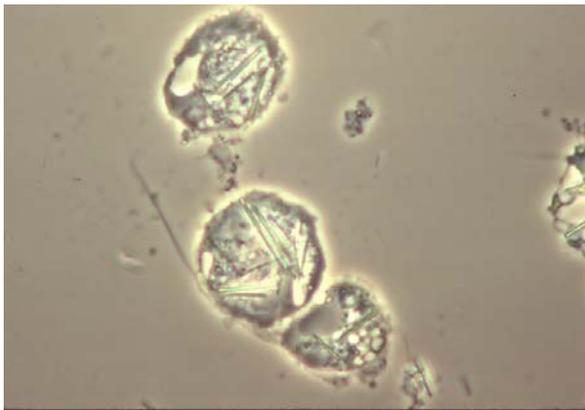
Ag05-052 Trois neutrophiles ayant phagocyté plusieurs cristaux d'urate .Microscope polarisant et filtre rouge de premier ordre.



Ag05-054 Mêmes champs en contraste de phase. Notez la grande vacuole phagocytaire de la cellule du bas.

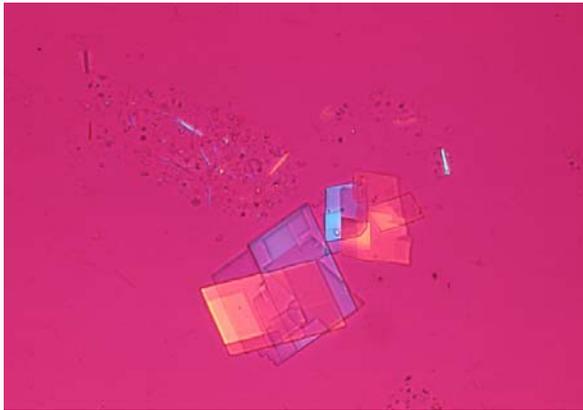


Ag05-055 Quelques instants plus tard, la vacuole de la cellule centrale éclate et la cellule se recroqueville. La grande vacuole de la cellule inférieure s'agrandit toujours...et

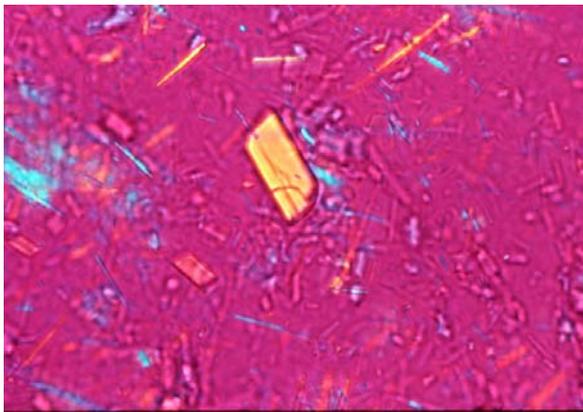


Jy29-104 finalement éclate en entraînant le décès cellulaire.

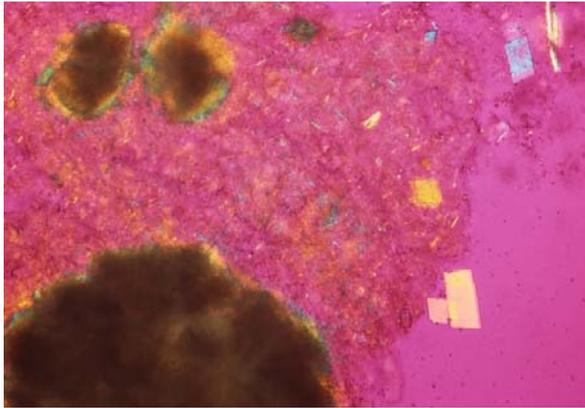
Maintenant voici quelque cas de coexistence de deux types de microcristaux :



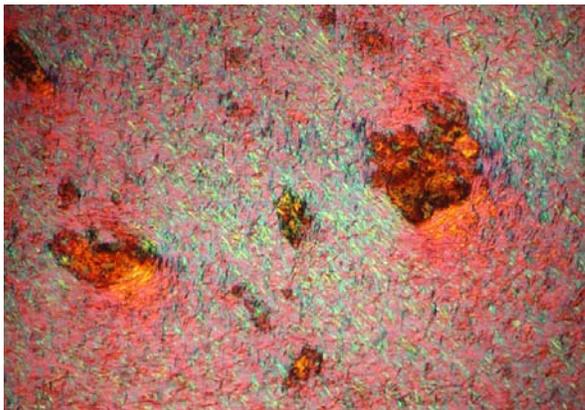
Ag05-058 Coexistence microcristalline : cristaux de cholestérol + cristaux d'urate



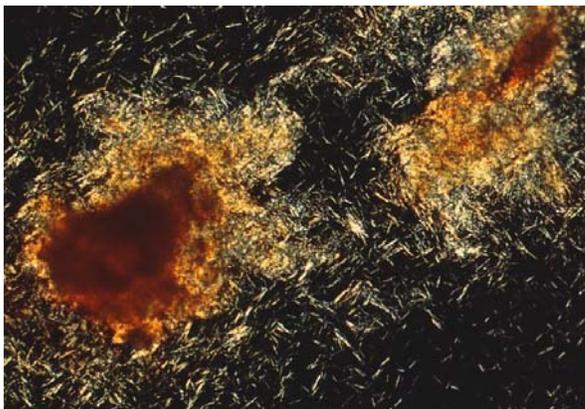
Ag14-071 Coexistence de cristaux d'urate
+ cristaux de pyrophosphate



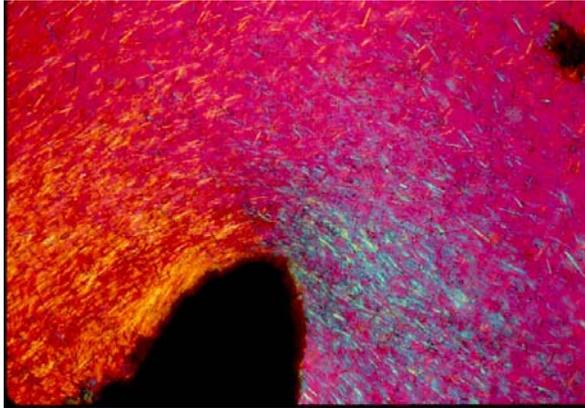
Ag05-059 idem Microtophus d'urate + cristaux de cholestérol.



Ag05-092 Microtophus d'urate



Ag05-094 Microtophus d'urate. Microscopie polarisante sans filtre rouge.



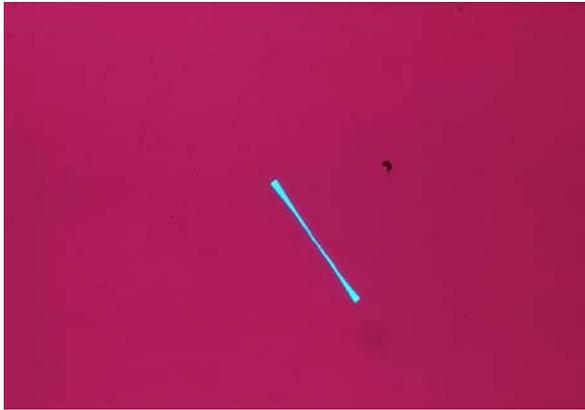
Jy30-280 Autre microtophus d'urate.



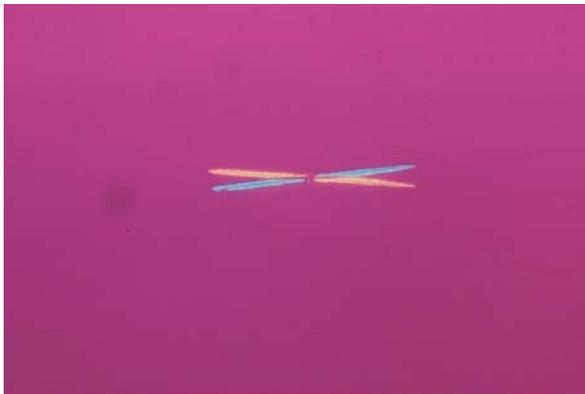
Jy30-283 Microcristal d'urate synthétique en microscopie par contraste de phase.



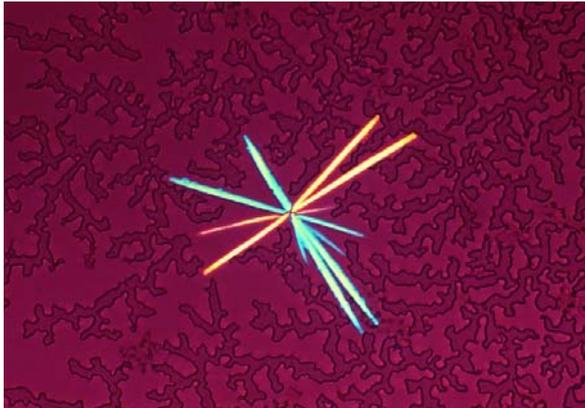
Jy30-284 Même champ. Microscope polarisant et filtre rouge de premier ordre. La partie centrale est trop mince pour avoir une biréfringence marquée.



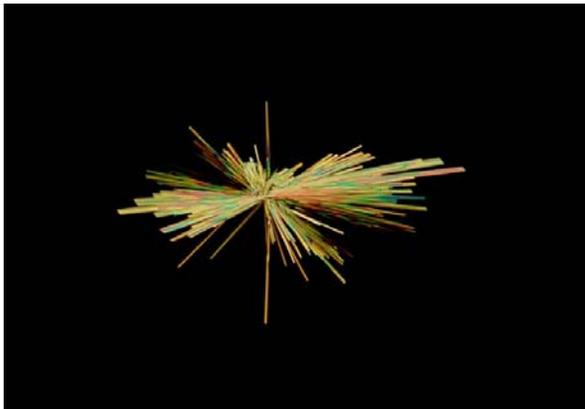
Jy30-286 Même forme de cristal un peu épaissie.



Ag05-107 Cristaux d'urate synthétique croisés.
Microscope polarisant avec filtre rouge de premier ordre.



Jy29-077 Microscopie polarisante avec filtre rouge de premier ordre..



Jy29-086
Microscope en lumière polarisée sans filtre rouge. Aggrégat de cristaux d'urate suffisamment épais pour donner les tintes d'interférence suivant la charte de Michel-Lévy.

2.1.2 Pyrophosphates

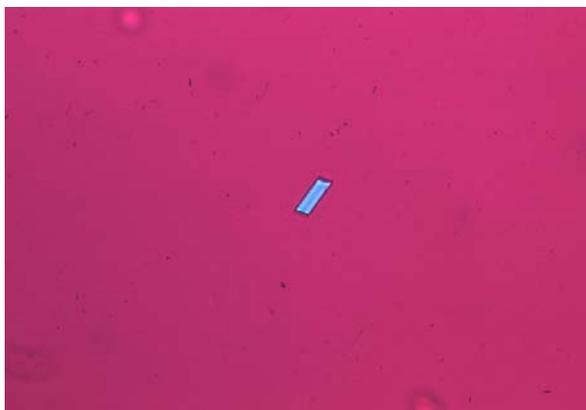
Pyrophosphate de calcium dihydraté (cristal)
dihydraté (cristal).doc

Index-f-pyrophosphate de calcium

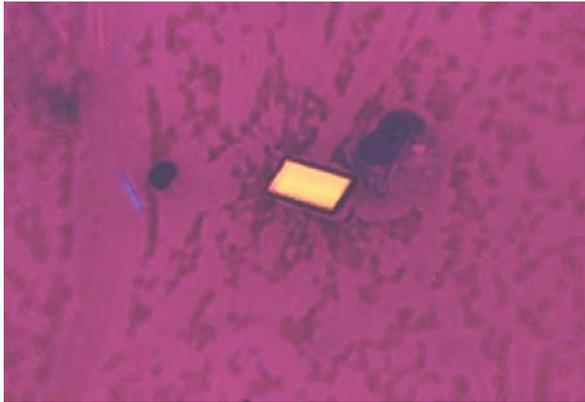
Ces cristaux rhombohédriques positivement biréfringents se retrouvent particulièrement dans la pseudo-goutte et dans la chondrocalcinose. La formule chimique est la suivante : $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Il existe deux formes, soit la forme monoclinique et la forme triclinique. On observe plus fréquemment cette dernière forme car elle est plus stable.



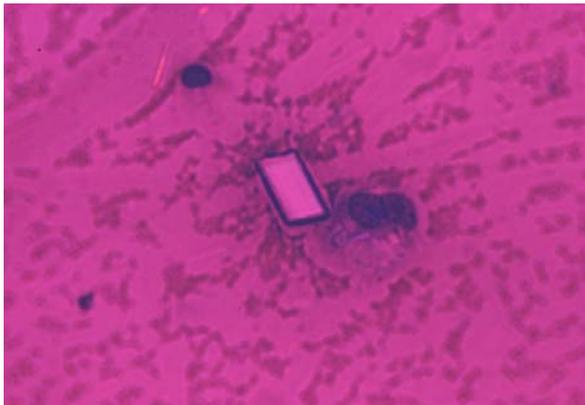
Jy29-014 Cristal de pyrophosphate de calcium dihydraté. Polarisation avec filtre rouge de premier ordre



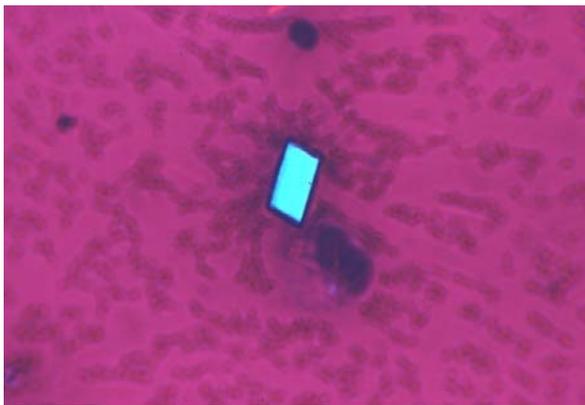
Jy29-013 Même champ après une rotation de 90 degrés



Ag05-084 Cristal de pyrophosphate presque rectangulaire positivement biréfringent (maximum de brillance).



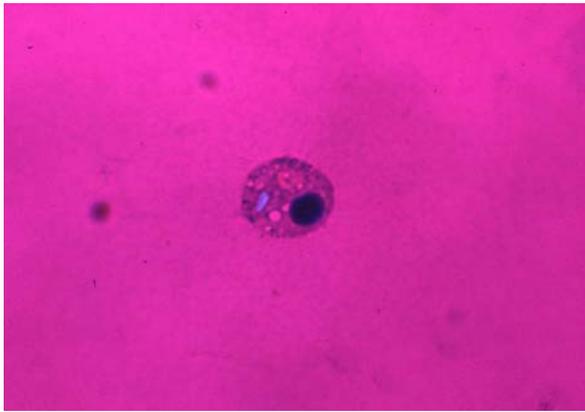
Ag05-083 Même champ avec une rotation de 45 degrés mettant en évidence un angle d'extinction légèrement oblique..



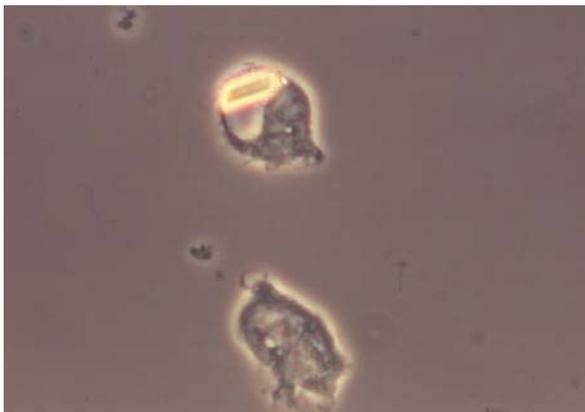
Ag05-082 Même champ avec une rotation de 90 degrés.



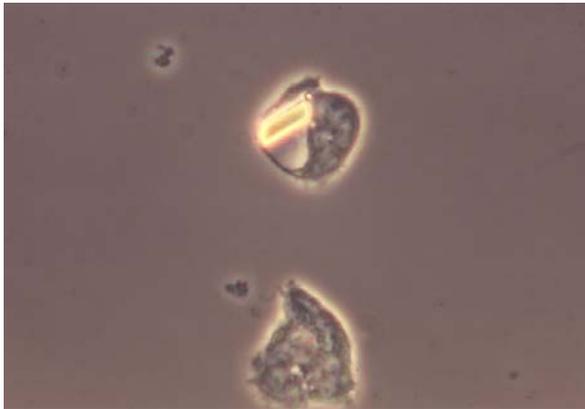
Jy29-037 Microcristal de pyrophosphate phagocyté par un synoviocyte



Jy29-038 Même cellule en polarisation avec filtre rouge de premier ordre



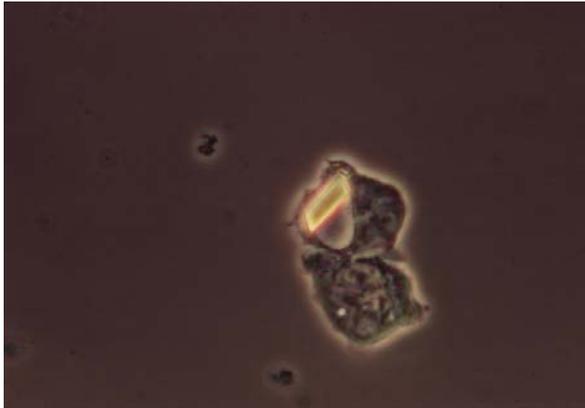
Ag05-077 Début de phagocytose d'un cristal de pyrophosphate de calcium
(contraste de phase)



Ag05-076 Incorporation dans le phagolysosome



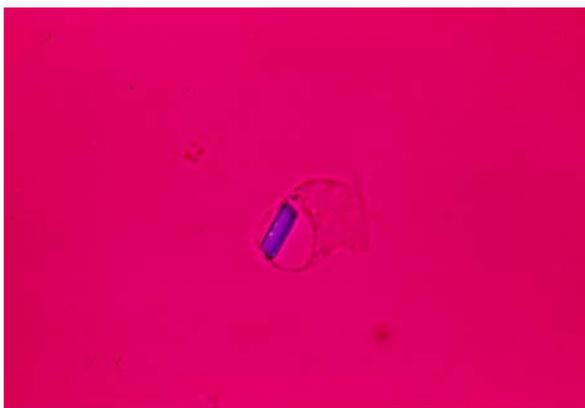
Ag05-071 Phagocytose (suite)



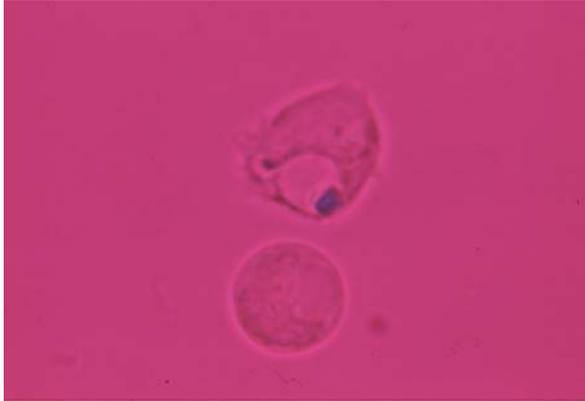
Ag05-069 Phagocytose (suite)



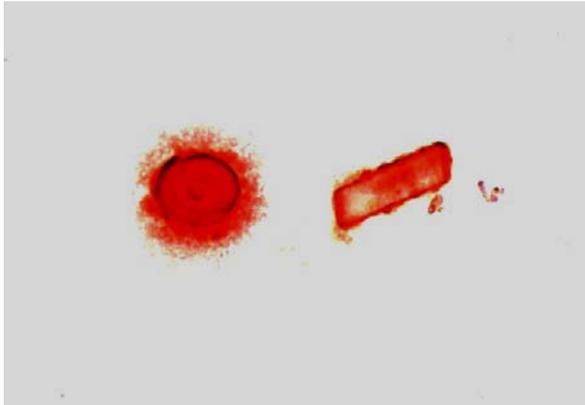
Ag04-273 Deux phagolysosomes avec des microcristaux de pyrophosphate qui y nagent à l'intérieur.



Jy22-056 Autre cristal de pyrophosphate phagocyté (polarisation avec filtre rouge de premier ordre).



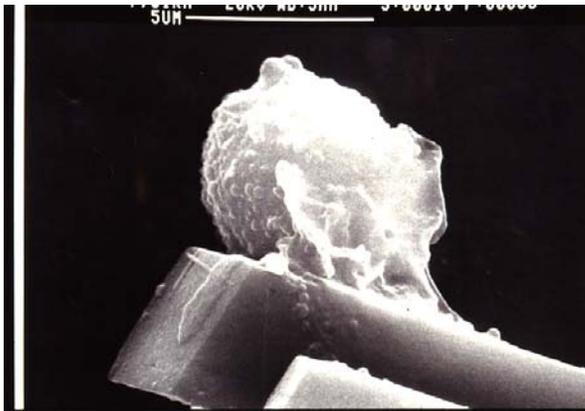
Jy22-055 Cristal dans un grand phagolysosome.



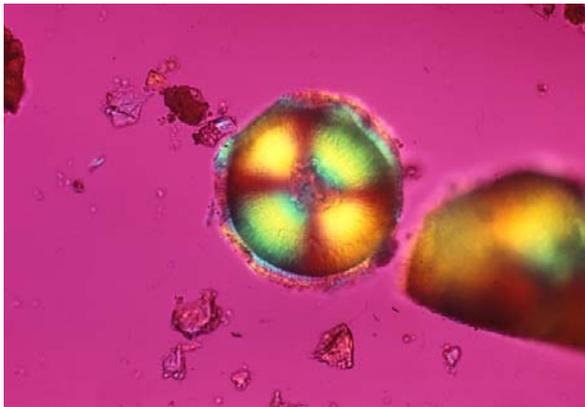
Jy24-084 Coloration au rouge d'alizarine de cristaux calciques (cristal de pyrophosphate à droite et sphérulite d'apatite à gauche).



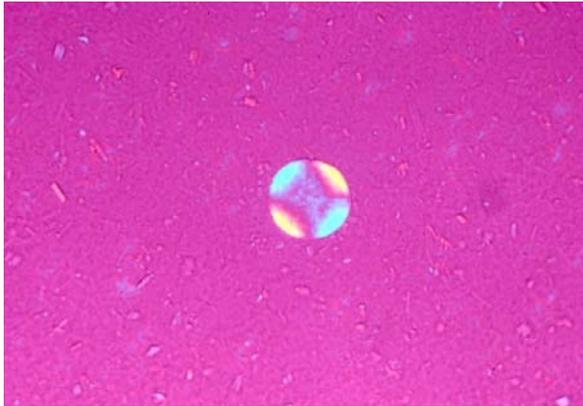
Ag04-271 Un neutrophile entrant en contact avec un cristal de pyrophosphate (microscopie électronique par balayage).



Ag04-272 Autre neutrophile (début de phagocytose d'un cristal de pyrophosphate). Microscopie électronique par balayage.



Jy29-024
Sphérulite synthétique de pyrophosphate de calcium.



Jy30-296 Sphérulite négativement biréfringent et microcristaux de pyrophosphate positivement biréfringents dans une crise de pseudo-goutte (coexistence cristalline)

2.1.3 Apatites

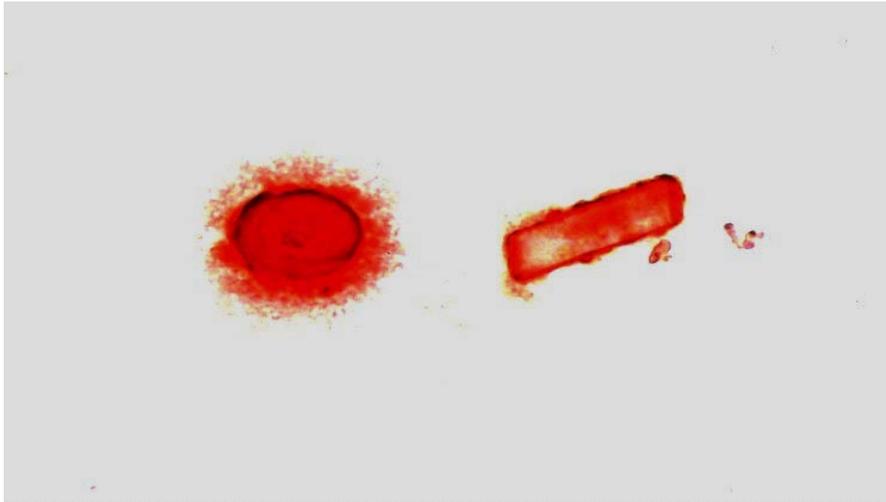
Les apatites sont un groupe de minéraux de formule générale $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6 \text{X}$ où X est un anion comme OH (hydroxyapatite), F (fluoroapatite) et CO_3 (carbonatoapatite). L'hydroxyapatite légèrement carbonatée se retrouve sous la matrice des os et des dents, ainsi que dans les arthrites à apatite.

Les termes BCP (basic calcium phosphate), apatite et hydroxyapatite (HA) sont généralement considérés comme synonymes. Ces termes décrivent un mélange d'hydroxyapatite partiellement carbonatée et de divers phosphates de calcium (octocalcium phosphate, tricalcium phosphate, brushite, etc.).

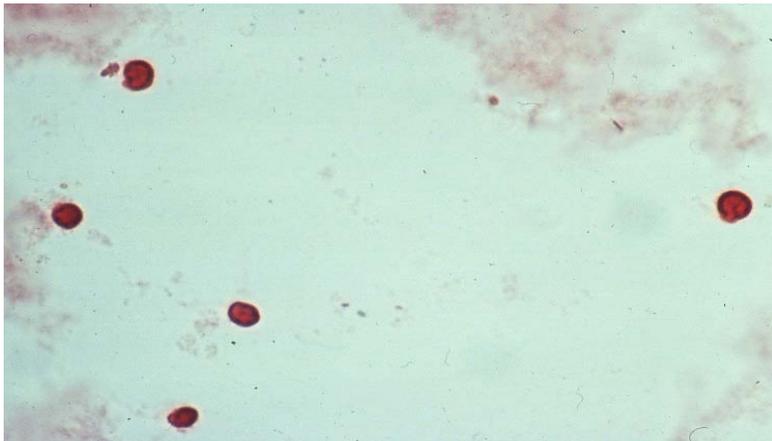
Agrégats d'apatite colorés au rouge d'alizarine-S (71)

(72)

Les cristaux d'apatites sont trop petits pour être visibles au microscope optique sauf lorsqu'ils sont en amas ou mis en évidence par le rouge d'alizarine-S.



jy29-032 Les cristaux d'apatite forment des agrégats visualisés du côté gauche coloré au rouge d'alizarine-S. **Les cristaux d'apatite se colorent par le rouge d'alizarine beaucoup plus rapidement que le pyrophosphate (CPPD). Ce dernier à droite sur la photo. À remarquer la structure concentrique caractéristique de l'agrégat d'apatite. (73)**

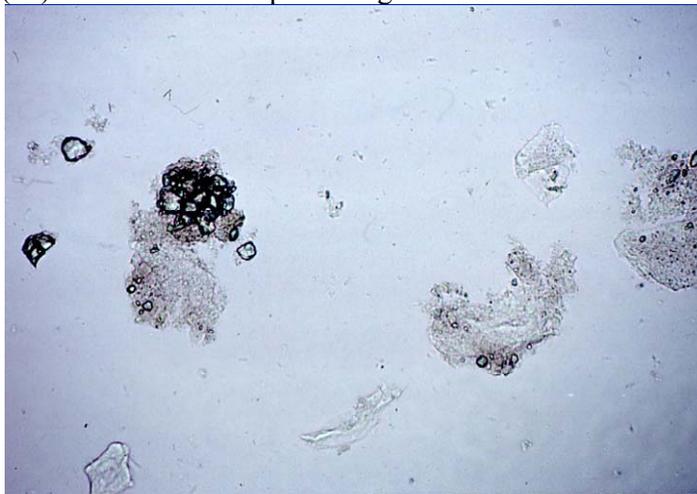


Jy24-085 Petites structures concentriques retrouvée dans l'arthrose



Jy24-086

(74) Cette structure à plus fort grossissement

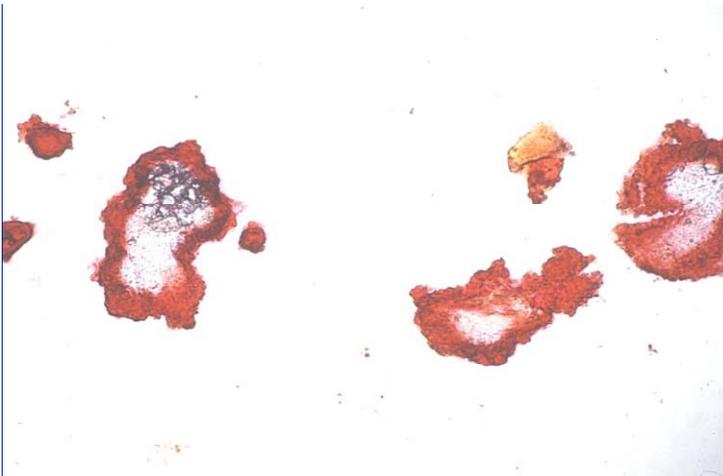


Ag14-002

(75) Dans les prochaines photos, nous allons observer la progression de la coloration par le rouge d'alizarine-S



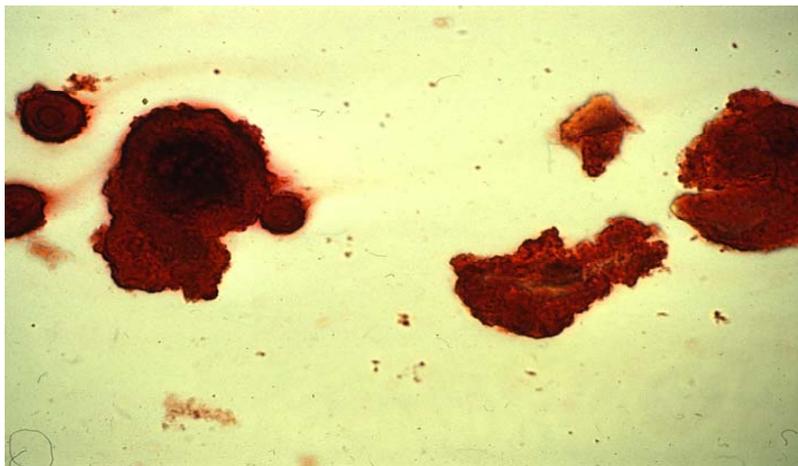
(76) Ag14-003
Le même champ de vision au début de la coloration.



(77) Ag14-016
La coloration continue.



Ag04-222 Le colorant poursuit son œuvre.



(78) Ag04-223

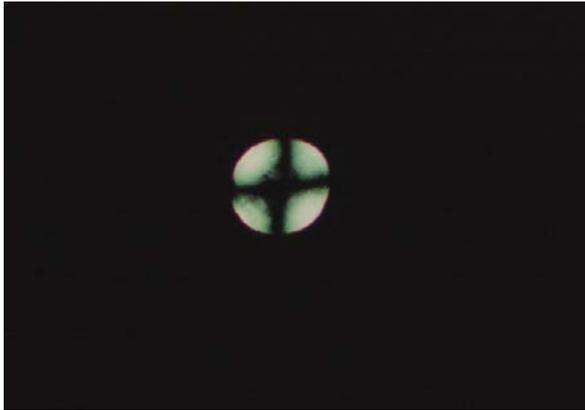
La coloration est terminée.

En pratique clinique, on peut rencontrer des arthropathies calcifiantes aiguës en particulier au niveau de l'épaule. Les microcristaux peuvent aussi se retrouver sous forme de dépôts sous-cutanés qui ressemblent à des abcès. Notre groupe fut le premier à décrire l'arthrite aiguë induite par des sphéculites d'apatite négativement biréfringents. Le traitement par des antibiotiques est évidemment inefficace.

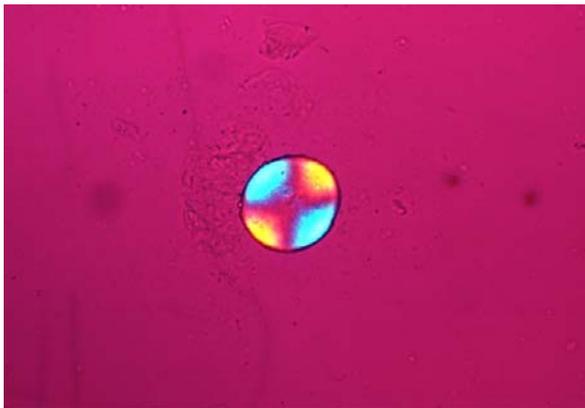


Jy21-081

Cette photographie fut prise dans un cas d'arthropathie à déposition d'apatite..La fleche de droite pointe une cellule phagocytaire (neutrophile) avec un grand phagolysosome qui contient un agrégat de cristaux d'apatite. La fleche de gauche indique une cellule qui a digéré les apatites . Et sous cette dernière cellule, remarquez un grand amas de cristaux d'apatite appelé « shiny coin » .



Jy29-074 Sphérulite de phosphate de calcium en polarisation démontrant clairement la croix de Malte



Jy29-073
Même sphérulite négativement biréfringent avec polarisation et filter rouge de premier ordre..

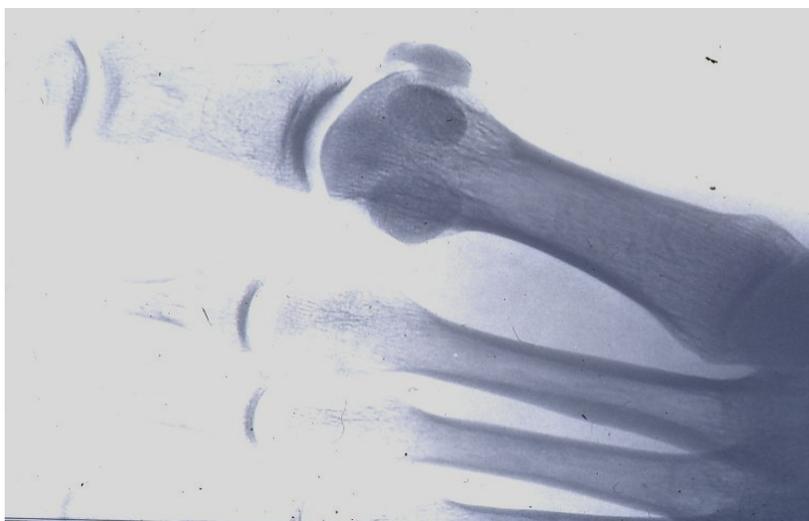
**Acute apatite podagra with negative
birefringent spherulites in the synovial fluid.**

F. Beaudet, R. de Médicis, P. Magny, A. Lussier

J. RHEUMATOL. 1993;20:1975

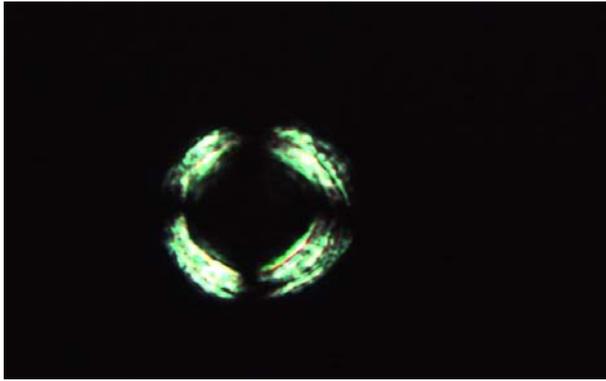
Jy21-162

Un pseudo-podagre par sphérulites négativement biréfringents.



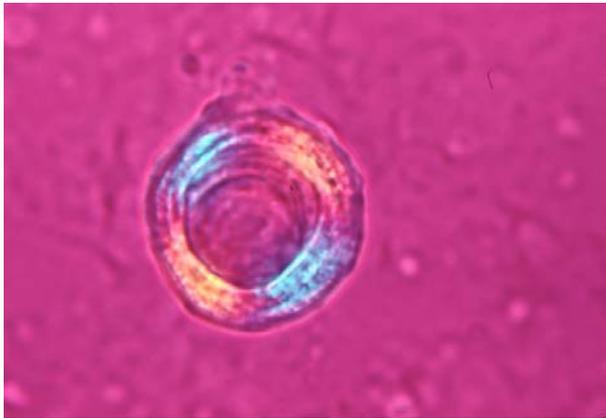
Jy21-165

**Sur ce cliché radiologique on voit la calcification localisée en
paraarticulaire au niveau de la première articulation
métatarso-phalangienne.**

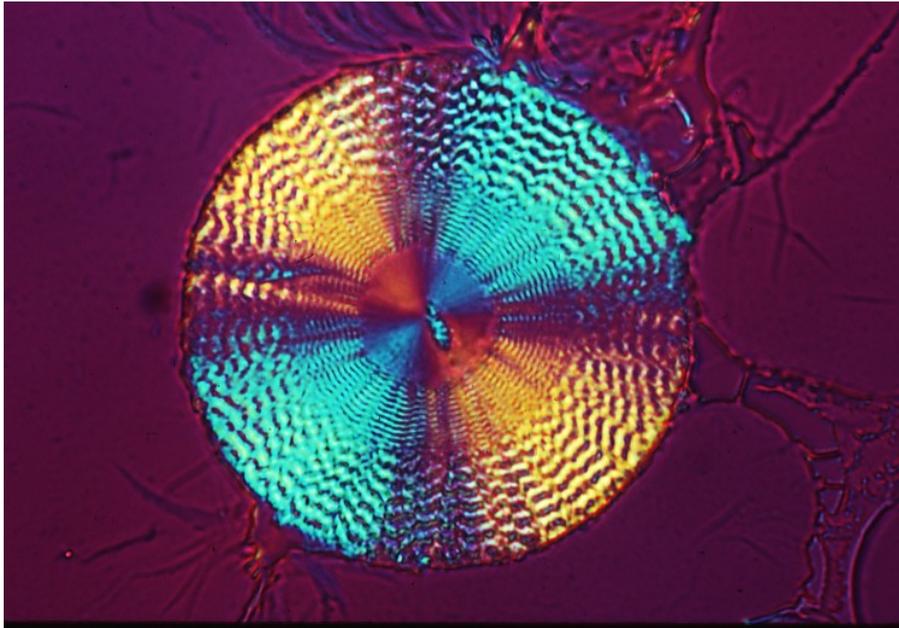


Ag04-237

Un sphérulite d'apatite en polarisation montrant des anneaux concentriques.



Ag04-238 Le même champ avec filtre rouge de premier ordre

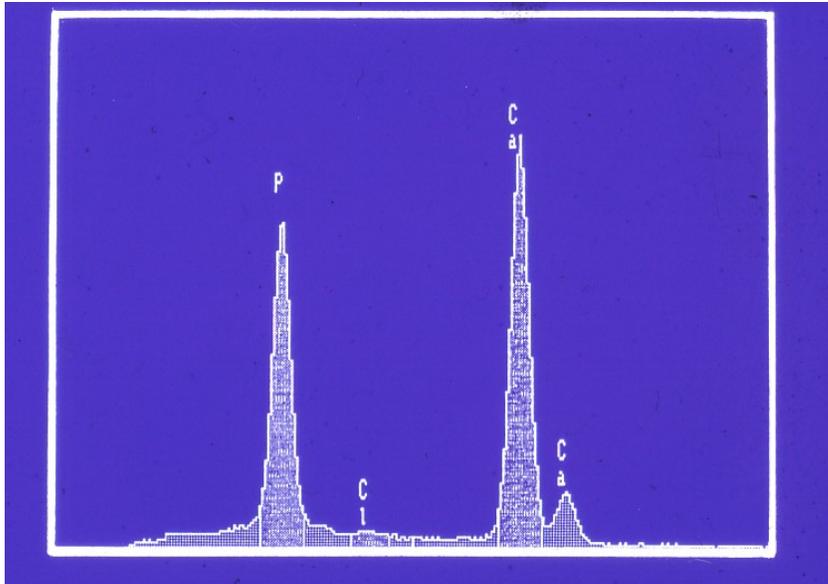


Jy21-168 Il s'agit d'un sphérolite de 25 microns de diamètre observé 6 mois plus tard et ne montrant aucune modification. Ces sphérolites sont donc plus stables que ceux d'urate.



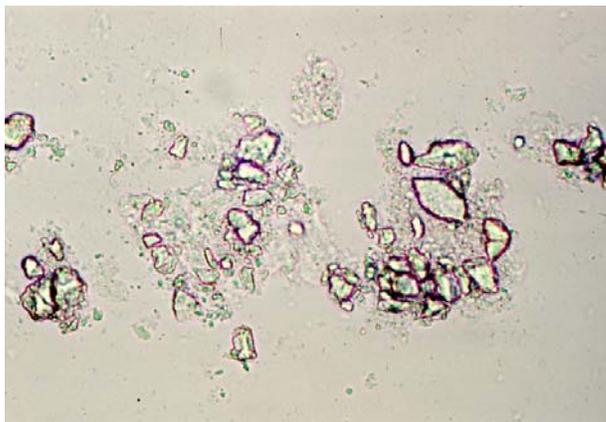
Jy21-169

Sphérulite d'apatite (microscopie électronique par balayage).



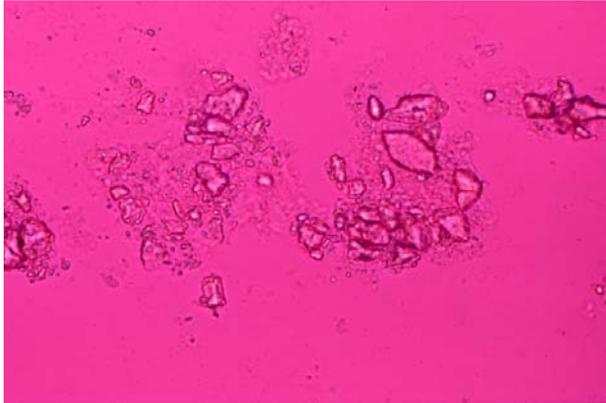
Ag04-214

L'analyse par dispersion d'énergie donne un rapport calcium/phosphore égal à 1.67 ce qui est précisément celui de l'apatite.



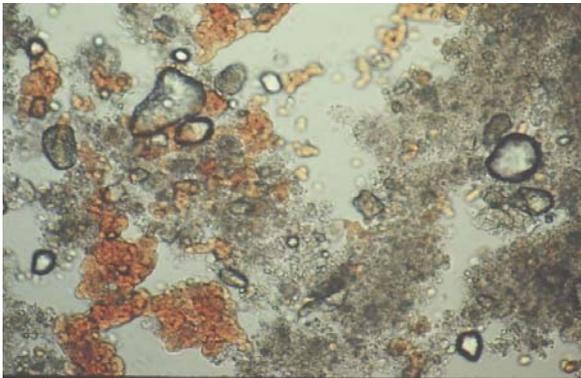
Ag14-004

Amas de microcristaux d'apatite en lumière normale



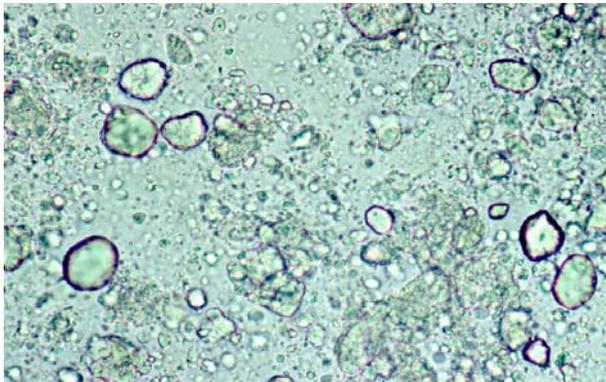
Ag14-008

Le même champ en lumière polarisée avec filtre rouge de premier ordre soulignant la faible biréfringence de ces microcristaux.



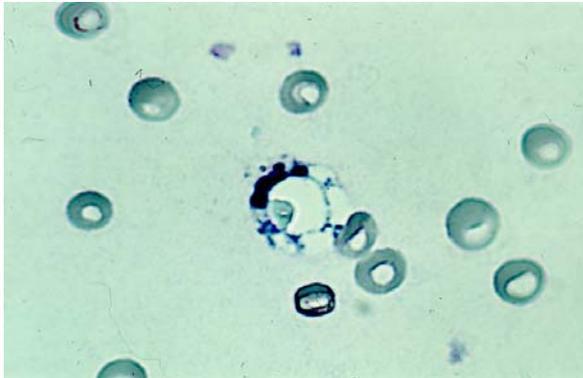
Jy29-045

Amas de microcristaux d'apatites du type « shiny coins ».



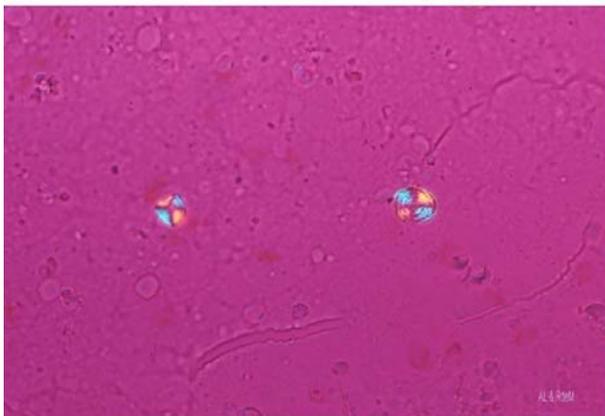
Ag14-006

Autres amas d'apatite sous forme de« shiny coins ».



Ag14-018

**Amas d'apatite phagocyté dans une grande vacuole
D'un neutrophile.**

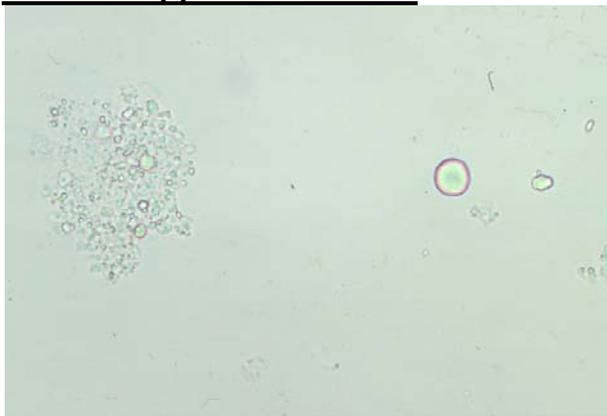


Ag04-218

Coexistence particulière :

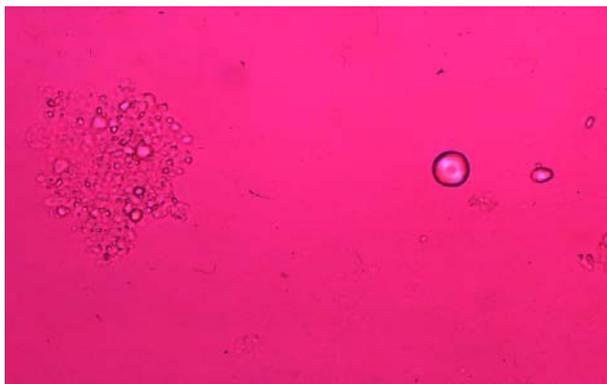
**Sphérulite de lipide de biréfringence positive à gauche et sphérulite d'apatite de
biréfringence négative à droite.**

Photos supplémentaires :



Ag04-234

Apatite sous forme d'amas à gauche et de sphérulite à droite



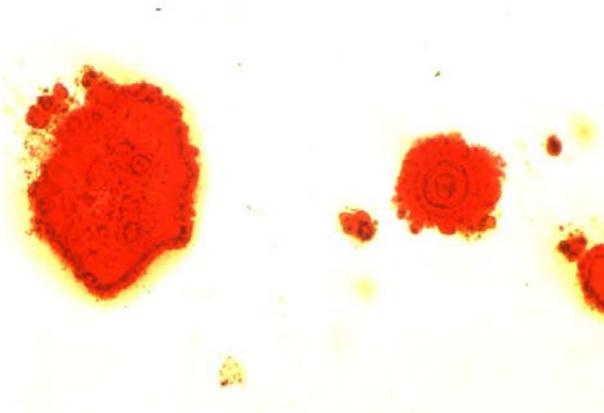
Ag04-233

Idem en lumière polarisée avec filtre rouge de premier ordre.



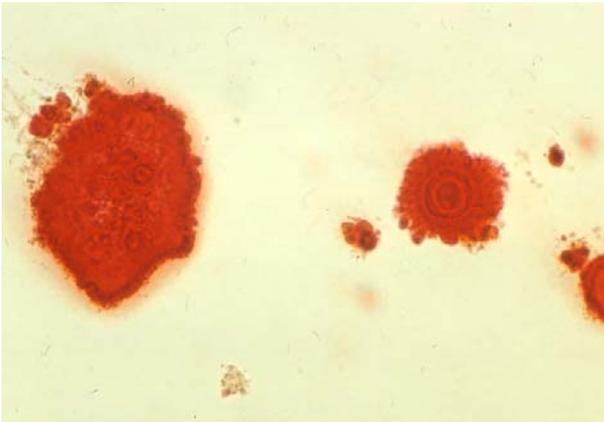
Ag04-228

Même champ avec coloration au rouge alizarine.



