



AVERTISSEMENT

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

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

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

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

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

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

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

6157336

S/M3 99/31

UFR Sciences Fondamentales et Appliquées

UNIVERSITE DE METZ

THESE DE DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE METZ

Spécialité : TOXICOLOGIE DE L'ENVIRONNEMENT

**Biodisponibilité de l'aluminium dans l'intestin.
Etudes *in vitro* et *in vivo* chez le rat.****THESE**

Présentée et soutenue publiquement

Le 30 novembre 1999

pour l'obtention du diplôme de Doctorat d'Université

par

CUNAT Lisiane

BIBLIOTHEQUE UNIVERSITAIRE - METZ	
N° inv.	19990835
Cote	S/M3 99/31
Loc	Magasin

Composition du jury :

Président : Pr P. Vasseur, Université de Metz
Rapporteur : Pr J.P. Anger, Université de Rennes
Rapporteur : Pr P. Hartemann, Université de Nancy
Directeur de thèse : Pr D. Burnel, Université de Nancy

A mes parents,

A Jean-Michel,

A Solène,

*Pour leur soutien et leur compréhension tout au long de ces
années, je leur dédie ce travail.*

A Arnaud,

A ma grand-mère,

A ma famille,

Qu'ils trouvent ici mon affection

A mes amis,

REMERCIEMENTS

Le présent travail a été proposé par Monsieur le Professeur Daniel BURNEL et a été effectué sous sa bienveillante direction au Laboratoire de Chimie Générale Appliquée à la Médecine, Département Environnement et Santé Publique, Unité INSERM U 420, de la Faculté de Médecine, de l'Université Henri Poincaré Nancy I.

Avant d'exposer les résultats de nos recherches, il m'est agréable de remercier tous ceux et celles qui m'ont apporté, à divers titres, leur aide et leur amitié dans la réalisation de ce travail.

J'aimerais tout d'abord exprimer ma profonde reconnaissance à Monsieur le Professeur D. BURNEL, pour son accueil au Laboratoire, ses encouragements et pour la confiance qu'il m'a témoigné tout au long de la réalisation de ce travail. Son encadrement et son esprit scientifique m'ont permis d'apprécier ses très grandes qualités d'enseignant et de chercheur.

Je suis très sensible à l'honneur que me fait Mademoiselle le Professeur P. VASSEUR, d'avoir accepté de présider ce jury et de juger ce travail. Qu'elle trouve ici le témoignage de ma plus sincère reconnaissance.

Je remercie Messieurs les Professeurs P. HARTEMANN et J.P. ANGER d'avoir accepté d'être rapporteurs et membres du jury de cette thèse. Je les remercie de l'intérêt qu'ils ont porté à mon travail. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma gratitude.

Merci à Monsieur H. MEMBRE pour son aide et sa collaboration pour les études concernant la microscopie.

Je remercie également Mademoiselle M.C. LANHERS pour son soutien et pour avoir accepté de me guider pour la réalisation technique de mes études.

Je tiens à exprimer ici mes plus profonds remerciements aux personnes qui m'ont apporté une aide efficace et précieuse dans l'élaboration technique de ce mémoire : Mademoiselle C. CREUSAT, Monsieur J.M. TELLIER, Mademoiselle THIEBAUT Stéphanie, Madame N. NOEL, et Mademoiselle P. MISSY.

Enfin, j'adresse, dans mes remerciements, une mention particulière à Madame V. MULLER, Madame M. ZANARDO, Monsieur L. GRAFF et Monsieur J.C RAFT pour leur sympathie et leur soutien dans la conduite de mon travail.

AVANT PROPOS

PUBLICATIONS INTERNATIONALES

Cunat L., Membre H., Marchal L., Chaussidon M. & Burnel D. (1998).
The effect of aluminium, iron, chromium, and yttrium on rat
intestinal smooth muscle in vitro.

Biological Trace Element Research, 64, 43-59.

Cunat L., Lanhers M.C., Joyeux M. & Burnel D. (1999).
Bioavailability and intestinal absorption of aluminium in rats: effects
of aluminium compounds and some dietary constituents.

**Biological Trace Element Research (accepté pour
publication).**

Arnich N., Lanhers M.C., Cunat L., Joyeux M. & Burnel D. (1999).
Nickel absorption and distribution from rat small intestine in situ.

**Biological Trace Element Research (accepté pour
publication).**

ABBREVIATIONS

AAN	Analyse par Activation Neutronique
AMP	Adénosine monophosphate
ANOVA	Analyse de variance
ADN	Acide Désoxyribonucléique
ARN	Acide Ribonucléique
ATP	Adénosine Triphosphate
CAE	Choline Acétyl Estérase
CAT	Choline Acétyl Transférase
CMA	Concentration Maximale Admissible
coll.	Collaborateurs
DCP	Direct Current Plasma
DFO	Desferrioxamine, Deferoxamine ou Desferal®
DHPR	Dihydroptéridine réductase
DL ₅₀	Dose létale à 50%
DNP	2,4-Dinitrophénol
ECS	Electrode au calomel saturé en chlorure de potassium
EEG	Electroencéphalogramme
EPD	Encéphalopathie Progressive des Dialysés
F.D.A. ou FDA	Food and Drug Administration
g	Intensité de la pesanteur
GABA	Acide δ -aminobutyrique
g.kg ⁻¹	Gramme par kilogramme
g.L ⁻¹	Gramme par litre
H	Heure
HPLC	Chromatographie liquide haute performance
I	Intensité
i.m. ou im	Intramusculaire
i.p. ou ip	Intrapéritonéal
i.v. ou iv	Intraveineux
J ou j	Jour

LAMMA	Laser Microprobe Mass Analysis
log K	Logarithme de la constante de stabilité
M ou mol.L ⁻¹	Mole par litre
mg	Milligramme
mg.L ⁻¹	Milligramme par litre
min	Minute
mL	Millilitre
n	Nombre d'échantillons par lot
nm	Nanomètre
P	Probabilité d'erreur, risque de première espèce
pH	Cologarithme de la concentration en ion H ₃ O ⁺
p.p.b. ou ppb	Partie par billion
p.p.m. ou ppm	Partie par million
PTH	Parathormone
S.A.A. ou SAA	Spectrophotométrie d'Absorption Atomique
SLA	Sclérose Latérale Amyotrophique
S.E.A. ou SEA	Spectrophotométrie d'Emission Atomique
VME	Valeur Maximale d'Exposition
µg	Microgramme
µg.g ⁻¹	Microgramme par gramme
µL	Microlitre
µg.jour ⁻¹	Microgramme par jour
µg.L ⁻¹	Microgramme par litre
µg.m ⁻³	Microgramme par mètre cube
µmol.L ⁻¹	Micromole par litre

TABLE DES MATIERES

AVANT-PROPOS.....	5
INTRODUCTION GENERALE ET OBJECTIF DE L'ETUDE.....	20
CHAPITRE I : ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE.....	24
HISTORIQUE.....	25
PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DE L'ALUMINIUM.....	27
METHODES ANALYTIQUES UTILISEES POUR DOSER L'ALUMINIUM DANS LES MILIEUX BIOLOGIQUES.....	29
1) Méthodes chimiques et physicochimiques.....	30
2) Méthode d'analyse pour le dosage quantitatif de l'aluminium...30	
a - La spectroscopie d'absorption atomique (S.A.A.).....	30
b - La spectroscopie d'émission atomique (S.E.A.).....	31
c - L'analyse par activation neutronique (A.A.N.).....	32
d - La polarographie impulsionnelle.....	32
e - Autres techniques évoquées dans la littérature.....	33
3) Méthode d'analyse pour la localisation tissulaire de l'aluminium.....	33
a - Colorations histochimiques.....	33
b - La micro-sonde à impact laser LAMMA.....	34
c - La microscopie analytique	34
- La microanalyse à rayons X.....	34
- La microanalyse ionique.....	35

LES SOURCES D'EXPOSITION DE L'ALUMINIUM.....	36
I - <u>Présence de l'aluminium dans l'environnement naturel</u>.....	37
1) L'aluminium dans la lithosphère.....	37
2) L'aluminium dans l'atmosphère.....	38
3) L'aluminium dans l'hydrosphère.....	39
4) L'aluminium dans les végétaux.....	40
5) L'aluminium dans les animaux.....	42
II - <u>Présence de l'aluminium dans l'environnement humain</u>.....	44
1) Présence de l'aluminium dans l'industrie.....	44
2) Présence de l'aluminium dans l'alimentation.....	45
a - L'aluminium dans l'eau de boisson.....	45
b - L'aluminium dans les aliments.....	47
c - Cas particulier de l'aluminium dans les laits infantiles.....	50
d - L'aluminium dans les emballages et ustensiles de cuisine.....	51
e - L'aluminium dans les additifs alimentaires.....	53
3) L'aluminium dans les traitements thérapeutiques.....	54
a - Traitement de l'insuffisance rénale : la dialyse.....	54
b - Traitement de l'hyperphosphatémie : les gels d'alumine.....	55
c - Traitement des douleurs gastriques : les anti-acides.....	56
d - Présence d'aluminium dans les traitements par nutrition parentérale.....	57
e - Présence d'aluminium dans les adjuvants de vaccins.....	58
f - Autres utilisations pharmacologiques de l'aluminium.....	59
g - Présence d'aluminium dans les matériaux de conditionnement.....	60
4) Présence de l'aluminium en agriculture.....	61
VOIES DE PENETRATION DE L'ALUMINIUM DANS L'ORGANISME....	62
1) Pénétration de l'aluminium par voie cutanée.....	62

2) Pénétration de l'aluminium par voie pulmonaire.....	62
3) Pénétration de l'aluminium par voie parentérale.....	65
a - Perfusion et plasmaphérèse.....	65
b - Nutrition parentérale.....	65
c - La dialyse.....	66
4) Pénétration de l'aluminium par voie digestive.....	68
a - Observations cliniques.....	68
b - Quantités d'aluminium ingérées et absorbées.....	69
c - Facteurs potentiels favorisant l'absorption intestinale de l'aluminium.....	70
- L'immaturité de la barrière intestinale.....	70
- Biodisponibilité et spéciation intraluminale de l'aluminium.....	71
- L'hyperthyroïdie.....	73
- Autres métaux : le fer(II) et le zinc.....	74
d - Facteurs potentiels inhibant l'absorption intestinale de l'aluminium.....	74
- Le calcium et le magnésium.....	74
- Le phosphore, le silicium et le fluor.....	75
- Le sodium.....	76
- Le fer(III)	77
- Le mucus intestinal.....	77
e - Les mécanismes de l'absorption intestinale de l'aluminium.....	77
TRANSPORT DE L'ALUMINIUM DANS L'ORGANISME.....	80
1) Concentrations aluminiques dans le sang.....	80
2) Répartition de l'aluminium dans le compartiment sanguin.....	80
a - L'aluminium dans le plasma.....	81
b - L'aluminium dans les érythrocytes.....	81
3) Sortie de l'aluminium du compartiment sanguin.....	82

LOCALISATION DE L'ALUMINIUM DANS L'ORGANISME.....	83
1) Distribution tissulaire de l'aluminium.....	83
a - Chez l'individu sain.....	83
b - Chez l'individu intoxiqué.....	84
2) Distribution intracellulaire de l'aluminium.....	87
3) Accumulation de l'aluminium dans les cellules malignes.....	88
ELIMINATION DE L'ALUMINIUM HORS DE L'ORGANISME.....	89
1) Excrétion fécale.....	89
2) Excrétion urinaire.....	89
3) Autres voies d'excrétion.....	91
MODE D'ACTION DE LA TOXICITE CELLULAIRE DE L'ALUMINIUM.....	92
1) Pénétration de l'aluminium dans la cellule.....	92
2) Action de l'aluminium sur les activités enzymatiques.....	92
3) Action de l'aluminium dans la peroxydation lipidique membranaire.....	94
4) Action de l'aluminium sur les nucléotides.....	95
5) Action de l'aluminium sur certains constituants cellulaires.....	96
6) Autres actions de l'aluminium.....	97
TOXICITE CHEZ L'HOMME ET PATHOLOGIES ASSOCIEES A L'ALUMINIUM.....	98
I - <u>Toxicité aiguë</u>.....	98

II - Toxicité chronique	100
1) Encéphalopathie progressive des dialysés	100
a - Les signes cliniques.....	100
b - Les signes physiopathologiques.....	101
c - Les signes histopathologiques et les modifications biochimiques.....	101
d - Cas des enfants urémiques.....	101
2) Pathologies osseuses	102
a - L'ostéodystrophie rénale.....	102
b - L'ostéomalacie.....	102
- Les signes cliniques.....	102
- Les signes histopathologiques.....	103
- Rôle de l'aluminium dans la pathogénèse de l'ostéomalacie.....	103
c - L'arthropathie dialytique.....	104
3) Anémie microcytaire	104
a - Signes cliniques.....	104
b - Anémie et intoxication aluminique.....	104
c - Effets hématologiques toxiques de l'aluminium.....	105
4) Pathologies professionnelles	106
5) Maladie d'Alzheimer	106
a - Les signes cliniques.....	107
b - Les signes histopathologiques.....	107
c - Les perturbations biochimiques.....	108
d - Hypothèses sur l'étiologie de la maladie d'Alzheimer.....	108
e - Rôle de l'aluminium dans la pathogénèse de la maladie d'Alzheimer.....	109
6) Sclérose latérale amyotrophique et maladie de Parkinson	112
a - Les signes cliniques et histologiques de la S.L.A.	113
b - Les signes cliniques et histologiques de la maladie de Parkinson.....	113
c - Hypothèses sur l'étiologie de ces maladies.....	113

III - <u>Tératogénicité, mutagénicité et carcinogénicité</u>	115
1) Tératogénicité de l'aluminium	115
2) Mutagénicité de l'aluminium	116
3) Carcinogénicité de l'aluminium	
 TRAITEMENT UTILISE POUR LA DETOXIFICATION ALUMINIQUE	118

CHAPITRE II : ETUDE EXPERIMENTALE..... 120

PROTOCOLE GENERAL..... 121

- 1) **Les animaux**.....121
- 2) **Détermination de l'osmolarité des solutions**.....121
- 3) **Ultrafiltration des solutions**..... 123
- 4) **Détermination analytique de l'aluminium**.....124
 - a – **Principe**.....124
 - b – **Avantages de la méthode de dosage**..... 124
 - c – **Préparations des échantillons biologiques en vue des dosages et étalonnage de l'appareil**.....125
 - d – **Dosage d'autres éléments**.....126
- 5) **Traitement des données**..... 127

PREMIERE PARTIE : EFFET DE L'ALUMINIUM ET D'AUTRES METAUX SUR LE MUSCLE LISSE INTESTINAL..... 129

I. INTRODUCTION..... 129

II.	MATERIEL ET METHODES.....	130
1)	Critères de sélection des ions minéraux.....	130
2)	Réactifs utilisés.....	130
3)	Matériel utilisé.....	131
4)	Préparation des solutions.....	132
III.	PROTOCOLES EXPERIMENTAUX.....	133
1)	La technique d'intestin isolé.....	133
2)	Les études de microanalyse.....	134
	a - Microanalyse de rayons X.....	134
	- Etude en microscopie électronique à transmission.....	134
	- Etude en microscopie électronique à balayage.....	136
	b - Microsonde ionique.....	137
	c - Microsonde laser.....	138
IV.	RESULTATS.....	138
1)	Spéciation des solutions.....	138
2)	Modification des contractions intestinales.....	139
3)	Détermination de la concentration en métaux dans les sections intestinales.....	143
4)	Observations de microscopie électronique à transmission.....	143
5)	Observations de microscopie électronique à balayage.....	146
6)	Microsonde ionique et laser.....	147
7)	Conclusion.....	147
IV.	DISCUSSION.....	149

DEUXIEME PARTIE : INFLUENCE DES COMPOSES ALUMINIQUES ET DE QUELQUES CONSTITUANTS ALIMENTAIRES SUR L'ABSORPTION INTESTINALE DE L'ALUMINIUM..... 154

I.	INTRODUCTION.....	154
II.	MATERIEL ET METHODES.....	155

1) Critères de sélection des composés aluminiques étudiés.....	155
2) Réactifs utilisés.....	156
3) Matériel utilisé.....	157
4) Préparation des solutions.....	157
III. PROTOCOLE EXPERIMENTAL.....	158
IV. RESULTATS.....	160
1) Spéciation des solutions.....	160
2) Rétention de l'aluminium dans l'intestin.....	161
a - Influence du temps d'incubation.....	161
b - Influence du composé aluminique.....	162
- Au niveau du duodénum.....	162
- Au niveau du jéjunum.....	164
- Au niveau de l'iléon.....	164
c - Influence du ségment intestinal.....	164
3) Apparition de l'aluminium dans le sang.....	165
4) Effets du DNP.....	167
5) Effets de la concentration en aluminium et de quelques facteurs alimentaires.....	167
a - Influence de la concentration en aluminium perfusée.....	170
b - Influence du calcium.....	171
c - Influence du phosphore.....	171
d - Influence du glucose.....	172
V. DISCUSSION.....	172

TROISIEME PARTIE : ACCUMULATION DE L'ALUMINIUM ET DU FER APRES INGESTION D'UNE NOURRITURE SUPPLEMENTEE AVEC CES METAUX..... 184

I. INTRODUCTION.....	184
II. MATERIEL ET METHODES.....	185

1)	Voie et mode d'administration	185
2)	Réactifs utilisés	186
3)	Matériel utilisé	186
4)	Choix des quantités administrées	186
III.	PROTOCOLE EXPERIMENTAL	187
1)	Protocole de traitement des animaux	187
2)	Sacrifice des animaux et prélèvements	189
	a - Prélèvement du sang.....	189
	b - Prélèvement des organes et du fémur.....	189
3)	Déterminations analytiques	190
IV.	RESULTATS	190
1)	Evaluation des quantités de nourriture et de métal ingérées	190
2)	Caractéristiques des croquettes reconstituées	192
3)	Evolution pondérale des animaux durant les différents traitements	193
	a Traitement de 10 jours.....	193
	b Traitements de 60 jours.....	195
4)	Evolution de différents paramètres plasmatiques et sanguins	198
	a - Traitement de 10 jours.....	198
	b - Traitements de 60 jours.....	200
	c - Influence du citrate.....	202
5)	Effets des différents traitements sur les teneurs en éléments dans les différents organes	203
	a - Traitement de 10 jours.....	203
	b - Traitements de 60 jours.....	209
	- Traitement de 60 jours sans addition de citrate dans l'alimentation.....	209
	- Traitement de 60 jours avec addition de citrate dans l'alimentation.....	219
	- Influence du traitement au citrate.....	221

V.	DISCUSSION.....	221
----	-----------------	-----

QUATRIEME PARTIE : INFLUENCE DU PHOSPHATE D'ALUMINIUM SUR L'ALCOOLEMIE.....	226
--	------------

I.	INTRODUCTION.....	226
II.	QUELQUES RAPPELS SUR LE SUJET.....	227
1)	L'absorption de l'alcool éthylique.....	227
2)	La distribution dans l'organisme de l'alcool éthylique.....	228
3)	Signes physiopathologiques de l'alcoolémie.....	229
4)	Le métabolisme de l'alcool éthylique.....	230
III.	MATERIEL ET METHODES.....	231
1)	Matériel utilisé.....	231
2)	Produits utilisés.....	232
3)	Protocole expérimental.....	232
4)	Dosage de l'alcool dans le sang.....	233
a -	Séparation de l'alcool par distillation.....	233
b -	Dosage de l'alcool dans le distillat.....	233
IV.	RESULTATS.....	235
V.	DISCUSSION.....	236

CONCLUSION GENERALE	239
----------------------------------	------------

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	247
--	------------

ANNEXES	307
----------------------	------------

**INTRODUCTION GENERALE ET
OBJECTIF DE L'ETUDE**

La toxicité de l'aluminium est apparue comme une réalité médicale il y a environ 25 ans, à la suite d'un cas d'encéphalopathie d'origine inconnue (Lapresle et coll., 1975). Des concrétions observées dans la substance grise cérébrale du patient décédé avaient alors été considérées comme des calcifications et ce n'est que de façon fortuite que l'analyse chimique révéla non seulement l'absence de calcium, mais la présence de fortes concentrations d'aluminium associé à du phosphore. Par la suite, les études montrèrent un important empoussièrage pulmonaire constitué essentiellement d'aluminium.

Dès l'année suivante, de nombreuses publications suivirent en démontrant une relation entre le taux d'aluminium cérébral et les signes cliniques d'encéphalopathie chez des patients souffrant d'insuffisance rénale chronique et traité par dialyse (Alfrey et coll., 1976).

Les études et les publications sur la toxicité de l'aluminium se sont alors multipliées. L'aluminium a été associé à de nombreuses pathologies, ce qui a permis de prévenir certaines complications se produisant essentiellement en cas de troubles rénaux. En effet, l'aluminium pénètre facilement et de façon inévitable dans l'organisme du fait de son omniprésence dans l'environnement. Les voies d'entrée sont principalement la voie digestive et la voie pulmonaire. Chez les individus sains, l'aluminium qui pénètre dans le milieu intérieur est excrété par les reins. Par contre, lorsque l'absorption est importante, prolongée ou que l'élimination est déficiente, l'aluminium peut se concentrer dans certains organes et être à l'origine de divers troubles cliniques.

De nos jours, les phénomènes relatifs à la toxicité de l'aluminium commencent à être bien éclaircis (Flaten et coll., 1996). En effet, les effets toxiques ont été démontrés chez les végétaux et les animaux aquatiques, chez les animaux de laboratoire par différentes voies d'exposition et chez l'homme dans plusieurs cas cliniques. L'aluminium entraîne un problème majeur en agriculture et dans les eaux naturelles acidifiées par les pluies acides, l'aluminium provoque l'extinction de certains poissons. Chez l'homme atteint d'insuffisance rénale et subissant des séances de dialyse, l'aluminium peut provoquer des pathologies comme l'encéphalopathie, l'ostéomalacie et l'anémie. Certaines atteintes ont également été signalées chez des individus sans problèmes rénaux. Des effets neurologiques, psychomoteurs et des anomalies au niveau des électroencéphalogrammes ont été observés pour des teneurs plasmatiques aussi faibles que $50 \mu\text{g Al.L}^{-1}$. Les enfants et les ouvriers exposés aux fumées et poussières d'aluminium sont particulièrement exposés. Cependant, il n'y a, dans la littérature, que peu d'information sur les facteurs qui contrôlent et modifient l'absorption gastro-intestinale d'éléments traces non essentiels et potentiellement

toxiques. L'intérêt d'étudier l'absorption intestinale de l'aluminium est renforcé pour 3 raisons principales :

- beaucoup d'effets toxiques de l'aluminium sont dus à son interaction avec des nutriments, tels que le phosphore, le calcium, le fluor ou avec la vitamine D (Greger, 1988) ;

- il a été démontré que la toxicité de l'aluminium n'est pas uniquement induite par les dialysats et les solutions parentérales chez les patients dialysés mais aussi par l'ingestion de produits pharmaceutiques contenant de l'aluminium (Burgess et coll., 1992) ;

- des auteurs ont montré que des concentrations élevées en aluminium contenues dans l'eau de boisson (Eastwood et coll., 1990) et dans l'alimentation (Freundlich et coll., 1985) pouvaient aboutir à des effets toxiques chez les individus les plus sensibles.

De plus, les études qui s'attachent à connaître le comportement de l'aluminium au niveau du tractus gastro-intestinal se heurtent à certaines difficultés propres à cet élément qui compliquent la mise en oeuvre et l'interprétation des études :

- l'aluminium ne possède pas d'isotope radioactif stable, dont la durée de vie soit bien adaptée pour les études biologiques ;

- l'aluminium forme des composés insolubles d'hydroxyde au pH physiologique.

Plusieurs facteurs influencent l'absorption intestinale des composés d'aluminium :

- la forme chimique de l'aluminium et sa solubilité ;
- le pH intraluminal ;
- la présence d'ions environnants ;
- le temps de contact avec la muqueuse intestinale.

Notre étude a porté, dans un premier temps, sur plusieurs aspects et facteurs influençant l'absorption intestinale de l'aluminium :

- l'influence de l'aluminium sur le péristaltisme intestinal. Parallèlement, d'autres ions proches chimiquement de l'aluminium ont été étudiés : le fer, le chrome et l'yttrium ;

- l'influence de la forme chimique. L'absorption intestinale de plusieurs composés aluminiques a été comparée ;

- l'influence d'autres ions, comme le fer, sur l'absorption et l'accumulation de différents éléments dans l'organisme.

Dans une seconde partie, nous nous sommes appuyés sur les propriétés physico-chimiques d'un composé d'aluminium pour proposer une nouvelle application thérapeutique dans le traitement de l'alcoolisme.

CHAPITRE I :
ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

Les principales données de la littérature scientifique concernant l'aluminium (Al) relatives à la chimie, la contamination, les phénomènes toxiques et les pathologies observées chez l'homme seront abordées dans ce chapitre.

Les premiers articles publiés sur l'aluminium portaient essentiellement sur des observations cliniques. Puis vers 1980, des travaux expérimentaux basés sur la toxicité de l'aluminium et sur son métabolisme sont venus compléter ces études.

HISTORIQUE

Utilisé depuis l'antiquité à l'état d'alun pour la purification des eaux, il fut isolé sous forme de métal, encore très impur, par Davy (1810), puis par Oersted (1825). Les propriétés physiques de l'aluminium ont conduit à un intérêt croissant pour son utilisation dans l'industrie. La mise au point de procédés pour la préparation industrielle de l'aluminium (électrolyse) a précédé l'explosion de la production et de l'utilisation de ce métal dans de nombreux domaines. Il est utilisé pur ou entre dans la composition d'alliages. On le trouve largement utilisé dans les domaines de constructions (aéronautiques, navales et automobiles), dans l'industrie du verre, des matières plastiques (catalyseur de polymérisation), des élastomères, des ustensiles de cuisine. Il entre également dans la composition de peintures, de cosmétiques, d'additifs alimentaires et de médicaments.

En 1971, "The US Food and Drug Administration" reconnaissait l'innocuité de l'aluminium utilisé dans l'industrie alimentaire (Sorenson et coll.,1974). Les cas graves d'intoxication dans l'industrie de l'aluminium sont rares, et les troubles observés sont essentiellement d'ordre pulmonaire. Bien qu'un cas d'encéphalopathie fut signalé chez un homme exposé depuis 30 ans aux poussières d'aluminium (Mc Laughlin et coll.,1962), ce n'est que vers les années 70 que la toxicité de l'aluminium a commencé à être prise en considération. Alfrey et coll. (1976) décrivent 5 cas d'encéphalopathies progressives chez des patients hémodialysés atteints d'insuffisance rénale chronique et attribue la genèse de ce syndrome à l'aluminium.

Ainsi, l'aluminium longtemps considéré comme inoffensif, s'est révélé toxique dans des circonstances particulières, essentiellement en cas

d'insuffisance rénale chronique, où les 2 principales conditions nécessaires à son accumulation sont réunies :

- un apport excessif
- et
- un défaut d'élimination rénale.

PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DE L'ALUMINIUM

L'aluminium figure dans la colonne IIIB de la classification périodique de Mendeleeff avec le gallium, l'indium et le thallium, dont il partage certaines propriétés physico-chimiques. Son numéro atomique est $z = 13$ et son poids atomique 26,97. Sa pléiade (masses atomiques de 24 à 29) ne comporte qu'un seul isotope stable (^{27}Al). Les isotopes radioactifs de l'aluminium ne se prêtent pas aux études biologiques car leur demi-vie est, soit trop brève (23 minutes pour ^{28}Al), soit trop longue (740 000 ans pour ^{26}Al). Des auteurs ont cependant montré que l' ^{26}Al pouvait être utilisé comme traceur dans les tissus biologiques (Day et coll., 1991 ; Bjornstad et coll., 1992 ; Oughton et coll., 1992 ; Priest et coll., 1995 ; Ihep et coll., 1997 ; King et coll., 1997 ; Radunovic et coll., 1997 ; Zafar et coll., 1997). L'aluminium est très léger par rapport aux autres métaux : sa densité est de 2,7. Son point de fusion est de 658°C et son point d'ébullition de $2\,467^\circ\text{C}$.

A l'état naturel, l'aluminium ne se trouve jamais sous sa forme métallique. En solution aqueuse, on trouve l'aluminium sous forme d'hydroxyde d'aluminium, $\text{Al}(\text{OH})_3$, qui se combine aussi bien avec des acides pour former des sels aluminiques stables, qu'avec des bases pour former des aluminates. Cette propriété d'amphothère gouverne la spéciation de l'aluminium dans les milieux biologiques (Skalsky & Carchman, 1983).

Ainsi, le cation aluminique Al^{3+} n'existe que pour des $\text{pH} \leq 3$ alors qu'en milieu basique ($\text{pH} \geq 11$) l'aluminium est sous forme d'anion aluminate AlO_2^- . Entre ces valeurs extrêmes de pH, l'aluminium forme des composés très peu solubles.

Du fait de son faible rayon ionique ($0,54\text{\AA}$) et de son potentiel redox standard bas ($-1,66\text{ V}$), l'aluminium possède une attractivité pour les anions et forme des sels relativement stables et peu solubles. C'est ce que l'on rencontre notamment avec les ions phosphates. Mais il peut se former également de nombreux complexes solubles avec :

- des composés organiques par les doublets libres de l'oxygène (acide citrique, acide tartrique, acide lactique...) et par les groupements hydroxyl - OH des phénols (Tam & McColl, 1990) ;

- des acides aminés, l'aluminium est alors sous forme combinée ;

- des acides humiques et fulviques.

De plus, l'aluminium peut exister sous forme de nombreuses combinaisons hydroxylées plus ou moins colloïdales, telles que $\text{Al}(\text{OH})_2^+$, $\text{Al}(\text{OH})_3$, $\text{Al}(\text{OH})_4^-$, $\text{Al}(\text{OH})_2^+$ et forme des solutions avec de très fines particules en suspension (Baes & Mesmer, 1976).

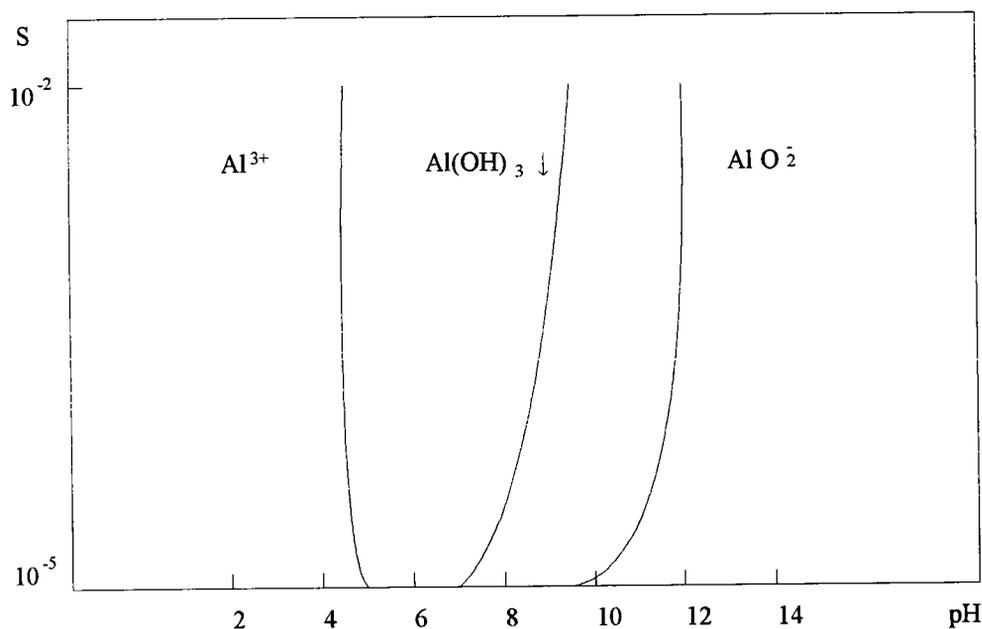


Figure 1 : Solubilité apparente de l'hydroxyde d'aluminium en fonction du pH (Charlot, 1963).

METHODES ANALYTIQUES UTILISEES POUR DOSER L'ALUMINIUM DANS LES MILIEUX BIOLOGIQUES

Le dosage de l'aluminium dans les milieux biologiques est essentiel dans l'étude des effets de ce métal sur l'organisme et l'obtention de valeurs précises est fondamentale. L'analyste est confronté à deux problèmes majeurs (Savory et coll., 1988) :

- détecter le plus souvent des concentrations très faibles de l'ordre du p.p.b. (partie par billion) ,

- accomplir l'échantillonnage, le stockage, la préparation des échantillons et le dosage sans contamination extérieure.

En effet, le dosage de l'aluminium est de réalisation délicate du fait de l'ubiquité de cet élément dans l'environnement et donc des risques de contamination qui en résultent (Clavel et coll., 1983 ; Tapparo et coll., 1995). Cependant, la pollution des échantillons a fortement diminué depuis l'utilisation de récipients et de tubes de prélèvements en polyéthylène ou polypropylène, ainsi que de réactifs ultra-purs (Cornelis & Schutyser, 1984).

Ainsi les précautions prises pour éviter les contaminations ont entraîné une diminution progressive des valeurs usuelles de l'aluminium sanguin : Berlyne et coll., en 1970, rapportaient des valeurs normales de 300 $\mu\text{g/l}$ alors que les auteurs admettent actuellement des valeurs de 5 à 10 $\mu\text{g.l}^{-1}$. D'une manière générale, les valeurs obtenues pour le dosage de l'aluminium sont toujours plus importantes dans les articles les plus anciens que celles rapportées dans les publications récentes car la préparation des échantillons entraînait des erreurs par excès (Jaudon & Clavel, 1984).

Un autre problème est la conservation des échantillons, elle se fait à +4° C, ou à -20° C en cas de stockage, et ils sont acidifiés afin d'éviter toute précipitation du métal (Wilhelm & Ohnesorge, 1990).

A l'heure actuelle, l'aluminium est dosé principalement par cinq techniques différentes, qui seront décrites brièvement ci-dessous. Les méthodes spectroscopiques, tel que l'émission et l'absorption atomique, sont bien adaptées

au dosage de l'aluminium et résolvent pour une large partie, les problèmes d'interférences rencontrés avec les matrices biologiques (Lovell et coll., 1996).

1) Méthodes chimiques et physico-chimiques

L'aluminium peut être dosé par potentiométrie (Radic, 1976), titration (Salazar-Gutierrez et coll., 1988), photométrie (Nabrzyski & Gajewska, 1998) et fluorimétrie. Cependant, les interférences avec d'autres métaux et les contaminations des réactifs, problèmes majeurs rencontrés avec ces techniques, ajoutés à leur faible sensibilité, ont fait qu'elles ne sont plus utilisées actuellement.

Les méthodes colorimétriques utilisaient soit l'alizarine (Cholak et coll., 1943), l'ériochrome cyanine R (Seibold, 1960) ou l'hématoxyline (Giebler, 1961). La mesure de la fluorescence d'un complexe aluminique est plus sensible que la colorimétrie et plus souvent utilisée (Will, 1961 ; Noll & Stefanelli, 1963 ; Sanchez-Rojas et coll., 1988 ; Salinas et coll., 1988 ; Pereiro Garcia et coll., 1990 ; Ben-Hur et coll., 1992).

Les interférences et les méthodologies complexes font préférer actuellement l'analyse par spectroscopie.

2) Méthode d'analyse pour le dosage quantitatif de l'aluminium

a - La spectroscopie d'absorption atomique (S.A.A.)

Cette technique est la plus couramment utilisée pour doser l'aluminium dans les milieux biologiques car elle a l'avantage de nécessiter de faibles volumes d'échantillons (de 5 à 50 μ L).

Principe

Cette méthode de dosage repose sur la loi de Kirchoff, selon laquelle un atome peut absorber certaines radiations lumineuses qu'il est lui-même susceptible d'émettre (phénomène de renversement de la raie). La mesure de l'intensité lumineuse avant et après passage de la vapeur atomique permet de déterminer le pourcentage d'absorption de la radiation, qui est fonction de la teneur de l'échantillon en élément à doser.

Limite de détection

- La S.A.A. de flamme possède une limite de détection médiocre pour l'aluminium, qui est de $30 \mu\text{g.L}^{-1}$ (soit $1,11 \mu\text{mol.L}^{-1}$) : Krishnan et coll., 1972 ; Parkinson et coll., 1982 ; Van der Voet et coll., 1985a ; Andersen, 1988 ; Koch et coll., 1989 ; Taylor & Walker, 1992.
- La S.A.A. à four graphite a une limite de détection de $2 \mu\text{g.L}^{-1}$ d'aluminium (soit $8.10^{-2} \mu\text{mol.L}^{-1}$) : Fuchs et coll., 1974 ; Legendre & Alfrey, 1976 ; Pegon, 1978 ; Smeyers-Verbeke et coll., 1980 ; Leung & Anderson, 1983 ; Smeyers-Verbeke & Verbeelen, 1985 et 1988 ; Van der Voet & De Wolff, 1985a ; Chappuis et coll., 1988 ; Wang et coll., 1991 ; Bradley & Leung, 1994.
- La S.A.A. électrothermique peut détecter jusqu'à $1 \mu\text{g.L}^{-1}$ d'aluminium (soit $4.10^{-2} \mu\text{mol.L}^{-1}$) : Alderman & Gitelman, 1980 ; Bertholf et coll., 1983 ; Petiot et coll., 1983 ; Gitelman et coll., 1989 ; Van Ginkel et coll., 1990a ; Taylor & Walker, 1992.

b - La spectroscopie d'émission atomique (S.E.A.)

Cette technique est également fréquemment utilisée pour le dosage de l'aluminium dans les milieux biologiques car elle est tout aussi sensible et rapide que la S.A.A. Elle présente une excellente linéarité et une bonne reproductibilité (Allain & Mauras, 1979). L'investissement dans le matériel reste cependant plus coûteux que pour la S.A.A.

- La S.E.A. à couplage inductif (S.E.A.-I.C.P.) : Allain & Mauras, 1979 ; Lichte et coll., 1980 ; Knoll et coll., 1986 ; Koch et coll., 1989.

- La S.E.A. Direct Current Plasma (S.E.A.-D.C.P.) : Roberts & Williams, 1988.

Principe

Cette technique est basée sur la mesure de la lumière émise après excitation des éléments introduits dans un plasma d'argon (passage d'un état fondamental à l'état excité). L'aluminium est un atome qui nécessite une excitation à haute énergie : le flux d'argon est donc porté à très haute température (7 000 à 8 000 °C) et permet la dissociation des molécules de l'échantillon et l'excitation des atomes produits. Ces atomes, en revenant à l'état initial, émettent une lumière de longueur d'onde spécifique. L'intensité du rayonnement émis est

proportionnelle à la concentration de l'élément et analysée par spectrophotométrie.

Limite de détection

- Pour les échantillons provenant de matrices organiques chargées (sang, urines), la limite de détection est identique à celle de la S.A.A.E., soit $1 \mu\text{g.L}^{-1}$ d'aluminium (ou $4.10^{-2} \mu\text{mol.L}^{-1}$).

- Pour les échantillons aqueux, la limite de détection peut avoisiner les $0,6 \mu\text{g.L}^{-1}$ (soit $2.10^{-2} \mu\text{mol.L}^{-1}$) (Taylor & Walker, 1992).

c - L'analyse par activation neutronique (A.A.N.)

Cette méthodologie utilise des éléments marqués et n'est donc pas accessible à tous les laboratoires de biologie. De plus, le matériel est nettement plus coûteux et la mise en oeuvre plus complexe que les techniques précédemment citées. En effet, il est nécessaire de procéder à une chromatographie échangeuse d'ions, pour éliminer les radiocontaminants (sodium, chlore, phosphore, silicium) avant l'irradiation de l'aluminium fixée sur la résine (Blotcky et coll., 1976 ; Ward et coll., 1978). Alfassi & Rietz (1994) ont proposé également une méthode de détermination de l'aluminium par analyse par activation neutronique instrumentale mais elle reste fort complexe.

Principe

Après bombardement neutronique d'un échantillon, ^{27}Al est activé et forme par réaction de ^{28}Al , qui est ensuite quantifier par comptage radioisotopique.

Limite de détection

Elle est identique à la S.A.A.E., soit $1 \mu\text{g.L}^{-1}$ (ou $4.10^{-2} \mu\text{mol.L}^{-1}$).

d - La polarographie impulsionnelle

Cette technique a l'avantage d'utiliser un matériel abordable à tous les laboratoires mais elle est longue et le volume d'échantillon doit être assez important (environ 5 mL) alors qu'il est généralement limité lorsqu'il s'agit de fluides biologiques. De plus, certaines substances peuvent réagir électrochimiquement et former des pics parasites, il faut donc pouvoir les éliminer par minéralisation ou par extraction (Burnel et coll., 1982a).

Principe

C'est une technique basée sur une microélectrolyse, elle permet le dosage de substances oxydables ou réductibles : composés organiques ou métaux. Des impulsions synchronisées sont surimposées à la tension continue de l'électrode de travail (en général, c'est une électrode à goutte de mercure tombante) où le cation métallique est réduit.

Limite de détection

On peut déterminer des concentrations aluminiques de l'ordre de $1,3 \mu\text{g.L}^{-1}$ (soit $5.10^{-2} \mu\text{mol.L}^{-1}$).

e - Autres techniques évoquées dans la littérature

- La résonance magnétique nucléaire (R.M.N.)

La sensibilité de cette technique n'est pas très satisfaisante, mais elle a été employée par Koch (1990) et Nagata et coll. (1992).

- La chromatographie liquide haute performance (H.P.L.C.)

Cette technique a été utilisée dans des études sur la spéciation de l'aluminium (Bertsch & Anderson, 1989 ; Datta et coll., 1990 ; Lee et coll., 1996) et peut être couplée à un spectromètre de masse (I.C.P.-M.S.) (Maitani et coll., 1994 ; Owen et coll., 1994 et 1995 ; Van Landeghem et coll., 1998a).

- L'électrophorèse ionique capillaire

Elle est très peu utilisée. (Grocott et coll., 1992).

3) Méthode d'analyse pour la localisation tissulaire de l'aluminium

a - Colorations histochimiques

La technique de l'aluminon est celle qui a été la plus utilisée (Irwin, 1955 ; Ellis et coll., 1988 ; Dos Reis et coll., 1997), elle est basée sur une réaction histochimique entre l'aurine tricarboxylate d'ammonium (ou aluminon) et l'aluminium qui forme un composé colloïdal rouge. La limite de détection de cette technique est de $3 \mu\text{g.L}^{-1}$ (soit $0,12 \mu\text{mol.L}^{-1}$). De plus, d'autres éléments donnent des composés colorés qui obligent d'avoir une phase de séparation avant la phase d'analyse (Charlot, 1963).

b - La micro-sonde à impact laser LAMMA (Laser Microprobe Mass Analysis)

C'est une technique semi-quantitative. Dans un premier temps, un laser provoque l'ionisation des molécules de l'échantillon. Puis, les ions sont analysés par spectrométrie de masse. La sensibilité de cette méthode est assez mauvaise et elle nécessite une lyophilisation préalable des échantillons. Cependant, elle reste intéressante pour localiser l'aluminium notamment au niveau de tissus sur des coupes histologiques (Muller et coll., 1982 ; Verbueken et coll., 1988 ; Vandeputte et coll., 1989 ; Schmidt et coll., 1990 ; Reusche et coll., 1993 ; Kasarskis et coll., 1995 ; Iancu et coll., 1996 ; Reusche et coll., 1999).

c - La microscopie analytique

Plusieurs techniques existent, elles associent toujours un microscope électronique à transmission ou à balayage, avec un système analytique. Elles permettent ainsi de détecter des éléments chimiques au niveau des coupes histologiques (Truchet, 1976 ; Galle, 1981 ; Quintana et coll., 1987 ; Bonhomme et coll., 1989 ; Candy et coll., 1992a ; Morroni et coll., 1995 ; Chassard-Bouchaud, 1996 ; Platek et coll., 1997).

- La microanalyse à rayons X

Principe

L'échantillon est bombardé par des électrons sous l'impact desquels chaque élément chimique va émettre des rayons X de longueur d'onde caractéristique. Un spectromètre de microanalyse d'énergie dispersive détermine la nature des éléments présents en sélectionnant ces longueurs d'onde spécifiques.

Limite de détection

La limite de détection de cette technique n'est en général pas suffisante pour les études de biologie car elle avoisine les 100 ppm.

- La microanalyse ionique

Principe

L'échantillon est bombardée par un faisceau d'ions primaires. Les atomes des couches atomiques les plus superficielles sont progressivement arrachées et

l'échantillon est érodé au même rythme. Certains de ces atomes sont émis sous forme de particules chargées (ions secondaires) et sont accélérés par une différence de potentiel et focalisés en un faisceau (image globale de tous les ions). Un spectromètre de masse sépare le faisceau unique en plusieurs selon la charge spécifique des ions (rapport de leur charge à leur masse) et permet ainsi de sélectionner une variété d'ion.

Limite de détection

Cette technique a une limite de détection $< 0,1$ ppm et permet aisément des études de microanalyse intracellulaire.

LES SOURCES D'EXPOSITION A L'ALUMINIUM

L'aluminium est universellement répandu dans la nature et entre plus ou moins dans la composition de tous les éléments d'un écosystème. De ce fait, et aussi à cause de ses nombreuses utilisations industrielles, l'aluminium est présent dans l'air, les aliments et l'eau. L'exposition de l'homme est donc inévitable et des taux modérés de cet élément pénètrent chaque jour naturellement dans l'organisme.

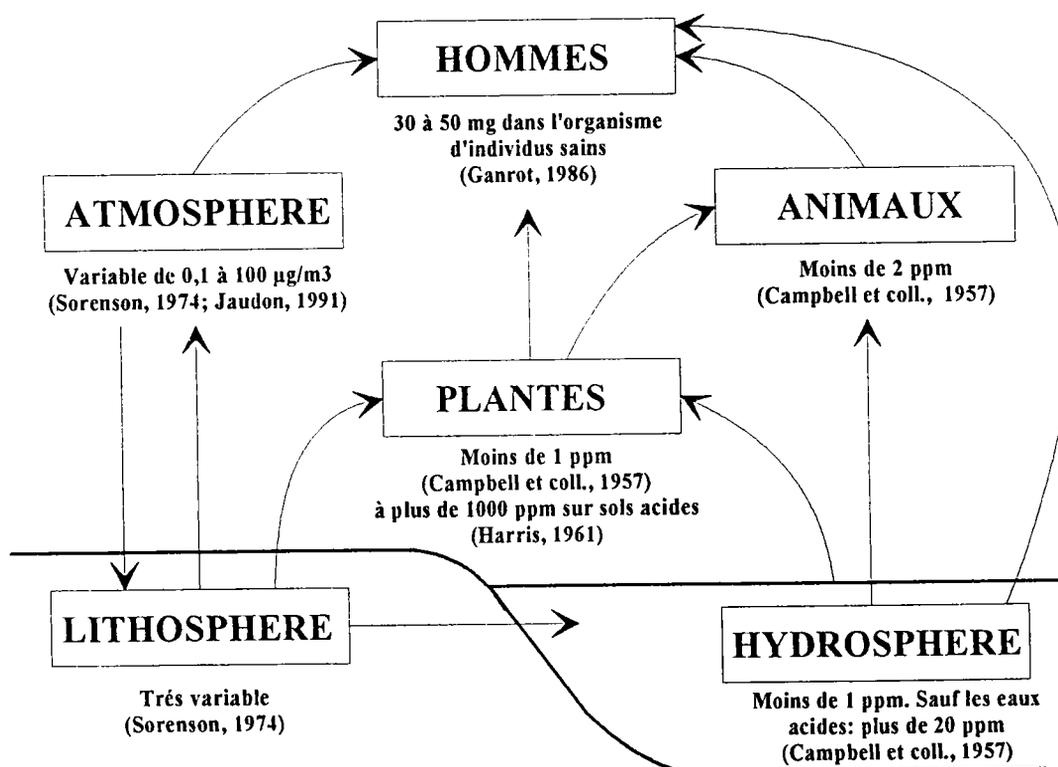


Figure 2 : Le cycle de l'aluminium et les concentrations aluminiques rencontrées à chaque niveau.

I) PRESENCE DE L'ALUMINIUM DANS L'ENVIRONNEMENT NATUREL

1) L'aluminium dans la lithosphère

L'aluminium est le métal le plus répandu sur l'ensemble de l'écorce terrestre (8,13 %). Il est l'élément métallique le plus abondant et le troisième élément de la nature après l'oxygène (46,6 %) et le silicium (27,7 %) (Sorenson et coll., 1974).

L'aluminium présent dans les sols n'est jamais à l'état métallique et les proportions dans lesquelles on le trouve varie énormément d'un sol à l'autre (de 3 à 60 %). Par exemple, des relevés géochimiques ont montré que les sols de Hawaï contenaient de 179 à 318 ppm d'aluminium alors que ceux du Missouri en avaient 58 ppm (Sorenson et coll., 1974). D'une manière générale, l'aluminium semble largement retenu dans les horizons (B) des sols bruns acides en se fixant aux feuillets d'argiles ou au complexe argilo-humique.

L'origine de l'aluminium dans la lithosphère peut être attribuée à une décomposition mécanique de fragments rocheux et à l'action combinée d'argile et de substances organiques qui mobiliseraient le cation aluminique. Le dioxyde de carbone et les acides organiques sont généralement considérés comme des agents ayant un rôle important dans la réalisation de ce processus (Hutchinson, 1945). L'aluminium se trouve à l'état naturel dans les sols sous forme de silicates d'aluminium ou d'oxyde d'aluminium :

- les aluminosilicates sont, soit des minéraux primaires (feldspaths, feldspathoïdes, micas, pyroxènes, amphiboles), soit des minéraux d'altérations (minéraux d'argile...). La forme la plus pure des aluminosilicates est le kaolin.

- l'oxyde d'aluminium (Al_2O_3) est, soit anhydre (alumine), soit hydraté. La forme anhydre pure constitue le corindon et la forme impure l'émeri, que l'on retrouve dans les pierres précieuses (rubis, topaze, saphir, émeraude ...).

Le minerai d'aluminium le plus exploité est la bauxite, c'est un mélange de plusieurs formes d'oxydes hydratés dont des oxydes de fer et de silicium en plus de ceux de l'aluminium.

L'aluminium combiné est l'élément majoritaire du sol qui est le moins soluble. Sa solubilité est influencée par la présence d'autres éléments dont

principalement les ions hydrogène et phosphate. Les connaissances sur la spéciation de l'aluminium dans les sols sont peu nombreuses. Il est connu que seuls les sols très acides (de $\text{pH} \leq 5$) peuvent redissoudre des quantités significatives d'hydroxyde d'aluminium. L'aluminium soluble est principalement sous forme d'ions oxyaluminium, $\text{Al}_2\text{O}_3\text{H}^+$, un peu sous forme cationique Al^{3+} et sous forme colloïdale (Hutchinson, 1945).

2) L'aluminium dans l'atmosphère

L'aluminium est, avec le fer, un des principaux métaux retrouvés dans les émissions atmosphériques d'origine naturelle (poussières continentales et volcaniques) et anthropogénique (Lantzy & Mackenzie, 1978).

La concentration atmosphérique en aluminium est également très variable selon l'environnement, elle dépend de plusieurs facteurs :

- la proximité de zones urbaines,
- les conditions météorologiques,
- la quantité et la nature du trafic de véhicules,
- la proximité d'industries polluantes.

La quantité de poussières d'aluminium peut aller de 0.1 à $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$ d'air, et elles sont constituées de très fines particules submicroscopiques, d'aluminosilicates le plus souvent (Sorenson et coll., 1974 ; Jaudon, 1991).

Actuellement, il n'y a pas de législation spécifique bien définie pour les rejets atmosphériques de l'aluminium, la limite de rejet a été fixée, pour les fonderies, à $5 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$. La circulaire du 13 mai 1987, concernant la valeur limite réglementaire de concentration des agents chimiques dans l'atmosphère des locaux de travail, a fixé pour l'aluminium, pulvérulent et fumées de soudage, des valeurs maximales d'exposition (V.M.E.) de 5,5 et $2 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$. Par ailleurs, les émissions atmosphériques de certaines substances (dioxyde d'azote et dioxyde de soufre) sont strictement réglementées car elles peuvent favoriser la solubilisation des métaux après avoir été oxydées en acides nitrique et sulfurique.

3) L'aluminium dans l'hydrosphère

Comparées aux valeurs d'aluminium dans l'écorce terrestre, les concentrations aluminiques rencontrées dans la plupart des eaux de surface sont négligeables et vont dépendre de l'origine mais surtout des conditions physico-chimiques de ces eaux (Campbell et coll., 1957). Des études ont montré que le taux d'aluminium moyen contenu dans les eaux terrestres était de $0,4 \mu\text{mol.L}^{-1}$ (Stumm & Morgan, 1981). En général, l'aluminium en solution va rapidement précipiter avec la matière en suspension ou être absorbé sur les sédiments (Moran & Moore, 1988). Ainsi, dans des eaux où le pH est proche de la neutralité, l'aluminium dissous est en très faible concentration car la majeure partie de ce métal est sous forme insoluble, alors que les sédiments peuvent contenir de plus forts taux d'aluminium.

Par contre, dans les biotopes aquatiques où le pH de l'eau est acide ($\text{pH} < 5,0$), la concentration aluminique peut varier de 10 à $1\ 000 \mu\text{g.L}^{-1}$ (Platts et coll., 1977 ; Birchall & Chappell, 1987). Ces conditions peuvent se rencontrer en présence de déchets industriels, de drainages miniers ou même suite à des phénomènes naturels comme les pluies acides ou les régions volcaniques.

Ainsi, les dépôts atmosphériques acides (pluies acides) peuvent altérer le processus naturel de développement des sols en solubilisant l'aluminium contenu dans les sols et en facilitant son transport vers les eaux de surface adjacentes, par des phénomènes de lixivage (Driscoll, 1985).

L'aluminium peut être transporté sous forme de complexe avec des anions bicarbonates HCO_3^- , sulfate SO_4^{2-} , fluorure F^- ou avec des acides organiques (Campbell et coll., 1983). Par conséquent, les pluies acides peuvent, dans certaines régions, provoquer une augmentation importante de la teneur des eaux des lacs et des rivières.

Les variations saisonnières influencent également les teneurs aluminiques des rivières car durant les saisons chaudes, le flux d'eau diminue et provoque la concentration des éléments minéraux (Toth, 1968).

La présence de l'aluminium dans les biotopes aquatiques est importante car (Stokes et coll., 1985 ; Sullivan et coll., 1989):

- l'aluminium peut influencer le pH du milieu,
- l'aluminium peut modifier le cycle de certains éléments comme le phosphore, le carbone organique et d'autres éléments trace,
- l'aluminium peut être potentiellement toxique pour certains organismes aquatiques.