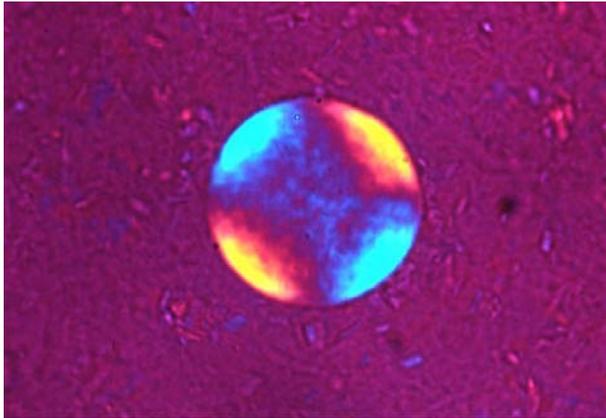
Ag04-229

Idem quelques minutes plus tard



Ag14-017

Idem :coloration finale.



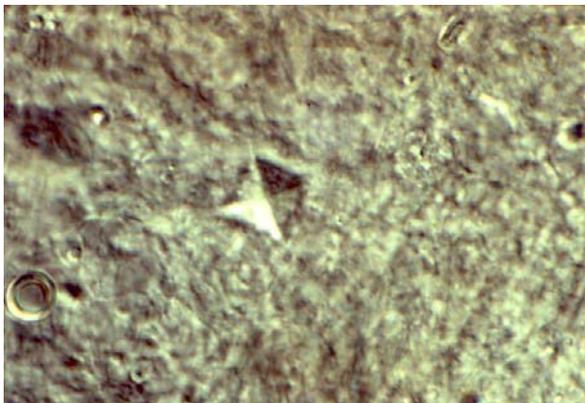
Ag04-240
 Sphérulite d'apatite de biréfringence négative (30 μm de diamètre).
 Microscope polarisant avec filtre rouge de premier ordre.

2.1.4 Oxalates

Oxalates

Index-f-cristaux d'oxalate de calcium.doc

Certains laboratoires utilisent encore l'oxalate de sodium comme anticoagulant. Il peut ainsi se former sur les frottis des cristaux d'oxalate de calcium. Dans ce cas, c'est un artéfact. Les oxalates formés in vivo sont soit monohydratés (wevelite) soit bihydratés (wedellite).



Jy22-138< (95) Ag14-064

Avec le contraste interférentiel de Nomarski, on peut facilement mettre en évidence la forme octaédrique des cristaux d'oxalate de calcium (bipyramide à base carrée).

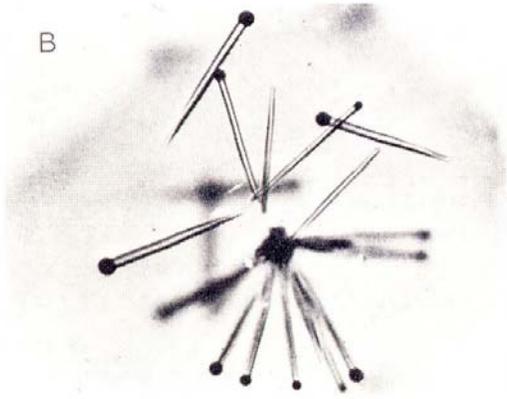


Jy22-137 **Le même** cristal en polarisation avec filtre rouge de premier ordre (96).

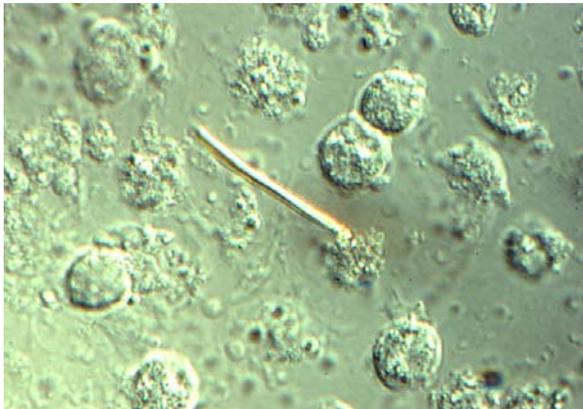


Jy21-058 Deux cristaux d'oxalate de calcium en polarisation avec filtre rouge de premier ordre.

2.1.5 Guanine (cristaux)



Jy22-114 Cristaux de guanine

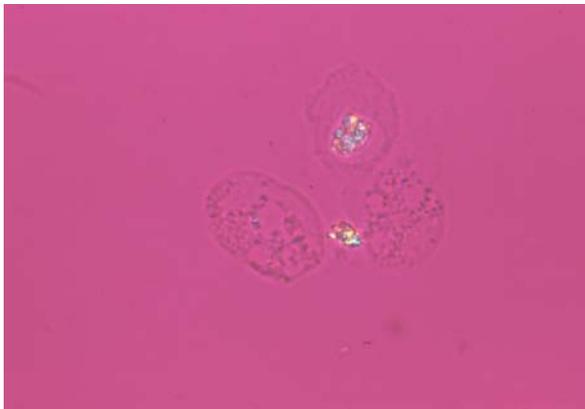


Jy22-117
Cristal retrouvé dans un liquide synovial dont la morphologie fait penser à un cristal de guanine



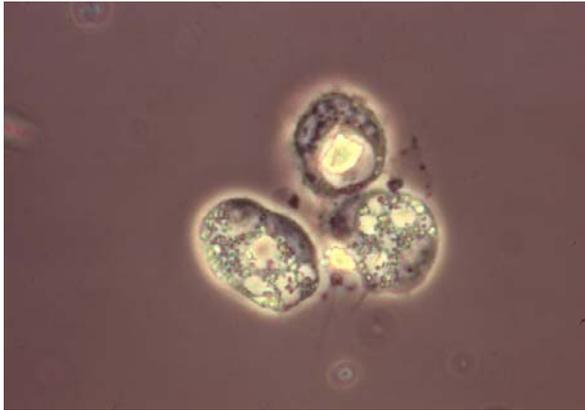
Jym22-116

Même cristal en polarisation avec filtre rouge de premier ordre.

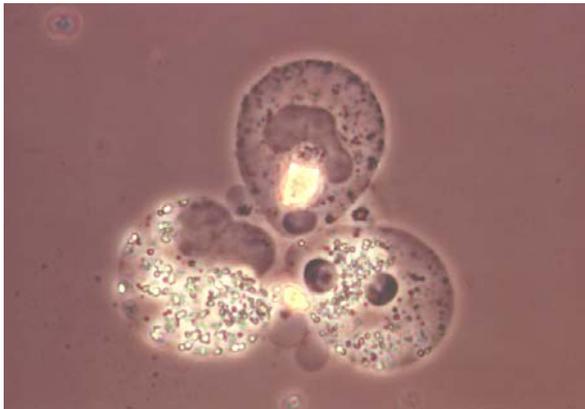


Ag05-169

Phagocytose de cristaux de guanine synthétique



Ag05-172
Même champs sous microscope en contraste de phase.



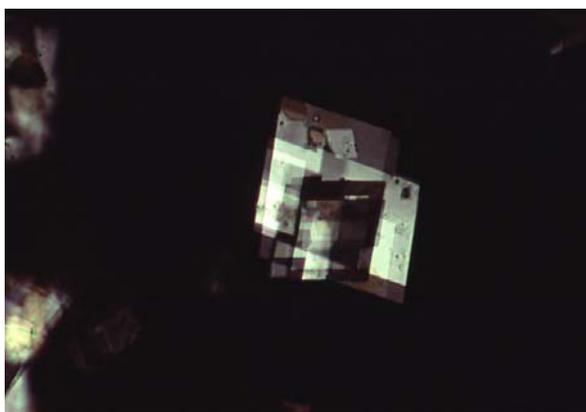
Ag14-062
Mêmes cellules visionnées un peu plus tard démontrant la membranolyse.

2.2 Cristaux peu ou pas phlogogènes

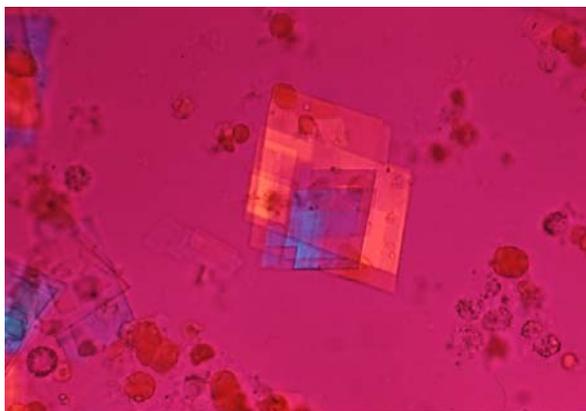
2.2.1 *Cholestérol* Index-f-cholestérol (crystals).doc

On peut rencontrer des cristaux de cholestérol dans différentes pathologies telles que la P.R. et l'arthrose, mais c'est exceptionnel dans cette dernière.

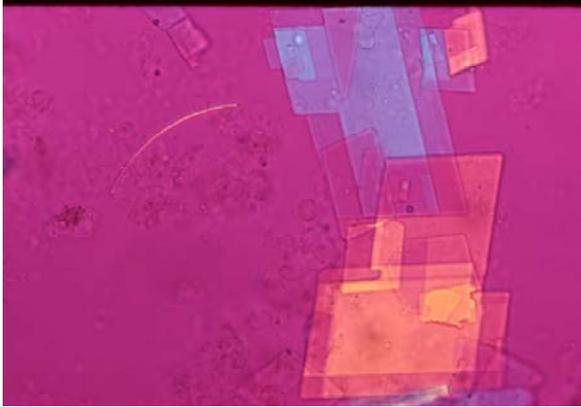
Voici une série de cristaux de cholestérol , d'abord en lumière polarisée



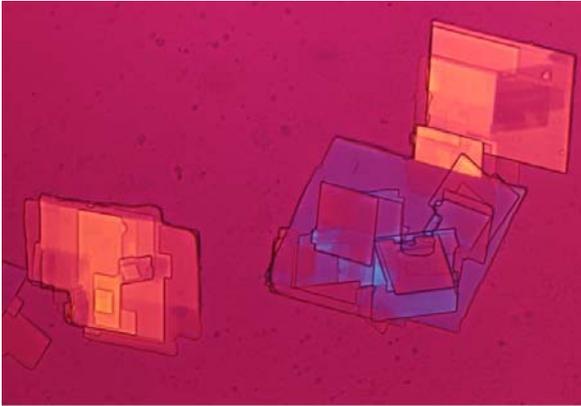
Ag05-050



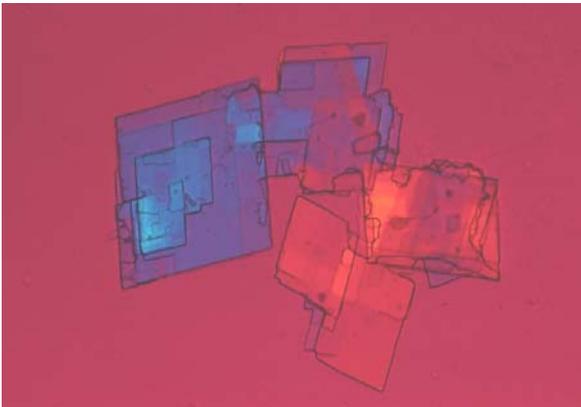
Ag05-049 Puis avec filtre rouge de premier ordre.



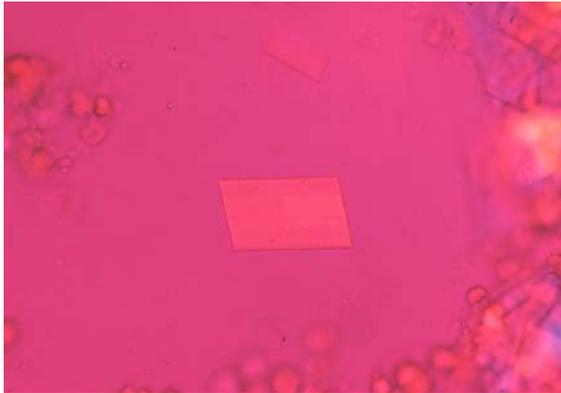
Mr07\$0008 Certains de ces cristaux exhibent une encoche à un de leur coins.



Ag05-061

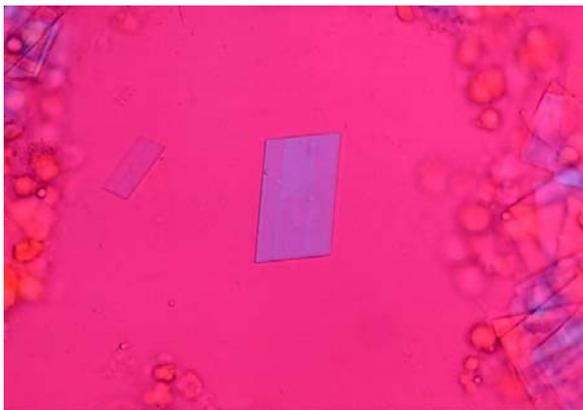


Jy22-107

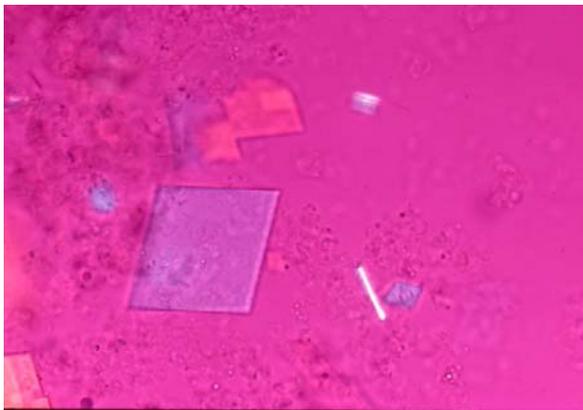


Ag14-053

(85) D'autres ne présentent pas d'encoches. Ils sont aplatis et sont légèrement biréfringents. Le cristal ci-dessus a un signe d'extinction à 45 degrés.



Ag14-044



Mr07\$0013 Une deuxième forme de cristallisation du cholestérol est celui de batonnet allongé.



Mr07\$0014

(87) Enfin, les cristaux de cholestérol peuvent se présenter sous forme curviligne.



Mr07\$0015



Ag29-004

(88) Voici une cellule mononucléée qui « renifle » le cristal de cholestérol mais ne le phagocyte pas, signalant du coup qu'il n'est pas phlogogène.. Ce cliché illustre aussi

l'intéressant potentiel de la microscopie en contraste de phase dans la détection des cellules et microcristaux.

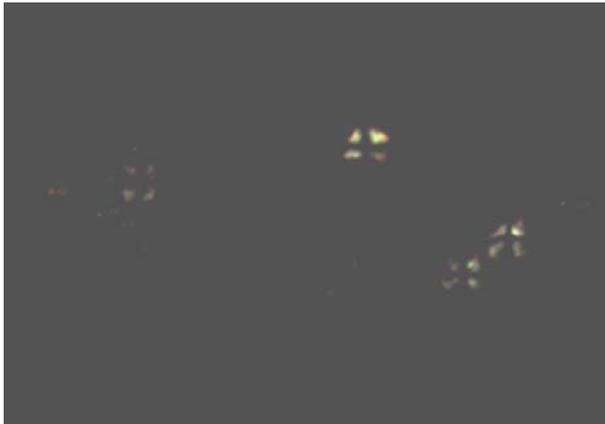
2.2.2 Lipides

Arthrites à sphérulites de lipides

Index-f-arthrites à sphérulites de

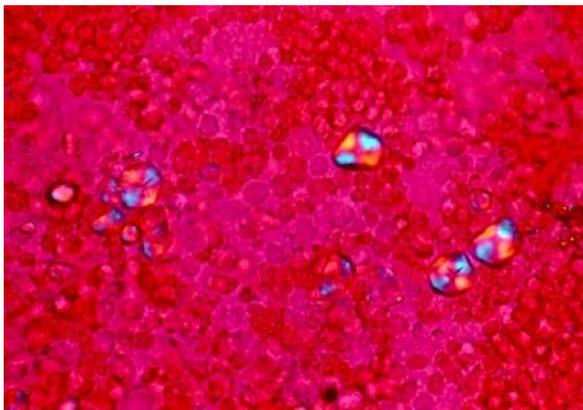
lipides.doc

Il existe un peu plus de 20 cas dans la littérature scientifique. La majorité des cas se présentent chez des femmes.



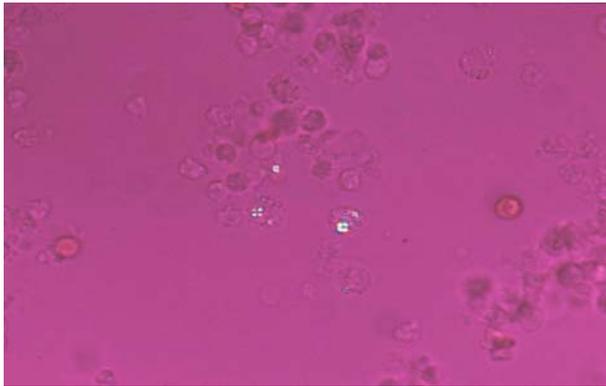
Jy22-111

Sphérulites de lipides entre polariseurs croisés : croix de Malte



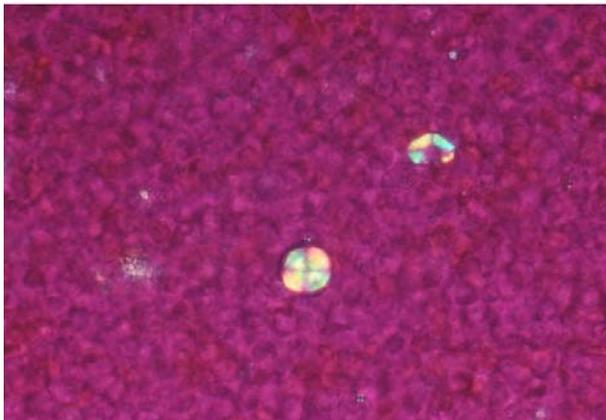
Jy22-110

Même champ avec le filtre rouge de premier ordre mettant en évidence la biréfringence positive des sphérulites de lipides.



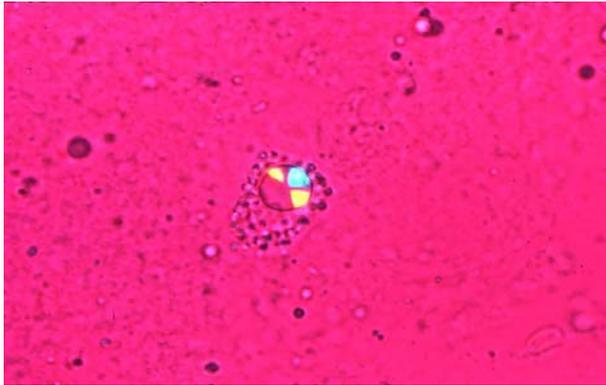
Agm05-181

Phagocytose de sphérulites de lipides de 2 à 4 microns de diamètre.



Ag05-183

Sphérulite d'apatite négativement biréfringent (au centre) et sphérulite de lipide positivement biréfringents d'environ 5 à 6 microns de diamètre.



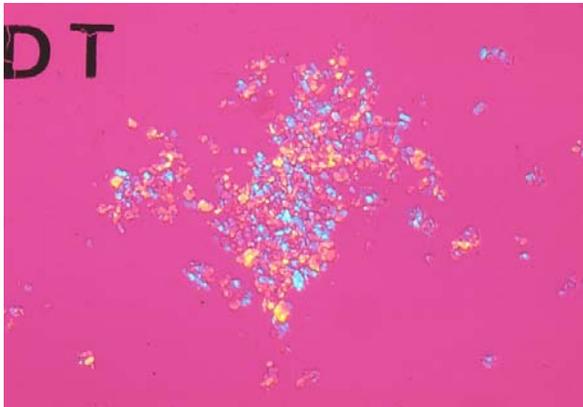
Ag04-236

Sphérulite de lipide phagocyté. Le quartier inférieur gauche est déjà digéré..

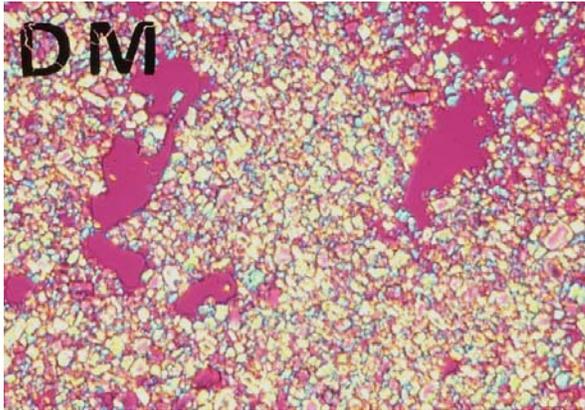
2.3 Cristaux iatrogènes

Cristaux de corticostéroïdes

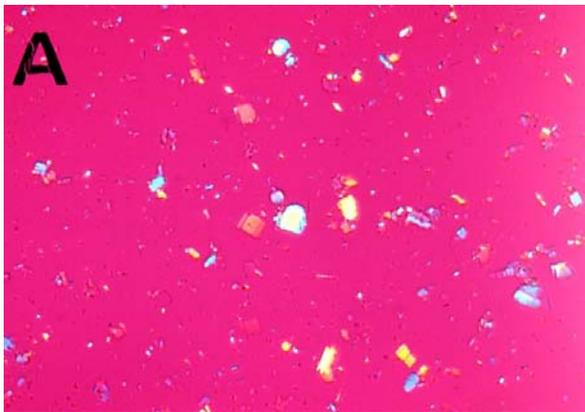
Index-f-corticostéroïdes.doc



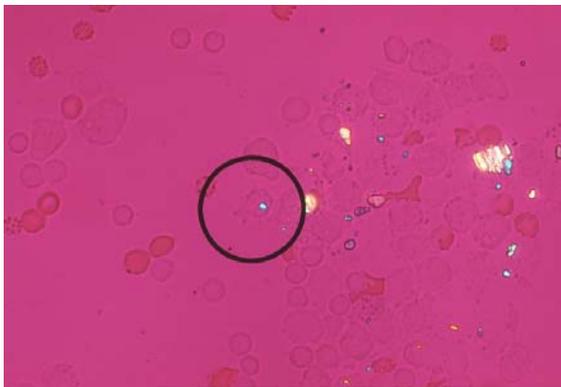
Jy22-183 Cristaux de Decadron TBA



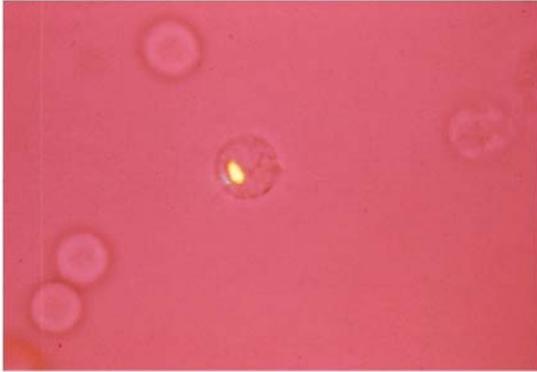
Jy22-179 Cristaux de dépomédrol.



Jy22-177 Cristaux d'aristocort



Jy22-175 Simple phagocytose de cristaux de corticostéroïdes lors d'une réaction iatrogénique inflammatoire à ce médicament.

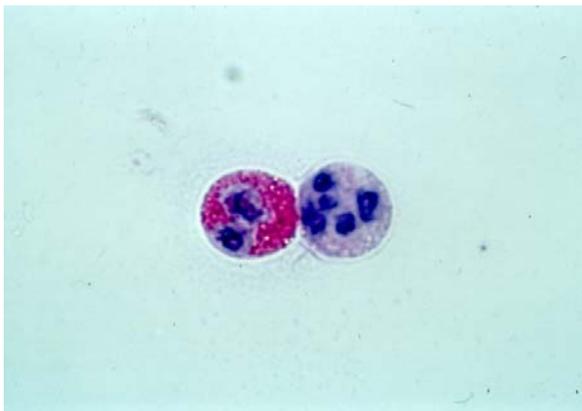


Jy21-078 Double phagocytose: deux maladies dans la même cellule : la présence d'un cristal d'urate pour la goutte et d'un cristal de corticostéroïde pour la réaction intra-articulaire.

2.4 Cristaux formés in vitro

2.4.1 Cristaux de Charcot-Leyden

Index-f-Charcot-Leyden.doc



M07\$0005

Cette photo représente un éosinophile flamboyant à gauche à côté d'un neutrophile à droite. . (34) Ref. 2.12

Coloration spéciale de Andrew & Johnson.



ky22-131

Les cristaux de Charcot-Leyden se forment par la cristallisation d'une lysophospholipase d'éosinophiles en voie de dégénérescence. Ils ont la forme d'une bipyramide hexagonale. Contraste interférentiel (Nomarski).



Ag14-034



Ag14-035

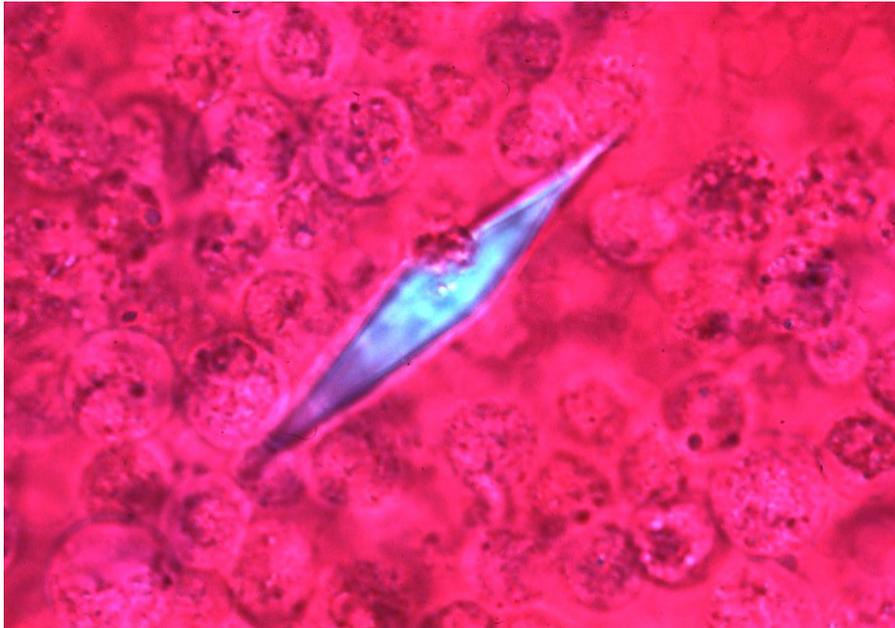


Mr07\$0006



Jy24-063

Cristal de Charcot-Leyden. Polarisation avec filtre rouge de premier ordre démontrant une biréfringence positive.



***Ag04-195 Cristal de Charcot-Leyden grossit 2500 fois.
Ces cristaux se retrouvent dans des cas d'éosinophilies
dans le liquide synovial (comme par exemple dans la
monoarthrite allergique).***

2.4.2 Cristaux d'hémoglobine

Index-f-Hb.doc



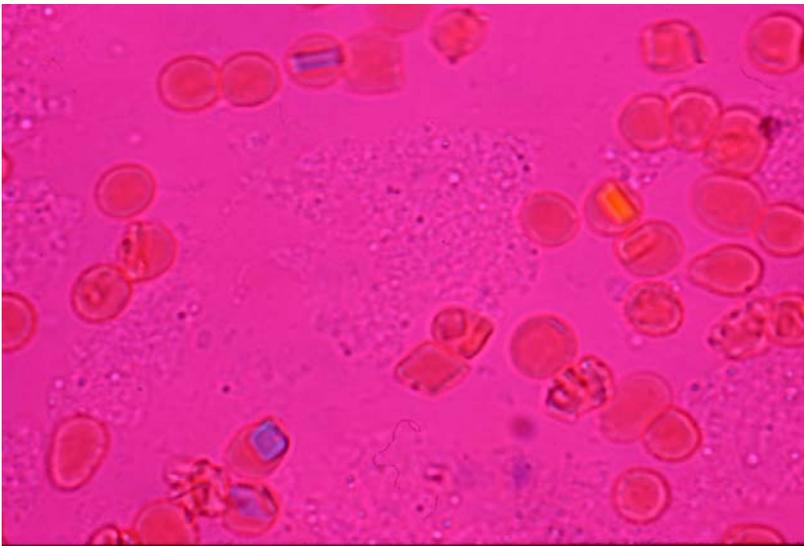
Jy22-207

Cristal d'hémoglobine dans un globule rouge. Contraste interférentiel de Nomarski.



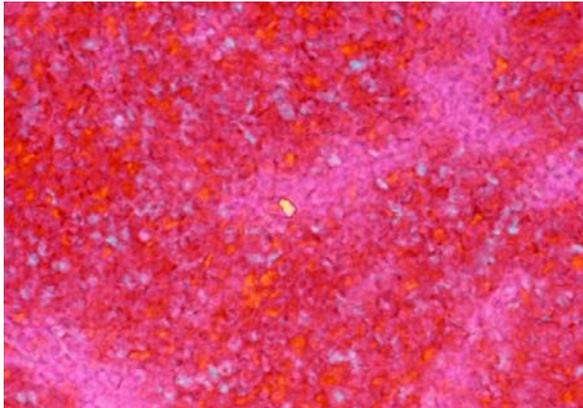
Ja31\$0005

Autres cristaux d'hémoglobine dans des érythrocytes sous Nomarski aussi.



Ja31\$0006

Cristaux d'hémoglobine en polarisation avec filtre rouge de premier ordre.



Ja31\$0003

Coexistence de cristaux d'Hb (biréfringence négative) et de pyrophosphate de calcium. de biréfringence positive (jaune au centre). À noter que les cristaux d'hémoglobine sont à surveiller car ils peuvent être confondus pour des cristaux de pyrophosphate par des néophytes.

2.4.3 Différentes cristallisations in vitro de l'urate de sodium.

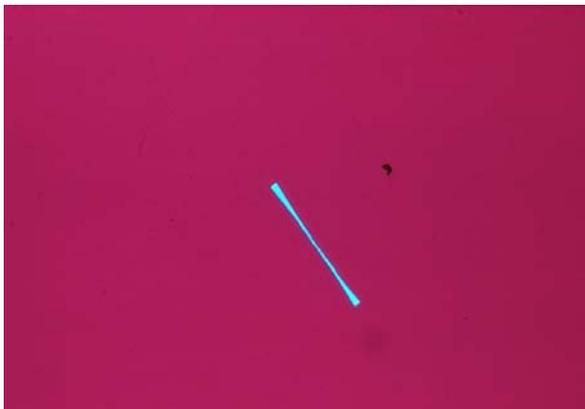
(Index-f-CrVi .doc)



Jy30-283 Une première forme de cristallisation avec un amincissement central (contraste de phase).



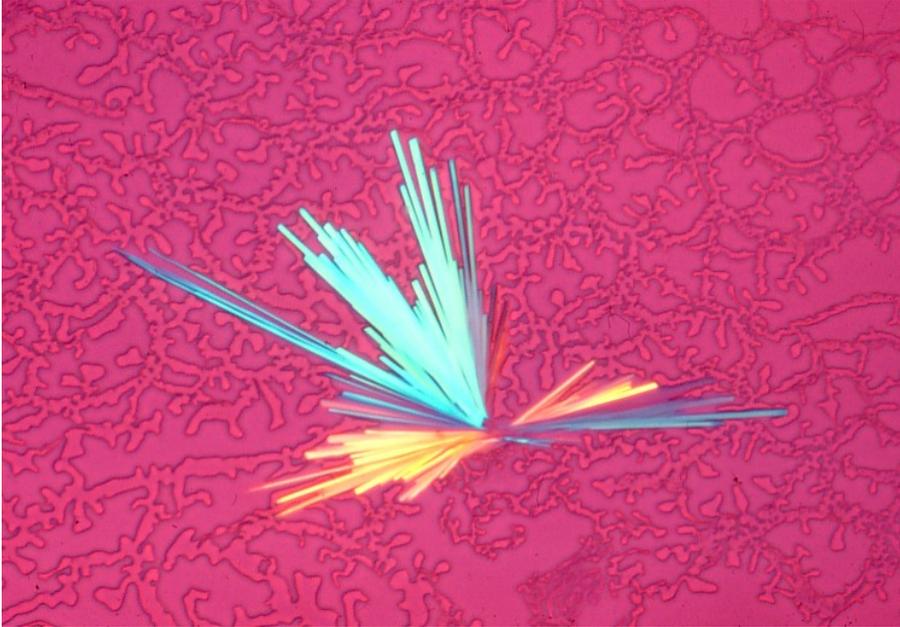
Jy30-284 Le même cristal en polarisation avec filtre rouge de premier ordre..



Jy30-286 Une forme plus avancée de cristallisation..



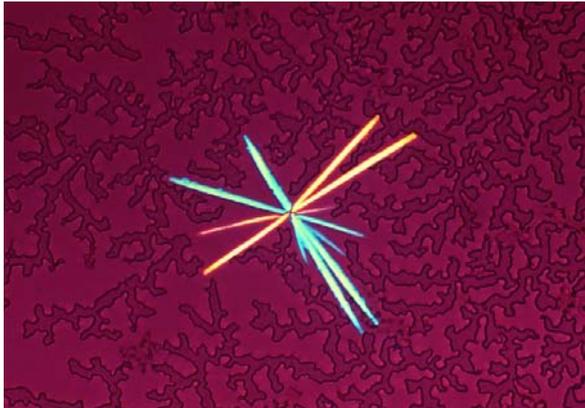
JY30-288 Maintenant une série d'autres présentations spectaculaires de cristallisation d'urate de sodium in vitro (polarisation et filtre rouge de premier ordre, sauf pour un document soit JY29-086).



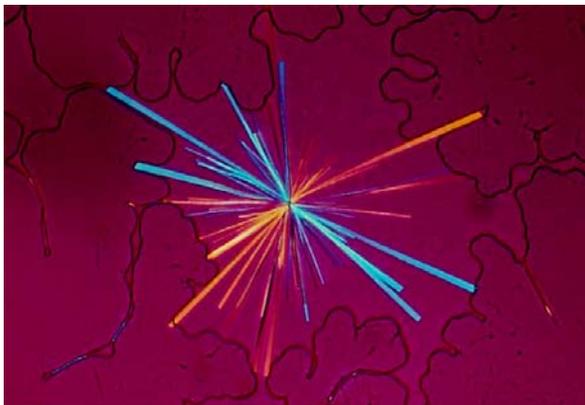
JY30-293



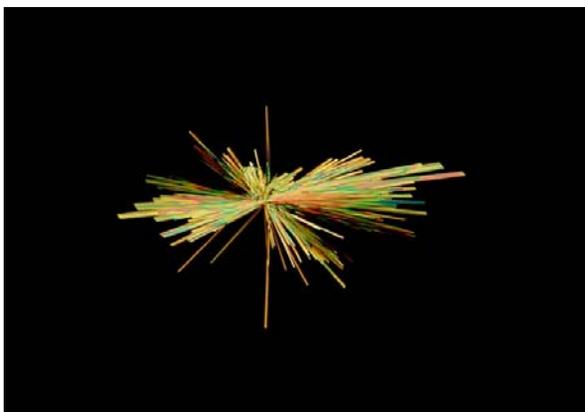
Jy30-289



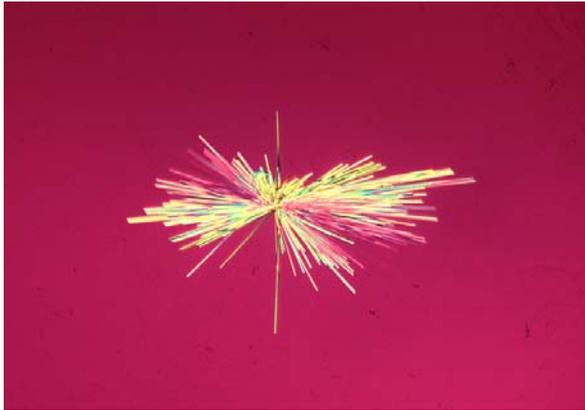
Jy29-077



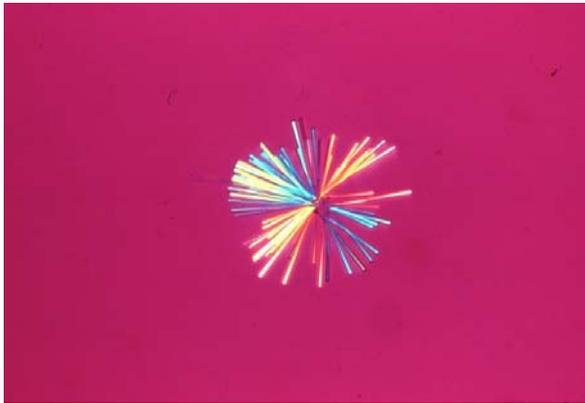
Jy29-078



Jy29-086 (sans filtre rouge).



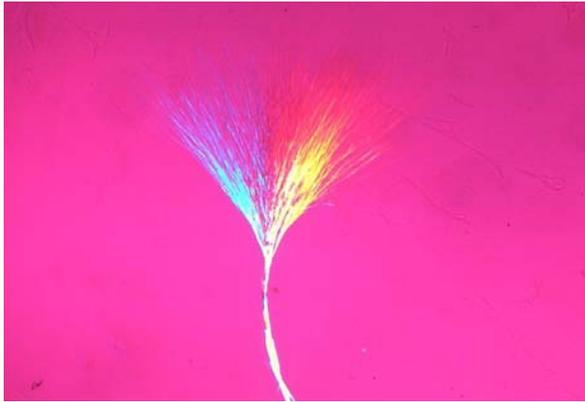
Jy29-085



JY30-294



JY22-197



JY29-079

2.4 Sphérulites



Jy21-150

Les sphérulites ne sont plus des nouveaux venus dans le domaines des synovites microcristallines. Les sphérulites inflammatoires attirerons davantage notre attention.

Définition :

Domaine sphérique caractérisé par un assemblage radial de petits cristaux → donnant une croix de Malte en lumière polarisée.

Jy21-152

SPHÉRULITES DU LIQUIDE SYNOVIAL

- **Lipides**
- **Urate**
- **Pyrophosphate**
- **Phosphate de calcium**
- **Formées *in vitro***
- **Amidon**

Jy21-154

SPHÉRULITES PHLOGOGÈNES

À BIRÉFRINGENCE POSITIVE :

Lipides

Pyrophosphate de calcium

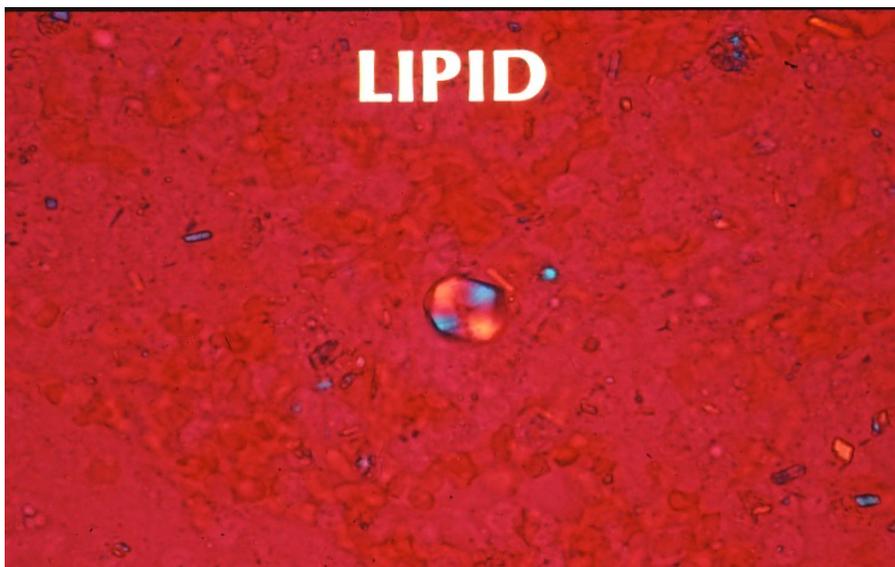
À BIRÉFRINGENCE NÉGATIVE :

Urate de sodium

Phosphate de Ca (apatite)

Jy21-155

2.5.1. Lipides



Jy21-157

Jy21-158

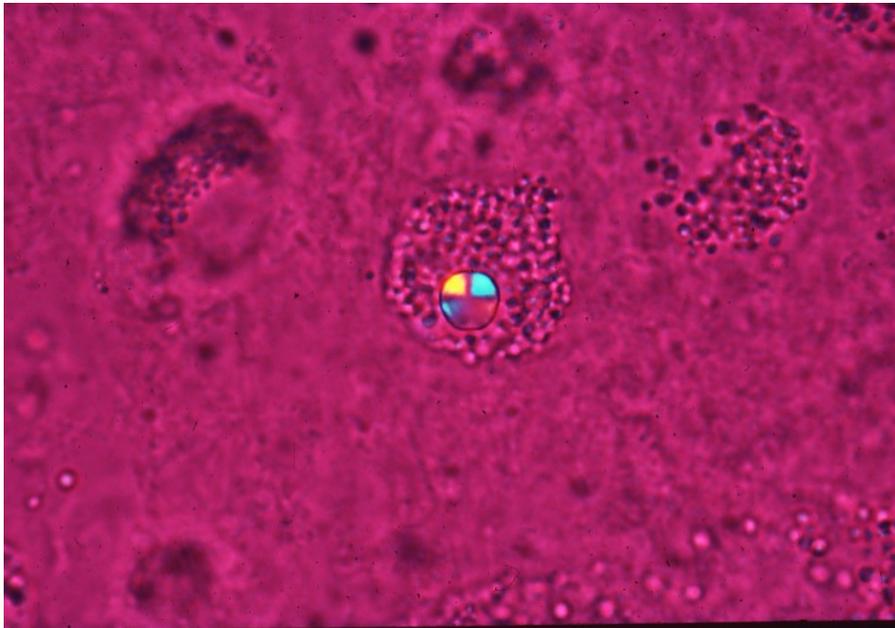
Arthrite à sphérulites de lipides :

Plus de 20 cas signalés dans la littérature

12 cas de monoarthropathie

Une majorité de femmes

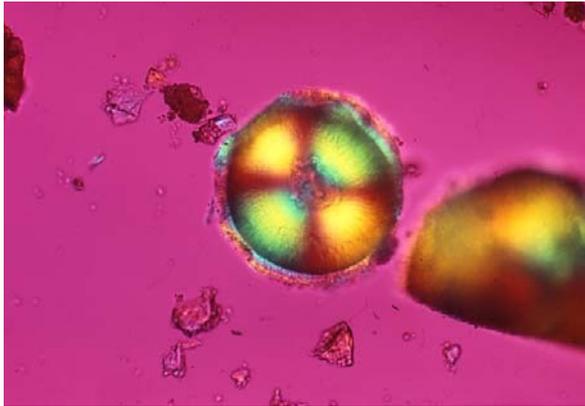
Un cas de polyarthrite avec facteur rhumatoïde +



Jy21-159

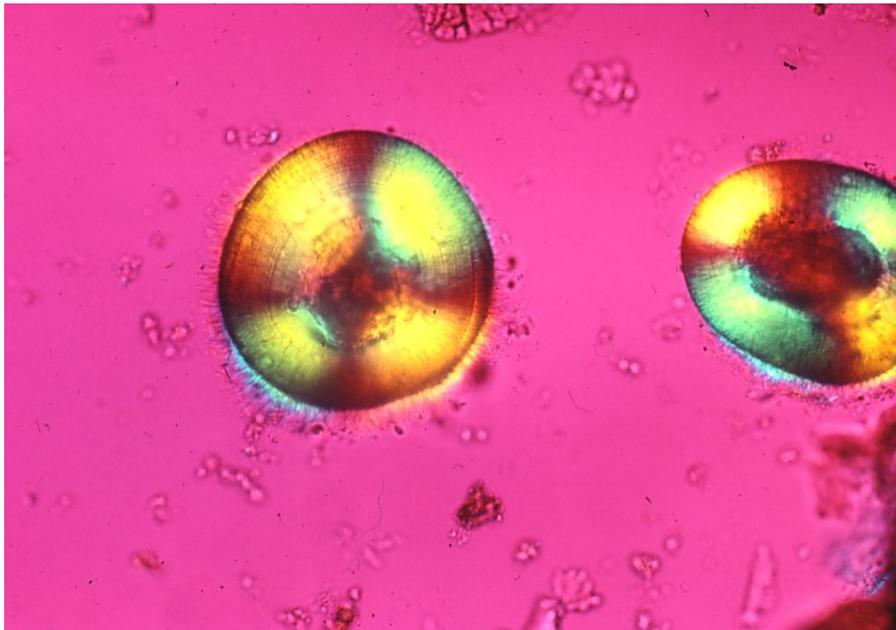
Un sphérulite de lipide phagocyte et partiellement digéré ((un cadran). Il s'agit d'une photo prise lors du seul cas de polyarthrite séropositive cité (Rivest et al.)

2.5.2 Pyrophosphate de calcium



Jy29-024

Sphérulite synthétique de pyrophosphate de calcium



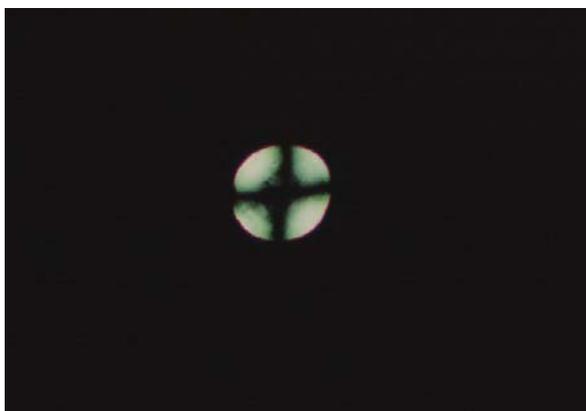
calcium
Jy21-161

autres sphérulites synthétiques de pyrophosphate de calcium.

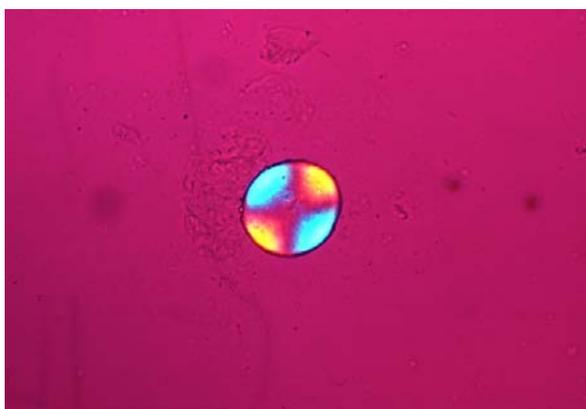
2.5.3 *Urate* :

Rare présence de ces sphérulites dans des liquides de goutteux ayant une surabondance de cristaux.

2.5.4 *Apatite*

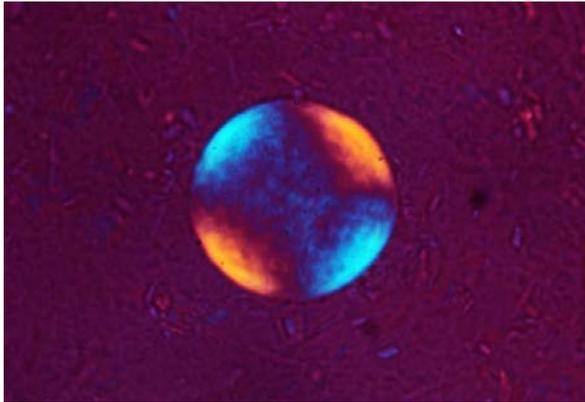


Jy29-074 Sphérulite de phosphate de calcium (apatite).



Jy29-073

Même photo en polarisation avec le filtre rouge de premier ordre.



Jy29-081 Autre sphérolite de phosphate de calcium.

**Acute apatite podagra with negative
birefringent spherulites in the synovial fluid.**

F. Beudet, R. de Médicis, P. Magny, A. Lussier

J. RHEUMATOL. 1993;20:1975

Jy21-162

**PSEUDO-PODAGRE À
SPHÉRULITES DE
BIRÉFRINGENCE NÉGATIVE**

Jy21-164

François Beudet et notre groupe avons décrit le premier cas de sphérulites à apatite.