4) L'aluminium dans les végétaux

L'aluminium est présent dans toutes les plantes, mais c'est souvent en très faible quantité, souvent inférieure à 1 ppm. Au niveau de la plante, on trouve une répartition de l'aluminium selon un gradient de concentration décroissant des racines jusqu'aux feuilles (Hutchinson, 1945).

Cependant, certaines espèces végétales (cryptogames), installées sur des sols acides, peuvent contenir des valeurs plus élevées d'aluminium sans présenter d'effets toxiques. C'est ainsi que Flaten & Odegard (1988) ont dosé des teneurs en aluminium allant de 2 à 40 mg.kg⁻¹ dans les feuilles de thé.

Dans les dernières années, la biologie végétale s'est intéressée de plus en plus aux problèmes environnementaux liés à l'agriculture et a manifesté un intérêt croissant pour l'étude des phénomènes toxiques liés aux métaux. Depuis 1978, de nombreuses études portent sur les mécanismes de phytotoxicité de l'aluminium, car l'aluminium est un problème majeur en agronomie qui limite la productivité des récoltes sur sols acides.

En effet, sur des sols dont le pH est proche de la neutralité, l'aluminium est sous forme insoluble d'aluminosilicate ou d'oxydes d'aluminium.

Lorsque les sols deviennent plus acides, des formes phytotoxiques de l'aluminium sont retrouvées dans le sol (tableau 1) et on peut alors avoir des taux d'aluminium jusqu'à 1000 ppm (Harris, 1961). L'hypothèse de l'acidification des sols sous l'effet des pollutions d'origine atmosphérique entraînant une toxicité aluminique vis à vis des végétaux a été défendue par Ulrich et coll. (1979). Il résulte de cette étude que dans les écosystèmes soumis en permanence à un bain acide, les éléments nutritifs essentiels pour la croissance des végétaux (Ca, Mg, K) sont lixiviés dans le sol et il apparaît dans le compartiment liquidien du sol des ions hydroxy-alumineux.

La toxicité aluminique a pour cible l'apex racinaire et une inhibition de sa croissance et donc de celle de la plante (Bennet & Breen, 1989 ; Petterson & Strid, 1989a ; Lukaszewski & Blevins, 1996). On peut distinguer différents aspects dans les symptômes de la phytotoxicité de l'aluminium (Kochian, 1995) :

- les dérèglements d'ordre physiologiques : inhibition de la division cellulaire méristématique des racines (Wallace & Anderson, 1984) ; inhibition de la synthèse d'ADN (Johnson & Wood, 1990) ; inhibition des systèmes enzymatiques tels que la calmoduline (Slaski, 1989), nitrate réductase (Klotz &

Horst, 1988 ; Rufty et coll., 1995) ; induction d'un dépôt de lignine (Sasaki et coll., 1996).

- les dérèglements dans les processus d'absorption des éléments essentiels : compétition avec les éléments minéraux Ca^{2+} et Mg^{2+} (Godbold et coll., 1988 ; Shortle & Smith, 1988 ; Caldwell, 1989 ; MacDiarmid & Gardner, 1996) ; inhibition de l'absorption des anions : SO_4^- , PO_4^- , Cl^- , NO_3^- ; précipitation des phosphates au niveau racinaire entraînant une carence dans les parties aériennes (Jensen et coll., 1989 ; Pettersson & Strid, 1989b).

Tableau 1 : Formes chimiques de l'aluminium et importance de leurs effets phytotoxiques.

Formes aluminiques		Toxicité
<i>Aluminium monomérique</i> à $\text{pH} < 5,0$	Al^{3+} , $\text{Al}(\text{OH})^{2+}$ et $\text{Al}(\text{OH})_2^+$	Espèce la moins toxique (Alva et coll., 1986) Espèces les plus toxiques pour les dicotylédons (Alva et coll., 1986)
<i>Aluminium monomérique</i> à $\text{pH} = 7,4$	$\text{Al}(\text{OH})_4^-$	Participe de façon indirecte à la toxicité car l'ion aluminate participe à la formation de la forme polymérique
<i>Aluminium polymérique</i>	Al^{7+} ₁₃ ou $\text{AlO}_4 \text{ Al}_{12}(\text{OH})_{24}(\text{H}_2\text{O})_{12}^{7+}$	Beaucoup plus toxiques que Al^{3+} (Shann & Bertsch, 1993 ; Parker et coll., 1989)
<i>Complexes aluminiques de faibles poids moléculaires</i>	Complexation avec : -acides organiques -phosphates inorganique -polyphosphate -sulfate	Facilement absorbé par les racines (Ownby & Pophan, 1990 ; Delhaize & Ryan, 1995)

Après que la toxicité de l'aluminium ait été largement étudiée et démontrée pour de nombreuses espèces agricoles, il a été suggéré qu'elle pouvait participer au dépérissement forestier observé ces dernières années dans les forêts d'Europe et d'Amérique du Nord (Johnson et coll., 1981 ; Godbold et coll., 1988) et, pour tenter de remédier aux dommages, de nombreux programmes d'études ont été mis en place dans différents pays.

5) L'aluminium dans les animaux

Dans la littérature, les animaux les plus étudiés sont ceux dont la niche écologique est le milieu aquatique.

Les modifications au niveau du métabolisme des organismes aquatiques sont dues non seulement aux teneurs en aluminium mais aussi à l'acidité des eaux car ces deux facteurs sont souvent liés.

Le pH de l'eau est déterminant pour la présence d'une population de poissons dans le milieu, et l'acidification trop importante peut entraîner le déclin et même la disparition d'une espèce (Dillon et coll., 1984 ; Mason & Seip, 1984). De plus, la toxicité de l'aluminium en milieu acide est directement contrôlée par la forme chimique sous laquelle le métal se trouve. Ainsi, les formes ioniques et l'hydroxyde d'aluminium semblent être les formes les plus toxiques chez les poissons (Schindler, 1988). Weatherley et coll. (1990) ont également montré que les alvins de *Salmo trutta* sont sensibles aux formes ioniques de l'aluminium.

La toxicité de l'aluminium est influencée également par les autres éléments chimiques du milieu :

- en présence de silicium, l'aluminium va former préférentiellement des composés d'hydroxy-aluminosilicates qui réduisent la biodisponibilité et la toxicité de l'aluminium (Birchall et coll., 1989),

- la toxicité de l'aluminium en milieu acide est corrélée avec le rapport Ca/Al (il n'y a pas de toxicité si $Ca/Al > 1$), ainsi, de faibles teneurs calciques augmentent la toxicité de l'aluminium (Hunn et coll., 1987 ; Sayer et coll., 1991).

L'aluminium semble être toxique pour les poissons lorsque la concentration en aluminium avoisine les 4 à 8 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ (Baker & Schofield, 1982).

Chez les poissons matures, les principaux organes cibles de la toxicité aluminique, sont les branchies. Ce sont les organes les plus endommagés

morphologiquement et histologiquement mais aussi ceux qui contiennent la plus forte concentration en aluminium.

Selon Flaten et coll (1996), les mécanismes de la toxicité de l'aluminium se manifesteraient de 2 façons :

- l'aluminium se fixerait sur la membrane épithéliale des branchies ce qui modifierait la perméabilité membranaire,

- l'aluminium s'accumulerait rapidement dans les cellules en provoquant une apoptose accélérée (Exley et coll., 1991).

Ainsi l'aluminium provoque un déséquilibre dans l'ionorégulation (Reader & Morris, 1988 ; Waring & Brown, 1995) et l'osmorégulation (Chevalier et coll., 1985 ; Witters et coll., 1990) entraînant alors une toxicité respiratoire clairement démontrée chez *Salmo gairdneri* (Playle et coll., 1989). Les propriétés de diffusion ainsi modifiée au niveau des branchies aboutissent à l'asphyxie (Exley et coll., 1996).

L'aluminium peut donc modifier un habitat écologique en diminuant la survie de certaines espèces de poissons (Muramoto, 1981 ; Brown, 1983) en modifiant la reproduction et notamment le temps d'éclosion (Dave, 1985) ou en inhibant la croissance des poissons comme *Salmo salar* (Mc Kee et coll., 1989).

L'accumulation de l'aluminium et ses effets toxiques ont été observés également chez d'autres espèces aquatiques que les poissons :

- les crustacés (Chassard-Bouchaud & Galle, 1986),

- les lamproies (Youson et coll., 1989),

- les bivalves (Chassard-Bouchaud & Galle, 1986 ; Malley et coll., 1988 ;

His et coll., 1996),

- les invertébrés (France & Stockes, 1987 ; Mc Cahon & Pascoe, 1989),

- les amphibiens (Calevro et coll., 1998),

- les oursins (Pagano et coll., 1996).

II) PRESENCE DE L'ALUMINIUM DANS L'ENVIRONNEMENT HUMAIN

1) Présence de l'aluminium dans l'industrie

Le seul minerai d'aluminium est la bauxite dont le constituant essentiel est l'alumine hydratée et dont les principales impuretés sont la silice, l'oxyde de fer et l'oxyde de titane. L'alumine peut être à l'état monohydraté ($\text{Al}_2\text{O}_3, \text{H}_2\text{O}$) ou trihydraté ($\text{Al}_2\text{O}_3, 3 \text{H}_2\text{O}$). De plus, on distingue 2 catégories de bauxites selon leur teneur en fer : les bauxites rouges (teneur en oxyde de fer élevée), les bauxites blanches (teneur en oxyde de fer faible mais teneur en silice élevée). Seules les bauxites rouges sont utilisées en métallurgie pour fabriquer l'aluminium en raison de leur faible quantité de silice (moins de 5%). Les bauxites blanches servent à la fabrication de ciments, d'abrasifs et de produits réfractaires.

Le plus gros producteur mondial de bauxite est l'Australie. La production mondiale de bauxite était d'environ 37.10^6 tonnes en 1993 et 92% de cette production est utilisée pour l'élaboration de l'aluminium (Philibert et coll., 1998).

La métallurgie de l'aluminium est très différente des métallurgies des autres oxydes. Du fait de sa grande affinité pour l'oxygène, l'aluminium doit être obtenu sous une forme directement utilisable et donc avoir été préalablement purifié. Les trois phases de la métallurgie de l'aluminium sont :

- 1 - La transformation de la bauxite en alumine Al_2O_3 aussi pure que possible (procédé Bayer),
- 2 - L'électrolyse de cette alumine mise en solution dans un bain de cryolithe fondue ($\text{AlF}_3, 3 \text{NaF}$), on obtient l'aluminium de première fusion,
- 3 - L'affinage de l'aluminium.

Ces procédés permettent d'obtenir l'aluminium à 99,9% pur.

La production annuelle d'aluminium est largement supérieure à celle des autres métaux, exceptée celle du fer. La production mondiale d'aluminium avait atteint plus de $19,3.10^6$ tonnes en 1990 (World Metal Statistics).

L'aluminium est utilisé dans de nombreuses industries, pur ou sous forme d'alliage. Cependant, une des grandes utilisations de ce métal, qui connaît une augmentation constante depuis 1960, est celle des emballages et des containers.

2) Présence de l'aluminium dans l'alimentation

L'aluminium contenu dans l'alimentation comprend non seulement l'aluminium présent naturellement dans les aliments ou les boissons, mais aussi l'aluminium qui provient des additifs ajoutés pour conditionner la nourriture et l'aluminium qui provient du contact de la nourriture avec les récipients et les ustensiles de cuisine.

Mais l'apport dû à l'alimentation est faible comparé à celui dû aux produits pharmaceutiques (Lione, 1983).

a - L'aluminium dans l'eau de boisson

Nous avons vu précédemment que l'aluminium est présent naturellement dans les eaux de surface. Les concentrations en aluminium trouvées dans les eaux souterraines sont faibles et négligeables par rapport à celles des eaux de surface (Sorenson et coll., 1974).

Dans l'eau destinée à la consommation humaine, l'aluminium a plusieurs origines (Montiel & Welte, 1984 ; Srinivasan et coll., 1999) :

- l'aluminium est présent dans les eaux brutes de façon naturelle. Ce sont des microparticules d'argiles insolubles (aluminosilicates) en suspension, que l'on peut éliminer aisément en réduisant la turbidité de l'eau,
- certains traitements complémentaires, comme les systèmes de traitement anti-corrosion ou anti-tartre, sont basés sur l'utilisation d'électrode soluble en aluminium,
- l'aluminium peut être ajouté à l'eau brute sous forme de sulfate d'aluminium (ou alun, $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$) ou d'aluminate de sodium. C'est en effet un des réactifs utilisé pour le traitement de clarification des eaux de surface afin d'éliminer les matières colloïdales quand l'eau est colorée ou trouble. La teneur en aluminium des eaux de distribution dépend donc de l'origine de l'eau brute et des traitements qu'elle a subi (Simpson et coll., 1988).

L'utilisation d'alun augmente la concentration en aluminium de façon significative selon Abreo et coll. (1990b). La concentration en aluminium augmenterait de $10 \pm 9 \mu\text{g.L}^{-1}$ dans les eaux brutes, à $49 \pm 9 \mu\text{g.L}^{-1}$ dans les eaux traitées (Driscoll & Letterman, 1988). Cependant, le problème de "fuite" d'aluminium lors de la clarification par les sels d'aluminium n'est devenu préoccupant que depuis l'utilisation de composés préneutralisés (WAC, SAB, SL 15, PCBA). En effet, ces composés ne provoquent pas de diminution de pH : l'eau reste à un $\text{pH} > 7,5$; dans ces conditions, la solubilité de l'aluminate est élevée et

il peut également se former des complexes solubles avec les fluorures, les sulfates...(Seux, 1984).

La majeure partie de l'aluminium servant de coagulant est éliminée par déposition ou filtration sous forme de sels insolubles. Bien que le traitement de l'eau vise à diminuer autant que possible la teneur en aluminium, il en reste toujours un peu. Miller et coll. (1984) ont estimé que dans 40 à 50% des cas d'utilisation d'alun comme agent coagulant, une augmentation de la concentration en aluminium dans l'eau traitée était observée. Leur étude, réalisée sur l'eau distribuée aux USA, a révélé des teneurs très variables comprises entre 14 et 2670 $\mu\text{g.L}^{-1}$. Lorsque les valeurs en aluminium dépassent 300 $\mu\text{g.L}^{-1}$ dans l'eau traitée, c'est un indice de défaut dans les processus de coagulation, de sédimentation ou de filtration. En Europe, une étude portant sur 12 pays a montré que la teneur en aluminium des eaux de distribution était, en général, inférieure à 200 $\mu\text{g.L}^{-1}$. Seules quelques eaux traitées par des sels d'aluminium avaient des valeurs beaucoup plus élevées (Sollars et coll., 1989). La qualité de l'eau est très contrôlée dans la plupart des pays. En Europe, il existe des normes pour les valeurs en aluminium des eaux de consommation. La Directive Européenne du 15 juillet 1980 classe l'aluminium dans les éléments en relation avec la composition physico-chimique naturelle de l'eau et non parmi les substances toxiques ; et elle fixe une concentration maximale admissible (C.M.A.) de 200 $\mu\text{g.L}^{-1}$, c'est également celle préconisée par l'Organisation Mondiale de la Santé (Directive de Qualité pour l'eau de boisson, 1986). Une valeur guide, c'est-à-dire un objectif de qualité à atteindre et à respecter, a été fixée à 50 $\mu\text{g.L}^{-1}$. En France, la C.M.A. de 200 $\mu\text{g.L}^{-1}$ a été également retenue par le décret du 3 janvier 1989.

En dehors des eaux de distribution publique, une étude a été menée sur 37 eaux minérales en bouteille de différents pays (Allen et coll., 1989). Il en ressort que la plupart des eaux ne contiennent pas de teneurs détectables en aluminium ($< 5 \mu\text{g.L}^{-1}$) et seulement 5 eaux testées ont une valeur plus élevée. Parmi lesquelles, l'eau de Vichy St Yorre Royale (France) qui contient une quantité élevée en aluminium (300 $\mu\text{g.L}^{-1}$), les quatre autres eaux ont en moyenne une valeur de 30 $\mu\text{g.L}^{-1}$.

En ce qui concerne les autres boissons, les concentrations en aluminium sont faibles sauf pour quelques exceptions. Le vin blanc, par son acidité, peut contenir des valeurs supérieures à 4 mg.L^{-1} , les boissons de type cola et la bière peuvent avoir des teneurs d'environ 800 $\mu\text{g.L}^{-1}$ d'aluminium (Duggan et coll., 1992). Lopez et coll. (1998) ont étudié les teneurs en aluminium des boissons

consommées en Espagne : 95 à 1683 $\mu\text{g.L}^{-1}$ pour le vin, 36 à 795 $\mu\text{g.L}^{-1}$ pour la bière et 16 à 740 $\mu\text{g.L}^{-1}$ pour d'autres boissons (cidre, rhum, whisky, anisette, liqueur, gin).

Mais d'une manière générale, l'aluminium contenu dans les boissons et dans l'eau de consommation ne représente qu'une valeur très faible par rapport à la quantité apportée par les aliments. Sollars et coll. (1989) ont estimé que l'aluminium contenu dans l'eau représentait moins de 5% de l'apport quotidien d'un adulte. Une étude récente (Priest et coll., 1998) a déterminé que l'aluminium contenu dans l'eau de boissons ne contribuait que pour 1% de l'apport alimentaire journalier en aluminium. De plus, pour que l'aluminium soit absorbé, il doit être sous forme labile et biodisponible ; ceci dépend essentiellement de la présence des constituants alimentaires dans l'estomac. Ainsi la présence d'aluminium dans l'eau ne sera pas forcément suivie d'une forte absorption au niveau intestinal (Glynn et coll., 1999). De même, la présence d'aluminium dans l'eau de boisson est en trop faible quantité pour causer un risque de développer la maladie d'Alzheimer (Martyn et coll., 1997). Par contre, l'aluminium contenu dans l'eau peut présenter un risque neuropathologique pour des individus âgés (Mc Lachlan et coll., 1996).

b - L'aluminium dans les aliments

D'une manière générale, les aliments contiennent assez peu d'aluminium (Greger, 1985b). Cependant, on observe une assez grande variabilité essentiellement basée sur les régions géographiques. En effet, la teneur en aluminium des aliments dépend de la teneur en aluminium du sol surtout pour les produits végétaux, mais elle dépend aussi des additifs utilisés. Beaucoup d'aliments contiennent moins de 10 $\mu\text{g.g}^{-1}$ d'aluminium. Les aliments d'origine végétale contiennent naturellement de 10 à 140 $\mu\text{g.g}^{-1}$ d'aluminium, c'est le reflet de l'aluminium du sol et de l'eau ainsi que la capacité de la plante à absorber et retenir le métal. Les aliments d'origine animale renferment des concentrations beaucoup plus faibles, elles varient selon la teneur en aluminium de la nourriture, du fourrage, de l'eau et de la capacité des tissus à concentrer l'aluminium (Schwanschula et coll., 1988 ; Wang et coll., 1991).

Les teneurs en aluminium de quelques aliments sont résumés dans le tableau 2.

Tableau 2 : Concentrations moyennes en aluminium de quelques aliments (d'après Greger, 1985b ; Fairweather-Tait et coll., 1987 ; Pennington, 1987 ; Sullivan et coll., 1987 ; Flaten & Odegard, 1988 ; Koch et coll., 1989 ; Matsushima et coll., 1997).

Aliments	Teneur en aluminium ($\mu\text{g Al.g}^{-1}$ aliment)
<u>Produits animaux</u>	
• viandes cuites	• 0,03
• saumon	• 4,00
• œufs	• 0,01 - 1,40
• lait	• 0,01 - 2,00
• fromage	• 0,20 - 20,00
<u>Fruits</u>	
• pommes, poires, pêches, oranges, bananes	• 0,02 - 0,40
• jus d'orange	• 0,40
<u>Légumes</u>	
• choux, oignons, pommes de terre, tomates	• 0,01 - 0,20
• asperges	• 4,40
• épinards cuits	• 25,20
• petits pois, haricots cuits	• 3,40
• algues	• 4,20 – 1080,00
<u>Herbes et épices</u>	
• thym	• 1000,00
• laurier, sauge, graine de céleri	• 404,00 – 465,00
• origan	• 600,00 – 645,00
• basilic	• 3080,00
• marjolaine	• 870,00
• poivre (gris et noir)	• 40,00 – 143,00
• sel	• 0,05
<u>Thé et café</u>	
• feuilles de thé	• 2,00 – 1170,00
• thé infusé	• 2,20 - 6,00
• grains de café	• 11,00 - 21,00
• café infusé	• 0,20 - 0,35
<u>Céréales</u>	
• pain blanc	• 3,00
• pain complet	• 5,40
• riz cuit	• 1,70
• pâtes cuites	• 0,40

Nous voyons que les aliments non transformés renferment peu d'aluminium sauf pour le thé et les plantes aromatiques.

Plusieurs études ont montré des teneurs élevées en aluminium dans le thé infusé. Cependant, on aura au maximum 2,2% de l'aluminium qui passera dans l'infusion (Rajwanshi, 1977). Ainsi, les concentrations en aluminium dans les feuilles de thé sont largement plus élevées, de 434 à 23 000 $\mu\text{g Al.g}^{-1}$ de feuilles sèches selon l'origine du thé (Koch et coll., 1989). Mais la quantité d'aluminium complexé avec des molécules organiques reste toujours la même, quelque soit l'origine du thé (Flaten & Lund, 1997). Bien que l'absorption de thé soit suivie d'une augmentation de l'excrétion urinaire de l'aluminium (Wu et coll., 1997), des travaux expérimentaux chez le rat ont montré que l'aluminium contenu dans le thé est très peu absorbé au niveau intestinal (Fairweather-Tait et coll., 1991 ; Powell et coll., 1993).

Pour le café, les observations faites vont dans le même sens, les valeurs en aluminium étant largement supérieures dans les grains de café bruts (de 11 à 21 $\mu\text{g.g}^{-1}$) que dans le café (de 0,20 à 0,35 $\mu\text{g.g}^{-1}$) (Koch et coll., 1989).

Une autre source alimentaire contenant de fortes concentrations en aluminium sont les plantes aromatiques, mais leur utilisation en faibles quantités ne représente aucun risque.

Une étude a également montré que les chewing-gum peuvent contenir jusqu'à 4 mg d'aluminium par dragée, et que 2 à 21 % de l'aluminium est mobilisé lorsque le chewing-gum est mâché (Lione, 1982).

Plusieurs études ont été réalisées afin de déterminer l'apport quotidien d'aluminium dans l'alimentation. Dès 1966, Tipton et coll. étudient les teneurs en aluminium chez un homme et une femme pendant 30 jours. Ils en conclurent un apport plus faible chez la femme (18 mg.jour^{-1}) que chez l'homme (22 mg.jour^{-1}).

Mais les résultats de ce type d'étude sont très variables étant donné que le mode d'alimentation est très variable d'un pays à l'autre mais aussi d'un individu à l'autre. Greger (1985) estime l'apport journalier d'aluminium dans l'alimentation entre 20 et 30 mg mais certains individus peuvent absorber plus de 100 mg.jour^{-1} d'aluminium. Alfrey (1984) estime à 4 mg, l'apport journalier en aluminium et Jaulmes & Hamelle (1971) de 10 à 12 mg.jour^{-1} d'aluminium.

Il semblerait que les valeurs moyennes journalières soient plus réduites en Europe (5 à 20 mg d'aluminium) qu'en Amérique du Nord (2 à 30 mg) ou qu'en Asie (4 à 20 mg). Ceci serait dû aux additifs et aux modes alimentaires.

Des études plus récentes annoncent des chiffres plus faibles quant à l'apport quotidien en aluminium chez l'homme. Biego et coll. (1998) annonce une valeur moyenne de l'apport en aluminium de 4,2 mg.jour⁻¹ pour la France. Une étude réalisée par la F.D.A. aux Etats-Unis concluait à un apport en aluminium selon l'âge de 0,7 mg.jour⁻¹ pour les enfants en bas âge, de 11,5 mg.jour⁻¹ pour les adolescents, de 7 mg.jour⁻¹ pour une femme adulte et de 8 à 9 mg.jour⁻¹ pour un homme adulte. Ces valeurs apparaissent trop faibles pour provoquer une accumulation du métal dans les tissus (Pennington, 1995).

c - Cas particulier de l'aluminium dans les laits infantiles.

Chez les prématurés et jeunes enfants, la barrière intestinale est encore immature (Jakobsson et coll., 1985). L'aluminium présent dans le lait va donc être absorbé relativement facilement et induire des effets toxiques chez les enfants (Hawkins et coll., 1994) ou entraîner la mort chez de très jeunes enfants urémiques (Freundlich et coll., 1985 ; Koo et coll., 1986). Le dosage de l'aluminium dans le lait maternel humain est faible : 23,4 ± 9,6 µg.L⁻¹ et il y a peu de différence entre le colostrum et le lait. Le lait de vache entier contient également peu d'aluminium : 70 µg.L⁻¹ (Fernandez-Lorenzo et coll., 1999). Par contre, les études sur les teneurs en aluminium des laits infantiles maternisés (1er et 2ème âge) montrent que les taux en aluminium sont relativement élevés : de 35 à 2080 µg al.L⁻¹ (Hewitt et coll., 1987), le lait de vache maternisé contient moins de 400 µg.L⁻¹ d'aluminium (Koo et coll., 1988). Des valeurs allant jusqu'à 2346 µg.L⁻¹ ont été dosées dans des laits les plus modifiés avec de nombreuses étapes de fabrication et des additifs, tels que les laits de soja, les laits pour enfants prématurés et les laits adaptés à des désordres métaboliques spécifiques (Koo et coll., 1988). C'est le lait de soja qui contient le plus fort taux d'aluminium (et le plus fort taux de minéraux) en comparaison avec les autres laits (Biego et coll., 1998). Une étude sur les laits infantiles utilisés en Turquie annoncent des valeurs comprises entre 1,2 et 10,9 µg.g⁻¹ de poudre (Sahin et coll., 1995a).

Selon Weintraub et coll. (1986), certains laits infantiles reconstitués contiennent jusqu'à 150 fois plus d'aluminium que le lait maternel. Ces mêmes auteurs ont estimé qu'un enfant consommant 1 litre de lait, absorbe en moyenne, 0,03 à 5 mg d'aluminium.

Des travaux similaires sur l'apport en aluminium selon le type de lait ingéré ont été effectués (Koo et coll., 1988 ; Dabeka & Mc Kenzie, 1990 ; Richmond et coll., 1993 ; Biego et coll., 1998b) :

- lait de vache : 0,03 - 0,80 mg.L⁻¹
- lait maternel : 0,00 - 0,04 mg.L⁻¹

- lait infantile : 1,00 mg.L⁻¹
- lait de soja : 219,0 mg.L⁻¹.

Devant les teneurs élevées en aluminium de certains laits, Fisher et coll. (1989) recommandent un suivi médical des enfants consommant ces laits, notamment le lait de soja. Cependant, des enfants nés à terme sans pathologie particulière et nourris au lait de soja, ne présentent pas une aluminémie significativement plus élevée que des enfants nourris au lait maternel (Litov et coll., 1989). Le cas particulier des enfants à bas âge sous dialyse péritonéale a été abordé par Salusky et coll. (1990). Ces auteurs proposent un lait de substitut (Similac PM 60/40) adapté à ces enfants pour lesquels les taux plasmatiques et osseux en aluminium sont faibles pendant la durée de l'étude.

Une expérience réalisée chez la rate, démontre que la concentration en aluminium contenue dans le lait augmente rapidement à la suite d'injections intrapéritonéales d'aluminium. Alors que les petits n'ont aucune différence d'accumulation tissulaire en aluminium par rapport au groupe témoin, ils ont un retard de croissance (Muller et coll., 1992).

d - L'aluminium dans les emballages et ustensiles de cuisine

Plusieurs auteurs ont suggéré que les ustensiles de cuisine en aluminium étaient une source d'apport d'aluminium dans les aliments (Lione et coll., 1984 ; Inoue et coll., 1988 ; Nagy et Jobst, 1994). Il est maintenant admis que le contact avec certains métaux peut provoquer une mobilisation de ces métaux et en augmenter la teneur dans l'aliment. Ainsi, le plomb et le cadmium ont ils été retirés de l'industrie alimentaire. En ce qui concerne l'aluminium, sa fraction dans les aliments ou les boissons due à l'emballage ou à la préparation avec des ustensiles en aluminium reste faible par rapport à la teneur déjà présente. Elle a été estimée à moins de 5% (Lee, 1989) et à 2 mg d'aluminium.jour⁻¹ pour un adulte américain (Greger, 1985).

Plusieurs facteurs influencent le passage de l'aluminium vers les aliments: le pH, la durée de cuisson, le mode de cuisson, l'utilisation de nouvelles casseroles (Greger et coll., 1985 ; Liukkonen-Lilja & Piepponen, 1992).

Ce sont les aliments acides cuisinés dans des casseroles en aluminium qui mobilisent le plus facilement l'aluminium (Fairweather-Tait et coll., 1987). Le tableau 3 montre quelques teneurs en aluminium d'aliments avant et après avoir été cuisinés avec des ustensibles en aluminium.

La concentration en aluminium augmente rapidement lorsque le temps de cuisson et/ou de stockage sont longs (Fimreite et coll., 1997). La présence de certains composés tels que l'acide citrique ou le fluor favorise le passage de l'aluminium vers l'aliment (Martin, 1986b ; Tennakone & Wickramanayake, 1987). Les résultats obtenus par Tennakone & Wickramanayake en 1987, démontraient une augmentation de 1000 fois la concentration en aluminium lorsque 1 ppm de fluor était ajouté à l'eau de cuisson. Ces études, surprenantes par leurs résultats, ont été reprises par Savory et coll. en 1987 mais les conclusions observées ne sont pas identiques. Une élévation du taux d'aluminium a été observée mais reste minimale par rapport aux chiffres avancés par Tennakone & Wickramanayake. Ceci peut être dû à une erreur d'analyse, à l'utilisation d'une forme chimique de fluor différente ou de casserole différente.

Une autre forme de contamination des aliments par l'aluminium concerne les boissons stockées dans des boîtes en aluminium. Là encore, la quantité d'aluminium dépend de la boisson stockée (Abercrombie & Fowler, 1997 ; Nagy & Jobst, 1994). Par exemple, les boissons à base de cola ou de fruits aura des valeurs en aluminium significativement plus élevées dans un conditionnement avec des boîtes en aluminium qu'avec des bouteilles en verre. Par contre, la bière, le thé glacé n'auront pas de grandes différences de concentrations selon l'emballage (Duggan et coll., 1992 ; Aikoh & Nishio, 1996). L'aluminium migre également depuis les percolateurs vers le café et d'autant plus que l'appareillage est neuf (Lione et coll., 1984 ; Liukkonen-Lilja & Piepponen, 1992).

En 1955, la "US Food and Drug Administration" publiait une enquête reconnaissant l'inocuité de l'aluminium dans l'industrie alimentaire (F.D.A., 1955). Depuis, la toxicité de l'aluminium dû aux alliages en aluminium utilisés dans l'industrie alimentaire, n'a toujours pas été clairement mise en évidence. C'est pourquoi l'aluminium est encore grandement répandu dans nos cuisines. Cependant, des études commencent à mettre en cause cet apport d'aluminium dans le déclenchement de pathologies osseuses (Kandiah & Kies, 1994) et dans l'accumulation tissulaire de l'aluminium chez des patients urémiques chroniques (Lin et coll., 1997).

Tableau 3 : Effet de la cuisson dans des batteries de cuisine en aluminium sur la teneur en aluminium des aliments.

Aliment	Concentration en aluminium ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)		Référence
	avant cuisson	après cuisson	
sauce tomate	0,10 0,17	57,1 21,5	Greger, 1988 Fairweather-Tait et coll., 1987
rhubarbe	0,16 0,8	42 15-23	Fairweather-Tait et coll., 1987 Fimreite et coll., 1997
petits pois	1,9 0,1	1,9 0,3	Greger, 1988 Fairweather-Tait et coll., 1987
choux-fleurs	0,19	0,72	Greger, 1988
pomme	0,13	7,1	Greger, 1988
boeuf	3,8	3,8	Greger, 1988

e - L'aluminium dans les additifs alimentaires

L'industrie alimentaire utilise plusieurs sels d'aluminium comme additifs pour l'émulsion, la stabilisation, l'acidification, la neutralisation ou la clarification des aliments ou des boissons.

En 1982, aux Etats-Unis, environ 2000 tonnes d'aluminium avaient été utilisées sous forme d'additifs alimentaires. Les sels les plus rencontrés sont les sels de sulfate d'ammonium et d'aluminium, de sulfate de potassium et d'aluminium (alun), de sulfate de sodium et d'aluminium et de phosphate de sodium et d'aluminium. C'est ce dernier qui est le plus couramment utilisé sous sa forme basique ou acide. Il a été estimé aux Etats-Unis que la dose

d'aluminium ingérée par les additifs représenterait 20 mg.jour⁻¹ et que 75% sont du phosphate d'aluminium sodique (Pennington, 1987).

Les aliments qui contiennent des quantités élevées d'additifs à base d'aluminium sont la levure chimique (69,5 µg Al.g⁻¹), le fromage fondu (15 µg Al.g⁻¹), la pâte à pain (1262,5 µg Al.g⁻¹) (Fairweather-Tait et coll., 1987) et le chocolat (11,5 µg Al.g⁻¹) (Sullivan et coll., 1987).

On trouve ces additifs alimentaires sous l'appellation :

- E520, 521, 522, 523 (blanc d'oeuf des préparations culinaires, fruits et légumes confits, cristallisés et glacés). Ce sont des sels de sulfate d'aluminium. Les concentrations autorisées sont de 3 à 20 mg/100 g d'aliments,
- E541 (génoiserie). Ce sont des sels de phosphate,
- E554, 555, 556 et 559 (denrées séchées en poudre, sel, fromages industriels, compléments alimentaires). Ce sont des sels de silicates.

3) L'aluminium dans les traitements thérapeutiques

a - Traitement de l'insuffisance rénale : la dialyse

La fonction épuratrice des reins peut être partiellement ou totalement réduite chez certains patients entraînant une augmentation de l'urée et de la créatinine dans le sang. Lorsque l'insuffisance rénale est chronique, un traitement à long terme par dialyse rénale s'impose : hémodialyse, dialyse péritonéale ou rein artificiel.

En ce qui concerne l'hémodialyse, le traitement nécessite des solutions salines concentrées (ou dialysats) que l'on dilue avec de l'eau. Sachant que par semaine, les dialysés sont soumis à 3 séances de dialyse, cela représente au total 360 litres de solution diluée directement au contact du sang des patients. Et on comprend aisément que la moindre présence d'aluminium peut représenter à long terme, un facteur de risque d'exposition important (Savory et coll., 1984 ; Blanusa et coll., 1997). Di Paolo et coll. (1997) ont montré que l'aluminium s'accumulait chez les dialysés préférentiellement dans la bile, le sang, l'urine et les poumons. C'est pourquoi la Commission Nationale de la Pharmacopée Française a fixé une valeur maximale de 30 ppb d'aluminium dans l'eau d'hémodialyse (Perrin & Certain, 1984) et un projet de Directive Européenne tend à fixer la valeur admissible à 10 ppb.

Ainsi, l'eau utilisée pour la dilution nécessite d'être purifiée avant utilisation par un échangeur d'ions et une osmose inverse (Davison et coll., 1982). Par ces techniques, les valeurs en aluminium sont généralement ramenées à moins de 5 ppb.

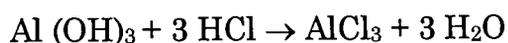
Le contrôle des concentrations en aluminium des solutions de dialyse a permis de diminuer le taux d'aluminium accumulé dans les os des dialysés et de faire disparaître les maladies osseuses dues à l'aluminium chez des patients de 1984 à 1995, le taux sérique n'ayant pas été modifié à cause de l'apport oral d'aluminium (Mazzaferro et coll., 1997).

b - Traitement de l'hyperphosphatémie : les gels d'alumine

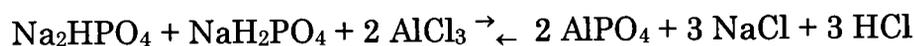
Chez les hémodialysés, des troubles métaboliques apparaissent et un traitement pour réguler le métabolisme phosphocalcique est nécessaire. En effet, la rétention du phosphore est à l'origine de l'apparition de l'hyperparathyroïdie et de l'ostéodystrophie (Bricker et coll., 1969 ; Rutherford et coll., 1977).

Une des propriétés chimiques de l'aluminium est de former des complexes insolubles avec les phosphates, c'est pourquoi des gels à base d'aluminium sont utilisés pour diminuer l'absorption intestinale du phosphore chez les dialysés (Spencer & Lender, 1979) et l'éliminer dans les fécès. La phosphatémie et la phosphaturie sont ainsi diminuées (Diamant & Gambertoglio, 1976). Ce sont en général les composés d'hydroxyde d'aluminium qui sont utilisés car ils sont difficilement absorbés par la barrière intestinale et on obtient les complexations suivantes au niveau gastro-intestinal :

1 - l'acide chlorhydrique gastrique donne avec l'aluminium du chlorure d'aluminium :



2 - le chlorure d'aluminium réagit avec les phosphates pour donner des phosphates d'alumine éliminés dans les matières fécales :



Bien que la fraction d'aluminium absorbée par le tractus gastro-intestinal soit faible, l'administration orale des gels d'alumine est une des sources d'apport principales chez l'homme (Berlyne et coll., 1970 ; Boukari et coll., 1978 ; Brahm, 1986 ; Larson et coll., 1986 ; Mc Carthy et coll., 1986 ; Burgess, 1991 ; Burgess et coll., 1992). Sedman et coll. (1984a et b) montrent que des enfants avec une insuffisance rénale et traités avec des gels d'aluminium ont un taux plasmatique en aluminium dépassant 100 $\mu\text{g.L}^{-1}$ et présentent des signes de toxicité

aluminique. Ces composés doivent être utilisés avec certaines précautions chez les enfants en insuffisance rénale (Salusky et coll., 1984).

Zumkley et coll. (1979) montrent que des patients insuffisants rénaux absorbant de l'hydroxyde d'aluminium par voie orale ont une aluminémie 3,5 fois plus élevée que des individus témoins.

Ces produits n'étant pas dépourvus de toxicité, il a été envisagé d'utiliser d'autres molécules ayant les mêmes propriétés. Les composés étudiés sont les sels de calcium (Morinière et coll., 1982 ; Cushner et coll., 1986 et 1988, Salusky et coll., 1991), un polymère naturel d'acide hétéropolyuronique (Schneider et coll., 1984 et 1985), l'oxychlorure de zirconium (Graff & Burnel, 1995a et 1995b), les sels de magnésium ou les sels de sodium. Mais il existe cependant peu d'études dans ce domaine et donc peu de produits de substitution proposés pour diminuer l'utilisation des composés aluminiques.

c - Traitement des douleurs gastriques : les anti-acides

Les sels d'aluminium sont utilisés pour leurs propriétés anti-acides puissantes dans le but de soulager les douleurs d'estomac lors des traitements d'ulcères gastriques, de gastrites ou en automédication (Hurwitz et coll., 1976 ; Gorsky et coll., 1979 ; Hollander et coll., 1986 ; Di Joseph et coll., 1990). Les posologies sont en général de 840 à 5 000 mg/jour (Lione, 1985) ce qui représente un apport très important. Les médicaments anti-acides comportent le plus souvent des composés d'aluminium simples (hydroxyde, phosphate) ou complexes (hydrotalcite, magaldrate), utilisés seuls ou en association avec d'autres composés anti-acides comme l'hydroxyde et le carbonate de magnésium ou le carbonate de calcium (Vatier et coll., 1990).

On peut distinguer 2 familles d'anti-acides selon le composé d'aluminium utilisé pour la préparation :

- les anti-acides à base d'hydroxyde d'aluminium (Detuma, Finidol, Gaviscon, Gelox, Maalox ..). Le composé aluminique est potentiellement solubilisable et il peut donc être absorbé par l'organisme.

- les anti-acides à base de phosphate ou de silicate d'aluminium, ils sont plus difficilement absorbables (Phosphalugel, Gastropax, Mucipulgate...).

Les propriétés de neutralisation de l'acidité ou de précipitation des phosphates ne sont pas corrélées avec la biodisponibilité ou la solubilité des sels d'aluminium (Yokel, 1989b).

L'ingestion de composés aluminiques en thérapeutique des affections gastriques ne provoque pas d'effets toxiques chez le sujet sans insuffisance rénale (Meredith & Blum, 1989). Un cas exceptionnel d'intoxication a cependant été observé chez un patient ayant ingéré quotidiennement en automédication et à long terme, plus d'un flacon de 340 g d'hydroxyde d'aluminium et de magnésium (Cooke et coll., 1978).

La prise orale d'anti-acides est suivie de l'élimination de l'aluminium, par voie fécale, et par voie urinaire et on observe toujours une augmentation de la concentration aluminique dans l'urine (Kaehny et coll., 1977a ; Recker et coll., 1977 ; Gorsky et coll., 1979 ; Krizek et coll., 1997). Pour cette raison, une attention particulière devrait être accordée à l'état de la fonction rénale des patients absorbant par voie orale des médicaments à base d'aluminium (Meredith & Blum, 1989 ; Jobst & Nagy, 1995 ; Lin & Leu, 1996), car le taux sanguin en aluminium peut augmenter de façon significative (Fleming et coll. 1982 ; Schütze et coll., 1995).

d - Présence d'aluminium dans les traitements par nutrition parentérale

L'aluminium est souvent présent dans les solutions parentérales administrées aux patients :

- l'hydrolysate de caséine a été retiré du marché car de très fortes teneurs en aluminium avaient été observées : 2313 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (Klein et coll., 1982),
- les solutions d'albumine peuvent contenir jusqu'à 1200 $\mu\text{g.L}^{-1}$ d'aluminium (Milliner et coll., 1985 ; Gammelgaard & Sandberg, 1989), elles sont utilisées en plasmaphérèse et le taux d'aluminium plasmatique augmente rapidement lors des transfusions,
- le gluconate de calcium contient de 270 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (Koo et coll., 1986) à 5000 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (Sedman et coll., 1985),
- le phosphate de potassium contient jusqu'à 2700 $\mu\text{g.L}^{-1}$ d'aluminium et le phosphate de sodium jusqu'à 2025 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (Koo et coll., 1986).

Les taux d'aluminium varient énormément d'un soluté à l'autre et l'apport moyen a été estimé par Messing et coll. (1986) à 5 $\mu\text{mol.jour}^{-1}$ (soit 135 $\mu\text{g.jour}^{-1}$). Chez l'adulte, l'aluminium finit par s'accumuler dans les tissus lorsque les solutés sont administrés sur une période relativement longue et l'intoxication aluminique est un risque iatrogène. Chez les enfants, nourris par voie parentérale et en particulier les nouveaux nés, on observe une accumulation

rapide de l'aluminium dans les os, une augmentation de l'aluminémie et l'aluminurie (Weberg & Berstad, 1986 ; Bishop et coll., 1989b).

Ainsi, il serait nécessaire d'éliminer la contamination en aluminium des préparations parentérales (58,4 à 1232,0 $\mu\text{g.l}^{-1}$) afin d'éviter tout risque d'intoxication (Baydar et coll., 1997).

e - Présence d'aluminium dans les adjuvants de vaccins

Les composés aluminiques ont été utilisés comme adjuvant dès 1926 car un vaccin anti-diphtérique contenant un précipité d'alun s'est révélé avoir de plus grandes propriétés antigéniques que les vaccins standards (Glenny et coll., 1926 ; Gupta et coll., 1996). La préparation des vaccins contenant de l'aluminium, en tant qu'adjuvant, est réalisée de deux façons (Gupta et coll., 1995) :

- un adjuvant préformé commercialement, en général un gel d'hydroxyde d'aluminium ou de phosphate d'aluminium, est mélangé à l'antigène qui va être absorbé. Cette méthode est la plus utilisée,

- la précipitation *in situ* des composés aluminiques en présence de l'antigène : le milieu de culture utilisé pour la croissance des bacilles (tétanique et diphtérique) contient des ions phosphates, bicarbonates avec des aluns (de potassium et de sodium). Cette méthode n'est plus utilisée de nos jours.

Les vaccins contenant des adjuvants à base d'aluminium sont ceux contre la diphtérie et le tétanos (Phanuphak et coll., 1989 ; Shirodkar et coll., 1990), mais aussi les vaccins contre la coqueluche, la poliomyélite et l'hépatite A et B. Les composés d'aluminium stimulent la synthèse des immunoglobines de classe E et peuvent déclencher des réactions d'hypersensibilité allergique (Nagel et coll., 1977 ; Vassilev, 1978 ; Poulsen & Weeke, 1985). Un problème qui peut être soulevé est la présence d'aluminium dans les injections itératives de substances allergènes pour les traitements de désensibilisation. Chez certains patients, les injections contenant de l'aluminium provoquent l'apparition de nodules sous-cutanés persistants (Garcia-Patos et coll., 1995). Heureusement, et contrairement aux vaccins, l'aluminium est souvent remplacé par du phosphate de calcium ou d'autres adjuvants (Boye et coll., 1990).

Des expériences chez la souris, ont montré les effets d'injection de composés d'aluminium :

- l'injection i.m. provoque l'apparition de granulomes inflammatoires persistant dans le temps (Goto & Akama, 1982),
- l'injection i.p. des vaccins entraîne une élévation transitoire de la teneur en aluminium cérébrale (Redhead et coll., 1992).

Cependant, des études comparant le pouvoir d'augmenter la réaction immune de différents adjuvants, l'hydroxyde d'aluminium ou le phosphate de calcium, montrent que l'hydroxyde d'aluminium est souvent plus efficace (Aggerbeck & Heron, 1995 ; Aggerbeck et coll., 1995 ; Kato et coll., 1994) et les profils pharmacocinétiques indiquent que le phosphate d'aluminium passe trois fois plus vite dans le sang que l'hydroxyde d'aluminium (Flarend et coll., 1997).

Par contre, une étude récente a montré chez le lapin, que l'adjuvant à base d'hydroxyde d'aluminium était aussi performant que l'adjuvant à base d'huile et que l'on obtenait un titre équivalent en anticorps sériques (Reddy & Srinivasan, 1997).

f - Autres utilisations pharmacologiques de l'aluminium

Les sels d'aluminium exercent des propriétés pharmacologiques potentiellement utiles en thérapeutique gastroentérologique. En effet, ils sont protecteurs de la muqueuse gastrique soit par leur capacité d'absorption des sels biliaires provenant de reflux duodéno-gastriques (Vatier, 1988), soit parce qu'ils induisent une réduction du potentiel érosif des pepsines vis à vis des glycoprotéines du mucus (Vatier et coll., 1987), soit enfin parce qu'ils seraient mucoprotecteur (Hollander & Tarmawski, 1989). Sur le plan de la motricité, ils réduisent la vitesse de vidange gastrique (Hurwitz et coll., 1976).

Les sels d'aluminium peuvent être utilisés comme astringents, antiseptiques, analgésiques et antidiarrhéiques (Lione, 1983 ; Khavkin et coll., 1996). Le phosphate d'aluminium a été utilisé dans le traitement d'ulcère duodéal (Poynard et coll., 1990). Lione (1985) estime que l'aluminium consommé comme analgésique représente 126 à 728 mg d'aluminium par jour. Les sels solubles d'aluminium (acétates, acétolactates, acétotartrates...) sont utilisés plutôt pour leur caractère astringent et légèrement antiseptique. Le salicylate d'aluminium a des propriétés anti-diarrhéiques.

On utilise le chlorure d'aluminium anhydre en solution dans l'éthanol pour traiter les folliculites chroniques (Shelley & Thurley, 1980).

Le chlorure d'aluminium ou l'hydroxyde d'aluminium est utilisé dans les déodorants antiperspirants. Le salicylate d'aluminium a également un pouvoir antisudoral.

Certains biomatériaux utilisés en otoneurochirurgie pour la reconstitution osseuse contiennent de l'aluminium (Takeshita et coll., 1993). Dans certains cas, une augmentation tissulaire des teneurs en aluminium a nécessité l'extraction des biomatériaux chez les patients (Guillard et coll., 1997). Hantson et coll. (1995) décrivent également le cas de deux patients décédés d'encéphalopathie à la suite d'implantation de biomatériaux contenant de l'aluminium.

L'aluminium réduirait les caries dentaires en évitant la fluorose des dents par son effet synergique sur le fluor (Kleber & Putt, 1984), en inhibant l'action de certains enzymes de la plaque dentaire et en interagissant avec l'émail dentaire (Christoffersen & Christoffersen, 1985).

Des solutions à base d'aluminium (AlCl_3 et AlKSO_4) à la concentration de $37 \mu\text{mol.L}^{-1}$ d'aluminium réduisent de 40% des lésions buccales chez le rat (Kleber & Putt, 1995).

g - Présence d'aluminium dans les matériaux de conditionnement

Les conditionnements les plus utilisés sont des matières plastiques :

- polyoléfines pour les solutions destinées à l'hémodialyse. Des catalyseurs à base d'aluminium sont utilisés pour la polymérisation, c'est pourquoi on dose dans les polyoléfines des teneurs d'aluminium non négligeables d'environ 360 ppm.
- polychlorure de vinyle pour les solutions destinées à la dialyse péritonéale. On détecte moins de 10 ppm dans ces emballages.

La migration de l'aluminium du récipient vers la solution qu'il contient est négligeable, lorsque le récipient contient peu d'aluminium et que la solution est diluée. Cependant, dans le cas où il y a cumul des 3 paramètres favorables à la migration de l'aluminium du contenant au contenu (pH acide, solution concentrée et récipient en polyoléfines), on peut avoir jusqu'à 275 ppb d'aluminium. Mais, la solution sera diluée avant utilisation ce qui ramène la contamination à moins de

10 ppb (Perrin & Certain, 1984). Le temps de séjour du produit dans son emballage augmente également le risque de migration de l'aluminium vers le contenu si l'emballage est composé de fortes teneurs en aluminium. Les tubes plastiques servant à la circulation du dialysat peuvent également être une source de contamination chez les hémodialysés (Milacic et coll., 1997).

Un autre conditionnement contaminant est le verre, formé d'alumine Al_2O_3 et de silice. Ce type de conditionnement est réservé aux solutions injectables et aux solutions buvables. Les bouchons sont parfois chargés en kaolin (silicate d'aluminium). De plus, le traitement de stérilisation va intervenir car le temps et la température choisis peuvent dégrader les emballages et la solution et mobiliser ainsi l'aluminium.

4) Présence de l'aluminium en agriculture

Le phosphore d'aluminium (ALP) est utilisé comme raticide en fumigation des céréales, il agit en libérant de l'hydrogène phosphoré (Hackenberg, 1972) et atteint principalement le coeur, les poumons, les reins et le tractus gastro-intestinal (Gupta & Ahlawat, 1995 ; Lall et coll., 1997). L'aluminium est un indicateur de l'exposition au phosphore d'aluminium. En effet, à la suite de la mort accidentelle d'une agricultrice, une étude a montré que le taux plasmatique en aluminium ($713 \mu\text{g Al.L}^{-1}$) et la concentration en aluminium dans les macrophages alvéolaires (supérieure à $200 \mu\text{g Al.L}^{-1}$) reflétaient une exposition au phosphore d'aluminium chez cette personne (Garry et coll., 1993). L'ingestion de phosphore d'aluminium est également hautement toxique et l'absorption d'une dose de 1,5 g chez l'homme est fatale (Singh et coll., 1996).

VOIES DE PENETRATION DE L'ALUMINIUM DANS L'ORGANISME

1) Pénétration de l'aluminium par voie cutanée

C'est une voie de pénétration très peu étudiée et on n'en connaît pas son importance.

L'aluminium présent dans les cosmétiques et les déodorants se retrouvent en contact avec la peau. L'aluminium semble traverser la couche cornée superficielle mais son absorption serait arrêtée au niveau de l'épiderme. Ainsi, la voie cutanée ne serait pas la voie majeure de pénétration dans l'organisme et sera peut-être négligeable : la peau formant une barrière efficace (Alfrey, 1983 ; Skalsky & Carchman, 1983).

2) Pénétration de l'aluminium par voie pulmonaire

L'absorption de l'aluminium par voie pulmonaire est inévitable du fait de la présence de particules atmosphériques contenant ce métal. Elle a été largement démontrée chez les personnes travaillant dans l'industrie de l'aluminium, qui sont directement exposées à de fortes concentrations d'aluminium dans l'air ambiant. Des pathologies dues à l'inhalation des particules d'aluminium ont également été observées dans ces milieux professionnels.

La quantité d'aluminium inhalée peut être très importante. Lorsqu'une faible quantité d'aluminium est respirée, l'élimination se fait de façon classique par les voies urinaire ou fécale. Mais lorsque l'exposition est plus forte et prolongée, il y a accumulation du métal au niveau pulmonaire. Une exposition de plusieurs années à des atmosphères contenant 10 à 100 mg.m⁻³ d'aluminium aboutit à des taux aluminiques pulmonaires environ 20 fois supérieures aux taux normaux (Mc Laughlin et coll., 1962). Les particules d'aluminium inhalées sont captées par les macrophages alvéolaires (Tartrai et coll., 1983), puis l'aluminium est dissout dans les lysosomes au sein des macrophages. L'aluminium est ensuite véhiculé dans l'organisme en empreintant les voies sanguines et lymphatiques

(Berry et coll., 1978). Ainsi, une partie de l'aluminium va être rapidement excrété par la voie urinaire alors que le reste de l'aluminium sera éliminé très lentement, entraînant une accumulation du métal dans l'organisme (Ungvary et coll., 1983 ; Sjögren et coll., 1985 ; Ljunggren et coll., 1991). De même, l'aluminium contenu dans le tractus respiratoire persiste, même après arrêt de l'exposition (Voisin et coll., 1996). Toute concentration d'aluminium supérieure à $0,6 \text{ mg.kg}^{-1}$ de tissu pulmonaire frais est considérée comme étant pathologique (Mc Laughlin et coll., 1962).

La pénétration de l'aluminium dans l'organisme par voie pulmonaire a été clairement démontrée chez certains individus.

Des ouvriers, travaillant dans l'industrie et la production primaire de l'aluminium, exposés à l'aluminium, ont des concentrations élevées en aluminium dans le sang (Waldron Edward et coll., 1971 ; Röllin et coll., 1991 ; San et coll., 1998) et dans l'urine (Sjögren et coll., 1983 et 1988 ; Gitelman et coll., 1995 ; Pierre et coll., 1995 ; Röllin et coll., 1996). Une étude a mis en évidence une corrélation positive entre la concentration d'oxyde d'aluminium dans l'air et la quantité d'aluminium dans le sérum et dans l'urine d'une part, et entre l'aluminium sérique et urinaire, d'autre part (Szczekocki & Chmielewski, 1978). Par contre dans les mines de bauxite, les ouvriers ne présentent pas de taux sanguins en aluminium supérieurs à la normale (De Kom et coll., 1997).