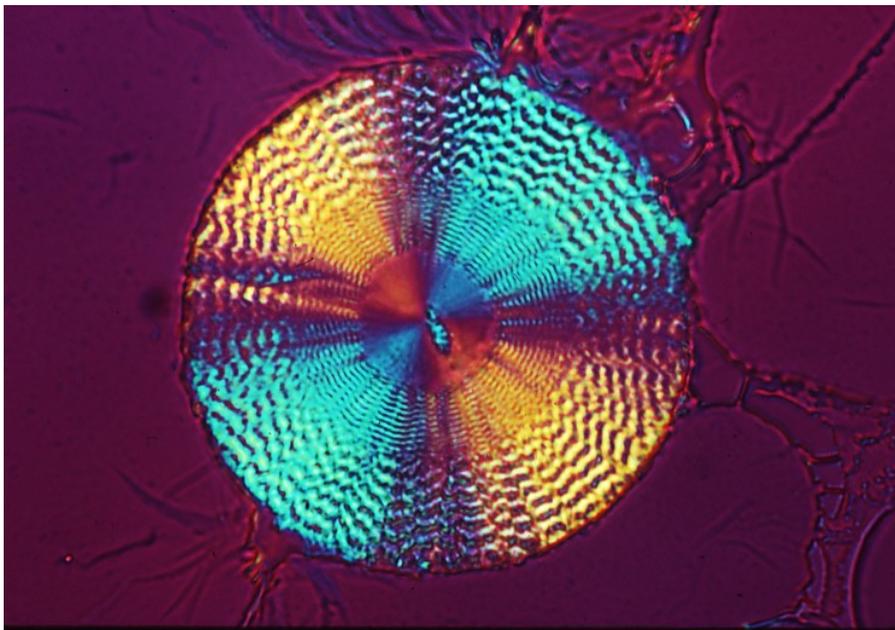
Sur le cliché radiologique, on peut facilement détecter le dépôt cristallin radio-opaque en para-articulaire, illustrant ce cas de maladie à déposition d'apatite.

Il s'agit donc d'un cas de pseudo-podagre causé par des sphérulites négativement biréfringents.



Jy21-165

La calcification est clairement visible près de la première articulation métacarpo-phalangienne sur ce cliché radiologique du pied.



Jy21-168

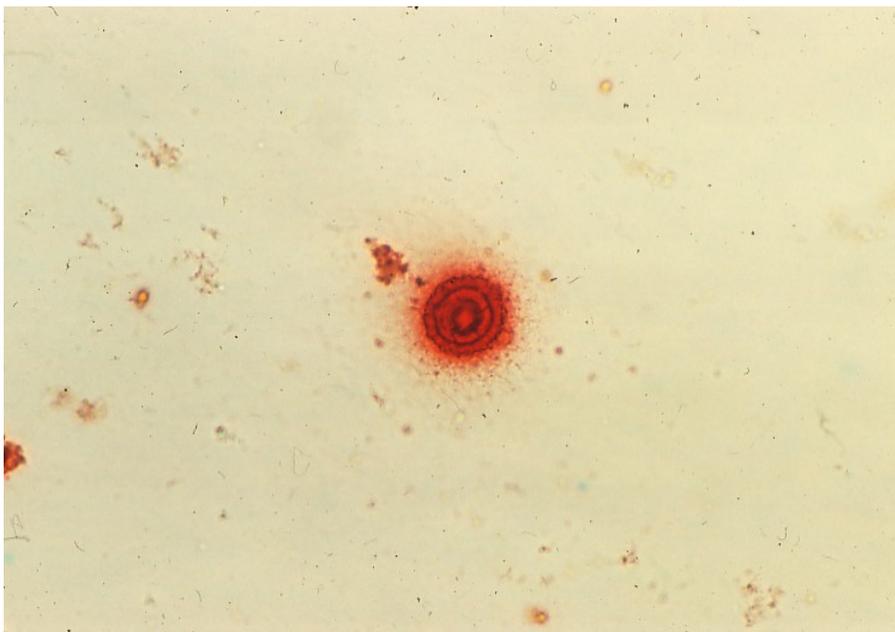
Ce sphérulite de 25 microns de diamètre fut observé 6 mois plus tard sans changement apparent. On peut constater que

les sphérolites d'apatite sont stables comparés à ceux d'urate. La croix de Malte est impressionnante...



ky21-166

Sphérolite d'apatite en lumière normale



Jy21-167

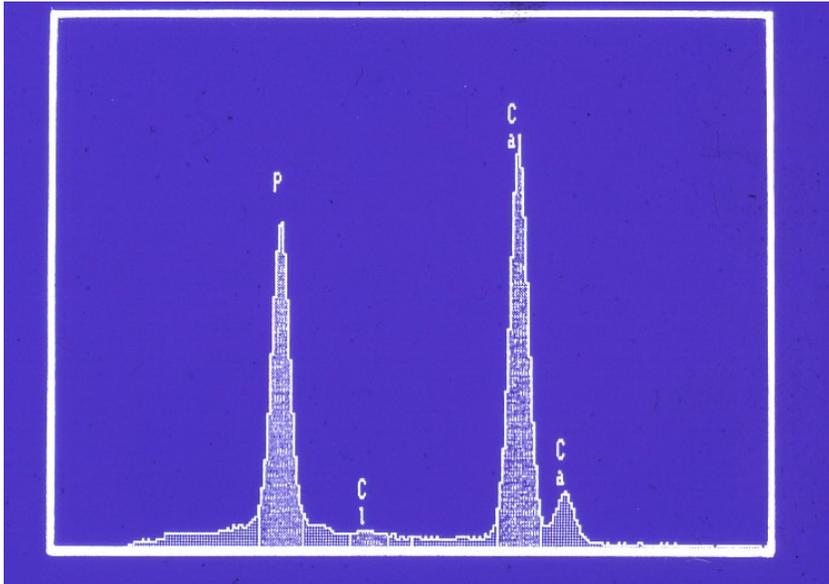
**La même champ après une coloration au rouge d'alizarineS.
Notez la structure radiale concentrique de ce sphérulite.**

En microscopie électronique par transmission (TEM), on peut voir des sections concentriques d'un matériel finement granulaire, délicat. Ces agrégats internes semblaient différents des cristaux d'apatite extérieurs. N.B. si dia retrouvée, l'insérer



Jy21-169

Sphérulite grossie 500 fois, en microscopie électronique par balayage.



Ag04-214

2.6 Artefacts et autres structures (cartilage, fibrilles...)

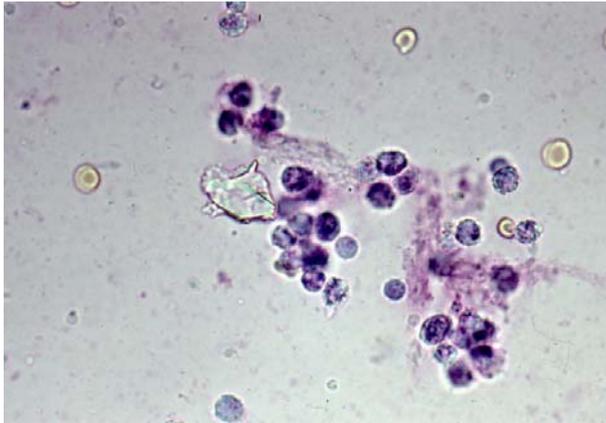
2.6.1 Cartilages (*fragments*)



Jy24-073 Fragment de cartilage en microscopie photonique. Liquide synovial d'arthrose.



Jy24-074 Idem en lumière polarisée avec filtre rouge de premier ordre.

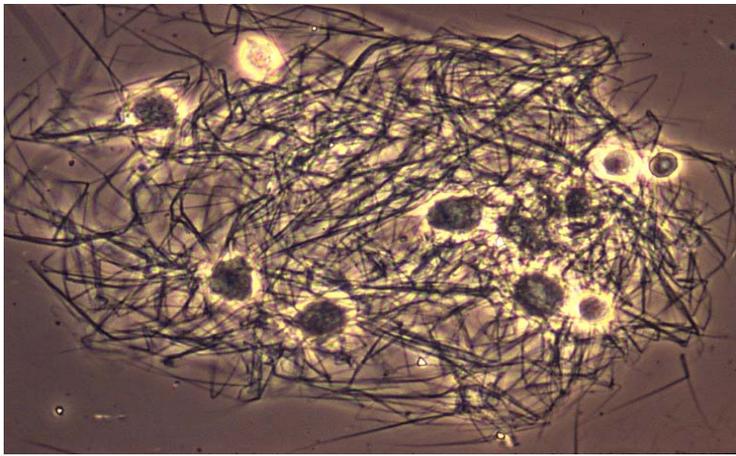


Jy22-245

Autre fragment de cartilage. (30 microns)

Coloration au bleu de toluidine.

Les fragments de cartilage sont souvent faiblement biréfringents.

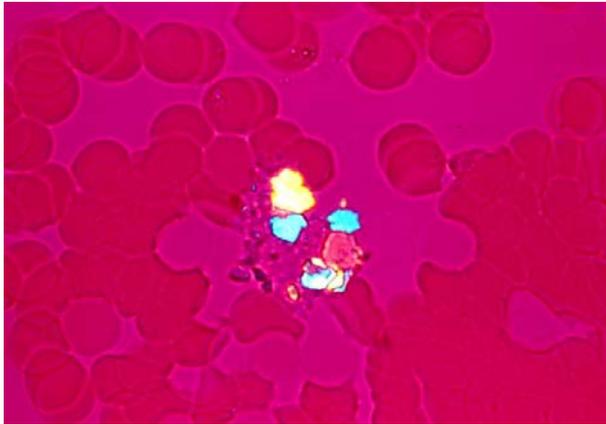


Jy24-076

(80) **Fibrilles pouvant former un treillis qui emprisonne des cellules.**

2.6.2 ARTÉFACTS

(*Index-f-artéfacts.doc*)



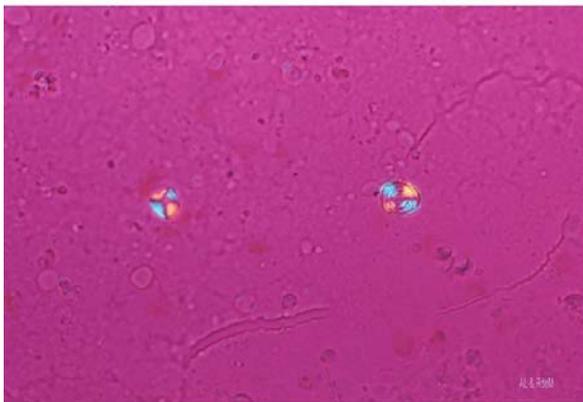
Jy22-217 Héparinate de lithium ?



Jy22-219 Héparinate de lithium ?

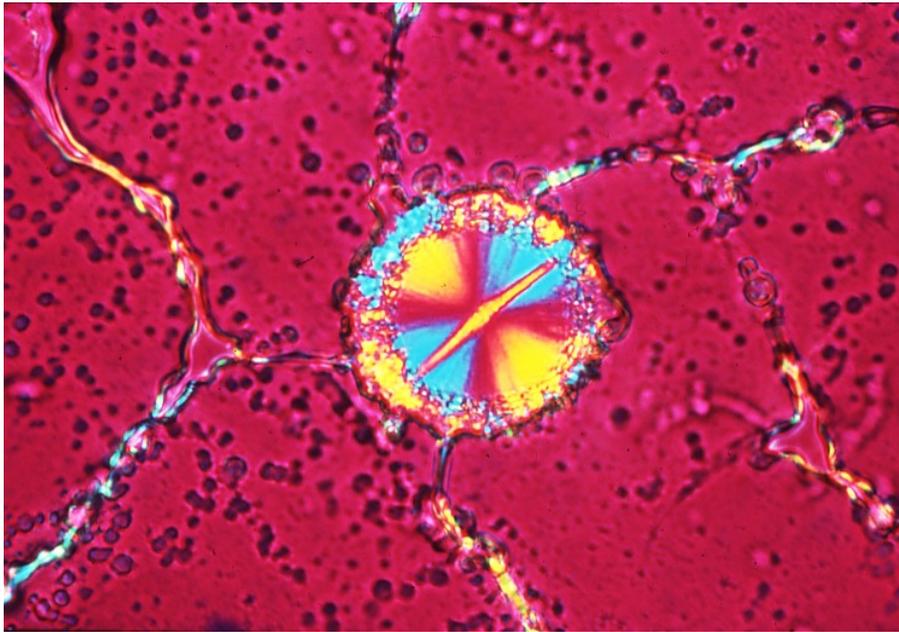


Jy22-237.jpg
Fibres de poussière de biréfringence positive.

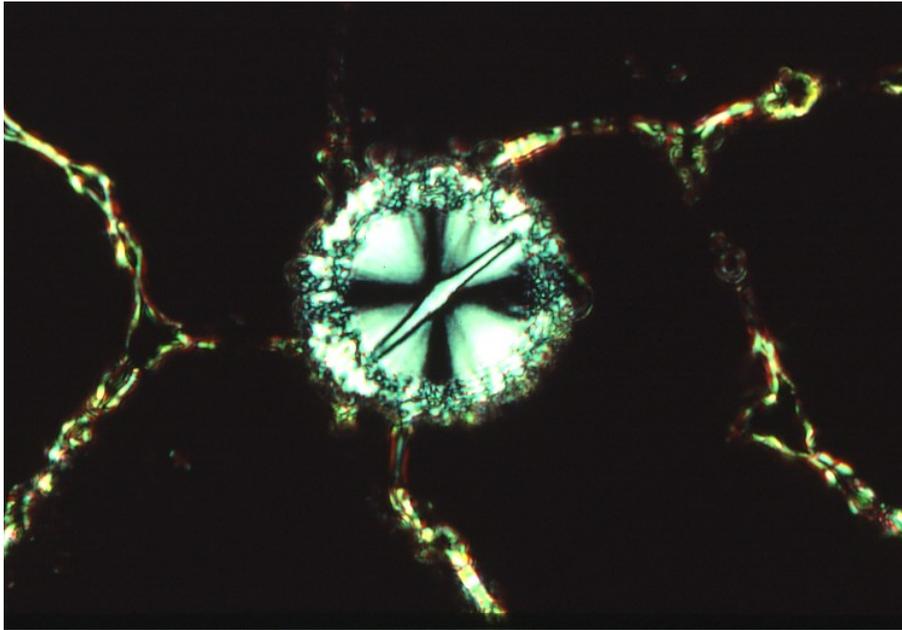


Ag04-218
Sphérulite d'amidon (poudre à gant de biréfringence positive) à gauche.
Sphérulite d'apatite négative biréfringent à droite.

Un dernier avertissement au sujet des sphérulites : ils peuvent être naturels et cliniquement significatifs ou artificiels sans signification pathologique. Méfiez-vous de ces artéfacts qui peuvent être aussi beaux qu'un feu d'artifice mais d'aucune valeur diagnostique.



Jy21-172



Jy21-173

3. Mécanisme de l'inflammation induite par des microcristaux

Index-f-Inflammation-phagocytose.

Mécanisme de l'inflammation

Plusieurs facteurs peuvent être impliqués

Mécanique (traumatique)

Infectieux

Immunologique (immunoglobulines*)

Réaction à corps étranger

Microcristaux**

* Agonistes solubles

** Agonistes insolubles

Il y a un mécanisme commun qui explique l'inflammation produite par les microcristaux.

Au premier abord, on distingue différentes étapes telles que le déversement intra-articulaire de microcristaux, de l'opsonisation, de la phagocytose, des lésions cellulaires et l'inflammation consécutive. Les deux acteurs principaux de l'inflammation sont le cristal et la cellule phagocytaire. Déjà le seul contact provoque plusieurs réactions métaboliques.

Le mécanisme de l'inflammation induite par les cristaux

Formation et déposition de cristaux

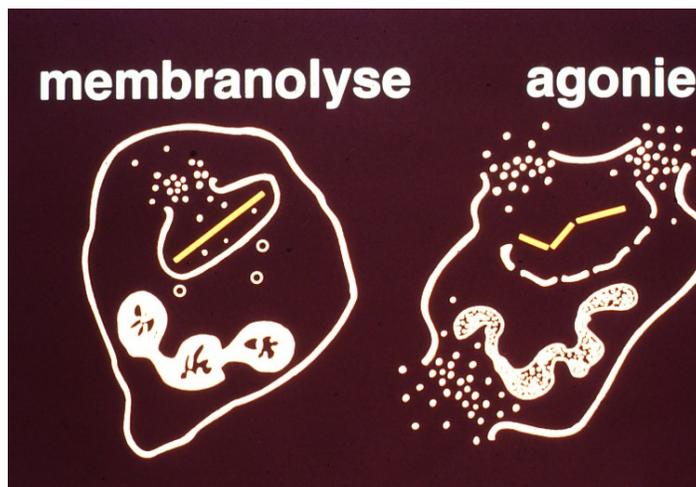
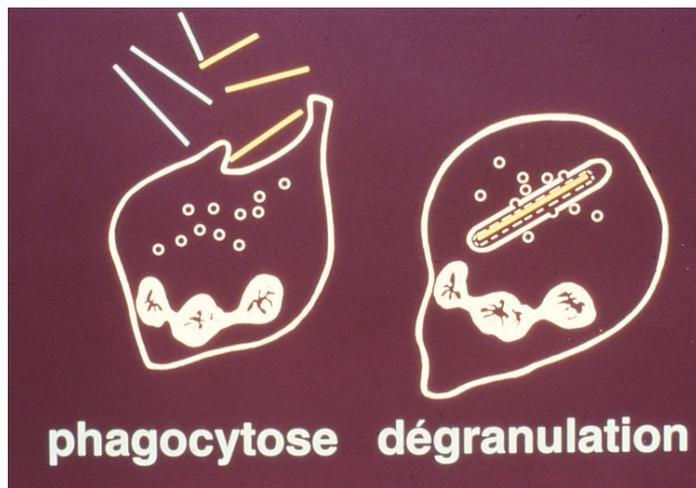
Déversement de cristaux et leur opsonisation

Activation cellulaire et dégranulation

Phagocytose et membranolyse

Lésion cellulaire et inflammation

Dans l'inflammation qui nous concerne, il y a 2 acteurs : le cristal phagocytable et la cellule phagocytaire, que ce soit un neutrophile ou un macrophage. Et leurs comportements sont illustrés dans les deux figures suivantes.

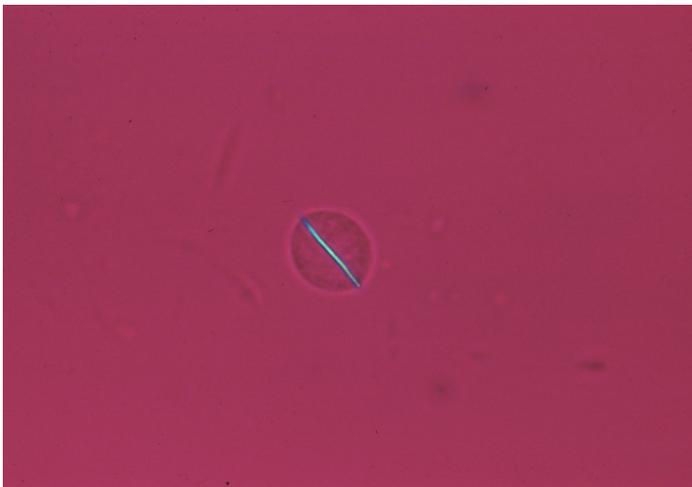


Jy21-127

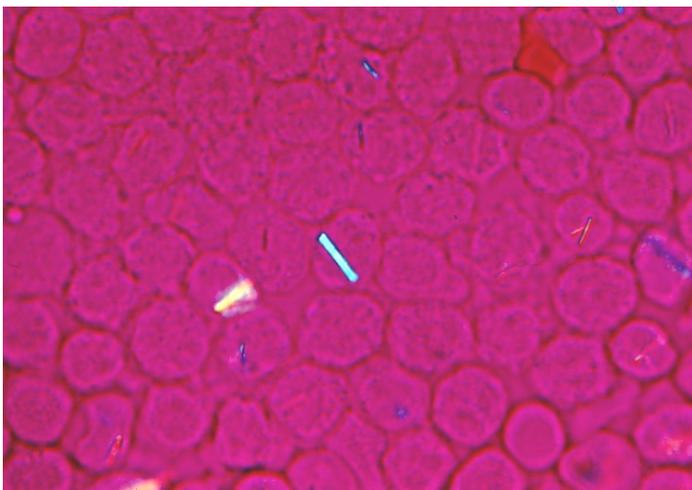
De fait, la phagocytose est au coeur de l'inflammation biologique particulièrement par les microcristaux. Considérons d'abord le comportement cellulaire et l'interaction cellule-cristal. . Les neutrophiles (PMN) sont principalement impliqués dans les inflammations aiguës; alors que les cellules mononucléées le sont dans l'inflammation subaiguë ou chronique. Les monocytes phagocytaires sont plus robustes que les neutrophiles dont les membranes cèdent plus facilement et éclatent provoquant le phénomène aigu de membranolyse et d'inflammation. Les monocytes par leur

robustesse retardent la membranalyse et maintiennent le milieu dans une inflammation subaiguë ou chronique.

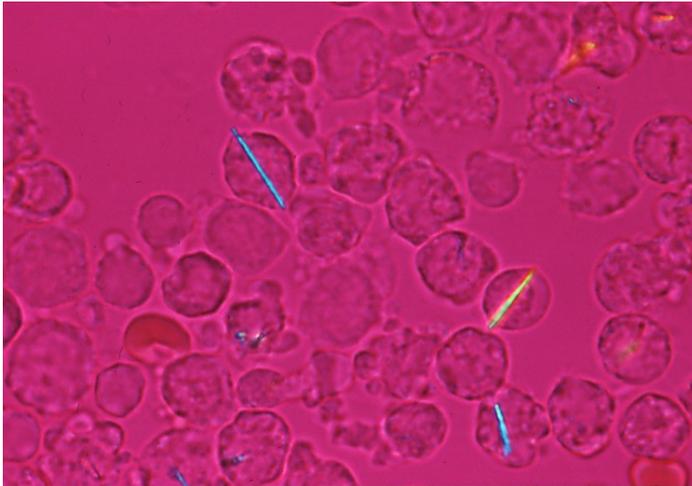
Dans les prochaines photos provenant du liquide synovial d'un patient goutteux, on peut apercevoir des cristaux d'urate négativement biréfringents. Ces cristaux peuvent être intracellulaires ou extracellulaires (microscope polarisant avec filtre rouge de premier ordre).



Jy22-021

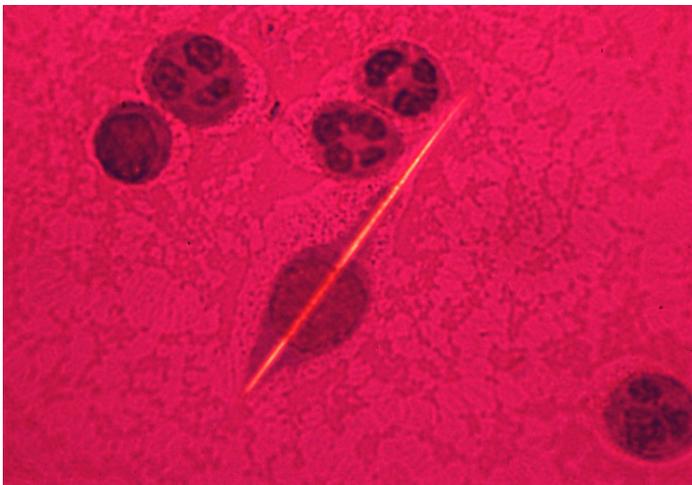


Jy30-274

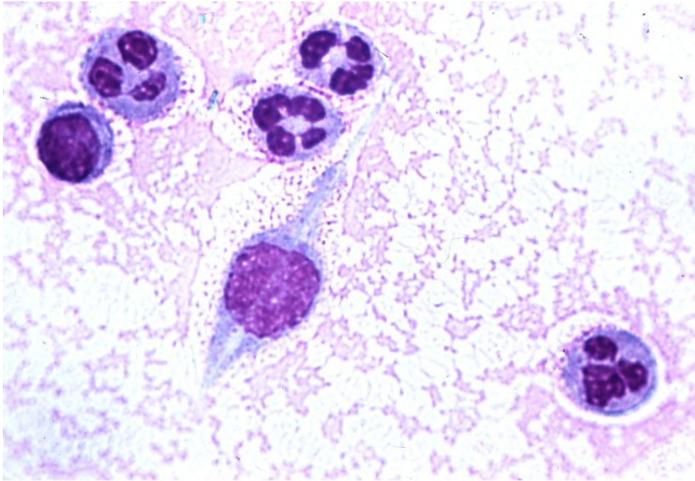


Jy21-046

Dans la goutte subaiguë ou chronique ou en phase intercritique , on peut observer la phagocytose par des monocytes. Tel qu'illustré dans les deux prochaines photos, la phagocytose d'un cristal d'urate géant (42 microns) par un monocyte. La première photo avec coloration de Wright et polarisation avec filtre rouge, la suivante sans polarisation.

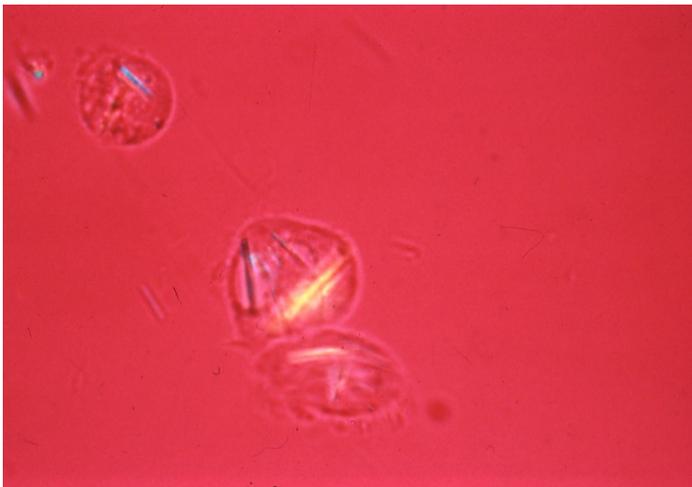


Ag04-243



Ag29-089

Les prochaines photos illustrent la phagocytose de l'urate de sodium en utilisant des techniques de polarisation, de contraste de phase et de microscopie électronique par balayage ou scanning (SEM) et par transmission (TEM).



Jy21-093

La microscopie polarisante n'est pas toujours la meilleure méthode pour mettre en évidence les membranes cellulaires. La microscopie par contraste de phase peut lui être supérieure comme on peut le voir dans les photos suivantes.

**Dans les photos séquentielles suivantes, on peut observer la rupture membranaire des vacuoles très gonflées.
Tout d'abord, en polarisation on peut voir des neutrophiles remplis de microcristaux.**



Sp29-002



Jy21-094 Dans les deux cellules du bas, les phagolysosomes gonflent



Ag14-055 gonflement marqué ci-dessus et



Jy21-096

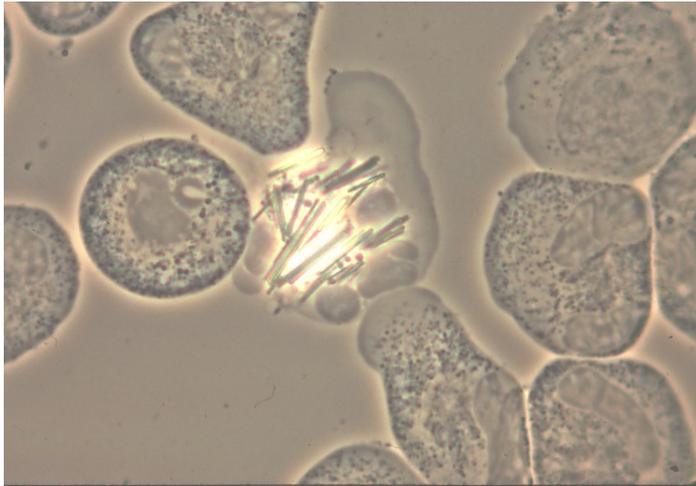
recroquevillement et mort des cellules. Les quatre prochaines photos en contraste de phase montrent une herniation de la membrane plasmique de la cellule au centre du champ microscopique. Puis survient la rupture de la membrane avec le déversement du contenu inflammatoire et chémotactique dans le phagolysosome. Il s'ensuit le mouvement centripète des cellules voisines pour venir entourer la cellule agonisante par nécrotaxie.



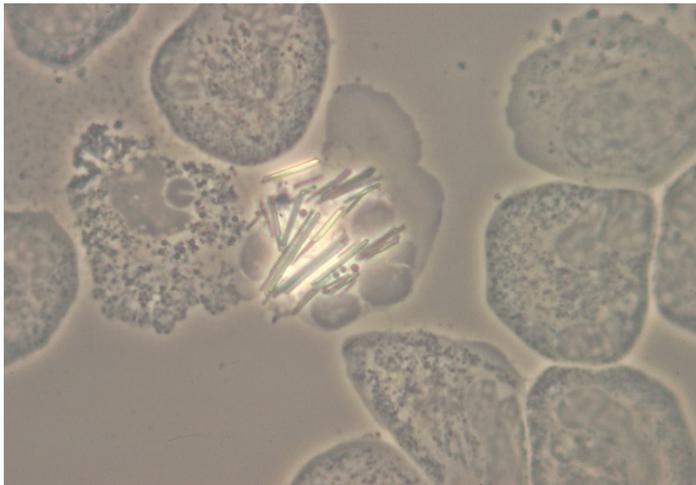
Jy29-107



Jy29-108



Jy29-109

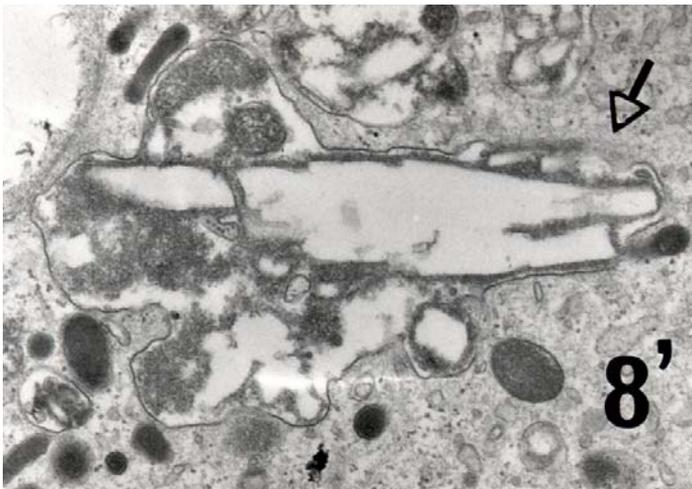


Jy29-110



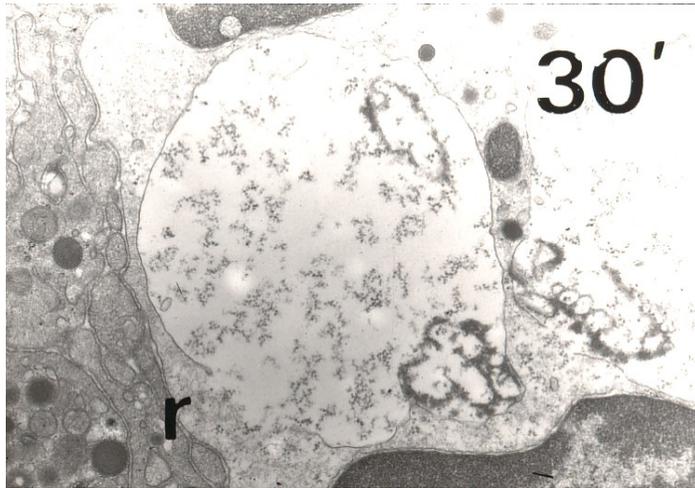
Jy21-104

Maintenant, au TEM, on peut apercevoir après 3 minutes le phagolysosome en formation, un cristal d'urate entouré d'une gangue de protéines. On peut aussi voir un granule ou lysosome (fléché) qui semble vider son contenu dans le phagolysosome.



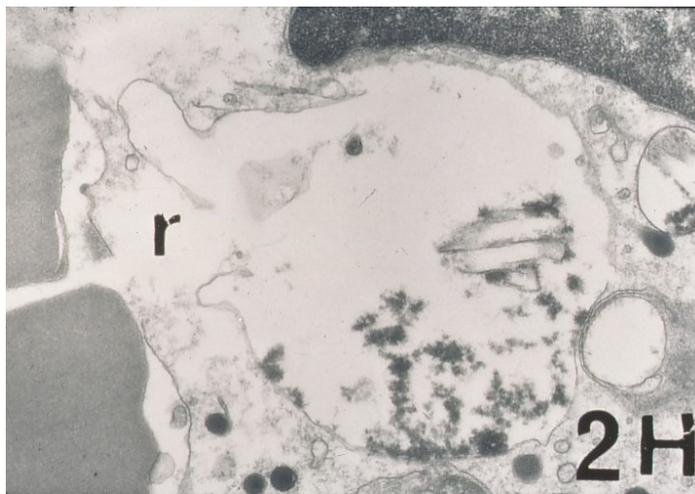
Ja31\$0004

Après 8 minutes, le cristal n'est jamais venu en contact avec la membrane phagolysosomique.



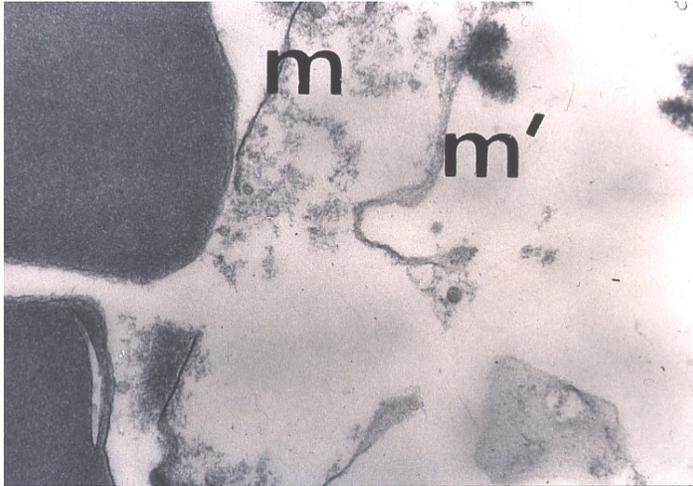
Jy21-105

Après 30 min., il y a une rupture claire de la membrane du phagolysosome (r), mis en évidence aussi par la présence dans le phagolysosome de glycogène cytoplasmique.



Jy21-106

Après deux heures, il y a une rupture évidente non seulement de la membrane phagolysosomique mais aussi de la membrane plasmique (r).

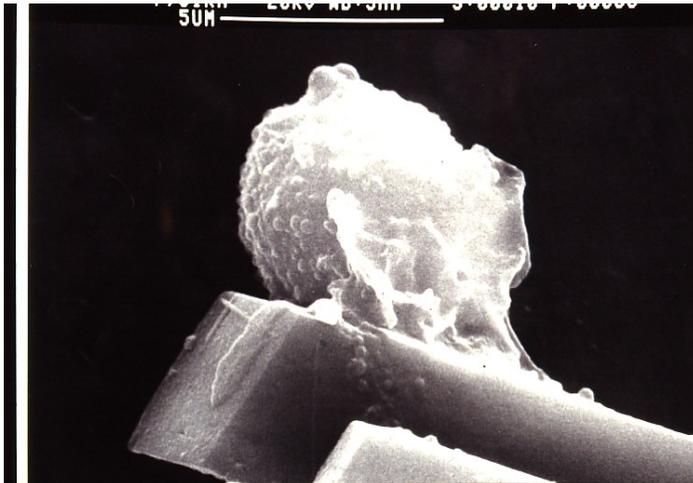


À plus fort grossissement, on peut mieux préciser les deux membranes : plasmique(m) et phagolysosomique (m').

On peut aussi visualiser le début de la phagocytose de cristaux de pyrophosphate de calcium par la microscopie électronique par balayage. (TEM.)



Ag04-271

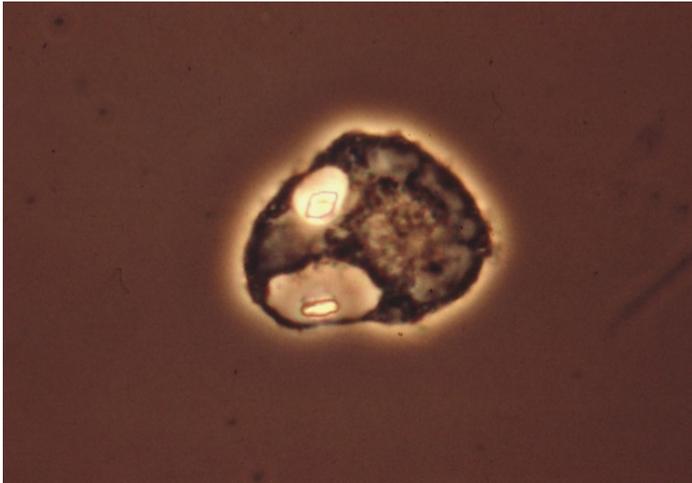


Ag04-272

Dans le laboratoire de routine, on peut déjà distinguer des différences entre le phénomène de phagocytose du cristal d'urate de sodium et celui du pyrophosphate de calcium.

Dans l'arthrite goutteuse, on ne voit que très rarement un phagolysosome gonflé avec un cristal d'urate phagocyte et flottant à l'intérieur. Le processus est trop rapide et le cristal d'urate semble dans le cytoplasme.

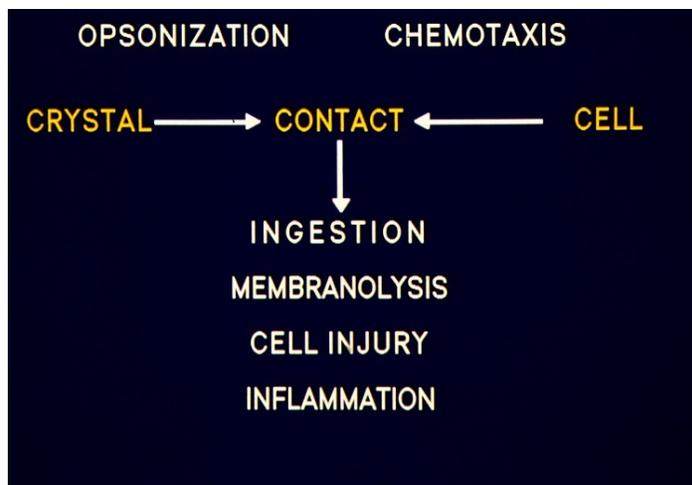
Dans la pseudogoutte, on aperçoit fréquemment le cristal de pyrophosphate positivement biréfringent nageant librement dans un grand phagolysosome. Mais comme on l'a déjà signalé, il est plus difficile de distinguer les membranes plasmiques et phagolysosomiques des cristaux intracellulaires. Il vaut mieux utiliser la microscopie en contraste de phase que le microscope polarisant (voir photo ci-dessous).



Ag04-273

On peut tenter d'expliquer ces comportements cellulaires.

L'inflammation induite par les cristaux résulte de l'interaction entre des cristaux et des cellules phagocytaires.



Ag05-253

La phagocytose des cristaux est amorcée par les synoviocytes et plus tard par les neutrophiles et les monocytes et provoque la libération d'enzymes phlogogènes et la formation de différents facteurs chémotactiques qui recrutent des leucocytes additionnels. Tout ceci conduit à une amplification de la réponse inflammatoire.

La membranolyse peut s'expliquer par 2 théories : membranolyse mécanique ou membranolyse osmotique.

MEMBRANOLYSE

**Liaison directe cristal-membrane
et rupture mécanique.**

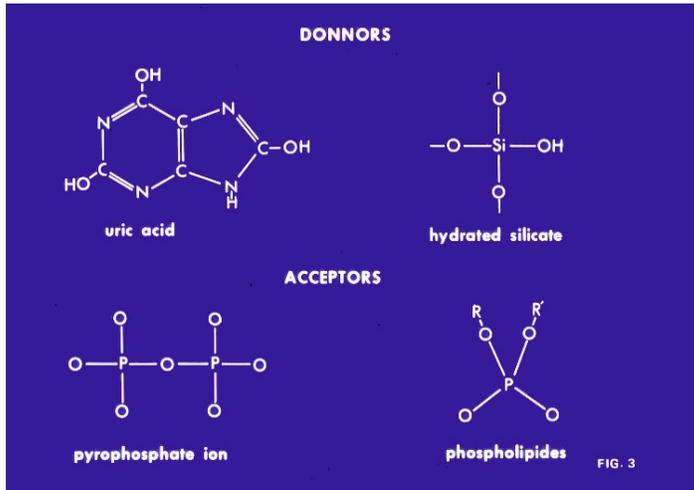
**Perméabilité sélective de la
membrane et gonflement osmotique.**

Jy21-118

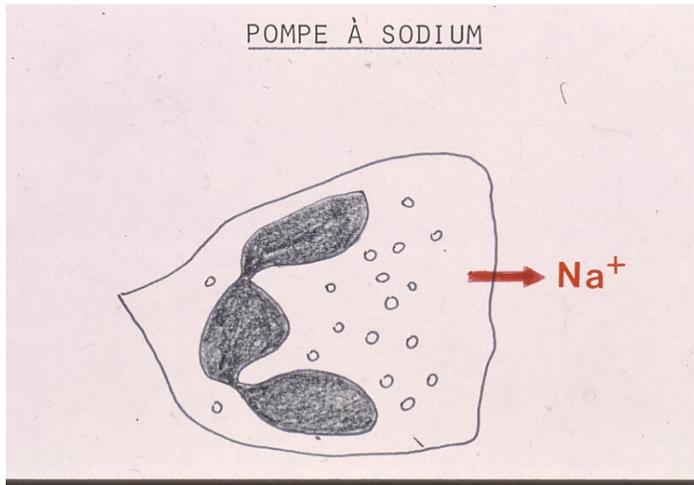
Il s'agit de deux hypothèses explicative de la membranolyse phagolysosomique **McCarty et Weissman suggèrent que la membrane se rupture de façon mécanique par les liaisons hydrogènes rivant la membrane aux cristaux. D'autre part, de Médicis et Lussier présentent une théorie faisant intervenir un gonflement osmotique qui dérive de la perméabilité sélective des ions (pompe à sodium).**

Membranolyse du phagolysosome:

La théorie de rupture mécanique suppose un contact très étroit entre le cristal et la membrane ce qui ne correspond pas aux multiples photos en microscopie électronique par transmission. Les expériences furent faites avec des microcristaux aux propriétés très différentes. Cette théorie n'explique pas les différences de comportements de l'urate de sodium et des pyrophosphates de calcium. Les cristaux étant très différents dans leurs réactions avec l'ion hydrogène, certains étant des récepteurs d'autres des donneurs (voir le tableau ci-joint).



Jy21-119

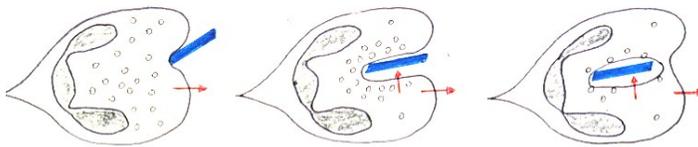


Ag04-254

La pompe à sodium agit sur la membrane plasmique.

La pompe à sodium lors de la phagocytose d'un MC d'urate

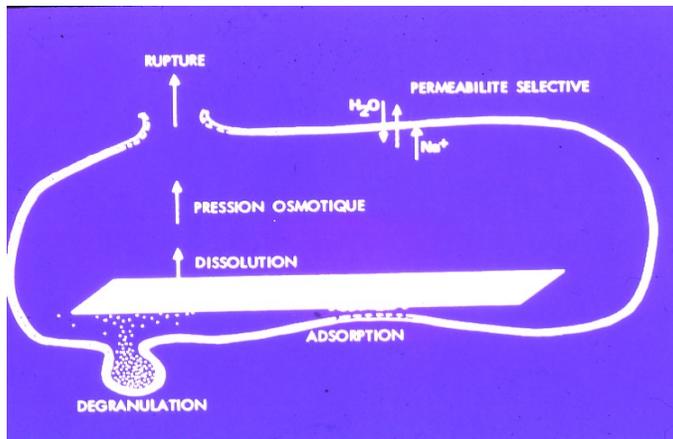
POMPE A SODIUM LORS DE LA PHAGOCYTOSE D'UN MICROCRISTAL



Ag04-253

L'action inverse de la pompe à sodium sur la membrane phagolysosomique augmentant de cette façon le sodium dans le phagolysosome et attirant par le fait même du liquide et augmentant la pression à l'intérieur du phagolysosome à tel point que la membrane phagolysosomique finit par céder rapidement.

Notre explication implique la différence de perméabilité membranaire aux ions sodium et calcium. Dans le cas de l'urate de sodium, la pompe à sodium cause un accroissement rapide en ion sodium dans le phagolysosome et provoque un gonflement osmotique rapide occasionnant une dilatation importante et la rupture de la membrane phagolysosomique. D'un autre côté, le processus de gonflement est de beaucoup plus lent avec les cristaux de calcium, tel que le pyrophosphate de calcium à cause de son mouvement libre dans une direction ou l'autre à travers la membrane (voir schéma ci-dessous).



Ag04-265

Le mécanisme de l'inflammation induite par les cristaux

Formation et deposition de cristaux
Déversement de cristaux et leur opsonisation
Activation cellulaire et dégranulation
Phagocytose et membranolyse
Lésion cellulaire et inflammation

La solubilité des cristaux et la perméabilité selective de la membrane sont d'importants facteurs dans le mécanisme de la membranolyse par les cristaux d'urate.

4. Synovites microcristallines

Atlas-2-Synovites microcristallinesfinale-2.doc

Résumé

SYNOVITES À MICROCRISTAUX ET À SPHÉRULITES

A. Lussier, R. de Médicis

La recherche et l'identification de microcristaux et de sphérulites dans le liquide synovial présentent un intérêt diagnostique indiscutable. L'étude du mécanisme de l'inflammation induite par des microcristaux phlogogènes a aussi fait progresser la connaissance du processus inflammatoire.

1. TYPES DE MICROCRISTAUX

a) Cristaux phlogogènes observés dans le liquide synovial :

Cristaux calciques : pyrophosphate, apatite (BCP), brushite, oxalate

Cristaux non calciques : urate de sodium, phosphate d'aluminium, guanine

b) Cristaux peu ou pas phlogogènes :

Cholestérol, hémoglobine, Charcot-Leyden, corticostéroïdes.

2. MÉCANISME DE L'INFLAMMATION INDUITE PAR DES MICROCRISTAUX

Dans les synovites microcristallines, l'inflammation résulte d'une interaction entre des cristaux et des cellules phagocytaires. Le mécanisme commun de la réaction inflammatoire fait intervenir des médiateurs intra- et extra-cellulaires. Le contact d'un cristal phlogogène avec une cellule phagocytaire déclenche la séquence suivante :

- ◆ activation de la cellule
- ◆ ingestion du cristal
- ◆ dégranulation cellulaire et formation d'un phagolysosome
- ◆ membranolyse du phagolysosome
- ◆ agonie de la cellule

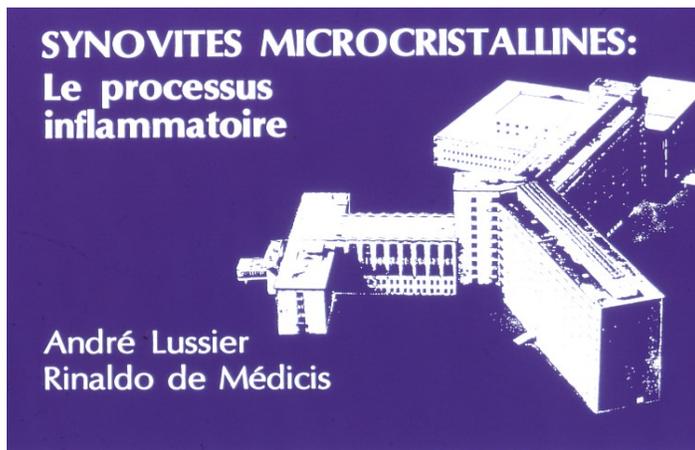
Les étapes de la phagocytose seront illustrées pour les microcristaux les plus courants en faisant appel principalement à la microscopie en lumière polarisée et à la microscopie électronique.

3. SYNOVITES À SPHÉRULITES

Des sphérulites lipidiques, de biréfringence positive, sont observées occasionnellement dans des liquides synoviaux pathologiques, principalement dans des cas de polyarthrite rhumatoïde. Depuis 1980 on a rapporté une vingtaine de cas de synovite induite par la phagocytose de sphérulites lipidiques. Plus récemment on a observé d'autres synovites associées à des sphérulites de biréfringence positive (pyrophosphate de calcium) ou de biréfringence négative (urate de sodium et un phosphate de calcium de composition apatitique). Il existe aussi des sphérulites «artéfacts» : poudre des gants chirurgicaux, et sphérulites formées *in vitro* sur des lames évaporées.

Introduction

Ag05-209



Ag05-211

Après un bref historique et une courte revue du mécanisme inflammatoire microcristallin, nous couvrirons les chapitres suivants :

I - Les divers microcristaux du liquide artulaire

II- Les sphérolites

III- Les artefacts cristallins

IV- Conclusion

I. Définition :

Historique :

Le microcristal du liquide synovial le plus important est celui de l'urate de sodium retrouvé dans la goutte. Cette maladie fut fort bien décrite par Hippocrate, le père de la médecine occidentale.



Jy21-028

Il a énoncé des aphorismes classiques qui sont toujours vrais hormis une maladie exceptionnelle.

LES APHORISMES D'HIPPOCRATE

- Podagre, gonagre, chiragre, etc.
Exception: le s. de Lesch-Nyhan
- Une femme n'attrape pas la goutte primaire... avant la ménopause
- Les eunuques n'ont pas la goutte ... protection des hormones féminines??

Jy21-031

LES APHORISMES D'HIPPOCRATE

- Les enfants ne sont pas sujet à la podagre avant d'avoir usé des plaisirs vénériens.
- Une femme n'attrape pas la goutte avant la ménopause
- Les eunuques n'ont pas la goutte et ne deviennent pas chauves

Jy21-032

À ces aphorismes, avec le temps se sont ajoutés des adages qui ne reflètent pas toujours la vérité.

ADAGES CONCERNANT LA GOUTTE

- Wine, women and songs...
- The « king of diseases »
and the « disease of kings »
- Maladies des gens intelligents
(Dante, Calvin, Cromwell, Franklin...)
- Mais goutte saturnine (moonshiners)

Jy21-040

Mécanisme de l'inflammation)

Plusieurs facteurs peuvent être impliqués

Mécanique (traumatique)

Infectieux

Immunologique (immunoglobulines*)

Réaction à corps étranger

Microcristaux**

* Agonistes solubles

** Agonistes Insolubles

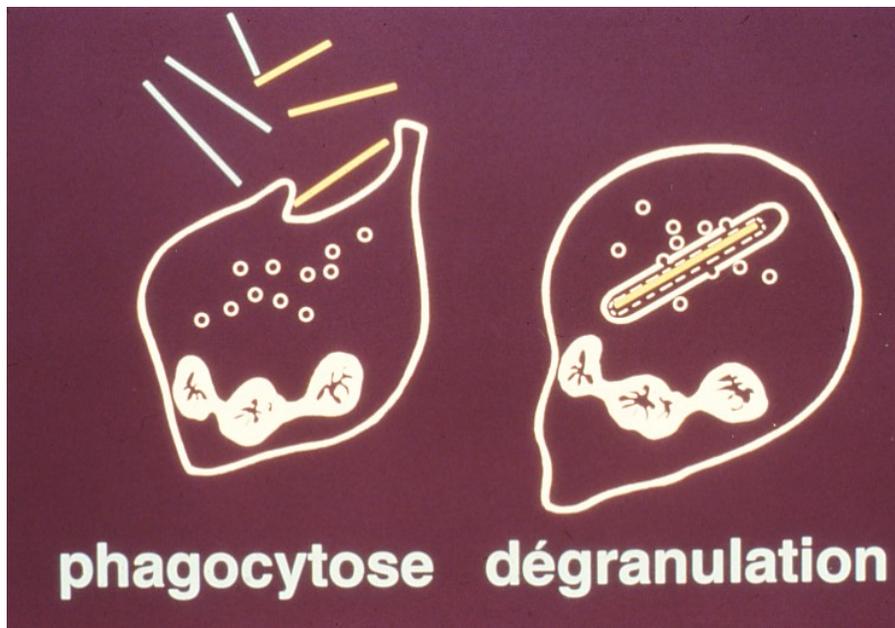
Il y a un mécanisme commun pour expliquer l'inflammation produite par les microcristaux.

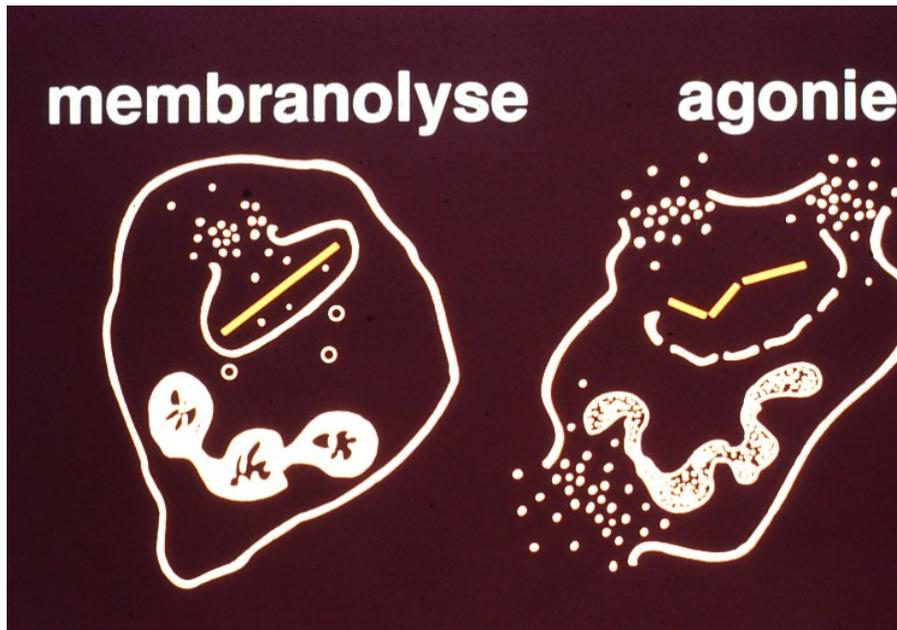
Au premier abord, on distingue différentes étapes telles que le déversement intra-articulaire de microcristaux, de l'opsonisation, la phagocytose, les lésions cellulaires et l'inflammation consécutive. Les deux acteurs principaux de l'inflammation sont le cristal et la cellule phagocytaire. Déjà le seul contact provoque plusieurs réactions métaboliques.

Le mécanisme de l'inflammation induite par les cristaux

**Formation et deposition de cristaux
Déversement de cristaux et leur opsonisation
Activation cellulaire et dégranulation
Phagocytose et membranolyses
Lésion cellulaire et inflammation**

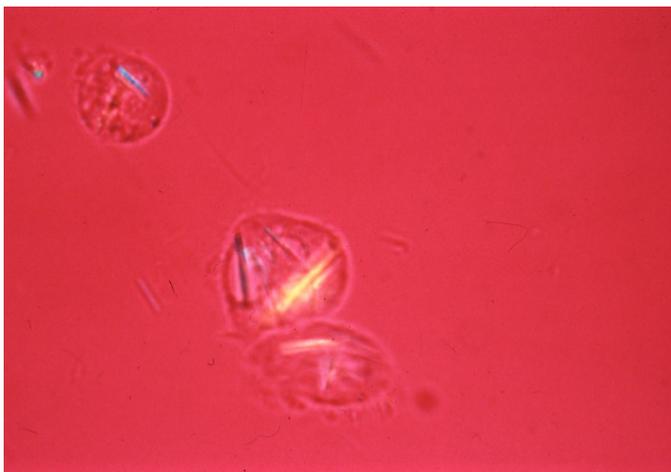
Dans l'inflammation qui nous concerne, il y a 2 acteurs : le cristal phagocyté et la cellule phagocytaire, que ce soit un neutrophile ou un macrophage. Et leurs comportements sont illustrés dans les deux prochaines diapositives.





Jy21-127

Tout d'abord, dans les prochaines photos nous étudierons la phagocytose de l'urate de sodium en utilisant des techniques de polarisation, de contraste de phase et de microscopie électronique (par scanning SEM) et par transmission (TEM).



Jy21-093

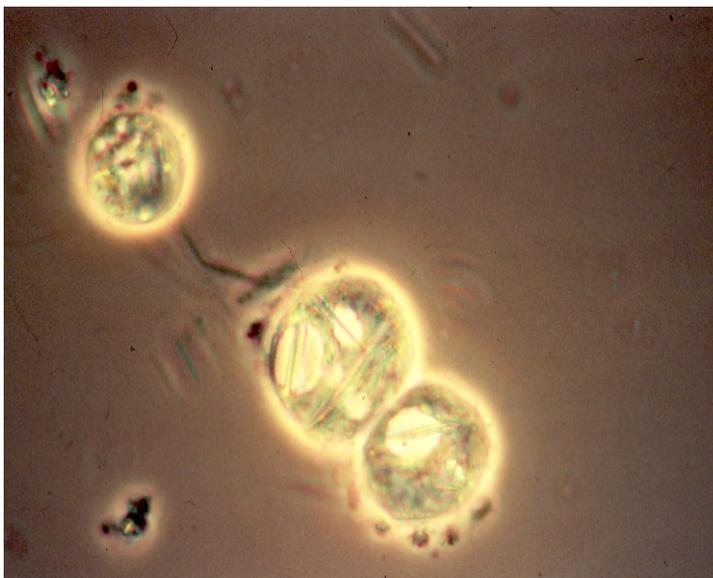
La microscopie polarisante n'est pas toujours la meilleur méthode pour mettre en évidence les membranes cellulaires.

La microscopie par contraste de phase lui est supérieure comme on peut le voir dans les photos suivantes.

En quelques minutes, le phagolysosome gonfle comme on peut le voir dans les photos microscopiques séquentielles suivantes et avec la rupture ou éclatement membranaire des vacuoles trop gonflées, survient consécutivement le recroquevillement de la cellule.

Tout d'abord, sous contraste de phase, on peut y voir trios neutrophiles remplis de microcristaux.

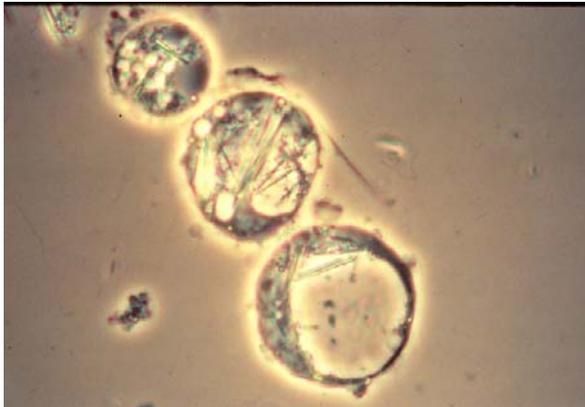
On peut y suivre le gonflement des phagolysosomes et la membranolyse.



Sp29-002



Jy21-094



Ag14-055



Jy21-096

La phagocytose des cristaux se réalise d'abord par les synoviocytes et plus tard par les neutrophiles et les

monocytes et provoque la libération d'enzymes phlogogènes et la formation de différents facteurs chémotactiques qui recrutent des leucocytes additionnels. Tout ceci conduit à une amplification de la réponse inflammatoire.

La membranolyse peut s'expliquer par 2 théories : membranolyse mécanique ou la membranolyse osmotique.

MEMBRANOLYSE

Liaison directe cristal-membrane et rupture mécanique.

Perméabilité sélective de la membrane et gonflement osmotique.

Jy21-118

MEMBRANOLYSE

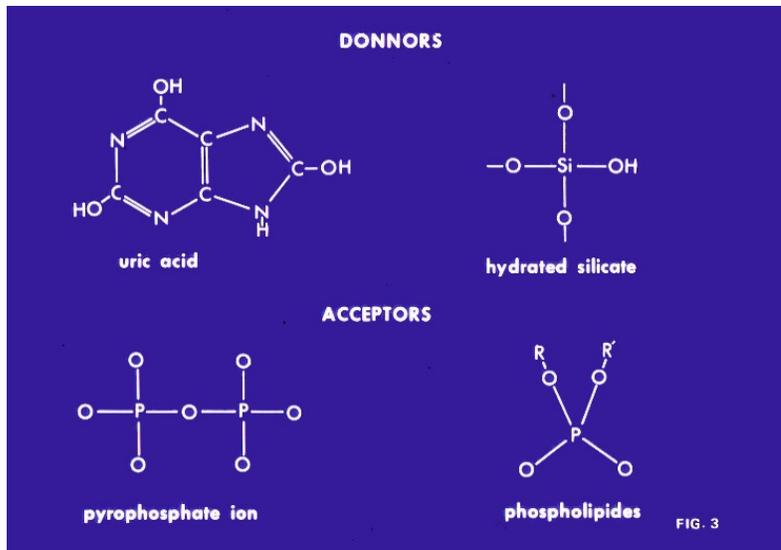
Liaison directe cristal-membrane et rupture mécanique.

Perméabilité sélective de la membrane et gonflement osmotique.

Il s'agit de deux hypothèses explicative de la membranolyse phagolysosomique **McCarty et Weissman suggèrent que la membrane se rupture de façon mécanique par les liaisons hydrogènes rivant la membrane aux cristaux. D'autre part, de Médicis et Lussier présentent une théorie faisant intervenir un gonflement osmotique qui dérive de la perméabilité sélective des ions (pompe à sodium).**

Membranolyse du phagolysosome:

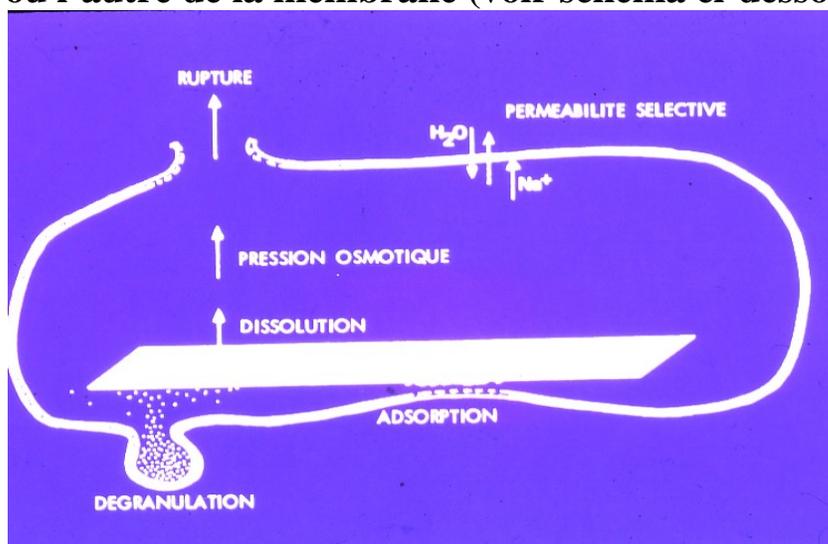
La théorie de rupture mécanique présuppose un contact très étroit entre le cristal et la membrane ce qui ne correspond pas aux multiples photos en microscopie électronique par transmission (jamais une telle proximité démontrée). Les expériences sous-jacentes furent faites avec des microcristaux très différents. Cette théorie n'explique pas les différences de comportements microscopiques et cliniques des urates de sodium comparés aux pyrophosphates de calcium. Les cristaux étant très différents dans leurs réactions avec l'ion hydrogène, certains étant des récepteurs d'autres des donneurs (voir le tableau ci-joint).



Jy21-119

Notre explication (de Médicis et Lussier) implique la différence dans la perméabilité membranaire aux ions de sodium et de calcium. Dans le cas de l'urate de sodium, la pompe à sodium cause un accroissement accéléré du ion sodium dans le phagolysosome et provoque un gonflement osmotique rapide occasionnant un gonflement important et

la rupture de la membrane phagolysosomique. D'un autre côté, le processus de gonflement est de beaucoup plus lent avec le cristal de calcium, tel que le pyrophosphate de calcium à cause de son mouvement libre dans une direction ou l'autre de la membrane (voir schéma ci-dessous).



Ag04-265

La solubilité des cristaux et la perméabilité sélective de la membrane sont d'importants facteurs dans le mécanisme de la membranolyse par les cristaux d'urate.

Pour plus d'information conférez au chapitre « Pathogénèse de l'inflammation microcristalline ».

I Types de cristaux :

Classifications :

Parmi les microcristaux retrouvés dans les liquides synoviaux, certains sont d'origine endogène, d'autres d'origine exogène. Quelques-uns sont inflammatoires ou phlogogènes, d'autres peu ou pas. Enfin, certains contiennent du calcium dans leur molécule, d'autres pas.

D'où on peut produire quelques classifications:

Cristaux exogènes observés dans le liquide synovial (LS) (93)

pathogéniques:

- Corticostéroïdes (cristaux) injectés intra-articulairement (réaction occasionnelle)

non- pathogéniques (Artefacts):

- Provenant de l'air ambiant (poussières, mycoses, spores, fibres tissulaires, etc.)
- Artefacts de conservation
- «par dessiccation» → particules biréfringentes spectaculaires
- Cristaux de corticostéroïdes (normalement non phlogogènes!)
- Cristaux in vitro (chez des patients hyperuricémiques)

Cristaux endogènes dans le liquide synovial (48)

- pathogéniques:, urate de sodium, pyrophosphates de calcium (CPPD, BCP) & populations mixtes de cristaux

-non-pathogéniques:

Fibrine,

Fragments de cartilage, synovium, ligaments ou muscle

« Rice bodies », globules de lipides,

Cristaux de cholestérol

Cristaux d'hémoglobine

Cristaux de Charcot-Leyden

Cristaux phlogogéniques calciques

Pyrophosphate	McCarty	1962
Apatite	Dieppe	1976
Brushite	Faure	1977
Oxalate	Hoffman	1982
Phosphates	McCarty	1983
Sphérulites d'urate	Fiechtner	1981
Sphérulites d'apatote*	UM + US	1991

* Beudet, de Médicis and Lussier

CRISTAUX CALCIQUES PHLOGOGÈNES

Pyrophosphate	McCarty 1962
Apatite	Dieppe 1976
Brushite	Faure 1977
Oxalate	Hoffman 1982
Phosphates	McCarty 1983
Sphérulites	UM + US 1991

Jy21-050

PRINCIPAUX CRISTAUX IMPLIQUÉS

- **Urate de sodium**
- **Pyrophosphate de Ca**
- **Phosphates de Ca**
- **Oxalate de Ca**
- **Cholestérol ?**
- **Corticostéroïdes**
- **Sphérulites**

Jy21-049

URATE DE SODIUM

1679 Leeuwenhoek	: Tophus
1776 Scheele	: Lithiase
1797 Wollaston	: Tophus
1848 Garrod	: Goutte
1897 Riehl	: Liq. syn.

Jy21-051

URATE DE SODIUM

... suite

1899 Freudweiler: Inflammation

1900 His : Inflammation

1959 Hollander : Liq. syn.

1961 McCarty : Mic. Pol.

1981 Fiechtner : Sphérulites

Jy21-052

AUTRES CRISTAUX & SUBSTANCES PHLOGOGÈNES

- **Guanine** **Virchow** **1866**
- **Lipides** **Weinstein** **1980**
- **Phosphate d'Al** **Netter** **1983**

Jy21-053

CRISTAUX PEU OU PAS PHLOGOGÈNES

- **Cholestérol**
- **Corticostéroïdes**
- **Charcot-Leyden**
- **Hémoglobine**

Jy21-054

Critaux phlogogènes non calciques :

Sodium Urate < 1900

Guanine Virchow 1866

Lipids Weinstein 1980

Phosphate Al ->Netter 1983

CRISTAUX POTENTIELLEMENT PHLOGOGÈNES :

Xanthine,

Hypoxanthine

Cystine

Tyrosine

Oxypurinol

CRISTAUX PEU OU PAS PHLOGOGÈNES:

Cholestérol

Corticostéroïdes

Charcot-Leyden

Hémoglobine

Revue des cristaux individuels :

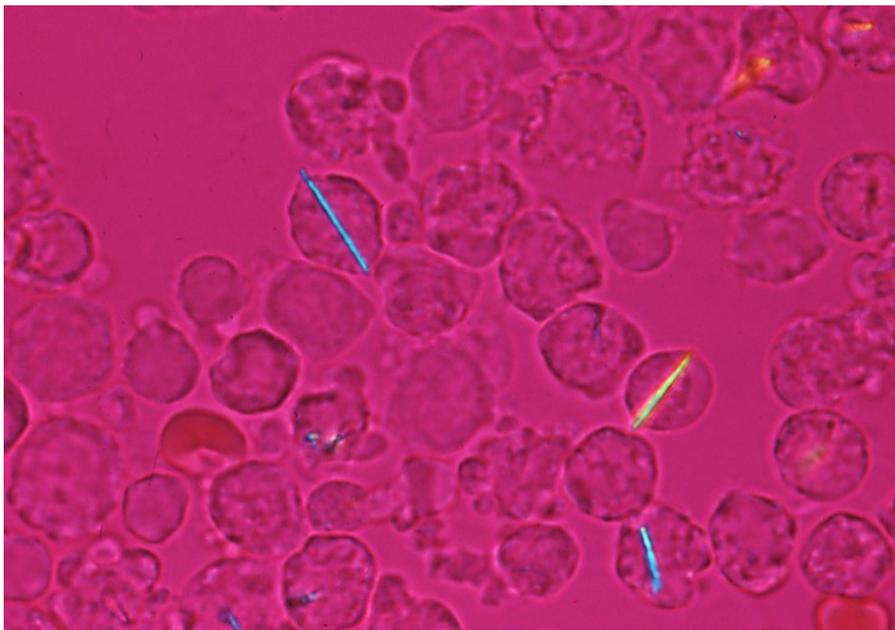
Les cristaux d'urate de sodium s'avèrent les plus importants des différents cristaux retrouvés dans le liquide synovial.

SODIUM URATE

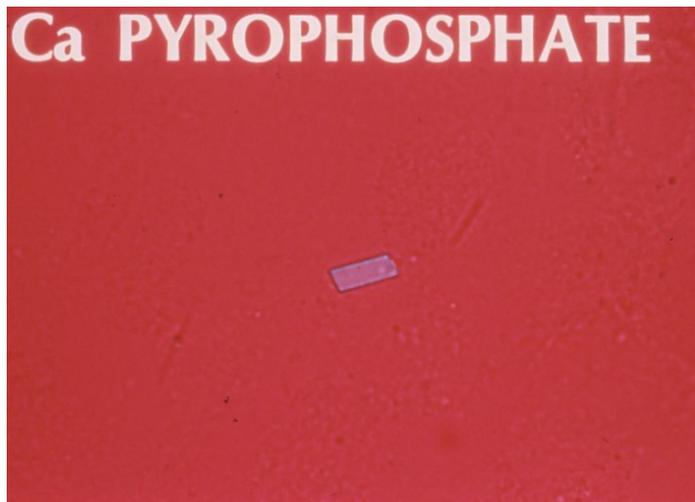


Jy21-045

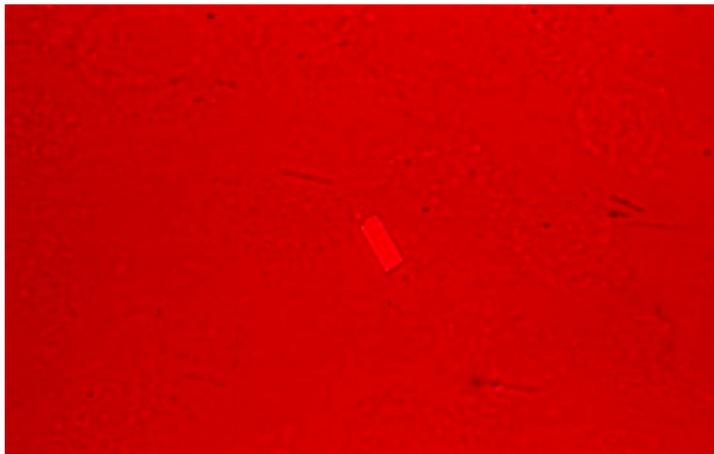
Il s'agit de cristaux d'urate de sodium négativement biréfringents provenant du liquide synovial d'un patient goutteux. Les cristaux de la photo ci-haut sont extracellulaires.



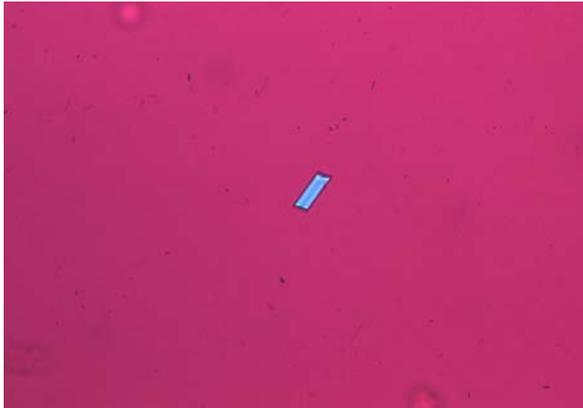
Les trois prochaines photos illustrent des pyrophosphates de calcium (CPPD) qui sont positivement biréfringents. Ces cristaux sont responsables de l'inflammation dans la chondrocalcinose et dans la pseudo-goutte.



Jy21-047



Jy21-048



Jy29-013

Dans la pseudo-goutte, on peut observer des cristaux de pyrophosphate à l'intérieur de grand phagolysosomes tel qu'on peut le voir dans la photo suivante. Et c'est grâce à la microscopie de phase utilisée que l'on peut si bien identifier les membranes (lysosomiale et plasmique).



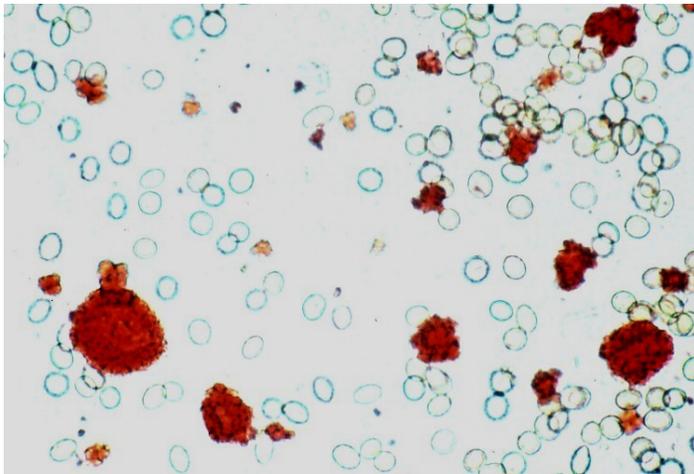
Ag04-273

Des agrégats d'apatite, un phosphate de calcium (HAP) sont illustrés dans la prochaine photo. Les cristaux d'apatite sont trop petits pour une identification individuelle.



Aussi avons-nous recours à la coloration du calcium par le rouge-S alizarine

Jy21-055



Jy21-056

Maladies à dépôt d'apatite

La déposition de cristaux d'apatite se retrouve dans plusieurs formes d'arthrose, inflammatoire ou non i.e. ostéoarthrite ou ostéoarthrose. (Dieppe, P.A., Crocker, P.R., Huskisson, E.C. and Willoughby, D.A. (1976) Apatite deposition Disease: a new arthropathy, Lancet I, 266).



Jy21-081

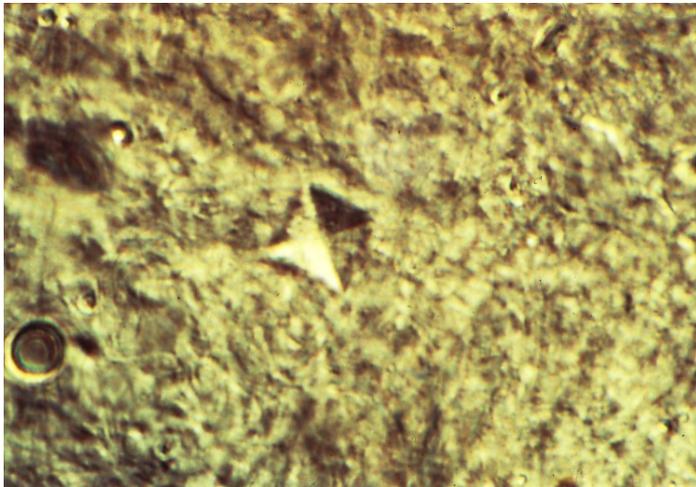
La photo ci-haut fut prise dans un cas d'osteoarthrite aigüe ou maladie à déposition d'apatite. La flèche de droite indique la phagocytose d'un amas d'apatite retrouvé dans le phagolysosome. La flèche de gauche montre une cellule phagocytaire dont le phagolysosome a réussi à dissoudre l'agrégat d'apatite phagocyté. Notez à gauche un gros amas d'apatite (« shiny coin »).



Jy21-082

Ce pouce d'un patient où le médecin de première ligne a traité sans succès avec des antibiotiques. La première impression diagnostique étant celle d'une infection. Le prélèvement a montré qu'il s'agissait d'une déposition de cristaux d'apatite

Dans la prochaine photo, en microscopie de phase interférentielle (Nomarski), on peut détecter au centre un cristal typique octaédrique d'oxalate de calcium. Sa structure se compare à une double pyramide à base carrée



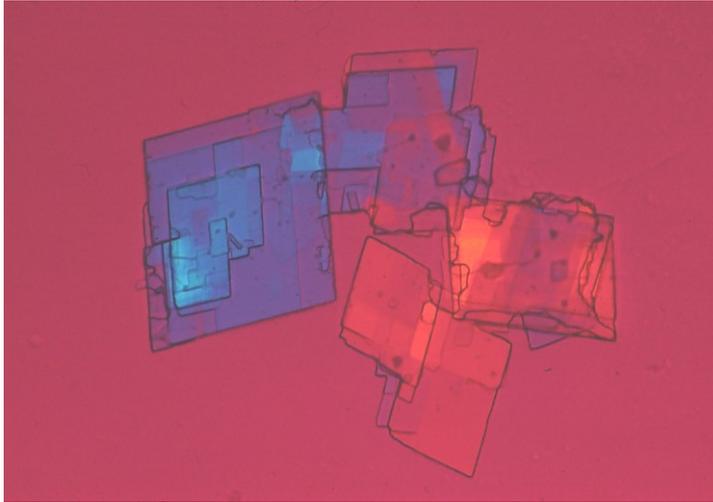
Jy21-057

Et dans la prochaine photo, deux cristaux d'oxalate en lumière polarisée + filtre rouge de premier ordre.



Jy21-058

Vous verrez maintenant quelques cristaux de cholestérol avec la même technique que précédemment



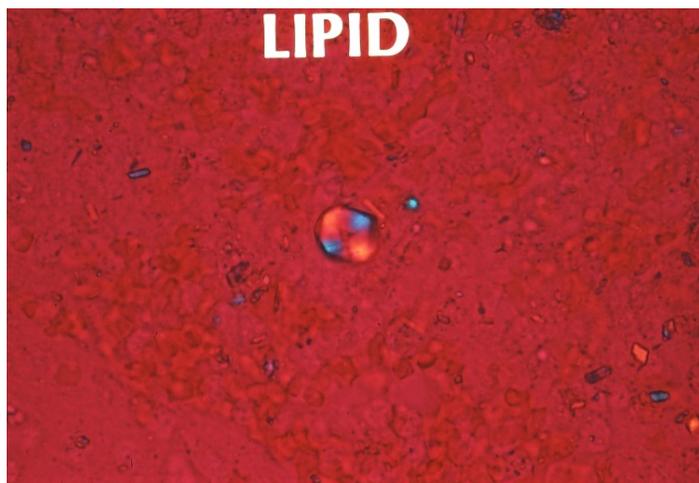
Jy22-107



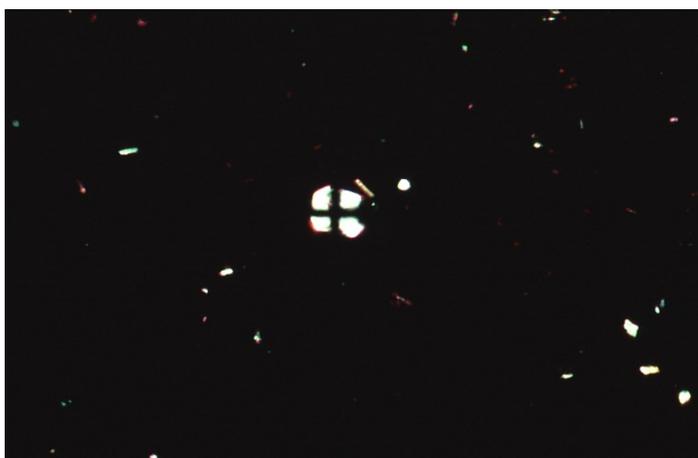
Jy21-059

Dans cette photo ci-haut, on aperçoit un monocyte sentant mais ne phagocytant pas le cristal de cholestérol. Après plus d'une dizaine de milliers de synovianalyse chez l'humain, nous n'avons jamais vu ce type de cristal phagocyté. C'est un spectateur passif à notre point de vue. Certains auteurs avancent le contraire mais suite à des expériences chez l'animal uniquement.

Maintenant dans les deux prochaines photos, une goutte de lipide, un cristal liquide prenant la forme d'un sphérulite avec la croix de Malte et sa biréfringence positive. En lumière polarisée avec filtre rouge dans la première photo et sans filtre dans la seconde photo.

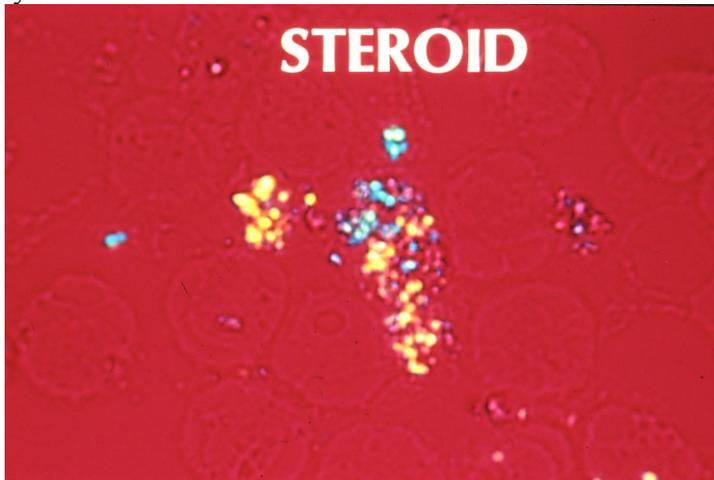


Jy21-060

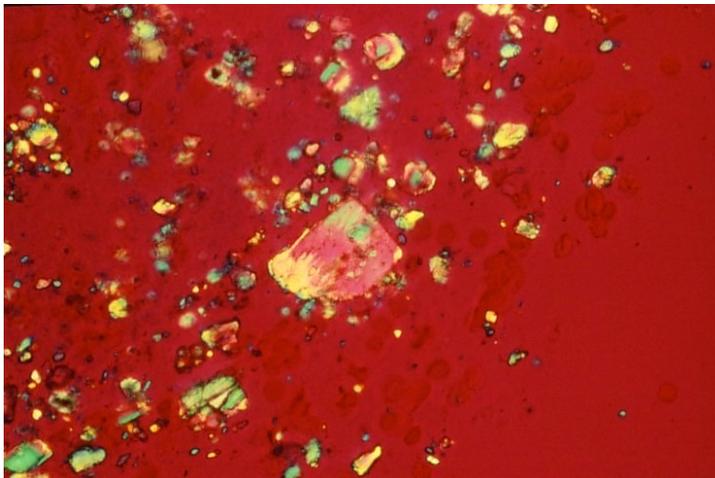


Les corticostéroïdes injectés dans les articulations sont souvent visualisés comme des particules cristallines très brillantes en lumière polarisée comme on peut le percevoir dans les trois prochaines photos.

Jy21-061



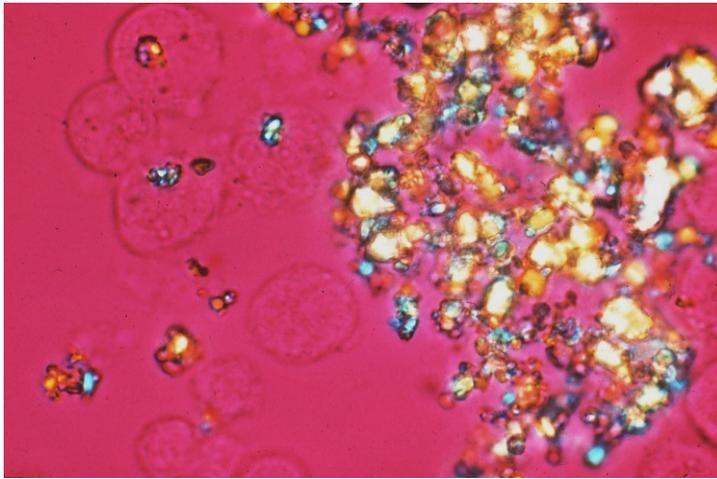
Jy21-062



Jy21-067

Dans la prochaine photo, chez un patient qui avait reçu une injection intra-articulaire la journée précédente et avait eu une réaction inflammatoire paradoxale. Les cultures furent négatives. L'analyse du LS a démontré la phagocytose de ces cristaux de stéroïdes (prochaine photo) expliquant ainsi cette synovite iatrogène. Cette réaction inflammatoire est rare. Elle ne survient que dans 2-3% des cas.

Jy21-075

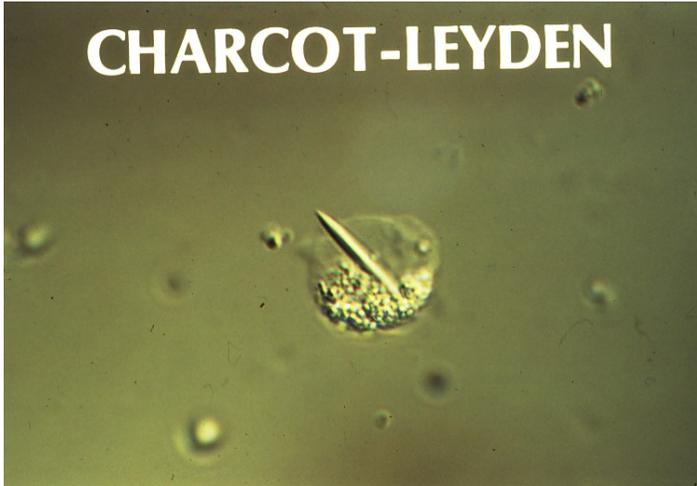


Jy21-076

Les cristaux de Charcot-Leyden proviennent de la cristallisation de la lysophospholipase présente dans les granules des éosinophiles. Ce sont des témoins passifs d'une arthrite allergique ou du moins d'un accroissement du nombre d'éosinophiles dans le milieu. Ils sont une conséquence non une cause de l'inflammation. Ils se présentent sous la forme d'un cristal revêtant la forme d'une bipyramide hexagonale.. Ils sont démontrés en microscopie par contraste hase interférentielle de Nomarski dans les deux prochaines photos et en lumière polarisée dans la troisième indiquant leur biréfringence positive.

Jy21-048

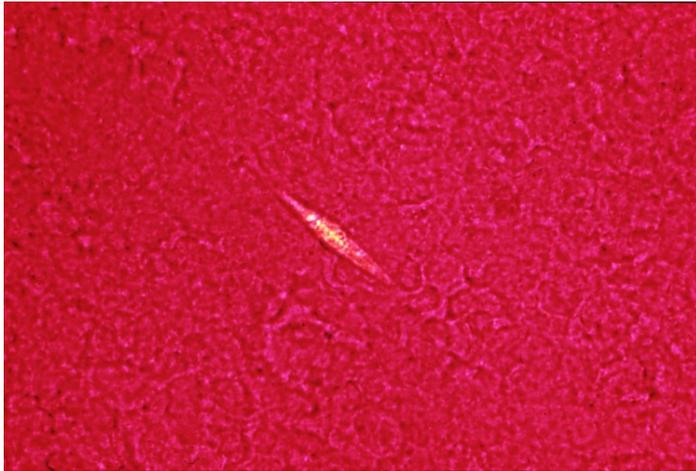
CHARCOT-LEYDEN



Jy21-064

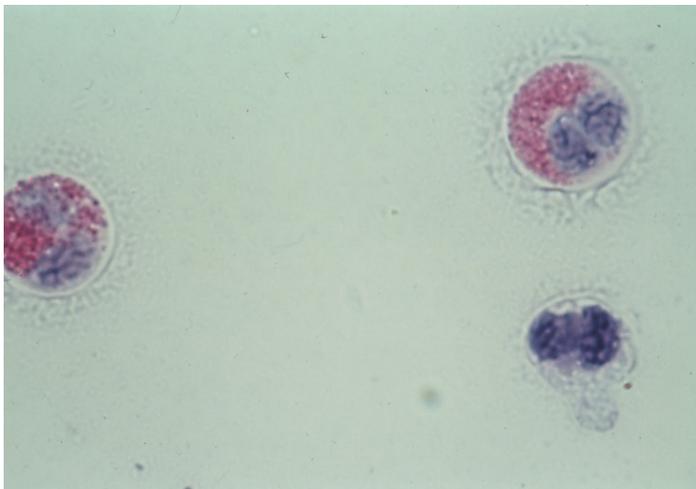


Jy21-066



Jy21-065

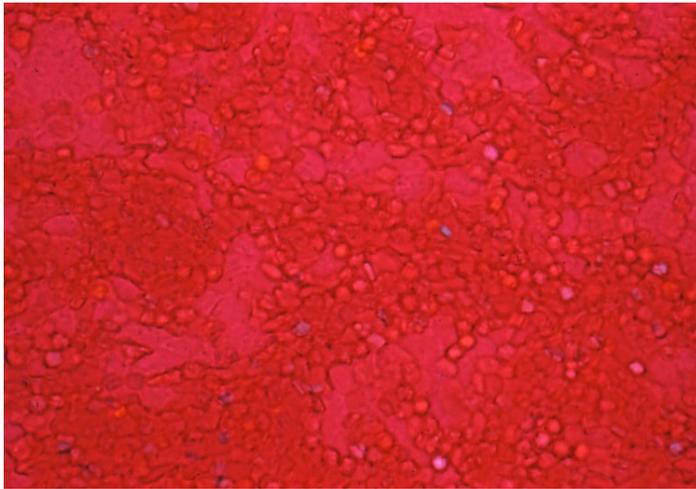
À la coloration Wright, le fait de visualiser plusieurs éosinophiles comme ci-dessous annonce presque automatiquement la trouvaille de cristaux de Charcot-Leyden.



Jy21-070

Sur la prochaine photo, en analyse de routine en lumière polarisée, on peut à prime abord croire voir une série de cristaux de pyrophosphate, Mais, à plus fort grossissement (photo suivante), on visualise clairement des cristaux d'hémoglobine avec la microscopie en contraste de phase

interférentiel de Nomarski. . Notez qu'il était faiblement négativement biréfringent en polarization.



Jy21-072



Jy21-071

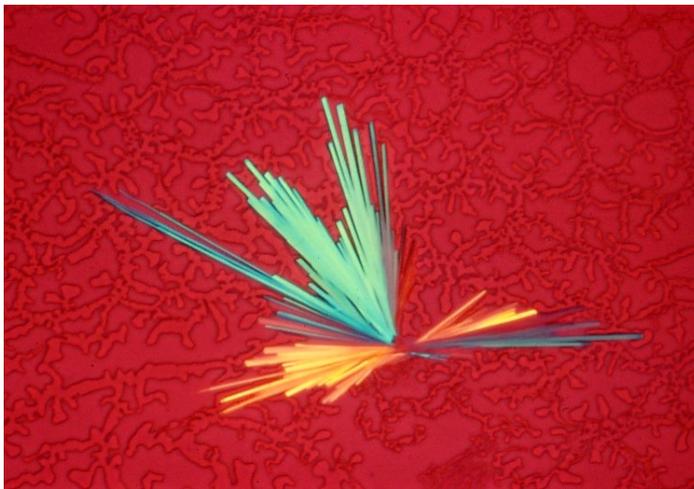
CRISTAUX FORMÉS IN VITRO

Jy21-073

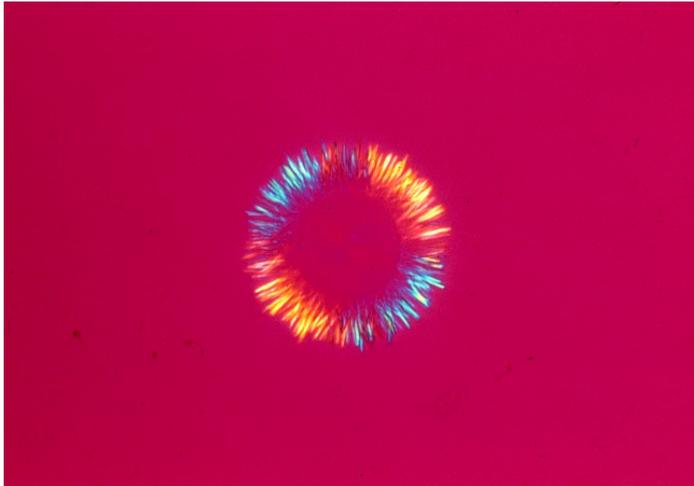
Jy21-073

La cristallisation In Vitro

Il faut s'en méfier. Elle présente des formes cristallines spectaculaires mais sans signification clinique pathologiques (*deux prochaines photos*)



Jy21-074



Jy22-197



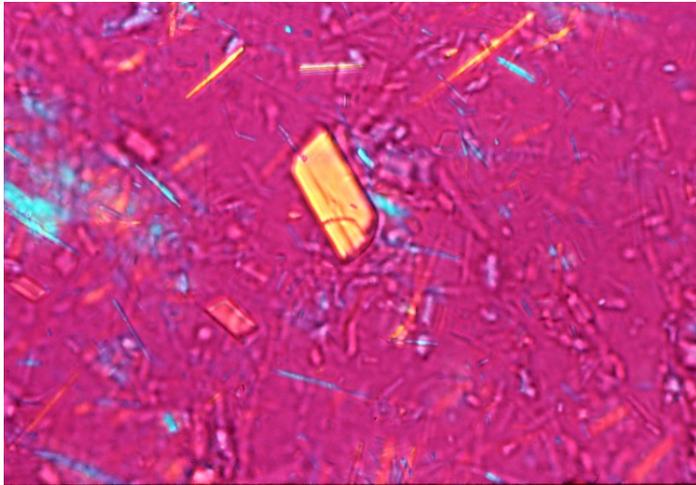
Jy21-077

Maintenant il s'agit d'un liquide synovial prélevé chez un patient goutteux le lendemain d'une injection intra-articulaire de corticostéroïdes qui avait présenté une recrudescence inflammatoire inattendue.. On pouvait craindre une infection mais la ponction de novo a démontré qu'il s'agissait de la rare arthropathie paradoxale iatrogène dûe à la phagocytose des cristaux de stéroïdes. L'image actuelle démontre dans la même cellule phagocytaire les cristaux représentatifs des deux pathologies soit le cristal d'urate pour la goutte et le corticostéroïde pour la rare arthropathie iatrogène (2-3% des cas)



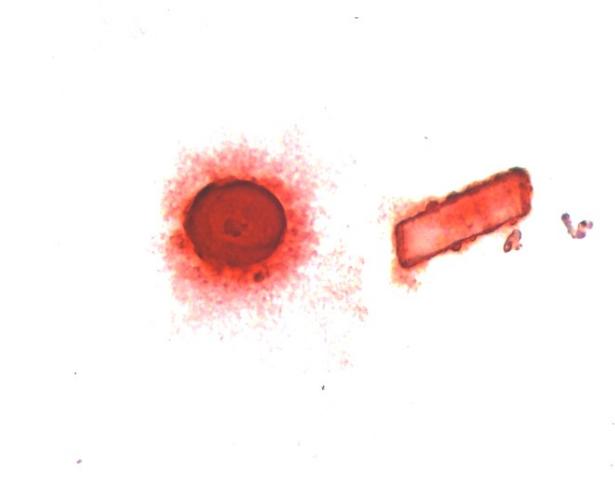
Jy21-078

Dans la prochaine photo, présence mixte de cristaux d'urate et de pyrophosphate de calcium



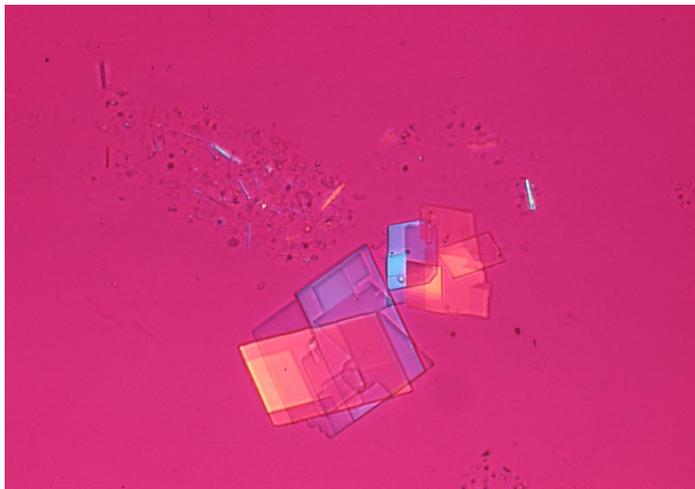
Ag14-071

Dans la photo ci-dessous , présence d'un amas d'apatite à gauche et d'un cristal de pyrophosphate de calcium. Tous les deux colorés au rouge d'alizarine-S.



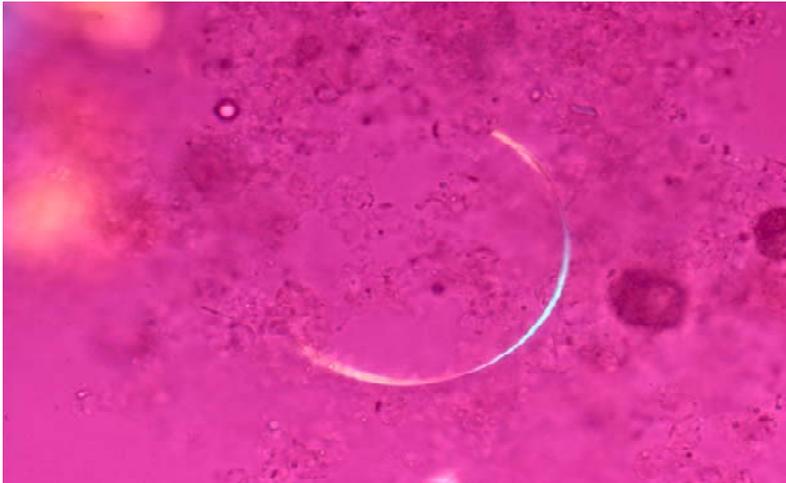
Jy29-032

Les cristaux de cholestérol se présentent sous trois formes: les plaquettes (la forme la plus fréquente), des bâtonnets et ...la forme curviligne (deuxième photo).