L'exposition pulmonaire en aluminium est également suivie d'une augmentation du rapport aluminium/créatinine, reflétant une élimination incomplète, et ce rapport est corrélé positivement avec la quantité d'aluminium contenue dans l'air (Gitelman et coll., 1995). De même, San et coll. (1988) observent que le temps d'exposition et le taux sérique d'aluminium chez les ouvriers de l'industrie de l'aluminium, sont corrélés négativement avec les résultats des tests spirométriques, montrant une diminution de la fonction respiratoire (Abramson et coll., 1989).

Diverses pathologies pulmonaires ont été observées chez les ouvriers de l'industrie de l'aluminium :

- asthmes et pneumopathies allergiques (Kongerud & Samuelsen, 1991 ; Kongerud & Soyseth, 1991 ; Soyseth et coll., 1992 ; Desjardins et coll., 1994),
- irritation directe et inflammation pulmonaire, tel que bronchite ou alvéolite (Eklund et coll., 1989 ; Schwarz et coll., 1998). Ces observations ont été confirmées expérimentalement chez le rat exposé à l'oxyde d'aluminium (White et coll., 1987),
- insuffisance respiratoire chronique, obstruction bronchique chronique, fibrose pulmonaire (Jederlenic et coll., 1990 ; Schwarz et coll., 1994),
- cancers bronchiques et alvéolaires (Dufresne et coll., 1996).

L'effet de l'aluminium sur les voies respiratoires dépend de la durée d'exposition, de la dose d'exposition (Field, 1984) et de l'état chimique de l'aluminium (Mussi et coll., 1984) ; l'aluminium pénètre plus facilement dans les poumons lorsqu'il est contenu dans des fumées que lorsqu'il est à l'état particulaire.

L'aluminium présente cependant des propriétés fibrotiques bien inférieures à celles d'autres substances comme l'amiante, le charbon ou la silice (Abramson et coll., 1989).

Mais avant de découvrir les effets fibrotiques de l'aluminium, certains auteurs avaient suggéré des effets bénéfiques de l'aluminium dans le traitement de la silicose. Des études ont montré que l'inhalation de lactate d'aluminium réduisait les effets pathologiques de la silicose en diminuant la rétention des cristaux de quartz au niveau pulmonaire chez le mouton (Dubois et coll., 1988) et chez le rat (Brown et coll., 1989).

Dufresne et coll. (1994) confirme que l'inhalation de lactate d'aluminium réduit la rétention pulmonaire de cristaux de quartz mais uniquement dans les premiers mois de traitement. Par contre, une étude plus récente montre qu'un traitement d'un an par un aérosol de lactate d'aluminium ne modifie pas des effets pathologiques de la silicose (Begin et coll., 1995).

L'aluminium est un métal souvent impliqué dans des désordres neurologiques. Ainsi, l'hypothèse a été avancée que l'aluminium inhalé, sous forme d'aluminosilicate, pouvait atteindre les lobes offactifs et provoquer la mort de cellules cérébrales. Le dosage d'aluminium et de silicium au niveau de plaques séniles a donné des résultats positifs et leurs concentrations sont en corrélation avec l'âge des individus (Roberts, 1986). Zatta et coll. (1993) ont également détecté l'accumulation d'aluminium dans différentes parties du cerveau chez le rat suite à l'inhalation d'acétylacétonate d'aluminium, un complexe neutre, stable hydrolytiquement et lipophile.

Les études sur les effets neurotoxiques de l'aluminium en milieu professionnel sont controversées. Les ouvriers exposés aux fumées de soudure de l'aluminium semblent avoir des symptômes précurseurs de désordres neurologiques (Sjögren & Elinder, 1992 ; Sjögren et coll., 1996). Alors que Sim et coll. (1997) n'observent que peu de différences entre les personnes exposées longuement à l'aluminium et celles travaillant depuis peu de temps dans les fonderies. Ainsi, il ne faut pas conclure hâtivement que l'inhalation de particules d'aluminium peut avoir des effets neurotoxiques.

3) Pénétration de l'aluminium par voie parentérale

L'aluminium est connu pour être un contaminant des solutions utilisées pour la nutrition totale parentérale (Klein et coll., 1982a) et on lui a associé des pathologies osseuses et des désordres métaboliques (Klein et coll., 1982b ; Ott et coll., 1983 ; Klein, 1995). Cette voie de pénétration de l'aluminium concerne les patients transfusés (plasmaphérèse), perfusés ou recevant une nutrition parentérale. Mais, ce sont les sujets atteints d'une insuffisance rénale chronique traités par dialyse (hémodialyse ou dialyse péritonéale ambulatoire) qui sont les plus exposés à cette voie directe de pénétration de l'aluminium. La voie parentérale est une voie de pénétration dans l'organisme, sans barrière pour limiter l'entrée d'aluminium. Des expériences chez le rat ont montré que la pénétration d'aluminium par voie parentérale est suivie d'une augmentation importante de la concentration du métal dans le sang et dans différents organes : foie, rate, coeur, muscles striés, cerveau et os (Berlyne et coll., 1972 ; Yokel, 1983).

a - Perfusion et plasmaphérèse

Les solutions injectées par voie intraveineuse lors de transfusions ou de perfusions contiennent parfois de fortes concentrations en aluminium. Ces solutions peuvent provoquer l'élévation du taux plasmatique en aluminium des patients et entraîner une accumulation tissulaire, en particulier, lorsqu'il existe une déficience rénale (Milliner et coll., 1985). Des expériences chez le lapin ont montré que l'injection intraveineuse de lactate d'aluminium ou de citrate d'aluminium est suivie d'une augmentation de la teneur hépatique en aluminium (Yokel et coll., 1991a).

b - Nutrition parentérale

• Chez l'adulte

Comme nous l'avons vu précédemment, les teneurs en aluminium contenues dans les solutés utilisés pour la nutrition parentérale varient énormément et l'apport moyen serait estimé à $5 \mu\text{mol}\cdot\text{jour}^{-1}$ (soit $135 \mu\text{g}\cdot\text{jour}^{-1}$) (Messing et coll., 1986). Lorsque la nutrition parentérale a lieu sur une longue période, l'aluminium finit par s'accumuler dans les tissus. Ainsi, des injections intraveineuses quotidiennes de $1 \text{ mg Al}\cdot\text{kg}^{-1}$, chez le chien, provoquent l'accumulation d'aluminium dans le foie, le rein, la rate et l'os (Henry et coll., 1984).

- Chez l'enfant

Les effets de l'accumulation de l'aluminium ont également été observés chez les enfants en bas âge. Chez les prématurés, la fonction rénale n'est pas totalement développée (Andreoli et coll., 1984), ils sont donc sensibles aux quantités d'aluminium qui pourraient pénétrer dans leur organisme (Bougle et coll., 1997) et l'utilisation prolongée des solutions contaminées par l'aluminium peut entraîner des désordres dans le développement neurologique (Bishop et coll., 1997). Des enfants prématurés nourris par voie parentérale pendant 3 semaines ont des concentrations plasmatiques osseuses et urinaires en aluminium supérieures à celles d'enfants nés à terme et nourris par voie orale (Sedman et coll., 1984a). Stockhauser et coll. (1990) démontrent que l'augmentation de la concentration sanguine en aluminium est inversement proportionnelle à l'âge de l'enfant sous nutrition parentérale. Cependant, les prématurés ne seraient pas plus exposés à l'accumulation aluminique que les enfants nés à terme lorsque ceux-ci sont nourris par voie parentérale : Moreno et coll. (1994) ont montré que l'aluminium s'accumule de façon identique dans les tissus des prématurés et des enfants nés à terme. Une étude sur l'aluminémie des nouveaux-nés a abouti aux mêmes conclusions. Koo et coll. (1986) montrent que l'aluminémie augmente rapidement, de $6 \mu\text{g.L}^{-1}$ à $318 \mu\text{g.L}^{-1}$, après 43 jours de nutrition parentérale ainsi que le rapport aluminium/créatinine indiquant des difficultés d'excrétion.

Bishop et coll. (1989b) ont décrit le cas d'un enfant, nourri dès sa naissance par voie parentérale, qui décéda après 93 jours. Les analyses quantifièrent des concentrations cérébrales en aluminium 20 fois supérieures à la normale et localisées dans la matière grise. Les nouveaux-nés accumulent jusqu'à 80% de l'aluminium qui pénètre dans l'organisme.

c - La dialyse

C'est en 1976, qu'Alfrey et coll. évoquent le rôle probable de l'aluminium, contenu dans les liquides de dialyse, comme la cause de l'encéphalopathie des dialysés. L'apparition d'encéphalopathies chez les dialysés, suivies du décès des patients, ont confirmé que la forte teneur en aluminium dans l'eau de dialyse pouvait être à l'origine de cette pathologie (Flendrig et coll., 1976a et b ; Platts et coll., 1977). Des études ont montré que les concentrations aluminiques du sang sont supérieures chez les patients dialysés que chez les sujets sains (Gilli et coll., 1980 ; Hung et coll., 1997). Une aluminémie élevée persistante est annonciatrice d'un désordre neurologique, et des taux aluminiques de $100 \mu\text{g.L}^{-1}$ dans le sérum, aboutissent à une encéphalopathie du dialysé (Rovelli et coll., 1988). Une étude propose la surveillance de l'aluminium sérique chez les hémodialysés à long

terme car une corrélation a été établie entre l'aluminémie, l'augmentation de la quantité d'aluminium dans le tissu osseux et la mortalité des patients ; lorsque la concentration sérique est de 1,52 à 2,22 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ d'aluminium ou plus (soit un traitement de 41 à 60 $\mu\text{g Al.L}^{-1}$) doit être prescrit afin de diminuer le taux d'aluminium (Chazan et coll., 1988 et 1991).

L'aluminium passe dans le sang du dialysé car il existe un gradient de concentration en aluminium entre le sang et le liquide de dialysé contaminé (Kaehny et coll., 1977b). Le transfert de l'aluminium dépendra donc également de l'aluminium sérique du dialysé (Rottembourg et coll., 1984). L'aluminémie chez un sujet sain est inférieure à 20 $\mu\text{g Al.L}^{-1}$, environ 20% de l'aluminium est dialysable soit 4 $\mu\text{g Al.L}^{-1}$ de sérum. Ainsi, lorsque la concentration en aluminium du dialysat est inférieure à 4 $\mu\text{g Al.L}^{-1}$, le transfert vers le sang, est théoriquement nul lors des dialyses (Petiot et coll., 1983 ; De Wolff, 1985). Mion (1985) proposait un taux en aluminium dans les liquides de dialyse inférieur à 10 $\mu\text{g.L}^{-1}$. Ainsi, selon l'eau utilisée pour la préparation des dialysats et la contamination en aluminium, la teneur sanguine en aluminium des dialysés sera plus ou moins élevée : les concentrations en aluminium du dialysat et du sang sont positivement corrélées (Cartier et coll., 1978 ; Kovalchik et coll., 1978 ; Winney et coll., 1984 ; Fernandez-Martin et coll., 1998). Mais l'aluminémie n'est pas toujours le reflet de l'intoxication à l'aluminium, car le métal peut être localisé dans les tissus (Gilli et coll., 1984 ; Van Landeghem et coll., 1998a).

Cependant, l'aluminémie ne dépend pas uniquement de la concentration du dialysat en aluminium (Smith et coll., 1980 ; Piccoli et coll., 1989).

A la suite d'observations sur 82 patients sous dialyse péritonéale ambulatoire, Montenegro et coll. (1998) concluent que différents paramètres favorisent une hyperaluminémie : l'absorption de gels d'aluminium (hydroxyde d'aluminium), une mauvaise fonction rénale résiduelle et la pratique de dialyse sur de longues périodes. Il semblerait également que la dialyse péritonéale, du fait de l'acidité des dialysats ($\text{pH} < 5,5$), favorise la pénétration d'aluminium dans l'organisme comparée à l'hémodialyse. De plus, les solutions en hémodialyse sont plus diluées qu'en dialyse péritonéale (Milliner et coll., 1987).

Chez les enfants, il n'existe pas de différences d'aluminémie lors d'hémodialyse ou de dialyse péritonéale ambulatoire. Par contre, l'aluminémie est plus élevée chez les plus jeunes et les plus petits enfants mais elle est due aux plus fortes doses de composés aluminiques administrées par voie orale (Milliner et coll., 1987).

4) Pénétration de l'aluminium par voie digestive

L'absorption intestinale de l'aluminium peut être définie comme étant l'apparition de l'aluminium dans le sang après exposition intraluminale au métal.

L'importance de la voie digestive semble variable d'un individu à l'autre et son évaluation est délicate pour une double raison : d'une part, les radioisotopes de l'aluminium sont difficilement utilisables chez l'homme et l'animal ; d'autre part, la précision de la méthode du bilan des entrées et sorties digestives n'est pas suffisamment précise. C'est pourquoi les études concernant l'absorption intestinale de l'aluminium ont recours à des méthodes d'évaluation indirectes, telles que l'hyperaluminémie provoquée après surcharge orale aiguë, la rétention d'aluminium dans différents organes après surcharge orale, l'apparition et la disparition de signes cliniques.

a - Observations cliniques

Contrairement à ce qui a été longtemps admis, l'aluminium est absorbé par voie digestive chez le sujet sain et à fortiori chez l'urémique chronique. L'absorption intestinale de l'aluminium a été évoquée par Recker et coll. (1977) : il a montré qu'une ingestion massive de carbonate d'aluminium provoque une augmentation de la concentration plasmatique et de l'excrétion urinaire du métal chez le sujet sain. Et les travaux de Kaehny et coll. (1977a) ont confirmé que le tractus digestif n'était pas une barrière imperméable à l'aluminium.

Des études similaires, réalisées sur des patients urémiques non dialysés, ont montré également une augmentation du taux plasmatique en aluminium (Mauras et coll., 1982 ; Brahm, 1986 ; Allain et coll., 1990). L'absorption de l'aluminium dépend de facteurs tels que la dose ingérée, la durée de l'exposition et l'état physiologique de l'individu. Ainsi, pour une dose identique d'aluminium ingérée, l'augmentation d'aluminémie sera supérieure chez un patient dialysé et les symptômes de l'intoxication apparaîtront plus rapidement (Knoll et coll., 1984). Ainsi, un hémodialysé traité contre l'hyperphosphatémie par de l'hydrocarbonate d'alumine a ingéré en 43 mois, l'équivalent de 3,12 kg d'aluminium. Après avoir montré les premiers signes d'encéphalopathie, son aluminémie avait atteint 300 $\mu\text{g Al.L}^{-1}$. L'arrêt du traitement a fait disparaître les troubles et l'aluminémie est descendue à 145 $\mu\text{g Al.L}^{-1}$ (Buge et coll., 1978).

De même, un hémodialysé a développé une encéphalopathie après ingestion de sucralfate d'aluminium et son aluminémie avait atteint 400 $\mu\text{g Al.L}^{-1}$ en 30 jours de traitement par l'antiacide (Campistol et coll., 1989).

b - Quantités d'aluminium ingérées et absorbées

La quantité d'aluminium ingérée est très variable. Elle a été estimée entre 10 et 100 mg par jour (Campbell et coll, 1957) dont 16% provenant des aliments, 80% d'additifs alimentaires et 4% de la contamination par les ustensiles de cuisine et les emballages (Lee, 1989).

Selon les auteurs et les méthodes d'études utilisées, les résultats concernant la fraction d'aluminium qui traverse la barrière intestinale sont différents. Greger (1987) a estimé que l'aluminium qui traverse la barrière intestinale représente moins de 1% de l'aluminium ingéré. Par la méthode de bilan des entrées et sorties, les auteurs montrent que lorsque les individus ingèrent des doses pharmaceutiques d'aluminium (de 1 à 3 g d'aluminium par jour), la quantité d'aluminium dans les fécès est inférieure à celle ingérée (Clarkson et coll., 1972 ; Cam et coll., 1976 ; Gorsky et coll., 1979). Les variations importantes de l'absorption intestinale d'aluminium selon les individus pour une dose orale identique mettent en cause la fiabilité de cette méthode d'évaluation. De plus, en absence de supplémentation aluminique, le bilan net ne peut pas être évalué (Gorsky et coll., 1979). Afin d'outre-passer ce problème méthodologique, Ganrot (1986) a suggéré d'utiliser l'excrétion urinaire comme équivalence de l'absorption intestinale de l'aluminium. En se basant sur des sujets absorbant une dose quotidienne de 2200 mg d'aluminium sous forme d'antiacides et sachant que leur aluminémie augmente de 16 μg à 300 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (Kaehny et coll., 1977a), alors la quantité d'aluminium absorbée serait d'environ 0,01% (Ganrot, 1986). Avec le même raisonnement, l'aluminium contenu dans les aliments représentant 5 mg d'aluminium par jour le pourcentage d'aluminium absorbé représenterait 0,78% (Greger & Baier, 1983a).

Il faut signaler cependant que la totalité de l'aluminium absorbée ne peut pas être équivalente à celle excrétée dans les urines, lorsque l'exposition est continue, car l'aluminium s'accumule alors dans les tissus.

La quantité d'aluminium absorbée dépend également de plusieurs facteurs, certains favorisant l'absorption du métal et d'autres l'inhibant. Ces différents paramètres intervenant au niveau de l'absorption intestinale de l'aluminium sont présentés dans les lignes qui suivent.

c - Facteurs potentiels favorisant l'absorption intestinale de l'aluminium

L'absorption intestinale de l'aluminium dépend de la prédisposition de l'individu, de la dose et de la biodisponibilité de l'aluminium (Yokel & Mc Namara, 1988).

• L'immaturité de la barrière intestinale

Les jeunes enfants urémiques sont traités par dialyse péritonéale ambulatoire continue. Leur phosphatémie est difficilement contrôlée, c'est pourquoi ils absorbent de fortes quantités de gels d'aluminium (Santos et coll., 1986). Des travaux ont montré que l'aluminémie est corrélée positivement avec la quantité d'aluminium ingérée et négativement avec l'âge et le poids corporel des enfants (Salusky et coll., 1984 ; Milliner et coll., 1987 ; Salusky et coll., 1991).

Des expériences chez le rat, montre que l'aluminium ingéré par voie orale se localise plutôt au niveau des tissus osseux et cérébraux chez les animaux en croissance, alors que chez des rats âgés la plus forte concentration est détectée dans les reins, le foie et la rate (Gomez et coll., 1997b). Par contre, les jeunes rats éliminent plus rapidement l'aluminium fixé dans les tissus (Greger & Radzanowski, 1995).

Chez les jeunes enfants urémiques, non dialysés, l'ingestion seule de composés aluminiques suffit à provoquer une intoxication grave : quelques cas ont été relevés dans la littérature :

- décès d'un enfant de 6 ans d'encéphalopathie après ingestion d'hydroxyde d'aluminium. Des concentrations de $47 \mu\text{g Al.g}^{-1}$ de poids sec ont été mesurées dans la matière grise cérébrale (Nathan & Pedersen, 1980),
- encéphalopathie détectée chez un jeune enfant de 11 mois, traité par du carbonate d'aluminium et ayant une aluminémie de $319 \mu\text{g.L}^{-1}$ (Randall, 1983),
- ostéomalacie déclarée chez 3 enfants à qui l'on avait prescrit des doses de $100 \text{ mg.Al kg}^{-1}.\text{jour}^{-1}$ depuis l'âge d'un mois (Andreoli et coll., 1984).

Les enfants ont un risque d'intoxication élevé et les symptômes neurologiques peuvent survenir dans les premiers mois qui suivent le début du traitement contre l'hyperphosphatémie (Andreoli et coll., 1984). L'absorption de l'aluminium plus élevée chez l'enfant que l'adulte est due à l'immaturité de la barrière gastro-intestinale qui est plus perméable au métal (Tsou et coll., 1991). Chez un jeune enfant, l'absorption pourrait être de 10 à 100 fois supérieure à celle de l'adulte (Bishop et coll., 1989a).

Les enfants prématurés, bien qu'ayant une fonction rénale normale, sont également exposés à l'aluminium et l'augmentation du taux plasmatique en aluminium est associé à un retard de développement (Bougle et coll., 1998).

• *Biodisponibilité et spéciation intraluminaire de l'aluminium*

La digestion est une suite de phénomènes mécaniques et chimiques qui ont lieu le long du tube digestif. L'aluminium ingéré va donc subir des transformations liées à ces mécanismes : la forme de l'aluminium qui sera absorbée n'est pas en général, la forme qui sera ingérée. Plusieurs paramètres interviennent sur la biodisponibilité de l'aluminium au niveau de l'intestin : le pH, la quantité, la présence d'autres substances dans la lumière (Partridge et coll., 1989 ; Van der Voet, 1992 ; Greger, 1993).

→ Solubilité de l'aluminium et pH intraluminaire

La spéciation de l'aluminium et donc sa solubilité dépendent du pH (Van der Voet & De Wolff, 1986). Au niveau de l'estomac, le pH est très acide ($\text{pH} = 2 \pm 1$), ainsi les sels aluminiques sont sous une forme soluble. Selon Partridge et coll. (1989), on aurait :

- pour le chlorure d'aluminium : $\text{AlCl}_3 + 6 \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+} + 3 \text{Cl}^-$
- pour l'hydroxyde d'aluminium : $\text{Al}(\text{OH})_3 + 3 \text{H}_3\text{O}^+ \rightarrow \text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$

Au niveau du fragment proximal de l'intestin, l'arrivée des sécrétions biliaires et pancréatiques neutralise l'acidité du chyme et le pH va être aux environs de 7-7,5. Sous l'augmentation du pH, l'aluminium qui était soluble va précipiter sous forme de carbonate, d'hydroxyde ou de phosphate d'aluminium. L'aluminium n'est plus biodisponible sous ces formes et il ne traversera pas la barrière intestinale. Ainsi, l'absorption se fera essentiellement en milieu acide, le duodenum est donc un site d'absorption privilégié. En étudiant l'absorption intestinale par la technique d'intestin perfusé, Van der Voet & De Wolff (1984) observent que l'aluminémie augmente lorsque le pH du perfusé est acide. Une diminution des sécrétions acides stomacales par la ranitidine diminue la biodisponibilité des sels d'aluminium ingérés (Rodger et coll., 1991).

→ Solubilité de l'aluminium et présence de chélateurs

Certains facteurs alimentaires présents dans la lumière intestinale peuvent se lier à l'aluminium et former ainsi un complexe stable, soluble et plus facilement absorbé par la muqueuse intestinale (Daye & Berthon, 1990b).

Les acides organiques sont des facteurs qui influencent l'absorption de l'aluminium, et le citrate a été particulièrement étudiée (Jouhanneau et coll., 1997). Plusieurs observations, basées sur les concentrations sériques et urinaires en aluminium, ont montré que l'absorption de l'aluminium est augmentée chez des patients traités simultanément avec des produits pharmaceutiques contenant du citrate (comme la solution de Shohl) et des composés aluminiques (Bakir et coll., 1986 et 1989 ; Nordal et coll., 1988b ; Kirschbaum & Schoolwerth, 1989a et b). C'est pourquoi l'utilisation de préparations pharmaceutiques contenant du citrate est totalement contre-indiquée chez les patients urémiques absorbant des composés aluminiques (Nestel et coll., 1994). On observe également une aluminémie supérieure lorsque l'hydroxyde d'aluminium est ingérée avec du jus de citron (source d'acide citrique) que lorsqu'il est ingéré avec de l'eau (Slanina et coll., 1986). Des résultats identiques ont été obtenus après l'ingestion de tablettes d'anti-acide avec du jus d'orange chez des sujets sains : les taux sériques sont 50 fois plus élevées qu'en prise avec de l'eau (Weberg & Berstadt, 1986).

Le citrate semble également favoriser la rétention de l'aluminium dans l'organisme lors d'expositions chroniques (Deng et coll., 1998). Cependant, chez l'individu avec un fonctionnement rénal normal, il ne provoque pas de rétention tissulaire notable lors de traitement à long terme (Sakhaee et coll., 1996). Slanina et coll. (1984 et 1985) observent des plus fortes concentrations aluminiques dans le cerveau, le sang et les os chez des rats gavés quotidiennement par du citrate d'aluminium que par de l'hydroxyde d'aluminium. la teneur osseuse en aluminium est 41 fois plus élevée chez des rats intoxiqués au citrate d'aluminium comparé à l'hydroxyde d'aluminium (Slanina et coll., 1984). L'addition de citrate dans l'eau de boisson contenant de l'hydroxyde d'aluminium augmente les teneurs aluminiques osseuses et plasmatiques chez le lapin (Fulton et Jeffery, 1990).

Chez le rat, l'ingestion de citrate d'aluminium provoque une augmentation de la rétention osseuse (Ecelbarger & Greger, 1991 ; Greger & Powers, 1992), hépatique et rénale du métal (Morgan & Redgrave, 1998), et de son excrétion urinaire (Greger & Powers, 1992 ; Cochran et coll., 1994 ; Ecelbarger et coll., 1994 b ; Lote et coll., 1994).

Chez le porc, l'ingestion de jus d'orange en même temps que des composés aluminiques augmente la teneur osseuse en aluminium (Owen et coll., 1994).

Le citrate d'aluminium favorise l'absorption intestinale de l'aluminium par différents mécanismes :

* le citrate évite la précipitation de l'aluminium et augmente la solubilité de l'aluminium dans l'intestin : l'aluminium reste sous forme de complexe neutre

soluble en présence de citrate pour des pH allant de 2,5 à 5,5 (Martin, 1986b), intervalle de pH où l'aluminium peut être sous forme insoluble.

* Le citrate chélate l'aluminium et le complexe est transporté à travers la muqueuse intestinale (Martin, 1986a ; Froment et coll., 1989 a ; Van der Voet et coll., 1989 ; Walker et coll., 1990). Mais, si on augmente la quantité de citrate, l'augmentation de l'absorption de l'aluminium n'est pas linéaire (Ecelbarger & Greger, 1991). L'aluminium pourrait traverser la barrière intestinale en se fixant avec le citrate sur la transferrine (Molitoris et coll., 1989). Cependant, une étude cinétique chez l'homme sain montre que l'apparition du citrate dans le sang précède celle de l'aluminium suggérant que l'aluminium ne serait pas absorbé sous forme de complexe (Taylor et coll., 1998). Le citrate diminue la résistance transmembranaire et ouvre les jonctions serrées de cellules épithéliales en culture, en chélatant le calcium (Martinez-Paloma et coll., 1980). Le citrate d'aluminium, et non le chlorure d'aluminium, concentre le rouge ruthénium, un marqueur de surface de faible poids moléculaire, dans les espaces intercellulaires de segments isolés d'intestin et induit une réduction significative de la résistance transmembranaire (Froment et coll., 1989 a).

Ainsi, l'interaction entre le citrate et l'aluminium est importante pour l'absorption du métal, mais l'acide citrique augmente également le passage d'autres minéraux comme le calcium (Harvey et coll., 1988), le plomb (Garber & Wei, 1974), et le zinc (Hurley & Lönnerdal, 1982).

Des travaux chez le rat ont montré que d'autres acides organiques (acides lactique, malique, oxalique, tartrique, ascorbique, glucuronique...) favorisent également l'absorption intestinale de l'aluminium (Ebina et coll., 1986 ; Domingo et coll., 1991b ; Domingo et coll., 1993 ; Gomez et coll., 1994a). Récemment le complexe L-glutamate d'aluminium a été proposé comme étant un modèle pour l'étude des mécanismes toxiques de l'aluminium (Deloncle et coll., 1999). Les ions accompagnateurs et la complexation de l'aluminium jouent un rôle important dans l'absorption intestinal du métal (Glynn et coll., 1999). Une étude a montré que l'absorption de l'aluminium 5 heures après gavage est de 0,1% pour l'hydroxyde d'aluminium, de 0,7% pour le citrate d'aluminium et de 5% pour le citrate d'aluminium ingéré avec du citrate de sodium (Schonholzer et coll., 1997).

• *L'hyperthyroïdie*

L'absorption intestinale de l'aluminium semble augmentée en présence de parathormone (Mayor et coll., 1977 et 1980 ; Randall et coll., 1982 ; Long et coll., 1994). De même, la vitamine D3 augmente l'aluminémie chez des hémodialysés

ingérant des gels d'alumine (Demontis et coll., 1986 et 1989). Cette augmentation de l'aluminémie n'est plus observée si le traitement à l'hydroxyde d'aluminium est suspendu (Demontis et coll., 1989). Ainsi, l'augmentation de l'aluminium plasmatique est dû à l'absorption intestinale et non au relargage de l'aluminium stocké dans les tissus. Par contre, Mc Carthy et coll. (1986) ne sont pas arrivés aux mêmes conclusions et aucune stimulation de l'absorption aluminique n'est observée dans les cas d'hyperthyroïdie par régime pauvre en calcium.

Chez le rat, sous intubation gastrique à l'hydroxyde d'aluminium, l'acide ascorbique dans l'eau de boisson accroît l'absorption de l'aluminium (Domingo et coll., 1992). L'aluminium se fixe au niveau des cellules parathyroïdiennes et réduit la sécrétion de la parathormone en modifiant la sécrétion protéiques (Morrissey et coll., 1983) ou indirectement en augmentant le taux calcique plasmatique (Clarkson et coll., 1972 ; Cannata et coll., 1983a). Après inhibition de la sécrétion, les glandes peuvent être stimulées à nouveau (Cournot et coll., 1984). Cependant, des études supplémentaires seraient nécessaires pour connaître le rôle exact de la parathormone dans l'absorption intestinale de l'aluminium.

- *Autres métaux : le fer (II) et le zinc*

Le fer à l'état ferreux (Fe^{2+}) stimulerait l'absorption d'aluminium dans la muqueuse intestinale mais réduirait le passage dans le sang. L'aluminium serait stocké dans la barrière intestinale par stimulation de la synthèse de ferritine par le fer (Van der Voet & De Wolff, 1987c). Cependant, les concentrations ferriques contenues dans l'organisme ne semblent pas avoir d'influence sur l'absorption aluminique (Ittel et coll., 1992).

Chez des patients intoxiqués à l'aluminium ayant une alimentation enrichie en zinc, une accumulation de l'aluminium a été observée au niveau du foie et du cerveau (Wenk & Stemmer, 1983). Par contre, certains auteurs aboutissent à des conclusions différentes, l'interaction entre l'aluminium et le zinc est soit négative (Sugawara et coll., 1987) soit sans effet (Mc Nall & Fosmire, 1996).

d - Facteurs potentiels inhibant l'absorption intestinale de l'aluminium

- *Le calcium et le magnésium*

L'absorption de l'aluminium semble favorisée lorsque les concentrations intraluminales en calcium ou en magnésium sont faibles. Ainsi, l'aluminium semble être en compétition au niveau intestinal avec ces ions minéraux essentiels

(Allen, 1987). Des observations cliniques (Garruto et coll., 1990) et expérimentales chez le singe (Garruto et coll., 1989) ou le rat (Boudey et coll., 1997) montrent qu'une déficience en magnésium ou en calcium dans les aliments favorise l'absorption intestinale de l'aluminium et sa rétention au niveau osseux. Des expériences d'intestin perfusé chez le rat (Provan & Yokel, 1990) et chez le lapin (Yokel & Mc Namara, 1990) montrent que l'aluminémie augmente lorsque la concentration calcique du perfusé diminue.

Le calcium et l'aluminium seraient en compétition pour le transport actif au niveau de l'absorption dudoénale (Cochran et coll., 1990a), mais ils seraient indifférents pour le transport passif iléal (Adler & Berlyne, 1985 ; Adler et coll., 1989). La compétition entre l'aluminium et le calcium se ferait pour les sites de fixation protéiques membranaires de poids moléculaire compris entre 9000 et 10000 daltons (Adler et coll., 1986). La compétition entre l'aluminium et le calcium a également été observée au niveau du tissu osseux (Mahieu et coll., 1998).

Parfois, les résultats obtenus sont contradictoires : certains auteurs observent une baisse de l'absorption intestinale du calcium et du magnésium chez le rat, lorsque l'alimentation est enrichie en aluminium pendant 30 jours. Après 60 jours, ces résultats ne sont plus observés (Greger et coll., 1985a et 1986). L'accumulation du magnésium dans les tissus osseux et le système nerveux central est diminué en présence d'aluminium (Yasui & Ota, 1998). Par contre, Greger & Baier (1983b) ont montré que l'absorption orale de doses modérées d'aluminium n'affecte pas la concentration tissulaire en calcium et que l'aluminium, à des taux rencontrés dans l'alimentation (de 5 à 125 mg Al.jour⁻¹ pendant 40 jours) est sans effet sur l'absorption, l'excrétion ou la rétention du magnésium.

• *Le phosphore, le silicium et le fluor*

Ces composés forment des complexes insolubles avec l'aluminium et en réduisant sa biodisponibilité, ils en empêchent l'absorption intestinale (Spencer et coll., 1980 ; Alfrey, 1983).

L'interaction de l'aluminium et du phosphore a été largement étudiée chez l'homme (Clarkson et coll., 1972 ; Spencer et coll., 1982 ; Greger & Baier, 1983b) et l'animal de laboratoire (Ondreicka et coll., 1966), et c'est pour ces propriétés de complexation et d'inhibition de l'absorption intestinale du phosphore que les sels d'aluminium sont utilisés dans le traitement de l'hyperphosphatémie des insuffisants rénaux (Schaefer et coll., 1988). De la même façon, l'ingestion d'aluminium réduit l'absorption et la rétention du fluor chez l'homme (Spencer et coll., 1981 ; Greger & Baier, 1983b). L'administration d'aluminium dans l'eau de

boisson perturbe l'absorption et la rétention du fluor au niveau des incisives et du tissu osseux chez le lapin (Ahn et coll., 1995).

Inversement, une forte ingestion de phosphore ou de fluor diminue l'absorption intestinale de l'aluminium, à condition que la quantité molaire de phosphore ou de fluor, présente dans l'intestin, soit suffisante par rapport à la quantité molaire d'aluminium. Allain et coll. (1996) montrent que le fluor augmente l'aluminémie alors que l'aluminium diminue l'absorption du fluor, ces résultats seront la conséquence d'une forte affinité entre l'aluminium et le fluor qui donnerait un complexe stable.

Les silicates peuvent également affecter l'absorption de l'aluminium (Birchall, 1992 ; Van Landeghem et coll., 1998b). L'addition de silicium dans l'eau réduit les symptômes de toxicité aluminique chez le poisson (Exley et coll., 1991). La présence de silicium dans l'eau de boisson diminue l'absorption de l'aluminium (Drüeke et coll., 1997), la rétention et l'excrétion urinaire de l'aluminium (Belles et coll., 1998). Chez des patients hémodialysés, les concentrations plasmatiques en silicium et en aluminium sont inversement proportionnelle : les patients avec un taux de silicium élevé ont en général un taux aluminique faible (Parry et coll., 1998). L'utilisation du silicium a été proposée comme traitement thérapeutique pour réduire l'absorption de l'aluminium et donc sa neurotoxicité (Edwardson et coll., 1993 ; Belles et coll., 1998) et comme traitement préventif en additionnant l'acide silicique dans le réseau de distribution publique de l'eau (Bellia et coll., 1996).

• *Le sodium*

Les résultats des travaux sur l'interaction du sodium et de l'aluminium sont contradictoires et le rôle du sodium dans l'absorption intestinale de l'aluminium reste mal défini.

Des études, chez le rat, par la technique de perfusion intestinale montrent que l'absence de sodium dans le perfusat favorise l'absorption de l'aluminium (Van der Voet & De Wolff, 1987a). Ces auteurs ont donc conclu à une compétition entre le sodium et l'aluminium.

Provan & Yokel (1988b) ont démontré le contraire : l'absence de sodium diminue l'absorption de l'aluminium. Les inhibiteurs de canaux sodiques diminuent également le transport intestinal de l'aluminium et les activateurs de ces canaux augmentent l'absorption aluminique. L'aluminium et le sodium seraient des ions dont les transports sont synergiques.

• *Le fer (III)*

Le fer ferrique (Fe^{3+}) et l'aluminium possèdent des propriétés chimiques voisines liées à la valence 3+ (charge, complexation) et il peut donc y avoir une compétition entre ces deux métaux (Fernandez et coll., 1990 ; Fernandez Soto et coll., 1990 ; Oleizola et coll., 1990a ; Van Der Voet, 1992), notamment au niveau du site de fixation sur la transferrine (Mc Gregor et coll., 1990). Des rats déficients en fer ont une absorption et une accumulation dans le foie et la rate significativement plus élevées que des rats témoins (Sakanashi Brown & Schwartz, 1992).

Par contre, Ittel et coll. (1996) n'observent aucune modification de l'aluminémie chez les rats déficients ou supplémentés en fer suggérant que l'aluminium n'emprunterait pas les voies spécifiques de transport du fer.

• *Le mucus intestinal*

Powell et coll. (1994) ont montré que l'aluminium adhère au mucus intestinal, et représenterait ainsi une importante barrière mécanique contre l'absorption du métal.

e - Les mécanismes de l'absorption intestinale de l'aluminium

Actuellement, les mécanismes de l'absorption intestinale de l'aluminium sont encore mal définis et plusieurs hypothèses ont été avancées sans qu'aucune explication claire n'ait pu être donnée (Greger & Sutherland, 1997).

Il est admis que le processus physiologique de l'absorption aluminique emprunte simultanément 2 voies différentes (Van der Voet, 1992) :

- un passage paracellulaire, non saturable, à travers les jonctions serrées, le long des entérocytes,
- un passage transcellulaire, saturable, à travers les entérocytes. Cette voie de passage nécessite une entrée de l'aluminium par la bordure en brosse des cellules intestinales, un transport cytoplasmique jusqu'à la membrane basolatérale où l'aluminium est relargué de la cellule pour arriver dans le compartiment sanguin.

D'un point de vue cinétique, les processus de l'absorption intestinale de l'aluminium utilisent :

- un processus énergie-indépendant de diffusion passive et/ou facilitée,
- un processus énergie-dépendant de transport actif.

Ainsi, la voie paracellulaire est, par nature, passive. Alors que la voie transcellulaire utilise les transports actifs et passifs facilités. Le colon, mais pas l'estomac, semble être une voie de perméabilité paracellulaire importante pour l'aluminium (Whitehead et coll., 1997). Par la technique *in vivo* de segments intestinaux isolés, le transport de l'aluminium (AlCl_3 à $\text{pH} = 2$) a été estimée pour les processus non saturables à 23% et pour le transport actif à 77% (Adler & Berlyne, 1985). L'aluminium pénétrerait dans la muqueuse intestinale par un transport actif, jusqu'à saturation puis selon la concentration luminale de l'aluminium, il pénétrerait par diffusion (Skalsky & Carchman, 1983 ; Adler & Berlyne, 1985).

Les processus de transports actifs ont été étudiés longuement par des techniques *in vitro* et *in vivo*. Le transport actif de l'aluminium est inhibé par le dinitrophénol, l'absence de glucose ou le froid (4°C) (Feinroth et coll., 1982 ; Van der Voet et coll., 1989).

L'aluminium pourrait emprunter les structures transmembranaires du calcium, du fer ou du sodium (Van der Voet & De Wolff, 1987a ; De Wolff & Van der Voet, 1996).

Le transport actif de l'aluminium pourrait être semblable à celui du calcium. La voie saturable de l'absorption intestinale de l'aluminium est significativement plus faible chez les rats déficients en vitamine D que chez les rats témoins (Adler & Berlyne, 1985). Lors de l'administration de vérapamil, un agent bloquant des canaux calciques, une légère mais significative baisse du transport duodéal de l'aluminium est observée (Cochran et coll., 1990a). De même, Provan & Yokel (1988a), en utilisant des sacs intestinaux inversés et différents activateurs et inhibiteurs des canaux calciques, ont montré que l'aluminium utilisait ce système de transport. Les mêmes auteurs concluent que l'aluminium traverserait la barrière intestinale en utilisant les pompes Ca^{2+} -ATPase et Na^+/K^+ -ATPase des entérocytes car l'absorption de l'aluminium dépend des concentrations luminales de calcium et de sodium (Provan & Yokel, 1988b).

Lorsque l'aluminium a pénétré au niveau de la muqueuse, il serait retenu par des anions complexants ou des protéines (dont la transferrine) (Purves et coll., 1988 ; Molitoris et coll., 1989). Puis, lorsque la muqueuse est saturée, l'aluminium est relargué avant de passer dans le système sanguin (Van der Voet & De Wolff, 1984, 1986, 1987 a et b).

L'interprétation des travaux sur l'absorption intestinale de l'aluminium et les comparaisons entre les études sont difficiles car les paramètres expérimentaux varient grandement. De plus, les processus de l'absorption sont dépendants du fragment intestinal, de la concentration en aluminium dans l'intestin et dans le sang, du pH, de la forme chimique de l'aluminium et de la présence ou de l'absence de substances chélatrices. Autant de paramètres qui sont différents dans les diverses études publiées.

TRANSPORT DE L'ALUMINIUM DANS L'ORGANISME

Après avoir pénétré dans l'organisme, l'aluminium est véhiculé par le système sanguin jusqu'aux organes.

1) Concentrations aluminiques dans le sang

Un taux sanguin en aluminium de 5 à 10 $\mu\text{g.L}^{-1}$ est considéré comme étant normal (Bertholf et coll., 1983 ; Hassanaly et coll., 1987 ; Gitelman & Alderman, 1989). Les symptômes de toxicité apparaissent essentiellement lorsque les valeurs en aluminium dans le sang approchent les 100 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (Fuchs et coll., 1984; De Wolff & Van der Voet, 1986). Chez des dialysés, traités simultanément avec des composés aluminiques, la concentration sanguine en aluminium peut dépasser les 200 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (Roberts & Williams, 1988). Actuellement, le taux plasmatique en aluminium est utilisé pour vérifier l'exposition des patients dialysés à ce métal. Cependant, la concentration plasmatique en aluminium ne reflète pas le degré d'intoxication chronique, ni le degré d'imprégnation des tissus en aluminium (De Broe et coll., 1984).

Pour un individu donné, la concentration sérique en aluminium subit quelques fluctuations. Ainsi, Nordal et coll. (1988a) ont observé des variations saisonnières de la quantité d'aluminium sérique chez des patients avec une insuffisance rénale modérée, mais aussi chez des témoins sans pathologies. Les deux groupes présentant des taux plus élevés en automne. Cette augmentation peut être attribuée à des composés possédant des propriétés chélatrices et contenus dans l'eau à cette période de l'année.

2) Répartition de l'aluminium dans le compartiment sanguin

La spéciation chimique de l'aluminium dans le sang est essentielle pour comprendre les effets toxiques qui lui sont attribués.

Il est établi que la majorité de l'aluminium se trouve dans le plasma (90%) et que le reste est situés dans les érythrocytes (10%) (Deloncle et coll., 1990).

a - L'aluminium dans le plasma

L'aluminium est pour 80% non dialysable, c'est-à-dire fixé à des protéines plasmatiques. Les 20% restants sont solubles et ultrafiltrables et forment des espèces chimiques de faibles poids moléculaires (Savory & Wills, 1984 ; Harris, 1992 ; Gardiner et coll., 1984).

Parmi les protéines sériques auxquelles l'aluminium peut se fixer, on a :

- la transferrine. C'est une glycoprotéine de poids moléculaire égal à 77 000 daltons (Marques, 1991). Cette protéine joue un rôle important dans le transport de l'aluminium dans le sang (Trapp, 1983 ; Cochran et coll., 1983, 1984 et 1987 ; Van Ginkel et coll., 1990b ; Moshtaghi et coll., 1992 ; De Jong et coll., 1995). Le rôle physiologique de la transferrine est le transport du fer ferrique (Fe^{3+}) dans le sang ; elle possède 2 sites de fixation qui, dans les conditions normales, ne sont occupées qu'à 30% par le fer (Aisen et coll., 1978 ; Martin et coll., 1987). Ainsi, lors d'une aluminémie élevée, l'aluminium pourrait déplacer l'équilibre de fixation du Fe^{3+} en faveur de Al^{3+} sur la transferrine (Martin et coll., 1987 ; Van Landeghem et coll., 1997). Lors de sa fixation, l'aluminium provoque un petit changement conformationnel de l'apotransferrine (Tang et coll., 1995).

- la sérum albumine. C'est une protéine de transport d'un poids moléculaire de 68 500 daltons chez l'homme. La complexation de l'aluminium avec l'albumine est controversée. Pour certains auteurs, l'aluminium se fixe avec l'albumine plasmatique (King et coll., 1979 ; Trapp, 1983 ; Bertholf et coll., 1984), alors que d'autres concluent que l'aluminium ne peut pas se fixer *in vivo* à l'albumine (Cochran et coll., 1985 ; Harris, 1992).

Une autre fraction de l'aluminium plasmatique forme des petits complexes solubles ; essentiellement avec le citrate (Martin, 1986a). L'aluminium et le citrate ont une forte affinité et le complexe neutre formé représenterait 11% environ de l'aluminium sérique total (Ohman & Martin, 1994). C'est cette forme chimique qui, en plus du transport au niveau sanguin, jouerait un rôle important dans l'accumulation intracellulaire et donc dans la toxicité de l'aluminium (Van Ginkel et coll., 1990b).

b - L'aluminium dans les érythrocytes

L'aluminium, au niveau des globules rouges, a des effets cytotoxiques. Par exemple, l'aluminium induit une fragilité osmotique (Zatta et coll., 1989) et peut modifier certaines activités enzymatiques au niveau des membranes (Desigan et

coll., 1995). De plus, l'aluminium induit la formation d'acanthocytes. Il s'agit d'une anomalie des globules rouges qui prennent l'aspect d'oursins (Zatta et coll., 1989). Ces effets ont été attribués à une remarquable réduction de la fluidité membranaire et à un compactage structural au niveau du cytosquelette et des protéines membranaires (Perazzolo et coll., 1990 ; Zatta et coll., 1997). Dans toutes ces études, ce sont des complexes aluminiques lipophiles et stables qui sont utilisés, comme par exemple l'acétylacétonate d'aluminium.

3) Sortie de l'aluminium du compartiment sanguin

Une expérience chez le rat a montré que l'élimination de l'aluminium est dose-dépendante. Plus la concentration sanguine est élevée, plus l'élimination systémique est longue (Pai & Melethil, 1989). Mais, lorsque l'administration d'aluminium est prolongée et que le taux plasmatique reste élevé, les reins sont inefficaces et l'aluminium n'est plus excrété (Lote et coll., 1992). Il apparaît donc que le transport de l'aluminium hors du système circulatoire va dépendre de la capacité des systèmes d'élimination (biliaire et rénale), de l'accumulation au niveau tissulaire et/ou de la concentration aluminique dans le sang.

LOCALISATION DE L'ALUMINIUM DANS L'ORGANISME

Dans un premier temps, les études sur l'accumulation de l'aluminium dans l'organisme ont porté sur la distribution de l'aluminium dans les tissus à un temps donné, en dosant, après la mort, les concentrations aluminiques. Ces mesures incluent l'aluminium intracellulaire, extracellulaire et lié aux membranes cellulaires. Dans un second temps, les études se sont intéressées aux quantités d'aluminium dans les différents compartiments cellulaires.

Certains auteurs ont étudié l'accumulation de l'aluminium dans les organes en fonction de l'âge des individus. L'âge n'a pas d'effet direct sur l'accumulation tissulaire de l'aluminium (Gomez et coll., 1997), mais l'âge intervient dans l'élimination de l'aluminium des organes, surtout au niveau des os et des reins (Greger & Radzanowski, 1995). La quantité d'aluminium plus élevée chez les personnes âgées est due au ralentissement du « turn-over » de l'aluminium (Markesbery et coll., 1981 ; McDermott et coll., 1979).

1) Distribution tissulaire de l'aluminium

La répartition de l'aluminium est différente chez les individus intoxiqués ou non.

a - Chez l'individu sain

Ganrot (1986) a estimé que la quantité totale d'aluminium dans l'organisme d'un homme en bonne santé est de 30 à 50 mg, avec une accumulation plus forte dans les tissus osseux (50%) et les poumons (25%). Les concentrations en aluminium des autres organes sont faibles et comprises entre 0,30 et 0,80 $\mu\text{g Al.g}^{-1}$ de poids humide.

McDermott et coll. (1977) ont montré que les poumons contiennent un fort taux d'aluminium (43 $\mu\text{g.g}^{-1}$ de poids sec) qui correspond aux particules d'aluminium dans l'air inhalé et dont l'accumulation augmente avec l'exposition et l'âge.

De même, il a été observé chez des individus en bonne santé, une accumulation d'aluminium dans les os après absorption d'eau de boisson accidentellement contaminée par de l'aluminium (Eastwood et coll., 1990).

b - Chez l'individu intoxiqué

Lors d'intoxication, chez l'homme ou le lapin, l'aluminium s'accumule dans les organes en quantité variable mais avec de plus fortes concentrations dans le foie, la rate, les reins et les os, que dans les autres organes (Alfrey et coll., 1980 ; Yokel, 1983 et 1989). En général, la diminution de la fonction rénale est suivie d'une accumulation de l'aluminium dans le foie et les tissus osseux (Ecelbarger et coll., 1994), le cerveau (Liu et coll., 1996).

Les données absolues des concentrations aluminiques sont difficilement comparables entre les études, étant donné le nombre de facteurs influençant l'absorption de l'aluminium et donc son accumulation.

L'accumulation de l'aluminium dans différents organes est abordée brièvement ci-dessous et résumée dans la figure 3.

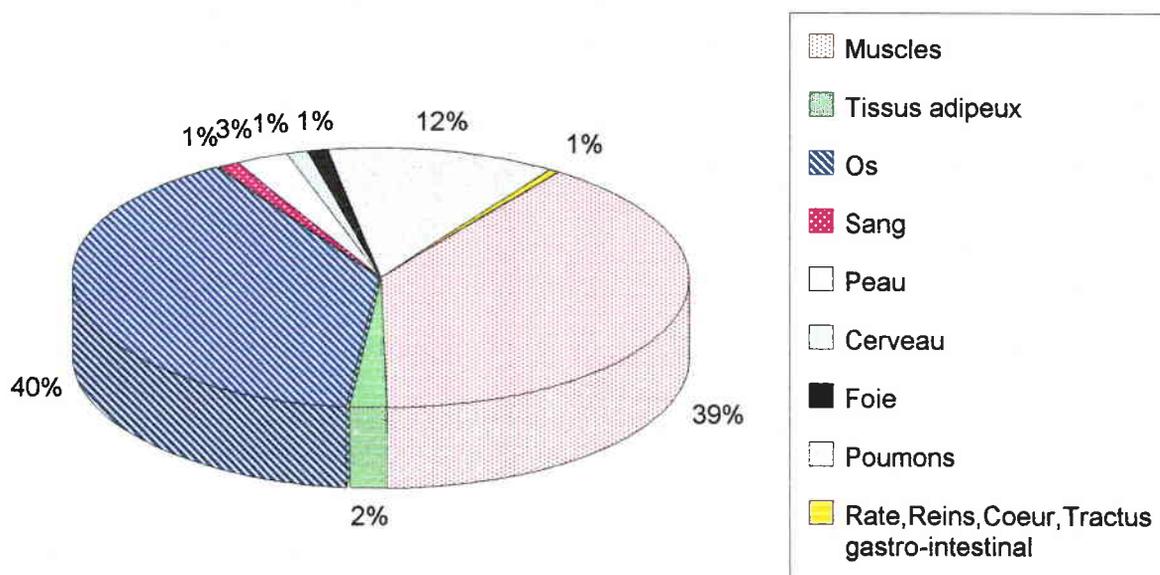


Figure 3 : Distribution de l'aluminium chez un patient atteint d'insuffisance rénale (d'après Skalsky & Carchman, 1983).

• le foie : c'est l'organe privilégié de fixation des toxiques. L'injection intrapéritonéale d'aluminium chez le rat provoque une augmentation de l'excrétion biliaire de la transferrine (augmentation d'un facteur 5 en 14 jours). L'aluminium serait véhiculé par la transferrine vers le foie, lieu où les effets toxiques du métal seront minimisés (Klein et coll., 1993). De même, une expérience réalisée chez le rat avec des doses d'aluminium identiques à la contamination de solutés pour nutrition parentérale montre que l'aluminium s'accumule dans le foie et peut provoquer un dysfonctionnement hépatobiliaire caractérisé par une inflammation portale, détectée par un examen histologique du tissu (Demircan et coll., 1998). Par administration orale chez le rat, l'aluminium se fixe également préférentiellement dans le foie (Ding & Zhu, 1997). Les hépatocytes peuvent accumuler de grandes quantités d'aluminium (Berlyne et coll., 1972 ; Yasui et coll., 1979 ; Alfrey et coll., 1980). La concentration élevée d'aluminium dans le foie n'est pas forcément suivie d'effets pathologiques (Muller & Wilhelm, 1987a ; Jaudon, 1991 ; Wilhelm et coll., 1996a et b). Des expériences sur organes isolés et perfusés chez le rat montrent que les signes de toxicité n'apparaissent que pour des concentrations élevées en aluminium (de 6,5 à 16,7 mg Al.g⁻¹ de liquide perfusé) et que peu d'aluminium est éliminé par le foie (Wilhelm et coll., 1996). L'aluminium stocké dans le foie (et les autres organes) peut être une source continue d'exposition pour les organes sensibles à l'aluminium comme le cerveau (Yokel et Mc Namara, 1989). L'aluminium exerce une toxicité tissulaire car en s'accumulant dans les cellules hépatiques, le métal provoque une dégénérescence fonctionnelle sévère de ces cellules (Galle & Guidicelli, 1982). L'aluminium, après injection intraveineuse chez le rat, provoque une diminution du flux biliaire de 33% et ce flux est inversement corrélé avec la teneur aluminique du tissu hépatique (Klein et coll., 1988).

• la rate : c'est, avec le foie, un des organes où l'aluminium s'accumule facilement (Costantini et coll., 1989 ; Anghileri et coll., 1994).

• le tissu osseux : l'aluminium se fixe au niveau du squelette, même lors d'intoxication aiguë (Kaye et coll., 1990 ; Winterberg et coll., 1990 ; Quartley et coll., 1993 ; Mjoberg et coll., 1997). Cette accumulation est associée à des pathologies:

- l'ostéomalacie, lorsque l'aluminium se dépose au niveau du front de minéralisation et des lignes cimentantes (Cournot-Witmer et coll., 1981)

- l'arthropathie, lorsque l'aluminium s'accumule au niveau articulaire, dans le cartilage et le liquide synovial (Netter et coll., 1984, 1990, 1991a et b).

- les reins : les reins sont le lieu d'élimination de l'aluminium, ainsi le métal s'accumule au niveau du cortex rénal (Cacini & Yokel, 1988), dans le tube contourné proximal et le tube distal (Galle, 1981). L'aluminium a un effet néphrotoxique (Braünlich et coll., 1986 et 1988 ; Bertholf et coll., 1989, Liu & Nordberg, 1995), en provoquant l'atrophie et la nécrose du tube proximal (Wills et coll., 1993).

L'aluminium ingéré par l'eau de boisson, à long terme, bien que faiblement absorbée par le tractus gastro-intestinal peut provoquer des effets cytotoxiques doses-dépendants sur les cellules rénales (et cérébrales) du rat (Somova et coll., 1997). Ainsi l'aluminium, par son action néphrotoxique, aggrave l'insuffisance rénale (Jeffery et coll., 1996).

- le cerveau : l'aluminium doit franchir la barrière hémato-encéphalique qui protège le cerveau c'est pourquoi seulement de faibles quantités en aluminium sont mesurées dans cet organe (Vorbrot et coll., 1994a). L'aluminium traverserait cette barrière en empruntant les transporteurs spécifiques des acides monocarboxyliques (Ackley & Yokel, 1997). On observe cependant la fixation du métal au niveau de la matière grise (Crapper et coll., 1973 ; Sahin et coll., 1994) et dans l'hippocampe (Yokel et coll., 1991a et b ; Yang et coll., 1998). De plus, l'aluminium a été de nombreuses fois impliqué dans des pathologies neurologiques comme la démence des dialysés, la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, la sclérose amyotrophique latérale. Une intoxication prolongée finit par provoquer une accumulation d'aluminium au niveau cérébral car, tout comme l'entrée de l'aluminium dans le cerveau, son élimination est difficile (Galle et coll., 1979).

- les glandes parathyroïdes : l'accumulation de l'aluminium dans ces glandes est très élevée (Morrissey et coll., 1983 ; Jaudon, 1991). L'aluminium provoque des modifications ultrastructurales des cellules parathyroïdiennes et l'inhibition de l'hormone sécrétée à cet endroit : la parathormone (Bourdeau et coll., 1987 ; Cournot-Witmer & Plachot, 1990).

- le coeur et les vaisseaux : l'aluminium provoque des désordres au niveau des artères (Erasmus et coll., 1993) et du coeur (London et coll., 1989 ; Levine et coll., 1990). L'aluminium s'accumule aussi bien au niveau de l'artère aortique que l'artère cérébrale. Au niveau aortique, l'aluminium se fixe préférentiellement dans la tunique médiane (Minami et coll., 1996). Au niveau cardiaque, l'ATP est un important messenger extracellulaire de la vasodilatation coronaire. L'aluminium, en se fixant sur l'ATP, va augmenter le flux coronaire

par une vasodilatation irréversible. Les effets de l'ATP sont identiques mais ils sont réversibles (Korchazhkina et coll., 1998). Des concentrations plasmatiques élevées en aluminium ont été associées à une hypertension artérielle chez des individus avec une fonction rénale normale (Granadillo et coll., 1995).

• L'appareil reproducteur : L'aluminium peut également influencer la reproduction car le métal a des effets négatifs sur la motilité et la survie des spermatozoïdes (Singh et coll., 1998) mais aussi sur le comportement sexuel (Bataineh et coll., 1998).

2) Distribution intracellulaire de l'aluminium

L'aluminium intracellulaire est localisé en majorité dans les lysosomes des tissus, le métal se trouve sous forme de cristaux associés au phosphore (Galle et coll., 1979 et 1983 ; Galle, 1981 ; Galle & Giudicelli, 1982 ; Bommer et coll., 1983 ; Fiejka et coll., 1996).

Spencer et coll. (1995) montrent qu'au niveau des hépatocytes, on retrouve de l'aluminium dans tous les organites analysés (cytoplasme, mitochondrie, noyau et réticulum endoplasmique). Par contre, dans les cellules tubulaires rénales, l'aluminium est détecté dans le cytoplasme et les mitochondries alors que le métal est absent du noyau et des lysosomes.

Dans les cellules cérébrales, l'aluminium s'accumule préférentiellement dans le noyau mais des dépôts sont localisés également dans le cytoplasme, les microsomes et les mitochondries (Julka et coll., 1996).

Dans les glandes parathyroïdes, l'aluminium est localisé dans les polyphagosomes et les mitochondries (Jaudon, 1991).

Au niveau des mitochondries, l'addition *in vitro* d'aluminium provoque une diminution du métabolisme énergétique et augmente la perméabilité membranaire (Burnatowska-Hledin et coll., 1986).

L'aluminium semble également s'accumuler dans le noyau cellulaire au niveau de la chromatine (De Boni et coll., 1974 ; Truchet, 1976 ; Bonhomme et coll., 1989). L'aluminium interagit également avec les neurofilaments (Shea & Beermann, 1994 ; Gotow et coll., 1995).

3) Accumulation de l'aluminium dans les cellules malignes

Après avoir provoqué expérimentalement des carcinomes chez le rat, il a été observé que les concentrations aluminiques dosées dans les tissus cancéreux digestifs (cancers du foie, de l'estomac et du duodénum) et mammaires sont plus élevées que dans les tissus normaux (Ogoshi et coll., 1994).

ELIMINATION DE L'ALUMINIUM HORS DE L'ORGANISME

1) Excrétion fécale

C'est la principale voie d'élimination en cas d'administration orale d'aluminium (Greger & Baier, 1983a). Selon Ondreicka et coll. (1966), cette voie d'élimination représenterait plus de 70% de l'aluminium ingéré. De nombreux auteurs cités par Campbell et coll. (1957) évoquent des pourcentages supérieurs à 100%, ce qui démontrerait que l'aluminium absorbé par d'autres voies est aussi éliminé par les selles. En effet, l'excrétion de l'aluminium dans les fèces concerne:

- l'aluminium qui n'a pas traversé la barrière intestinale car le métal est sous une forme non assimilable de précipités insolubles,

- l'aluminium qui a été absorbé, véhiculé dans le milieu intérieur et éliminé par la voie biliaire. Des observations sur des patients porteurs d'un drainage biliaire ont montré que le taux biliaire d'aluminium augmente après ingestion de gels d'aluminium (Williams et coll., 1986). L'élimination biliaire a été prouvée expérimentalement chez le chien (Kovalchik et coll., 1978) et chez le rat (Klein et coll., 1988 ; Sutherland et coll., 1996 ; Sutherland & Greger, 1998).

2) Excrétion urinaire

Lorsque l'aluminium a pénétré dans l'organisme et s'est accumulé dans les tissus, il ressort progressivement des organes avec une demi-vie de 42 jours (Yokel & Mc Namara, 1989). L'élimination de l'aluminium est alors essentiellement urinaire (Ganrot, 1986 ; Talbot et coll., 1995) et serait d'environ 15 $\mu\text{g Al}\cdot\text{jour}^{-1}$ pour un individu sans pathologie (Kaehny et coll., 1977b).

La quantité d'aluminium excrété par voie urinaire reflète l'intensité de l'exposition au métal (Szczekocki & Chmielewski, 1978 ; Mussi et coll., 1984). Ceci n'est cependant valable que pour de faibles expositions à l'aluminium car lorsque l'exposition est soutenue, la capacité d'élimination rénale est saturée et il y a accumulation de l'aluminium dans les tissus (Höhr et coll., 1989). L'aluminurie est également corrélée positivement avec l'âge des individus (Morie et coll., 1996).

Les mécanismes d'excrétion de l'aluminium par les reins sont différents de ceux admis en physiologie traditionnelle du néphron, basés sur des transports actifs transmembranaires d'ions solubles très diffusibles. L'élimination de l'aluminium se fait en trois étapes (Galle, 1984) qui sont schématisées dans la figure 4 :

1 - l'aluminium soluble (non liée aux protéines) est filtré par le glomérule de Malpighi. L'aluminium sanguin est principalement lié aux protéines, c'est pourquoi sa clairance est faible et ne représente que 5% de la filtration glomérulaire,

2 - l'aluminium est réabsorbé par les cellules du tube contourné proximal (Burnatowska-Hledin et coll., 1985a). Récemment, des auteurs ont suggéré également une réabsorption au niveau de l'anse de Henle (Lote et coll., 1996). L'aluminium est concentré dans les lysosomes où il va y avoir précipitation sous forme de phosphates insolubles (Galle, 1981),

3 - les cristaux submicroscopiques d'aluminium sont alors excrétés dans la lumière du néphron et éliminés sous cette forme dans le flux urinaire.

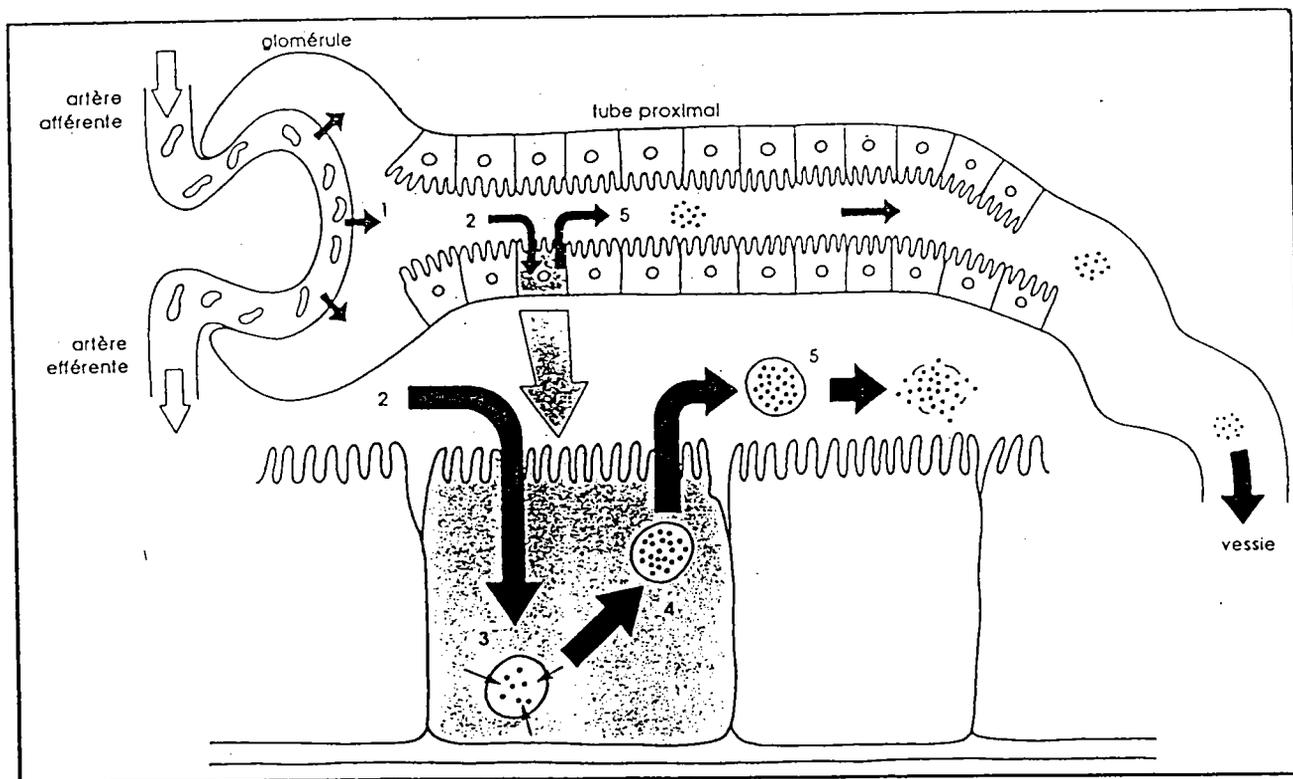


Figure 4 : Schéma du mécanisme d'excrétion rénale de l'aluminium (d'après Galle, 1986).

3) Autres voies d'excrétion

- L'élimination pulmonaire est presque nulle, les particules d'aluminium restent dans les tissus après cessation du contact avec les poussières (Reusch, 1961).

- L'élimination par la sueur n'a pas été étudiée.

- Par contre, l'aluminium semble se fixer dans les phanères (Naylor et coll., 1990).

Des taux aluminiques significativement supérieurs dans les cheveux des hémodialysés ont été observés (Chappuis et coll., 1988).

MODE D'ACTION DE LA TOXICITE CELLULAIRE DE L'ALUMINIUM

Les mécanismes de la toxicité cellulaire ne sont pas encore totalement éclaircis, cependant, il est reconnu que l'aluminium se lie avec différentes macromolécules ou constituants cellulaires (Exley & Birchall, 1992 ; Oteiza, 1994 ; Yokel, 1994).

1) Pénétration de l'aluminium dans la cellule

Peu d'études portent sur les mécanismes permettant le passage de l'aluminium du milieu extracellulaire au milieu intracellulaire.

Akeson et coll. (1989) propose que l'aluminium pénétrerait dans la cellule par endocytose après s'être fixé à un constituant membranaire : la phosphatidylcholine.

Deloncle et coll. (1990) signalent que l'aluminium formerait un complexe avec le glutamate sanguin pour traverser la membrane érythrocytaire et la barrière hémato-encéphalique de façon passive.

D'autres auteurs pensent que l'aluminium pénètre dans la cellule en utilisant des transporteurs (Feinroth et coll., 1982 ; Adler & Berlyne, 1985).

2) Action de l'aluminium sur les activités enzymatiques

Plusieurs enzymes et leur activité ont été étudiés afin de connaître la toxicité de l'aluminium.

• L'hexokinase

L'hexokinase est une enzyme glycolytique qui catalyse, par exemple, la phosphorylation du glucose en présence de Mg-ATP. Or, il semblerait que l'affinité de l'ATP soit plus forte pour l'aluminium que pour le magnésium. Les complexes Al-ATP et Mg-ATP seraient en compétition et l'activité de l'hexokinase se trouverait diminuée (Harrison et coll., 1972 ; Trapp, 1980 et 1986 ; Yoshino et coll., 1990 ; Exley et coll., 1994).

• La calmoduline

C'est une calciprotéine régulatrice, ubiquitaire et multifonctionnelle, qui intervient dans de nombreux processus dépendants du calcium comme la stimulation d'ATPases, de phosphodiesterases, de l'adénylate cyclase... L'aluminium serait en compétition avec le calcium pour les sites de fixation sur la calmoduline. L'aluminium fixé entraînerait alors une modification conformationnelle de la protéine (Siegel et coll., 1982 et 1983 ; Siegel & Haug, 1983 ; Farnell et coll., 1985 ; Levi et coll., 1998). Mais l'aluminium pourrait également intervenir au niveau du transport du calcium nécessaire à la calmoduline (Mundy et coll., 1994).

• L'acétylcholinestérase et l'acétylcholine-transférase

Ce sont des enzymes impliquées dans la transmission neuronale cholinergique lorsqu'elles sont situées dans le système nerveux central et périphérique. Mais, on trouve également l'acétylcholinestérase dans les érythrocytes, les plaquettes et les lymphocytes où son rôle est sans doute différent de celui du système nerveux.

En 1982, les travaux de Marquis montre que l'aluminium est un inhibiteur non compétitif de l'acétylcholinestérase isolé à partir de l'organe électrique d'*Electrophorus electricus* (Marquis, 1982 ; Marquis & Lerrick, 1982). L'acétylcholinestérase cérébrale bovine est également inhibée *in vitro* par l'aluminium (Moraes & Leite, 1994). En ce qui concerne l'acétylcholinestérase sérique, les résultats ont controversés. Certains auteurs attribuent un effet activateur à l'aluminium (Zatta et coll., 1994a) alors que d'autres concluent à un effet inhibiteur (Marquis, 1983).

Après injection intracisternale de l'aluminium, les activités des enzymes cholinergiques (acétylcholinestérase et acétylcholine-transférase) sont réduites (Yates et coll., 1980). Alors que l'injection intrapéritonéale d'aluminium inhibe l'acétylcholine-transférase (Cherroret et coll., 1992) et ne modifie pas l'activité de l'acétylcholinestérase (Gulya et coll., 1990).

Selon la quantité d'aluminium en contact avec l'enzyme, on peut avoir soit une activation de son activité pour les faibles concentrations, soit une inhibition lorsque la concentration augmente. Cet effet biphasique a été observé pour l'acétylcholinestérase : dans un premier temps, l'aluminium stimule l'activité enzymatique puis, dans un second temps, l'inhibe. Ce changement serait dû à la lente accumulation de l'aluminium dans le tissu cérébral (Kumar, 1998). L'activité de l'acétylcholine-transférase dépend également de la concentration aluminique (Cherroret et coll., 1992).

• Autres enzymes

L'aluminium a une action inhibitrice sur :

- les protéines kinases (Cochran et coll., 1990b ; Xu et coll., 1990)
- la phosphatase alcaline (Rej & Bretauière, 1980), et la phosphatase acide (Lieberherr et coll., 1982)
- la phosphodiesterase par l'intermédiaire de la calmoduline (Siegel & Haug, 1983),
- la dihydroptéridine réductase (Cutler & Blair, 1987 ; Altman et coll., 1988 ; Bolla et coll., 1991),
- la nitrogénase (Renner & Howard, 1996),
- l'isocitrate déshydrogénase (Chaya & Joshi, 1996),
- l'anhydrase carbonique (Zatta et coll., 1995),
- la sodium-potassium adénosine triphosphatase ($\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPase}$) (Zatta et coll., 1995 ; Husaini et coll., 1996),
- la calcium adénosine triphosphatase ($\text{Ca}^{2+} - \text{ATPase}$) (Vorbrot et coll., 1994a et b).

L'aluminium a une action stimulatrice sur :

- la succino-déshydrogénase cytochrome oxydase (Horecker et coll., 1989),
- la sérine protéase (Clauberg & Joshi, 1993). L'aluminium faciliterait ainsi les processus protéolytiques,
- la monoamine-oxydase qui catalyse la désamination oxydative (Zatta et coll., 1998),
- la calcium-magnésium adénosine triphosphatase ($\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$) (Mundy et coll., 1994).

En ce qui concerne l'adénylate cyclase, l'aluminium a, soit une action positive sur l'activité enzymatique (Ebstein et coll., 1986), soit une action inhibitrice (Mansour et coll., 1983).

3) Action de l'aluminium dans la peroxydation lipidique membranaire

Un des mécanismes de la neurotoxicité de l'aluminium pourrait être dû à un stress oxydatif. Des expériences ont montré que l'aluminium amplifiait la peroxydation lipidique dans le foie du lapin recevant de l'aluminium par injection intraveineuse (Bertholf et coll., 1987) et dans une culture d'hépatocytes de souris (Abreo et coll., 1991) ou de cellules cérébrales (Mundy et coll., 1997). Cependant, une administration chronique de l'aluminium par voie orale chez la souris,

provoque une accumulation hépatique et cérébrale de l'aluminium ; cependant la peroxydation lipidique est augmentée uniquement au niveau cérébrale suggérant que les désordres neurologiques associés à l'accumulation de l'aluminium pourraient être dus à des réactions oxydatives causées par les radicaux libres (Fraga et coll., 1990).

L'aluminium modifierait les propriétés physiques membranaires en provoquant un changement dans l'arrangement phospholipidique et faciliterait ainsi la propagation de la peroxydation lipidique en rendant les lipides plus accessibles aux radicaux libres (Oteiza, 1994 ; Xie & Yokel, 1996 ; Verstraeten et coll., 1997).

Des expériences *in vitro* montrent que l'aluminium peut avoir une action anti-oxydante ou pro-oxydante sur les membranes cellulaires. Cette action dépend du temps de contact (Oteiza et coll., 1993 ; Dominguez et coll., 1995).

Des enzymes protectrices du stress oxydatif ont leur activité diminuée en présence d'aluminium :

- la superoxyde dismutase (Shainkin-Kestenbaum et coll., 1989 ; Gupta & Shukla, 1995 ; Swain & Chainy, 1997). Atienzar et coll. (1998) n'observent aucun effet de l'aluminium sur cette activité enzymatique,
- la glutathion peroxydase (Gupta & Shukla, 1995) et la glutathion réductase (Katyal et coll., 1997),
- la catalase (Gupta & Shukla, 1995 ; Chainy et coll., 1996 ; Swain & Chainy, 1997),
- la cytochrome P.450 (Jeffery et coll., 1987 ; Bidlack et coll., 1987 ; Fulton & Jeffery, 1994).

4) Action de l'aluminium sur les nucléotides

L'aluminium a une forte affinité pour les nucléotides (Ganrot, 1986). Bien que les mécanismes de fixation de l'aluminium ne soient pas totalement élucidés, il est probable que l'aluminium soit lié par l'intermédiaire des groupements phosphates (Karlik et coll., 1980 ; Karlik & Eichhorn, 1989 ; Exley & Birchall, 1996).

Lorsque des concentrations élevées en aluminium sont retrouvées dans les tissus, il y a une baisse de la concentration phosphorique dans les acides nucléiques. L'aluminium provoque une augmentation du taux d'adénosine monophosphate et diphosphate (AMP et ADP), alors que le taux d'adénosine triphosphate (ATP) est diminué (Ondreiccka et coll., 1966). L'aluminium augmente la production d'AMP cyclique également. L'aluminium inhibe la

guanosine triphosphatase (GTPase) (Miller et coll., 1989 ; Landino & Mac Donald, 1997) et la formation de GMP cyclique (Cucarella et coll., 1998).

L'aluminium se lie au niveau de l'ADN par les atomes d'oxygène des groupements phosphates et des bases (Karlik et coll., 1980a et b ; Karlik & Eichhorn, 1989). Une des conséquences de cette fixation serait l'inhibition de la transcription de l'ADN en ARN et donc indirectement de la synthèse protéique (De Boni et coll., 1974 ; Walker et coll., 1989).

5) Action de l'aluminium sur certains constituants cellulaires

• Les membranes cellulaires

La fluidité membranaire est stabilisée habituellement par les ions Ca^{2+} et Mg^{2+} qui se fixent aux phospholipides. L'aluminium exercerait un effet similaire, c'est-à-dire que le métal augmenterait la rigidité membranaire (Vierstra & Haug, 1978 ; Jones & Kochian, 1997). Dans les cellules cérébrales de singe, l'aluminium provoque une perte de l'intégrité membranaire car le métal entraîne une augmentation du taux de cholestérol alors que le contenu en glycolipide et phospholipide diminue (Sarin et coll., 1997a).

Au niveau des membranes cellulaires, il existe un système de transmission du signal, lors de la fixation d'une hormone sur son récepteur, dans lequel l'aluminium interférerait à différents niveaux (Shafer & Mundy, 1995 ; Mundy et coll., 1995 ; Nostrandt et coll., 1996) :

- altération de la formation du second messenger (ou transducteur intracellulaire): l'inositol triphosphate (IP_3),
- ce second messenger est formé par l'hydrolyse d'un phosphatidylinositol-4,5-diphosphate (PIP_2) par une phospholipase. L'aluminium inhibe la phospholipase membranaire (Ali et coll., 1995 ; Jones & Kochian, 1995 et 1997). Ce mécanisme pourrait être dû à la modification de la fluidité de la membrane cellulaire.

• Les microtubules et les neuro-filaments

L'aluminium a une action toxique incontestée sur les neurofilaments et elle aboutit à une dégénérescence neurofibrillaire. Expérimentalement, elle a été démontrée chez le chat (Crapper & Tomko, 1975 ; Crapper et coll., 1976), chez le lapin (Galle et coll., 1980 ; Troncoso et coll., 1985 et 1990 ; Wisniewski et coll., 1982), chez la souris (Miller & Levine, 1974) et dans des cultures de cellules embryonnaires humaines de cerveau (Deboni et coll., 1980).

L'aluminium augmenterait la résistance des neurofilaments à la déphosphorylation des phosphatases alcalines ou des protéases. Cet effet a été

observé de cultures cellulaires de neuroblastomes (Shea et coll., 1995a et b) et sur des fractions de cytosquelette isolées de la moëlle épinière de lapin ayant reçu préalablement une injection intracisternate d'aluminium (Strong & Jakowec, 1994).

Snyder et coll. (1995) émettent l'hypothèse que la toxicité de l'aluminium dans les cultures cellulaires d'hépatocytes serait due à la fixation du métal sur des protéines du cytosquelette associées à la membrane plasmique et modifierait ainsi la fonction de perméabilité membranaire.

• Les canaux et récepteurs membranaires

Les canaux calciques dépendants du voltage ont été les plus étudiés. Ce sont des protéines transmembranaires qui ont un rôle important dans le fonctionnement des cellules neuronales. L'aluminium s'avère être un agent bloquant de ces canaux et son action est irréversible (Büsselberg et coll., 1993 et 1994 ; Platt & Büsselberg, 1994a et b ; Platt et coll., 1993).

L'activité des canaux sodiques voltage-dépendants est également bloquée en présence d'aluminium (Kanazirska et coll., 1997).

Certains récepteurs membranaires sont le site d'action de l'aluminium comme les récepteurs au glutamate (Platt et coll., 1994). Le glutamate est un acide aminé qui est utilisé pour la synthèse de l'acide γ -aminobutyrique (GABA) un neurotransmetteur. L'aluminium inhibe le transport du GABA et du glutamate et s'accumule au niveau des neurones GABAergiques (Wong et coll., 1981).

Des études *in vitro*, sur des cellules osseuses de rat et des cellules rénales de chien, ont montré que l'aluminium diminue l'affinité de la parathormone avec son récepteur et inhibe l'action de ce récepteur en supprimant l'effet stimulateur sur l'adénylate cyclase (Pun et coll., 1990).

6) Autres actions de l'aluminium

- L'aluminium inhibe le transport par endocytose en ralentissant la fusion endosomiale avec les lysosomes intracellulaires (Colombo et coll., 1994).

- L'aluminium agit sur la biosynthèse d'un facteur de croissance nerveuse et son action est dépendante de la concentration ; à faible dose l'aluminium stimule la synthèse alors que des concentrations élevées l'inhibe (Kobayashi et coll., 1996).

TOXICITE CHEZ L'HOMME ET PATHOLOGIES ASSOCIEES A L'ALUMINIUM

I) Toxicité aiguë

Rappelons que l'aluminium est omniprésent dans l'environnement, mais il se trouve généralement à l'état insoluble et donc, non biodisponible. La toxicité aiguë de l'aluminium n'existe pas chez l'homme. Par contre, elle a été étudiée chez l'animal et dépend du degré de solubilité du composé aluminique et de la voie de pénétration.

Quelques valeurs de DL50 de dérivés aluminiques trouvées dans la littérature sont rassemblées dans le tableau 4.

Chez l'animal, l'injection de doses massives d'aluminium provoque des crises épileptiformes reproduisant assez fidèlement l'épilepsie humaine (Reynolds et coll., 1975 ; Velasco et coll., 1976).

La toxicité aiguë du chlorure d'aluminium provoquerait une augmentation du taux de glucose dans le sang, une diminution du taux de glycogène hépatique (Ondreicka et coll., 1966).

Tableau 4 : Dose létale à 50% de quelques dérivés aluminiques.

Composés aluminiques	Voies d'intoxication	DL50 (mmol.kg⁻¹)	Espèces animales	Références
Chlorure d'aluminium (AlCl₃)	Orale	5,77 ± 0,90	souris	Ondreicka et coll., 1996
Sulfate d'aluminium Al₂ (SO₄)₃	Orale	12,51	rat	Smyth et coll., 1969
	Orale	2,86 ± 0,26	souris	Ondreicka et coll., 1966
	intrapéritonéale	0,41	souris	Bienvenu et coll., 1963
Nitrate d'aluminium Al(NO₃)₃ , 9H₂O	orale	0,70	rat	Nekipelov, 1966
	intrapéritonéale	0,85	souris	Hart et coll., 1971
	intrapéritonéale	0,88	rat	Hart & Adamson, 1971
Phosphorure d'aluminium (AlP)	inhalation	0,02 mol.L ⁻¹	rat	Christensen, 1971

II) Toxicité chronique

Certaines pathologies sont directement associées à une intoxication aluminique (l'encéphalopathie des dialysés, l'ostéomalacie, l'arthropathie et l'anémie microcytaire). Plusieurs auteurs ont montré une corrélation entre l'incidence de l'encéphalopathie des dialysés, l'ostéomalacie, l'anémie et l'aluminium contenu dans les dialysats ou les traitement hypophosphatémiant (Lione, 1983 ; Wills & Savory, 1983 et 1985; Greger, 1987 ; Starkey, 1987 ; Perl & Good, 1988). Mais l'aluminium peut également être impliqué dans certaines maladies dont l'éthiologie est inconnue (la maladie d'Alzheimer, la sclérose amyotrophique et la maladie de Parkinson).

1) Encéphalopathie progressive des dialysés

Dans les année 1970, est apparue une nouvelle maladie neurologique qui se déclare chez les hémodialysés de long terme. Elle fut décrite pour la première fois par Alfrey et coll. (1972) chez des insuffisants rénaux dialysés, en moyenne, depuis 48 mois. Par la suite, de nombreux autres cas ont été rapportés (Alfrey et coll., 1976 ; Burks et coll., 1976 ; Lederman & Henry, 1978 ; Galle et coll., 1979 ; Alfrey, 1984). Des éléments concordants ont orienté l'origine de cette encéphalopathie vers une intoxication par l'aluminium provenant de l'eau de dialyse (Cartier et coll., 1978) et/ou des gels d'aluminium prescrits pour lutter contre l'hyperphosphatémie (Buge et coll., 1978 ; Boukari et coll., 1978). Elle fut une des premières causes de décès des dialysés.

a - Les signes cliniques

Les symptômes s'installent progressivement en quelques semaines, ils sont initialement fluctuants, mais par la suite, les troubles deviennent permanents (Alfrey, 1984 ; Rovelli et coll., 1988) :

- une dysarthrie (troubles de la parole),
- des troubles du comportement (modification de la personnalité, hallucinations, paranoïa) et moteurs,
- des troubles intellectuels de plus en plus graves pour aboutir au syndrome de "démence des dialysés" (dépression, léthargie, coma),
- des crises convulsives peuvent apparaître dans un cas sur deux.

La maladie évolue toujours vers la mort dans un délai moyen de 7 à 8 mois. Cependant, il existe des formes réversibles lorsque l'on supprime l'apport d'aluminium (Buge et coll., 1979a).

b - Les signes physiopathologiques

Le diagnostic de l'encéphalopathie des dialysés est confirmé par :

- des modifications de l'électroencéphalogramme, qui peuvent précéder les signes cliniques : il y a ralentissement du rythme de base jusqu'au remplacement par des ondes lentes, sur lesquelles se greffent des bouffées d'ondes irrégulières de grande amplitude et des éléments comitiaux (Buge et coll., 1978 ; Sabouraud et coll., 1978),

- une aluminémie élevée : supérieure à 200 $\mu\text{g Al.l}^{-1}$. Il existerait une corrélation positive entre le taux d'aluminium dans le sang et le taux de mortalité (Chazan et coll., 1988 et 1991).

c - Les signes histopathologiques et les modifications biochimiques

Les examens histologiques révèlent :

- une prolifération astrocytaire (Yates et coll., 1980),
- une surcharge en lipofuschines dans les neurones du cortex cérébral, de l'hippocampe, du cervelet et du tronc cérébral (Yates et coll., 1980),
- une accumulation de phosphate d'aluminium dans les neurones du cortex frontal et temporal de l'olive et des noyaux rouges et gris (Mc Dermott et coll., 1978 ; Galle et coll., 1979).

Au niveau biochimique, certaines régions cérébrales ont une baisse de leur teneur en acide γ -aminobutyrique (GABA) et une inhibition de l'activité de l'acétylcholinestérase (Perry et coll., 1977 ; Sweeney et coll., 1985).

d - Cas des enfants urémiques

Les symptômes d'encéphalopathie des dialysés ont également été observés chez des patients avec une insuffisance rénale, traités par des gels d'alumine mais ne suivant aucune thérapie en dialyse. Des cas de nouveaux-nés ou d'enfants avec des traitements hypophosphatémiant à base d'aluminium et ayant déclenché des encéphalopathies ont été rapportés dans la littérature

(Geary et coll., 1980 ; Griswold et coll., 1983 ; Randall, 1983 ; Andreoli et coll., 1984 ; Sedman et coll., 1984a et b).

2) Pathologies osseuses

Les tissus osseux sont des organes cibles de l'aluminium et les pathologies osseuses et articulaires sont les premières manifestations de l'intoxication chez les insuffisants rénaux, bien avant l'apparition des désordres neurologiques (Mjöberg, 1990). Cependant, les pathologies osseuses des insuffisants rénaux chroniques peuvent s'améliorer après une transplantation rénale (Dietl et coll., 1997).

a - L'ostéodystrophie rénale

Les patients avec des désordres rénaux chroniques développent fréquemment des maladies osseuses métaboliques regroupées sous le nom d'ostéodystrophie rénale (Oppenheim et coll., 1989). Sous ce terme, plusieurs pathologies coexistent :

- l'ostéomalacie qui est une déficience de la minéralisation des os,
- l'ostéite fibrosante qui est la transformation du tissu osseux en tissu fibroblastique,
- l'ostéopénie et l'ostéosclérose qui sont des modifications de la masse osseuse.

Ces pathologies évoluent avec la progression du déficit rénal et de l'hyperparathyroïdie constatée chez ces patients.

b - L'ostéomalacie

C'est la pathologie qui domine les désordres métaboliques osseux observés chez les déficients rénaux, c'est pour cela que nous développerons plus particulièrement cet aspect.

- Signes cliniques

L'ostéomalacie est caractérisée par des douleurs osseuses, des arthralgies, et une tendance à faire des fractures spontanées. Puis surviennent des déformations osseuses qui s'accompagnent d'une myopathie proximale (Andress

et coll., 1986 et 1987 ; Drüecke, 1980 et 1986 ; Oppenheim et coll., 1989). Les examens radiologiques sont souvent normaux.

- *Signes histopathologiques*

Les examens histologiques osseux des patients (Ellis et coll., 1979 ; Cournot-Witmer et coll., 1981 ; Severson et coll., 1992) révèlent :

- une augmentation de l'épaisseur et de la surface des travées ostéoïdes (matrice osseuse non minéralisée),

- une diminution de la vitesse de calcification avec réduction du front de minéralisation (Sprague et coll., 1993 ; Bellows et coll., 1995),

- un effet toxique sur les deux populations cellulaires : les ostéoblastes (Parisien et coll., 1988) et les fibroblastes, pouvant provoquer une diminution de leurs nombres (Kidder et coll., 1993)

Cette ostéomalacie est également caractérisée par des dépôts aluminiques importants le long du front de minéralisation et par la résistance au traitement par la vitamine D (Hodsman et coll., 1981 ; Verbeelen et coll., 1988).

- *Rôle de l'aluminium dans la pathogénèse de l'ostéomalacie*

Chez les patients atteints d'insuffisance rénale, on observe fréquemment une accumulation lente et progressive de l'aluminium (Colussi et coll., 1987 ; Suzuki et coll., 1995) par l'augmentation de l'aluminémie et de l'imprégnation aluminique osseuse (Goodman et coll., 1984a ; Malluche et coll., 1987 ; Ott et coll., 1987). Un cas d'ostéomalacie a été décrit chez un sujet avec une fonction rénale normale provoquée par une automédication avec un anti-acide à base d'hydroxyde de magnésium et d'aluminium. Le patient avait absorbé, en 8 ans, l'équivalent de 18 kilogrammes d'aluminium et 15 kilogrammes de magnésium (Woodson, 1998).

L'ostéomalacie a également été reproduite expérimentalement après administration d'aluminium chez le chien (Goodman et coll., 1984b) ou chez le rat urémique (Chan et coll., 1983 ; Jablonski et coll., 1996).

Des études suggèrent l'influence de l'effet combiné de l'aluminium et du fer au niveau des fronts de calcification en inhibant l'ostéogénèse (Phelps et coll., 1988 ; Konishi et coll., 1996). Bushinsky et coll. (1995) ont montré *in vitro* que l'aluminium modifie la composition ionique des cellules osseuses en culture en provoquant un efflux massif de sodium, de potassium et de calcium.

c - L'arthropathie dialytique

Les insuffisants rénaux chroniques souffrent également de complications au niveau des articulations. De nombreux facteurs étiologiques ont été proposés sans pour autant éclaircir les mécanismes de cette pathologie.

Cependant, plusieurs observations semblent impliquer l'aluminium dans le développement de l'arthropathie :

- l'aluminium s'accumule dans les articulations des hémodialysés chroniques qui suivent un traitement à base de gel d'alumine (Netter et coll., 1984) et se localise dans le cartilage et le liquide synovial (Netter et coll., 1991),

- le silicium présent dans le liquide synovial favorise les dépôts d'aluminosilicate à cet endroit (Netter et coll., 1991),

- l'aluminium provoque des lésions au niveau des structures articulaires par son action directe ou par stimulation de la production d'eicosanoïde par les cellules synoviales (Chary-Valckenaere, 1994),

- dans un tissu surchargé en aluminium, il y a augmentation de la production de radicaux libres d'oxygène qui lèsent les chondrocytes et dépolymérisent les macromolécules constituant le cartilage (Mitrovic et coll., 1987).

3) Anémie microcytaire

a - Signes cliniques

L'anémie se caractérise d'abord par la pâleur de la peau et des muqueuses, une fatigue, des essoufflements et des palpitations pour le moindre effort. Puis, l'essoufflement devient permanent et s'accompagne d'une accélération du pouls, d'œdèmes dans les membres inférieurs, de céphalées et de vertiges.

b - Anémie et intoxication aluminique

Une anémie attribuable à une intoxication aluminique a été décrite chez des patients hémodialysés présentant une aluminémie supérieure à 250 µg.L⁻¹, une ostéomalacie et une démence des dialysés. Tous ces patients, bien que correctement supplémentés en fer, présentaient la même forme d'anémie : microcytaire et hypochrome qui se surajoute à l'anémie préexistante de l'insuffisant rénal chronique (Parkinson et coll., 1981 ; Wills & Savory, 1983 ; Bia et coll., 1989 ; Caramelo et coll., 1995). Des anémies ont également été observées

chez les patients urémiques non dialysés mais ingérant des composés aluminiques (Mc Carthy et coll., 1986).

De plus, la microcytose et l'hypochromie de cette anémie sont réversibles après arrêt de l'apport aluminique (Short et coll., 1980), alors qu'une supplémentation en fer sans réduction de l'apport d'aluminium n'améliore pas l'anémie. Expérimentalement, l'anémie peut être provoquée, chez le rat, en administrant l'aluminium par voie orale (Chmielnicka et coll., 1994) ou intrapéritonéale (Kaiser et coll., 1984).

c - Effets hématologiques toxiques de l'aluminium

Plusieurs mécanismes ont été proposés sur les mécanismes d'action de l'aluminium dans l'anémie :

- Influence de l'aluminium sur le métabolisme du fer.

L'élimination biliaire du fer serait augmentée après injection intraveineuse d'aluminium chez le rat (Allain et coll., 1988b). De plus, l'aluminium et le fer seraient en compétition pour les sites de fixation sur la transferrine sérique (Trapp, 1983).

- Influence de l'aluminium sur la synthèse de l'hémoglobine.

L'aluminium, par compétition avec le fer, forme un complexe Al-Transferrine qui diminue alors l'incorporation du fer dans la structure hémique de l'hémoglobine (Abreo et coll., 1990a ; Rosenlöf et coll., 1990). L'aluminium inhiberait donc la synthèse de l'hémoglobine (Altman et coll., 1988 ; Zaman et coll., 1990 ; Chmielnicka et coll., 1996 ; Lin et coll., 1996). L'aluminium semble également inhibé *in vitro*, de façon réversible une enzyme impliquée dans la biosynthèse hémique : l'acide δ -aminolevulinique déshydratase (δ -ALA déshydratase) (Schroeder & Caspers, 1996).

- Influence de l'aluminium sur l'érythropoïèse.

L'aluminium inhibe l'érythropoïèse chez les patients hémodialysés (Mc Carthy et coll., 1986) mais aussi chez la souris (Garbossa et coll., 1996) et le rat (Ganchev et coll., 1998) intoxiqués à l'aluminium. Des effets identiques sont observés *in vitro* sur des cultures de cellules, et seraient dus à une modification de la capacité de fixation de la transferrine. En effet, l'inhibition n'a pas lieu lorsque la transferrine est totalement saturée en fer (Mladenovic, 1988). De plus, l'érythropoïétine ne modifie pas l'action de l'aluminium (Mladenovic, 1988 ; Garbossa et coll., 1994).

- Influence de l'aluminium sur la destruction des érythrocytes.

L'aluminium favoriserait la destruction des globules rouges en modifiant la fragilité osmotique des cellules, ce qui contribuerait au développement de l'anémie (Touam et coll., 1983 ; Garbossa et coll., 1996).

4) Pathologies professionnelles

Les pathologies dues à l'aluminium en milieu professionnel, concernent essentiellement les voies respiratoires :

- l'aluminose est caractérisée par une toux d'essoufflement qui peut conduire à une fibrose interstitielle si la maladie devient chronique,

- la maladie de Shaver est caractérisée par un oedème pulmonaire, une fibrose des parois alvéolaires, une fibrose interstitielle, un emphysème et une bronchite chronique.

Les ganglions lymphatiques ainsi que les vaisseaux sanguins pulmonaires présentent aussi une fibrose plus ou moins marquée. Les particules d'aluminium sont entourées d'amas de tissus fibreux et des macrophages sont présents en nombre variable autour de ces amas. La toxicité de l'aluminium est due aux macrophages : l'aluminium contenu dans les lysosomes est libéré avec les enzymes lysosomiales par rupture de la membrane. Le macrophage est alors digéré et libère des facteurs stimulant la formation de collagène par les fibroblastes. L'aluminium serait donc une substance fibrinogène.

Un cas de fibrose pulmonaire associée à une encéphalopathie après inhalation de poudre d'aluminium a été décrit (Mc Laughlin et coll., 1962). L'aluminium libéré par les macrophages peut expliquer les concentrations plasmatiques élevées en aluminium chez les ouvriers travaillant dans l'industrie de l'aluminium (Schlatter et coll., 1990), et dans ce cas, l'apparition d'encéphalopathie.

Une fibrose a pu également être reproduite expérimentalement chez le rat par injection intratrachéale de poussières d'aluminium (Corrin, 1963).

5) Maladie d'Alzheimer

Les problèmes posés par les états démentiels sont devenus une préoccupation majeure en santé publique du fait du vieillissement de la population. On estime entre 10 et 15% les individus de plus de 65 ans qui présentent des signes d'évolution démentielle (Lamour & Davous, 1983). Le

terme maladie d'Alzheimer décrit une forme présénile de démence ayant lieu avant 65 ans (âge déterminé arbitrairement). Lorsque les symptômes apparaissent plus tard, on parle de démence sénile de type Alzheimer (Lee, 1989).

Les démences de type Alzheimer sont les démences séniles les plus fréquemment rencontrées et représentent environ 60% de l'ensemble des démences diagnostiquées (Katzman, 1986). Le seul facteur de risque actuellement identifié est l'âge, avec peut-être aussi l'existence d'antécédents familiaux de démence (Mas et coll., 1987). Les facteurs responsables de la maladie ne sont pas connus avec certitude et de nombreuses hypothèses ont été émises à ce sujet, elles seront exposées plus loin dans ce paragraphe.

a - Les signes cliniques

Les démences de type Alzheimer débutent par des troubles de la mémoire, de l'orientation spatio-temporelle et du comportement. Puis, un affaiblissement progressif des capacités intellectuelles est observé, accompagné de troubles aphaso-apraxy-agnosiques, c'est-à-dire des troubles du langage et des fonctions motrices et sensorielles (Wurtman, 1985). L'évolution de la maladie est irréversible. Les malades deviennent ensuite totalement dépendants et décèdent généralement dans les 5 ans.

b - Les signes histopathologiques

En fait, c'est l'autopsie post-mortem qui permet de déterminer avec certitude que le patient était atteint de la maladie d'Alzheimer car des modifications caractéristiques au niveau du cerveau sont observées.

Il y a une perte de poids du cerveau et une dilatation ventriculaire avec atrophie du cortex (Lamour & Davous, 1983).

A l'examen microscopique, il existe plusieurs anomalies caractéristiques qui touchent essentiellement le cortex cérébral et l'hippocampe (De Boni et coll., 1980 ; Wurtman, 1985) :

- accumulation intraneuronale de filaments anormaux entortillés par paire (nommés dégénérescences neurofibrillaires) (Defossez et coll., 1986 ; Takeda et coll., 1991),

- accumulation d'agrégats amorphes de protéine β -amyloïde autour et dans les vaisseaux sanguins,

- accumulation extracellulaire de foyers dispersés de débris cellulaires et de protéines β -amyloïdes : ce sont les plaques séniles (ou neuritiques),

- dégénérescence de neurones,
- autres phénomènes également observés lors du vieillissement naturel : modification morphologique des dendrites, dégénérescence des cellules pyramidales de l'hippocampe, altération de la chromatine.

c - Les perturbations biochimiques

Par sa constante, le déficit de l'activité de l'acétylcholine-transférase, enzyme de synthèse de l'acétylcholine, paraît être un élément fondamental de la démence d'Alzheimer (Perry et coll., 1982 et 1983 ; Rossor et coll., 1982 ; Yates et coll., 1982 et 1989). Cette diminution prédomine dans le cortex cérébral : cortex hippocampique, néocortex et amygdale. Outre la diminution de l'activité enzymatique, le nombre de neurones cholinergiques se raréfie dans le noyau basal de Meynert (Mc Geer, 1984 ; Bielarczyk et coll., 1998).

L'activité de l'acétylcholinestérase, enzyme d'hydrolyse de l'acétylcholine, est également inhibée partiellement (dans les noyaux de Meynert) ou totalement (dans le néocortex) (Candy et coll., 1983).

D'autres pathologies biochimiques semblent jouer un rôle important dans la maladie d'Alzheimer :

- atteintes des systèmes noradrénergiques et sérotoninergiques (Berger et coll., 1980 ; Berger, 1984),
- atteinte peptidergique dans le cortex cérébral accompagné d'une baisse des taux de somatostatine (Rossor et coll., 1980),
- atteinte du métabolisme du glucose (Friedland et coll., 1985 et 1989 ; Hoyer et coll., 1988 ; Marcus et coll., 1988).

d - Hypothèses sur l'étiologie de la maladie d'Alzheimer

- Hypothèse infectieuse

Il est apparu que la maladie d'Alzheimer ressemblait à deux autres maladies infectieuses, le syndrome de Gerstmann-Straüssler et la maladie de Creutzfeldt-Jakob (Terry, 1982). Cependant, si un agent infectieux était impliqué, la maladie serait transmissible, or les essais de transmission en laboratoire ont échoué. Cette hypothèse a été abandonnée.

- Hypothèse génétique

Dans certaines familles, l'incidence de la maladie d'Alzheimer est inhabituellement importante ; cette seule observation indique que certaines

formes de la maladie, au moins, sont héréditaires. Des études ont proposé que le chromosome 21 pouvait comporter un gène responsable de la démence d'Alzheimer mais David et coll. (1987) ne sont pas parvenus à le localiser.

- Hypothèse radicalaire

Cette hypothèse est basée sur le fait que le vieillissement cérébral est amplifié lors de l'augmentation de la production de radicaux libres.

- Hypothèse métabolique

Des auteurs ont proposé que l'inhibition du métabolisme du glucose pouvait être impliqué dans la dégénérescence des neurones cholinergiques (Friedland et coll., 1985 ; Hoyer et coll., 1988 ; Mufson et coll., 1989).

- Hypothèse toxicologique

C'est l'observation de dépôts d'aluminium au niveau du cerveau des patients atteints de la maladie d'Alzheimer qui est à la base de cette hypothèse (Crapper et coll., 1973 et 1976 ; Trapp et coll., 1978 ; Yoshimasu et coll., 1985 ; Scott et coll., 1993 ; Kawahara et coll., 1994 ; Chong & Suh, 1995). De plus, la teneur en aluminium dans le cerveau augmente avec l'âge tout comme l'apparition de la maladie d'Alzheimer (Mc Dermott et coll., 1979). Ainsi la mise en évidence d'aluminium dans les plaques séniles (Farrar et coll., 1990) et au niveau des neurones sièges de la dégénérescence neurofibrillaire (Perl & Brody, 1980 ; Candy et coll., 1986), ainsi que la connaissance de son rôle dans la genèse des encéphalopathies progressives des dialysés, ont conduit à envisager l'aluminium comme un facteur étiologique possible dans le syndrome d'Alzheimer (Birchall et Chappell, 1988a ; Zatta et coll., 1988 et 1995 ; Harrington et coll., 1994 ; Corain et coll., 1990).

e - Rôle de l'aluminium dans la pathogénèse de la maladie d'Alzheimer

Le rôle de l'aluminium dans la maladie d'Alzheimer est controversé (Savory et coll., 1996 ; Lukiw, 1997).

Voyons tout d'abord les éléments qui impliquent l'aluminium dans la genèse de cette maladie :

- Il existe des similitudes entre les sites d'action de l'aluminium et les régions néocorticales et hippocampiques (Corrigan et coll., 1993) affectées dans la

maladie d'Alzheimer (Andrasi et coll., 1995). L'aluminium, complexé à l'acide glutamique, franchirait la barrière hémato-encéphalique et se fixerait dans le cortex cérébral et l'hippocampe riche en terminaisons glutaminergiques (Huguet et coll., 1991 et 1993). Des intoxications provoquées expérimentalement chez le chat ou le lapin sont suivies de lésions neuronales comparables aux dégénérescences neurofibrillaires observées dans la maladie (Crapper & Dalton, 1973a et b ; King et coll., 1975 ; Bugiani & Ghetti, 1982 ; Wisniewski et coll., 1982 ; Shin et coll., 1995).

- Zapatero et coll. (1995) observent une concentration sérique en aluminium positivement corrélée avec l'âge des individus (individus sains). Ils montrent également que cette concentration est significativement plus élevée chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer que chez des malades atteints d'autres démences séniles ou chez les sujets sains.

- La maladie d'Alzheimer est caractérisée par la présence de plaques amyloïdes. Ces plaques amyloïdes contiendraient de l'aluminium et du silicium sous forme d'aluminosilicate (Candy et coll., 1986 ; Good et coll., 1992 ; Good & Perl, 1993 ; Kruck, 1993 ; Hollosi et coll., 1994 ; Fasman et coll., 1995 ; Tokutake et coll., 1995).

- L'aluminium, aux concentrations équivalentes à celles dosées dans le cerveau de patients souffrant de la maladie d'Alzheimer, provoque des perturbations cellulaires et biochimiques (Suarez Fernandez et coll., 1996). Une intoxication chronique chez le rat modifie la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique permettant l'accumulation de l'aluminium dans le cerveau et entraînant des troubles neurologiques tels que tremblements, perte d'équilibre, convulsions... (Deloncle et coll., 1995 ; Sahin et coll., 1995b). Des expériences *in vitro* ont montré qu'une brève exposition à l'aluminium a une action toxique pour les neurones de l'hippocampe de rat (Brenner & Yoon, 1994). L'aluminium aurait également une action neurotoxique sur ces neurones, réversible à faible concentration, et irréversible à des concentrations plus élevées en provoquant une dégénérescence neuronale (Platt et coll., 1994).

L'aluminium a également une action neurotoxique sur les cellules cérébrales embryonnaires en modifiant le cytosquelette de façon comparable aux modifications intervenant dans la maladie d'Alzheimer (Pia Muller & Bruinink, 1994) et en provoquant l'aggrégation et la stabilisation de protéines β -amyloïdes (Kuroda et coll., 1995 ; Vyas & Duffy, 1995a et b). L'aluminium serait fixé dans les dégénérescences neurofibrillaires intraneuronales (Sherrard, 1991).

- Plusieurs études épidémiologiques se sont intéressées à l'aluminium et son incidence sur la maladie d'Alzheimer (Henderson, 1986 ; Crapper Mc Lachlan et coll., 1991 ; Rogers & Simon, 1999). Dans une étude britannique, Martyn et coll. (1989) ont montré que dans les régions où la teneur aluminique de l'eau est supérieure à $110 \mu\text{g.L}^{-1}$, l'incidence de la maladie d'Alzheimer est multiplié par 1,5 en comparaison avec les régions où l'eau contient moins de $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ d'aluminium. Des conclusions identiques impliquant l'aluminium de l'eau de boisson dans la maladie ont été obtenues en Norvège (Flaten, 1987 et 1990) et au Canada (Neri & Hewitt, 1991 ; Forbes & Mc Lachlan, 1996). Des études épidémiologiques suite à l'exposition prolongée à l'aluminium concluent que l'aluminium peut intervenir dans le développement de la maladie d'Alzheimer (Candy et coll., 1992b ; Harrington et coll., 1994). De même, une exposition à l'aluminium dans les antitranspirants et les antiacides augmenterait les risques de déclencher une démence d'Alzheimer (Graves et coll., 1990).

Une étude (Jacqmin-Gadda et coll., 1996) a établi un lien entre les concentrations en aluminium et en silicium des eaux de boisson et la santé mentale de personnes âgées. Il semblerait que l'aluminium ait un effet délétère lorsque le taux de silicium est faible alors que son effet serait protecteur en présence d'un pH et d'une concentration en silicium élevés.

- L'aluminium peut conduire à générer des radicaux libres (Evans et coll., 1989 & 1992) qui a été évoqué comme un mécanisme pathogène possible dans le développement de la maladie d'Alzheimer.

En regard de ces observations, il existe des études qui écartent la possibilité que l'aluminium soit impliqué dans la maladie d'Alzheimer :

- les valeurs cérébrales en aluminium trouvées chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer seraient dues à l'âge et ne serait pas différentes de celles mesurées chez des témoins (Mc Dermott et coll., 1978 ; Markesbery et coll., 1981 ; Bjertness et coll., 1996). D'autres auteurs montrent également que ces concentrations sont largement inférieures à celles des patients dialysés décédés d'encéphalopathie progressive (Yates et coll., 1980). Il n'y a pas de différence non plus entre les concentrations aluminiques de liquides biologiques (urine, sang, liquide céphalorachidien) chez les malades atteints de la maladie d'Alzheimer et les témoins (Pailler et coll., 1995),

- l'injection intracrânienne d'aluminium chez le rat ne provoque pas de dégénérescence neurofibrillaire dans les études de King et coll. (1975). Bien que la présence d'aluminium dans des cultures de cellules cérébrales humaines induise des dégénérescences neurofibrillaires, elles sont morphologiquement différentes de celles observées dans la maladie d'Alzheimer (De Boni et coll., 1980),

- une étude attribue la présence d'aluminium détectée dans les plaques amyloïdes à une contamination des réactifs utilisés pour le dosage (Landsberg et coll., 1992),

- certaines études épidémiologiques portant sur l'eau de boisson (Wettstein et coll., 1991), sur le milieu professionnel (Salib & Hillier, 1996) ou sur l'absorption d'aluminium pour lutter contre la silicose (Rifat et coll., 1990), n'ont pas pu mettre en évidence un lien entre l'aluminium et la maladie d'Alzheimer,

- la présence d'aluminium ne serait pas nécessaire à produire les manifestations histologiques rencontrées dans le cerveau des malades (Jacobs et coll., 1989) et lorsque l'aluminium est présent dans le tissu cérébral, il ne serait pas forcément responsable des modifications cellulaires (Kasa et coll., 1995).