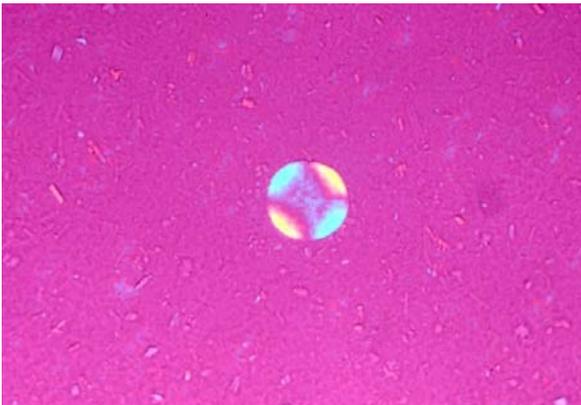


Ag05-058

(86)



Mr07\$0014



Jy30-296 Un sphérolite de pyrophosphate de calcium négativement biréfringent parmi de nombreux cristaux de pyrophosphate de calcium positivement biréfringents lors d'une crise de pseudo-goutte. Nous devons donc attaquer le chapitre des sphérolites.

Sphérolites

SPHÉRULITES

Jy21-150

Les sphérulites ne sont plus des nouveaux venus dans le domaines des synovites microcristallines. Les sphérulites inflammatoires attirerons davantage notre attention.

Définition :

Domaine sphérique caractérisé par un assemblage radial de petits cristaux → donnant une croix de Malte en lumière polarisée.

Jy21-152

SPHÉRULITES DU LIQUIDE SYNOVIAL

- Lipides
- Urate
- Pyrophosphate
- Phosphate de calcium
- Formées *in vitro*
- Amidon

Jy21-154

SPHÉRULITES PHLOGOGÈNES

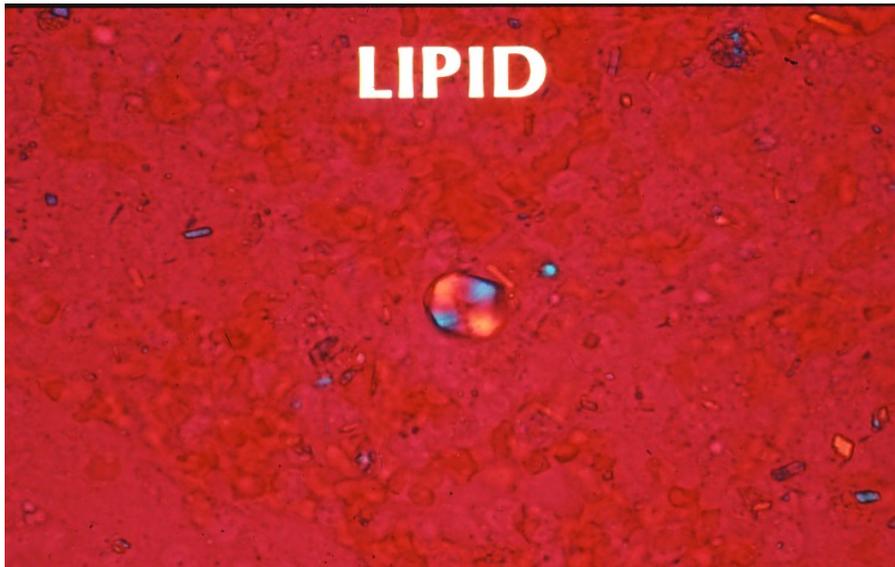
À BIRÉFRINGENCE POSITIVE :

**Lipides
Pyrophosphate de calcium**

À BIRÉFRINGENCE NÉGATIVE :

**Urate de sodium
Phosphate de Ca (apatite)**

Jy21-155



Jy21-157

Jy21-158

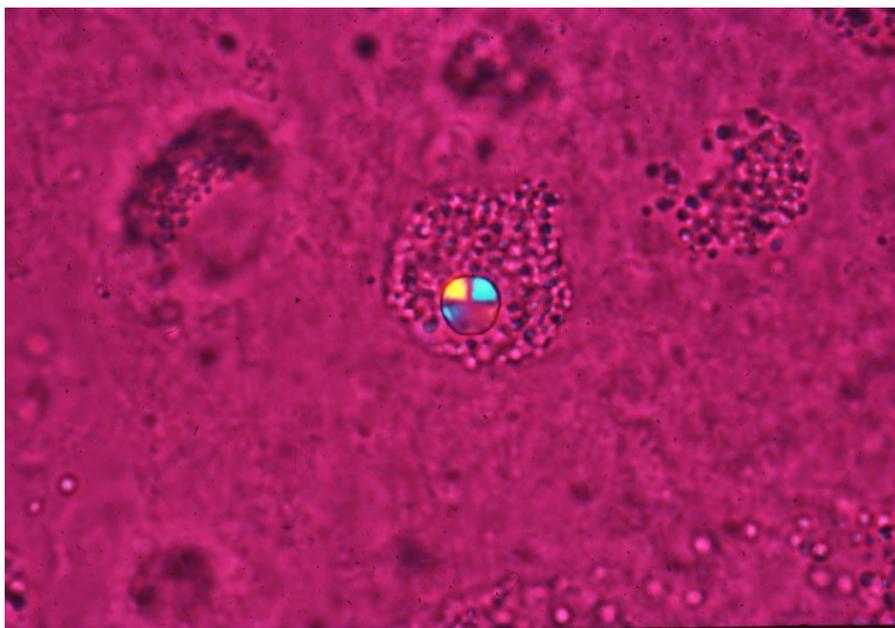
Arthrite à sphérulites de lipides :

Plus de 20 cas signalés dans la littérature

12 cas de monoarthropathie

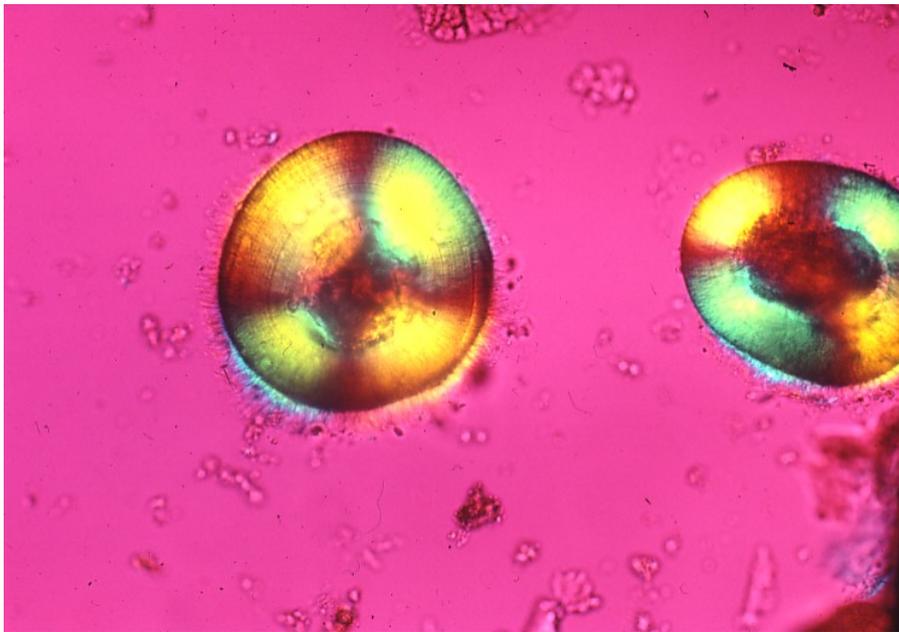
Une majorité de femmes

Un cas de polyarthrite avec facteur rhumatoïde +



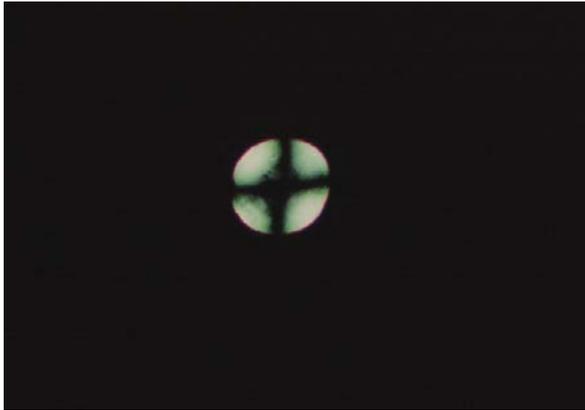
Jy21-159

Un sphérulite de lipide phagocyte et partiellement digéré ((un cadran). Il s'agit d'une photo prise lors du seul cas de polyarthrite séropositive cité (Rivest et al.)

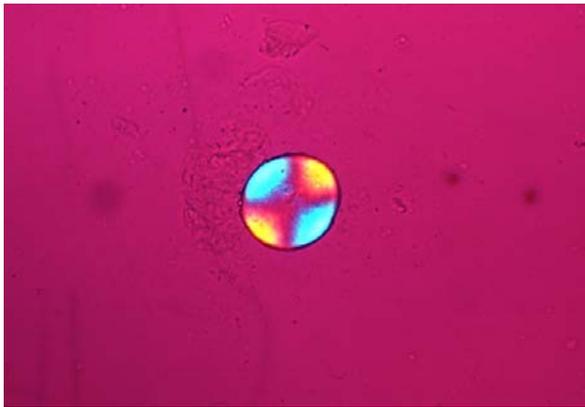


Jy21-161

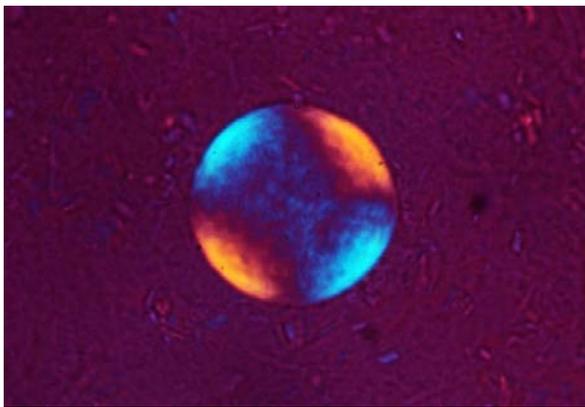
ci-haut, des sphérulites d'urate de sodium synthétiques tels que présentés par Fietchner et Simkins .



Jy29-074 Sphérulite de phosphate de calcium (apatite) .



Jy29-073
Même photo en polarisation avec le filtre rouge de premier ordre.



Jy29-081 Autre sphérulite de phosphate de calcium

**Acute apatite podagra with negative
birefringent spherulites in the synovial fluid.**

F. Beaudet, R. de Médicis, P. Magny, A. Lussier

J. RHEUMATOL. 1993;20:1975

Jy21-162

**PSEUDO-PODAGRE À
SPHÉRULITES DE
BIRÉFRINGENCE NÉGATIVE**

Jy21-164

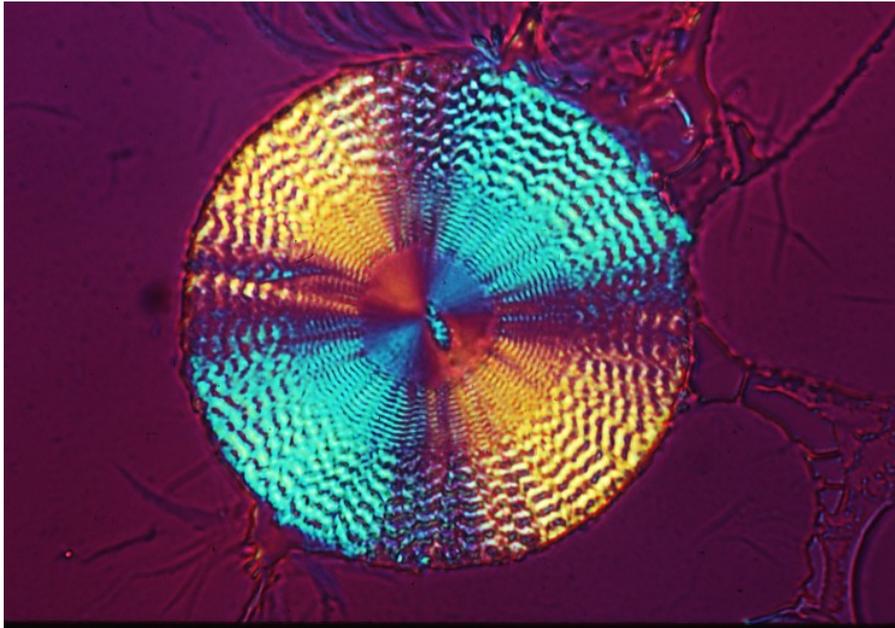
François Beaudet et notre groupe avons décrit le premier cas de sphérulites à apatite. Sur le cliché radiologique ci-dessous, on peut facilement détecter le dépôt cristallin radio-opaque en para-articulaire, illustrant ce cas de maladie à déposition d'apatite.

Il s'agit donc d'un cas de pseudo-podagre causé par des sphérulites négativement biréfringents.



Jy21-165

La calcification est clairement visible près de la première articulation métacarpo-phalangienne sur ce cliché radiologique du pied.



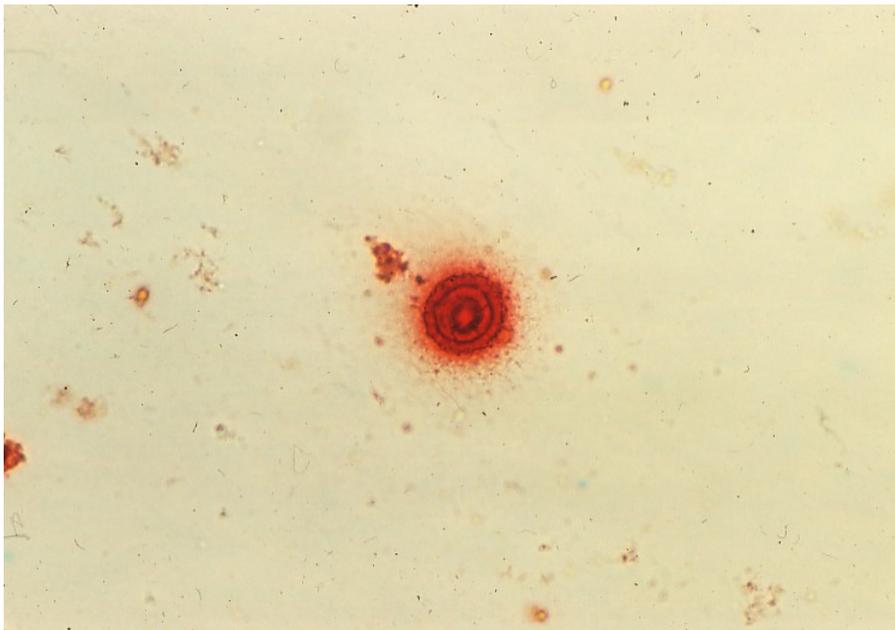
Jy21-168

Ce sphérulite de 25 microns de diamètre fut observé 6 mois plus tard sans changement apparent. On peut constater qu'il s'agit d'un sphérulite d'apatite for stable comparé à ceux d'urate. La croix de Malte est très impressionnante...



Jy21-166

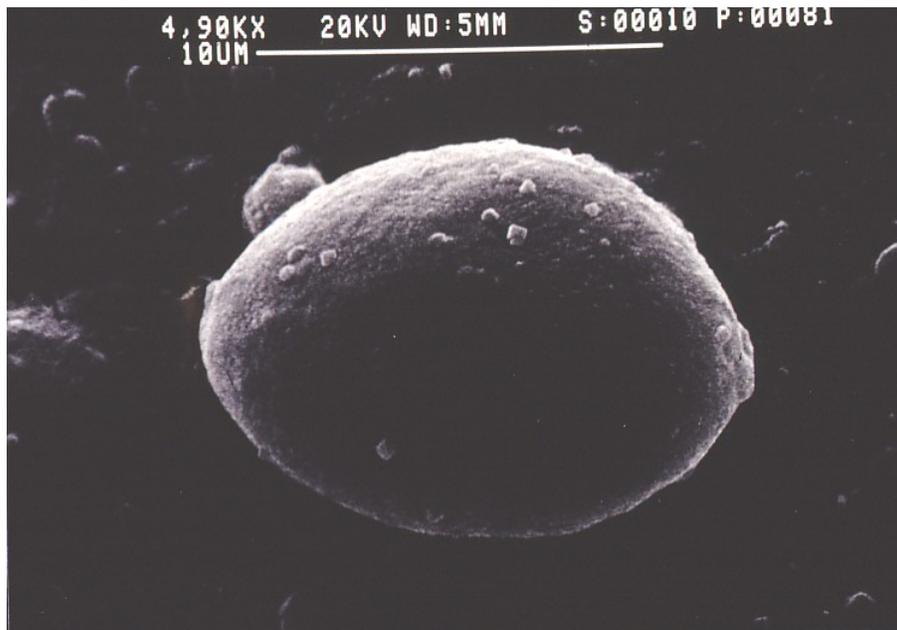
Ce frottis non coloré (ci-haut) montre un sphérolite d'apatite en lumière normale



Jy21-167

La même photo mais cette fois-ci avec une coloration au rouge d'alizarine-S. Notez la structure radiale concentrique de ce sphérulite.

En microscopie électronique par transmission (TEM) On peut voir des sections concentriques de matériel granulaire délicats Ces agrégats internes semblaient différents des cristaux d'apatite extérieurs. N.B. si dia retrouvée, l'insérer

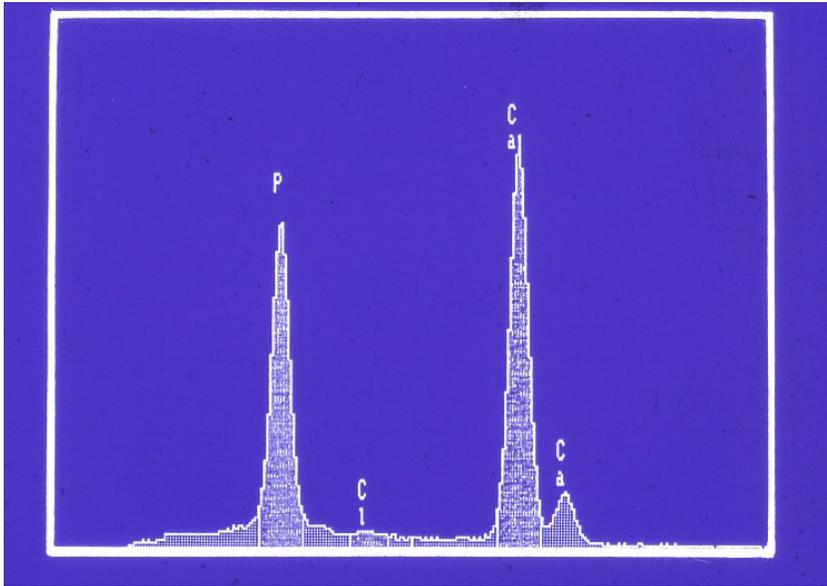


Jy21-169

La photo précédente est grossie 500 fois, en microscopie électronique par balayage.

Et And coupling X-ray energy dispersive analysis with SEM gave a calcium/phosphate ratio of 1.67 which is identical to the ratio of hydroxyapatite (as shown in the next slide). That finding did confirm the identity of the apatite spherulite.

À traduire...et mesurer...



Ag04-214

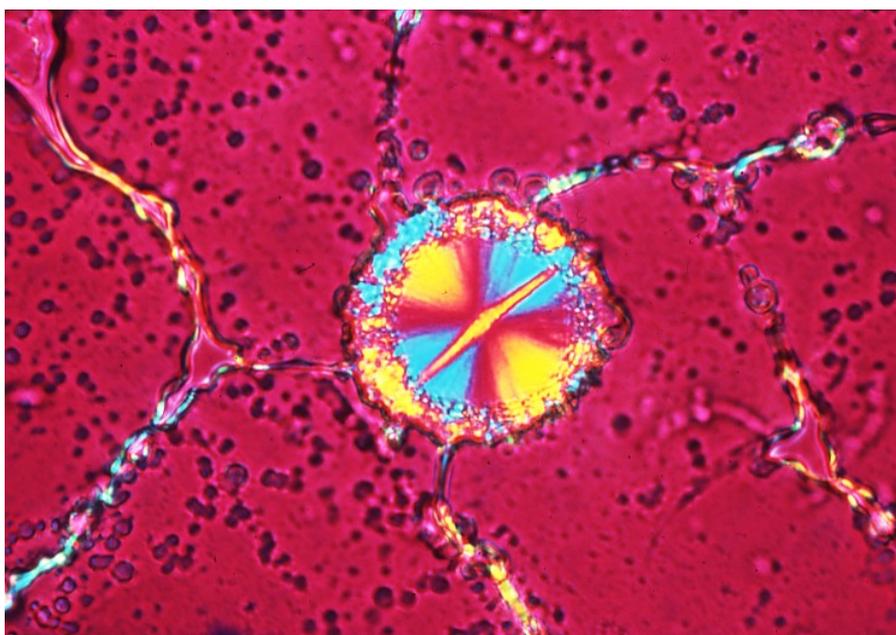
**SPHÉRULITES DU
LIQUIDE SYNOVIAL :**

ARTÉFACTS

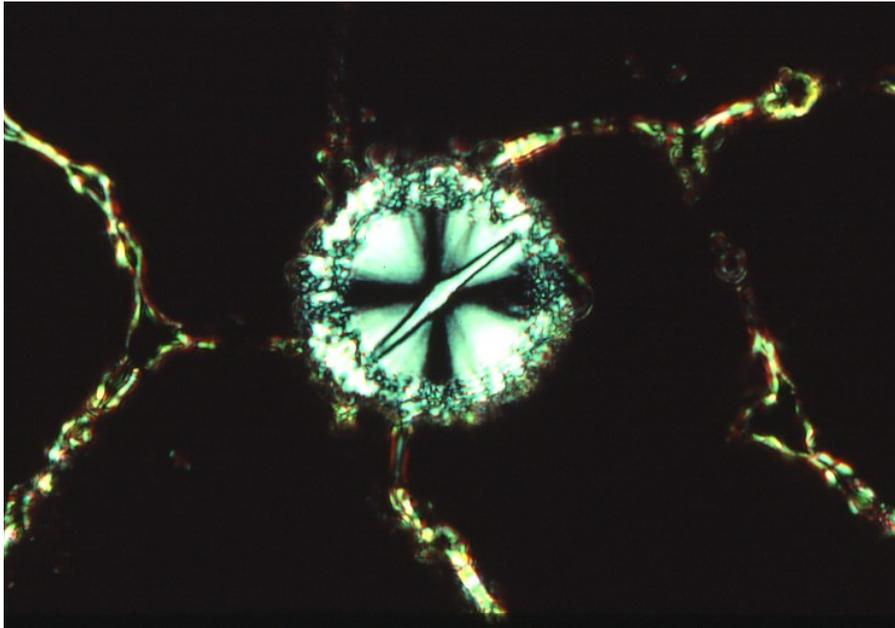
Jy21-170

III- Les artéfacts Sphérulitiques du LS :

Avant de conclure, un dernier avertissement au sujet des sphérulites :ils peuvent être naturels et cliniquement significatifs ou artificiels sans aucune signification pathologique. Méfiez-vous de ces artéfacts qui peuvent être aussi beaux qu'un feu d'artifice mais d'aucune valeur diagnostique.



Jy21-172



Jy21-173

IV- Conclusion :

Les microcristaux sont des marqueurs diagnostiques privilégiés

Les microcristaux sont d'intéressants outils de recherche du processus inflammatoire

Certaines cellules sont des agents ou témoins de différents types d'inflammation

La phagocytose est au cœur du problème inflammatoire cristallin.

La membranolyse consécutive est bien expliquée par le processus osmotique

Listes & pages

Classification des microcristaux

Les microcristaux (MC) inflammatoires du liquide synovial (LS)

Phosphates de calcium

MC faiblement ou non inflammatoires
(non calciques)

Cristaux phlogogènes 1- non calciques

Cristaux phlogogènes 1- calciques

MC non-inflammatoires
 MC endogen
 MC potentiellement inflammatoires
 Cristaux d'urate de sodium
 MC d'urate de sodium intracellulaires
 Urate de sodium (historique (1)
 Urate de sodium (historique (2)
 MC de pyrophosphate de calcium
 MC d'apatite
 MC oxalate de calcium
 MC de cholestérol
 MC de cholestérol (avec un sphérulite de lipide)
 Sphérulite de lipide en polarisation (avec un filter rouge de premier ordre)
 MC de corticostéroïde
 MC de stéroïde + un MC d'urate
 MC de Charcot-Leyden
 MC de Charcot-Leyden (microscope polarisant)
 MC d'Hb
 Mécanisme d'inflammation induite par les MC.
 Common mécanisme d'action de l'inflammation
 Les deux acteurs
 Phagocytose et dégranulation
 Membranolyse et mort cellulaire
 Phagocytose et activation du neutrophile
 Interaction (cristal.-cellule)
 Activation du neutrophiles
 Phagocytose
 Enzymes & médiateurs
 Influence des propriétés physiques et chimiques Mcs
 Facteurs chémoattractifs
 Médiateurs inflammatoires
 Membranolyse
 Hypothèse de membranolyse
 Perméabilité membranaire sélective
 Phagocytose de l'urate de sodium
 Ingestion
 Phagocytose des MC par les PMN cells
 Et membranolyse
 ME (microscopie électronique) et membranolyse (8 min.)
 ME et membranolyse (30 min.)
 ME et membranolyse (2 hours)
 ME et membranolyse (↑ grossissement.)
 Phagocytose du MC d'urate de sodium
 Membranolyse et mort cellulaire (séquence)

Membranolyse et mort cellulaire (séquence)
ME : phagocytose des pyrophosphates de calcium
ME : phagocytose des pyrophosphates de calcium
Phagocytose d'un MC d'urate par un PMN
Phagocytose d'un MC d'urate par une cellule mononucléée
Phagocytosis d'un pyrophosphate de calcium (CaPP)
CaPP au microscope polarisant
CaPP sous microscopie par contraste de phase
Inflammation iatrogène par corticostéroïdes
Maladie par déposition d'apatite
Coloration au rouge d'alizarine
Apatite (avec coloration de Weight
Corps étrangers
Maladie induite par sphérulite
Liste de sphérulites
 synovitides
Inflammatory spherulites
Lipid spherulites phagocytosed
Sphérulites d'urate de sodium
Sphérulites d'urate de sodium
 (microscope électronique par balayage)
Pseudo-podagre par sphérulites d'apatite
Agrégat d'apatite en microscopie photonique
Coloration au rouge d'alizarine (début)
Coloration au rouge d'alizarine t (plus tard)
Spherulite d'apatite (par microscopie électronique par balayage)
Spherulite d'apatite (TEM)
Sphérulites formés *in vitro*
Résumé
Conclusion

SYMPOSIUM ON MICROCRYSTAL SYNOVITIDES

REFERENCES

1. *Phagocytosis of Sodium Urate and Calcium Pyrophosphate Crystals by Leukocytes of Gouty, Pseudogouty and Health Donors.* R. de Médicis, A. Lussier, A. Kahan, L. Tétreault. Eur. J. Rheum. Inflamm., 1983;6:143-148.

2. *Crystal-neutrophil Interactions Lead to Interleukin-1 Synthesis.* C.J. Roberge, J. Grassi, R. de Médecis, Y. Frobert, A. Lussier, P.H. Naccache and P.E. Poubelle. Agents and Actions, 1991;34:38-41.
3. *Crystal-induced Neutrophil Activation. I. Initiation and Modulation of Calcium Mobilization and Superoxide Production by Microcrystals.* P.H. Naccache, M. Grimard, C.J. Roberge, C. Gilbert, A. Lussier, R. de Médecis and P.E. Poubelle. Arthritis Rheum. 1991;34:333-342.
4. *Crystal-induced Neutrophil Activation. II. Evidence for the Activation of a Phosphatidylcholine-Specific Phospholipase D.* P.H. Naccache, S. Bourgoïn, E. Plante, C.J. Roberge, R. de Médecis, A. Lussier and P.E. Poubelle. Arthritis and Rheum. 1993;36:117-125.
5. *Crystal-induced Neutrophil Activation. III. Inflammatory Microcrystals Induce a Distinct Pattern of Tyrosine Phosphorylation in Human Neutrophils.* M. Gaudry, C.J. Roberge, R. de Médecis, A. Lussier, P.E. Poubelle and P.E. Naccache. J. Clin. Invest., 1993;91:1649-1655.
6. *Crystal-induced Neutrophil Activation. IV. Specific Inhibition of Tyrosine Phosphorylation by Colchicine.* C.J. Roberge, M. Gaudry, R. de Médecis, A. Lussier, P.E. Poubelle and P.H. Naccache. J. Clin. Invest., 1993;92:1722-1729.
7. *Monosodium Urate and Calcium Pyrophosphate Crystals Differentially Activate the Excitation-response Coupling Sequence of Human Neutrophils.* P.E. Poubelle, R. de Médecis and P.H. Naccache. Biochem. Biophys. Res. Commun., 1987;149:649-657.
8. *Acute Apatite Podagra with Negative Birefringent Spherulites in the Synovial Fluid.* F. Beaudet, R. de Médecis, P. Magny and A. Lussier. J. Rheumatol. 1993;20:1975-1978.
9. *Acute Polyarthritis Associated with Birefringent Lipid Microspherules Occurring in a Patient with Longstanding Rheumatoid Arthritis.* C. Rivest, M. Hazeltine, G. Gariépy and R. de Médecis. J. Rheumatol., 1992;19:617-620.

5. Microscope en lumière polarisée

PLAN

- A- LA LUMIERE
Lumière normale et lumière polarisée.

- B- UN EXEMPLE DE CRISTAL BIREFRINGENT: LA CALCITE
Un cristal biréfringent dédouble un faisceau lumineux en 2 faisceaux polarisés et déphasés.

- C- CRISTAUX BIREFRINGENTS
Cristaux isotropes, uniaxes et biaxes. Ellipsoïde- des indices. Biréfringence d'un cristal:
intrinsèque et d'orientation.
Extinction et signe d'allongement d'un cristal.

- D- MICROSCOPE EN LUMIÈRE POLARISÉE

- E- LAME AUXILIAIRE
Son importance dans la détermination du signe d'allongement de microcristaux.

- F- DÉTERMINATION DU SIGNE D'ALLONGEMENT

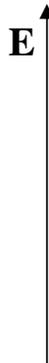
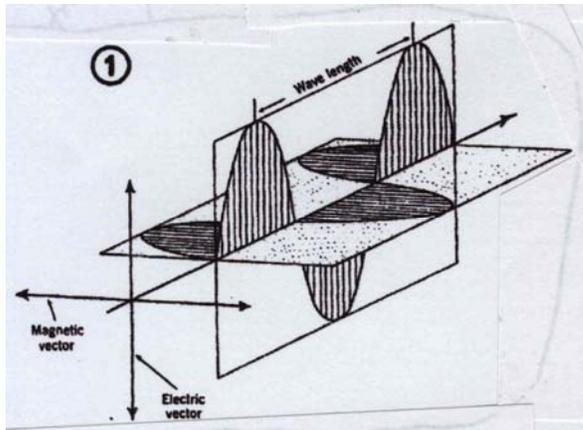
- G- INFLUENCE DU TYPE DE MICROSCOPE
Influence sur l'orientation apparente d'un cristal par rapport à l'orientation de la lame
auxiliaire.

- H- OBJETS BIREFRINGENTS DU LIQUIDE SYNOVIAL
Fibres, sphérules et cristaux.

② LA LUMIERE

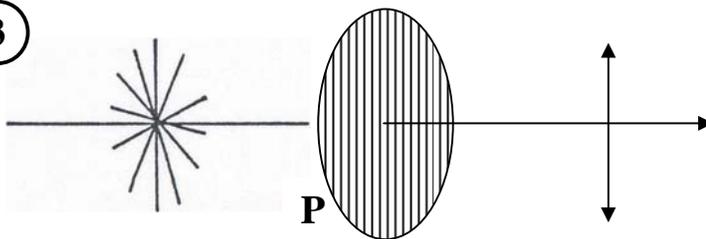
Selon la théorie électromagnétique, la lumière est liée à la propagation d'un champ électrique et d'un champ magnétique perpendiculaires (fig. 1). La plupart des effets de la lumière, et notamment les effets perçus par l'oeil, sont attribuables au champ électrique. Pour simplifier, on ne considérera que la vibration transversale (c.à.d. perpendiculaire à la direction de propagation) du champ électrique (fig. 2).

①

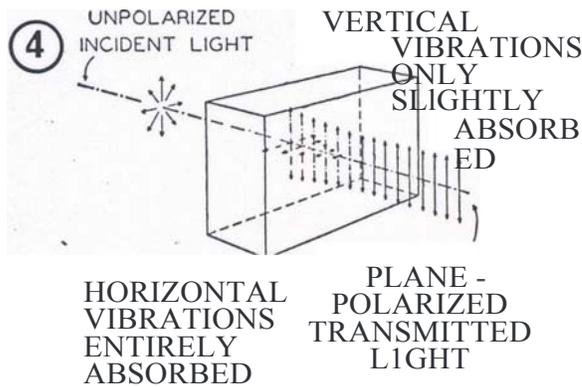


Pour une lumière dite naturelle toutes les orientations du champ électrique (dans un plan perpendiculaire à la direction de propagation) sont équivalentes. La lumière polarisée rectiligne ne vibre que suivant une direction:

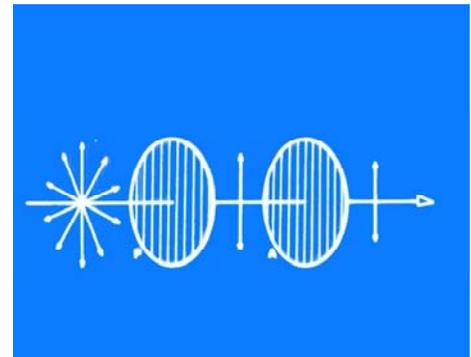
③



Cette polarisation n'est pas directement sensible à l'œil. La lumière polarisée rectiligne peut être produite par réflexion, par double réfraction (prisme de Nicol, en calcite) ou par absorption (filtres dichroïques "polaroid"). Les filtres polaroid sont des filtres biréfringents qui présentent une forte absorption d'une des composantes polarisées (fig. 4, 5, 6).

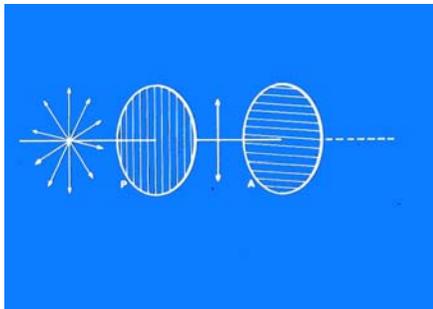


5



Ag13-011

6



Ag13-012

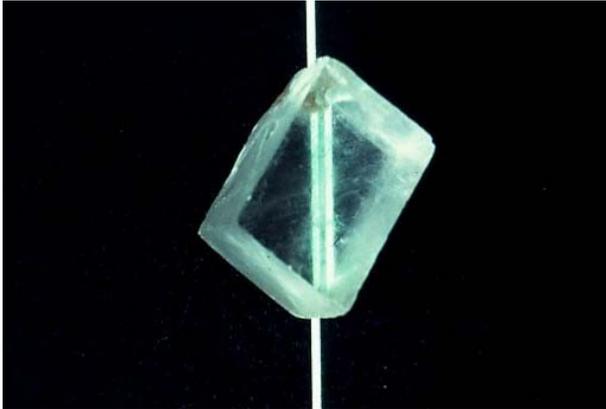
Dans un corps transparent la vitesse de la lumière (v) est inférieure à la vitesse dans le vide ($c = 3 \times 10^{10}$ cm/sec). L'indice de réfraction est inversement proportionnel à la vitesse: $n = c/v$.

B

UN EXEMPLE DE CRISTAL BIREFRINGENT : LA CALCITE

- 1) Une image ou un faisceau lumineux est dédoublé par un cristal de calcite (double réfraction ou biréfringence) (fig. 7). Si le faisceau incident est perpendiculaire à une face du cristal, on observe un faisceau non dévié (rayon ordinaire o) et un faisceau dévié de 6° (rayon extraordinaire e).
- 2) Avec un filtre polarisant on montre facilement que ces 2 faisceaux sont polarisés à angle droit. Ces 2 directions de polarisation sont appelées directions privilégiées du cristal.

- 3) Les 2 rayons traversent le cristal à des vitesses différents car le cristal présente 2 indices de réfraction différents. A la sortie du cristal, il y a un décalage entre les 2 rayons qui est appelé différence de marche, retard ou déphasage. Ce décalage n'est pas perceptible directement, mais intervient dans la formation des teintes d'interférence observées au microscope polarisant.



7

Ag13-017

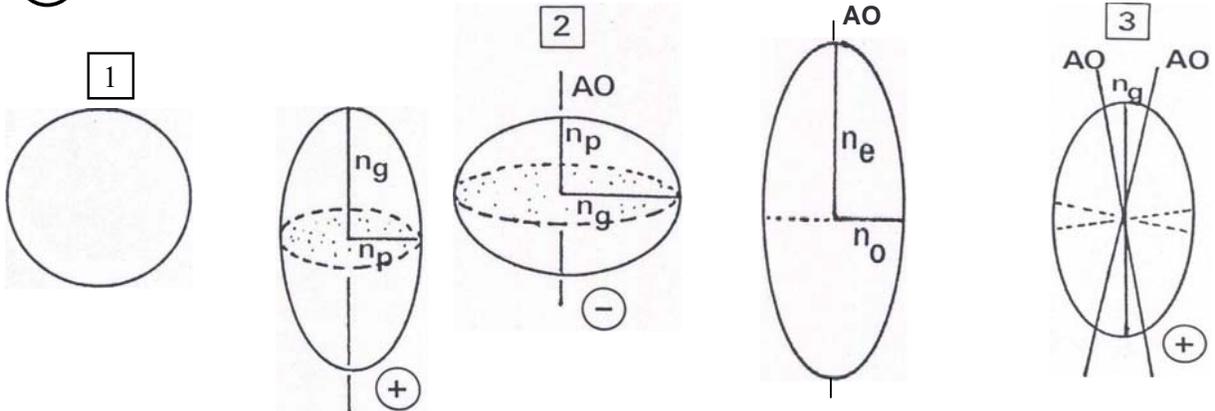
© CRISTAUX BIRÉFRINGENTS

La vibration du champ électrique de la lumière exerce une force oscillante sur toute particule chargée, comme les électrons des atomes d'un cristal. Dans un cristal biréfringent cette interaction des électrons avec la lumière est responsable de la double réfraction, qui dépend de l'arrangement dissymétrique des atomes dans le cristal.

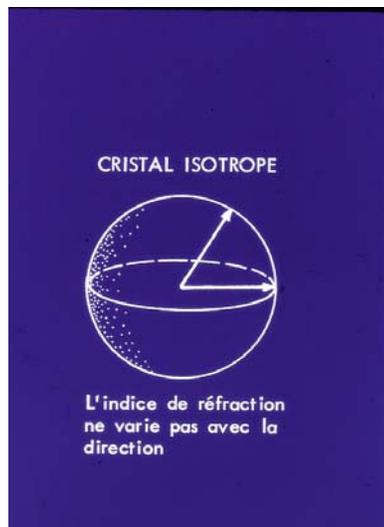
Le comportement optique d'un cristal biréfringent peut être représenté par un ellipsoïde des indices. L'ellipsoïde des indices est la surface enveloppante de vecteurs partant d'un même centre, suivant les directions de vibration de la lumière et de longueur proportionnelle à l'indice de réfraction correspondant. Il y a 3 types d'ellipsoïde des indices (fig. 8):

- 1) sphère: cristaux isotropes (tous les autres types sont anisotropes).
- 2) ellipsoïde de révolution ("uniaxe")
- 3) ellipsoïde quelconque ("biaxe").

8



9



Ag15-026

10



Ag13-029

L'ellipsoïde de révolution est défini par deux demi-axes: n_g (pour n grand) et n_p (pour n petit). Il est dit "uniaxe" car il ne possède qu'un seul axe optique (A.O.) confondu avec l'axe de rotation, et perpendiculaire à la section circulaire.

Par définition l'ellipsoïde est dit positif si n_g est dirigé suivant l'A.O. (ellipsoïde allongé) et négatif si n_g est perpendiculaire à l'A.O. (ellipsoïde aplati).

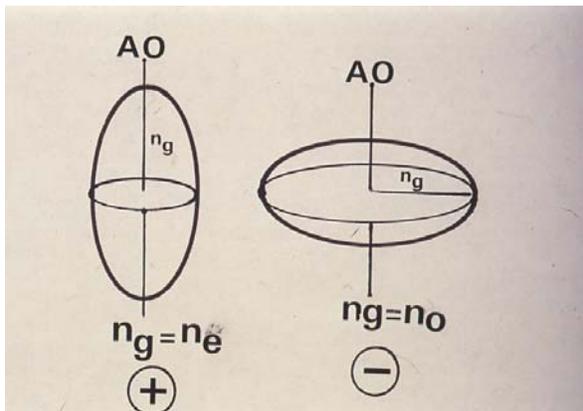
11

Biréfringence intrinsèque d'un cristal

par définition : $B = n_e - n_o$

Ag13-032

12



Ag13-033

L'indice correspondant à la vibration ordinaire, n_o , est égal au rayon de la section circulaire. L'indice correspondant à la vibration extraordinaire, est égal à l'indice suivant l'A.O.

13

**SIGNE DE LA BIRÉFRINGENCE
D'UN CRISTAL**

Signe de B

Positif si ellipsoïde allongé

(n_g suivant l'allongement)



**Pour l'urate de sodium et le
pyrophosphate de calcium les
2 signes coïncident.**

Ag13-038

15

**Subtilité : signe de la biréfringence
intrinsèque et signe d'allongement
d'un cristal.**

Ag13-035

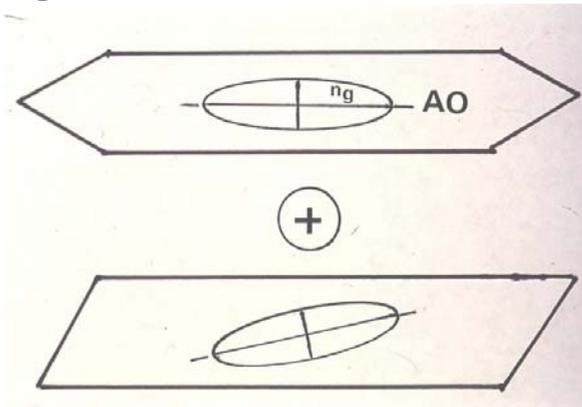
16

**SIGNE D'ALLONGEMENT
D'UN CRISTAL**

Positif si la direction d'allongement
coïncide avec la direction de la
vibration lente (ou n_g).

Ag13-036

17



Ag13-037

18

**Pour l'urate de sodium et le
pyrophosphate de calcium les
2 signes coïncident.**

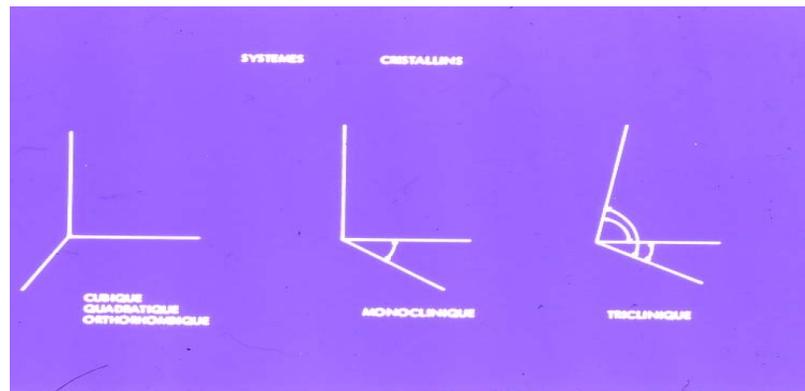
Ag13-038

Par définition la biréfringence du cristal est la différence: $B = n_e - n_o$. Le signe de cette différence est le signe de la biréfringence et aussi le signe de l'ellipsoïde. Par simplification on parle de cristaux uniaxes + ou suivant la nature de leur ellipsoïde des indices.

Les ellipsoïdes "biaxes" sont caractérisés par 2 sections circulaires perpendiculaires aux 2 axes optiques et par 3 demi-axes (n_g , n_m et n_p). L'ellipsoïde est dit positif si n_g est la bissectrice de l'angle aigu formé par les 2 A.O. Les propriétés optiques des cristaux biaxes sont très complexes.

Les cristaux monocliniques et tricliniques sont biaxes. Il existe sept systèmes cristallins : cubique, quadratique, orthorhombique, hexagonal, rhomboédrique, monoclinique et triclinique. Le terme « Clinique » en grec dérive de l'inclinaison. Il n'a aucune concordance avec la pratique médicale. Ainsi, un cristal monoclinique est celui dont l'axe vertical est incliné vers un axe latéral, mais est à angle droit d'un autre. Le cristal triclinique n'a aucun angle droit. Pour simplifier les explications on peut considérer les cristaux d'urate et de pyrophosphate comme étant « presque » uniaxes.

19



Ag13-027

Biréfringence intrinsèque du cristal et biréfringence liée à l'orientation du cristal.

Quand on modifie l'orientation d'un cristal biréfringent, on constate que la double réfraction varie entre une valeur maximum et une valeur nulle. C'est pour cela qu'il faut distinguer la biréfringence maximum ou intrinsèque, caractéristique d'un type de cristal:

biréfringence du cristal

$$B = n_e - n_o$$

de la biréfringence relative à une orientation donnée, qui est appelée "biréfringence de la lame" en minéralogie:

biréfringence d'orientation

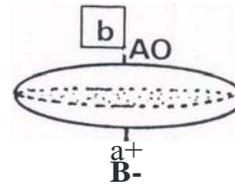
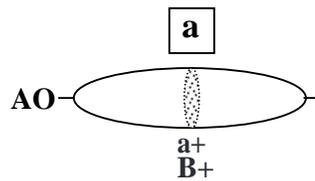
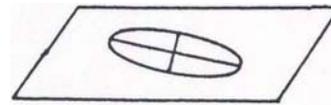
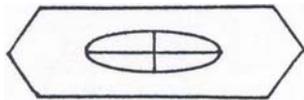
$$b = n'_e - n_o$$

où n'_e est compris entre n_e (biréfringence maximum B) et n_o (biréfringence nulle ou monoréfringence).

Signe d'allongement d'un cristal

Par définition l'allongement est positif si la direction de la vibration lente n_g coïncide avec la direction d'allongement morphologique ou s'en écarte de moins de 45° .

20



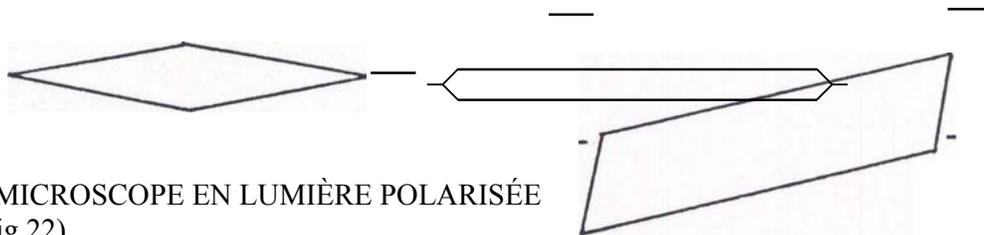
Le signe d'allongement ne tient compte que de la direction de n_g , alors que celui de la biréfringence fait intervenir en plus l'orientation de l'A.O., ce qui permet d'identifier n_e et n_o . Ainsi, un allongement positif peut correspondre à une biréfringence positive (a) ou négative (b) suivant l'orientation de l'A.O. Le signe d'allongement coïncide avec le signe de la biréfringence, ou signe optique, pour les cristaux d'urate et de pyrophosphate.

1)

Extinction d'un cristal

Extinction droite : le cristal est éteint lorsque son allongement géométrique est orienté suivant un des plans de polarisation (P ou A).

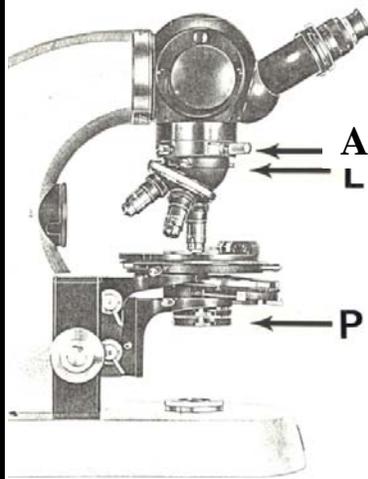
Extinction oblique : lorsqu'il existe un angle entre les directions de polarisation et de l'allongement du cristal éteint (exemple : pyrophosphate, urate).