En conclusion, il existe de nombreuses observations indiquant que l'aluminium peut être un des facteurs de prédisposition dans la maladie d'Alzheimer mais beaucoup de questions restent encore sans réponse et certaines études sont contradictoires (Armstrong et coll., 1996 ; Uchida & Nagai, 1997). La maladie d'Alzheimer résultent sans doute de plusieurs facteurs génétiques et/ou environnementaux (Tzourio et coll., 1991). Ainsi, la participation de l'aluminium ne peut pas être ignorée, surtout depuis que l'on connaît ses effets neurotoxiques.

6) Sclérose latérale amyotrophique et maladie de Parkinson

Vers les années 1960, on nota l'apparition avec une forte fréquence, chez les habitants de l'île de Guam (Archipel des îles Mariannes) de deux formes de maladies neurologiques chroniques :

- la sclérose latérale amyotrophique (SLA)
- une pathologie mélangeant les signes cliniques de la maladie de Parkinson et de démence sénile.

L'incidence était de 50 à 100 fois supérieure à celle des Etats-Unis et un habitant sur 5 décédait des suites de ces maladies. La forme de SLA débutait avant l'âge de 35 ans et les malades décédaient vers 50 ans, la maladie de type Parkinson se déclarant vers 40 ans. Par la suite, on détecta ces pathologies dans deux autres régions : la péninsule de Kii au Japon et dans l'Ouest de la Nouvelle Guinée.

a - Signes cliniques et histologiques de la SLA

- Dégénérescence neurofibrillaire progressive des neurones de la corne antérieure de la moëlle épinière et des motoneurons du cerveau,
- atrophie progressive des muscles des membres supérieurs,
- fibrillations des muscles des membres supérieurs aboutissant à une paraplégie spastique,
- paralysie labio-glosso-laryngée progressive.

b - Signes cliniques et histologiques de la maladie de Parkinson

- Dégénérescence neurofibrillaire du corps strié et du locus niger,
- tremblements lents et persistants au repos des mains et de la tête,
- akinésie : faciès figé, marche à petits pas lents, corps fléchi en avant, micrographie, voix monotone,
- troubles végétatifs (salivation exagérée, sudation...) et troubles de l'affectivité (dépression).

c - Hypothèses sur l'étiologie de ces maladies

De nombreuses recherches ont tenté d'élucider la cause de ces pathologies endémiques et de résoudre ainsi le problème étiologique de la SLA classique. Malgré ces travaux, l'origine de ces maladies reste encore inconnue. Une des hypothèses émises est l'intervention d'un facteur environnemental toxique qui pourrait être l'aluminium.

D'un point de vue géologique, l'île de Guam, la Nouvelle-Guinée et la péninsule de Kii ont des sols riches en aluminium et en manganèse, et pauvre en calcium. Des analyses ont relevé des concentrations de 100 à 400 µg Al.L⁻¹ dans l'eau de l'île de Guam.

D'un point de vue cytologique, des concentrations en aluminium anormalement élevées sont détectées dans le cerveau et la moëlle épinière des patients décédés de SLA (Garruto et coll., 1990). De plus, l'aluminium s'accumule dans le noyau et le péricaryon des neurones (Perl et coll., 1982). Une étude récente n'a cependant pas observé d'accumulation d'aluminium dans la moëlle épinière de patients atteints de SLA classique alors que c'est le cas chez les patients guamaniens (Kasarskis et coll., 1995).

Expérimentalement, des ânes et des singes ont été nourris avec un régime carencé en calcium et magnésium mais supplémenté en aluminium. Après un an, l'autopsie a révélé une dégénérescence neurofibrillaire des neurones de la moëlle épinière et un gonflement des axones. Cependant, les concentrations aluminiques dans les tissus nerveux ne sont pas significativement supérieures à celles des témoins (Garruto et coll., 1989 ; Yoshida et coll., 1990). L'aluminium induit chez le lapin une phosphorylation des protéines qui conduit à une dégradation et une accumulation des neurofilaments de façon similaire à celle rencontrée dans la SLA (Strong, 1994).

Les malades atteints de SLA présentent un taux sérique en parathormone environ 3 fois supérieur à la normale et la parathormone est connue pour augmenter l'absorption de l'aluminium (Yase, 1980).

Pour la maladie de Parkinson, de fortes concentrations d'aluminium et de fer ont été dosées dans les corps de Luys du cerveau (Dexter et coll., 1989 ; Riederer et coll., 1989 ; Hirsch et coll., 1991). Une baisse du taux cérébral de magnésium associé à une augmentation des taux aluminiques du locus nigra, du noyau caudé, du pallidum et de la substance grise ont également été mises en évidence (Yasui et coll., 1992).

L'implication des métaux dans la pathogénèse de ces maladies n'a pas été clairement démontrée. De plus, à l'heure actuelle l'incidence de la SLA et de la démence de type Parkinson a fortement diminuée dans les régions touchées, ce qui signale que plusieurs facteurs environnementaux doivent intervenir dans le déclenchement de ces maladies.

III - Tératogénicité, mutagénicité et carcinogénicité

L'aluminium et ses sels ne constituent pas un réel risque carcinogène, mutagène ou tératogène, excepté peut-être dans les cas de fortes expositions (Léonard & Gerber, 1988).

1) Tératogénicité de l'aluminium

Les effets tératogènes de l'aluminium chez les oiseaux et les mammifères varient selon la dose administrée, la voie d'administration et le moment dans le développement embryonnaire où a lieu le traitement.

Les composés aluminiques inhibent la division cellulaire des mammifères (Gelfant, 1963 ; Yao et coll. 1994). Les effets embryotoxiques de l'aluminium pourraient être causés par différentes interactions de l'aluminium sur les constituants cellulaires :

- l'aluminium, en se liant à la chromatine peut augmenter la synthèse protéique et diminuer la quantité d'ARN ribosomique nucléaire (De Boni et coll., 1974 ; Miller & Levine, 1974),

- l'aluminium interfère avec la polymérisation des microtubules (Bonhaus et coll., 1978),

- l'aluminium interfère avec les processus métaboliques du phosphore et du calcium dont les rôles sont importants dans le développement embryonnaire (Ondreicka et coll., 1966 ; Wide, 1984).

Chez le poulet, l'injection de chlorure d'aluminium dans la poche d'air des oeufs (à des doses de 3 à 18 mg par oeuf) montre une baisse du pourcentage de survie embryonnaire qui est dose-dépendante. Les embryons sont moins sensibles à l'injection de l'aluminium dans les premiers jours d'incubation (Gilani & Chatzinoff, 1981 ; Scheuhammer, 1987). Des embryons traités par du citrate d'aluminium, du 8ème au 16ème jour d'incubation, développent une malformation osseuse (tibia et fémur) persistante (Firling et coll., 1994).

Chez le rat, l'exposition orale, à 1 000 ppm de chlorure d'aluminium, de mères gestantes, entre le 6ème et le 19ème jour de gestation (période de l'organogénèse), entraîne une augmentation de l'embryolétalité (Mc Cormack et coll., 1979). Une ingestion excessive d'aluminium est un facteur de risque de malformations du tube neural, de retard de croissance du fœtus et de morts périnatales (Lin et coll., 1997).

Des études d'intoxication au lactate d'aluminium ou au chlorure d'aluminium sur des rates gestantes à différentes périodes de la gestation mettent en évidence un retard dans le développement neuromoteur des petits (Bernuzzi et coll., 1989a ; Muller et coll., 1990). L'injection intrapéritonéale d'une dose de 40 mg.kg⁻¹ de chlorure d'aluminium à des rates (du 9ème au 13ème jour de gestation) ne provoque pas de diminution de poids des foetus, ni de mort ou d'anormalités. L'injection intrapéritonéale chronique de chlorure d'aluminium à des doses de 75, 100 ou 200 mg.kg⁻¹ pendant 5 jours de gestation, entraîne une fréquence élevée de mortalité chez les mères et les foetus, un retard pondéral et un retard de la croissance osseuse chez les jeunes (Benett et coll., 1975). L'injection de lactate d'aluminium (400 µmol.kg⁻¹) chez le lapin du 2ème au 27ème jour de gestation augmente le taux de mortalité périnatal (Yokel, 1985). Aucun signe de toxicité chez la souris gestante, ni chez leurs foetus, n'a été observé après un traitement à l'hydroxyde d'aluminium, seul ou associé à de l'acide ascorbique (Colomina et coll., 1994). Chez le rat, l'aluminium passerait également la barrière placentaire après exposition transcutanée de la mère au chlorure d'aluminium (Anane et coll., 1997).

Chez la femme enceinte absorbant des antiacides contenant de l'aluminium pendant la grossesse, aucune hyperaluminémie n'a été observée chez les nouveaux-nés (Weberg et coll., 1985).

2) Mutagenicité de l'aluminium

Le sulfate d'aluminium à des concentrations comprises entre 20 µmol.L⁻¹ et 150 µmol.L⁻¹ ne modifie pas la synthèse *in vitro* d'ADN (Sirover & Loeb, 1976). La dépurination de l'ADN serait un mécanisme de mutagenicité pour de nombreux agents chimiques (Loeb, 1985) ; or le chlorure d'aluminium à des concentrations de 0,01 à 0,1 mmol.L⁻¹ n'induit pas ce mécanisme (Schaaper et coll., 1987).

Cependant, l'effet mutagène a été montré sur des souches de *Rhizobium* qui développent une résistance à la rifampicine (Octive et coll., 1991). Le chlorure d'aluminium et le sulfate d'aluminium à une concentration de 0,9 mmol.L⁻¹ provoque des modifications morphologiques des cellules embryonnaires d'hamster Syrian (DiPaolo & Casto, 1979). Des aberrations chromosomiques sont apparues dans les spermatozoïdes de sauterelles *Phloeoba Antennata* ayant absorbé une alimentation supplémentée en chlorure d'aluminium pendant 48 à 60 heures (Manna & Parida, 1965). Des aberrations structurales chromosomiques ont également été observées dans les cellules de la moëlle osseuse de souris après injection de chlorure d'aluminium (Manna & Das, 1972).

3) Carcinogénicité de l'aluminium

L'implantation de disques aluminiques dans l'organisme de rats peut entraîner des effets carcinogènes (O'Hara & Brown, 1967 ; Wagner et coll., 1973 ; Krueger et coll., 1984). L'implantation de fibres d'aluminium est sans effet (Stanton, 1974 ; Pigott & Ishmael, 1981). La dimension de l'implant, plutôt que la composition chimique influence la carcinogénicité (Bischoff & Bryson, 1964 ; Krueger et coll., 1984). L'aluminium sous forme de poudre, administré par différentes voies à des animaux (rats, lapins, souris, cochons) entraîne des effets carcinogènes (Furst & Haro, 1969 ; Shabik & Hartwell, 1969 ; Furst, 1971). L'injection subcutanée de phtalocyanine d'aluminium chez la souris est sans effet (Haddow & Horning, 1960).

Le dextran d'aluminium semblerait avoir des effets anti-carcinogène (Von Metzler, 1970). De même, une dose de 150 mg.kg^{-1} de nitrate d'aluminium réduit la croissance de carcinosarcomes implantés chez le rat (Hart & Adamson, 1971 ; Adamson et coll., 1975). Cet effet a été observé pour le nitrate, le chlorure et le sulfate d'aluminium.

Aucune évidence épidémiologique n'a prouvé le risque de carcinogénicité lié à une exposition de l'homme à l'aluminium.

TRAITEMENT DE L'INTOXICATION ALUMINIQUE

La prévention reste la façon la plus efficace d'éviter une intoxication aluminique.

Dans le milieu professionnel, les locaux doivent être équipés d'une aération correcte et filtrant les rejets atmosphériques, les eaux usées doivent avoir subi une décantation, les ouvriers doivent être munis de masques filtrants et avoir une surveillance médicale régulière.

Au niveau thérapeutique, malgré la réduction de la quantité de composés aluminiques prescrite pour le traitement de l'hyperphosphatémie et de la teneur en aluminium des eaux de dialyse par les systèmes de déminéralisation ou d'osmose inverse, le risque d'intoxication aluminique persiste toujours chez les insuffisants rénaux chroniques (Ackrill & Day, 1985). Dans ce cas, l'élimination de la surcharge aluminique nécessite un traitement par un chélateur qui va délocaliser l'aluminium des tissus. Hodge et coll (1981) ont montré que, pendant la dialyse, de faibles quantités d'aluminium (environ $100 \mu\text{g Al.H}^{-1}$) peuvent être mobilisées sans utiliser de chélateurs. Cependant lorsque les patients montrent des signes cliniques révélant une intoxication aluminique de plusieurs années, un traitement s'impose car les séances de dialyse restent inefficaces face aux fortes teneurs tissulaires en aluminium (Ackrill et coll, 1986).

Le complexant de l'aluminium, capable de diffuser dans tous les compartiments de l'organisme et de déplacer le métal des tissus est un complexant des ions trivalents, notamment utilisé dans le traitement de surcharge en fer : le Desféral ou desferrioxamine B (DFO). (Baker et coll, 1976 ; Ackrill et coll, 1980 et 1986 ; Ackrill & Day, 1984 et 1993). Le DFO chélate l'aluminium, forme un complexe stable ultrafiltrable (poids moléculaire de 650) qui augmente la concentration plasmatique en aluminium en mobilisant le métal des tissus et est éliminé par la dialyse (Malluche et coll, 1984 ; Gomez et coll, 1994).

Le DFO est utilisé dans deux cas :

- le diagnostic d'une surcharge aluminique dans les tissus. L'injection intraveineuse de DFO augmente l'aluminémie en 48 heures, un dosage de l'aluminium plasmatique révélant un pic de cette concentration indique une intoxication chez le patient (Simon et coll, 1982),

- le traitement lors de complications liées à une intoxication aluminique. En effet, le DFO a été utilisé avec succès dans le traitement des encéphalopathies des dialysés (Arze et coll, 1981 ; Milne et coll, 1983 ; Mc Carthy et coll, 1990), de l'ostéomalacie (Ackrill et coll, 1982 ; Charhon et coll, 1986 et 1988 ; Felsenfeld et coll, 1989 ; Brown et coll, 1982), d'anémie (Ackrill et coll, 1986 ; Tielemans et coll, 1985).

Bien que le DFO soit largement utilisé, ce traitement n'est pas dépourvu d'effets secondaires graves : chocs anaphylactiques, neurotoxicité auditive et visuelle, douleurs abdominales, hypotension, arrêt cardiaque, convulsions, thrombocytopenies, déplétions en cuivre et en fer, septicémies (Miller et coll, 1981 ; Walker et coll, 1985 ; Estrov et coll, 1988 ; Freedman et coll, 1988 ; Cases et coll, 1990 ; Ackrill & Day, 1993 ;). Ainsi ses complications impliquent une utilisation restreinte du DFO et les recherches s'orientent vers de nouveaux composés susceptibles de remplacer cette molécule (Domingo et coll, 1986 et 1988 ; Graff et coll, (1995 a). Les expériences récentes *in vitro* et *in vivo*, chez le rat, de Graff et coll. (1995 b) montrent que l'HEDTA (acide N-(2-hydroxyéthyl)éthylènediamine triacétique) présenterait des caractéristiques intéressantes pour le traitement de l'accumulation aluminique en remplacement du DFO.

CHAPITRE II :
ETUDE EXPERIMENTALE

PROTOCOLE GENERAL

Dans ce chapitre sont rappelées certaines données communes aux divers protocoles expérimentaux rencontrés ultérieurement.

1) Les animaux

Les expériences sont réalisées sur des rats mâles (*Rattus norvegicus*), de souche Wistar, non consanguins et indemnes d'organismes pathogènes. Ces animaux proviennent du centre d'élevage agréé Iffa-Crédo (l'Abresle, France).

Les animaux sont installés, dès leur arrivée, à l'Animalerie Centrale de la Faculté de Médecine (Université H. Poincaré, Nancy I). Ils sont placés dans des cages individuelles en plastique (43 x 28 x 15 cm) dans une salle dont l'air est conditionné et la température constante $21 \pm 1^\circ\text{C}$. L'éclairage circadien est fixe : alternance de 12 heures de lumière et de 12 heures d'obscurité.

Les rats sont nourris *ad libitum* avec des croquettes standards (Extra-Labo, Provins, France) et de l'eau.

Avant le début de toute expérimentation, les animaux sont acclimatés au minimum 5 jours.

2) Détermination de l'osmolarité des solutions

Toutes les solutions utilisées pour les études *in vitro* d'intestin isolé ou *in vivo* d'intestin perfusé ont leur osmolarité vérifiée. En effet, afin de ne pas influencer les phénomènes de diffusion régis par les lois de l'osmose, les solutions utilisées doivent être d'osmolarité comparable et iso-osmotiques.

La mesure de l'osmolalité se fait à l'aide d'un osmomètre cryoscopique (semi-micro-osmomètre type ML, Knauer). Compte-tenu de la masse volumique de l'eau à 25°C qui est de $0,99707 \text{ kg.L}^{-1}$ (Handbook of Chemistry and Physics, 1967), nous pouvons confondre osmolarité et osmolalité.

La pression osmotique est la pression qu'exercent les molécules en solution sur les parois du récipient qui les contient, elle est proportionnelle à la diminution du point de congélation de la solution. Les figures 5 a et b représentent les courbes de température / temps pour l'eau pure et pour une solution saline. Pour une solution, la température de congélation est inférieure à 0°C. La diminution du point de congélation (ΔT) est la mesure de l'osmolarité de la solution.

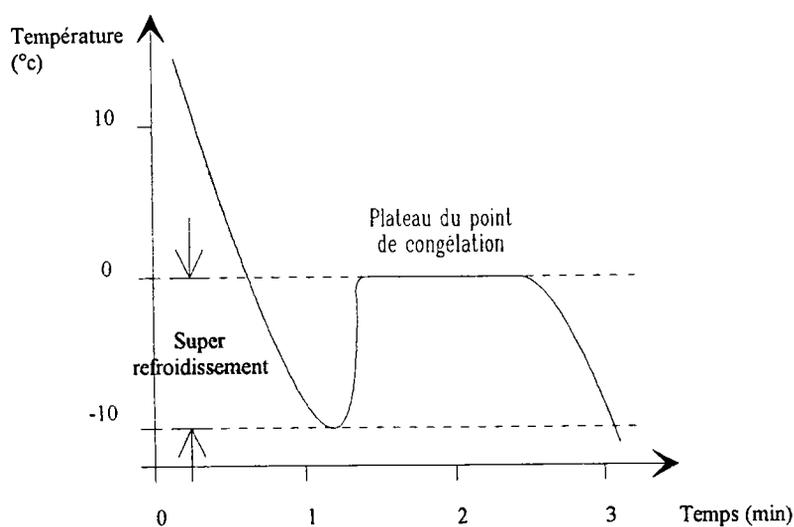


Figure 5 a : Courbe température / temps pour de l'eau pure (solvant).

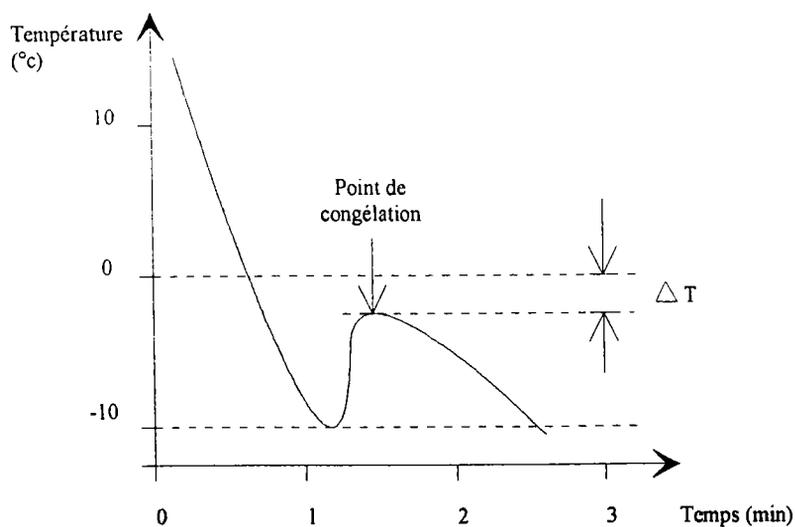


Figure 5 b : Courbe température / temps pour une solution saline.

3) Ultrafiltration des solutions

L'ultrafiltration est utilisée pour séparer selon leur masse des molécules contenues dans une solution.

Dans l'ultrafiltration, on ne récupère que les molécules libres ou les composés complexes de masses inférieures à la masse de rupture. Appliquée aux solutions d'aluminium (ou aux solutions métalliques en général), cette technique nous permettra de détecter la présence de précipités d'hydroxyde d'aluminium insolubles et non ultrafiltrables.

Principe :

On utilise des tubes Centrisart (I SM 13 239 E, Sartorius) ayant une membrane sélective des masses de 10 000 daltons.

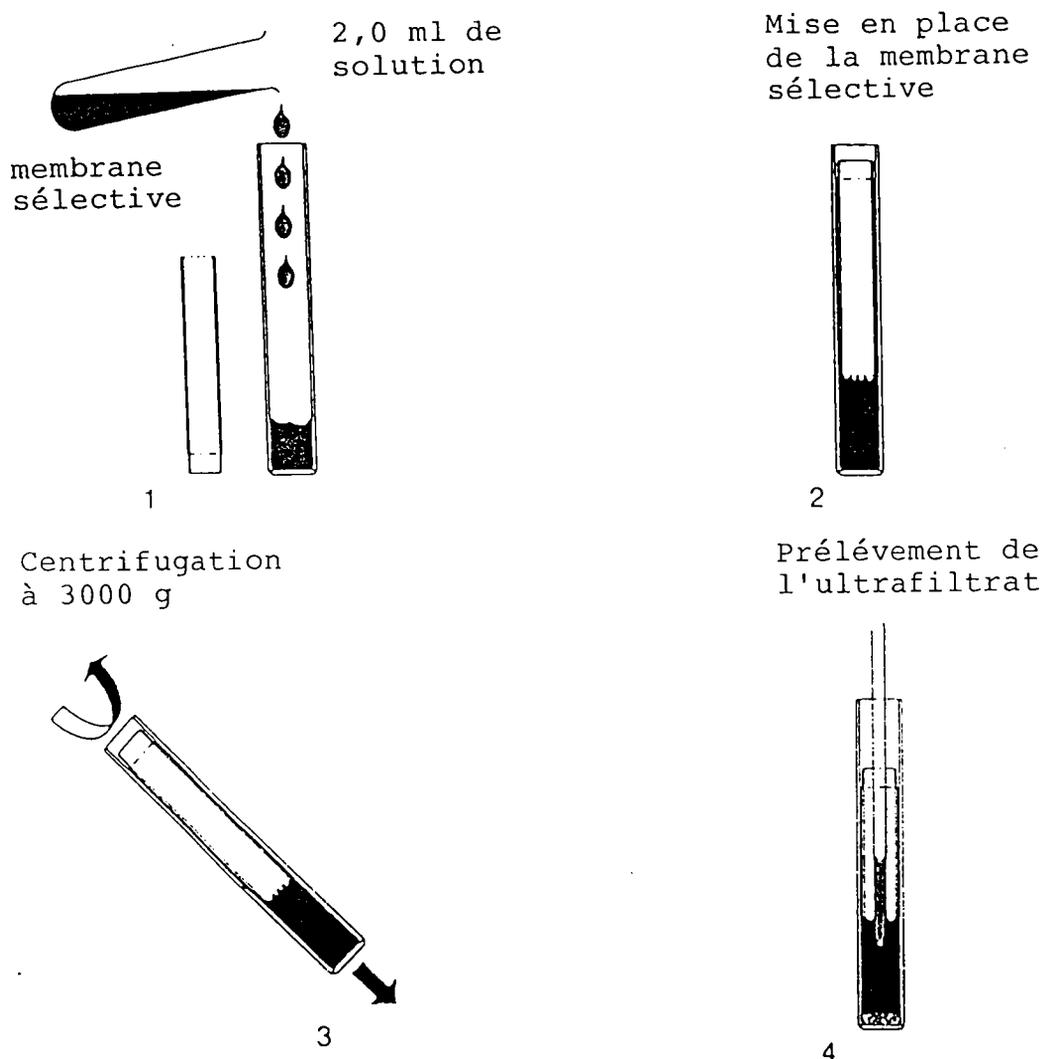


Figure 6 : Principe de l'ultrafiltration sur tube Centrisart

Un volume de 2 mL de solution est placé dans le tube d'ultrafiltration puis centrifugé à 3000 g pendant 30 minutes. Sous la force centrifuge, le petit tube supérieur s'enfonce, obligeant le liquide à passer à travers la membrane sélective des masses. On récupère alors, dans le tube supérieur, l'ultrafiltrat contenant l'aluminium non précipité et cette solution est dosée par spectrophotomètre d'émission atomique.

4) Détermination analytique de l'aluminium

Tous les dosages de l'aluminium ont été réalisés au laboratoire à l'aide d'un spectrophotomètre d'émission atomique à plasma d'argon (SEA-DCP).

a - Principe

Cette technique analytique est basée sur la mesure de la lumière émise après excitation des éléments introduits dans un plasma d'argon. En effet, lors d'un apport extérieur d'énergie, les atomes passent de l'état fondamental à l'état excité. En revenant à leur état initial, les atomes restituent l'énergie sous forme de rayonnement dont la longueur d'onde est spécifique de l'élément. L'intensité de ce rayonnement est proportionnelle à la concentration de l'élément. Pour nos dosages d'aluminium, nous avons utilisé, parmi les différentes raies de l'élément, celle qui est adaptée aux milieux biologiques à forte matrice organique et qui est de 396,15 nm.

Pour certains éléments, une excitation à basse énergie suffit mais dans le cas de l'aluminium et d'autres atomes plus difficilement excitables, une excitation à haute énergie est nécessaire et obtenue avec la technique de spectrophotométrie d'émission à plasma d'argon.

Les échantillons à doser sont introduits sous forme d'aérosol dans un flux d'argon porté à une très haute température (7 000 à 8 000°C) créée par un arc électrique à l'aide de trois électrodes (une cathode en tungstène et deux anodes en graphite). Cet arc électrique apporte les conditions suffisantes pour la dissociation des molécules de l'échantillon et pour l'excitation des atomes.

b - Avantages de la méthode de dosage

L'intérêt de cette méthode analytique pour le dosage de l'aluminium est lié à plusieurs points :

- la température utilisée comme source d'excitation est suffisamment élevée pour permettre la rupture de toutes les liaisons chimiques et c'est donc la

totalité de l'élément sous sa forme atomique qui est dosé : c'est une méthode analytique très précise,

- la limite de détection est très basse et atteint 5 à 6 ppb, même dans un milieu biologique à forte matrice organique,

- la méthode présente une linéarité correcte, ce qui permet de réaliser des dosages dans une gamme de concentration étendue,

- les mesures sont très reproductibles et les déviations standards de l'ordre de quelques $\mu\text{g.L}^{-1}$.

c - Préparations des échantillons biologiques et étalonnage de l'appareil

Pour effectuer le dosage des éléments contenus dans différents tissus biologiques, une solubilisation préalable de ces organes est nécessaire. Ainsi après avoir prélevé les organes sur l'animal, ceux-ci sont soigneusement rincés dans une solution physiologique puis séchés. Ils sont ensuite pesés, et placés en contact avec un volume déterminé d'acide nitrique suprapur à 65 % (Merck) dont le volume dépend de l'organe (tableau 5). Le mélange est ensuite chauffé sur un bain de sable de Fontainebleau aux environs de 70°C jusqu'à complète solubilisation des tissus. Cette opération est réalisée dans des fioles en quartz afin d'éviter les contaminations aluminiques dues à la composition du récipient. Le minéralisat est ensuite dilué avec de l'eau distillée (tableau 5) et le volume final est déterminé avec précision.

L'étalonnage du spectrophotomètre se fait à l'aide de deux solutions aqueuses acidifiées : un point haut (avec un ajout correspondant à une concentration maximum de l'élément) et un point bas (de concentration nulle en élément).

Le dosage des éléments dans le milieu sanguin est réalisé sur la fraction plasmatique. Le sang total est centrifugé à 3000 g pendant 3 minutes (Centrifugeuse type Labofuge 2000, Heraeus Sepatech) et le plasma est prélevé. A 1 ml de plasma est ajouté 50 μL de Triton à 0,5% (Prolabo), 200 μL de chlorure de césium à 200 $\mu\text{g.L}^{-1}$ suprapur (Merck).

L'étalonnage de l'appareil de dosage est effectué à l'aide de plasma de bovin en provenance des abattoirs de Mirecourt. Le point haut est à une concentration aluminique de 500 ppb et le point bas de 0 ppb, à ces solutions étalons sont ajoutés également dans les mêmes proportions du chlorure de césium et du triton à 0,5 %.

La teneur résiduelle en aluminium du plasma de bovin est déterminée, au préalable, par comparaison avec une solution de liquide physiologique.

Tableau 5 : Volumes d'acide nitrique et d'eau utilisés pour la solubilisation de différents organes.

Organes	Avant solubilisation	Après solubilisation
	Volume d'acide nitrique (ml)	Volume d'eau (ml)
Sang total (pour 1 ml)	1	3
Intestin		
Duodénum	1	3
Jéjunum	1	3
Iléon	1	3
Scrapping	1	3
Cerveau	2	3
Reins	3	5
Rate	2	3
Foie	10	20
Poumons	2	3
Fémur	2	5

d - Dosage d'autres éléments

Dans les protocoles expérimentaux, d'autres éléments sont dosés par la technique analytique de spectrophotométrie d'émission atomique à plasma d'argon.

La préparation des échantillons tissulaires est identique à celle réalisée pour le dosage de l'aluminium. Par contre, le dosage plasmatique ne nécessite ni ajout de triton ni ajout de chlorure de césium. L'étalonnage se fait selon le même principe que pour l'aluminium : un point haut, un point bas et un point intermédiaire.

Les différents éléments et les longueurs d'onde utilisées pour les dosages sont énumérés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 6 : Caractéristiques spectrométriques des éléments chimiques utilisées pour l'étude expérimentale.

Eléments Chimiques	Longueur d'onde (nm)	Zone de Linéarité (mg/l)	Limite de détection ($\mu\text{g/l}$)
Aluminium	396,15	0,02-100	2,0
Calcium	393,37	0,007-10	0,7
Chrome	425,43	0,02-100	2,0
Fer	371,99	0,05-1000	5,0
Magnésium	279,55	0,002-60	0,2
Phosphore	213,62	0,9-1000	90,0
Potassium	404,41	9-100	900,0
Sodium	589,59	0,03-10	3,0
Yttrium	371,03	0,02-100	2,0

5) Traitement des données

Les valeurs sont exprimées sous la forme moyenne : \pm écart-type ($m \pm s$). Dans les figures (histogrammes et courbes) et dans les tableaux, les résultats pourront être exprimés en : moyenne \pm écart-type ou moyenne \pm s.e.m. (standard error of the mean ou écart-type de la moyenne). L'écart-type de la moyenne est défini par $s/n^{1/2}$ (avec s , l'écart-type de l'échantillon, et, n , le nombre d'échantillon).

Le traitement statistique des données ($n < 30$) est réalisé par l'utilisation des méthodes paramétriques sous l'hypothèse de la normalité de la distribution des paramètres étudiés. Les échantillons sont indépendants. Un test préliminaire de vérification de l'homogénéité des variances (Test de Bartlett) est réalisé. Puis les données sont étudiées par :

- une analyse de variance multifactorielle ANOVA (analyse globale mettant en évidence des différences significatives entre les moyennes). Si le test d'ANOVA révèle une hétérogénéité entre les groupes expérimentaux, les comparaisons intergroupes sont réalisées à l'aide du test paramétrique de Fisher.

- un test-t de Student

L'hypothèse nulle est rejetée lorsque sa probabilité d'occurrence ne dépasse pas 5 % ($p < 0,05$).

En ce qui concerne les études *in vitro* du péristaltisme intestinal, les comparaisons d'ensemble des différents groupes sont réalisées par un test non-paramétrique : le test U de Mann-Whitney.

Le traitement informatique des données a été effectué au laboratoire sur un micro-ordinateur PC, équipé du logiciel STATVIEW Version 4.5 (1992-1996).

PREMIERE PARTIE

EFFET DE L'ALUMINIUM ET D'AUTRES METAUX SUR LE MUSCLE LISSE INTESTINAL

I - Introduction

L'aluminium est reconnu comme pouvant exercer des effets toxiques par l'intermédiaire de composés absorbés par voie orale, en particulier chez les individus présentant un dysfonctionnement rénal chronique (Alfrey et coll., 1972 et 1976 ; Starkey, 1987). En effet, des taux élevés d'aluminium dans le cerveau et les os ont été associés à diverses pathologies neurologiques et lésions ostéodystrophiques chez des patients urémiques hémodialysés (Ott et coll., 1982 ; Wills & Savory, 1983).

Actuellement, le problème de la toxicité aluminique reste entier, notamment chez les dialysés car des composés d'aluminium sont prescrits pour complexer les phosphates sous forme de précipités insolubles et lutter ainsi contre l'hyperphosphatémie de ces patients. L'aluminium administré par voie orale peut donc traverser la barrière intestinale vers le compartiment sanguin et se fixer dans les tissus. L'élimination du métal est discontinue et incomplète lors des séances de dialyse, ainsi l'aluminium va s'accumuler lentement dans l'organisme et provoquer des effets toxiques. De même, l'aluminium contenu dans l'alimentation peut représenter un apport non négligeable. La voie intestinale reste donc une voie importante pour la pénétration de l'aluminium dans le milieu intérieur. Cependant, il existe peu d'informations disponibles concernant les facteurs qui contrôlent l'absorption à travers le tractus gastro-intestinal d'éléments minéraux non-essentiels et potentiellement toxiques, tel que l'aluminium. De plus, les études biologiques entreprises pour caractériser le comportement de l'aluminium au niveau gastro-intestinal se heurtent à des difficultés inhérentes à ce métal : l'aluminium ne possède pas d'isotope radioactif

convenable pour les études expérimentales et l'aluminium forme des complexes insolubles d'hydroxydes au pH physiologique (Baes & Mesmer, 1976). Ceci accroît la difficulté de mise en place et d'interprétations des études *in vitro*. Il a cependant été établi que plusieurs facteurs peuvent influencer l'absorption intestinale des composés aluminiques tel que la solubilité de l'espèce chimique, la complexation avec d'autres molécules ou le pH intraluminal (Van der Voet, 1992 ; Greger, 1993). D'autres facteurs, comme le temps de contact entre le métal et les villosités de la surface intestinale, peuvent modifier l'absorption de l'aluminium. Cette période de contact est directement liée aux mouvements de l'intestin.

Le présent travail s'est attaché à mettre en évidence l'influence de l'aluminium sur l'activité péristaltique de l'intestin chez le rat. En plus de l'aluminium, l'influence d'autres ions a été étudiée.

II – Matériel et méthodes

1) Critères de sélection des ions minéraux

Nous avons choisi d'étudier l'influence de plusieurs métaux sur le péristaltisme intestinal. Le fer, le chrome et l'yttrium ont été choisis, car ces éléments ont des propriétés chimiques proches de celles de l'aluminium. Ce sont tous des cations trivalents et leur constante d'affinité pour plusieurs molécules sont relativement similaires. Ainsi, l'établissement d'une comparaison de leurs effets sur le péristaltisme intestinal est possible.

2) Réactifs utilisés

Le chlorure de sodium (NaCl), le chlorure d'aluminium (hexahydraté, $\text{AlCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$) et l'acide tartrique ($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_6$) ont été obtenus chez Aldrich (France). L'hydroxyde de sodium (NaOH), le chlorure de potassium (KCl) et le chlorure de magnésium (hexahydraté, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) proviennent de chez Merck (France). Les autres réactifs utilisés dans cette expérience ont été commandés chez Prolabo (France) : le glucose ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$), le bicarbonate de sodium (NaHCO_3), le chlorure de calcium (CaCl_2), le citrate tri-sodique (dihydraté, $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), le dihydrogénophosphate de sodium (dihydraté, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), le chlorure d'yttrium (hexahydraté, $\text{YCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), le chlorure de fer (hexahydraté, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), le chlorure de chrome (hexahydraté, $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$).

Toutes les solutions sont préparées avec de l'eau distillée obtenue par un système Millipore, modèle Milli-Q.

Les solutions étalons en aluminium, fer, chrome et yttrium à 1g.L^{-1} proviennent de chez Merck (France).

3) Matériel utilisé

Une liste exhaustive du matériel utilisé au cours de l'étude *in vitro* d'organe isolé est dressée ci-dessous :

- spectrophotomètre d'émission à plasma d'argon DCP type Spectra-Span V (Beckman)
- pH mètre type Minisis 5000 (Tacussel) équipé d'une électrode de référence au calomel saturée en chlorure de potassium type TR 100 (Tacussel) et d'une électrode de verre type TCB 10/HS (Tacussel)
- semi-micro-osmomètre, type ML (Knauer)
- balance, type 2442 (Sartorius)
- trébuchet, type 2550 (Sartorius)
- bain-marie plexiglas, type BMP 60 (Firlabo)
- cuve à organe isolé (Letica)
- amplificateur, type AMP 016/2 (Letica)
- thermostat, type LE 13206 (Letica)
- enregistreur, type TV 11 GD (Tacussel)
- microscope électronique à transmission, type CM12 (Philips) couplé à un spectromètre de microanalyse d'énergie dispersive à rayons X, type PV 9800 (Edax)
- microscope électronique à balayage stereoscan 250 (Cambridge) couplé à un spectromètre de microanalyse d'énergie dispersive à rayons X (PGT)
- sonde ionique IMS 3 F 1270 (Cameca)
- microsonde à impact laser FTMS 2000
- micropipettes avec embouts en polyéthylène (Gilson et Nichiryo)
- aiguilles 0,5 mm X 16 mm et seringues 2 ml (Terumo)
- tubes Centrisart I SM 13 239 E (Sartorius)

4) Préparation des solutions

La solution utilisée dans tous les essais est une solution de Tyrode, dont la composition est la suivante :

- 137,0 mM de chlorure de sodium,
- 2,7 mM de chlorure de potassium,
- 1,0 mM de chlorure de magnésium,
- 1,5 mM de chlorure de calcium,
- 0,4 mM de phosphate de sodium,
- 12,0 mM de bicarbonate de sodium,
- 5,5 mM de glucose.

L'osmolarité de la solution est de 290 mOsm et le pH est de 7,3 - 7,4.

Les solutions contenant du métal sont préparées par un remplacement iso-osmotique de chlorure de sodium dans la solution de Tyrode. Ces milieux ont été préparés avec des quantités équimolaires de métal et d'ions complexants. En effet, afin de maintenir les cations métalliques sous une forme soluble (pH = 7,4), nous avons utilisé des complexes stables notamment avec l'acide citrique et l'acide tartrique. L'aluminium est préparé sous forme de citrate d'aluminium (7,4 mM de $C_6H_5O_7Na_3$ et 7,4 mM de $AlCl_3$) et de tartrate d'aluminium (11,1 mM de $C_4H_6O_6$ et 7,4 mM de $AlCl_3$). Les autres métaux ont été préparés sous forme de citrate : 7,4 mM de $C_6H_5O_7Na_3$ ajouté à 7,4 mM de $FeCl_3$, 7,4 mM de $CrCl_3$, ou 7,4 mM de YCl_3 . Le pH de ces solutions est ajusté à 7,4 et l'osmolarité est mesurée à 310 mOsm.

La concentration en métal a été déterminée par des essais préliminaires et est liée aux caractéristiques de cette manipulation. En effet, le dispositif de cuve à organe isolé est très sensible aux moindres variations du milieu d'incubation et l'addition de solution contenant de plus faibles concentrations de métal provoque des modifications de faibles amplitudes dont on ne peut déterminer l'origine : elles peuvent être dues aux ions métalliques mais aussi à la perturbation du bain d'incubation provoqué par l'addition de la solution (des modifications similaires étaient obtenues par l'addition de solution de Tyrode seule). Nous avons donc cherché une concentration en aluminium qui puisse rester sous forme biodisponible au pH physiologique, mais qui soit suffisamment importante pour que les effets observés sur l'intestin ne soit pas confondu avec les variations intrinsèques au dispositif expérimental.

III – Protocoles expérimentaux

1) La technique d'intestin isolé

Les rats, pesant entre 200 et 280 g, sont mis à jeun 24 heures avec le début de l'expérimentation. Ils gardent pendant cette période un libre accès à l'eau de boisson. L'animal est anesthésié avec une dose unique intrapéritonéale de pentobarbital sodique à 90 mg/kg (Sanofi Santé Animale, France).

La partie proximale de l'intestin grêle est exposée après incision de la cavité abdominale. On prélève un fragment intestinal correspondant aux 3 premiers centimètres immédiatement après la valve pylorique (fragment duodénal). Le mésentère est éliminé manuellement, puis le tissu est rincé dans une solution iso-osmotique de Tyrode à 37°C. Une ligature est placée à chacune des extrémités du fragment intestinal puis ce fragment est installé dans la cuve à organe isolé. Une des extrémités est maintenue fixe au fond de la cuve et l'autre extrémité est connectée à un transducteur isotonique. La cuve à organe isolé est un tube creux rempli avec 20 mL de solution de Tyrode à 37°C et dans lequel bulle en continu un mélange gazeux constitué de 95 % O₂ - 5% de CO₂. Le dispositif est décrit dans la figure 7 qui suit.

L'intestin ainsi installé, est laissé, pendant 30 minutes, immergé et maintenu sous une tension de 1000 mg (phase d'équilibration). Les contractions spontanées sont enregistrées à l'aide d'un transducteur qui transcrit les mouvements de l'intestin sur un enregistreur dont la vitesse de défilement est 30 mm/min. Ces contractions sont celles qui serviront de témoin.

Ainsi chaque fragment intestinal est son propre témoin.

Ensuite, la solution de Tyrode est remplacée par la solution isotonique contenant le métal à étudier, les modifications du péristaltisme intestinal sont alors enregistrées.

Après avoir enregistré les variations du péristaltisme, le fragment intestinal est :

- soit solubilisé par l'acide nitrique afin de doser la concentration en métal par spectrophotométrie SEA-DCP,
- soit préparé afin d'être étudié par une des techniques de microscopie.

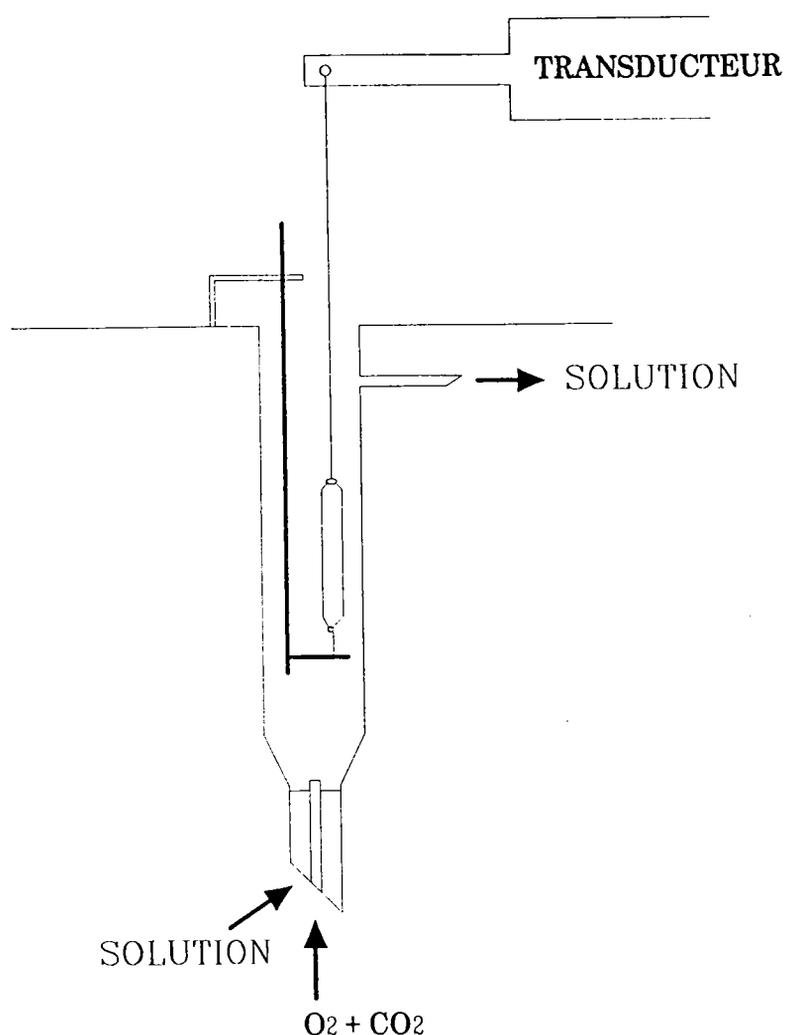


Figure 7 : Schéma de la cuve utilisée pour mesurer les contractions intestinales. Les flèches indiquent les flux de la solution et du mélange gazeux.

2) Les études de microanalyse

a - Microanalyse de rayons X

- Etude en microscopie électronique à transmission

Cette étude a été réalisée au laboratoire d'histologie et d'embryologie du Professeur Grignon de la Faculté de Médecine de Nancy I, en collaboration avec Mrs Luc Marchal et Hervé Membre.

Après la fin du temps d'incubation, le tissu intestinal est lavé dans la solution de Tyrode puis coupé en petites pièces d'environ 1mm² et préparé pour l'observation au microscope électronique (Galle, 1972).

⇒ La fixation

On utilise du glutaraldéhyde à 2,5 % en solution tamponnée, préparée au moment de l'emploi :

glutaraldéhyde	12 ml
tampon cacodylate de sodium	88 ml

Le glutaraldéhyde est un fixateur qui pénètre bien dans les structures intracytoplasmiques.

Les fragments intestinaux sont plongés dans une quantité de fixateur environ 40 fois leur volume. La durée de fixation est de 2 heures.

Après fixation, les prélèvements sont lavés dans une solution tampon de cacodylate (0,1 M ; pH = 7,2) pendant 1 heure ; l'opération est renouvelée une fois.

⇒ La post-fixation

Elle se fait dans une solution de tétraoxyde d'osmium à 1 % (OsO₄) dans le tampon cacodylate. Un rinçage dans du tampon cacodylate est ensuite réalisé.

⇒ La déshydratation

L'échantillon est passé dans des bains successifs d'éthanol :

éthanol à 30 °	5 minutes
éthanol à 50 °	5 minutes
éthanol à 70 °	5 minutes
éthanol à 80 °	5 minutes
éthanol à 90 °	5 minutes
éthanol à 100 °	3 X 20 minutes
oxyde de propylène.....	3 X 20 minutes

⇒ l'imprégnation

Les échantillons subissent d'abord une pré-imprégnation pendant une heure dans un mélange à parts égales d'épon pur et d'oxyde de propylène à température ambiante.

Puis l'imprégnation se fait dans l'épon pur pendant 12 heures.

⇒ L'inclusion

On prépare un mélange d'épon 812 ou résine époxy :

épikote,812.....	45,5 ml
DDSA (acide dodécényl succinique anhydre).....	31 ml
NMA (acide méthyl nadique anhydre).....	23,5 ml
DMP 30 (tridiméthylaminométhylphénol).....	1,5 ml

La polymérisation de la résine se fait dans une étuve à 56° C pendant 48 heures.

⇒ Les coupes

Une première observation se fait sur des coupes semi-fines (épaisseur de 1,5 µm) colorées au bleu azur. Les régions sélectionnées au microscope optique sont alors coupées en coupes ultra-fines (épaisseur de 80 à 100 nm) par un ultramicrotome Ultracut® de Reichert.

Les sections sont ensuite contrastées par :

- l'acétate d'uranyle à 2% dans une solution aqueuse, pendant 20 à 45 minutes,
- le colorant de Reynolds, pendant 20 minutes.

Les sels de métaux lourds utilisés, opaques aux électrons, permettent de réaliser un contraste mettant en évidence les éléments cellulaires.

Les coupes sont observées au microscope électronique à transmission Philips CM12 relié à un système de microanalyse d'énergie dispersive de rayons X (Edax PV 9800) pour la détection des éléments. L'analyse des éléments chimiques a été effectuée à partir d'un spectre qui traduit la proportion des éléments les uns par rapport aux autres.

- Etude en microscopie électronique à balayage

Cette étude a été réalisée au service commun de microanalyse du Professeur Steinmetz de la Faculté des sciences de Nancy I, en collaboration avec Mr Alain Kohler.

Après l'incubation dans la cuve à organe isolé en présence du métal à étudier, le fragment intestinal est rincé dans une solution de Tyrode puis découpé en segment d'environ 5 mm. Ils sont collés du côté de la face muqueuse à la laque d'argent sur des supports microscopiques.

Les sections sont ensuite séchées sous vide léger puis métallisées par pulvérisation, sous vide, d'une couche de carbone de 0,2 nm d'épaisseur.

Les différentes sections d'intestin sont alors analysées par un microscope électronique à balayage stéréoscan Cambridge 250 et les éléments métalliques sont détectés à l'aide d'un spectromètre dispersif d'énergie PGT de rayons X à angle d'émergence de 35°.

L'énergie d'accélération est de 30 kV, le courant sonde de 600 pA et le programme d'analyse utilisé est NOSTD. La surface de détection est de 12 μm^2 , le volume d'ionisation est constant : profondeur de 2 μm .

Pour chaque fragment intestinal, l'analyse a été réalisée sur 3 surfaces différentes.

L'analyse des éléments chimiques a été effectuée par une image X qui traduit la répartition des éléments au sein du tissu.

b - Microsonde ionique

Cette étude a été réalisée au centre de recherches pétrographiques et géochimiques du CNRS de Nancy en collaboration avec Mr Marc Chaussidon.

Dans ce travail, les fragments intestinaux sont congelés après la sortie de la cuve à organe isolé et le rinçage à la solution de Tyrode. Les pièces intestinales sont immergées dans un récipient contenant une solution d'OCT. Une coupelle contenant de l'isopentane est plongée dans de l'azote liquide (-210°C), lorsque l'isopentane commence à cristalliser, la solution d'OCT avec l'échantillon sont mis à congeler. Lorsque l'OCT devient blanc, l'échantillon est mis au congélateur. Des sections de 3 μm d'épaisseur sont coupées à l'aide d'un microtome réfrigéré (ou cryostat).

Après fixation sur des supports adaptés, les fragments intestinaux sont recouverts d'une couche d'or. La quantité de métal trace contenues dans les sections de tissu intestinal est mesurée à l'aide d'une microsonde ionique Cameca IMS 3F modifiée. Le tissu est bombardé par un faisceau d'ions primaires (oxygène négatif O⁻) dont l'énergie est de 10 kV et crée des ions secondaires qui seront analysés. Le diamètre d'analyse est de 10 à 50 μm .

c - Microsonde laser

Cette étude complémentaire a été réalisée au laboratoire de spectrométrie de masse et de chimie laser de l'Université de Metz du Professeur Muller, en collaboration avec Mr Gabriel Krier.

Les échantillons sont préparés comme pour la technique de microscopie électronique à transmission (étapes de fixation, déshydratation, imprégnation et inclusion). Les coupes ont une épaisseur de 0,3 μm .

La grille avec la coupe est placée sur un support en silicium.

L'ionisation de l'échantillon est obtenue par un laser ultraviolet (de longueur d'onde 355 nm). L'impact détruit l'échantillon sur un diamètre de 5 μm et une profondeur de 1 μm . Les ions émis sont analysés par un spectromètre de masse à transformée de Fourier (Microsonde laser FTMS 2000).

IV - Resultats

1) Spéciation des solutions

Le but de cette étude était de déterminer le pourcentage de métal soluble et le pourcentage de précipités. Comme nous le voyons, figure 8, la majorité du métal est maintenu, aux conditions de l'étude, sous forme soluble libre ou complexée. En présence de citrate la précipitation représente une fraction très faible, inférieure à 10 %. La quantité de précipités est respectivement de 0.5, 4.3, 8.6 et 9.3 % pour les solutions de citrate de chrome, de fer, d'aluminium et d'yttrium.

Quand un autre ligand est utilisé, comme l'acide tartrique, nous remarquons une augmentation du pourcentage de précipités d'aluminium formé. En effet, les précipités d'aluminium observés sont respectivement de 9,3 et 23,7%, pour le citrate d'aluminium et le tartrate d'aluminium. L'aluminium et le phosphore précipitent et cette fraction d'aluminium n'est plus biodisponible.

Avec le citrate, l'aluminium est en solution, sous une forme complexe et biodisponible. Le complexe alumino-citrate est très stable, et le phosphore ne peut pas mobiliser l'aluminium.