D

MICROSCOPE EN LUMIÈRE POLARISÉE
(fig.22)

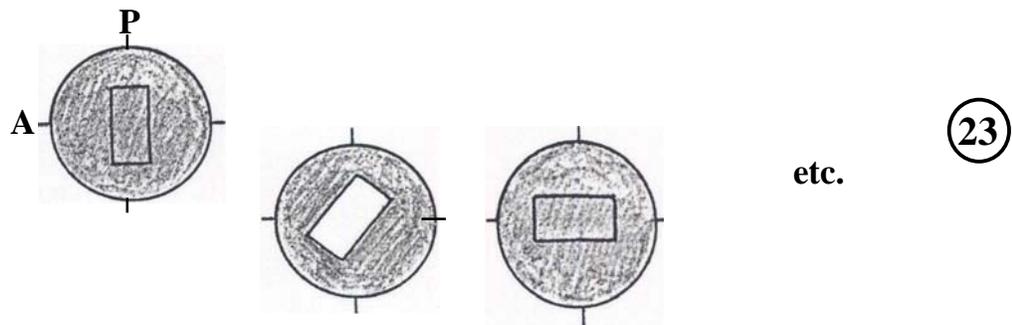
22



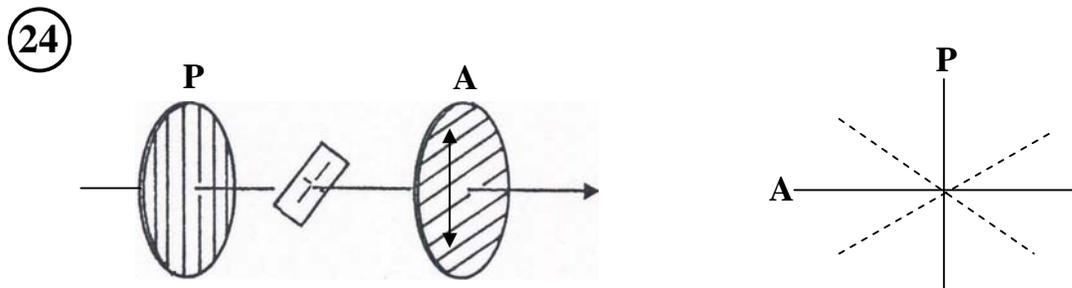
CRISTAL ENTRE DEUX POLARISEURS CROISÉS

1. Lumière monochromatique

Un cristal biréfringent transmet de la lumière s'éteint 4 fois par tour si on le fait tourner dans son plan (fig. 23, 24):

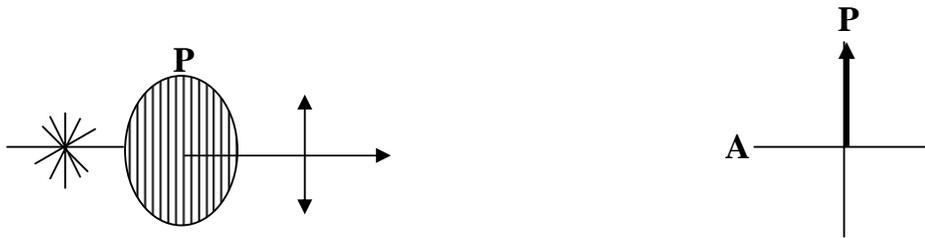


Le polariseur et l'analyseur peuvent être schématisés par les directions de leurs plans de polarisation et le cristal par ses 2 directions privilégiées de polarisation:



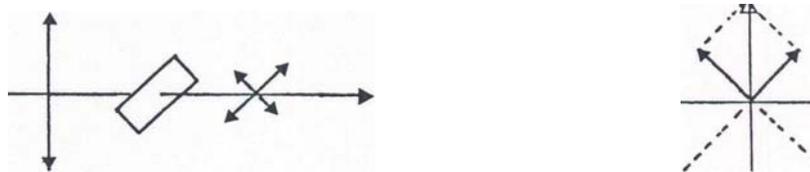
A la sortie du polariseur la vibration de la lumière est représentée par un vecteur égal à son amplitude:

25



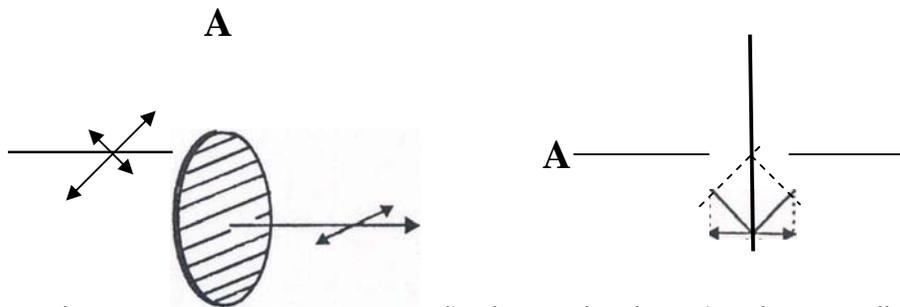
Le vecteur est transmis à travers le cristal suivant les 2 directions privilégiées. Il est donc décomposé en 2 vecteurs perpendiculaires (fig. 25):

26



Ces 2 vecteurs sont décomposés par l'analyseur et seules les 2 composantes parallèles à l'analyseur sont transmises (fig. 26):

27



Les 2 composantes transmises par l'analyseur devraient s'annuler car elles sont d'amplitude égale et de sens opposés. En fait les 2 ondes traversent le cristal à des vitesses différentes qui sont inversement proportionnelles aux indices n_g (vibration lente) et n_p (ou n'_e et n_o). Ainsi à la sortie du cristal il y a une différence de marche $\Delta = e(n_g - n_p)$, ou un retard $r = S/c$ ou un déphasage $\Delta\phi = 2\pi \Delta / \lambda$. Le déphasage est ainsi fonction de l'épaisseur e du cristal, de la longueur d'onde λ et de la biréfringence d'orientation $n_g - n_p$ ou $(n'_e - n_o)$ (fig. 27).

L'analyseur laisse passer les composantes qui lui sont parallèles. L'intensité résultant de l'interférence entre les 2 composantes est maximum quand la différence de marche est égale à un nombre entier de demi-longueurs d'onde (opposition de phase à la sortie du cristal) et minimum quand elle est égale à un nombre entier de longueur d'onde (concordance de phase).

A) Les 2 vibrations perpendiculaires déphasées qui sortent du cristal se composent en fait en une vibration polarisée elliptique, circulaire ou rectiligne suivant la valeur du déphasage.

B) Entre polariseurs parallèles on observe des résultats opposés :

1. quand une des deux directions privilégiées est parallèle à l'orientation commune de P et A, le cristal ne modifie pas l'intensité de la lumière transmise.
2. quand le cristal est orienté à 45° , l'intensité transmise est maximum quand il y a concordance de phase.

2. Lumière blanche

Pour une valeur donnée de la différence de marche Δ , l'intensité lumineuse transmise est différente pour chaque vibration monochromatique:

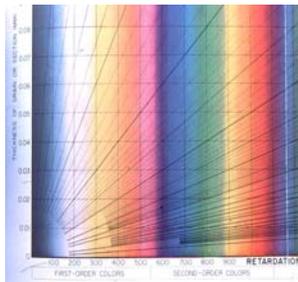
$$I \approx \sin^2 \left(\frac{\Delta}{\lambda} \right)$$

Si Δ est supérieur à 300 nm, l'oeil perçoit une impression colorée (teinte d'interférence) qui est le résultat d'une superposition de lumières monochromatiques, qui ont chacune leur intensité propre fonction de Δ et de λ . La teinte perçue est la teinte complémentaire des couleurs qui font défaut. (Cette teinte complémentaire est visible lorsque les 2 polariseurs sont parallèles.)

Avec des valeurs croissantes de Δ , on observe une séquence de teintes d'interférence, appelées aussi teintes de Newton, et données par la charte de Michel-Lévy:

1^{er} ordre: noir-gris-blanc-jaune-orange-rouge-violet (Δ :0-550 nm) 2^e ordre: bleu-vert-jaune-orange-rouge-violet (Δ :550-1100 nm)

28



Ag13-043

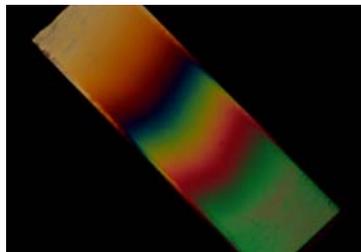
29



Ag13-042

Les ordres supérieurs présentent la même séquence newtonienne (violet rouge), mais avec des teintes de plus en plus délavées.

30



Ag13-045

Les petits cristaux d'urate ou de pyrophosphate des liquides synoviaux introduisent une différence de marche faible, de l'ordre de 50 à 100 nm. Entre polariseurs croisés, ils apparaissent en blanc (ou plus exactement en gris plus ou moins foncé sur fond noir).

2)

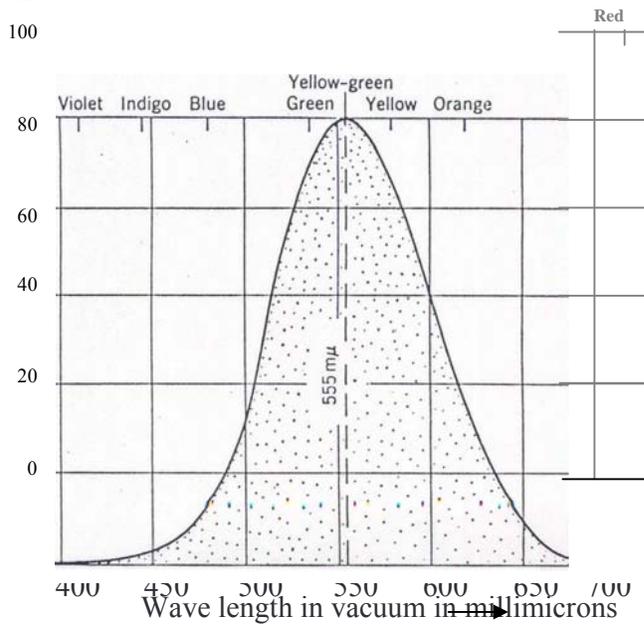
E LAME AUXILIAIRE (synonymes = lame ou filtre rouge de premier ordre, unit retardation plate et parfois (à tort compensateur)

Pour déterminer le signe d'allongement d'un petit cristal (δ : 50 à 100 nm), on utilise une lame cristalline biréfringente en quartz, dont la direction de vibration lente est orientée à 45° par rapport aux directions des polariseurs, par exemple suivant la direction NE - SW:

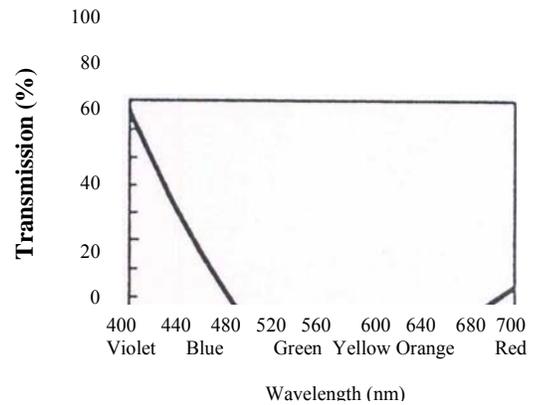
31

Cette lame introduit une différence de marche égale à une longueur d'onde pour le jaune-vert ($\lambda = 550$ à 565 nm), qui correspond au maximum de sensibilité de l'oeil (fig. 20). A la sortie de l'analyseur, cette longueur d'onde est éteinte. En lumière blanche les longueurs d'onde plus courtes (bleu) ou plus longues (rouge) passent partiellement car le déphasage change avec la longueur d'onde (fig. 32).

32



33

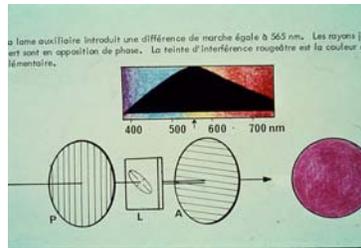


34

L'œil perçoit un mélange de longueurs d'onde plus grandes (rouge) et plus courtes (violet) qui donne une teinte pourpre (violet teinte sensible).

Ag13-052

35



Ag13-053

36



Ag13-051

37

Cristal biréfringent à 45° entre polariseurs croisés : teinte d'interférence en fonction de la différence de marche.

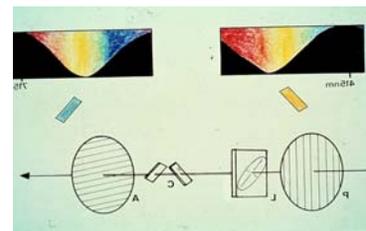
Ag13-055

38

Différence de marche pour un microcristal : environ 100 nm. La teinte d'interférence est gris-clair sur fond noir.

Ag13-054

39



Ag13-058

L'oeil reçoit un mélange des radiations extrêmes du spectre (rouge et violet), mélange de couleur pourpre. Cette couleur est appelée teinte sensible ou violet teinte sensible car l'addition ou la soustraction d'un retard, même faible (50 nm), fait virer rapidement cette teinte au bleu (addition) ou au jaune (soustraction). Entre polariseurs parallèles cette lame apparaît jaune-vert (couleur complémentaire).

Cette lame est appelée lame auxiliaire, lame rouge de 1er ordre, lame d'onde, "unit retardation plate", ou incorrectement compensateur en rhumatologie.

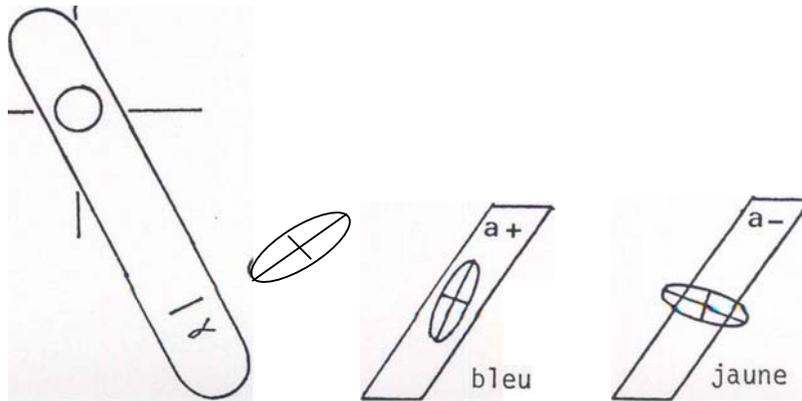
En principe, un compensateur introduit une différence de marche variable et mesurable. Il permet d'annuler complètement (= compenser) une différence de marche introduite par un cristal en lui opposant une différence de marche égale à la sienne et de valeur mesurable. La lame auxiliaire utilisée ici n'introduit qu'une compensation partielle et ne constitue donc pas un compensateur au sens strict.

F- DÉTERMINATION DU SIGNE D'ALLONGEMENT

Le cristal est orienté parallèlement à la direction de vibration lente n_g (indiquée généralement par une flèche ou par γ) de la lame auxiliaire, entre polariseurs croisés.

Si le signe d'allongement est positif (n_g suivant l'allongement géométrique), la différence de marche augmente et la teinte du cristal est bleu (2e ordre). Si le signe d'allongement est négatif, la différence de marche diminue et la teinte du cristal est jaune (1er ordre):

40



Le phénomène inverse s'observe si on tourne le cristal de 90^0 (c.à.d. cristal orienté perpendiculairement à γ).

Remarque - On donne souvent un moyen mnémotechnique simple pour se rappeler la relation entre la couleur et le signe d'allongement. Mais on oublie de mentionner que cette règle ne s'applique qu'à un type de microscope donné!

41

**Microcristal parallèle à la direction
de la vibration lente de la lame :
bleu si positivement biréfringent.**

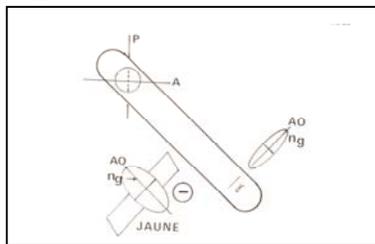
Ag13-054

42

Microcristal négativement biréfringent
parallèle à la direction de vibration lente.

Ag13-066

43



Ag13-067

44

Moyen mnémotechnique
classique mais risqué :
PPB (positif, parallèle, bleu).

Ag13-068

45

Attention : l'optique interne
d'un microscope introduit des
rotations et des réflexions.
L'orientation apparente du
cristal peut être différente de
l'orientation réelle!

Ag13-069

46

La lame auxiliaire est parfois
exceptionnellement compensatrice.

Ag13-070

47



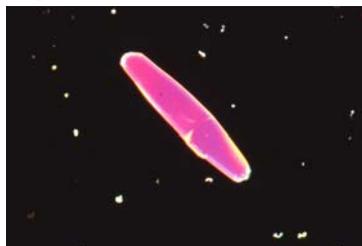
Ag13-073

48



Ag13-072

49



Ag13-074

50



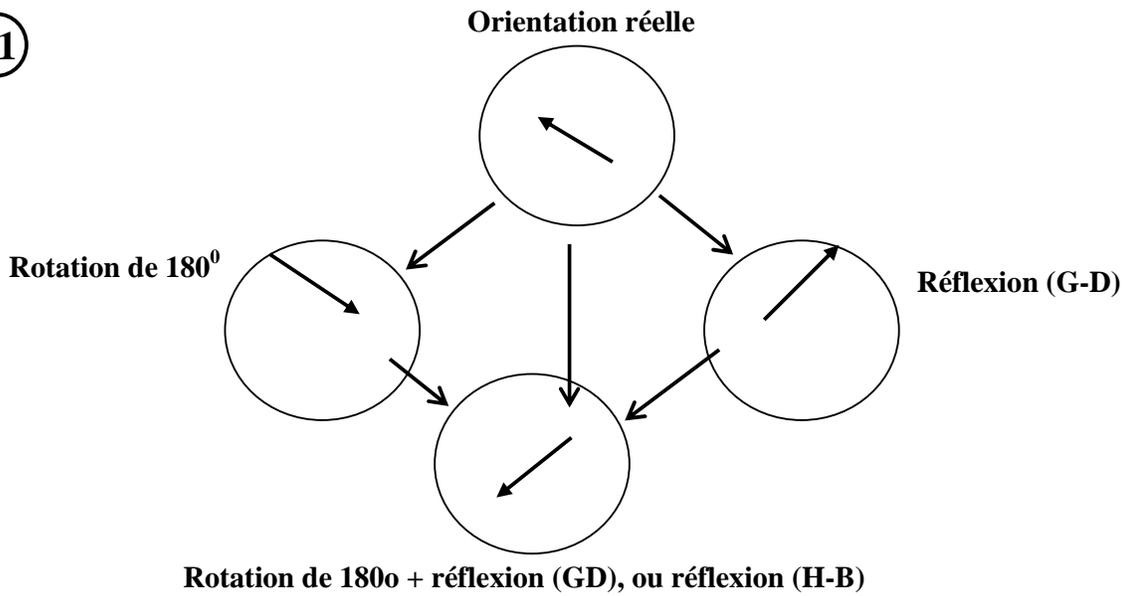
Ag13-075

Parfois aussi l'épaisseur plus marquée du cristal lui fait jouer, comme dans cet exemple, le rôle équivalent à celui de la lame compensatrice à la teinte sensible de premier ordre ou de deuxième ordre.

G- INFLUENCE DU TYPE DE MICROSCOPE

Il faut s'assurer de la relation entre l'orientation réelle du cristal par rapport à la direction de vibration lente (γ) de la lame auxiliaire et l'orientation apparente observée à travers l'oculaire d'un microscope donné. Cette orientation apparente dépend des particularités du système optique du microscope, comme les prismes du binoculaire, qui peuvent introduire une rotation de 180° et/ou une réflexion (image spéculaire). La réflexion peut donner une inversion gauche-droite ou haut-bas:

51



Orientation oblique à 45° est conservée par rotation de 180° mais est modifiée par réflexion. Pour éviter une interprétation erronée il est souhaitable d'avoir à sa disposition des préparations témoins de cristaux d'urate et de pyrophosphate.

Exemple

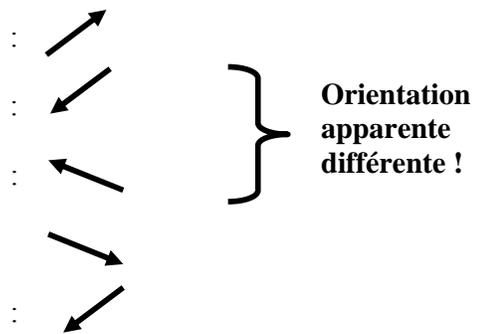
Lame :

Microscope Zeiss :

Photomicroscope Zeiss :

Photomicroscope (champ photographié) :

Photomicroscope (sur photo) :



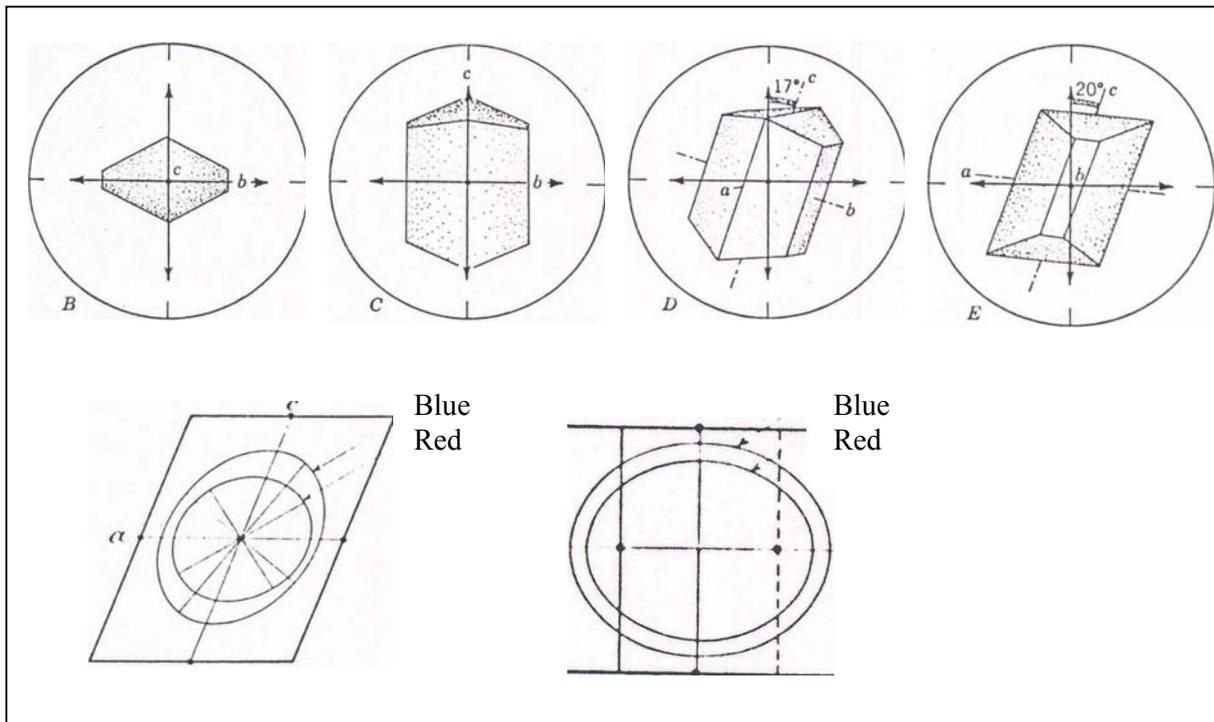
Attention : l'optique interne d'un microscope introduit des rotations et des réflexions. L'orientation apparente du cristal peut être différente de l'orientation réelle!

H- OBJETS BIREFRINGENTS DU LIQUIDE SYNOVIAL

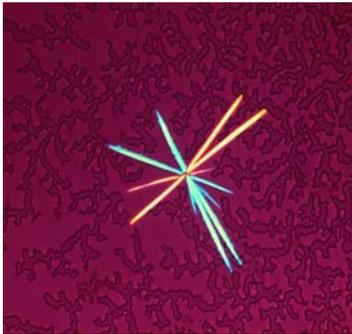
1) Cristaux

Les cristaux d'urate (fig. 53, 54) et de pyrophosphate (fig. 55) (biaxes monocliniques et/ou tricliniques) possèdent une symétrie très basse, ce qui entraîne des propriétés optiques complexes. Par exemple, l'extinction oblique qui dépend de l'orientation du cristal et l'extinction imparfaite due à l'influence de la longueur d'onde sur l'orientation de l'ellipsoïde des indices :

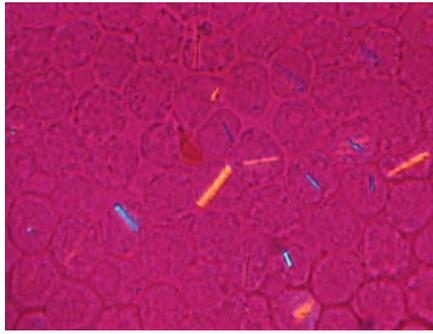
52



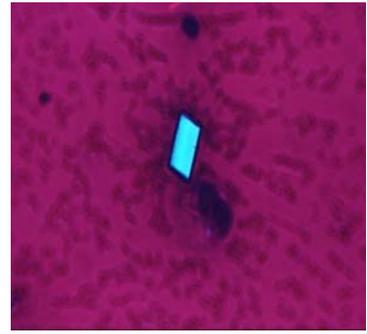
53



54



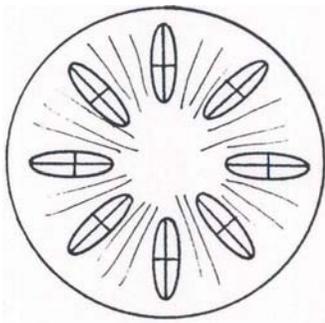
55



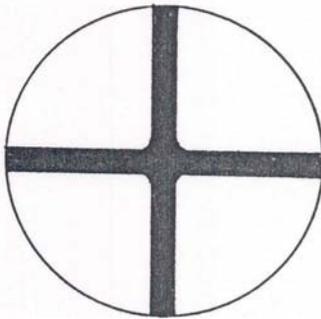
2) Structure radiale (structure sphérolitique, sphérulite)

L'arrangement radial des molécules d'une gouttelette lipidique donne une croix de Malte positive (vibration lente suivant les rayons).

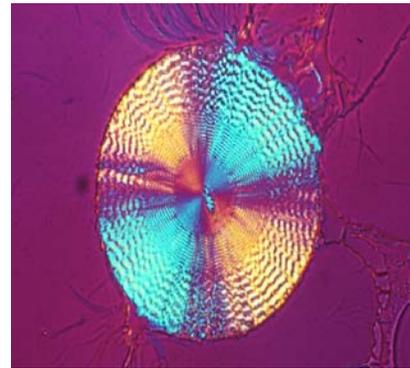
56



57



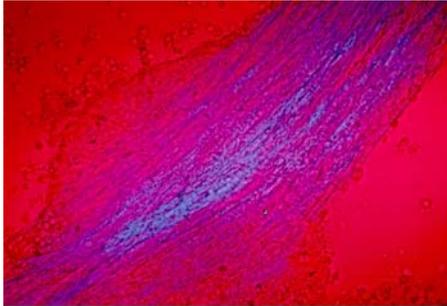
58



3) Structure fibreuse

L'alignement parallèle de molécules dans une fibre peut produire une biréfringence qui est généralement positive (vibration lente suivant la longueur des molécules, donc suivant la longueur).

59

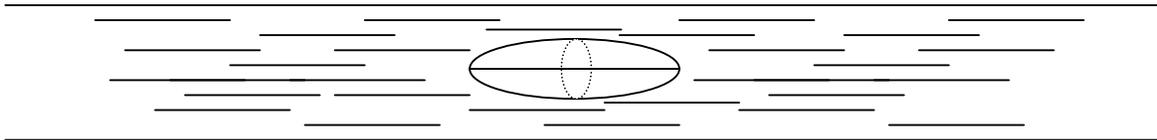


60



Exemple: collagène (fig. 50), fibrine, cellulose (= poussière), (fibres musculaires, amyloïde, os)

61



6. Arthrose et ostéoarthrite

Les cellules et les microcristaux dans le liquide synovial arthrosique (1)

L'arthrose demeure une maladie mystérieuse ... si ce n'est pas plutôt plusieurs entités différentes. La distinction entre l'ostéoarthrite et l'arthrose ou entre la maladie inflammatoire et la maladie dégénérative non inflammatoire continue de confondre les chercheurs dans le domaine... Nous ne traiterons pas du réseau complexe des enzymes et des facteurs biochimiques impliqués dans le processus inflammatoire et la dégradation du cartilage... Nous allons restreindre notre champ d'action à l'étude microscopique des cellules et des particules (principalement des microcristaux évidemment) du liquide synovial.

Références du Medline (2)

Mots-clés	depuis 1966	avant 1966	Total	
Liquide synovial (SF)		8765	550	9315
LS + cellules	1906	58	1964	
LS + cristaux	532	28	550	
LS + arthrose	1372		27	1399

Pour un aperçu global du sujet on peut consulter les systèmes de références Medline et Ovid. Ce système s'avère relativement rigoureux pour la littérature anglo-saxonne dans une rétrospective à partir de 1966. Les références antérieures proviennent de la banque de données de notre groupe. La revue actuelle dans Medline s'est terminée en juillet 2006, bien que nous continuons de vérifier constamment les nouveaux apports qui nous intéressent)

La revue des articles est basée sur les quatre mots-clés suivants: liquide synovial, cellule, cristal et arthrose.

En dépit de près de 9,000 articles publiés répondant au mot-clé «liquide synovial », leur examen met en évidence de nombreux résultats discordants

Le liquide synovial arthrosique (3)

Les éléments marquants du liquide synovial arthrosique sont :

- La viscosité réduite...
- Une abondance de cellules mononucléées (lymphocytes et monocytes)
- La présence de fibrilles et fragments de cartilage
- Des agrégats d'apatite

- La présence de microcristaux de pyrophosphate (dans 30% des cas)
1 à 2 microns de longueur

Examen microscopique (4) du liquide synovial en fonction du temps

	<u>immédiat</u>	<u>de routine</u>
GB /mm³	935	200-2000
% PMN	6.0	0-5
% Lympho	67.0	90-95
% MNC	27.0	5-10

Les résultats obtenus immédiatement (sur le champ) proviennent d'une recherche clinique sur l'arthrose. Les tests dits « de routine » avaient toutes sortes de provenances: hôpitaux généraux, régionaux, universitaires. Il s'agit toujours de liquides non inflammatoires avec une cellularité inférieure à 2000 cellules par mm³. L'examen immédiat du liquide synovial présente des résultats qui diffèrent, des valeurs obtenues à partir des liquides synoviaux de la routine. Ces derniers liquides peuvent avoir cheminé par le courrier ou encore été retardés par les congés ou week-end. Sans compter la possibilité que les diagnostics posés ailleurs en milieu non spécialisés offrent une précision moins garantie. Le terme « lympho » sur ce tableau représente à la fois les lymphocytes et les lymphoblastes ou lymphocytes activés. Les cellules mononucléées ou « MNC » sont les monocytes, les macrophages et les synoviocytes.

Le liquide synovial dans l'arthrose

Cellules: résultats contradictoires (5)

- **Intérêt renouvelé pour des cellules spécifiques**
- **Détection problématique des microcristaux**

Nous allons voir maintenant que cette tête de chapitre n'est pas simplement un énoncé provocateur mais c'est malheureusement aussi un fait ... Et cela non seulement en ce qui concerne les cellules mais aussi les microcristaux comme nous allons le voir plus tard. En conséquence, il existe un besoin de meilleure standardisation de la synovianalyse et ceci malgré les efforts réalisés à cette fin en Europe et en Amérique.

Résultats contradictoires (6)

- **Évaluations quantitatives des cellules**

- Décompte total des leucocytes (G.B.)
- Décompte différentiel des G.B.

Évaluation cellulaire qualitative

- Cellules particulières

C'est vraiment un casse-tête de passer en revue la littérature scientifique au sujet des cellules du liquide synovial tant du point de vue quantitatif que qualitatif. On est surpris par les résultats paradoxaux ou contradictoires.

Résultats discordants pour un même échantillon de liquide synovial (7)

GB /mm³ = 2477 - 12000

% PMN = 0 – 30

Hasselbacher P 1987

Déjà il y a près de 20 ans, Hasselbacher P. avait attiré l'attention sur ces résultats très variables. En effet, il avait envoyé 4 spécimens identiques de liquides synoviaux à 26 laboratoires d'hôpitaux différents. Ils en avait obtenu des résultats très variables comme le montre le tableau ci-joint. Donc il y a une grande variation d'un laboratoire à l'autre...pour un même spécimen.

Résultats cliniques paradoxaux dans l'arthrose (8)

La présence d'une grande quantité de liquide synovial dans une articulation est un signe évident d'inflammation.

Toutefois, dans l'arthrose, il n'y a pas de corrélation entre la gravité de la maladie et le degré d'atteinte radiologique. Ainsi, des atteintes minimales peuvent être associées à une hydarthrose importante, alors qu'on peut observer des dommages importants sans hydarthrose significative.

L.

Punzi et al. 2005

Le décompte des globules blancs fournit une information quantitative de l'inflammation, mais il faut se rappeler que la frontière entre la zone non-inflammatoire et l'inflammatoire est plutôt imprécise. Il en est de même entre la zone inflammatoire et la zone septique, qui demeure plus ou moins vague et floue. D'où ces résultats doivent être interprétés à l'aide du tableau clinique.

Résultats contradictoires dans l'arthrose (9)

	%PMN	% L	%M
Naib (1973)	79	21	0
Maricourt (1978)	1-99	-	-
Cohen (1985)	10	35	55

Dans l'arthrose, il est fort difficile de montrer des données précises face à la grande variabilité des résultats comme on peut se rendre à l'évidence par les chiffres de ce tableau.

Il n'en demeure pas moins qu'il est difficile de comprendre une confusion entre neutrophiles et lymphocytes. La difficulté de faire les examens sur le champ, la différence dans les techniques utilisées peuvent être les raisons ou prétextes expliquant les différents résultats à moins que ce ne soit le fait que le terme arthrose recouvre différentes pathologies sous le même toit.

Décompte des leucocytes (GB) et des neutrophiles: influence des conditions d'entreposage (durée et température). (10)

- No total des GB: diminue après 1 à 3 jours
 - à la t° de la pièce: 49 et 70%
 - à 4° C : 25 et 65%
- Diminution des PMN à 4o C: 31% après 1 jr
78% après 3 jrs
- Pas de changement significatif pour les mononucléées.
Dougados et al. 1996

Dougados et son groupe ont démontré que les conditions d'entreposage comme la durée et la température avaient des effet importants sur les résultats de décomptes cellulaires. Entre autres les neutrophiles qui ont une demi-vie plus courte et sont plus fragiles que les mononucléaires (MNC). On observe donc une chute rapide de la population des neutrophiles dans le liquide synovial. Par contre, le nombre des MNC ne diminuait pas beaucoup comme on pouvait le prévoir.

La conclusion d'une revue de la littérature sur le liquide synovial a mis en évidence le besoin de nouvelles investigations pour mieux évaluer la synovianalyse particulièrement sous son aspect d'identification des cellules et des cristaux. (11)

Swan et al Ann Rheum Dis 2002

D'autres centres, dont le groupe de Dieppe à Bristol avec un article de Swan et al. se sont joint à cette croisade pour signaler d'améliorer la méthodologie et l'enseignement de la synovianalyse. Réf.1-7 2002.

Identification de microcristaux: Examens répétés d'un même liquide synovial (12)

augmentent la sensibilité ...
mais aussi le risque d'erreurs positives (néoformation de cristaux d'urate)
ou d'erreurs négatives (dissolution de cristaux de pyrophosphate).
Shan Yan et al. 2003

Ref 2.5

Synovianalyses retardées...(13)

•L'examen microscopique d'échantillons conservés à 4°C ou à - 80°C peut mettre en évidence, avec une forte probabilité, les cristaux d'urate ou de pyrophosphate s'ils étaient déjà présents au moment du prélèvement.

Galvez et al, 2002

2.8 (ref

Pour l'examen microscopique du liquide synovial et l'identification des microcristaux, il existe toujours un grand besoin d'entraînement et de contrôle de qualité. (14)

Chen and Schumacher 2006

Ref1. 1 Récemment, Schumacher à répété le leitmotiv dans une revue annuelle sur le liquide synovial

•Intérêt renouvelé pour des cellules spécifiques (15)

Nous passons au deuxième chapitre sur les cellules particulièrement significatives et sur l'espérance que certaines cellules spécifiques seront dans le futur des atouts diagnostiques plus spécifiques.

Cellules observées dans le liquide synovial arthrosique(16)

Polymorphonucléaires (PMNs ou neutrophiles)

Lymphocytes et lymphoblastes

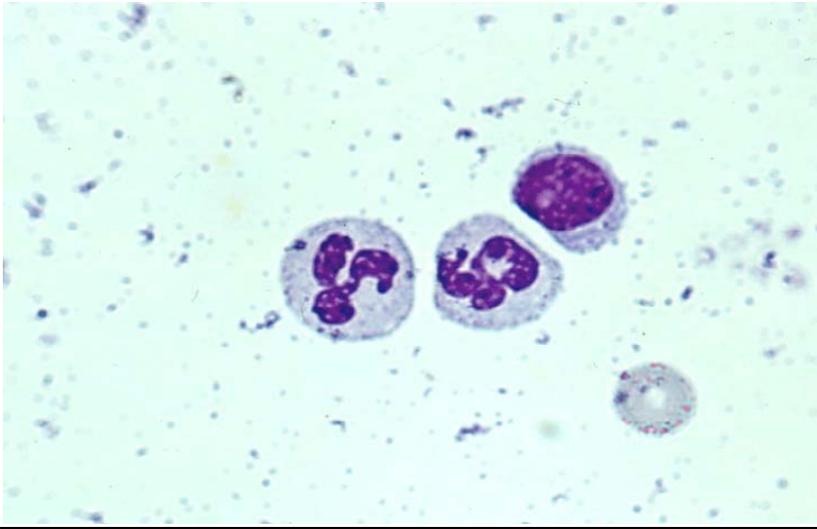
Cellules en mitose

Monocytes et macrophages

Synoviocytes

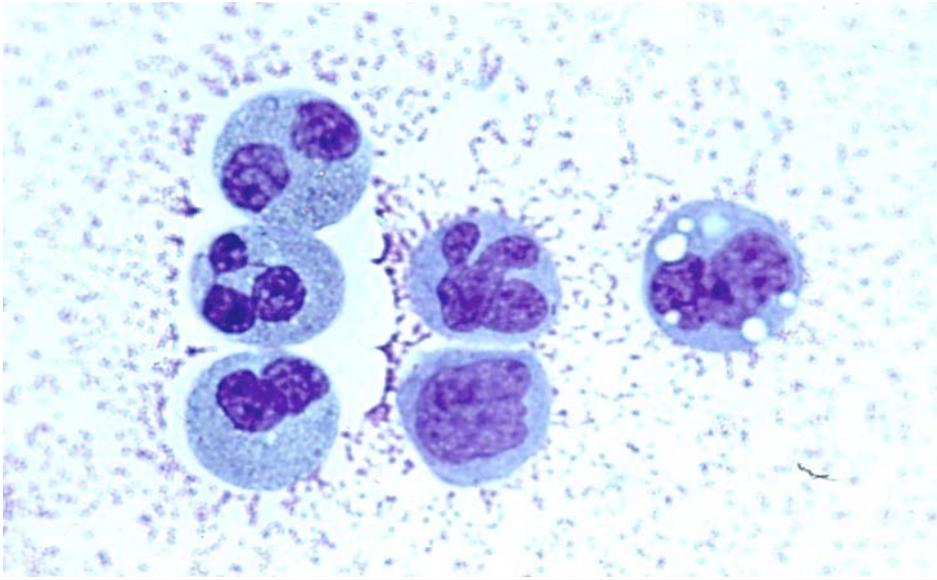
Éosinophiles

Le liquide synovial dans l'arthrose est typiquement non inflammatoire avec un décompte cellulaire variant de 200 à 2000 cellules/mm³. Il est constitué majoritairement de cellules mononucléées. On y retrouve de 60 à 90% de lymphocytes et lymphoblastes. Et de 10-30% de grandes cellules mononucléées. Il y a moins de 10% de neutrophiles. Nous allons maintenant passer en revue individuellement les cellules du tableau.



Jy30-238

Deux PMN avec un lymphocyte en haut et un érythrocyte en bas à droite. (17)

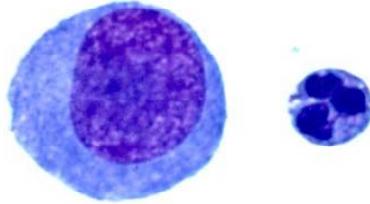


iy30-222

Quatre PMN avec un lymphocyte et une cellule phagocytaire.. (18)

LYMPHOCYTES ACTIVÉS (IMMUNOBLASTES) (19)

Les lymphocytes activés sont aussi appelés immunoblastes ou lymphoblastes . On les retrouve lorsqu'il y a inflammation à caractère immunologique comme dans la PR.



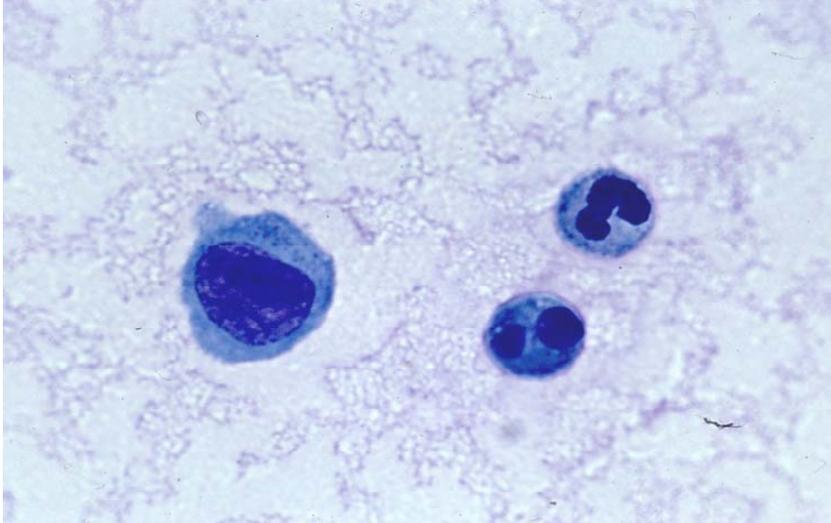
iy30-227

Un lymphoblaste à gauche avec un PMN à droite . La différence de taille est démonstrative.. (20)



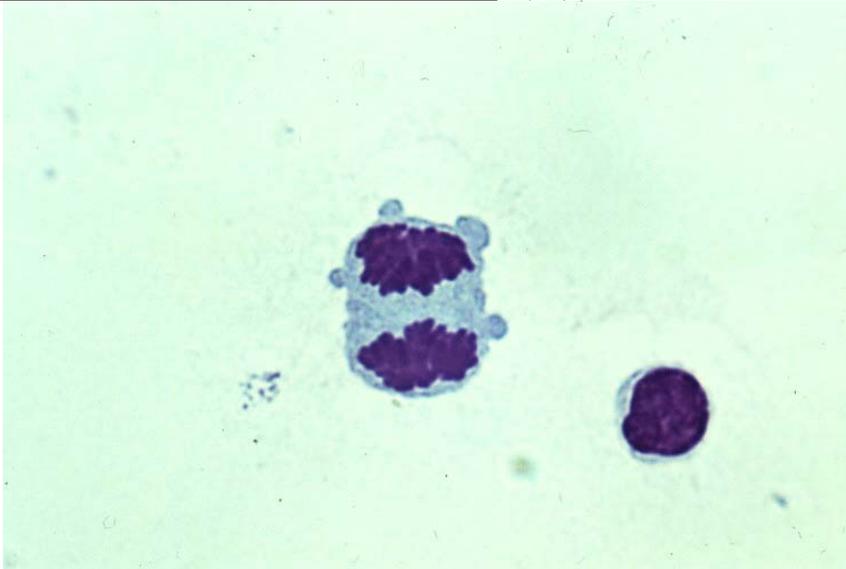
Jy24-049

Deux lymphoblastes avec un monocyte à droite (21)



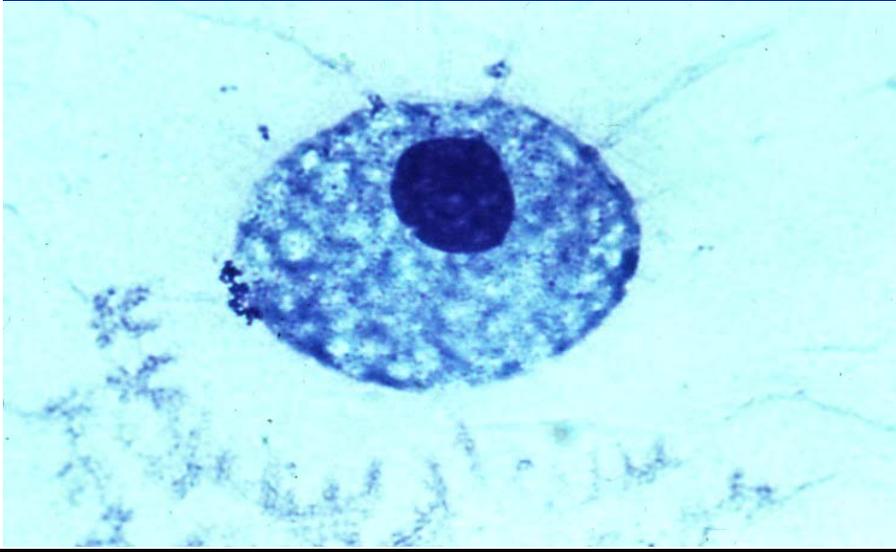
Jy30-226

un lymphoblaste à gauche et 2 PMN. (22)



Jy24-050

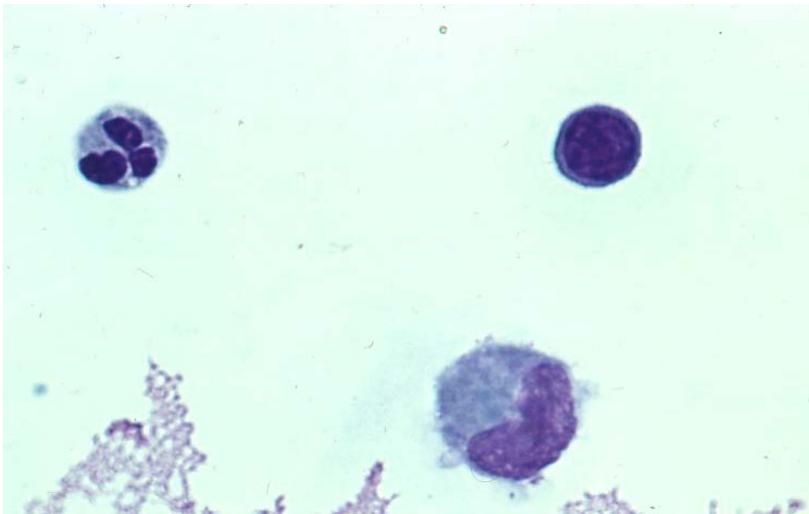
Un immunoblaste peut être suractivé au point d'entrer en **mitose** comme sur le cliché actuel. C'est un phénomène possible mais rare dans l'arthrose. Il est plus fréquent dans la PR, l'arthrite psoriasique et les spondylarthropathies. (23)



Jy24-054

Grand macrophage spumeux (24 - 25)

Parfois on peut observer de grandes cellules d'environ 40 microns de diamètre.



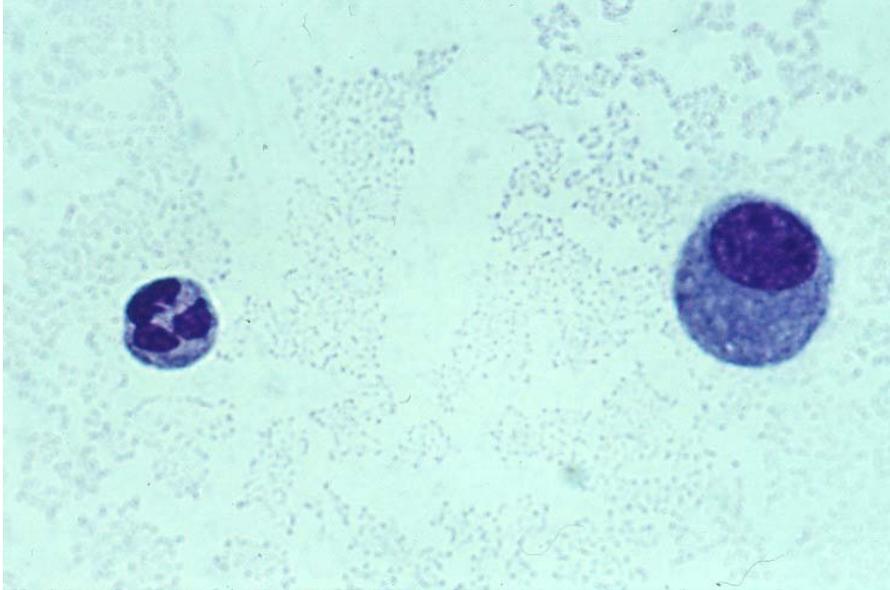
Jy24-052

MONOCYTES (26-27)

Un PMN et un lymphocyte en haut et un grand monocyte en bas .