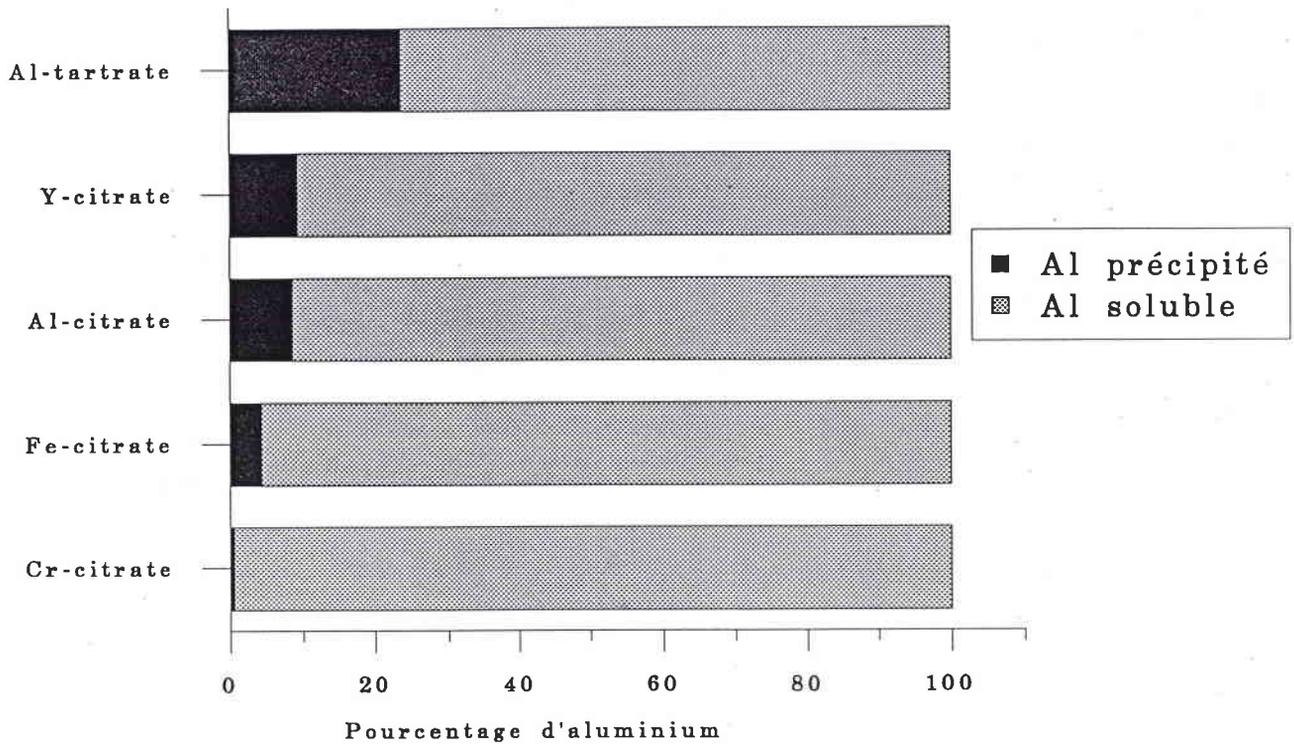


Figure 8 : Pourcentage de forme métallique insoluble et soluble dans la solution de Tyrode à pH 7,4, après ultrafiltration.

2) Modification des contractions intestinales

Quand le métal est ajouté à la solution de Tyrode, une légère augmentation de l'osmolarité est observée. Bien que l'osmolarité passe de 290 mOsm à 310 mOsm, la solution reste iso-osmotique. De plus, cette augmentation de 20 mOsm n'affecte pas les contractions intestinales. La figure 9 montre un enregistrement témoin pour la solution de référence de Tyrode.

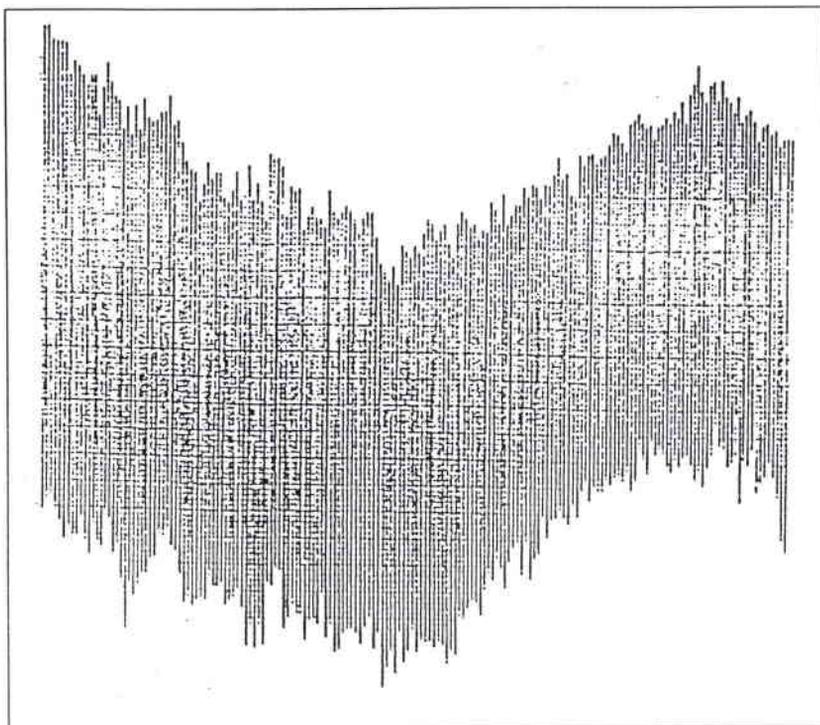


Figure 9 : Contractions d'un intestin isolé de rat dans une solution de Tyrode sans addition d'autres éléments. La vitesse d'enregistrement est de 30 mm/min.

L'aluminium, l'yttrium, le chrome et le fer sont des ions trivalents qui ont été choisis pour leurs similitudes de charge et d'affinités chimiques.

Comme nous le voyons dans le tableau 7 et la figure 10, les activités contractiles sont modifiées par l'addition des métaux. L'amplitude des contractions est significativement diminuée et correspond à une réduction de 73 % pour l'aluminium, 79 % pour le chrome et 87 % pour l'yttrium (Test de Mann-Whitney, $p < 0,001$).

Par contre, l'yttrium augmente la fréquence des contractions intestinales de 39 % (Test de Mann-Withney, $p < 0,01$). L'aluminium et le chrome ne modifient pas significativement la fréquence des contractions. Le fer n'altère pas l'activité contractile des muscles intestinaux : ni l'amplitude, ni la fréquence ne sont modifiées.

Tableau 7 : Effets des métaux sur les contractions des muscles lisses intestinaux

Solutions	AMPLITUDE (cm)		FREQUENCE (contractions/min)	
	Solution de référence (Tyrode)	Solution test (Métal)	Solution de référence (Tyrode)	Solution test (Métal)
Chlorure de sodium	3,7 ± 1,4	4,5 ± 2,1	33,5 ± 2,9	33,7 ± 2,1
Citrate d'aluminium	4,5 ± 2,0 (a)	1,2 ± 0,7 (b)	34,9 ± 2,5	35,4 ± 4,7
Citrate de chrome	3,1 ± 0,8(a)	0,6 ± 0,3 (b)	36,9 ± 1,7	41,6 ± 6,6
Citrate d'yttrium	4,3 ± 2,1 (a)	0,4 ± 0,1 (b)	36,2 ± 2,0 (a')	50,3 ± 3,1 (b')
Citrate De fer	3,9 ± 2,1	3,1 ± 1,9	36,0 ± 2,6	35,0 ± 2,5

Les valeurs représentent la moyenne ± l'erreur standard pour 10 rats par groupe. Les valeurs (a) sont significativement différentes de (b) (test-t de Student, $p < 0,05$).

Afin de vérifier que les modifications des contractions intestinales sont effectivement dues au métal et non au citrate, l'expérience d'intestin isolé a été reproduite avec du tartrate d'aluminium (tableau 8). Lorsque l'acide citrique est remplacé par l'acide tartrique, nous observons également une modification des mouvements péristaltiques : l'amplitude est diminuée significativement de 59 % (test de Mann-Whitney, $p < 0,01$), la fréquence est inchangée par rapport à la solution de référence. Une solution contrôle de tartrate de sodium a été testée et aucune modification significative des contractions intestinale n'est apparue.

Tableau 8 : Effets du tartrate de sodium et du tartrate d'aluminium sur les contractions des muscles lisses intestinaux.

Solutions	AMPLITUDE (cm)		FREQUENCE (contractions/min)	
	Solution de référence (Tyrode)	Solution test (Métal)	Solution De référence (Tyrode)	Solution test (Métal)
Tartrate de sodium	$5,9 \pm 1,9$	$6,3 \pm 2,1$	$35,6 \pm 2,8$	$34,4 \pm 2,9$
Tartrate d'aluminium	$5,4 \pm 2,3$ (a)	$2,5 \pm 1,0$ (b)	$35,8 \pm 3,4$	$35,2 \pm 2,2$

Les valeurs représentent la moyenne \pm l'erreur standard pour 10 rats par groupe. Les valeurs (a) sont significativement différentes de (b) (test-t de Student, $p < 0,05$)

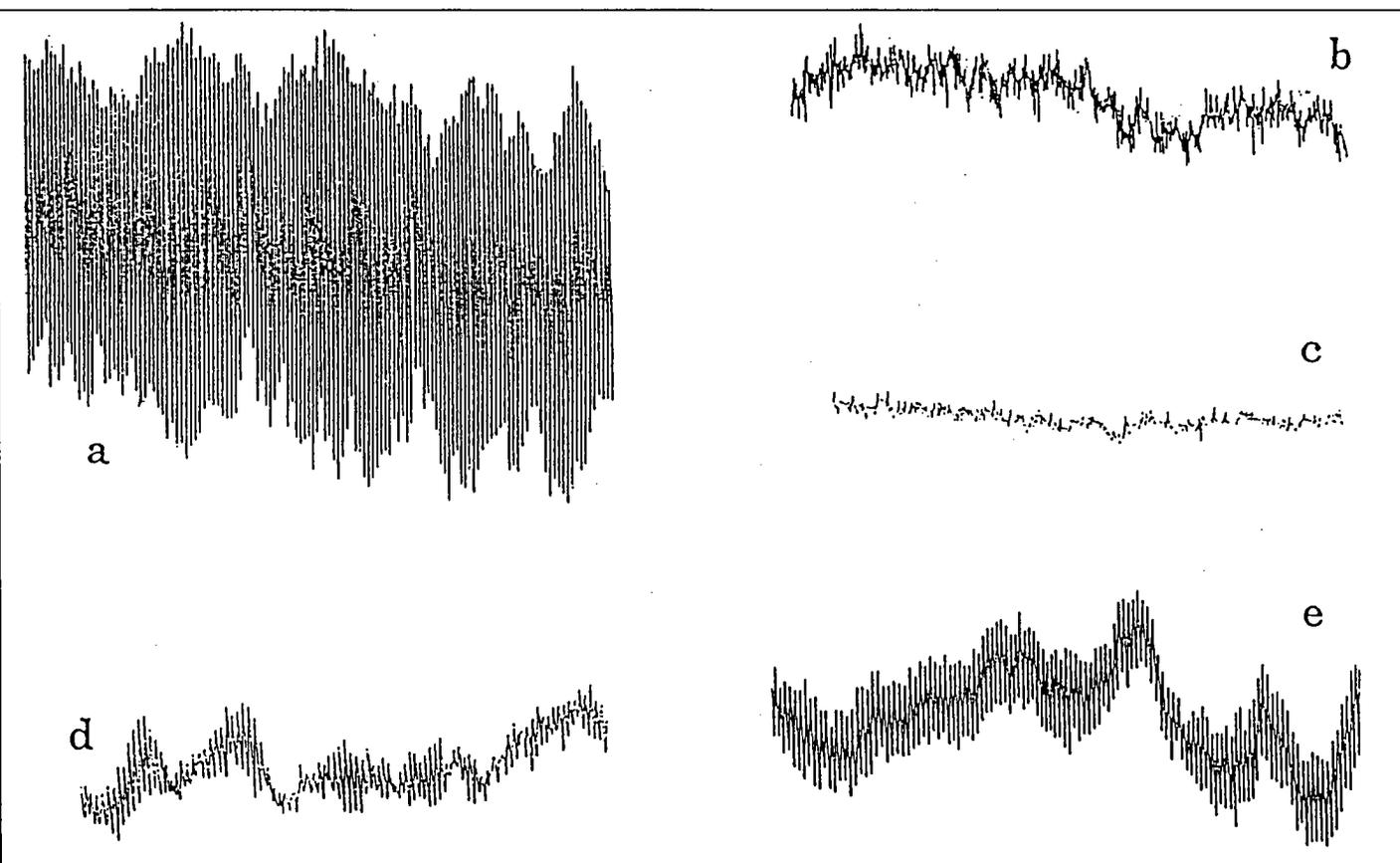


Figure 10 : Contraction d'intestin isolé de rat dans un bain de citrate de (a) fer, (b) chrome, (c) yttrium, (d) aluminium, et de tartrate d'aluminium (e). La vitesse d'enregistrement est de 30 mm/min.

3) Détermination de la concentration en métaux dans les sections intestinales

Après avoir étudié les modifications du péristaltisme, le fragment intestinal est récupéré, lavé soigneusement dans plusieurs bains de solution de Tyrode puis solubilisé dans de l'acide nitrique afin d'en doser la teneur en métal. Pour toutes les solutions étudiées, la concentration en métal est significativement supérieure celle des témoins (Test-t de Student, $p < 0,01$).

Ainsi, les différents métaux sont présents dans le tissu intestinal (Tableau 9. A.) Nous observons également que la concentration aluminique est supérieure dans les essais avec le tartrate d'aluminium par rapport à ceux avec le citrate d'aluminium, cette différence est d'environ un facteur 3. De plus, nous observons que les premières étapes de fixation pour la préparation des échantillons destinés à l'étude de microscopie électronique, élimine une grande quantité de métal des fragments intestinaux (Tableau 9. B.).

La fuite de métal hors du tissu lors de ces bains de fixateur est plus importante pour le citrate d'aluminium et pour le citrate de chrome, dont les diminutions de la teneur en métal sont respectivement d'environ 60 % et 80 %.

La perte d'aluminium pour le tartrate d'aluminium représente 25 %. De plus faibles éliminations de métal sont observées pour le citrate de fer et le citrate d'yttrium, respectivement 20 % et 15 %.

4) Observations de microscopie électronique à transmission

La figure 11 montre des sections transversales de fibres musculaires lisses de duodénum chez le rat. Dans la figure 11 b, nous observons une accumulation de précipités d'yttrium dans la couche musculaire externe. Ces précipités sont localisés uniquement dans les espaces intercellulaires des fibres musculaires.

Nous observons également des structures similaires dans quelques vésicules de la membrane cellulaire : les *caveolae intracellularis* (Figure 12). Pour les autres métaux, aucun précipité n'a pu être mis en évidence dans les sections d'intestin. Les sections intestinales sont, d'un point de vue histologique, identiques à celle de référence (Figure 11 a).

Tableau 9 : Concentration de métal dans les fragments intestinaux par spectrophotométrie d'émission à plasma d'argon

.A. Concentrations après l'incubation dans la cuve à organe isolé.

.B. Concentrations après 2 heures dans la glutaraldéhyde et 2 heures dans le tampon cacodylate (étape de fixation).

A				
Solutions	Concentration ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ organe)			
	Al	Fe	Cr	Y
Témoin (Tyrode)	$1,2 \pm 0,9$	$12,9 \pm 3,2$	$0,5 \pm 0,3$	$0,4 \pm 0,2$
Tartrate d'aluminium	$77,4 \pm 28,5 *$	-	-	-
Citrate d'aluminium	$23,7 \pm 15,2 *$	-	-	-
Citrate De fer	-	$70,8 \pm 16,6 *$	-	-
Citrate de chrome	-	-	$39,4 \pm 4,7 *$	-
Citrate d'yttrium	-	-	-	$413,0 \pm 82,2 *$
B				
Solutions	Concentration ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ organe)			
	Al	Fe	Cr	Y
Témoin (Tyrode)	$3,4 \pm 1,8$	$17,2 \pm 5,8$	$0,3 \pm 0,1$	$0,4 \pm 0,2$
Tartrate d'aluminium	$60,0 \pm 14,1 *$	-	-	-
Citrate d'aluminium	$9,3 \pm 2,7 *$	-	-	-
Citrate De fer	-	$57,9 \pm 15,8 *$	-	-
Citrate de chrome	-	-	$8,4 \pm 3,7 *$	-
Citrate d'yttrium	-	-	-	$351,6 \pm 127,7 *$

Les valeurs sont les moyennes \pm l'erreur standard pour 6 rats par groupe. Les astérisques indiquent une différence significative par rapport au groupe témoin (Test-t de Student, $p < 0,01$).

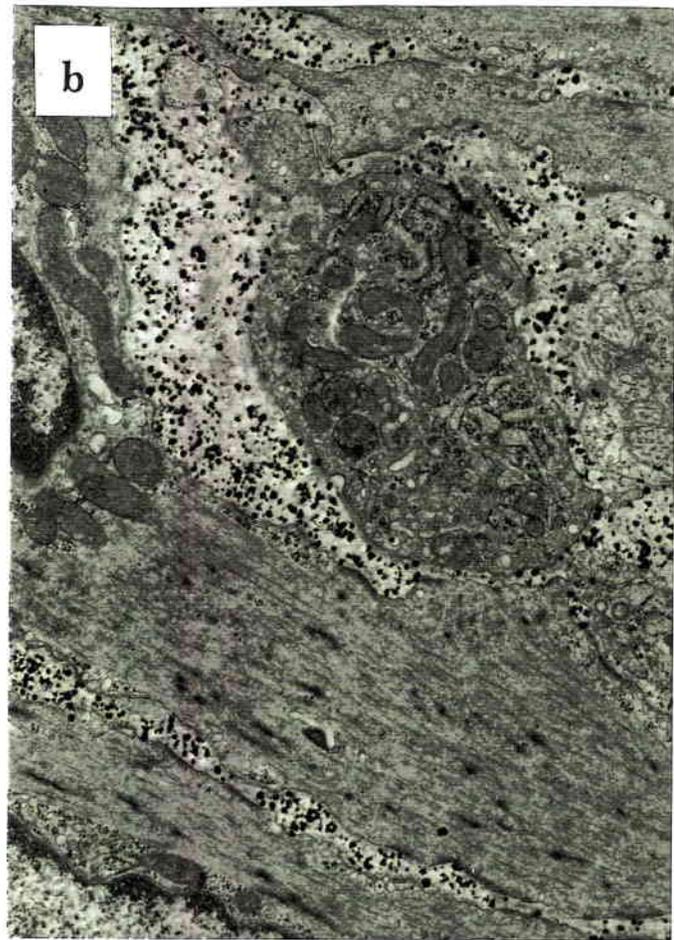
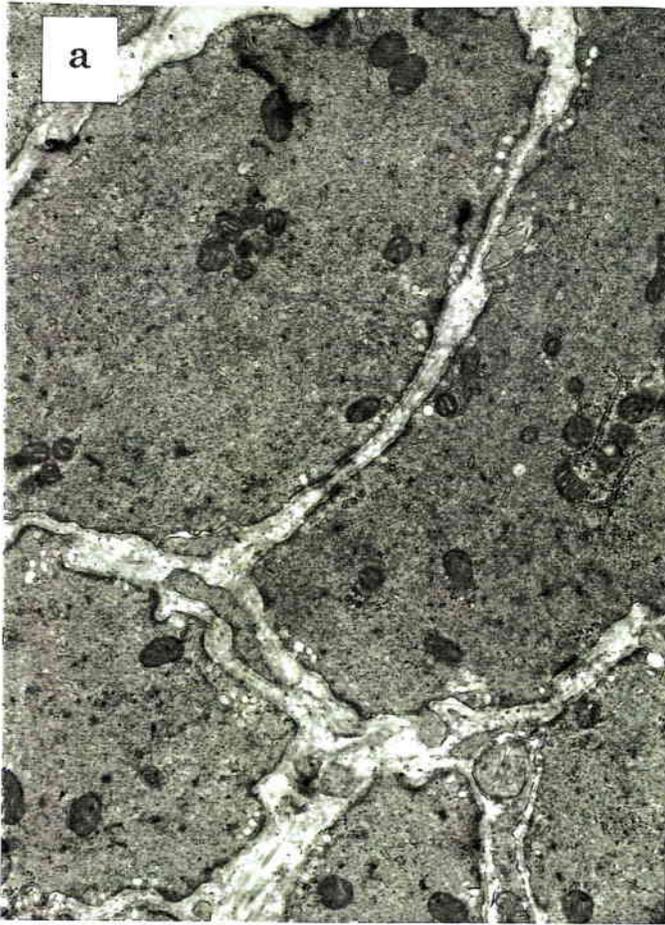


Figure 11 : Micrographes électroniques montrant la structure fine des muscles lisses intestinaux de rat après incubation dans (a) une solution de Tyrode et (b) une solution de citrate d'yttrium. Le grossissement est dans les deux cas 8000 X.

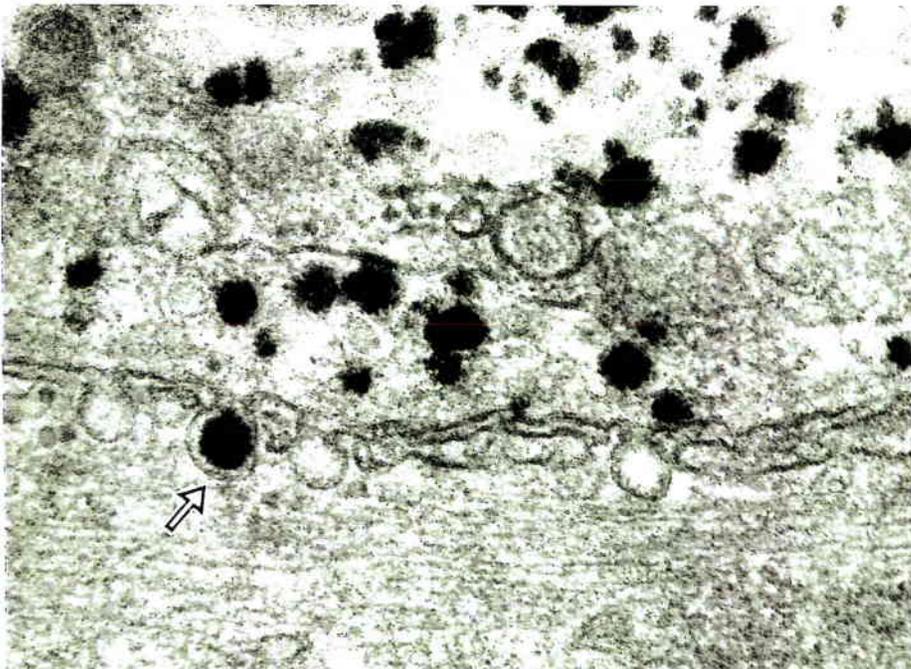


Figure 12 : Agrandissement 60000X des précipités d'yttrium dans les espaces intercellulaires et dans les *caveolae intercellularis* (indiqué par une flèche).

La nature des précipités a été confirmée en réalisant un spectre sur ces éléments denses (Figure 13). Nous avons également effectué des spectres sur différents organites intracellulaires et sur témoin (incubation dans la solution de Tyrode).

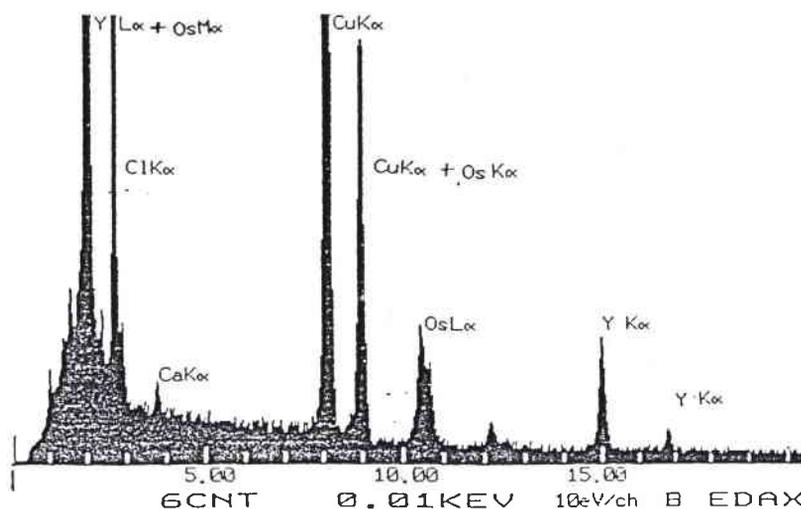


Figure 13 : Spectre réalisé par un EDAX sur une section d'intestin après incubation dans une solution d'yttrium.

Sur tous les spectres obtenus, nous observons de l'osmium (Os) utilisés pour le contraste des coupes histologiques, du cuivre (Cu) qui provient de la grille de support et des chlorures (Cl) qui dérivent de la résine.

Nous n'avons détecté que de l'yttrium et uniquement localisé à l'extérieur des cellules. Les autres métaux n'ont pas été mis en évidence sur les autres fragments intestinaux.

5) Observations de microscopie électronique à balayage

Tous les échantillons sont analysés de cette façon, ils sont bombardés soit sur la surface séreuse soit sur la section transversale de la coupe. Selon l'intensité du bombardement, nous pouvons atteindre les différentes couches du tissu intestinal. Dans le cas des échantillons d'yttrium, les résultats obtenus précédemment avec le microscope électronique à transmission sont confirmés et les images X montrent la présence d'agrégats d'yttrium répartis de façon régulière autour du fragment intestinal dans la couche

musculaire (Figure 14a). Les fragments intestinaux incubés dans la solution de fer montrent plusieurs sites d'accumulation sur la surface intestinale (Figure 14b). Ces agrégats sont localisés sur la face séreuse. La microanalyse par un spectre confirme qu'il s'agit de fer (Figure 15), mais aucun précipité de fer n'est détecté dans le tissu.

Les images X et les spectres des autres échantillons ne permettent pas de conclure à la présence de métal car leurs concentrations sont inférieures à la limite de détection.

6) Microsonde ionique et laser

Les spectres obtenus ne nous permettent de conclure à la présence de métal, sauf pour les sections immergées dans l'yttrium.

Ainsi, pour les échantillons de chrome et d'aluminium, les métaux peuvent être présents à l'intérieur ou à l'extérieur des cellules, car le dosage par S.E.A. a établi la présence des métaux dans le tissu intestinal, mais les techniques utilisées ne permettent pas de mettre en évidence la présence d'élément diffus.

7) Conclusion

Nos résultats indiquent clairement que l'yttrium se dépose sous forme de précipités insolubles dans les espaces intercellulaires de la couche musculaire de l'intestin. Le fer précipite à l'extérieur de la surface séreuse, alors que l'aluminium et le chrome pénètrent dans le tissu intestinal et restent sous forme soluble et non détectables par les techniques employées.

Dans les premiers essais de microscopie, nous pensions que l'aluminium et le chrome, n'étaient pas détectables parce qu'ils étaient délocalisés par les bains successifs des étapes de préparation des échantillons. C'est pour cette raison que nous avons répété nos études avec d'autres techniques ne nécessitant pas d'étapes d'immersion. Nous en avons conclu que les métaux restent indétectables car l'aluminium et le chrome sont présents, soit sous une forme soluble de façon diffuse, soit sous forme de précipités trop fins pour être détectés par les différentes techniques.

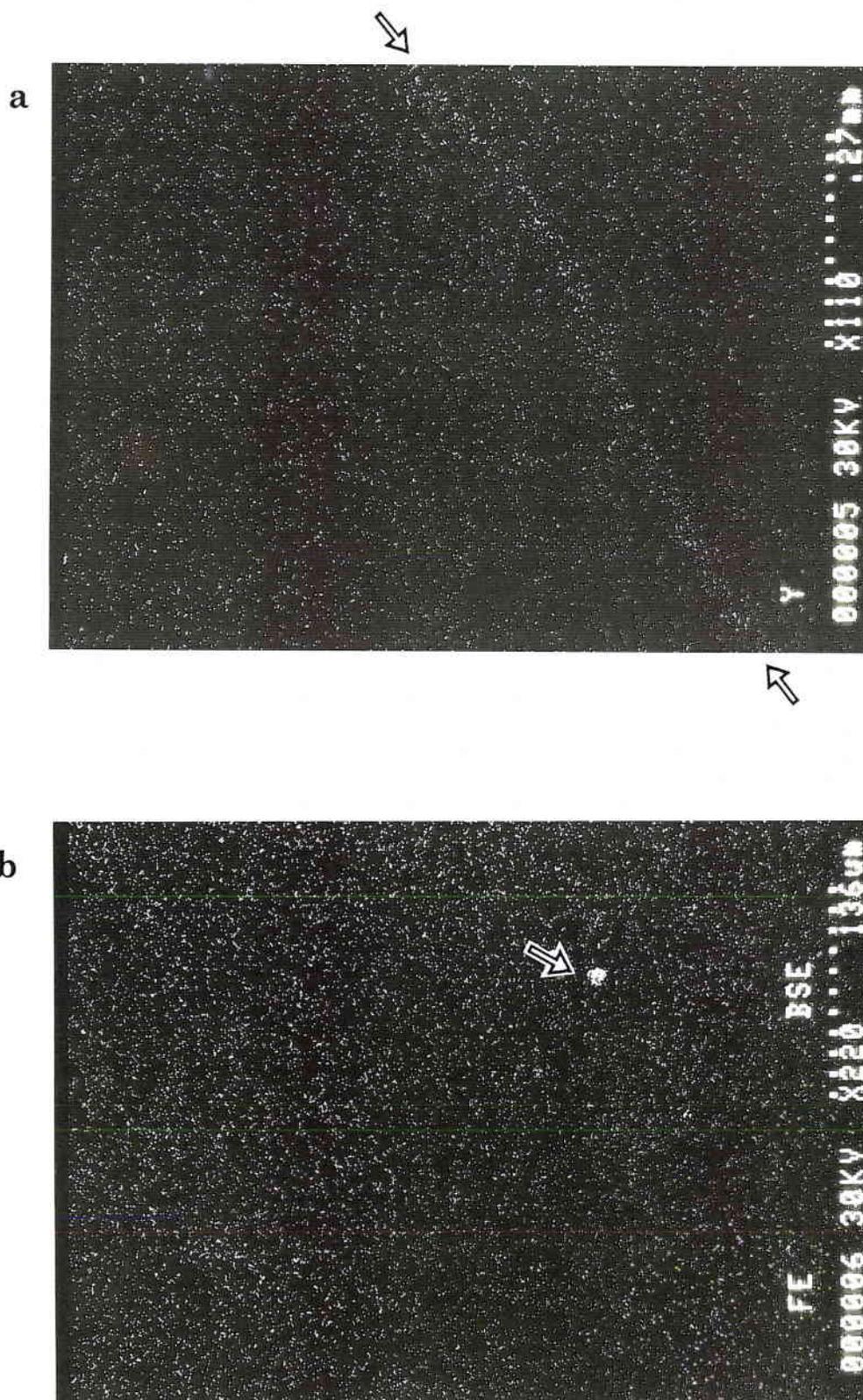


Figure 14 : Images d'intestin de rat après incubation dans une solution (a) d'yttrium et (b) de fer.

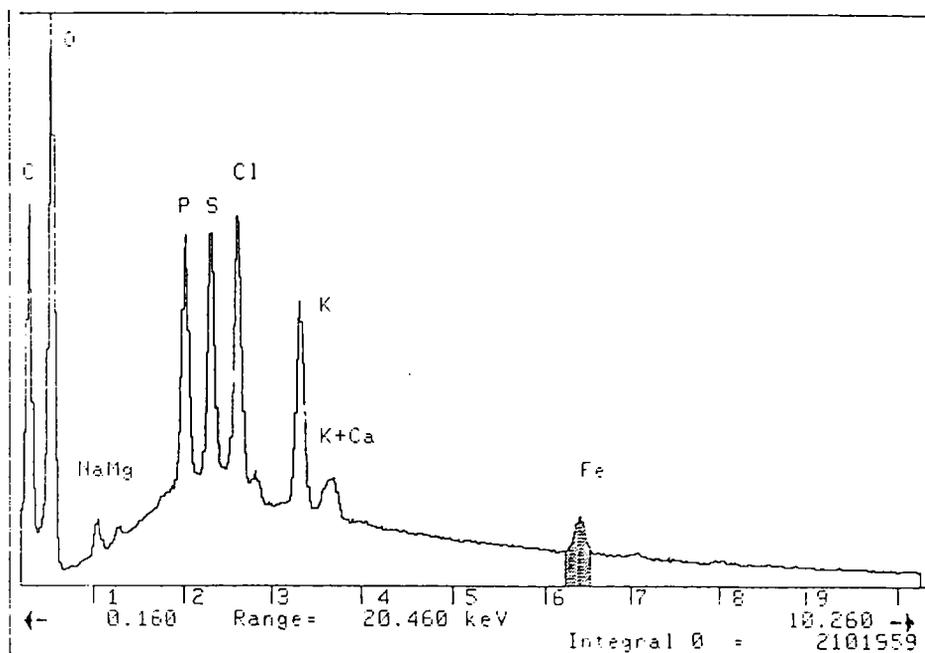


Figure 15 : Spectre typique de l'accumulation métallique observé sur la surface séreuse de l'intestin de rat après incubation dans une solution ferrique.

V - Discussion

Les résultats présentés par la technique d'ultrafiltration suggèrent que les ions métalliques sont biodisponibles dans les conditions expérimentales de l'étude. Les cations sont complexés soit au citrate, soit au tartrate car les cations seuls ne pourraient pas rester en solution à des pH proches de la neutralité. La présence d'ions phosphates, dans la solution de Tyrode, provoque la formation de quelques précipités qui deviennent physiologiquement inactifs.

Nous avons observé, que la capacité de complexation de l'aluminium est supérieure pour l'acide citrique que pour l'acide tartrique. Ces résultats ont été confirmés avec le dosage par S.E.A. de la concentration aluminique dans les fragments intestinaux après incubation dans la solution de Tyrode supplémentée en aluminium. Nous avons observé que le taux d'aluminium éliminé par les bains successifs pour les étapes histologiques de fixation est plus important pour le citrate d'aluminium que pour le tartrate d'aluminium. Nous observons également que la quantité totale d'aluminium trouvée dans les fragments intestinaux est supérieure à celle du citrate. La forme de l'aluminium complexée au tartrate, ayant une constante d'affinité plus faible qu'avec le citrate, peut voir son

équilibre ionique déplacé par d'autres ions et précipité localement dans le fragment intestinal. Ainsi la quantité de précipités et le pourcentage de métal ressorti lors des bains de fixation présentent une corrélation inverse et nous avons observé des résultats similaires avec les autres métaux étudiés. Les métaux avec une affinité plus faible pour l'acide citrique ont une perte de métal moindre lors des étapes de fixation. C'est le cas de l'yttrium. Par contre, le chrome qui forme des complexes stables avec le citrate et facilement ressorti du tissu intestinal par les bains de fixateur. D'une manière générale, nous pouvons considérer que les complexes les plus stables sont les plus aptes à être transportés à travers les membranes tissulaires. Ces complexes moléculaires ne sont pas aisément dissociés, évitant ainsi la formation de précipités métalliques dans le tissu intestinal.

Notre étude montre également, par la technique *in vitro* d'intestin isolé, que certains métaux ont la capacité de modifier les contractions intestinales spontanées. Après plusieurs essais consécutifs d'addition de solution contenant de l'yttrium, du chrome ou de l'aluminium, cet effet devient irréversible : l'activité contractile standard, c'est-à-dire les contractions mesurées comme ligne de base, ne sont plus récupérées après rinçage par la solution de Tyrode.

Nos résultats indiquent que l'yttrium réduit l'activité contractile des muscles lisses intestinaux chez le rat. Les images X et les spectres obtenus par microscopie montrent que cette diminution est due à la présence de précipités d'yttrium dans les espaces intercellulaires. L'accumulation d'yttrium est également observée dans des vésicules membranaires dont la fonction physiologique est inconnue : les *caveolae intracellulari* (Coujard et coll., 1980). Les *caveolae* ont été plus largement étudiées dans l'endothélium vasculaire, où il semblerait que ces structures puissent séquestrer des ligands fixés à la membrane à partir de l'espace intercellulaire pour faciliter leur pénétration dans le cytoplasme de la cellule. Ce processus est appelé : potocytose (Anderson et coll., 1992 ; Chang et coll. ; 1994). Ainsi, l'yttrium peut modifier les contractions intestinales en inhibant les processus de potocytose, et modérant la pénétration dans le compartiment cellulaire de certaines molécules nécessaires au métabolisme. Cependant nous ne connaissons pas, à l'heure actuelle, les molécules qui sont transportées par potocytose.

Concernant le fer, nous observons des accumulations de ce métal à l'extérieur de la séreuse intestinale. Le fer traverse en petites quantités la couche

séreuse mais n'a pas d'effet sur le péristaltisme. Les transporteurs de ce métal sont localisés du côté muqueux de l'intestin au niveau des villosités. Bien que nous observions une augmentation de la teneur en fer dans les segments intestinaux dans les dosages par S.E.A., les quantités mesurées par microanalyse n'indiquent pas de concentrations tissulaires différentes de celles obtenues chez les échantillons témoin. Par la technique de S.E.A., nous quantifions la teneur totale en fer, que le métal soit intracellulaire ou extracellulaire, alors que la microanalyse nous donne une concentration dans une zone localisée.

Pour l'aluminium et le chrome, une diminution dans l'amplitude des mouvements péristaltiques est observée. Cependant, aucun précipité contenant ces éléments n'a été détecté dans les tissus intestinaux. La détermination de leur concentration par S.E.A. nous confirme la présence des métaux dans l'intestin mais la localisation des métaux ne peut pas être définie précisément. Nous pouvons avancer l'hypothèse que l'aluminium et le chrome ont les mêmes mécanismes d'action sur les contractions intestinales. La régulation des contractions musculaires lisses fait intervenir des ions calciques, de l'AMP cyclique et de l'ATP (figure 16). L'aluminium et le chrome peuvent interagir avec les composés phosphorylés. Mais en se liant à d'autres composés biologiques, leur distribution au sein du tissu peut être homogène et les métaux peuvent interférer à différents niveaux dans les mécanismes qui gouvernent les contractions musculaires. C'est ce qui se produit dans notre étude, l'aluminium et le chrome sont répartis dans les tissus intestinaux de façon homogène, ils se trouvent sous une forme soluble, non détectable par les techniques de microanalyses, mais ils interagissent avec les mécanismes de contractions.

Parmi les effets de l'aluminium, il a été démontré que l'aluminium peut provoquer des changements dans le métabolisme minéral. L'aluminium interagit avec des molécules des systèmes biologiques, tel que le phosphate. Plusieurs auteurs ont démontré que les doses d'aluminium administrées oralement réduisaient l'absorption du phosphore chez l'homme (Lotz et coll., 1968 ; Cam et coll., 1976 ; Dent & Winter, 1974 ; Spencer et coll., 1982 ; Greger & Baier, 1983) et chez l'animal de laboratoire (Ondreicka et coll., 1966 ; Rosa et coll., 1982). Pour cette propriété, les sels d'aluminium sont utilisés pour traiter l'hyperphosphatémie chez les patients avec une déficience rénale. L'aluminium réduit fortement l'absorption du phosphore en formant des complexes insolubles, non absorbables par l'intestin (Schaefer et coll., 1988). Ainsi, au niveau intracellulaire, l'aluminium peut se lier au phosphate libre ou aux composés phosphorylés. Les travaux de Kiss et coll. (1991) ont montré que le cation

aluminique présente une affinité pour certains nucléotides, en particulier les constantes d'affinité sont fortes pour l'ATP et l'ADP. Le chrome se présente sous une situation similaire. La constante de solubilité du phosphate de chrome est de $10^{-22,6}$ (pour l'aluminium, elle est de 10^{-29}).

L'aluminium et le chrome peuvent interagir également sur les échanges calciques nécessaires à l'activation d'une protéine kinase. Le calcium intracytoplasmique a une double origine, il peut provenir :

- d'organites intracellulaires (réticulum endoplasmique),
- de l'espace extracellulaire par diffusion à travers les canaux calciques.

Il a été démontré que l'aluminium et le calcium sont en compétition pour les mécanismes d'absorption intestinal à travers l'épithélium (Provan & Yokel, 1990 ; Adler et coll., 1986). Une situation identique peut avoir lieu pour les échanges ioniques au niveau des fibres musculaires.

D'autres auteurs ont également montré que l'aluminium en se fixant à la calmoduline peut modifier la configuration des sites de fixation du calcium et inhiber ainsi l'activité du complexe Ca^{2+} -calmoduline (Siegel & Hang, 1983).

Nous voyons que les ions métalliques peuvent modifier les mécanismes et la régulation des contractions musculaires en agissant à différents niveaux. Cependant, nos techniques ne nous permettent pas d'établir avec plus de précision la localisation de l'action des métaux. En conséquence, les explications énoncées dans ce travail sont des hypothèses qui peuvent être un point de départ pour des études biochimiques ultérieures.

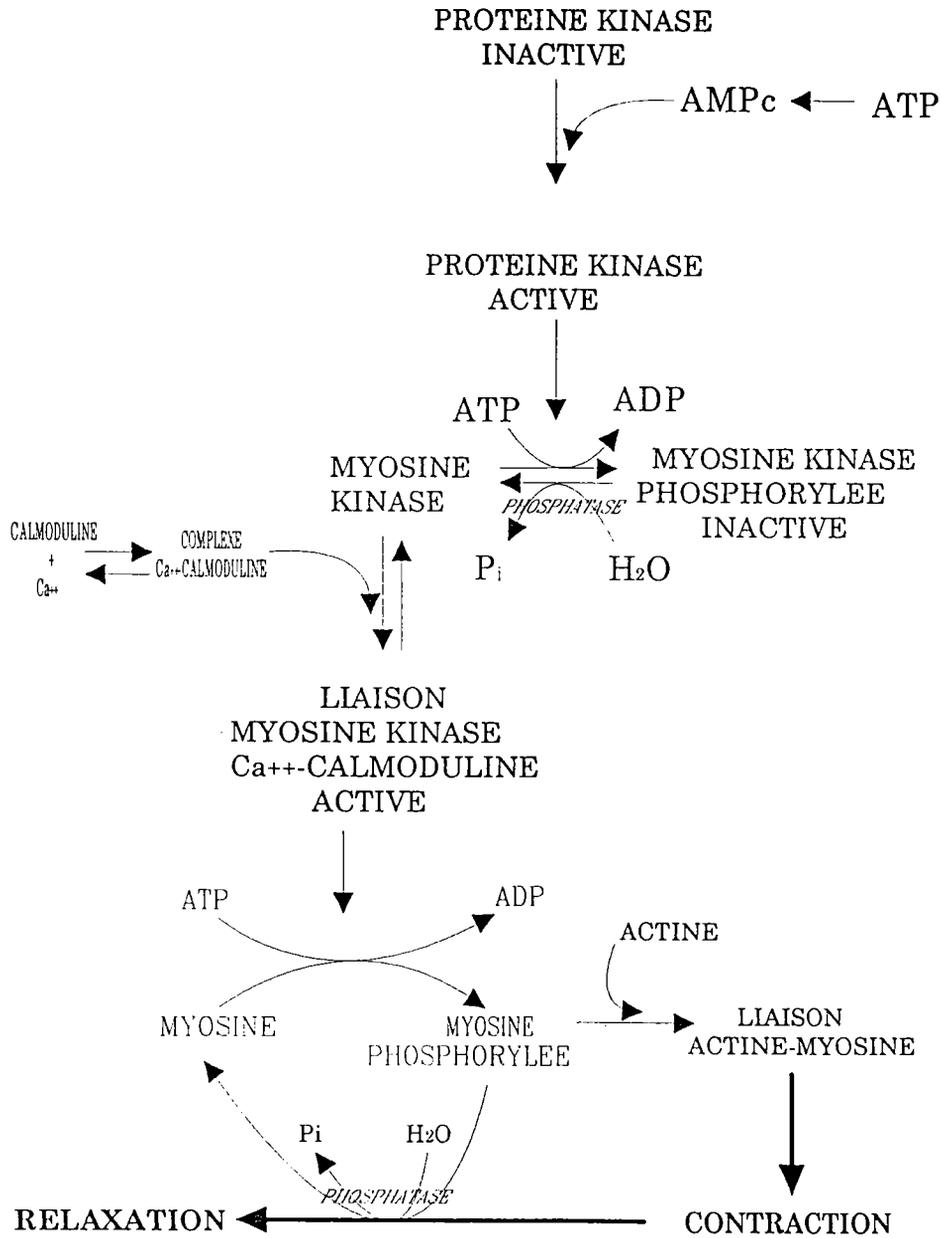


Figure 16 : Diagramme de la régulation de l'activité du muscle lisse intestinal.

DEUXIEME PARTIE

INFLUENCE DES COMPOSES ALUMINIQUES ET DE QUELQUES CONSTITUANTS ALIMENTAIRES SUR L'ABSORPTION INTESTINALE DE L'ALUMINIUM

I - Introduction

Des études, chez l'homme et les animaux, ont montré que les concentrations en aluminium dans le sang sont de niveau variable, après l'absorption orale répétée de différents composés aluminiques (Slanina et coll., 1985 ; Domingo et coll., 1991 a et b ; Gomez et coll., 1994a). Ces observations suggèrent qu'il existe une différence de biodisponibilité de l'aluminium absorbé par voie orale.

Il a été montré que l'ingestion de composés aluminiques avec des jus de fruits ou de l'acide citrique, provoque une augmentation importante de l'absorption gastro-intestinale de l'aluminium chez les individus sains (Slanina et coll., 1986 ; Weberg & Berstad, 1986) ou chez les patients atteints de désordres rénaux chroniques (Nordal et coll., 1988). Ainsi, ces résultats suggèrent que les facteurs alimentaires et la forme chimique de l'aluminium présent dans la lumière intestinale peuvent significativement contribuer à modifier l'absorption du métal.

Puisque les composés chimiques contenant de l'aluminium sont largement utilisés dans les traitements thérapeutiques médicaux, dans les additifs alimentaires, et dans le processus de purification de l'eau de distribution, il apparaît important d'étudier les facteurs qui peuvent augmenter l'absorption de l'aluminium à travers la barrière gastro-intestinale.

Dans cette partie, nous avons utilisé la technique *in situ* d'intestin perfusé de rat afin d'évaluer le potentiel d'absorption de l'aluminium selon sa forme chimique. Ainsi, la biodisponibilité intestinale de l'aluminium présent sous huit

formes chimiques différentes a été évaluée : trois formes inorganiques et cinq formes organiques.

Nous avons également, en utilisant la même technique expérimentale, étudié certains paramètres pouvant influencer l'absorption intestinale de l'aluminium :

- le temps de contact de l'aluminium avec la muqueuse intestinale,
- l'utilisation d'un inhibiteur de la phosphorylation oxydative, le 2,4-dinitrophénol (DNP), pour évaluer l'importance du transport intestinal énergie-dépendant,
- l'influence de la concentration en citrate d'aluminium,
- l'influence de la concentration de différents autres éléments.

II - Matériel et méthodes

1) Critères de sélection des composés aluminiques étudiés

Une liste des sels aluminiques a été dressée à partir de l'index Merck. Les sels d'aluminium insolubles, par conséquent de biodisponibilité très faible, ont été éliminés. Les sels d'aluminium étudiés sont donc tous solubles dans l'eau. Nous avons ensuite recherché les composés qui sont utilisés de façon courante, notamment dans le domaine médical, ou les formes aluminiques pouvant éventuellement se trouver dans l'alimentation. Nous avons retenu huit composés aluminiques (tableau 10).

Tableau 10 : Sélection des composés aluminiques pour l'étude de biodisponibilité intestinale.

Sels d'aluminium	Application
COMPOSES INORGANIQUES	
chlorure d'aluminiumastringent
nitrate d'aluminiumagent nitrant
sulfate d'aluminiumanti-infectieux, coagulant pour le traitement de l'eau et additif alimentaire
COMPOSES ORGANIQUES	
citrate d'aluminiumtraitement de l'hypersensibilité dentaire
lactate d'aluminiumantiseptique buccal
tartrate d'aluminiumalimentation
glutamate d'aluminiumalimentation
gluconate d'aluminiumalimentation

2) Réactifs utilisés

Le chlorure de sodium (NaCl), le chlorure de potassium (KCl), le chlorure d'aluminium (hexahydraté, $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), l'acide gluconique ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_7$), l'acide tartrique ($\text{COOH-CHOH-CHOH-COOH}$), l'acide glutamique (monohydraté, $\text{COOH-CHNH}_2\text{-(CH}_2\text{)}_2\text{-COOH-H}_2\text{O}$) et le 2,4-dinitrophénol ($\text{C}_6\text{H}_3(\text{NO}_2)_2\text{OH}$) ont été obtenus chez Aldrich (France). Le chlorure de magnésium (hexahydraté, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) provient de Merck (France). Tous les autres produits chimiques comme le chlorure de calcium (CaCl_2), le phosphate de sodium (dihydraté, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), le glucose ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$), le bicarbonate de sodium (NaHCO_3), le sulfate d'aluminium (tétradécahydraté, $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 14\text{H}_2\text{O}$), le nitrate d'aluminium (nonahydraté, $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$), le lactate d'aluminium ($(\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3)_3\text{Al}$) et le citrate trisodique (dihydraté, $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) sont achetés chez Prolabo (France). Toutes les solutions sont préparées avec de l'eau distillée obtenue avec un système Millipore, modèle Milli-Q.

3) Matériel utilisé

Le matériel utilisé lors de ce protocole expérimental est décrit ci-dessous :

- Spectrophotomètre d'émission à plasma d'argon DCP type Spectra-Span V (Beckman)
- pH mètre type Minisis 5000 (Tacussel) équipé d'une électrode de référence au calomel saturée en chlorure de potassium type TR 100 (Tacussel) et d'une électrode de verre type TCB 10/HS (Tacussel)
- semi-micro-osmomètre type ML (Knauer)
- balance, type 2442 (Sartorius)
- trébuchet, type 2550 (Sartorius)
- bain-marie plexiglas, type BMP 60 (Firlabo)
- cathéters en polyéthylène n° 1 ; 0,30 mm x 0,70 mm (Biotrol Pharma)
- cathéters en polyéthylène n° 2 ; 0,38 mm x 1,09 mm (Biotrol Pharma)
- centrifugeuse type Labofuge 2000 (Heraeus Sepatech)
- pompe pousse-seringue à perfusion modèle A-99 (Razel)
- coussin chauffant (Wetzotherm)
- micropipettes avec embouts polyéthylène (Gilson, Nichiryo)
- tubes centrisart I SM 13239 E (Sartorius)
- seringues 2 ml, 10 ml, et 60 ml (Terumo)
- aiguilles 0,5 mm x 16 mm (Terumo)
- fil de suture nylon monofil chirurgical dec. 2 (Archimed)
- vacutainer 10 ml (Becton Dickinson)
- compresses de gaze (Prolabo)

4) Préparation des solutions

La solution utilisée pour toutes les expériences est la solution de Tyrode, dont la composition est la suivante :

- 137 mM de chlorure de sodium,
- 2,7 mM de chlorure de potassium,
- 1,0 mM de chlorure de magnésium,
- 0,4 mM de phosphate de sodium,
- 12,0 mM de bicarbonate de sodium,
- 1,5 mM de chlorure de calcium,
- 5,5 mM de glucose.

L'osmolarité de la solution est vérifiée au moyen d'un micro-osmomètre Knauer. Elle est de 290 mOsm. Le pH est de 7,3 - 7,4.

Les solutions contenant de l'aluminium sont préparées par remplacement iso-osmotique du chlorure de sodium dans la solution de Tyrode. La concentration d'aluminium est choisie pour représenter des quantités d'aluminium contenues dans la nourriture (0,16 à 1,6 mmol d'aluminium) (Slanina & Falkeborn, 1984). Afin d'éliminer les problèmes liés aux phénomènes d'osmose, nous avons choisi de travailler à osmolarité constante et surtout avec des solutions iso-osmotiques. Lorsque nous augmentons les concentrations en aluminium, l'osmolarité de la solution de perfusion augmente également rapidement. Nous avons donc choisi de travailler avec la plus faible concentration en aluminium, soit 0,16 mmol d'aluminium (ou 4,32 µg Al). Sachant que le débit de perfusion est de 10 mL.H⁻¹ et que le temps d'incubation est de 60 minutes, le volume de solution perfusée sera de 10 mL. Afin d'avoir une quantité d'aluminium au contact de l'intestin grêle de 0,16 mmol Al, la concentration initiale de la solution perfusée est de 16 mmol Al.L⁻¹.

Le pH de la solution est ajusté à 4 par addition d'hydroxyde de sodium ou d'acide chlorhydrique suprapur (Merck, France) selon les sels. L'osmolarité est maintenue à 310 mOsm.

Pour certaines expériences, nous ajoutons 10⁻⁴ mol.L⁻¹ de DNP dans les solutions aluminiques. Cette concentration a été déterminée d'après les travaux de Feinroth et coll. (1982).

III - Protocole expérimental

La technique d'intestin perfusé *in situ* utilisée dans cette étude est basée sur celle de Doluisio et coll. (1969).

Avant de commencer l'expérience, le rat est mis à jeun une nuit, mais il garde le libre accès à l'eau de boisson. L'animal est ensuite anesthésié avec une dose unique de pentobarbital sodique (Sanofi Santé Animale, France) en intrapéritonéale et à la concentration de 80 mg.kg⁻¹. Durant toute l'expérience, le rat est installé sur un coussin chauffant et une lampe allumée au-dessus de l'animal, afin de maintenir la température corporelle à 37° C et d'éviter une hypothermie due à l'anesthésie.

Après avoir pratiqué une petite incision abdominale médiane, l'intestin grêle proximal est exposé. Les systèmes mésentérique et sanguin restent intacts. Deux légères incisions de l'intestin permettent d'introduire les canules en polyéthylène : la canule proximale est localisée au niveau du duodénum (juste après la valve pylorique), la canule distale est positionnée au-dessus du caecum. La canule proximale est reliée par un tube en polyéthylène jusqu'à un pousse-seringue. Le segment intestinal est remplacé dans la cavité abdominale et l'abdomen est refermé par quelques points de suture. L'incision est recouverte d'une compresse de gaze imbibée de solution saline à 37° C. L'intestin grêle est alors rincé avec la solution de Tyrode à 37° C dont le débit de 100 mL.H⁻¹ pendant 15 minutes. Cette opération permet d'éliminer les restes de nourriture et les petits caillots sanguins provoqués par les incisions.

Ensuite, une préincubation de la muqueuse intestinale avec la solution de Tyrode contenant l'aluminium est réalisée, elle est faite au même débit que le rinçage à 100 mL.H⁻¹ mais ne dure que 5 minutes. Ceci permet d'avoir l'intestin totalement rempli de solution aluminique. La période d'incubation commence alors, le débit est ralenti à 10 mL.H⁻¹ et la durée est de 60 minutes. Ainsi, plusieurs solutions aluminiques peuvent être testées. Toutes les solutions perfusées sont maintenues à 37° C dans un bain-marie.

Dans une expérience préliminaire, le temps d'incubation des solutions d'aluminium est de 15 minutes, 30 minutes ou 60 minutes. Ensuite, certaines concentrations ont été modifiées :

- la concentration en aluminium (3,2 mM, 16 mM, 32 mM, 48 mM ou 64 mM),
- la concentration en calcium (0 mM, 1,5 mM, 3 mM ou 6 mM),
- la concentration en phosphate (0 mM ou 0,4 mM),
- la concentration en glucose (0 mM ou 5,5 mM).