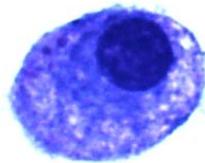
SYNOVIOCYTES (28)

Les synoviocytes ont un petit noyau ovale et excentrique. On distingue généralement deux types: le synoviocyte A, qui est phagocytaire et le synoviocyte B, qui est sécréteur. Certains auteurs soutiennent qu'il existe un troisième type de synoviocyte (C) qui cumulerait les deux fonctions. Enfin une autre école propose que c'est une seule et même cellule qui joue les deux rôles et se transforme selon les besoins du milieu physiologique ou pathologique.



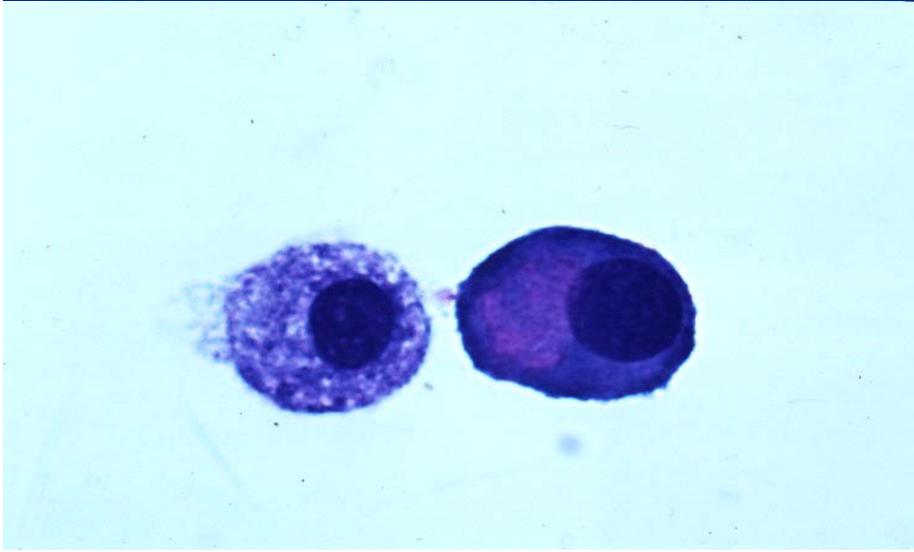
ky30-241

Un PMN à gauche et un synoviocyte A phagocytaire à droite (29)



Jy24-057

Un autre synoviocyte A phagocytaire (30)



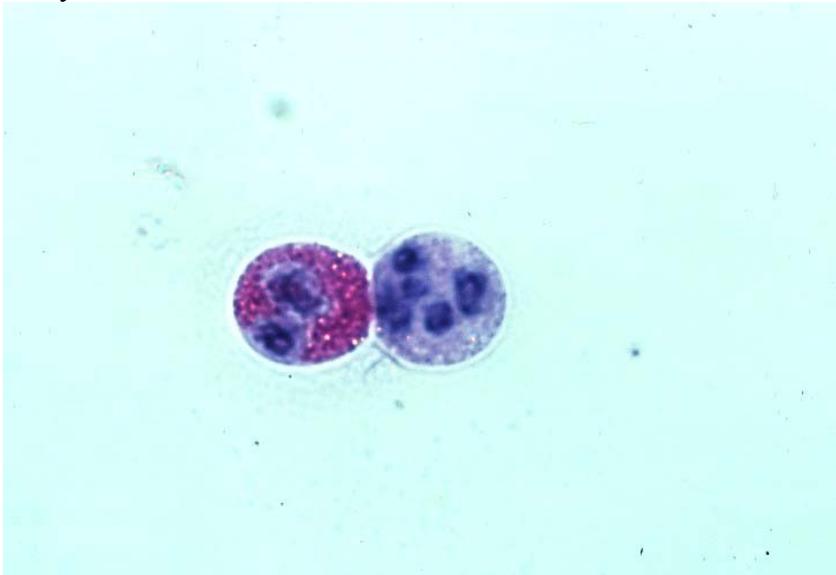
ky24-058

Synoviocyte A phagocytaire à gauche et un synoviocyte B sécréteur à droite (31)

ÉOSINOPHILES (32)

Réaction allergique à la suite d'une injection intra-articulaire de Hylan G-F 20 (33)

Nous avons observé la présence d'éosinophiles dans le liquide synovial de patients arthrosiques ayant développé une réaction allergique après une injection intra-articulaire de Hylan G-F 20 ...



M07\$0005

Cette microphotographie montre un éosinophile flamboyant à gauche à côté d'un PMN.. (34)

Ref. 2.12 Les éosinophiles sont souvent les témoins d'une réaction allergique comme c'est le cas ici après une injection intra-articulaire de Hylan.

CHARCOT-LEYDEN

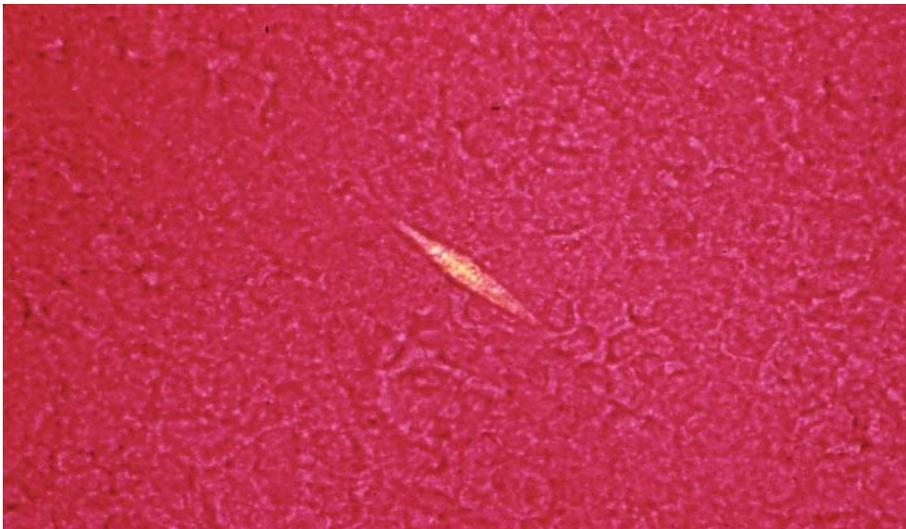


jjy22-131

Cristal de Charcot-Leyden : (35)

La dégradation du éosinophile et la fragmentation de ses granules qui contiennent de la lysophospholipase provoque la formation intracellulaire de cristaux de Charcot-Leyden que vous voyez ici et qui sort de la cellule. Le contraste interférentiel de Nomarski donne l'impression que le cristal est éclairé d'un seul côté occasionnant *une fausse impression de relief en 3D*.

Les basophiles contiennent aussi de la lysophospholipase mais sont exceptionnels dans le liquide synovial .



ag14-065

Sous polarisation avec filtre rouge de premier ordre, ces cristaux de Charcot-Leyden sont toujours positivement biréfringents et non pas négativement biréfringents contrairement à ce que certains auteurs ont écrit.. (36)

Autres cellules observées dans le liquide synovial

Plasmocytes et cellules de Mott

Lipophages

Cellules multinucléées et cellules géantes

Mastocytes

Basophiles

Cette liste de cellules comprend des cellules beaucoup plus rares et souvent leur signification n'est pas encore élucidée.



Jy29-036

Serait-ce un lipocyte? (38)

Présence de synoviocytes multinucléés dans le liquide synovial arthrosique. (39)

Freemont 1991

La présence de synoviocytes multinucléés n'a pas été confirmée en ce qui nous concerne. C'est une trouvaille exceptionnelle (soit 1 à 2 cas par 1000 liquides arthrosiques). Elles pourraient signaler la présence d'érosions dans la pathologie en cours.

Le fait diagnostique le plus remarquable dans l'arthrose est la présence de cellules cartilagineuses multinucléées. (40)

Naib 1973, Braderick 1976

Certains auteurs sont plus spécifiques et considèrent que les cellules cartilagineuses multinucléées ont une valeur diagnostique dans l'arthrose (18). Nous n'avons pu confirmer cet énoncé.

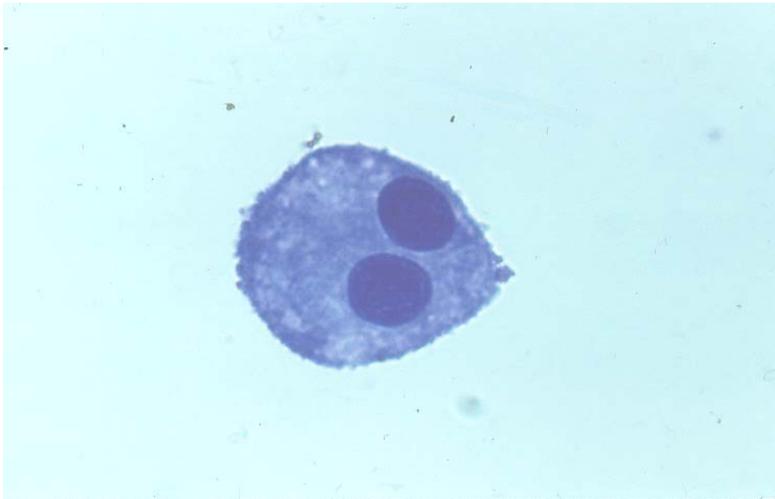
CELLULES GÉANTES MULTINUCLÉÉES (41)

On rencontre occasionnellement des cellules géantes multinucléées d'un diamètre d'environ 20 à 40 micromètres de diamètre

Les macrophages du liquide synovial sont capables de se transformer en ostéoclastes et de résorption lacunaire consécutive. (42)

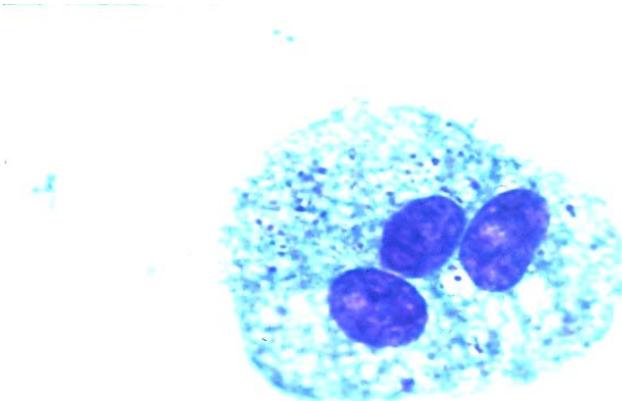
Adamopoulos et al. J Pathol 2006

Ref 6.1 Un article intéressant est paru récemment sur la capacité des macrophages du liquide synovial à se transformer en ostéoclastes et démontrer le pouvoir de résorption lacunaire consécutive... pouvant ainsi offrir une tentative d'explication des érosions osseuses telles que rencontrées dans certaines arthropathies comme la PR, l'arthrite psoriasique, la goutte ou l'ostéoarthrite érosive



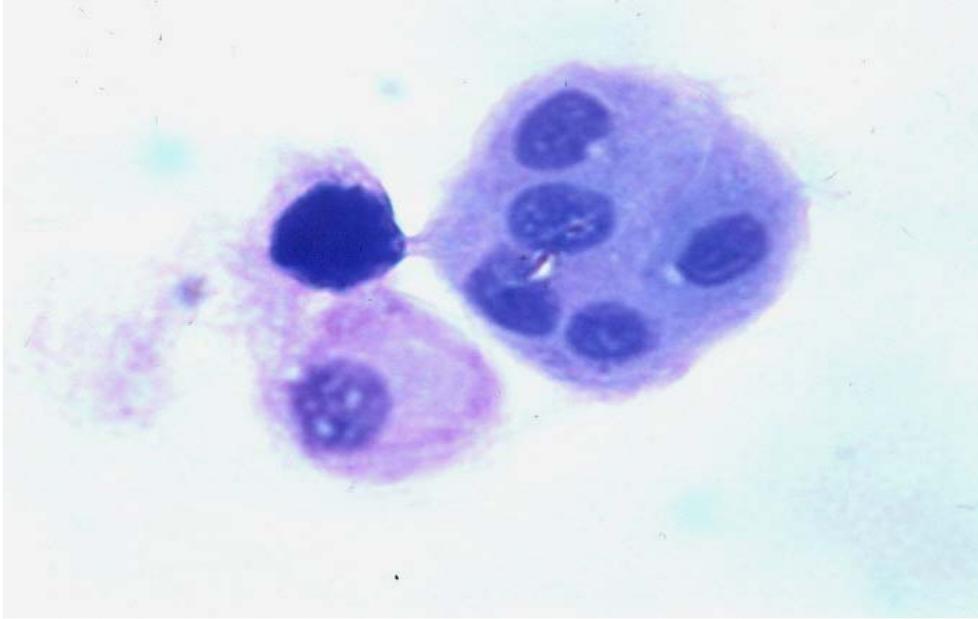
Ag14-031

Un macrophage synovial binucléé. Serai-ce un synoviocyte capable de transformation ostéoclastique? (43)



Ag14-045

Voici un autre polykaryocyte soit une cellule géante trinuéée.. (44)



ky30-312

Puis, à la droite une cellule géante multinucléée. Elle fut retrouvée dans une ostéoarthrite érosive. Est-ce **un polykaryocyte de type ostéoclastique?** (JY30-312) (45)

Mastocytes dans le liquide synovial (46)

Nombre élevé dans l'arthrose

- comparable avec la PR
Dean G... Freemont AJ 1993
- plus élevé que dans la PR
Renoux M. ...Menkes JC 1995

Dean en 1993 et Renoux en 1995 ont rapporté la présence de mastocytes dans l'arthrose. Nous ne pouvons confirmer ces énoncés...

Le liquide synovial dans l'arthrose (47)

•Détection problématique des microcristaux

•

Passons maintenant à l'intéressante problématique des microcristaux.

Particules endogènes dans le liquide synovial arthrosique (48)

- pathogéniques:

pyrophosphate, apatite et population mixte

- non-pathogéniques:

Fibrine, fragments de cartilage, de membrane synoviale, de ligament, de muscle.

« rice bodies », globules de lipides, cristaux de cholestérol

cristaux d'hémoglobine

Nous allons maintenant réviser d'autres cristaux endogènes plus rares du liquide synovial.

Dans l'arthrose on observe, d'une part, des particules pathogéniques comme les cristaux de pyrophosphate et apatite, et d'autre part, des particules innocentes ou des témoins passifs comme les cristaux de Charcot-Leyden, de cholestérol ou d'hémoglobine.

Identification des cristaux du liquide synovial au microscope polarisant(49)

Très pauvre reproductibilité

inter- et intra-laboratoire

Dieppe 1999, Segal 2000

Cristaux de pyrophosphate non-biréfringents? ((50)

Cristaux détectés au microscope polarisant :

18% de pyrophosphate

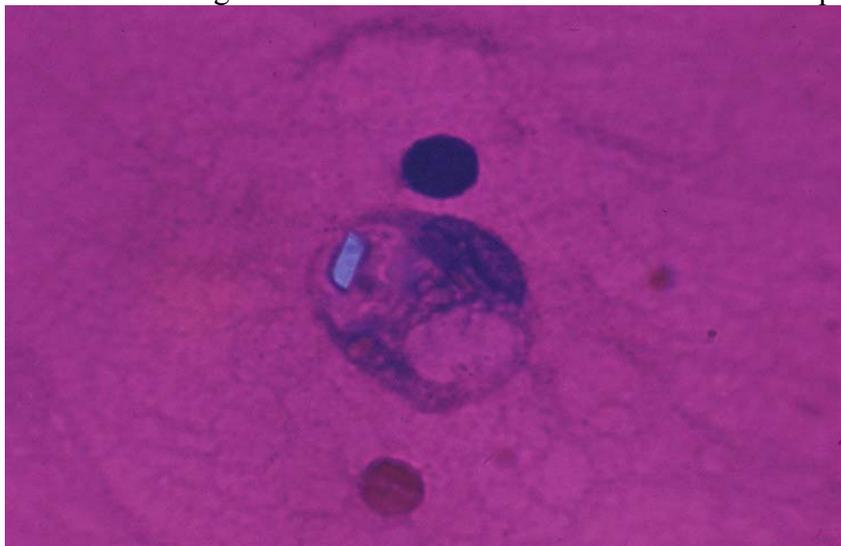
127% d'urate

Pascual, Jovani 2005

L'étude microscopique appropriée est la clé d'une recherche clinique ou d'un diagnostic adéquat. Après avoir examiné les liquides synoviaux en microscopie photonique ordinaire à la recherche de cristaux de pyrophosphate de calcium et d'urate de sodium; l'examen au microscope polarisant était moins efficace pour identifier les pyrophosphate (l'expliquant p.c.q. ces cristaux sont peu biréfringents) et la polarisation supérieure avec des cristaux très biréfringents tels que les cristaux d'urates. C'est ainsi que le groupe espagnol de Pascual rapportait que seulement 1 sur 5 cristaux de pyrophosphate ou CPPD étaient détectés en polarisation!

MICROCRISTAUX DE PYROPHOSPHATE DE CALCIUM (51-52)

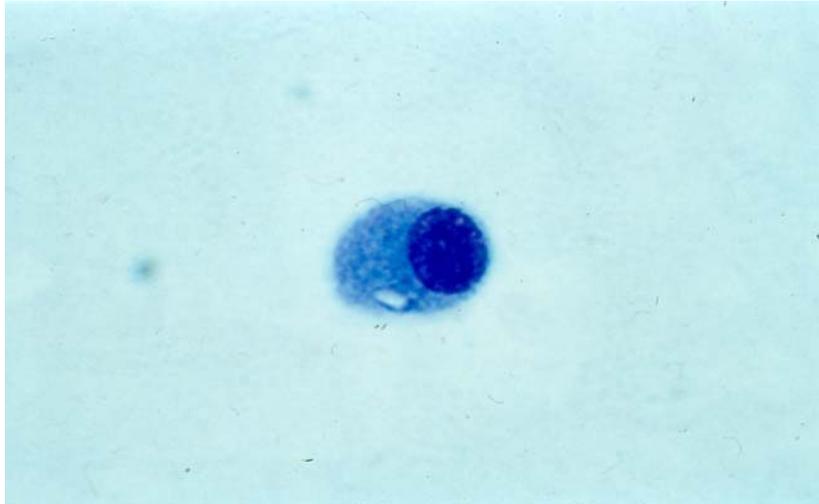
Dans l'arthrose, on peut observer assez souvent de très petits cristaux de pyrophosphate libres et/ou phagocytés par de grosses cellules mononucléées (monocytes, macrophages et synoviocytes A). La plupart de ces microcristaux ont des dimensions de seulement 1 à 2 microns en longueur d'où la difficulté de les détecter et de les photographier.



Jy24-078

MICROCRISTAL DE PYROPHOSPHATE PHAGOCITÉ PAR UN SYNOVIOCYTE (53)

On peut souvent observer sous polarisation un cristal de pyrophosphate dans un phagolysosome d'une cellule colorée au Wright.



Mr07\$0001

(54) La coloration de Wright fut utilisée pour ce synovioyte A phagocytaire contenant un microcristal de pyrophosphate

Le rôle des microcristaux dans l'arthrose (55)

Est-ce que la présence de microcristaux dans un LS est un signe de mauvais pronostic ?

Quelle est la contribution des cristaux de pyrophosphate dans l'inflammation synoviale chronique de l'arthrose largement médiée par les cellules mononucléées?

Les patients avec des cristaux dans le LS sont plus vieux, ont une plus longue morbidité et une maladie plus sérieuse. (56)

R. Schumacher 1983 , 2002

REF 2,7

Ça semble logique mais la démonstration n'est pas définitivement faite..

Les cristaux, une cause de dommages cartilagineux?

Les cristaux, un résultat de dommages cartilagineux? (57)

Il y a deux possibilités:

Soit que la déposition de cristaux est un facteur primaire menant au dommage cartilagineux articulaire arthrosique.

Soit que ce n'est qu'un phénomène secondaire résultant du dommage cartilagineux

Deux modèles chez l'animal militent en faveur de cette hypothèse .

Le premier : (58)

L'addition de cristaux de pyrophosphate intra-articulaires chez un modèle d'arthrose du lapin par méniscectomie a occasionné une aggravation de la maladie. Les mêmes cristaux injectés dans des articulations normales de lapin n'ont causé aucun dommage cartilagineux. A. Fam 1995

Le deuxième : (59)

Dans le modèle POND-NUKI d'arthrose chez le chien, la quantité de cristaux d'apatite dans le liquide synovial augmente avec le temps alors que la sévérité de l'arthrose s'accroît. Altman 1997

Toutefois, il ne faut pas oublier une vérité énoncée il y a environ 1000 ans. ☹(60)

“Expérimenter un médicament chez le lion ou chez le cheval pourrait bien n'avoir aucune signification chez l'humain.

Avicenne 1000

Influence de microcristaux de pyrophosphate sur le traitement au Hylan (61)

13 avec cristaux de pyrophosphate

45 patients arthrosiques

32 sans cristaux de pyrophosphate –

Comme nous venons de le dire, plusieurs auteurs croient que la présence de microcristaux dans le liquide synovial arthrosique est un mauvais signe, un indicateur de mauvais pronostic. Nous avons tenté de vérifier cela chez des patients qui ont reçu traitement de viscosuppléance par l'hylan intra-articulaire. 92 LS provenant de 45 patients arthrosiques furent examinés. 13 patients sur 45 (29%) avaient des cristaux de pyrophosphate dans le liquide synovial, visible en microscopie photonique.

Réponse clinique au Hylan (62)

Liquide synovial No Réponse clin. SEM

pyrophosphate + 13 1.923 0.195

pyrophosphate - 32 1.484 0.167

Score (différence): 0.439 t = 1.507 p = 0.139

Il existe une tendance à l'amélioration avec le Hylan en présence de cristaux de pyrophosphate.

La réponse clinique fut évaluée sur une échelle de 0 (pas de rép.) à 3 (excellent soulagement)

La réponse clinique des patients avec des microcristaux ne fut pas pire que celle des 32 patients sans cristaux. Il y avait même une tendance à démontrer une meilleure évolution...

Inflammation subclinique (63)

Des cristaux sont observés dans des phases inter-critiques de goutte aussi bien que dans les arthropathies associées aux cristaux de pyrophosphate..

Ces cristaux étaient phagocytés majoritairement par les cellules mononucléées (83%)

Pascual et al. (1999 & 2005)

Ref 2.1 Très intéressant comme article. Pascual et son groupe avaient déjà démontré en 1999 la présence de cristaux phagocytés dans le liquide synovial des patients goutteux durant les phases intercritiques. En 2005, il publie des travaux identiques mais sur les arthropathies à pyrophosphate. Ces cristaux étaient majoritairement phagocytés par des macrophages mononucléés soit 83%. On peut donc interpréter cela en supposant que les MNC sont des acteurs ou des témoins d'une inflammation microscopique qui est silencieuse cliniquement ou encore d'une inflammation subclinique..



Jy21-098

(64) ou? Jy29-107 ->

À l'opposé de cette inflammation peu intense, lors d'une crise de goutte suraiguë, ce sont les neutrophiles qui jouent le rôle de phagocytes et ça ne se fait pas en douceur.

Vous voyez ici un neutrophile ou **PMN** qui a phagocyté plusieurs cristaux d'urate. .

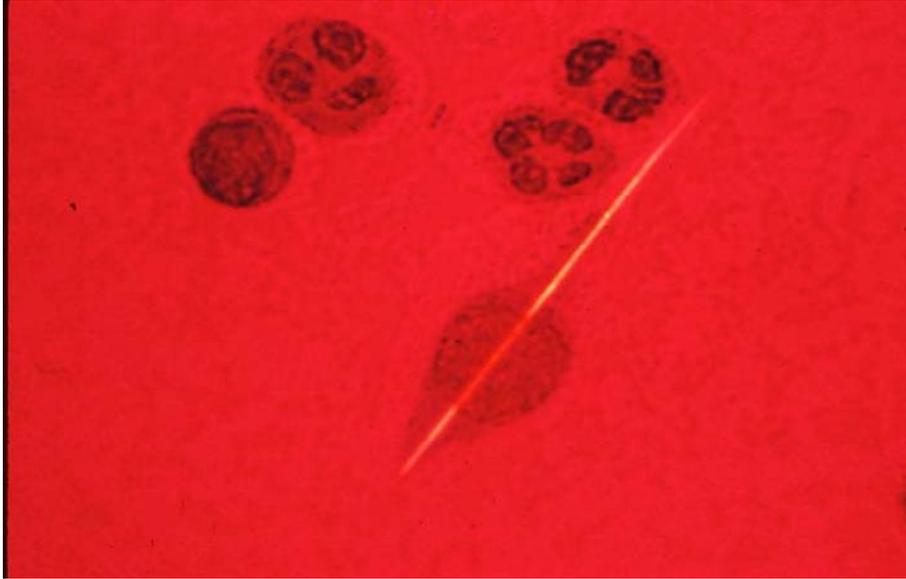
Le cytoplasme en est vidé. Il s'est formé une herniation à la partie supérieure. Ces photos furent prises comme un time-lapse soit à quelques minutes d'intervalle.



(65) Jy29-108 →

Quelques secondes plus tard la pression intraphagocytaire est trop forte, **la membrane éclate**, rejetant à l'extérieur tout les produits inflammatoires du lysophagosome, provoquant une nécrotaxie que nous voyons aux clichés suivants (66) et jy29-109.

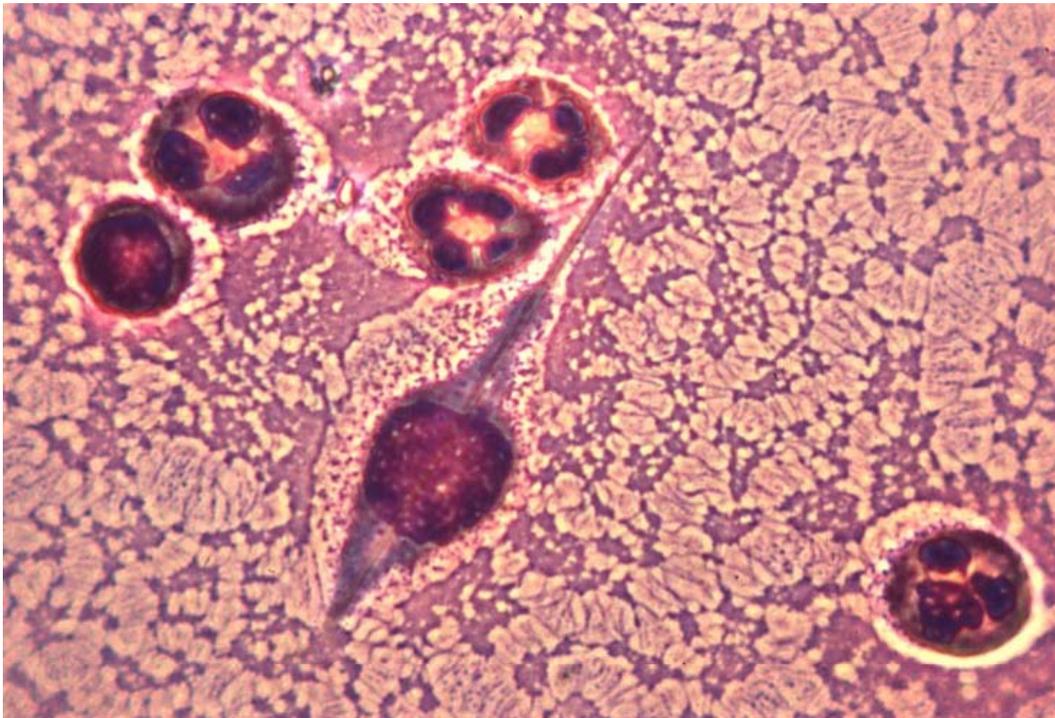




(67) Jy30-324

(68)? →

Les **MNC sont des cellules coriaces** qui ne succombent pas aussi facilement que les **PMN lors de phagocytose** . Leur demi-vie est aussi plus longue. Elles peuvent ingurgiter un cristal d'urate qui n'en finit plus (42 microns de long). Elles peuvent donc être soit acteur d'une inflammation subaiguë, soit témoin soit les deux à la fois. Le tout dans un tableau clinique relativement silencieux.



(68)

Jy29-091 →

Même image avec la coloration de Wright visualisé en photonique.

(69) Les cristaux de pyrophosphate intra-cellulaires et extracellulaires sont couramment observés dans des liquide synoviaux d'articulations non-inflammées de patients présentant une arthropathie associée aux cristaux de pyrophosphate.

Sanchis and Pascual 2005

Apatite: le troisième cristal important (70)

•**Dans les arthropathies dégénératives, des microcristaux d'apatite sont observés dans le liquide synovial jusque dans 70% des cas.**

•**Est-ce que la présence de cristaux d'apatite est une cause ou un effet?**

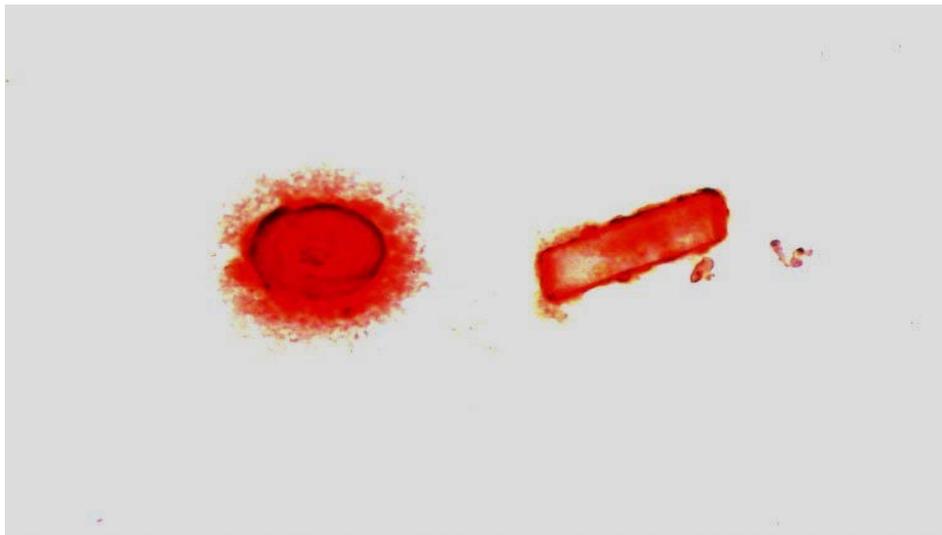
Il s'agit d'un sujet débattu ces derniers temps en particulier entre Paul Dieppe et Geraldine McCarthy.

Comme les apatites stimulent la libération de divers produits inflammatoires (PGS et mitogènes) par les fibroblastes et chondrocytes. Ainsi la balance penche plutôt du côté causal plutôt que du côté conséquence. Du moins c'est l'avis de Geraldine McCarthy 2006.

AGGREGATS D'APATITE COLORÉS AU ROUGE D'ALIZARINE (71)

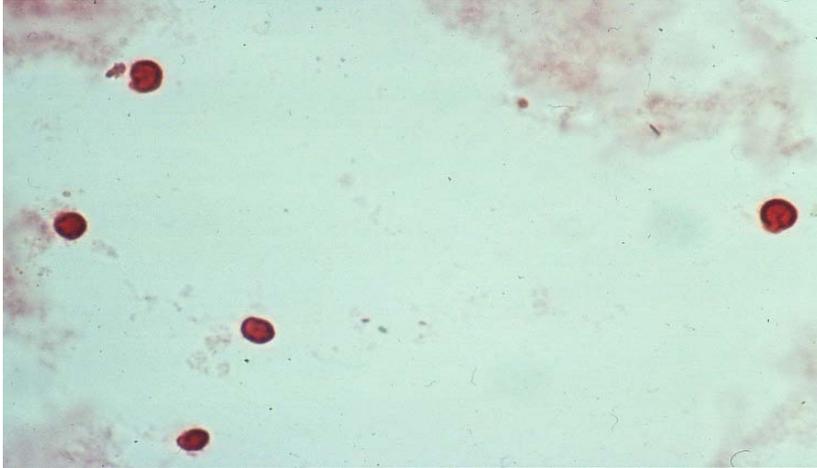
Les cristaux d'apatite sont trop petits pour être détectés par les techniques de microscopie optique. Il faut utiliser la microscopie électronique, ou encore la coloration du calcium par le rouge d'alizarine.

Les cristaux d'apatite forment des agrégats qui se colorent bien au rouge d'alizarine et plus rapidement que les cristaux de pyrophosphate de calcium.



jy29-032

Comme démontré ici, l'agrégat d'apatite à gauche se colore plus rapidement que le cristal de pyrophosphate à droite. (72)



Jy24-085

Dans l'arthrose, on peut voir habituellement des petits globules d'apatite qui sont colorés très nettement par le rouge alizarine. La structure concentrique est caractéristique. (73)



Jy24-086

Cette structure concentrique caractéristique est mieux visualisée ici. Elle peut être biréfringente (positivement en polarisation avec filtre rouge représentant des minisphérulites). (74)

.



Ag14-002

(75) Ag14-002 ->

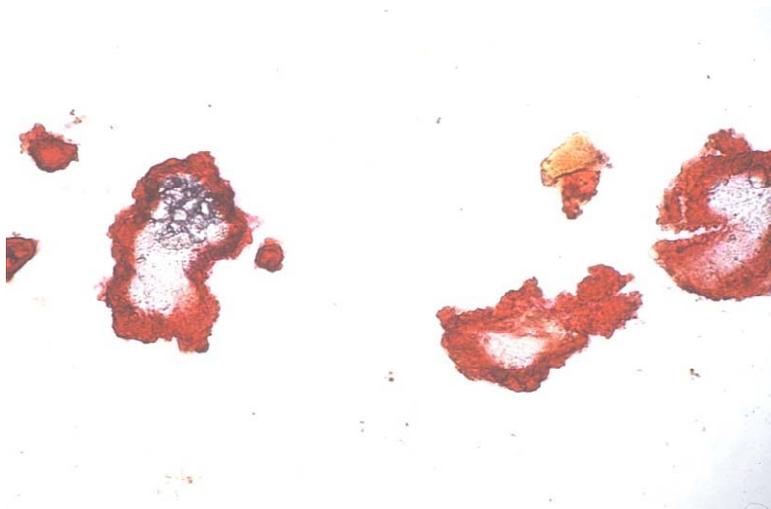
En plus des petits globules d'apatite fréquents dans les LS arthrosiques, on peut parfois observer de plus grands agrégats d'apatite... certains ressemblent à des „shiny coins“ ...qui se colorent au rouge alizarine instantanément.

Ici ce sont des amas d'apatite en microscopie photonique. Ils sont trop faiblement biréfringents pour être visualisés en polarisation.



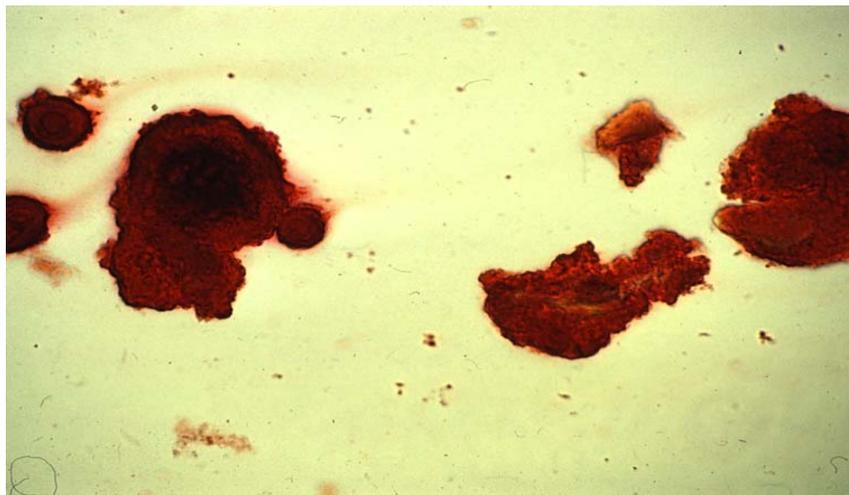
(76) Ag14-003>

Même champ avec un début de coloration au rouge alizarine



(77) Ag14-016

Le rouge alizarine pénètre davantage. La coloration s'intensifie.

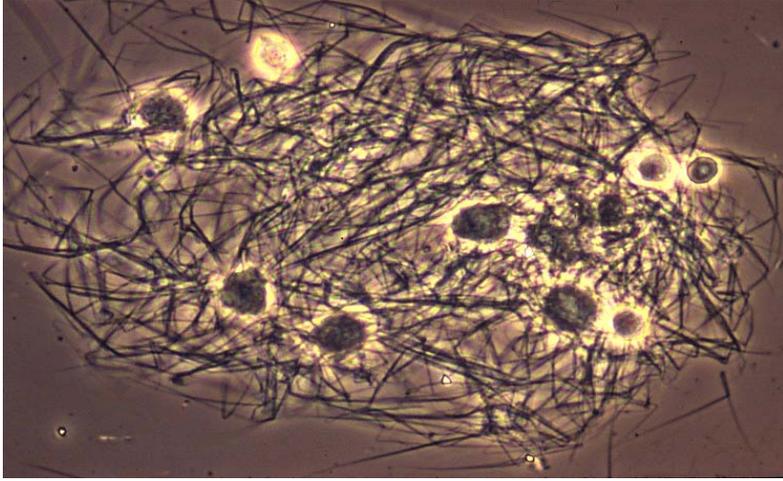


(78) Ag04-223

La coloration est maintenant complétée.

FIBRILLES (79)

Ces fibrilles, parfois appelées « fibres » proviennent de cartilages en dégénérescence.



Jy24-076

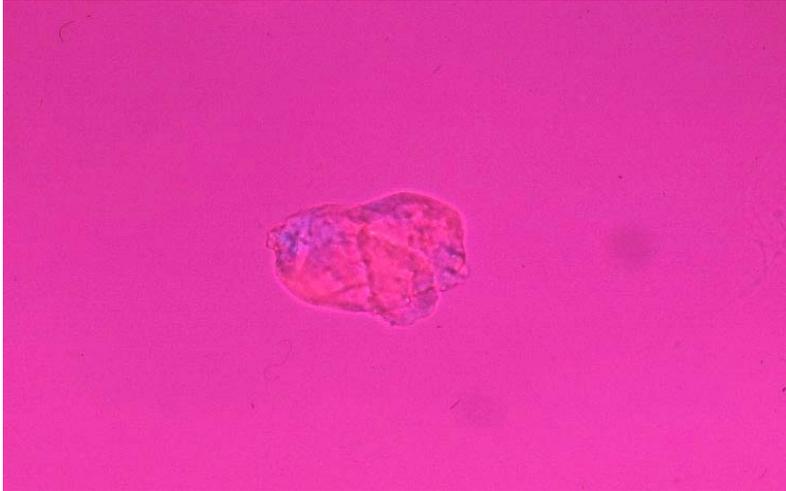
(80) Ces fibrilles peuvent former un treillis qui emprisonne des cellules.

CARTILAGE (81)

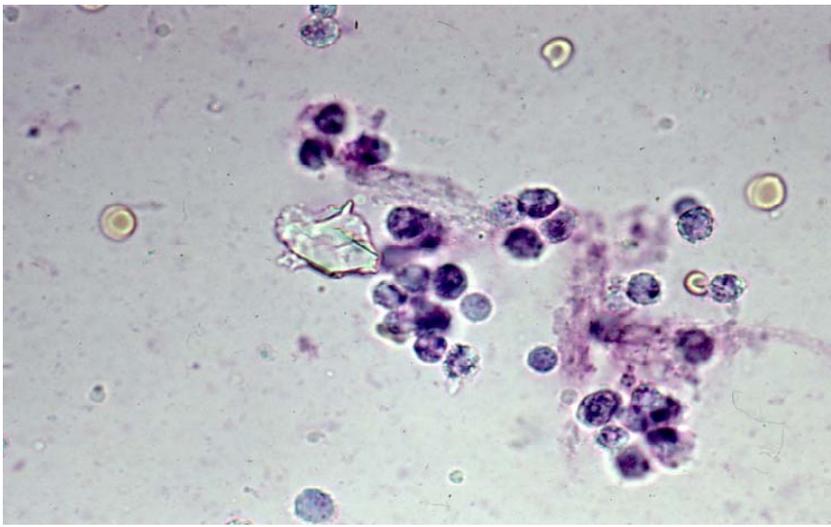


+Jy24-073

Dans l'arthrose, il est classique de retrouver des fragments de cartilage. (82) Ils peuvent ressembler à des fragments de verre au microscope photonique.



Jy24-074



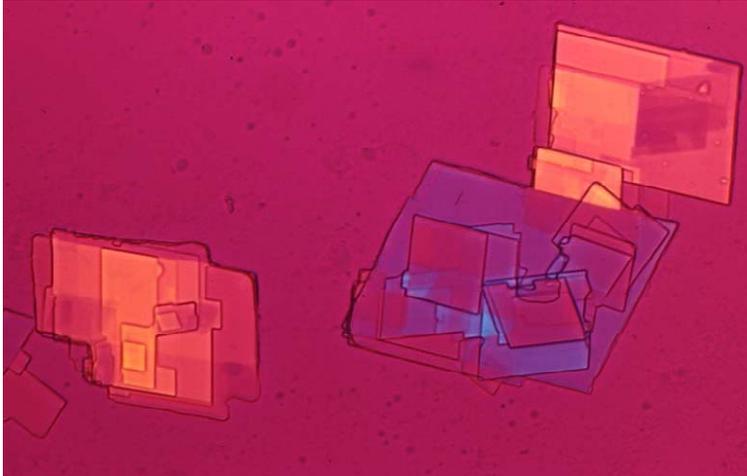
Cartilage... (114) Jy22-245

Fragment de cartilage dans un état frais coloré au bleu de Toluidine

(83) **Les fragments de cartilages sont légèrement biréfringents sous polarisation.**

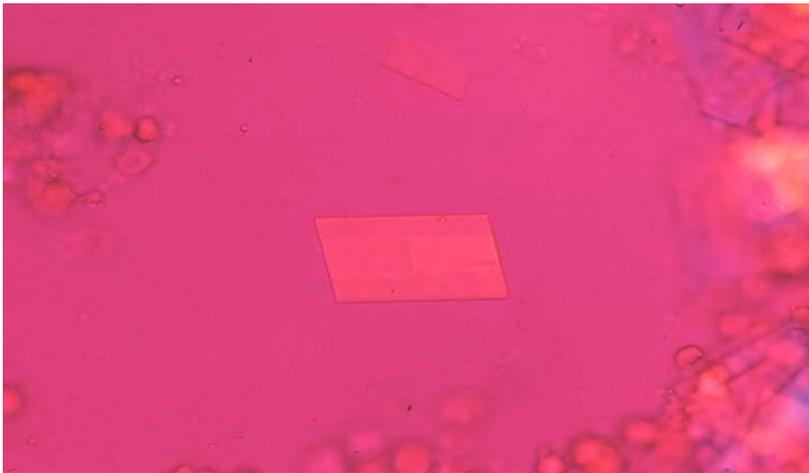
CHOLESTÉROL (84)

On peut rencontrer des cristaux de cholestérol dans l'arthrose mais moins fréquemment que dans la PR.



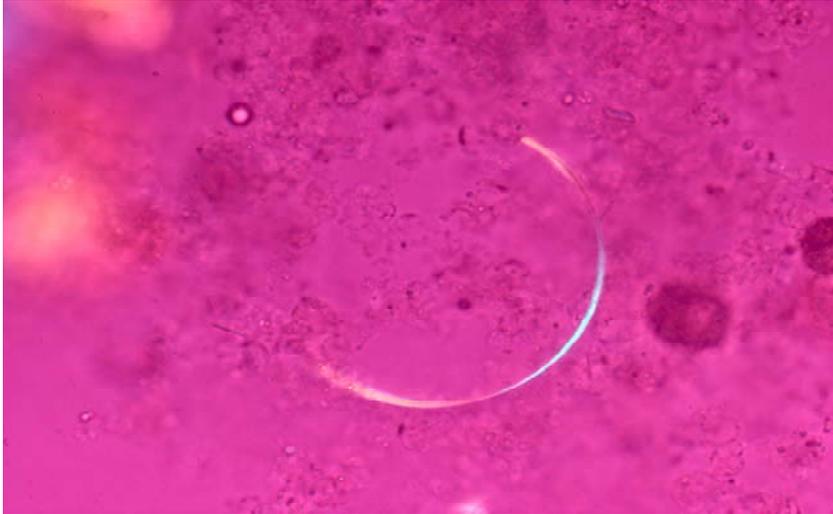
Ag05-059

(85) Ces cristaux de cholestérol plats ont souvent une encoche sur un coin mais pas toujours...



Ag05-053

En voici un régulier. (86)



Mr07\$0014

Ils peuvent être curvilignes comme ici (87).



Sp29-004

(88) Voici une cellule mononucléée qui «sent» le cristal de cholestérol mais ne le phagocyte pas, signalant du coup qu'il n'est pas pathogène ou phlogogène. Nous n'avons jamais observé de cristal de cholestérol phagocyté par les cellules du liquide synovial. Cela illustre probablement qu'ils ne sont que des témoins ou spectateurs passifs et ne sont ni pathogènes ni phlogogènes. Ce cliché illustre aussi l'intéressant potentiel de la microscopie en contraste de phase dans la détection des cellules et microcristaux.

CRISTAUX D'HÉMOGLOBINE (89)

Lors du vieillissement des globules rouges, on peut observer des cristaux intracellulaires d'hémoglobine.



(9

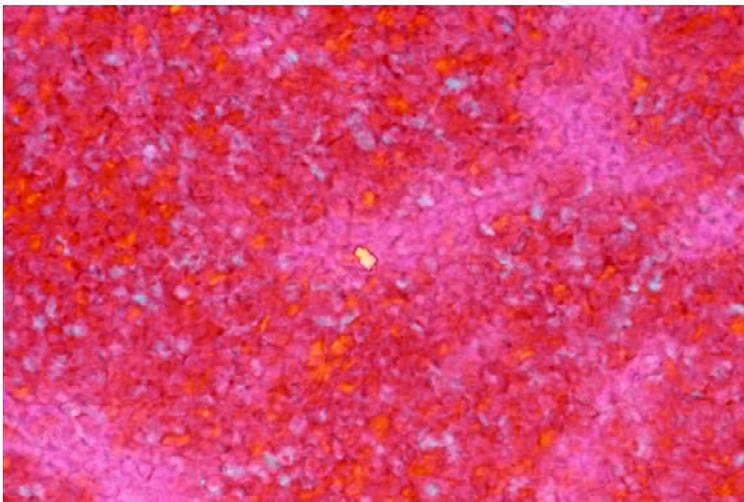
(90) Jy22-207

Comme on peut le visualiser ici en microscopie en contraste interférentiel (Nomarski).



((91) Ja31\$0005 -> confusion possible...

Dans les cas d'hémarthrose par arthropathie traumatique ou d'autre origine, il peut y avoir confusion avec les cristaux de pyrophosphate.



(92) Ja31\$0003

On peut s'y méprendre en polarisation: le cristal de pyrophosphate (en jaune au centre) est positivement biréfringent, alors que les cristaux d'Hb sont négativement biréfringents.