Après le temps d'incubation, le sang est prélevé par ponction cardiaque avec une seringue héparinée au préalable (Héparine sodique 5000 UI / mL, Panpharma, France). Le plasma est congelé à 4° C pour des dosages ultérieurs par spectrophotométrie d'émission atomique.

L'intestin est prélevé et rincé. Il est coupé en 3 fragments :

- un fragment duodéal (de 0 à 8 cm juste après le sphincter pylorique),
- un fragment jéjunal (15 cm après le ligament de Treitz),
- un fragment iléal (15 cm avant la valve iléocaecale).

Le mésentère est éliminé manuellement des fragments. Les tissus prélevés sont coupés dans le sens longitudinal, rincés soigneusement dans plusieurs bains de solution iso-osmotique de Tyrode.

Les fragments sont ensuite pesés et solubilisés à l'acide nitrique Suprapur (Merck, France). Les concentrations aluminiques seront déterminées sur ces solutions acides par spectrophotométrie d'émission atomique.

IV - Résultats

1) Spéciation des solutions aluminiques

Pour toutes les solutions aluminiques, nous avons réalisé des ultrafiltrations afin de déterminer la quantité réelle d'aluminium en solution.

Comme nous le voyons figure 17, la majorité du métal est sous une forme biodisponible. Dans les conditions acides, pH 4, et en présence de chélateurs, les espèces chimiques solubles de l'aluminium sont donc prédominantes, ce sont soit des complexes, soit des formes Al^{3+} . Le pourcentage de précipités est toujours inférieur à 7%. Pour le citrate d'aluminium, le chlorure d'aluminium, le nitrate d'aluminium, le sulfate d'aluminium, et le tartrate d'aluminium, il n'y a aucun précipité formé. Pour le lactate d'aluminium, le gluconate d'aluminium et le glutamate d'aluminium, nous retrouvons respectivement 1,3%, 2,0% et 7,0% de précipités d'aluminium. Ainsi à pH 4, l'aluminium est soluble et biodisponible, par conséquent son absorption intestinale est théoriquement possible.

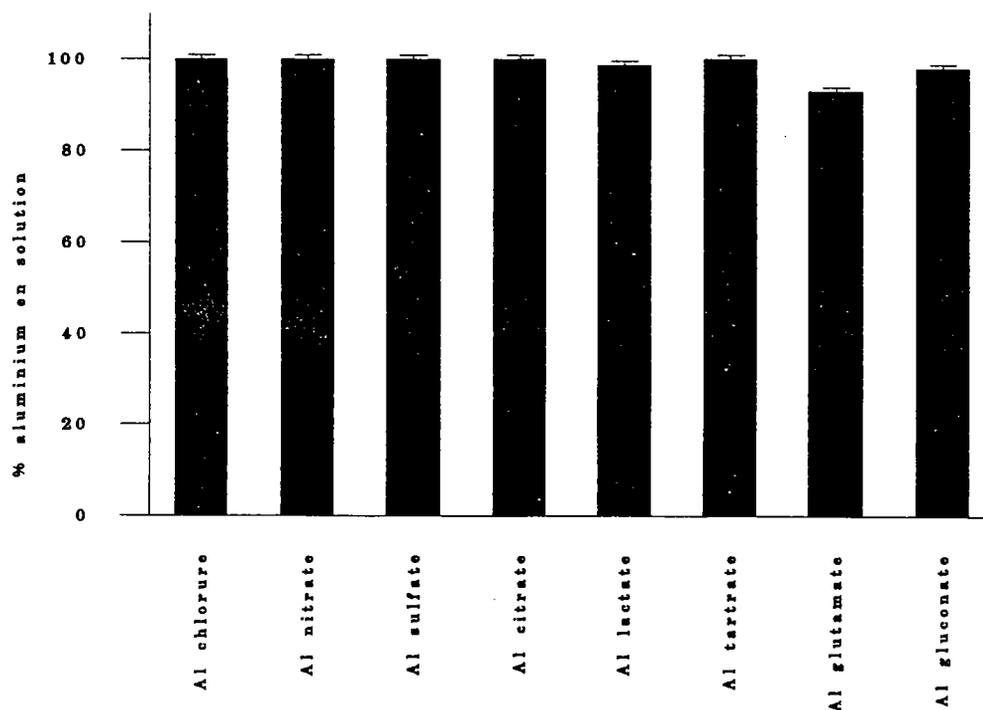


Figure 17 : Pourcentage d'aluminium soluble dans une solution de Tyrode à pH 4,0 déterminé après ultrafiltration.

2) Rétention de l'aluminium dans l'intestin

Les concentrations en l'aluminium dans le duodénum, le jéjunum et l'iléon après perfusion avec les solutions aluminiques et avec la solution de Tyrode (solution témoin) sont réunies dans le tableau 11.

a - Influence du temps d'incubation

Il existe quelques différences, selon la durée du temps de contact de la solution aluminique avec la muqueuse intestinale, dans la concentration aluminique du tissu intestinal.

Pour le citrate d'aluminium, on observe une baisse de la rétention aluminique après 60 minutes d'incubation par rapport aux autres temps. Selon le fragment intestinal, cette diminution varie entre 50% et 60% (52%, 51% et 58% pour respectivement le duodénum, le jéjunum et l'iléon).

Pour le chlorure d'aluminium, la concentration iléale en aluminium est plus faible d'environ 75% à 30 et 60 minutes d'incubation par rapport à un temps de 15 minutes d'incubation. Mais pour certaines solutions, l'augmentation du temps d'incubation provoque l'augmentation de la concentration en aluminium

dans les fragments intestinaux : pour le tartrate d'aluminium dans le duodénum et le jéjunum (28%), pour le gluconate d'aluminium dans le duodénum et l'iléon (48% et 47% respectivement), et pour le lactate d'aluminium et le glutamate d'aluminium dans l'iléon (43% et 73% respectivement).

Au niveau plasmatique, nous observons une augmentation de la concentration en aluminium avec le temps d'incubation pour le gluconate d'aluminium (+38%), le tartrate d'aluminium (+48%) et le lactate d'aluminium (+35%). Pour ces solutions, l'aluminémie la plus élevée est obtenue à 60 minutes d'incubation. Pour le sulfate d'aluminium et le nitrate d'aluminium, nous observons un pic d'absorption à 30 minutes d'incubation de 12% et 16% respectivement, cependant la concentration en aluminium plasmatique est de faible importance pour ces solutions en comparaison avec les solutions organiques. Pour le citrate d'aluminium, le chlorure d'aluminium et le glutamate d'aluminium, l'aluminémie n'est pas significativement différente selon le temps d'incubation.

b - Influence du composés aluminique

• Au niveau du duodénum

La quantité d'aluminium la plus élevée est observée pour le nitrate d'aluminium (environ 220 $\mu\text{g Al/g}$ organe), puis la concentration duodénale en aluminium est inférieure de 35% pour le chlorure d'aluminium, le sulfate d'aluminium, le lactate d'aluminium et le glutamate d'aluminium (environ 150 $\mu\text{g Al/g}$ organe). Il n'existe pas de différence significative entre le citrate d'aluminium, le gluconate d'aluminium, le tartrate d'aluminium et le témoin (solution de Tyrode); le niveau d'aluminium moyen pour ces solutions est d'environ 10 $\mu\text{g Al/g}$ organe.

Tableau 11 : Rétention de l'aluminium dans les tissus intestinaux après perfusion de différentes solutions aluminiques à différents temps d'incubation.

	Témoins	Solutions inorganiques			Solutions organiques				
	Saline	Al chlorure	Al nitrate	Al sulfate	Al citrate	Al lactate	Al tartrate	Al glutamate	Al gluconate
Duodénum									
15 min	1.1 ± 0.2 ^{a1}	151.1 ± 25.7 ^b	197.6 ± 10.3 ^c	142.4 ± 24.6 ^{b1}	27.5 ± 4.5 ^{a1}	139.0 ± 12.9 ^{b1}	10.3 ± 1.9 ^{a1}	133.0 ± 6.2 ^b	6.7 ± 0.7 ^{a1}
30 min	1.0 ± 0.5 ^{a2}	150.9 ± 9.6 ^{b1}	231.4 ± 27.8 ^c	165.6 ± 23.5 ^{b2}	27.0 ± 5.5 ^{a2}	159.6 ± 14.0 ^{b2}	11.1 ± 1.2 ^{a2}	133.6 ± 10.4 ^b	9.5 ± 0.7 ^{a2}
60 min	1.1 ± 0.1 ^{a3}	139.4 ± 9.5 ^{b2}	224.3 ± 52.6 ^c	154.9 ± 27.8 ^{b3}	13.3 ± 1.4 ^{a3}	131.5 ± 12.0 ^b	14.4 ± 1.0 ^{a3}	116.3 ± 9.7 ^b	12.9 ± 0.9 ^{a3}
Jéjunum									
15 min	1.1 ± 0.5 ^{a1}	288.9 ± 40.1 ^b	273.5 ± 21.4 ^b	132.0 ± 21.2 ^{d1}	32.5 ± 4.0 ^{a1}	222.6 ± 15.8 ^c	10.5 ± 0.9 ^{a1}	205.7 ± 18.2 ^c	11.3 ± 1.8 ^{a1}
30 min	1.1 ± 0.5 ^{a2}	235.4 ± 39.4 ^b	346.6 ± 55.1 ^c	147.0 ± 16.3 ^{d2}	32.5 ± 5.2 ^a	209.6 ± 20.2 ^b	9.5 ± 1.1 ^{a2}	255.1 ± 9.7 ^b	11.7 ± 1.3 ^{a2}
60 min	1.0 ± 0.6 ^{a3}	225.1 ± 26.2 ^b	446.8 ± 58.4 ^c	187.9 ± 30.3 ^{b3}	15.8 ± 2.3 ^{a3}	181.4 ± 24.2 ^b	14.5 ± 1.0 ^{a3}	177.0 ± 40.9 ^b	12.6 ± 1.0 ^a
Iléon									
15 min	0.4 ± 0.1 ^a	191.5 ± 48.3 ^b	15.3 ± 10.7 ^a	10.9 ± 2.2 ^a	27.9 ± 4.2 ^{a1}	77.0 ± 15.2 ^{c1}	8.2 ± 0.8 ^{a1}	17.9 ± 6.6 ^a	5.9 ± 0.9 ^a
30 min	0.4 ± 0.1 ^a	51.5 ± 20.3 ^{bc1}	15.5 ± 12.1 ^{ab}	10.9 ± 3.0 ^a	32.2 ± 5.1 ^{bc2}	117.8 ± 11.8 ^{d2}	11.6 ± 2.2 ^{a2}	28.4 ± 4.9 ^b	7.2 ± 1.0 ^{a2}
60 min	0.4 ± 0.1 ^a	45.5 ± 18.0 ^{b2}	6.3 ± 1.5 ^a	13.6 ± 5.5 ^a	11.6 ± 1.7 ^{a3}	135.9 ± 16.1 ^c	13.6 ± 1.3 ^{a3}	66.9 ± 12.3 ^b	11.1 ± 1.2 ^{a3}

Les résultats sont exprimés en $\mu\text{g Al.g}^{-1}$ de poids frais d'organe, n = 6 / traitement.

^{a-d} Signifie que les groupes sur une même ligne qui ne présentent pas une lettre commune sont significativement différents (ANOVA, p < 0.05)

¹⁻³ Signifie que les groupes sur une même colonne qui ne présentent pas un indice commun sont significativement différents du fragment intestinal avec le même temps d'incubation (Test-t apparié de Student, p < 0.05)

• *Au niveau du jéjunum*

De fortes concentrations d'aluminium sont observées pour cinq solutions, qui sont par ordre décroissant : le nitrate d'aluminium (350 µg Al/g organe), le chlorure d'aluminium (250 µg Al/g organe), le lactate d'aluminium et le glutamate d'aluminium (210 µg Al/g organe), puis le sulfate d'aluminium (155 µg Al/g organe). Les autres solutions ne sont pas significativement différentes du témoin comme ce qui a été observé pour le duodénum.

• *Au niveau de l'iléon*

Le lactate d'aluminium et le chlorure ont la plus forte concentration d'aluminium au niveau iléal (100 µg Al/g organe). Les perfusions de nitrate d'aluminium, de citrate d'aluminium et de glutamate d'aluminium entraînent une petite accumulation d'aluminium d'environ 25 µg Al/g organe, alors que le sulfate d'aluminium, le gluconate d'aluminium, le tartrate d'aluminium ne sont pas significativement différents du témoin.

c - Influence du segment intestinal

Considérant une solution donnée, les variations observées sont identiques quel que soit le temps d'incubation. Nous pouvons distinguer 2 groupes parmi les solutions :

(1) les solutions minérales, le lactate d'aluminium et le glutamate d'aluminium. Les concentrations d'aluminium dans les segments intestinaux sont significativement différentes et on observe l'ordre décroissant suivant : jéjunum > duodénum > iléon. Excepté pour le sulfate d'aluminium où il n'existe pas de différence entre le jéjunum et le duodénum.

(2) les autres solutions organiques et la solution témoin. Il existe des différences moindres entre les segments intestinaux et la rétention de l'aluminium est peu élevée. La rétention de l'aluminium est identique pour tous les segments intestinaux : duodénum = jéjunum = iléon ; à part pour le groupe témoin où la concentration aluminique est plus faible dans l'iléon.

Nous voyons que plus l'intestin retient d'aluminium, plus les différences entre les fragments sont significatives. La plus forte accumulation d'aluminium est observée dans le jéjunum, suivie du duodénum puis de l'iléon.

3) Apparition de l'aluminium dans la sang

La figure 18 illustre les concentrations en aluminium plasmatique selon les temps d'incubation. Nous observons que l'absorption de l'aluminium est affectée par le type de solution perfusée. C'est toujours la solution de citrate d'aluminium qui provoque la plus forte aluminémie, comparée avec les autres solutions testées ($0,0001 < p < 0,05$), excepté pour le tartrate d'aluminium à 30 minutes (NS).

Pour les temps d'incubation de 15 minutes, les solutions de gluconate d'aluminium et de lactate d'aluminium induisent un taux plasmatique en aluminium significativement plus élevé que le témoin ($p < 0,05$).

Lorsque le temps d'incubation double (30 minutes), le tartrate d'aluminium ($p < 0,0001$) s'ajoute aux solutions de citrate d'aluminium, de lactate d'aluminium et de gluconate d'aluminium. L'aluminémie pour les autres solutions perfusées ne se distingue pas du témoin.

Lors d'une perfusion de 60 minutes, nous observons clairement des différences entre les solutions aluminiques et nous pouvons distinguer de façon significative 3 groupes :

(1) le citrate d'aluminium,

(2) le gluconate d'aluminium, le tartrate d'aluminium, le lactate d'aluminium,

(3) le chlorure d'aluminium, le nitrate d'aluminium, le sulfate d'aluminium, le glutamate d'aluminium et le témoin.

Avec un temps de perfusion de 60 minutes, les formes aluminiques utilisées affectent significativement l'absorption intestinale et l'apparition du métal dans le sang. Lorsque la durée d'incubation est inférieure, les concentrations en aluminium sanguines sont moins différentes. Pour cette raison, nous utiliserons une incubation de 60 minutes dans toutes les expériences qui suivent.

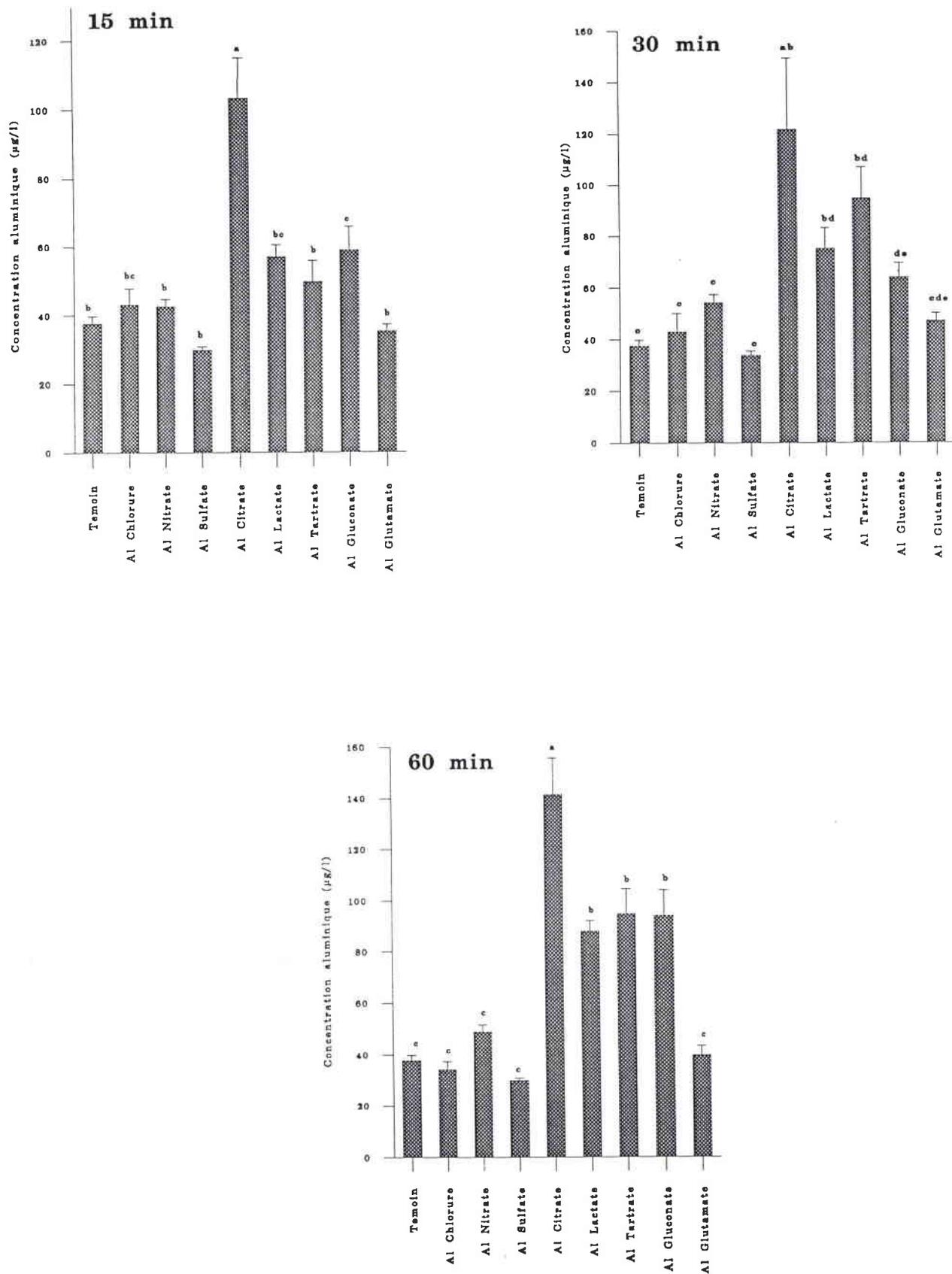


Figure 18 : Concentration d'aluminium dans le plasma après perfusion de différentes solutions aluminiques. Les résultats sont exprimés en $\mu\text{g Al.L}^{-1}$ ($n = 6$ / traitement).

a-e : signifie qu'il existe une différence significative lorsque les indices sont différents (Anova, $p < 0,05$).

4) Effets du DNP

Les résultats sont présentés dans la figure 19. Après perfusion des solutions aluminiques contenant 0,01 mM de DNP, nous observons une diminution de l'accumulation de l'aluminium dans les fragments intestinaux pour 5 solutions : - 32% dans le duodénum pour le citrate d'aluminium ($p < 0,05$), respectivement - 62% et - 43% dans le jéjunum pour le sulfate d'aluminium et le nitrate d'aluminium ($p < 0,05$), - 94% dans l'iléon pour le lactate d'aluminium ($p < 0,0001$) et respectivement - 41% et - 89% dans le duodénum et l'iléon pour le glutamate d'aluminium ($p < 0,005$). Cependant, aucune différence significative n'est apparue pour les concentrations plasmatiques.

Pour le témoin, le chlorure d'aluminium, le tartrate d'aluminium et le gluconate d'aluminium, il n'y a pas de modification de l'absorption ou de la rétention de l'aluminium entre les groupes avec et sans DNP.

5) Effets de la concentration en aluminium et de quelques facteurs alimentaires

Nous avons choisi le citrate d'aluminium pour cette partie expérimentale car son absorption à travers l'intestin et son passage dans le sang sont généralement plus élevés que pour les autres solutions. Les comparaisons se feront avec le groupe 3 (solution de Tyrode perfusée avec 16 mmol Al/L) pour les expériences B, C et D (tableau 12).

Dans tous les groupes (du numéro 2 au numéro 11), nous observons que la concentration aluminique est toujours supérieure au groupe témoin (groupe 1, perfusion sans aluminium) ($p < 0,0001$ pour le plasma et les fragments intestinaux).

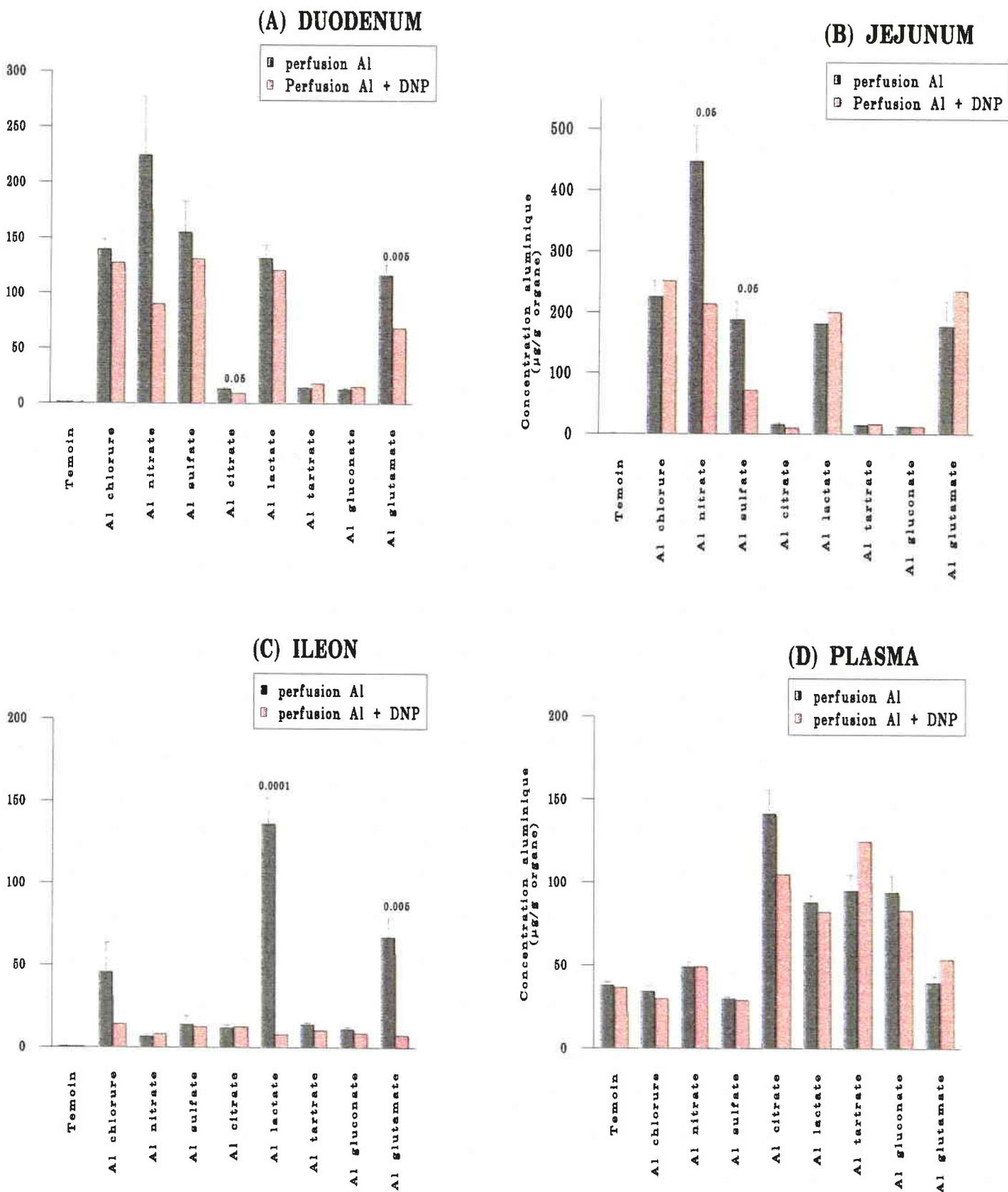


Figure 19 : Rétention aluminique dans (A) le duodénum, (B) le jéjunum, (C) l'iléon, et (D) le plasma après perfusion de l'intestin grêle de rat pendant 60 minutes. La perfusion est réalisée avec 0,01 mmol/l de DNP ou sans DNP. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart-type pour 8 rats par groupe. Les nombres indiquent les différences statistiques entre le groupe de rats perfusé avec du DNP et le même groupe sans DNP.

Tableau 12 : Description des expériences et résultats de l'absorption de l'aluminium après perfusion de différentes concentrations luminale de citrate d'aluminium (expérience A), ou après modification de la concentration de différents éléments dans la solution de Tyrode (expérience B, C et D)

Descriptif expérimental						Rétention de l'aluminium dans l'intestin			Taux plasmatique d'aluminium
Expérience (no)	Groupes (no)	Al (mmol/l)	Ca (mmol/l)	P (mmol/l)	Glucose (mmol/l)	Duodénum (µg Al/g organe)	Jéjunum (µg Al/g organe)	Iléon (µg Al/g organe)	(µg Al/l)
A	1	0	1.5	0.4	5.5	1.1 ± 0.1	1.0 ± 0.6	0.4 ± 0.1	37.7 ± 2.1
	2	3.2	1.5	0.4	5.5	5.9 ± 0.8	6.6 ± 0.5	6.3 ± 0.9 ^a	50.4 ± 3.7
	3	16	1.5	0.4	5.5	13.3 ± 1.4 *	15.8 ± 2.3 ^{a*}	11.6 ± 1.7 ^{a*}	141.2 ± 14.6 ^a
	4	32	1.5	0.4	5.5	18.3 ± 1.5	21.7 ± 2.6 ^a	19.5 ± 4.6 ^a	139.2 ± 8.7 ^a
	5	48	1.5	0.4	5.5	43.9 ± 7.9	34.8 ± 5.4	33.6 ± 3.9 ^b	185.2 ± 22.7 ^a
	6	64	1.5	0.4	5.5	93.0 ± 4.6	62.9 ± 2.8	64.5 ± 13.7 ^b	995.6 ± 298.9
B	8	16	0	0.4	5.5	7.3 ± 0.9	10.7 ± 1.4*	8.9 ± 0.9 *	74.3 ± 5.4 *
	9	16	3	0.4	5.5	15.4 ± 1.7 *	14.4 ± 1.8 *	9.8 ± 1.5 *	73.8 ± 19.4 *
	10	16	6	0.4	5.5	13.1 ± 2.2 *	15.1 ± 0.7 *	11.7 ± 1.2 *	66.8 ± 8.2 *
C	11	16	1.5	0	5.5	8.2 ± 0.7	10.0 ± 0.8	11.2 ± 1.6	57.8 ± 3.3
D	12	16	1.5	0.4	0	6.0 ± 1.3	10.0 ± 2.5	8.3 ± 1.0	81.9 ± 10.9

Données exprimées en moyenne ± écart-type, avec n = 6 pour chaque groupe.

^{a-b} Signifie que les groupes sur une même colonne qui ne présentent pas une lettre commune sont significativement différents pour l'expérience A

* Signifie que les groupes sur une même colonne qui ne présentent pas d'astérisque sont différents pour l'expérience B (Test-t de Student, p < 0.05)

a - Influence de la concentration en aluminium perfusée

Il s'agit de l'expérience dénommée A (groupes 1 à 6). Nous avons perfusé 6 doses différentes d'aluminium :

- 0 μmol d'aluminium (dose témoin)
- 32 μmol d'aluminium ($[\text{Al}] = 3,2 \text{ mM}$, dose x 1/5)
- 160 μmol d'aluminium ($[\text{Al}] = 16 \text{ mM}$, dose x 1, de référence)
- 320 μmol d'aluminium ($[\text{Al}] = 32 \text{ mM}$, dose x 2)
- 480 μmol d'aluminium ($[\text{Al}] = 48 \text{ mM}$, dose x 3)
- 640 μmol d'aluminium ($[\text{Al}] = 64 \text{ mM}$, dose x 4).

Nous nous sommes limités à ces concentrations car pour des doses d'aluminium supérieures, la solution devient hyper-osmotique.

Le taux plasmatique et les concentrations tissulaires sont affectées par l'augmentation de la concentration en aluminium du perfusé.

Dans le duodénum, toutes les valeurs sont significativement différentes et augmentent avec la concentration en aluminium du perfusé ($0,0001 < p < 0,05$). La rétention de l'aluminium dans le jéjunum est identique pour une perfusion de 160 μmol et 320 μmol d'aluminium (groupes 3 et 4). Les moyennes pour l'accumulation jéjunale de l'aluminium des autres groupes sont significativement différentes et augmentent également avec la concentration du perfusé ($0,0001 < p < 0,01$).

Dans l'iléon, nous observons que les groupes 5 et 6, ayant les plus fortes concentrations aluminiques dans le perfusé, sont significativement différents des groupes 2, 3 et 4 ($0,0001 < p < 0,05$).

Les résultats obtenus pour les valeurs plasmatiques sont particulièrement intéressants. Il n'y a pas de différence entre les groupes 3, 4 et 5. Les résultats obtenus peuvent être classés de la façon suivante : groupe 1 < groupe 2 < groupes 3, 4 et 5 < groupe 6 ($0,0001 < p < 0,05$). Quand le perfusé contient les quantités les plus élevées en aluminium (groupe 6), les teneurs plasmatiques en métal présentent une grande variabilité interindividuelle (de 191 $\mu\text{g Al.L}^{-1}$ à 1797 $\mu\text{g Al.L}^{-1}$). Il semble que l'absorption de l'aluminium devient aléatoire chez certains rats, pouvant peut-être correspondre à de légères lésions de la membrane intestinale qui affecterait l'intégrité cellulaire. Ces variations entre les individus

peuvent être également dues à l'osmolarité de la solution qui est plus élevée que les autres solutions (445 mosm) et où certains échanges dictés par les lois de l'osmose peuvent avoir lieu.

Si nous éliminons les valeurs du groupe 6, les concentrations plasmatiques en aluminium semblent atteindre lentement une valeur limite de saturation pour le passage de l'aluminium dans le sang.

b - Influence du calcium

Il s'agit de l'expérience B (groupes 7 à 9). L'accumulation de l'aluminium dans les fragments intestinaux n'est pas modifiée par l'augmentation de la concentration calcique dans le milieu de perfusion. Cependant, le taux sanguin est réduit d'environ 50% après perfusion d'une solution aluminique contenant une quantité calcique doublée ou quadruplée ($0,005 < p < 0,05$; groupes 8 et 9 comparés au groupe 3).

Si le calcium est totalement supprimé du milieu de perfusion, nous observons une diminution de 50% du niveau d'aluminium accumulé dans le duodénum ($p < 0,01$, groupe 7 comparé au groupe 3), mais il n'y a pas de différence pour le jéjunum et l'iléon. Cependant, nous observons une différence au niveau plasmatique : le groupe 7 a une baisse de 50% de son aluminémie comparée au groupe 3 ($p < 0,005$).

Il existe un effet significatif de la concentration en calcium sur l'absorption intestinale de l'aluminium ; mais que ce soit une augmentation ou une diminution de la teneur calcique, les effets sont les mêmes et le taux plasmatique en aluminium diminue dans des proportions identiques ($0,005 < p < 0,05$), c'est toujours le groupe 3 qui a les valeurs les plus élevées. Cependant, les valeurs obtenues dans ces expériences (groupes 7, 8 et 9) sont toujours significativement supérieures à celle des témoins (groupe 1).

c - Influence du phosphore

Dans l'expérience C, le phosphore est éliminé du milieu de perfusion. Une diminution significative des concentrations aluminiques, c'est-à-dire du plasma ($p < 0,0001$), du duodénum et du jéjunum ($p < 0,05$), est observée dans le groupe 10. Il apparaît que la concentration plasmatique est réduite de 60%, alors que la baisse moyenne dans l'intestin est de 38%. Le taux d'aluminium dans l'iléon reste inchangé.

d - Influence du glucose

Nous avons supprimé le glucose du milieu de perfusion dans l'expérience D. Il s'ensuit une diminution significative de la concentration duodénale en aluminium d'environ 55% ($p < 0,005$) et de la concentration plasmatique en aluminium de 42% ($p < 0,05$). Les valeurs du groupe 11 ont été comparées à celles du groupe 3.

V - Discussion

L'objectif de la présente étude est de mesurer les effets, en utilisant la technique de perfusion intestinale sur des rats non urémiques, de plusieurs paramètres qui peuvent éventuellement influencer l'absorption intestinale de l'aluminium.

En effet, plusieurs facteurs peuvent modifier la quantité d'aluminium absorbée à travers la barrière intestinale, mais le facteur primordial dans l'intoxication aluminique est la biodisponibilité de l'aluminium. L'aluminium peut être présent sous une forme colloïdale ou complexée et soluble après liaison avec des agents chélatants. C'est pourquoi, nous avons préalablement vérifié l'ultrafiltrabilité des différentes solutions aluminiques utilisées pour cette étude, dans une solution de Tyrode à $\text{pH} = 4$.

Toutes les formes aluminiques présentent environ 100% d'ultrafiltrabilité, ainsi l'aluminium est soluble et donc biodisponible dans toutes les solutions. Les variations observées au niveau de l'absorption intestinale sont donc la conséquence de l'espèce chimique formée entre l'aluminium et le chélateur et non dues à des différences de quantité d'aluminium biodisponible à cause de précipités dans la solution initiale.

1) Rôle des solutions aluminiques

Les valeurs des concentrations aluminiques dans les différents fragments intestinaux sont modifiées selon la forme chimique de l'aluminium testée.

Nous observons la même accumulation de l'aluminium dans le duodénum et le jéjunum, mais les valeurs aluminiques varient selon les solutions : nitrate d'aluminium > chlorure d'aluminium, lactate d'aluminium, glutamate d'aluminium, sulfate d'aluminium > citrate d'aluminium, gluconate d'aluminium et tartrate d'aluminium. Pour l'iléon, l'ordre diffère de celui des segments

proximaux : lactate d'aluminium, chlorure d'aluminium > nitrate d'aluminium, citrate d'aluminium, glutamate d'aluminium > sulfate d'aluminium, gluconate d'aluminium, tartrate d'aluminium.

L'absorption de l'aluminium est reflétée par l'apparition de l'aluminium dans le sang. Nous observons que le niveau le plus élevé de l'aluminium plasmatique est obtenu pour la perfusion de citrate d'aluminium, ceci est en accord avec de nombreuses études sur cette forme chimique de l'aluminium (Slanina et coll., 1984 ; Bakir et coll., 1986 ; Martin, 1986a et b ; Weberg & Berstad, 1986 ; Froment et coll., 1989a ; Van der Voet et coll., 1989 ; Walker et coll., 1990 ; Owen et coll., 1994). Nous pouvons donner le classement suivant pour la concentration plasmatique en aluminium après 60 minutes de perfusion : citrate d'aluminium > tartrate d'aluminium, gluconate d'aluminium, lactate d'aluminium > chlorure d'aluminium, sulfate d'aluminium, glutamate d'aluminium, nitrate d'aluminium.

Comme nous le voyons dans le tableau 13, les valeurs d'aluminium dans le plasma sont négativement corrélées avec la quantité totale d'aluminium retenue dans la muqueuse intestinale. En d'autres termes, plus l'aluminium est retenu dans la muqueuse intestinale, moins l'aluminium apparaît dans le sang. Cette observation est confirmée par les travaux de Van der Voet (1992). Ainsi, nous observons que les composés inorganiques de l'aluminium, le glutamate d'aluminium et le lactate d'aluminium, sont plus difficilement absorbés alors que les complexes organiques de l'aluminium traversent facilement la barrière intestinale. Des travaux expérimentaux ultérieurs, chez le rat, ont déjà montré que certains acides, tel que les acides ascorbique, malique, oxalique, et d'autres, favorisaient l'absorption intestinale de l'aluminium (Domingo et coll., 1991a et b ; Gomez et coll., 1994).

Si nous regardons la composition moléculaire des complexes aluminiques, nous pouvons établir un ordre de grandeur de l'affinité entre les molécules organiques et minérales étudiées et le métal. Dans la littérature, les constantes de stabilité des complexes aluminiques n'étant pas disponibles (excepté pour le citrate d'aluminium et le sulfate d'aluminium), nous avons établi un ordre basé sur les groupements fonctionnels. En effet, nous savons que l'aluminium forme préférentiellement des complexes avec des molécules organiques contenant les groupements fonctionnels suivants :

- groupement carboxylique - COOH,

- groupement hydroxyl - OH,
- groupement azoté - NH₂.

Par contre, l'aluminium ne présente aucune affinité pour les groupements thiols -SH contrairement aux autres métaux lourds (Pb, Cd ...).

Ainsi, au sein d'une même molécule, le nombre de groupements susceptibles de former une liaison avec l'aluminium peut influencer la capacité de former un complexe plus ou moins stable entre l'acide et l'aluminium. En conséquence, en comparant les formules des différents composés étudiés, nous pouvons établir un ordre théorique de l'action chélatrice des acides organiques basé sur leurs groupements fonctionnels (tableau 14). Il apparaît que le meilleur chélateur de l'aluminium est l'acide citrique avec ses 3 groupements carboxyliques et son groupement hydroxyl. L'acide tartrique et l'acide gluconique présentent également des capacités de fixation intéressantes avec l'aluminium mais cependant inférieur à celle du citrate. Mais il est difficile de différencier ces deux derniers acides car l'un, l'acide tartrique, possède 2 groupements carboxyliques et 2 groupements hydroxyl alors que l'autre, l'acide gluconique, présente 1 seul groupement carboxylique et 5 groupements hydroxyl. Ne sachant pas quel groupement possède le plus d'affinité, nous ne pouvons pas différencier ces deux molécules. L'acide lactique, avec un seul groupement hydroxyl et un seul carboxylate viendrait ensuite dans le classement. En ce qui concerne l'acide glutamique, nous avons 2 fonctions carboxyliques et un groupement azoté. Cependant, au pH de l'expérience, le groupement -NH₂ est sous forme -NH₃⁺ (pKa = 9,67).

Tableau 13 : Résumé et classement de différents paramètres des formes aluminiques testées et constantes de dissociation des acides (pKa)

Formes Aluminiques	Retention de l'aluminium dans l'intestin			Taux plasmatique d'aluminium	Affinité	pKa
	Duodénum	Jéjunum	Iléon			
Al citrate	+	+	++	+++	+++++++	3.14 - 4.77 - 6.39
Al tartrate	+	+	+	++	+++++	2.98 - 4.34
Al glutamate	++	+++	++	+	+++	2.19 - 4.25 - 9.67
Al lactate	++	+++	+++	++	++++	3.08 - 3.76
Al gluconate	+	+	+	++	+++++	3.60
Al chlorure	++	++++	+++	+	++	.
Al nitrate	+++	+++++	++	+	+	.
Al sulfate	++	++	+	+	++	.

++++ = Niveau le plus élevé de rétention aluminique dans les fragments intestinaux, d'aluminium plasmatique après 60 minutes d'incubation, et plus forte affinité entre les chélateurs aluminium.
 + = Niveau le plus bas pour chaque paramètre.

Tableau 14 : Formules des acides organiques utilisés pour notre étude et nombre de groupements fonctionnels ayant une affinité pour l'aluminium.

Acides	Formules	Groupements fonctionnels		
		-COOH	-OH	-NH ₂
ACIDE CITRIQUE	CH ₂ - COOH			
	HO - C - COOH CH ₂ - COOH	3	1	-
ACIDE LACTIQUE	CH ₃			
	CHOH COOH	1	1	-
ACIDE TARTRIQUE	COOH			
	CHOH CHOH COOH	2	2	-
ACIDE GLUCONIQUE	COOH			
	CHOH CHOH CHOH CHOH CH ₂ OH	1	5	-
ACIDE GLUTAMIQUE	COOH			
	CH ₂ CH ₂ CH - NH ₂ COOH	2	-	1

Après les complexes formés avec les acides organiques, l'aluminium peut présenter une affinité avec certaines molécules minérales. Le sulfate et le chlorure présentent des caractères complexants très moyens vis-à-vis de l'aluminium. Par contre, le nitrate est connu pour n'avoir aucun pouvoir complexant avec les cations métalliques. Ainsi, nous remarquons que l'absorption de l'aluminium est corrélée positivement avec l'affinité que présente l'aluminium avec les complexants. Les molécules organiques sont celles qui présentent la plus forte affinité par la présence des groupements fonctionnels -COOH, -OH et -NH₂. Ce sont également ces composés qui présentent la plus forte concentration dans le plasma et les plus faibles rétentions dans les fragments intestinaux : avec le citrate d'aluminium qui est le plus absorbé, puis le tartrate d'aluminium, le gluconate d'aluminium, le lactate d'aluminium puis le glutamate d'aluminium. Les composés les moins bien absorbés sont les complexes minéraux avec le nitrate d'aluminium qui est celui qui traverse la barrière intestinale avec le plus de difficulté.

Ainsi, plus un complexe est stable, plus l'absorption intestinale est grande car l'aluminium reste sous une forme soluble. Alors qu'un complexe peu stable, peut se dissocier facilement et former des précipités de phosphate d'aluminium, de carbonate d'aluminium ou d'hydroxyde d'aluminium. Lorsque l'aluminium est sous une forme précipitée, il ne peut plus passer à travers les membranes et il s'accumule au niveau du lieu de précipitation. C'est pour cette raison que peu d'aluminium est retrouvé dans le plasma alors que les concentrations dans les tissus intestinaux sont élevées.

2) Rôle des segments intestinaux

Les résultats de cette étude montrent que pour le chlorure d'aluminium, le nitrate d'aluminium, le sulfate d'aluminium, le glutamate d'aluminium, le lactate d'aluminium, il existe une différence d'accumulation de l'aluminium selon les fragments intestinaux. En effet, et quelle que soit la durée d'incubation, on a l'accumulation dans un ordre décroissant : jéjunum > duodénum > iléon. Pour les autres solutions (le citrate d'aluminium, le tartrate d'aluminium, le gluconate d'aluminium) où l'absorption aluminique est la plus conséquente, la différence d'accumulation de l'aluminium entre les segments intestinaux est moindre. Nous savons que l'un des facteurs influençant l'absorption de l'aluminium est la forme chimique ; or les espèces chimiques en solution sont conditionnées par le pH. Van der Voet (1986) a en effet montré que l'absorption de l'aluminium est pH

dépendante. Une caractéristique importante du tractus gastro-intestinal est les modifications de pH. Au niveau du duodénum, le pH est acide (pH = 2 à 3) et l'aluminium reste sous une forme soluble $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$. Cette espèce chimique est disponible pour la complexation et pour le passage de la muqueuse intestinale. Pour cette raison, certains auteurs trouvent que le maximum de l'absorption se fait au niveau du duodénum et de l'estomac (Alfrey, 1986 ; Provan & Yokel, 1988a). Le pH augmente ensuite progressivement de la fin du duodénum (arrivée des canaux biliaires et pancréatiques) jusqu'à l'iléon pour atteindre alors un pH de 7 à 8. L'aluminium va précipiter localement sous l'influence de cette augmentation de pH. Ce phénomène explique l'augmentation de l'accumulation aluminique au niveau du jéjunum. Ces résultats sont en accord avec ceux de Feinroth et coll. (1982). Enfin, au niveau de l'iléon, l'accumulation de l'aluminium est la plus faible car une grande partie de l'aluminium n'est déjà plus dans la lumière intestinale, soit l'aluminium à précipiter au niveau de l'intestin proximal, soit l'aluminium a été absorbé, ce qui concorde avec les travaux de Partridge et coll. (1989). Plus le composé aluminique est soluble et stable dans un intervalle de pH important, comme le citrate d'aluminium, plus le chélateur facilite l'absorption transépithéliale de l'aluminium via un effet direct sur les mécanismes de transport cellulaire (Froment et coll., 1989b). Pour résumer, jusqu'à pH 4, c'est-à-dire au niveau du duodénum, l'aluminium est susceptible de rester à l'état cationique sous forme $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$. Le métal peut rester en solution sans être précipité et ceci même en l'absence de complexants. L'aluminium est donc biodisponible. Au niveau du jéjunum et de l'iléon, le pH se rapproche de la neutralité. Les acides tartrique, lactique et gluconique sont sous forme de tartrate, lactate et gluconate pour plus de 99%. Le citrate a deux fonctions à l'état de $-\text{COO}^-$ et la troisième, dont le pKa est de 6,39 est pour 80% sous forme de $-\text{COO}^-$ et pour 20% sous forme de $-\text{COOH}$. Pour l'acide glutamique, les fonctions carboxyliques sont déprotonées (sous forme $-\text{COO}^-$) et le groupement azoté est sous forme $-\text{NH}_3^+$. Ainsi, en dehors de l'acide glutamique, il n'y a pas d'influence du pH sur le pouvoir complexant des différents acides envisagés.

3) Rôle de la durée d'incubation

Nous voyons que deux solutions ont une baisse d'accumulation de l'aluminium dans l'intestin sans être suivie d'une augmentation de sa concentration plasmatique.

Le chlorure d'aluminium accumule beaucoup moins d'aluminium au niveau de l'iléon après 60 minutes d'incubation. Ceci peut être la conséquence

d'une remobilisation de l'aluminium précipité dont la cinétique ne permettrait pas d'observer ce phénomène sur des temps plus courts.

Le citrate d'aluminium voit également la concentration intestinale de l'aluminium diminuer d'environ 50% dans tous les segments intestinaux après 60 minutes d'incubation. Ce temps semblerait nécessaire à atteindre un équilibre au niveau des transferts à travers la barrière intestinale. Cependant, au niveau plasmatique, nous n'observons pas de différence car, dès 15 minutes d'incubation, l'absorption semble être maximale.

Pour les autres solutions, l'accumulation intestinale augmente avec le temps d'incubation. Cette augmentation peut avoir lieu dans le duodénum et le jéjunum (c'est le cas du tartrate d'aluminium), au niveau du duodénum et de l'iléon (gluconate d'aluminium) ou dans l'iléon (lactate d'aluminium). Dans ces cas, nous observons une augmentation relativement importante de l'absorption et de l'aluminémie après 60 minutes (environ 40%). Ainsi, pour ces solutions, l'augmentation de l'aluminium retenu dans l'intestin signifie une augmentation du passage de l'aluminium dans le compartiment sanguin. L'augmentation du temps de contact favorise le passage de la lumière intestinale à l'entérocyte, puis de l'entérocyte au système sanguin. Pour le nitrate d'aluminium, le sulfate d'aluminium et le glutamate d'aluminium, l'augmentation du temps de contact entre le métal et le tissu intestinal n'a que peu d'effet. Ces solutions ont peu d'affinité avec l'aluminium, l'accumulation de l'aluminium est immédiate et très élevée dès le début de l'incubation.

4) Mécanismes de l'absorption de l'aluminium par le tractus intestinal

Il est connu que les mécanismes de l'absorption intestinale de l'aluminium incluent en même temps une voie paracellulaire le long des entérocytes (transport passif, processus de transport non saturable) et une voie transcellulaire à travers les entérocytes (transport passif, facilité et actif, processus de transport saturables) (Van der Voet, 1992 ; Adler & Berlyne, 1985). Le transport de l'aluminium semble se faire en plusieurs phases. La phase initiale est due à la distribution ou à l'absorption de l'aluminium à la surface de la muqueuse intestinale. La seconde phase présumée résulte de l'élimination de l'aluminium de la lumière et peut refléter l'absorption de l'aluminium par la muqueuse intestinale (Provan & Yokel, 1988). Cette phase semble être la cible du DNP, utilisé pour l'inhibition des processus actifs, car nous observons dans notre étude

une diminution de la rétention aluminique dans différents fragments intestinaux mais pas de modification au niveau de l'apparition de l'aluminium dans le compartiment sanguin. La concentration en DNP a été directement transposée des données de la littérature (Feinroth et coll., 1982). La diminution significative de la concentration aluminique dans l'intestin est une conséquence de modifications dans la voie transcellulaire du métal.

Dans notre étude, nous travaillons avec des concentrations en aluminium élevées dans le perfusat, c'est la raison pour laquelle la majorité de l'absorption de l'aluminium se fait par la voie paracellulaire non saturable. Nous voyons également que le taux d'aluminium plasmatique n'est pas modifié parce que les mécanismes énergie-dépendants ont une importance moindre pour de fortes concentrations en aluminium dans la lumière intestinale. Munch & Schultz (1974) suggèrent que le jéjunum, en particulier, présente un flux important de cations par la voie paracellulaire, en accord avec nos résultats. En fait, Okada et coll. (1977) rapportent que la voie paracellulaire dans l'intestin grêle du rat représente 90% de la conductance totale du tissu. Ces observations suggèrent qu'une large fraction de l'absorption aluminique a lieu entre les cellules, plutôt qu'au travers d'elles.

Cependant, nous ne pouvons pas négliger la voie transcellulaire car nous voyons que l'augmentation de la concentration en aluminium dans le perfusat s'accompagne d'une augmentation progressive de l'accumulation du métal dans l'intestin. Mais les valeurs plasmatiques ne sont pas significativement différentes pour des valeurs en aluminium perfusées allant jusqu'à 480 μmol d'aluminium. Ceci suggère l'existence d'un phénomène saturable pour le passage de l'aluminium dans le sang. Par contre, pour des valeurs d'aluminium perfusées de 640 μmol , la valeur moyenne dans le sang augmente brusquement, avec cependant des variations interindividuelles très grandes pouvant être dus à l'osmolarité de la solution. Ainsi, si nous excluons ces valeurs, nous voyons que l'absorption de l'aluminium et son apparition dans le sang pourraient emprunter une voie de transfert saturable. De plus, d'autres résultats nous signalent qu'une partie de l'absorption aluminique est régie par des phénomènes saturables. Ces mécanismes peuvent être, soit énergie-dépendant, soit dépendants de transporteurs présents en nombre limité. Les résultats obtenus pour les expériences B, C et D sur le Ca, le glucose et le phosphore vont dans ce sens.

Des chercheurs ont démontré qu'une partie de l'absorption active de l'aluminium peut être semblable aux processus empruntés pour l'absorption

active du calcium. L'hyperparathyroïdie est un paramètre en rapport avec l'augmentation de l'absorption de l'aluminium (Mayor et coll., 1977 et 1980). Adler & Berlyne, en 1985, ont étudié l'absorption intestinale de l'aluminium chez des rats déficients ou non en vitamine D. Leurs résultats suggèrent que l'aluminium est absorbé à la fois par des mécanismes non saturables et un mécanisme vitamine D-dépendant, saturable, pour lequel l'aluminium peut être en compétition avec le calcium.

Dans notre étude, lorsque nous augmentons la concentration calcique dans la perfusion, nous observons une diminution de l'absorption de l'aluminium plasmatique. Ces résultats sont en accord avec ceux précédemment cités qui suggèrent une compétition entre le calcium et l'aluminium. Les deux cations seraient en compétition pour les sites de fixation des protéines solubles cytoplasmiques (de poids moléculaire compris entre 9 000 et 10 000 daltons) responsables de l'acheminement et du relargage des ions vers la membrane basolatérale de l'entérocyte (Adler et coll., 1986 ; Cochran et coll., 1990a). L'absorption du calcium a lieu principalement au niveau du duodénum (Favus, 1985). Ainsi, lorsque la concentration en cations est trop élevée, la saturation des protéines de fixation va entraîner la réduction de l'absorption. Par la suite, l'absorption est régulée par l'hormone parathyroïde et la vitamine D₃ qui interviennent sur la stimulation de la synthèse intracellulaire des protéines fixatrices de calcium. Mais, notre temps d'incubation de 60 minutes est trop court pour permettre de voir les effets de cette augmentation de synthèse se répercuter sur l'augmentation de l'absorption de l'aluminium et son passage dans le sang. De plus, nous savons que le passage paracellulaire de l'aluminium est sous l'influence du calcium car le calcium modifie l'étanchéité des jonctions serrées des cellules épithéliales. En effet, le calcium extracellulaire est nécessaire à la fermeture de ces jonctions (Martinez-Palomo et coll., 1980). Lorsque nous augmentons le calcium dans la perfusion, nous provoquons la fermeture des jonctions et nous diminuons ainsi le passage paracellulaire de l'aluminium par conséquent, l'apparition du métal dans le sang.

Cependant, nous observons également une baisse de l'absorption de l'aluminium dans le duodénum et dans le plasma lorsque nous supprimons le calcium dans la perfusion. Ceci est en contradiction avec les résultats de Provan et Yokel (1988 et 1990) et Yokel & Mc Namara (1990) qui observent une augmentation de l'absorption en absence de calcium. Or les expériences faites en relation avec un manque de calcium ont souvent des résultats qui diffèrent mais les sels aluminiques utilisés sont souvent différents d'une étude à l'autre, de même que les protocoles expérimentaux. Ces divergences rendent difficile la

comparaison des résultats de plusieurs études. Dans notre étude, la disparition du calcium du milieu de perfusion est suivie d'une diminution rapide de l'absorption de l'aluminium. Nous savons que le calcium est nécessaire aux contractions musculaires en se liant à la calmoduline ; ce mécanisme est celui qui intervient au niveau du péristaltisme intestinal. Ainsi, en supprimant totalement l'apport de calcium intraluminal, nous pouvons modifier l'équilibre calcique par la sortie des ions calcium vers la lumière intestinale selon les lois qui régissent l'osmose. La cellule se trouve alors appauvrie en calcium et l'apport d'aluminium modifie la configuration des sites de fixation du calcium (Siegel & Haug, 1983). De plus, nous savons que l'aluminium diminue le péristaltisme intestinal (Cunat et coll., 1998), entraînant une diminution des mouvements de brassage nécessaire à optimiser le contact des molécules avec la muqueuse et donc la réduction de l'absorption, que ce soit vis-à-vis de l'aluminium ou des autres molécules.

En accord avec Feinroth et coll. (1982) nous voyons que l'absorption aluminique est inhibée par l'absence de glucose et l'absence de phosphore, ces deux paramètres étant inhibiteurs de la respiration cellulaire, suggérant ainsi que l'aluminium est transporté de façon active. La diminution de l'absorption de l'aluminium lorsque le phosphore et le glucose sont supprimés peut être due à la diminution du péristaltisme comme précédemment cité, sans agir au niveau du complexe protéique Ca^{2+} -calmoduline, mais cette fois-ci, au niveau des phénomènes énergétiques comme la formation d'ATP ou la précipitation d'ATP par Al^{3+} .