AUTRES PARTICULES OBSERVÉES

DANS LE LIQUIDE SYNOVIAL ARTHROSIQUE (93)

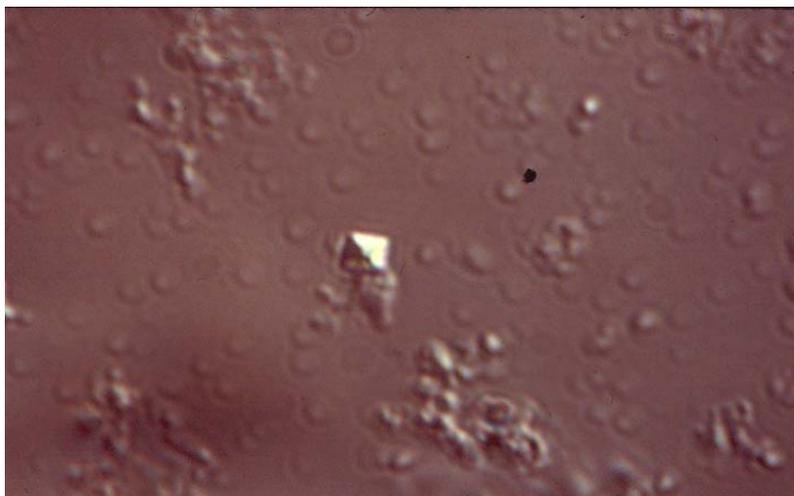
pathogéniques:

- **Cristaux de corticostéroïdes** (parfois...). *Attention : ces cristaux peuvent rester longtemps dans une articulation, de l'ordre d'un mois.*

non-pathogéniques:

- **Poussières de l'air, spores fongiques, fibres textiles...**
- **Artéfacts de stockage**
- **«dessiccation» → particules biréfringentes spectaculaires**
- **Cristaux de corticostéroïdes** (normalement)
- **Cristaux néoformés d'urate in vitro** (chez les hyperuricémiques)

Les cristaux de corticostéroïdes injectés dans une articulation peuvent occasionnellement être phagocytés et provoquer une synovite microcristalline iatrogène qui se manifeste par une recrudescence passagère laquelle s'*autotraite* et rentre dans l'ordre rapidement. Toutes sortes d'artéfacts peuvent mélanger les cartes comme certaines cristallisations formées in vitro, entre autre avec l'urate dans les cas d'hyperuricémie chez des non-goutteux. Étant donné la concentration sérique élevée, l'ion urate légèrement saturé peut traverser la barrière hémot-synoviale facilement. Ce milieu favorise donc par dessiccation ou refroidissement cette cristallisation in vitro (entre lame et lamelle) de l'urate de sodium. **Il est important de distinguer les cristaux d'urate néoformés in vitro des cristaux formés in vivo. Ces derniers sont de petite taille (en général 5 à 10 microns) et sont phagocytés principalement par des neutrophiles et des monocytes. Les cristaux néoformés sont plus grands (souvent de 20 à 100 microns). Ils ne sont pas phagocytés et forment souvent des touffes (images spectaculaires).**



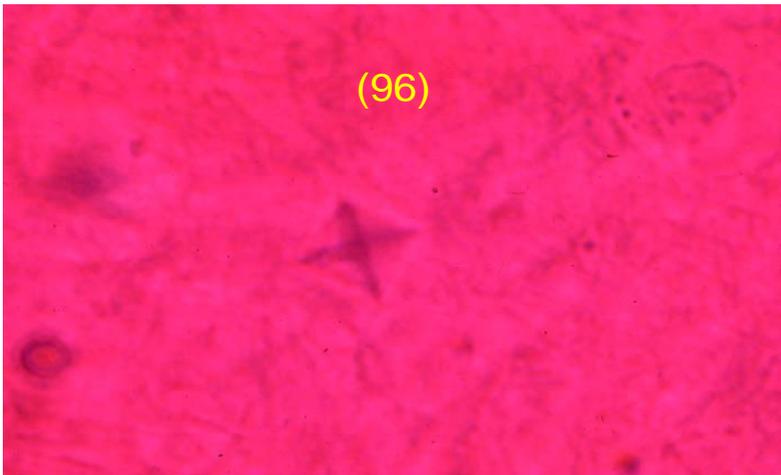
Jy30-142

Certains milieux utilisent encore l'oxalate de sodium comme anticoagulant. Il peut donc se retrouver sur les frottis sous forme d'oxalate de calcium. C'est un cristal caractéristique (94)



(95) Ag14-064

Avec le contraste interférentiel de Nomarski, on peut facilement mettre en évidence la forme octaédrique des cristaux d'oxalate de calcium (bipyramide à base carrée).



Jy22-137

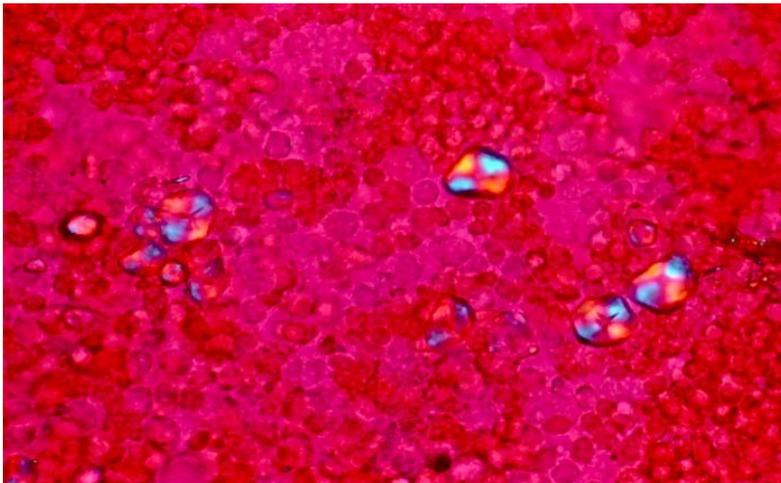
Un cristal d'oxalate de calcium visualisé en polarisation avec le filtre rouge de premier ordre (96).

Gouttelettes de lipides (97)



Jy22-111

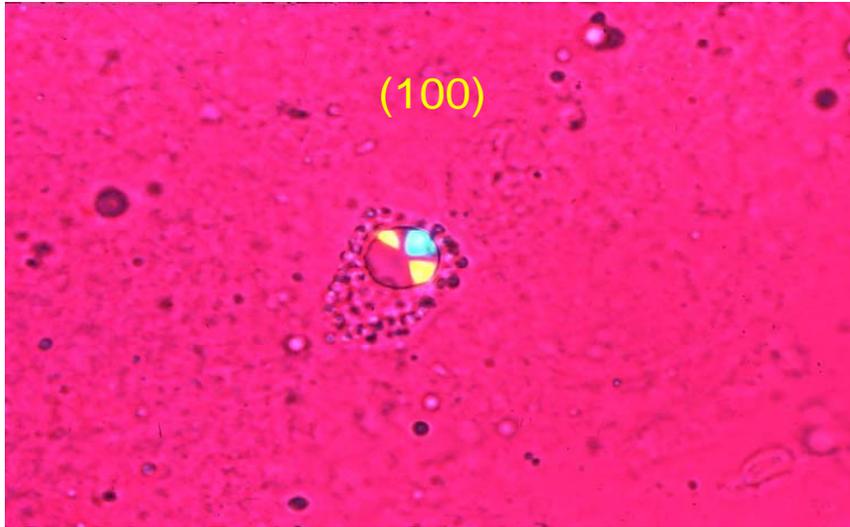
Les gouttelettes de lipides comme beaucoup d'autres structures peuvent donner des croix de Malte en polarisation. (98)



Jy22-110

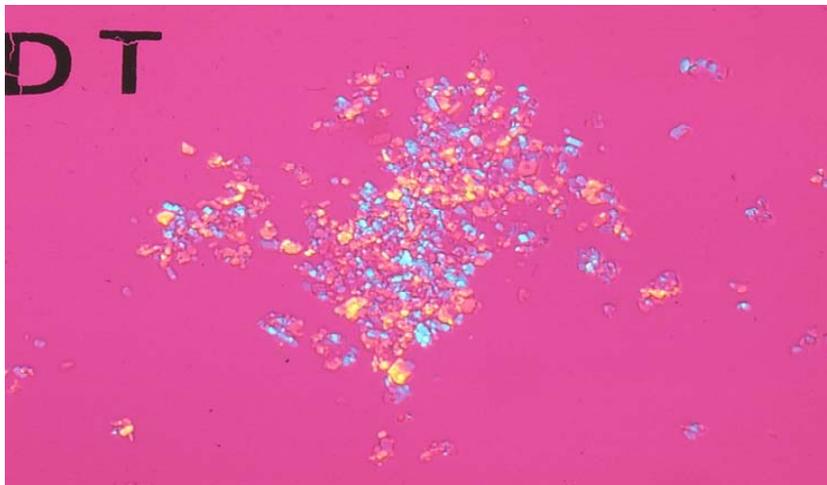
Même chose avec polarisation et filtre rouge (99)

Dans des cas rares, les gouttelettes de lipides sont phagocytées et provoquent une réaction inflammatoire.



(100) Ag04-236

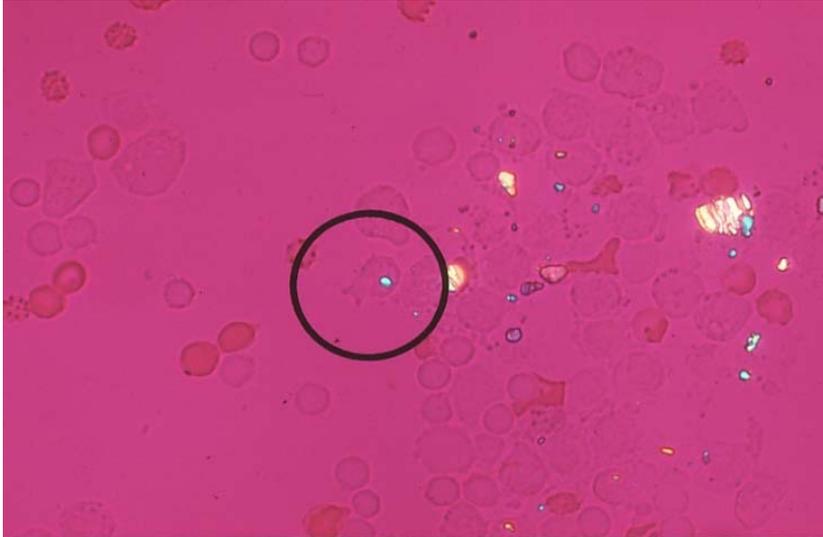
Voici un image particulière lors d'une synovite à lipide. On y voit un globule graisseux (5 microns de diamètre) phagocyté par un neutrophile. Le globule est partiellement digéré.



Jy22-183

(101) Ref 6.5 **Cristaux de corticostéroïdes post -infiltration.** ->

Quand on fait une ponction articulaire d'un patient ayant déjà reçu des stéroïdes intra-articulaires auparavant, on peut en retrouver sous forme cristalline relativement longtemps après.l'arthrocentèse.



Jy22-175

(102) Voici un **crystal de stéroïdes phagocyté**. Le patient a peut-être eu une réaction inflammatoire iatrogène suite à une infiltration intra-articulaire.



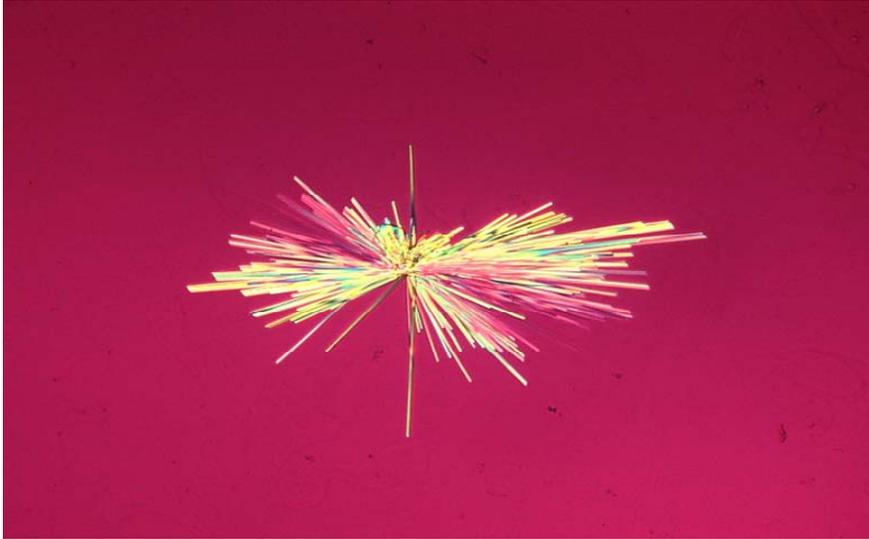
(
(103) Jy22-237

Artefacts: fibres tissulaires

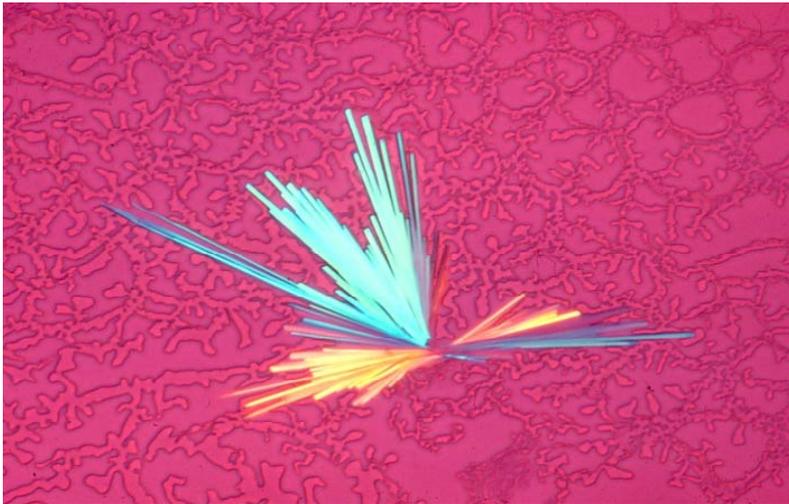
(104) **Artefacts: cristallisations in vitro de cristaux d'urate de sodium dans le liquide synovial d'un patient hyperuricémique non-goutteux.**

(105 ad 108) ->

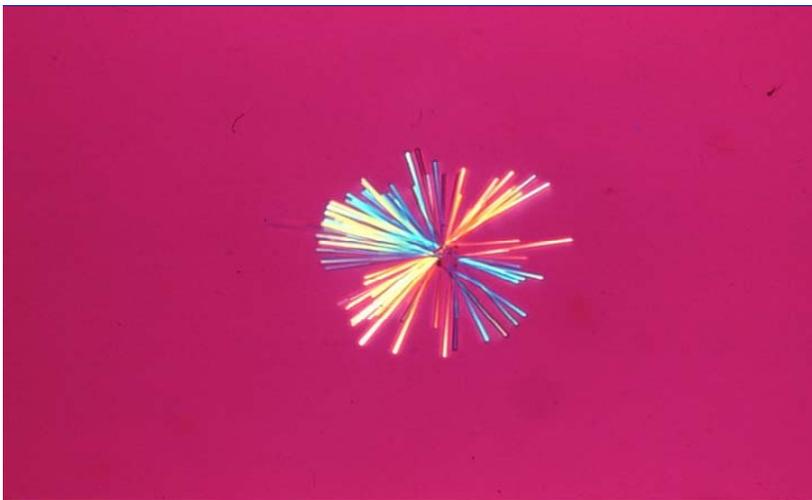
Autres néoformations cristallines in vitro d'urate de sodium, souvent plus spectaculaires que significatives cliniquement.



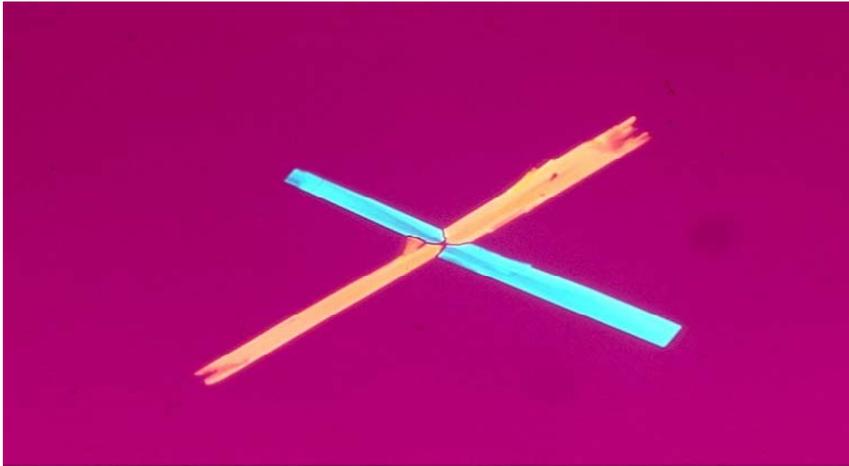
104 = jy29-085



105 = jy30-293



106 = jy30-294



107 – jy30-289



108 = jy22-197

CONCLUSION (109)

•Synovianalyse:

**Besoin d'une meilleure standardisation
et d'un meilleur entraînement**

•Sous-groupes cliniques d'arthrose:

plus de recherches requises pour une meilleure caractérisation.

Il y a beaucoup à faire dans le domaine pour les cliniciens et pour les chercheurs cliniciens et fondamentalistes.

CONCLUSION (110)

•Cellules

PMN -> inflammation aiguë

MNC phagocytaires -> inflammation chronique

Cell. géantes multinucléées -> arthropathies érosives

•Cristaux et particules

Pathogéniques (pyrophosphate, apatite...)

Non-pathogéniques (cholestérol...)

Artéfacts

Les PMN neutrophiles jouent le rôle d'acteurs ou de témoins dans l'inflammation aiguë ou suraiguë. Les MNC phagocytaires sont impliqués dans l'inflammation subaiguë ou chronique telles que les arthropathies à microcristaux contenant du calcium. De leur côté, les cellules géantes multinucléées semblent participer aux dégâts ostéolytiques dans la PR, l'arthrite psoriasique, la goutte, l'ostéoarthrite érosive. Les éosinophiles se retrouvent dans les réactions allergiques.... Beaucoup de cellules attendent que les chercheurs découvrent leurs rôles.

7. Arthrite à corps étrangers

Arthrite à corps étrangers

Index-f-Arthrite à corps étranger.doc

Ci-après description d'un cas typique de synovite à corps étranger.

Arthrite à épine d'oranger

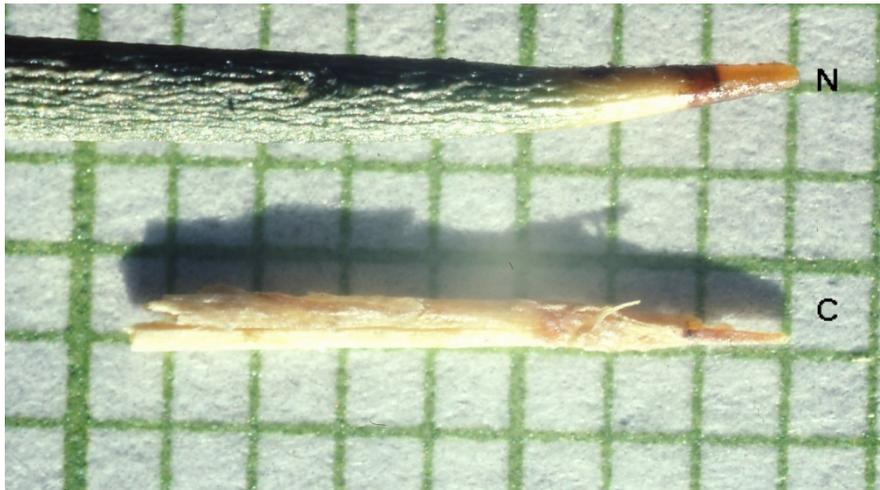
Le 1^{er} janvier 1989, un garçon de 9.5 ans en vacance en Floride, s'est piqué le genou droit (à la face interne), en grimpant dans un oranger. Quelques heures après, le genou droit était gonflé et douloureux. Au Health Center local le jeune patient a reçu des antibiotiques, car il était fébrile avec une leucocytose à 15,000.

¼

Au retour de vacances, le 5 janvier, l'inflammation s'était aggravée. Les parents consultent en orthopédie. Comme les cultures du liquide synovial étaient négative, le genou fut plâtré durant une semaine.

Le 20 janvier, une arthroscopie a mis en évidence une importante synovite hypertrophique et un fragment d'épine de 7,5 x 1,0 mm qui a été recueilli par lavage. Ce fragment était corrodé et des particules ligneuses ont été observées dans le liquide synovial (LS).

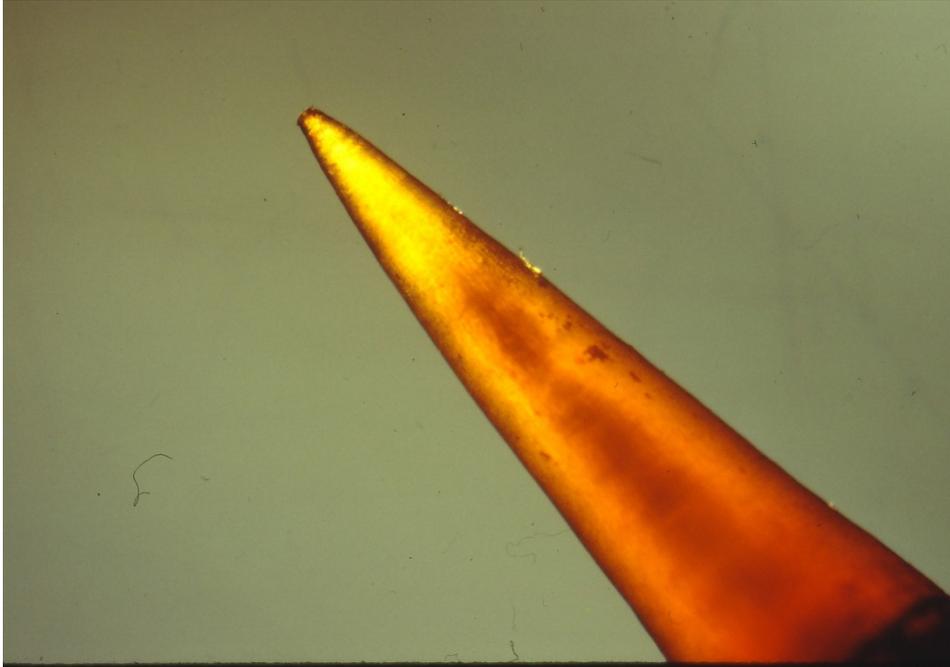
Dans ce LS inflammatoire, des dérivés de l'oxygène (ion superoxyde, eau oxygénée) formés par des neutrophiles sont capables d'attaquer divers constituants du bois et ainsi de fragmenter une pointe d'épine. L'importante réaction inflammatoire et la présence de lymphocytes activés (lymphoblastes, immunoblastes) peuvent s'expliquer par la formation et/ou la libération de molécules actives comme des phénols dérivés de la lignine et des mitogènes (lectines et oligosaccharides).. Dans ce LS, on peut aussi noter la présence de macrophages dont certains ont phagocyté des neutrophiles (cellules de Pekin), ainsi que des polynucléaires éosinophiles et des cellules en mitose..



Acem00.jpg

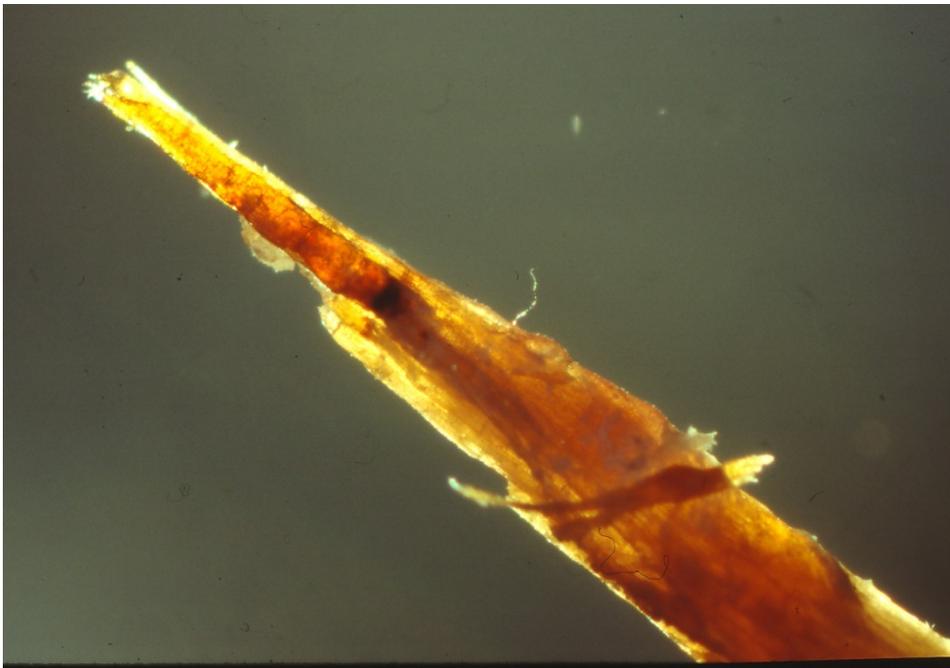
Épine normale (N). *Chaque carré du treillis mesure 1 millimètre de côté.*

Fragment d'épine corrodée de 7,5 mm (C).



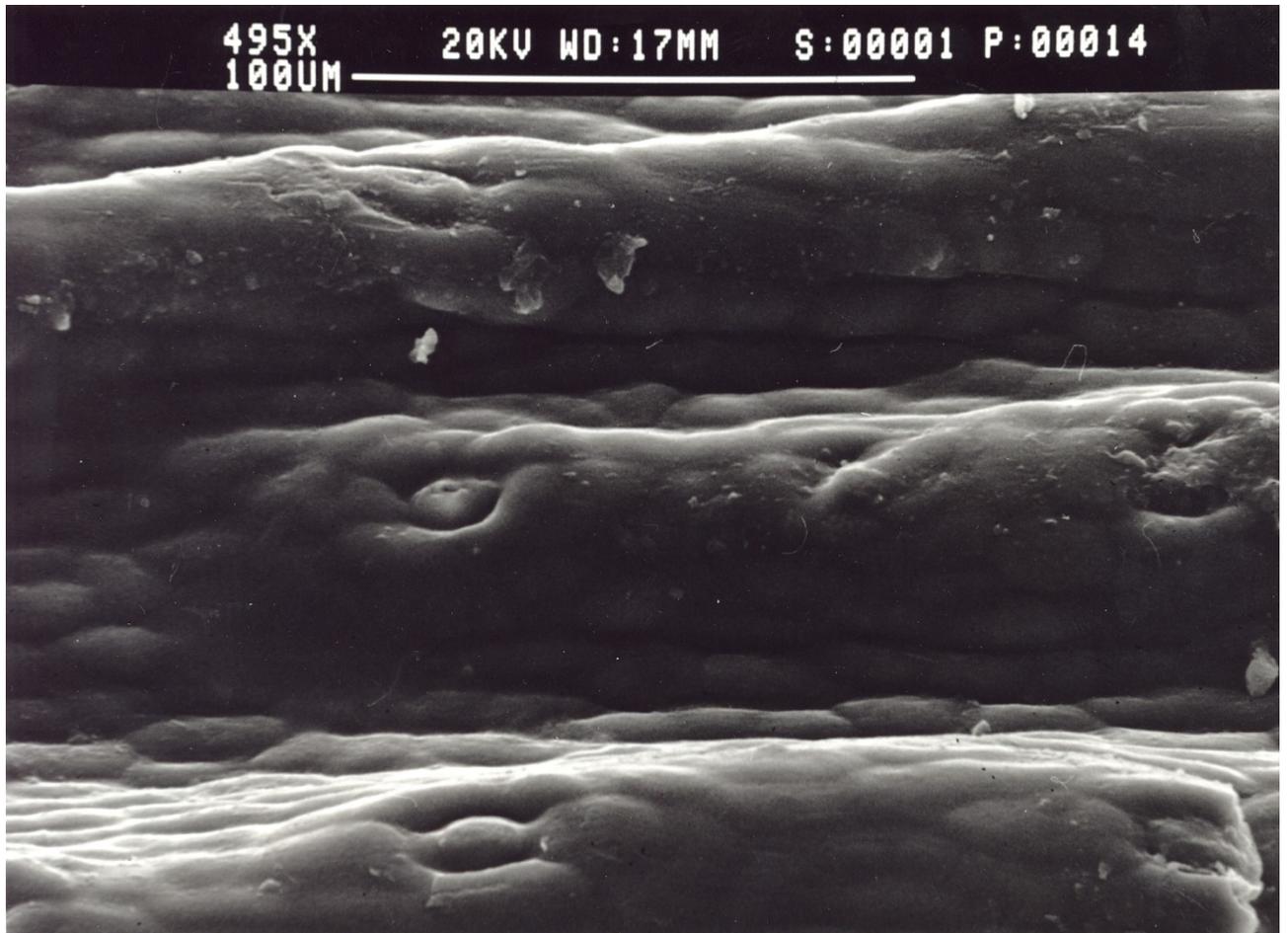
Ace03.jpg

Épine d'oranger normale (microscopie à faible grossissement: 40x)



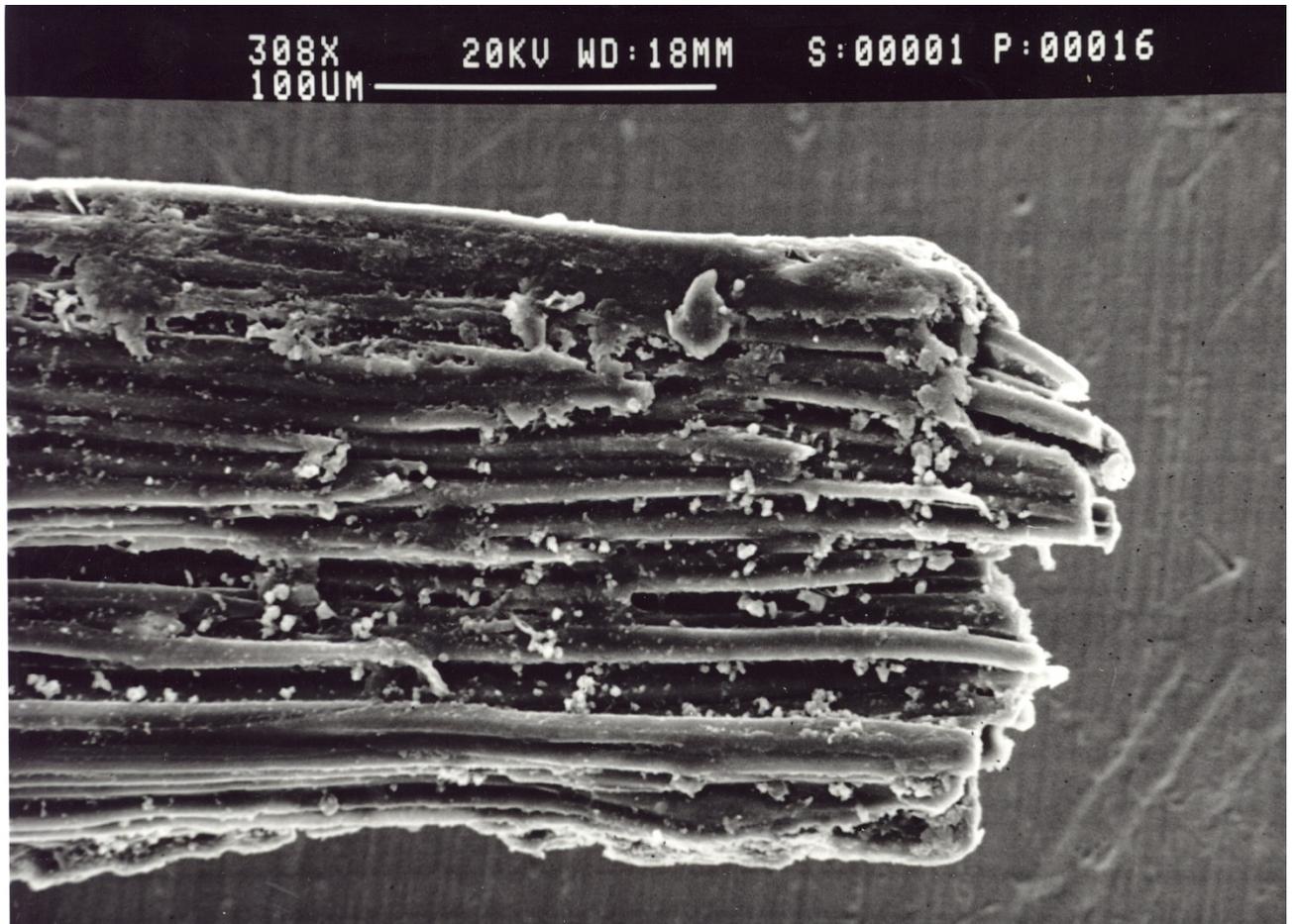
Ace02.jpg

Épine d'oranger corrodée (grossissement: 40x)



Ace11.jpg

Surface d'une épine normale en microscopie électronique par balayage

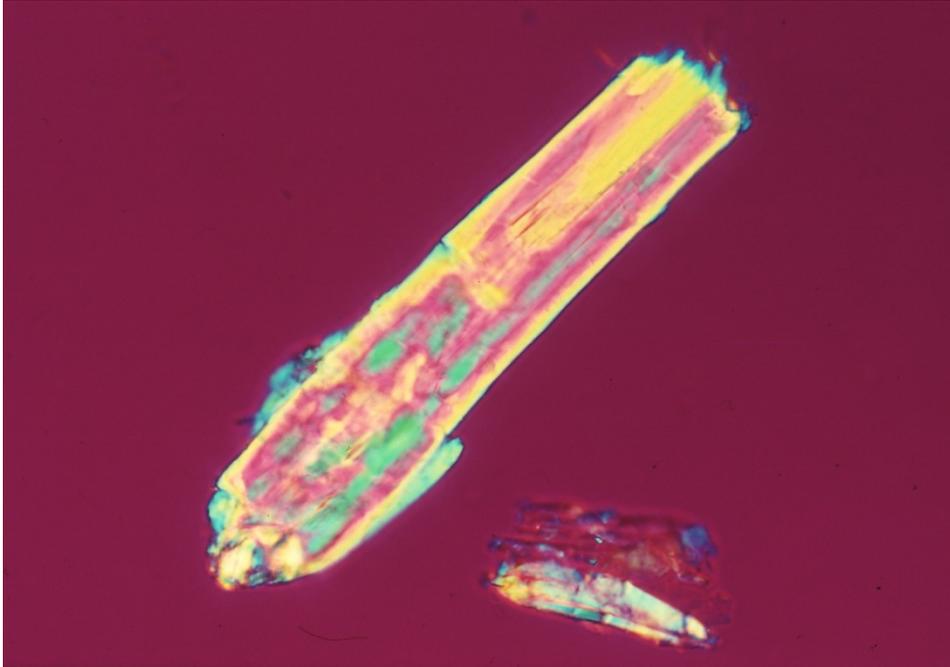


Ace10.jpg

Surface de l'épine corrodée en microscopie électronique par balayage

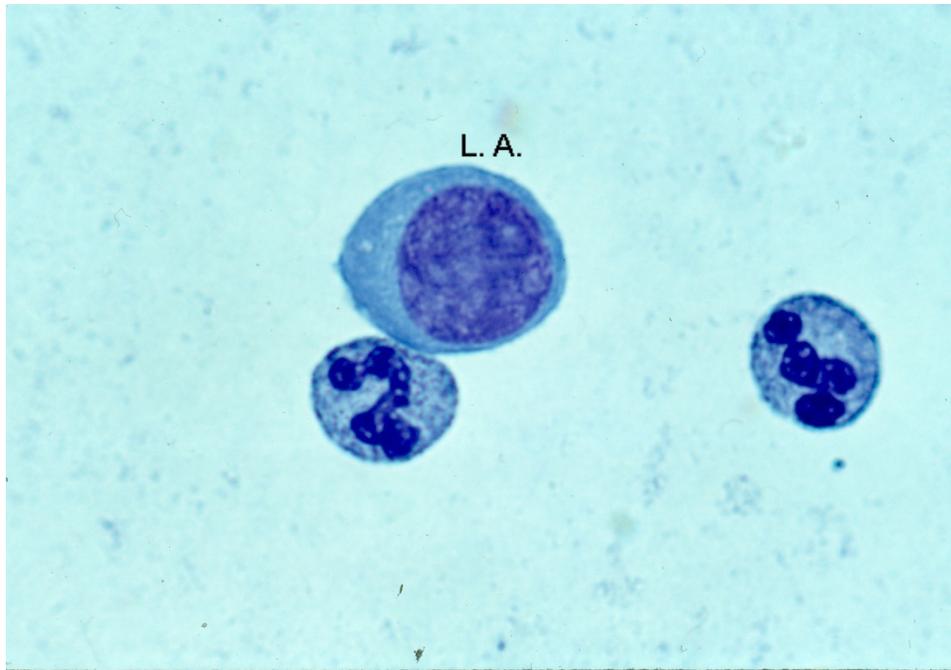
N.B. Quelques diapos et images (M.E.) à numériser

Ace04.jpg



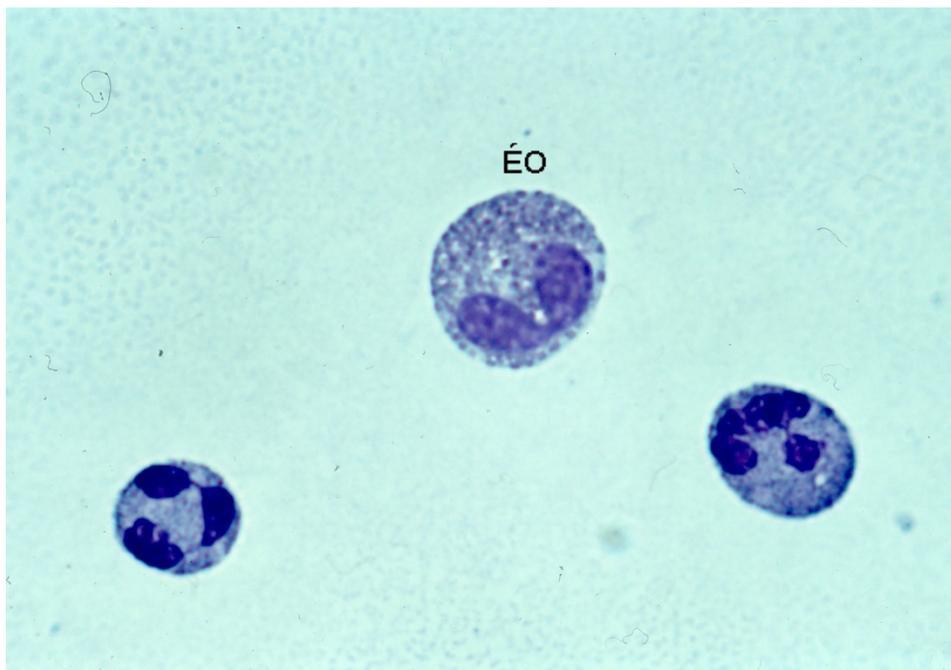
ace04 Fragments de l'épine corrodée (particules ligneuses) observés dans le liquide synovial (microscope polarisant avec filtre rouge de premier ordre).

Différents types cellulaires retrouvés dans ce liquide synovial.



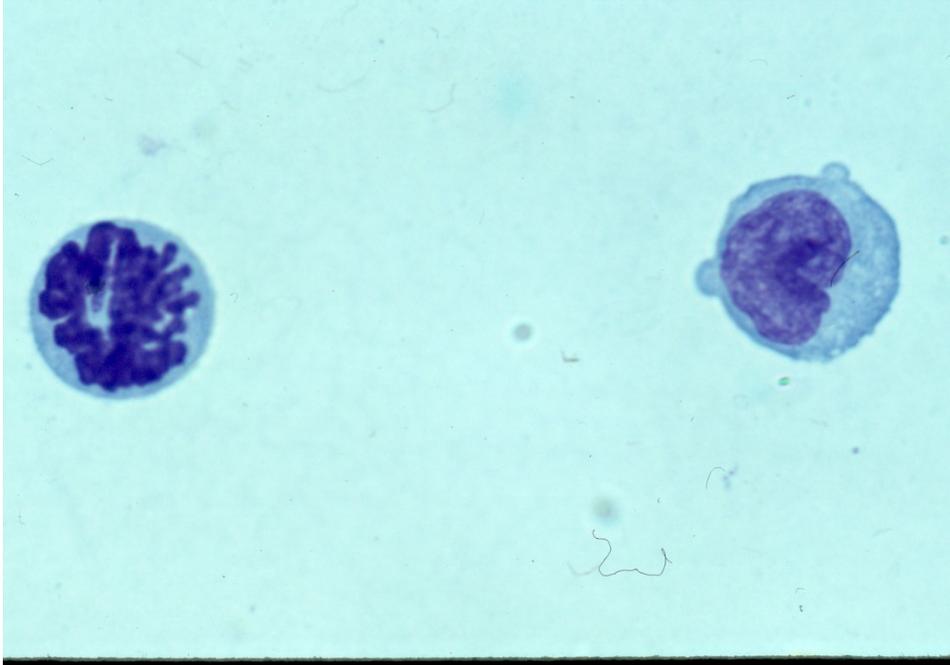
Acem05.jpg

Lymphocyte activé (L.A.) et deux neutrophiles



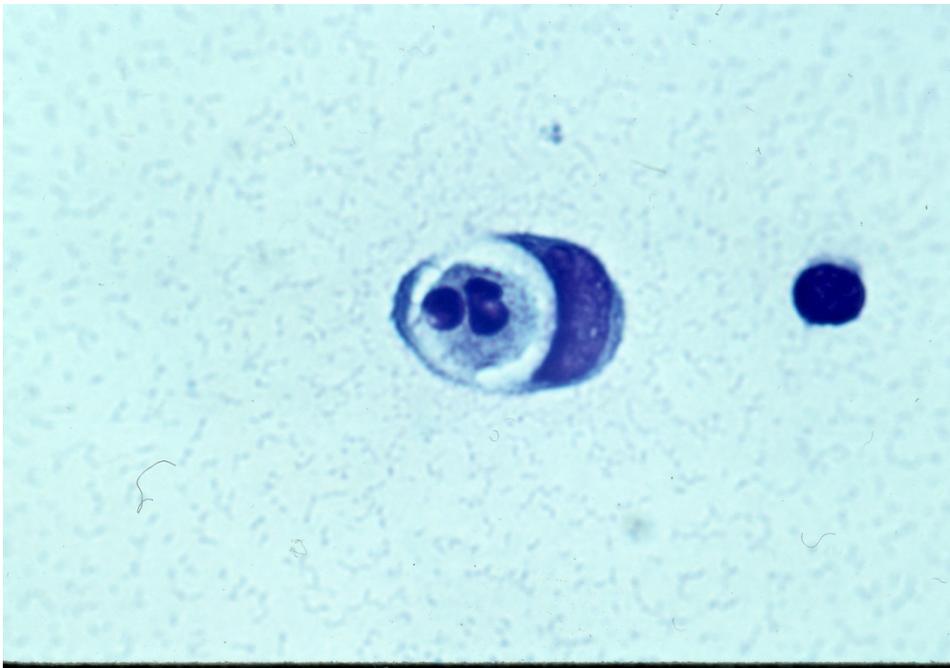
Acem08.jpg

Éosinophile (ÉO) et deux neutrophiles



Ace06.jpg

La cellule de gauche est en mitose témoignant de son activation par le milieu inflammatoire...



Ace07.jpg

Cellule de Pekin et un lymphocyte normal. La cellule de Pekin est un macrophage qui a phagocyté un neutrophile .

8. La synovianalyse (Résumé)

Synovianalyse (Résumé)

Le terme « synovianalyse » a été employé pour la première fois par le Dr Joseph Lee Hollander de Philadelphie en 1961.

Beaucoup de tests ont été développés depuis. Mais de nombreux tests ne revêtent qu'une importance relative tels glucose, protéine, densité, indice de réfraction, acide hyaluronique, facteur rhumatoïde, urée, mucine.

Certaines techniques intéressantes et performantes ne sont pas utilisées de routine à cause de leurs coûts prohibitifs: ainsi la microscopie électronique par transmission ou par balayage, diffraction des RX ou électronique.

Il faut utiliser deux anticoagulants: l'héparine sodique (pour mieux identifier les cristaux) et un autre tube avec de l'EDTA (pour mieux évaluer les cellules). L'héparine lithium et l'oxalate de calcium ne sont pas recommandés car ils sont la cause d'artéfacts cristallins risquant de fausser le diagnostic. Si on a qu'un petit volume de liquide synovial, il faut diminuer la concentration d'anticoagulant.

En routine il faut déterminer la concentration de cellules. Cette concentration en globules blancs peut s'exprimer en nombre de cellules par mm^3 , (ex. pour un liquide arthrosique, moins de 1000 cellules/ mm^3).

Les cellules du liquide synovial peuvent signaler des états physiopathologiques. Ainsi les cellules de Pekin sont indicatrices de spondylarthropathies séro-négatives. La cellule L.E. pointe sur le lupus érythémateux systémique. L'abondance de PMNs signale une inflammation aiguë et les macrophages une inflammation chronique. Les mitoses et les blastes orientent vers un processus inflammatoire immunologique. Les éosinophiles sont témoins d'allergie. Les cellules multinucléées font penser aux ostéoclastes et à un processus impliquant l'os.

État frais, d'une part les cristaux, d'autre part, on peut voir les fragments de cartilages qui sont fréquents dans l'arthrose, on peut observer des ragocytes (des polynucléaires avec des inclusions vert pomme de complexes auto-immuns) dans la PR (polyarthrite rhumatoïde) et autres processus inflammatoires. Le liquide peut aussi servir pour la coloration par le rouge d'alizarine S de composés contenant du calcium comme les apatites.

Mais l'état frais est surtout utile pour identifier les cristaux biréfringents avec un microscope polarisant (voir le chapitre 5), particulièrement les cristaux d'urate de sodium dans la goutte et les pyrophosphates de calcium dans la pseudo-goutte.

Cristaux biréfringents du liquide synovial :«

Urate de sodium
Pyrophosphate de calcium
Phosphates de calcium (brushite, octocalcium phosphate, etc.)
Oxalates de calcium(wévellite et weddellite)
Cholestérol (3 formes différentes)
Cortico-stéroïdes
Charcot-Leyden
Hémoglobine
Hématine
Cryoglobulines
Xanthine
Hypoxanthine
Cystine
Homocystine

N.B.

- Apatite (très **peu biréfringente, d'où généralement mise en évidence par la coloration au rouge d'alizarine S**).
- Beaucoup de ces cristaux sont des artéfacts formés in vitro (vieillessement du liquide synovial et/ou conservation à froid).

Corps étrangers d'origine interne (prothèses):

Titane
Polyéthylène

Corps étrangers d'origine externe :

Piquants végétaux (oranger, prunellier, etc.)
Piquants d'origine animale (oursins, etc.)
Piquants d'origine minérale.

Artéfacts :

« talc »
amidon
poussières

Structures ordonnées à une dimension
Fibres de biréfringence positive

Structures à ordonnance radiale : Sphérulites
Biréfringence positive : lipides, pyrophosphate de calcium, amidon

Biréfringence négatives : urate de Na, apatite.

<N.B.

Dans la littérature , on rencontre parfois des erreurs d'interprétation (cf. chapitre 5 sur le microscope polarisant).

Il y a avantage à prendre les photos en microscopie photonique ou ordinaire avec un filtre bleu correcteur pour avoir une image en lumière du jour .

La forme des cristaux de pyrophosphate est souvent décrite comme étant des rhomboédres au lieu de parallélépipèdes. La difficulté de prononcer le terme ne devrait pas empêcher de l'utiliser puisqu'il décrit précisément le cristal. De fait un rhomboïde est un parallépipède dont les 6 faces sont des losanges cf. chap. 5 sur le microscope polarisant).

Autre erreur fréquente de terminologie : La lame auxiliaire est souvent appelée improprement «compensateur ». Un compensateur permet d'annuler complètement (égale compenser) la différence de marche introduite par un cristal biréfringent en lui opposant une différence de marche égale à la sienne et de valeur mesurable.

9. Index alphabétique

Index-F-Atlas Index alphabétique français.doc

- antibiotiques**, 43, 136, 226
Apatite, 53, 84, 128, 135, 164, 165, 210, 235
apatites, 39, 44, 50, 210, 234
Apatites, 3, 39
Artéfacts, 219, 226, 235
ARTÉFACTS, 94
Arthrite à corps étrangers, 226
arthrose, 2, 9, 10, 20, 40, 60, 92, 135, 189, 190, 191, 192, 193, 196, 201, 203, 204, 205, 206, 211, 214, 215, 225, 234
Arthrose, 189
Brushite, 128
Cellules multinucléées, 201
Cellules spumeuses, 3, 19
Charcot-Leyden, 9, 68, 69, 71, 115, 128, 131, 141, 143, 163, 200, 201, 204, 235
Cholestérol, 60, 115, 131, 235
Corticostéroïdes, 128, 131
Cristaux formés in vitro, 68
Cristaux iatrogènes, 66
Cristaux phlogogènes, 3, 21, 115, 162, 163
différents cristaux, 131
Éosinophiles, 3, 9, 193
Guanine, 4, 57, 131
Hémoglobine, 235
Inflammation, 98, 164, 207
Lipides, 64, 81
lumière polarisée, 2, 31, 50, 53, 60, 92, 116, 137, 139, 140, 141, 143, 165, 166, 167, 168
Lymphoblastes, 3, 10
Lymphocytes, 3, 10, 193
macrophages, 19, 190, 193, 202, 204, 207, 227, 234
Microscope, 21, 22, 23, 24, 30, 31, 55, 165, 185
Monocytes, 3, 11, 193
Neutrophiles, 3, 8
Oxalates, 4, 55, 235
phagocytose, 16, 24, 35, 38, 67, 68, 98, 99, 101, 102, 109, 110, 111, 113, 116, 119, 121, 123, 136, 141, 146, 162, 164, 209
Phosphates, 128, 162, 235
Polarisation, 7, 32, 71
Pyrophosphates, 3, 32
Ragocytes, 3, 14
sphérulites, 46, 48, 64, 65, 79, 82, 83, 84, 86, 88, 96, 115, 116, 117, 149, 150, 152, 153, 155, 156, 161, 164
Sphérulites, 79, 128, 149, 164, 236
Synoviocytes, 3, 5, 193