Nous avons étudié ces quelques facteurs influençant l'absorption de l'aluminium à travers la barrière intestinale avec du citrate d'aluminium car le passage de l'aluminium est plus important lorsqu'il est chélaté et le citrate favorise cette absorption. Cependant, le citrate devient un paramètre supplémentaire dans l'étude de l'absorption de l'aluminium qui est déjà dépendante de nombreux facteurs qui modifient l'absorption du métal et rendent ainsi plus difficile la connaissance des mécanismes précis du passage dans l'organisme et donc de la toxicité. Par exemple, l'acide citrique est connu pour augmenter l'absorption d'autres minéraux comme le calcium (Harvey et coll., 1988), le fer (Garber & Wei, 1974) et le zinc (Hurley & Lönnerdal, 1982), ce qui peut éventuellement influencer de façon indirecte, l'absorption de l'aluminium. L'absorption de l'aluminium est facilitée par le citrate et considérée comme importante par de nombreux auteurs ; mais si nous regardons la quantité totale d'aluminium contenue dans les organes, après une perfusion de 480 μmol d'aluminium, en excluant l'intestin, elle ne représente que 0,1% de la quantité

d'aluminium totale perfusée, soit 27 µg. La quantité d'aluminium contenue dans l'intestin grêle, sachant que l'intestin est directement en contact avec le métal, ne représente que 1% de l'aluminium (résultats non publiés).

Ainsi, le passage de l'aluminium dans l'organisme ne représente qu'une très faible fraction de l'aluminium présent dans la lumière (Alfrey, 1984) et la majorité sera éliminée dans les fèces (Ondreicka et coll., 1966) et dans l'urine (Szczekocki & Chmielewski, 1978 ; Galle, 1981 ; Burnatowska-Hledin et coll., 1985b).

TROISIEME PARTIE

ACCUMULATION DE L'ALUMINIUM ET DU FER APRES INGESTION D'UNE NOURRITURE SUPPLEMENTEE AVEC CES METAUX

I - Introduction

Berlyne et coll. (1970) ont été les premiers à suggérer que l'aluminium administré par voie orale pouvait être absorbé et retenu dans l'organisme. Depuis, plusieurs études ont rapporté l'augmentation de l'aluminémie et de l'aluminurie après ingestion de sels d'aluminium chez l'homme (Kaehny et coll., 1977 ; Recker et coll., 1977 ; Gorsky et coll., 1979) et chez l'animal de laboratoire (Van der Voet & De Wolff, 1985 ; Feinroth et coll., 1982).

Peu d'informations sont disponibles sur les facteurs physiologiques et alimentaires qui peuvent influencer l'absorption de l'aluminium. Les mécanismes spécifiques de cette absorption ne sont pas connus. Par analogie avec d'autres métaux, l'aluminium pourrait traverser la muqueuse intestinale par les voies du passage de certains éléments essentiels et qui ont une similitude chimique. Les propriétés chimiques de l'aluminium suggèrent que l'un de ces éléments potentiels pourrait être le fer ferrique (Fe^{3+}). En effet, les ions Fe^{3+} et Al^{3+} ont la même valence et possèdent un rayon ionique très proche. En conséquence, ils ont des propriétés chimiques voisines. Les deux cations présentent un optimum de solubilité aux pH acides et forment des hydroxydes insolubles pour des pH compris entre 4 et 9. Le fer ferrique et l'aluminium forment également des complexes avec le citrate et d'autres chélateurs telle que la transferrine (Bothwell et coll., 1979 ; Ganrot, 1986 ; Martin, 1986 ; Martin et coll., 1987 ; Cochran et coll., 1984 ; Trapp, 1983). Ainsi l'absorption de l'aluminium peut être contrôlée par certains facteurs régulant l'absorption du fer.

Les propriétés chimiques de l'aluminium suggèrent que l'absorption intestinale se ferait préférentiellement au niveau du duodénum car les sels d'aluminium sont solubles aux concentrations rencontrées, aux pH inférieurs à 4-4,5 et ce sont les conditions que l'on rencontre au début du tractus intestinal. Comme nous l'avons déjà signalé, lorsque le pH augmente, l'aluminium est progressivement hydroxylé, polymérisé et devient insoluble (Alfrey, 1986 ; Martin, 1986). Le citrate augmenterait de façon significative la solubilité de l'aluminium en formant des complexes stables de citrate d'aluminium. Le complexe est neutre et cette forme traverse la muqueuse intestinale plus facilement que les ions hydroxylés avec une charge ionique aux intervalles de pH compris entre 4 et 5 (Martin, 1986 ; Martin et coll., 1987).

Ainsi, l'absorption de l'aluminium et du citrate d'aluminium est optimale à ces pH. L'administration orale simultanée de citrate et d'aluminium augmente le niveau d'aluminium dans le sérum et les tissus de rats mais aussi dans le sérum et l'urine des sujets humains (Slanina et coll., 1985 ; Slanina et coll., 1986 ; Froment et coll., 1989 ; Kirschbaum & Schoolwerth, 1989a).

En se basant sur ces observations, nous avons étudié l'interaction entre l'aluminium et le fer au niveau de l'absorption intestinale et de l'accumulation tissulaire chez le rat. Nous avons étudié le fer ferrique (Fe^{3+}) et le fer ferreux (Fe^{2+}), ainsi que l'influence du citrate lorsque celui-ci est ajouté en quantité équimolaire à l'alimentation.

II – Matériel et méthodes

1) Voie et mode d'administration

La voie orale est la voie principale d'exposition de l'aluminium dans l'organisme humain, le métal sera donc administré par voie orale chez le rat. Expérimentalement, l'administration entérale par gavage est la plus fréquente. Toutefois, l'administration par gavage ne semble pas judicieux car chez l'homme, l'exposition n'est pas aiguë mais réitérée au cours de la journée. Une étude réalisée par Bernuzzi (1988) quant au traitement par voie orale concluait que dans l'ensemble des essais réalisés (eau, nourriture ou gavage), le traitement aluminique par la nourriture correspondait au protocole le plus satisfaisant.

Notre choix s'est donc orienté vers des administrations de sel d'aluminium et de fer par l'intermédiaire de la nourriture.

2) Réactifs utilisés

Le chlorure d'aluminium hexahydraté ($\text{AlCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$) provient de Aldrich (France). Le chlorure de fer (III) (hexahydraté, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), le chlorure de fer (II) (tétrahydraté, $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), et le citrate tri-sodique (dihydraté, $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) proviennent de Prolabo (France).

L'acide nitrique suprapur (HNO_3) a été commandé chez Merck (France).

La poudre de croquette M25 pour rongeurs provient de chez Extralabo (Provins, France) et la farine de blé type 45 (Albona, Allemagne).

L'eau distillée est obtenue avec un système Millipore, modèle Milli-Q.

3) Matériel utilisé

- Centrifugeuse type Labofuge 2000 (Heraeus Sepatech)
- Aiguille 0,7 mm x 30 mm (Terumo)
- Seringue 2 ml et 10 ml (Terumo)
- Capillaires pour hématocrite, 75 mm / 60 μl (Hirschmann Laborgerate)

4) Choix des quantités administrées

L'administration orale d'aluminium est prescrite afin de lutter contre l'hyperphosphatémie des insuffisants rénaux chroniques. C'est pourquoi dans cette étude, nous avons déterminé la dose d'aluminium nécessaire à complexer l'ensemble des phosphates apportés par la nourriture. La quantité de phosphates contenue dans la poudre de croquette est donnée dans la composition fournie par le fabricant (annexe 1). La quantité de phosphore apportée par la farine de blé est considérée comme négligeable, car l'essentiel du phosphore est sous forme phytates, non assimilables par l'organisme (Alais & Linden, 1991). Ainsi, les quantités de métal ont été calculées de la manière suivante : un kilogramme de nourriture M25 Extralabo apporte 7,5 g de phosphore soit 0,24 moles de phosphore. Il faut donc administrer 0,248 moles d'aluminium par kg de nourriture soit 6,7 g Al par kg de nourriture.

Ainsi, notre dose d'aluminium la plus élevée (protocole 1, pour 10 jours d'intoxication) est de 60 g de chlorure d'aluminium hexahydraté, soit 6,71 g Al par kg de nourriture. Pour la quantité de fer à apporter, nous avons gardé le même nombre de mole (0,248 moles de fer) soit 67,04 g de chlorure de fer(III) ou 13,84 g de Fe(III) par kg de nourriture.

Pour une intoxication sur 60 jours, nous avons diminué 10 fois les doses (soit 24,8 mmole de métal) :

- chlorure d'aluminium : 6,0 g / kg nourriture (soit 0,67 g Al / kg nourriture)
- chlorure de fer (III) : 6,7 g / kg nourriture (soit 1,38 g Fe / kg nourriture)
- chlorure de fer (II) : 4,93 g / kg nourriture (soit 1,38 g Fe / kg nourriture)
- citrate tri-sodique : 7,29 g / kg nourriture pour les groupes T, Al, Fe(III) et Fe (II), et 14,58 g / kg nourriture pour les groupes Al/Fe(III) et Al/Fe(II).

III – Protocole expérimental

1) Protocole de traitement des animaux

L'étude est réalisée sur des rats mâles dont le poids corporel est de 210 ± 25 grammes. Le choix des rats mâles a été orienté par l'inexistence de cycle œstral pouvant interférer sur les teneurs des différents éléments recherchés.

Avant le traitement, l'eau et la nourriture (croquettes M25, Extra Labo, Provins, France) sont distribuées *ad libitum*.

Pendant le traitement, l'aluminium et le fer seront mélangés à la nourriture standard suivant la composition de base suivante :

Farine de blé	200 g
Nourriture standard en poudre M25.....	800 g
Eau ultra-pure.....	600 g

Après homogénéisation, les croquettes sont reconstituées et séchées pendant plusieurs jours avant d'être distribuées aux animaux. La farine de blé sert de liant et l'eau permet la reconstitution des croquettes en formant une pâte avec la poudre d'aliment et la farine.

Avant de débiter les traitements, les animaux sont divisés en plusieurs groupes (tableau 15).

Tableau 15 : Protocole d'intoxication des rats et quantité d'aluminium, de fer et de citrate (en grammes) ajouté à la nourriture (pour 1 kg de croquettes).

Protocole N°	Durée	Groupes	Croquettes reconstituées supplémentées			
			Al	Fe(III)	Fe(II)	Citrate
1	10 jours	Témoin, T	-	-	-	-
		Aluminium, Al	6,71	-	-	-
		Fer (III), Fe(III)	-	13,84	-	-
		Aluminium + Fer (III), Al/Fe(III)	6,71	13,84	-	-
2	60 jours	Témoin : T	-	-	-	-
		Aluminium : Al	0,67	-	-	-
		Fer (III) : Fe(III)	-	1,38	-	-
		Aluminium + Fer (III) : Al/Fe(III)	0,67	1,38	-	-
		Fer(II) : Fe(II)	-	-	1,38	-
		Aluminium + Fer (II) : Al/Fe(II)	0,67	-	1,38	-
3	60 jours	Témoin + citrate : T-cit	-	-	-	7,29
		Aluminium + citrate : Al-cit	0,67	-	-	7,29
		Fer (III) + citrate : Fe(III)-cit	-	1,38	-	7,29
		Aluminium + Fer (III) + citrate : Al/Fe(III) -cit	0,67	1,38	-	14,58
		Fer(II) + citrate : Fe(II)-cit	-	-	1,38	7,29
		Aluminium + Fer (II) + citrate : Al/Fe(II)-cit	0,67	-	1,38	14,58

Les jours précédant le début de l'expérimentation, les animaux reçoivent des croquettes reconstituées (sans adjonction de métal) afin qu'ils puissent

s'habituer à la légère différence de composition de nourriture. Afin d'éviter tout phénomène de sous-nutrition, les animaux reçoivent tous les jours une quantité déterminée de nourriture fixée en fonction de la consommation de la veille. L'évolution de la consommation est suivie tout au long du traitement. L'augmentation de la ration journalière est calculée de la manière suivante : si le rat mange toute la nourriture en 24 heures, le lendemain, la quantité de nourriture sera augmentée de 10%. S'il reste de la nourriture, la quantité du lendemain restera la même.

L'eau est distribuée *ad libitum*. L'évolution pondérale des animaux est suivie tout au long du traitement.

2) Sacrifice des animaux et prélèvements

A la fin du traitement, les animaux sont anesthésiés au pentobarbital sodique (Sanofi, Santé Animale) à la dose de 80 mg.kg⁻¹.

a - Prélèvement du sang

Le prélèvement du sang est fait immédiatement après l'anesthésie par ponction cardiaque avec une seringue préalablement héparinée.

Un aliquot de sang total est utilisé pour la détermination des hématocrites. Des capillaires sont remplis de sang puis centrifugés pendant 5 minutes à 900 g. Avec le reste du sang, une partie est recueillie dans des tubes héparinés puis centrifugés à 3 000 g pendant 3 minutes pour récupérer le plasma, l'autre partie est conservée pour le dosage des éléments sanguins.

b - Prélèvement des organes et du fémur

Le foie, la rate, les reins et le cerveau sont prélevés et pesés. Le fémur est dégagé des muscles qui y adhèrent, sans entamer le périoste. L'os est alors placé dans un tube et séché pendant 24 heures à 70° C avant d'être pesé. Tous les organes sont solubilisés dans l'acide nitrique.

L'intestin est également prélevé ; 3 segments sont différenciés et disséqués :

- le duodénum : 8 cm après le pylore
- le jéjunum : 20 cm après le ligament de Treitz
- l'iléon : 20 cm avant le caecum.

Chaque fragment est découpé dans le sens longitudinal de l'organe :

- un fragment est pesé pour être solubilisé entièrement
- l'autre fragment est gratté sur la face luminale afin de séparer la muqueuse de la séreuse (technique de "scrapping"). La muqueuse est alors récupérée, pesée puis solubilisée.

3) Déterminations analytiques

Pour chaque prélèvement, sanguin et tissulaire, nous déterminons par spectrophotométrie d'émission atomique à plasma d'argon, les concentrations des éléments suivants : l'aluminium, le fer, le calcium, le phosphore, le magnésium, le potassium et le sodium.

IV - Résultats

1) Evaluation des quantités de nourriture et de métal ingérées

L'évaluation des quantités de nourriture et de métaux ingérées par les rats est donnée dans les tableaux 16 et 17.

Tableau 16 : Evaluation des quantités de croquettes, d'aluminium et de fer ingérées par les animaux au cours du traitement de 10 jours.

GROUPES	QUANTITES INGEREES		
	Croquettes (g)	Aluminium (mg Al / jour)	Fer (mg Fe / jour)
T	245 ± 10	-	-
Al	141 ± 14 *	95 ± 9	-
Fe(III)	113 ± 28 *	-	156 ± 39
Al/Fe(III)	44 ± 13 *	29 ± 9	61 ± 18

* Significativement différent du groupe témoin (p < 0.0001)

Les quantités de nourriture ingérées quotidiennement par les animaux sont modifiées par la prise orale de chlorure d'aluminium et de chlorure de fer. Les animaux témoins ingèrent significativement plus de nourriture que les

Les animaux témoins ingèrent significativement plus de nourriture que les autres groupes ($p < 0,0001$). Parmi les animaux intoxiqués, les prises alimentaires sont également différentes : le groupe Al/Fe(III) se différencie des groupes Al et Fe(III) et l'ingestion de nourriture est largement plus faible pour ce groupe Al/Fe(III) ($p < 0,0001$). Par contre, il n'existe pas de différence entre l'alimentation du groupe Al et du groupe Fe(III).

Tableau 17 : Evaluation des quantités de croquettes, d'aluminium et de fer ingérées par les animaux au cours du traitement de 60 jours.

Groupes	NOURRITURE SANS SUPPLEMENTATION EN CITRATE			NOURRITURE AVEC SUPPLEMENTATION EN CITRATE		
	Quantité ingérée			Quantité ingérée		
	Croquette (g)	Aluminium (mg/jour)	Fer (mg/jour)	Croquette (g)	Aluminium (mg/jour)	Fer (mg/jour)
T	1463±41	-	-	1485±86	-	-
Al	1499±79	17±1	-	1453±39	16±1	-
Fe(III)	1558±63	-	36±1	1490±83	-	34±2
Al/Fe(III)	1456±49	16±1	33±1	1589±36	18±1	37±1
Fe(II)	1420±84	-	33±2	1572±50	-	36±1
Al/Fe(II)	1537±78	17±1	35±2	1579±110	18±1	36±2

Dans le protocole où l'alimentation n'est pas supplémentée en citrate, le groupe Fe(III) a une consommation de croquettes légèrement supérieure aux groupes Témoin, Fe(II) et Al/Fe(III) ($p < 0,05$). De même, le groupe Al/Fe(II) a consommé un peu plus de croquettes que le groupe Fe(II) ($p < 0,05$).

Dans le protocole où le citrate a été ajouté à l'alimentation, nous observons que le groupe Al/Fe(III)-citrate a consommé plus de croquettes que les groupes T-citrate ($p < 0,05$), Al-citrate ($p < 0,0001$) et Fe(III)-citrate ($p < 0,05$). La consommation des groupes Al/Fe(II)-citrate et Fe(II)-citrate est supérieure au groupe Al-citrate (respectivement $p < 0,001$ et $p < 0,05$).

Lorsque nous comparons les différences de nourriture ingérées entre les groupes avec ou sans citrate, nous voyons que les groupes Al/Fe(III)-citrate et Fe(II)-citrate ont une consommation plus élevée que les groupes équivalents sans citrate (respectivement $p < 0,0005$ et $p < 0,005$). Les autres groupes ne

présentent pas de différence significative. Les variations ne sont pas importantes et lorsque nous regardons la quantité moyenne de métal ingérée quotidiennement, nous voyons que les animaux sont exposés à des quantités équivalentes de métaux.

2) Caractéristiques des croquettes reconstituées

Le pH des croquettes a été déterminé, ainsi que la quantité d'aluminium et de fer dans les croquettes témoin (tableau 18).

Le pH des croquettes est aux environs de 5,0 à 5,5 (croquettes témoin et croquettes des traitements à long terme). Par contre, pour les traitements avec les doses les plus élevées en métal, le pH diminue fortement. Pour les croquettes contenant de l'aluminium, le pH est de 4 ; pour celles contenant du fer(III), il est de 3,5 et enfin pour les croquettes ayant simultanément l'aluminium et le fer(III) il est de 2,5.

Cette acidité croissante pourrait expliquer la diminution de prise de nourriture chez les rats concernés, car l'acidité semble corrélée positivement avec la diminution de l'ingestion de croquettes. La teneur en aluminium et en fer a été déterminée dans les croquettes témoins afin de connaître l'apport en métal de façon "naturelle". Pour cela, deux dosages ont été réalisés en parallèle : 10 g de croquettes témoins sont broyés et mélangés avec 100 ml d'eau distillée ou 100 ml d'acide chlorhydrique diluée (pH = 1,8). Le mélange est agité pendant 24 heures puis centrifugé. Le surnageant est dosé. Une fraction de ce surnageant est placée dans des tubes Centrisart afin de déterminer la fraction du métal biodisponible.

Tableau 18 : Teneur en aluminium et en fer des croquettes témoins ($\mu\text{g} / \text{g}$ croquette).

Préparation	Quantité d'aluminium		Quantité de fer	
	Totale	Ultrafiltrable	Totale	Ultrafiltrable
H ₂ O	1.3 \pm 0.01	1.0 \pm 0.03	4.4 \pm 0.04	0.4 \pm 0.02
HCl	6.0 \pm 0.08	3.5 \pm 0.03	8.3 \pm 0.32	2.6 \pm 0.01

Ainsi, nous voyons que la quantité totale de métal est faible par rapport aux quantités ajoutées et la quantité de métal soluble, c'est-à-dire biodisponible, est négligeable.

3) Evolution pondérale des animaux durant les différents traitements

Les animaux témoins et traités sont pesés régulièrement : 2 fois par semaine.

Les évolutions pondérales sont représentées dans les figures 20, 21a et b.

a - Traitement de 10 jours

En ce qui concerne le protocole 1, avec les plus fortes doses administrées, nous constatons que tous les animaux traités présentent une évolution pondérale nettement moins rapide que les animaux témoins dès le troisième jour du traitement pour les groupes Al ($p < 0,05$), Fe(III) ($p < 0,001$) et Al/Fe(III) ($p < 0,0001$). Par contre, au sein des différents groupes traités, il n'existe pas de différence significative. Les jours suivants (J7 et J10), le groupe T est significativement différent de tous les autres groupes ($p < 0,0001$) et le groupe Al/Fe(III) est également différent des autres groupes traités Al, et Fe(III) ($p < 0,0001$). Entre le groupe Al et Fe(III), il n'existe pas de différence d'évolution pondérale des animaux.

Nous voyons donc que l'association d'un traitement oral par l'aluminium et le fer, à forte dose, influence nettement l'évolution pondérale des animaux.

La perte de poids des animaux étant trop conséquente et due aux déficiences de prise alimentaire, essentiellement pour le groupe Al/Fe(III), les expériences n'ont pas été poursuivies avec ces doses. C'est pourquoi, nous avons diminué la dose de métal d'un facteur 10 afin d'éviter les paramètres dus à la sous-nutrition.

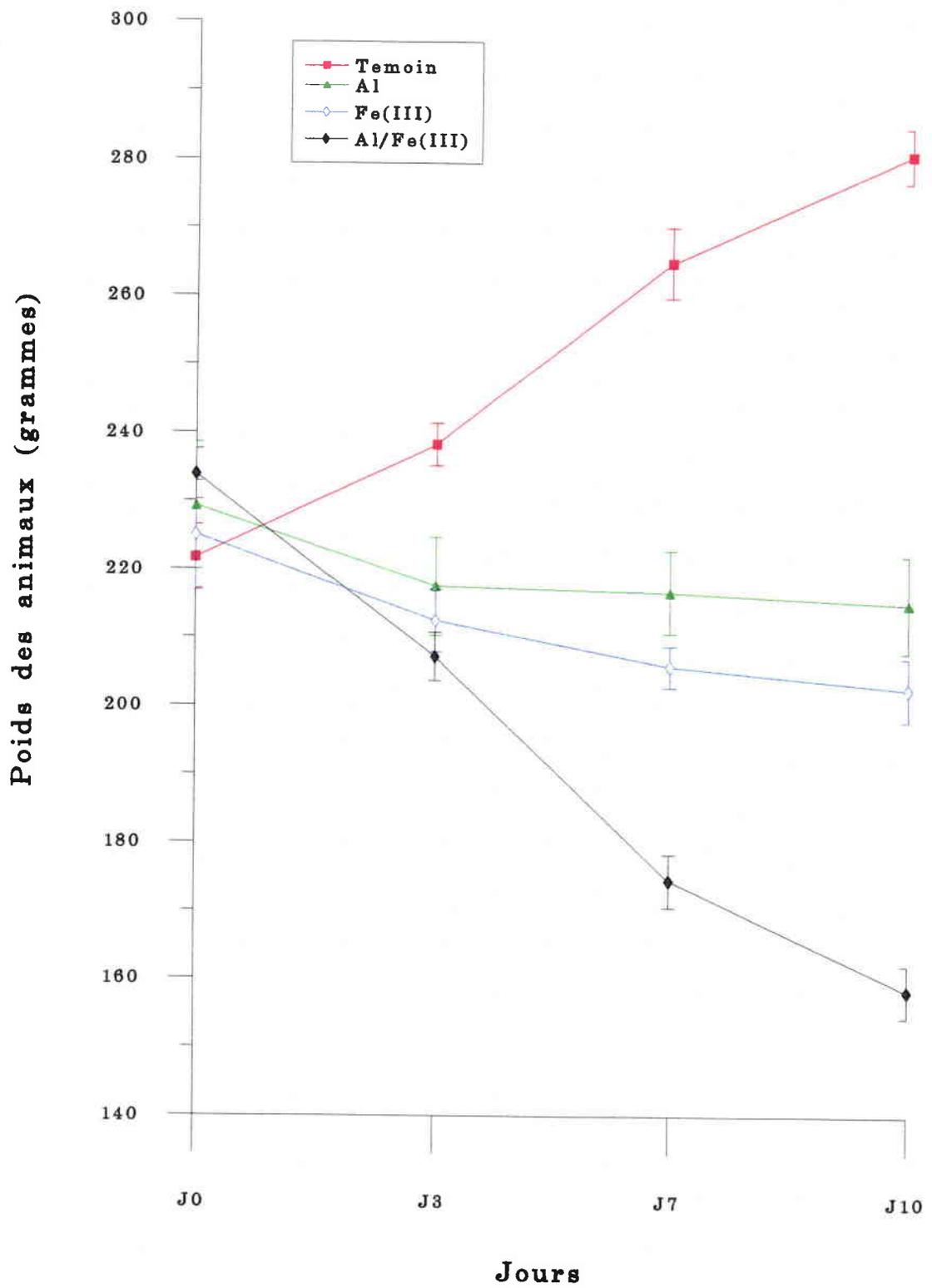


Figure 20 : Evolution pondérale des animaux lors du traitement de 10 jours.

b - Traitements de 60 jours

Pour le traitement sans citrate, le groupe Al/Fe(II) a une évolution pondérale significativement plus faible que les autres groupes ($p < 0,01$) dès le quatrième jour et ceci s'accroît jusqu'à la fin du traitement ($0,005 < p < 0,0001$). Au jour 14, les groupes Al et Fe(II) perdent du poids par rapport au groupe témoin ($p < 0,05$). A la pesée suivante, c'est le groupe Al/Fe(III) qui se différencie ($p < 0,05$). Le groupe Fe(II) est significativement plus faible que le groupe Fe(III) ($p < 0,05$) dès le jour 21, et que le groupe Al/Fe(III) au jour 25 ($p < 0,05$). Par la suite du traitement, les groupes sont différents les uns des autres sauf les groupes Al, Fe(III) et Al/Fe(III) d'une part, et les groupes Fe(III) et témoin d'autre part. Ces derniers deviennent significativement différents à partir du jour 56 ($p < 0,005$). D'une manière générale, le groupe témoin a l'évolution pondérale la plus élevée, puis on a les groupes Al, Fe(III) et Al/Fe(III). Le groupe Fe(II) a une croissance pondérale légèrement plus importante que le groupe Al/Fe(II) qui, dès les premiers jours, se différencie.

Pour les animaux traités avec du citrate, les différences significatives apparaissent au septième jour de traitement : le poids des animaux T-citrate est alors plus élevé que celui des animaux des groupes Fe(III)-citrate, Fe(II)-citrate et Al/Fe(II)-citrate ($p < 0,05$). Ces groupes resteront différents jusqu'à la fin du traitement et la différence est de plus en plus significative avec le temps. A partir du jour 14 de traitement, tous les groupes d'animaux intoxiqués ont des poids significativement différents du groupe T-citrate ($0,05 < p < 0,0001$) et le sont jusqu'à la fin du traitement. A partir du jour 18, les groupes d'animaux intoxiqués ont des différences de poids significatives entre eux ($0,05 < p < 0,0001$). Par contre, les groupes Al-citrate, Fe(III)-citrate et Al/Fe(III)-citrate ne présentent pas de différence entre eux jusqu'au jour 32. De même, les groupes Al-citrate, Fe(II)-citrate et Al/Fe(II)-citrate ont des évolutions de courbes pondérales identiques durant la période J21 à J32. A partir de J35 et jusqu'à la fin du traitement, tous les groupes ont des poids significativement différents ($0,05 < p < 0,0001$) sauf les groupes Al-citrate et Fe(III)-citrate d'une part, et Fe(II)-citrate et Al/Fe(II)-citrate d'autre part. Ce sont d'ailleurs, ces deux derniers groupes, Fe(II)-citrate et Al/Fe(II)-citrate, qui ont l'évolution pondérale la plus faible, puis Al-citrate et Fe(III)-citrate.

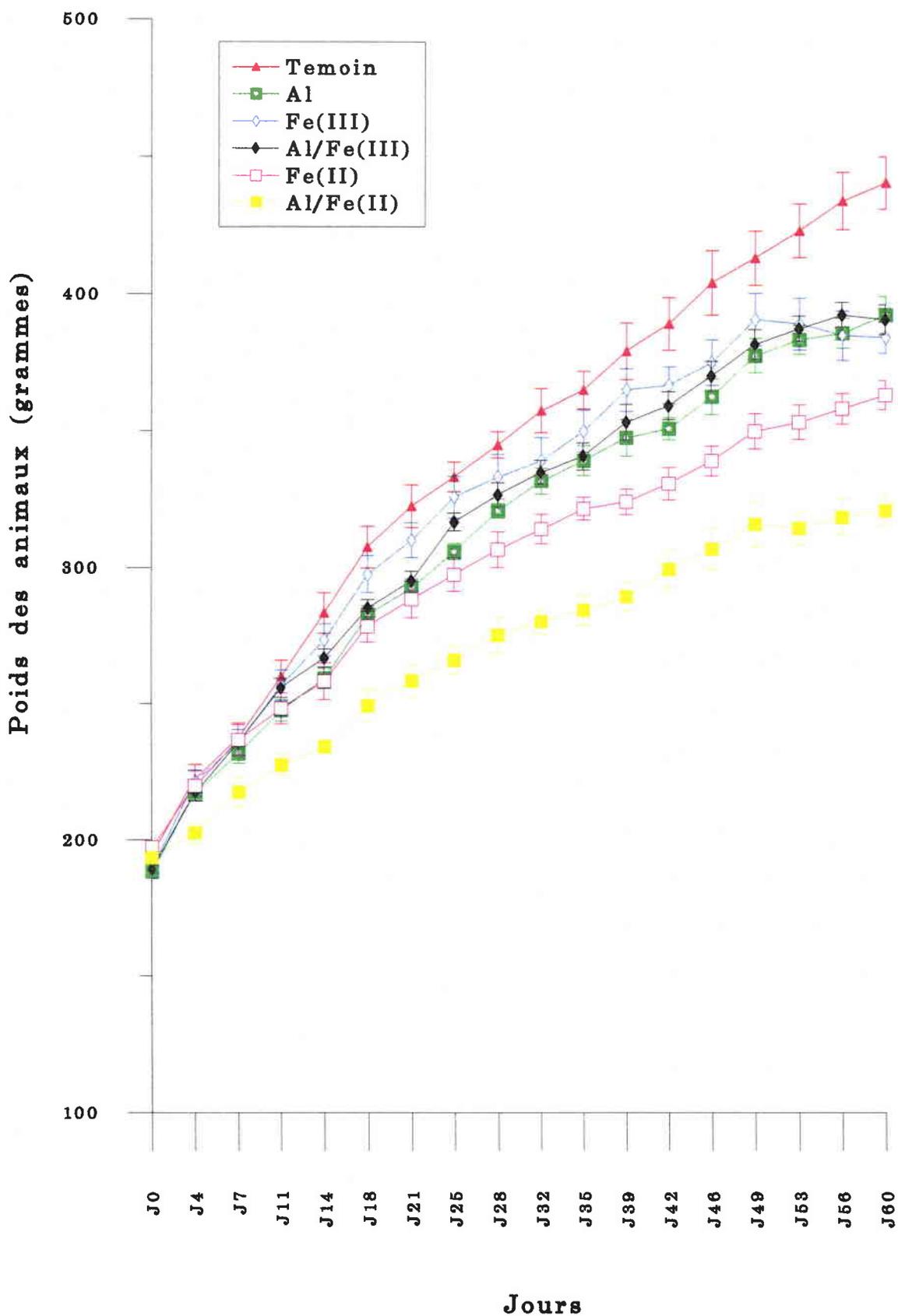


Figure 21 a : Evolution pondérale des différents animaux lors du traitement de 60 jours sans citrate.

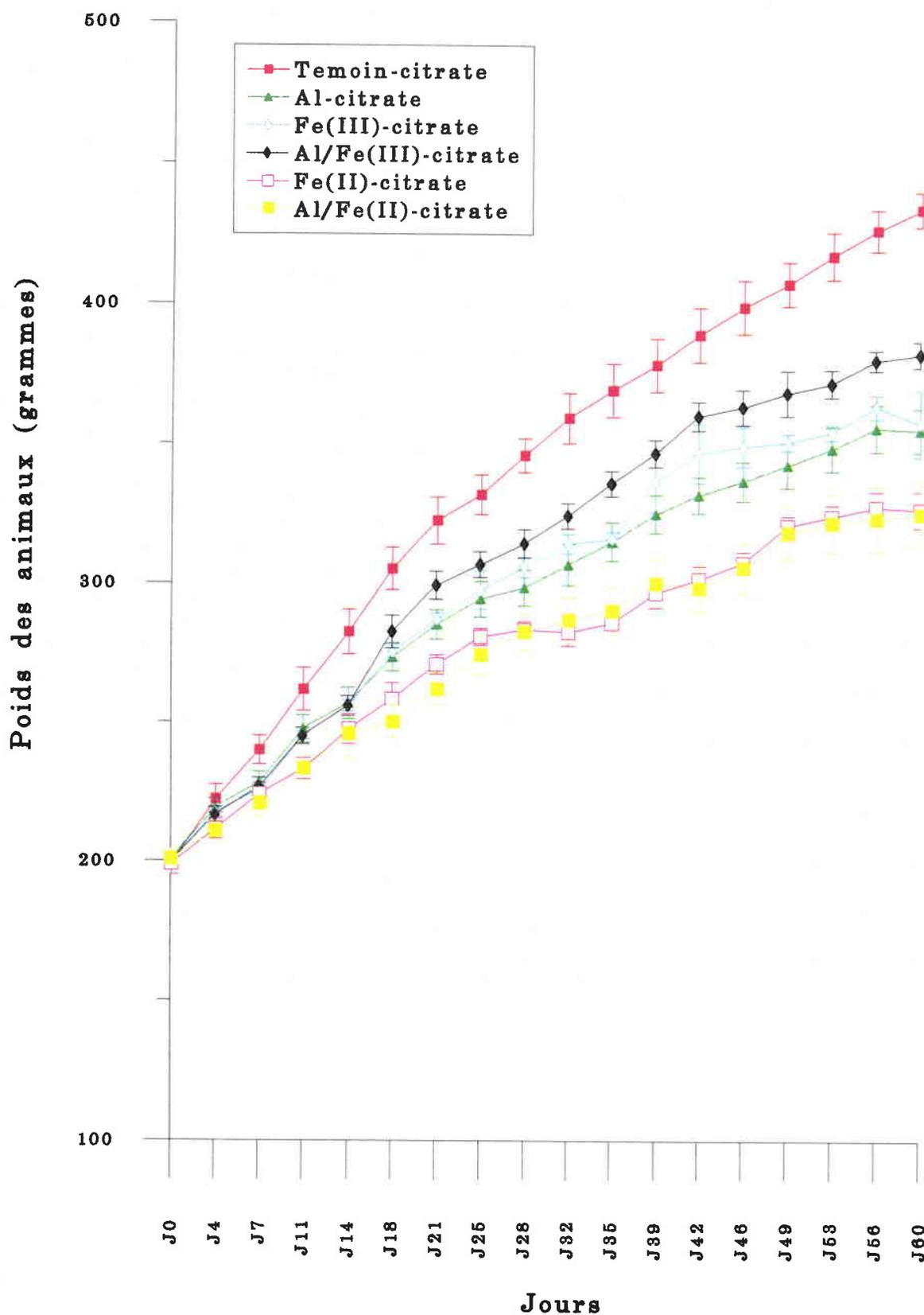


Figure 21 b : Evolution pondérale des différents animaux lors du traitement de 60 jours avec citrate.

4) Evolution des différents paramètres plasmatiques et sanguins

Les variations enregistrées au niveau des concentrations plasmatiques et sanguines en aluminium (Al), calcium (Ca), phosphore (P), fer (Fe), magnésium (Mg), potassium (K) et sodium (Na) sont regroupées dans le tableau 18. Les valeurs des hématocrites sont indiquées dans le tableau 19.

Tableau 19 : Hématocrites (en %) des animaux traités sur 10 et 60 jours.

Groupes	Durée traitement		
	10 jours	60 jours	
		Sans citrate	Avec citrate
Témoin	45,7 ± 0,4	45,1 ± 0,9	48,1 ± 2,1
(a) Al	48,4 ± 0,5 *c	43,7 ± 0,9 d	45,3 ± 1,8
(b) Fe(III)	47,3 ± 1,9 c	47,0 ± 0,6	46,8 ± 0,6 e
(c) Al/Fe(III)	53,7 ± 0,2 *a,b	43,1 ± 0,4 d	46,2 ± 1,1 *
(d) Fe(II)	-	47,3 ± 1,2 a,c	44,8 ± 0,8
(e) Al/Fe(II)	-	46,6 ± 1,5	43,2 ± 0,9 b

* Significativement différent du groupe témoin ($p < 0,05$)

a, b, c, d, e Significativement différent des groupes a, b, c, d et/ou e ($p < 0,05$)

a - Traitement de 10 jours

Nous voyons que la concentration en aluminium est considérablement augmentée dans le plasma pour tous les animaux traités. Cette augmentation est plus importante dans le cas du groupe Al/Fe(III) (augmentation de 71%) ; par contre, elle est voisine pour les groupes Al et Fe(III) (respectivement 52% et 43%). Au niveau des concentrations plasmatiques en fer, magnésium, potassium et sodium, aucune différence significative n'est observée.

La concentration calcique dans le plasma est augmentée de 10% après le traitement à l'Al, et de 13% après le traitement Al/Fe(III) ($p < 0,001$). Consécutivement, les taux de phosphore plasmatiques sont réduits significativement pour les groupes Al et Al/Fe(III) de 28% et 46% ($p < 0,0001$).

Tableau 18 : Concentrations en aluminium (Al) et calcium (Ca) plasmatiques, et fer (Fe),phosphore (P),magnésium (Mg), potassium (K), et sodium (Na) sanguines

Groupes	PLASMA		SANG TOTAL				
	Al ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Ca (mg.L^{-1})	Fe ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	P (mg.L^{-1})	Mg (mg.L^{-1})	K (mg.L^{-1})	Na (mg.L^{-1})
INTOXICATION A COURT TERME (10 JOURS)							
Témoin	23,8 ± 2,8	187,4 ± 3,7	357,0 ± 14,9	155,5 ± 3,3	51,7 ± 3,0	1,5 ± 0,1	1,3 ± 0,1
(a) Al	48,3 ± 4,3 *c	209,9 ± 2,4 *b,c	358,1 ± 19,3	112,7 ± 5,5 *c	48,8 ± 3,1	1,5 ± 0,1	1,3 ± 0,1
(b) Fe(III)	41,3 ± 5,2 *c	187,4 ± 6,8 c	362,1 ± 16,8	138,0 ± 14,7 c	48,6 ± 2,0	1,5 ± 0,1	1,2 ± 0,1
(c) Al/Fe(III)	83,2 ± 12,8 *a,b	215,4 ± 4,2 *b	367,2 ± 13,7	83,8 ± 6,9 *a,b	45,5 ± 2,6	1,4 ± 0,1	1,2 ± 0,1
INTOXICATION A LONG TERME (60 JOURS)							
Témoin	20,7 ± 8,8	186,0 ± 6,2	440,7 ± 8,8	154,7 ± 10,3	47,4 ± 3,0	1,8 ± 0,1	1,4 ± 0,1
(d) Al	22,7 ± 3,6 f,h,i	187,1 ± 5,9 g,h	429,9 ± 30,7 g,h	164,8 ± 16,9 g,h	49,4 ± 3,1 g,h,i	1,8 ± 0,2 g,h,i	1,4 ± 0,1 e,g,h
(e) Fe(III)	19,2 ± 4,2 f,h	179,9 ± 10,6 g,h	431,9 ± 35,8 g,h	162,2 ± 19,9 g,h	48,2 ± 6,8 g,h	1,8 ± 0,1 g,h	1,2 ± 0,1 *d,g,h
(f) Al/Fe(III)	33,3 ± 8,5 *d,e	167,5 ± 26,0 g,h	394,7 ± 42,1 *g,h	157,4 ± 26,6 g,h	45,6 ± 8,9 g,h	1,7 ± 0,2 g,h	1,1 ± 0,3 g,h
(g) Fe(II)	24,2 ± 9,8 h	121,6 ± 6,2 *d,e,f	329,1 ± 15,7 *d,e,f	101,4 ± 9,9 *d,e,f	29,6 ± 2,9 *d,e,f	1,4 ± 0,1 *d,e,f,l	0,6 ± 0,1 *d,e,f,l
(h) Al/Fe(II)	38,0 ± 5,8 *d,e,g	120,5 ± 4,1 *d,e,f	327,7 ± 23,3 *d,e,f	111,0 ± 12,4 *d,e,f	32,4 ± 3,9 *d,e,f,m	1,3 ± 0,1 *d,e,f,m	0,6 ± 0,1 *d,e,f,m
Témoin-cit	25,6 ± 3,9	191,2 ± 5,3	409,1 ± 30,6	161,1 ± 12,1	47,6 ± 7,6	1,8 ± 0,3	1,4 ± 0,1
(i)Al-cit	28,6 ± 3,7 d	194,2 ± 6,0 l,m	404,4 ± 13,0 j,k,l,m	161,5 ± 11,1 l,m	42,3 ± 2,7 d,l,m	1,4 ± 0,2 d,l,m	1,3 ± 0,1 l,m
(j)Fe(III)-cit.	25,7 ± 6,3	196,8 ± 6,0 l,m	432,1 ± 21,2 i,l,m	180,2 ± 14,1 l,m	44,2 ± 3,2 l,m	1,8 ± 0,2 l,m	1,3 ± 0,1 l,m
(k)Al/Fe(III)-cit	28,5 ± 3,2	199,0 ± 8,2 l,m	452,7 ± 38,0 i,l,m	198,4 ± 20,8 l,m	50,7 ± 12,3 l,m	1,6 ± 0,1 l,m	1,3 ± 0,1 l,m
(l)Fe(II)-cit	29,6 ± 3,8	117,3 ± 5,4 *i,j,k	352,4 ± 31,1 *i,j,k	96,0 ± 7,6 *i,j,k	26,3 ± 1,6 *i,j,k	1,0 ± 0,1 *g,i,j,k	2,4 ± 0,2 *g,i,j,k
(m)Al/Fe(II)-cit	39,2 ± 13,5 *	111,6 ± 5,7 *i,j,k	295,8 ± 16,5 *i,j,k	81,9 ± 13,6 *i,j,k	24,3 ± 2,8 *h,i,j,k	0,8 ± 0,1 *h,i,j,k	2,3 ± 0,2 *h,i,j,k

Les résultats obtenus avec les hémocrites sont significativement plus élevés pour les groupes Al et Al/Fe(III) par rapport au groupe témoin ($p < 0,01$ et $p < 0,0001$). Par contre, il n'existe pas de différence entre les groupes témoin et Fe(III), et Fe(III) et Al. Le groupe Al/Fe(III) est celui qui a la plus forte valeur d'hématocrite et est significativement différent des autres groupes ($0,05 < p < 0,0001$).

b – Traitements de 60 jours

Pour les concentrations aluminiques obtenues avec une dose administrée en métaux plus faible mais un traitement plus long, nous voyons que les groupes Al/Fe(III) et Al/Fe(II) sont significativement supérieurs aux groupes :

- T, respectivement de 38% ($p < 0,05$) et de 14% ($p < 0,005$)
- Al, respectivement de 32% ($p < 0,05$) et de 40% ($p < 0,0005$)
- Fe, respectivement de 42% ($p < 0,005$) et de 49% ($p < 0,0001$).

De même, Al/Fe(II) a une plus forte aluminémie que Fe(II) de 36% ($p < 0,05$). Pour le traitement au citrate, le groupe Al/Fe(II)-citrate a un taux d'aluminium plasmatique plus élevé de 35% que le groupe T-citrate ($p < 0,05$).

Pour les concentrations sanguines en fer, les groupes Al/Fe(III), Fe(II) et Al/Fe(II) sont significativement inférieurs aux valeurs obtenues chez les animaux témoins de respectivement 10% ($p < 0,05$) pour le groupe Al/Fe(III) et 25% ($p < 0,0001$) pour les groupes contenant du fer (II). Les groupes Fe(II) et Al/Fe(II) sont également significativement plus faibles que les groupes Al de 23% ($p < 0,0001$), Fe(III) de 24% ($p < 0,005$) et Al/Fe(III) de 17% ($p < 0,01$).

Lorsque le citrate est ajouté dans l'alimentation, les groupes Fe(II)-citrate et Al/Fe(II)-citrate sont également inférieurs aux animaux T-citrate de 16% ($p < 0,01$) et de 28% ($p < 0,0005$). Les groupes Fe(II)-citrate et Al/Fe(II)-citrate sont inférieurs aux groupes :

- Al-citrate, respectivement de 13% ($p < 0,005$) et 27% ($p < 0,0001$),
- Fe(III)-citrate, respectivement de 18% ($p < 0,0005$) et 31% ($p < 0,0001$),
- Al/Fe(III)-citrate, respectivement de 22% ($p < 0,0005$) et 35% ($p < 0,0001$).

Ceci est équivalent aux variations obtenues dans le traitement sans citrate. En plus, les groupes Fe(III)-citrate et Al/Fe(III)-citrate ont une concentration en fer dans le sang plus importante que le groupe Al-citrate, de respectivement 7% et 12% ($p < 0,05$).

Pour les concentrations plasmatiques en calcium, les 2 groupes avec et sans citrate évoluent de façon identique ; les groupes contenant du Fe(II) sont toujours significativement inférieurs aux autres groupes, y compris les groupes témoins.

Pour le traitement sans citrate, les groupes Fe(II) et Al/Fe(II) ont une concentration en calcium plasmatique plus faible que les groupes :

- T et Al de 35% ($p < 0,0001$),
- Fe(III) de 33% ($p < 0,0001$),
- Al/Fe(III) de 28% ($p < 0,01$).

Avec le traitement au citrate, les diminutions concernent également les groupes Fe(II)-citrate et Al/Fe(II)-citrate par rapport aux valeurs des groupes T-citrate, Al-citrate, Fe(III)-citrate et Al/Fe(III)-citrate, qui ont tous une diminution d'environ 40% ($p < 0,0001$) de la teneur calcique.

Les concentrations en phosphore dans le plasma évoluent de la même façon que pour le calcium et le fer. Les groupes Fe(II) et Al/Fe(II) ont des concentrations significativement plus faibles que les groupes :

- T et Al/Fe(III) d'environ 31% ($p < 0,0001$ et $p < 0,005$),
- Al et Fe(III) de 35% ($p < 0,0001$ et $p < 0,0005$).

Les résultats sont semblables avec le citrate, les groupes Fe(II)-citrate et Al/Fe(II)-citrate sont significativement inférieurs aux groupes :

- T-citrate et Al-citrate de 40% à 49% ($p < 0,0001$),
- Fe(III)-citrate, respectivement de 47% et 54% ($p < 0,0001$),
- Al/Fe(III), respectivement de 52% et 59% respectivement ($p < 0,0001$).

Il en est de même pour les teneurs en magnésium. Chez les groupes Al/Fe(II) et Fe(II), elles sont significativement inférieures à celles des autres groupes d'environ 35% ($0,01 < p < 0,0001$). Pour le traitement contenant le citrate, les groupes Al/Fe(II)-citrate et Fe(II)-citrate sont aussi significativement inférieurs aux autres groupes :

- de 47% par rapport à T-citrate ($p < 0,0001$),
- de 40% par rapport à Al-citrate ($p < 0,01$),
- de 43% par rapport à Fe(III)-citrate ($p < 0,0001$),
- de 50% par rapport à Al/Fe(III)-citrate ($p < 0,0001$).

Les groupes Fe(II) et Al/Fe(II) se distinguent encore des autres groupes pour les teneurs potassiques du sang. La baisse de la concentration sanguine est

d'environ 25% en comparaison avec les groupes T, Al et Fe(III) ($p < 0,0005$, $p < 0,01$ et $p < 0,005$, respectivement). Les diminutions respectives des concentrations sont de 17% et 23% par rapport au groupe Al/Fe(III) ($p < 0,05$).

Nous observons les mêmes variations lors du traitement contenant du citrate, les groupes Fe(II)-citrate et Al/Fe(II)-citrate ont une concentration d'environ 45% plus faible que les groupes T-citrate ($p < 0,005$), Al-citrate ($p < 0,0001$), Fe(III)-citrate ($p < 0,001$) et Al/Fe(III)-citrate ($p < 0,0001$).

Les teneurs sanguines en sodium présentent une diminution significative pour les groupes Fe(II) et Al/Fe(II) :

- de 57% en comparaison avec les groupes T et Al ($p < 0,0001$),
- de 50% avec le groupe Fe(III) ($p < 0,0001$)
- de 45% avec le groupe Al/Fe(III) ($p < 0,005$).

Le groupe Fe(III) présente également une valeur plus faible par rapport au groupe T et au groupe Al de 14% ($p < 0,0005$ et $p < 0,001$). Dans les groupes contenant du citrate, nous avons une augmentation des valeurs sodiques dans les groupes Fe(II)-citrate et Al/Fe(II)-citrate de 77% environ par rapport à tous les autres groupes ($p < 0,0001$).

Enfin, les valeurs des hémocrites nous indiquent une augmentation dans le groupe Fe(II) par rapport aux groupes Al et Al/Fe(III) ($p < 0,005$). Il en est de même avec le groupe Fe(III)-citrate en comparaison avec le groupe Al/Fe(II)-citrate ($p < 0,01$). Nous observons également que le groupe Al/Fe(III)-citrate est significativement inférieur au groupe T-citrate ($p < 0,05$).

c – Influence du traitement au citrate

Afin de déterminer un effet éventuel du citrate sur la teneur plasmatique des différents éléments, nous comparerons chaque groupe avec le groupe similaire dans les traitements avec et sans citrate.

Il existe une différence entre les groupes T et T-citrate pour le potassium ($p < 0,001$) et le sodium ($p < 0,0001$), avec des valeurs plus faibles obtenues pour le groupe T-citrate, respectivement de 39% et 13%.

L'aluminémie est plus importante en présence de citrate pour le groupe Al de 20% ($p < 0,05$) par rapport au même groupe Al sans citrate.

Par contre, il n'y a pas de différence entre les traitements avec et sans citrate pour les concentrations sanguines en fer.

Au niveau de la concentration calcique, il existe une différence entre les 2 groupes contenant simultanément de l'aluminium et du fer, c'est-à-dire Al/Fe(II) et Al/Fe(III) : le traitement au citrate augmente la concentration calcique dans ces groupes de respectivement 8% ($p < 0,05$) et 20% ($p < 0,05$). Les concentrations en phosphore sont significativement différentes entre les groupes Fe(III) et Fe(III)-citrate ; et Al/Fe(III) et Al/Fe(III)-citrate : le citrate augmente la concentration phosphorique respectivement de 11% ($p < 0,001$) et 26% ($p < 0,0005$).

Pour les concentrations sanguines en magnésium, le groupe Al est plus élevé de 17% que le groupe Al-citrate ($p < 0,005$), et le groupe Al/Fe(II) de 33% par rapport au groupe Al/Fe(II)-citrate ($p < 0,05$).

Pour les concentrations potassiques dans le sang, nous observons une différence significative entre les groupes Al et Al-citrate de 22% ($p < 0,05$), Fe(II) et Fe(II)-citrate de 28% ($p < 0,005$) et Al/Fe(II) et Al/Fe(II)-citrate de 38% ($p < 0,0001$), les valeurs étant plus faibles dans les groupes contenant du citrate.

Au niveau du sodium sanguin, nous observons que les groupes Fe(II)-citrate et Al/Fe(II)-citrate présentent de fortes augmentations par rapport aux mêmes groupes sans citrate, respectivement de 300% et 283% ($p < 0,0001$).

5) Effet des traitements sur les teneurs en éléments dans les différents organes

a – Traitement de 10 jours

Les figures 22 et 23 montrent l'effet des métaux administrés par voie orale sur les concentrations en aluminium (Al), fer (Fe), calcium (Ca) et phosphore (P) dans les différents tissus prélevés, cerveau, reins, rate, foie et fémur (figure 22), ainsi que dans différents fragments intestinaux (figure 23). Les tableaux 20 et 21 présentent les résultats pour les concentrations en magnésium (Mg), potassium (K) et sodium (Na).

Pour les concentrations aluminiques, il n'existe pas de différence entre les groupes pour le cerveau et le fémur. Une augmentation des teneurs en Al est observée dans le foie et les reins pour les groupes Al et Al/Fe(III) ($p < 0,05$). Dans la rate, seul le groupe Al est significativement plus élevé que le groupe T ($p < 0,05$). Au niveau intestinal, les résultats sont homogènes car pour tous les fragments intestinaux étudiés, les groupes Al et Al/Fe(III) sont significativement plus élevés que les groupes Fe(III) et T ($0,05 < p < 0.0005$).

Pour les concentrations en fer des organes, il existe une augmentation croissante et significative dans le cerveau et les reins selon l'ordre : T < Al < Fe(III) < Al/Fe(III). Dans la rate et le foie, les groupes T et Al sont significativement plus faibles que les groupes Fe(III) et Al/Fe(III) ($p < 0,005$). Aucune modification n'est observée dans le fémur. Dans l'intestin, le groupe Al/Fe(III) a toujours la teneur la plus élevée et est significativement différent de tous les autres groupes dans le duodénum et l'iléon ($p < 0,05$), mais est identique au groupe Fe(III) pour le jéjunum et les scrapping jéjunal et iléal.

Les concentrations calciques évoluent dans deux sens opposés :

- Dans les reins, la concentration calcique est significativement plus importante pour les groupes T et Al que pour les groupes Fe(III) et Al/Fe(III) ($p < 0,05$). Dans le foie, le groupe Al a également un taux en calcium plus grand que le groupe Fe(III) ($p < 0,005$).

- Par contre dans le fémur, le groupe Al/Fe(III) présente une concentration plus élevée que le groupe T ($p < 0,0005$). Dans l'intestin, ce sont les groupes Al et Al/Fe(III) qui présentent la plus forte teneur en calcium dans le duodénum ($p < 0,05$), l'iléon ($0,05 < p < 0,01$), et le scrapping de l'iléal ($p < 0,05$). Dans le scrapping du jéjunum, seul le groupe Al est significativement plus élevé ($p < 0,01$). Dans le jéjunum, le groupe Fe(III) est plus élevé ($p < 0,01$).

Pour les concentrations en phosphore, l'intestin, le cerveau, les reins et la rate ne présentent pas de différence significative. Dans le foie, le groupe Al/Fe(III) a une valeur significativement plus faible que le groupe T ($p < 0,01$) et dans le fémur, c'est le groupe Al qui a la plus forte diminution en phosphore ($p < 0,05$).

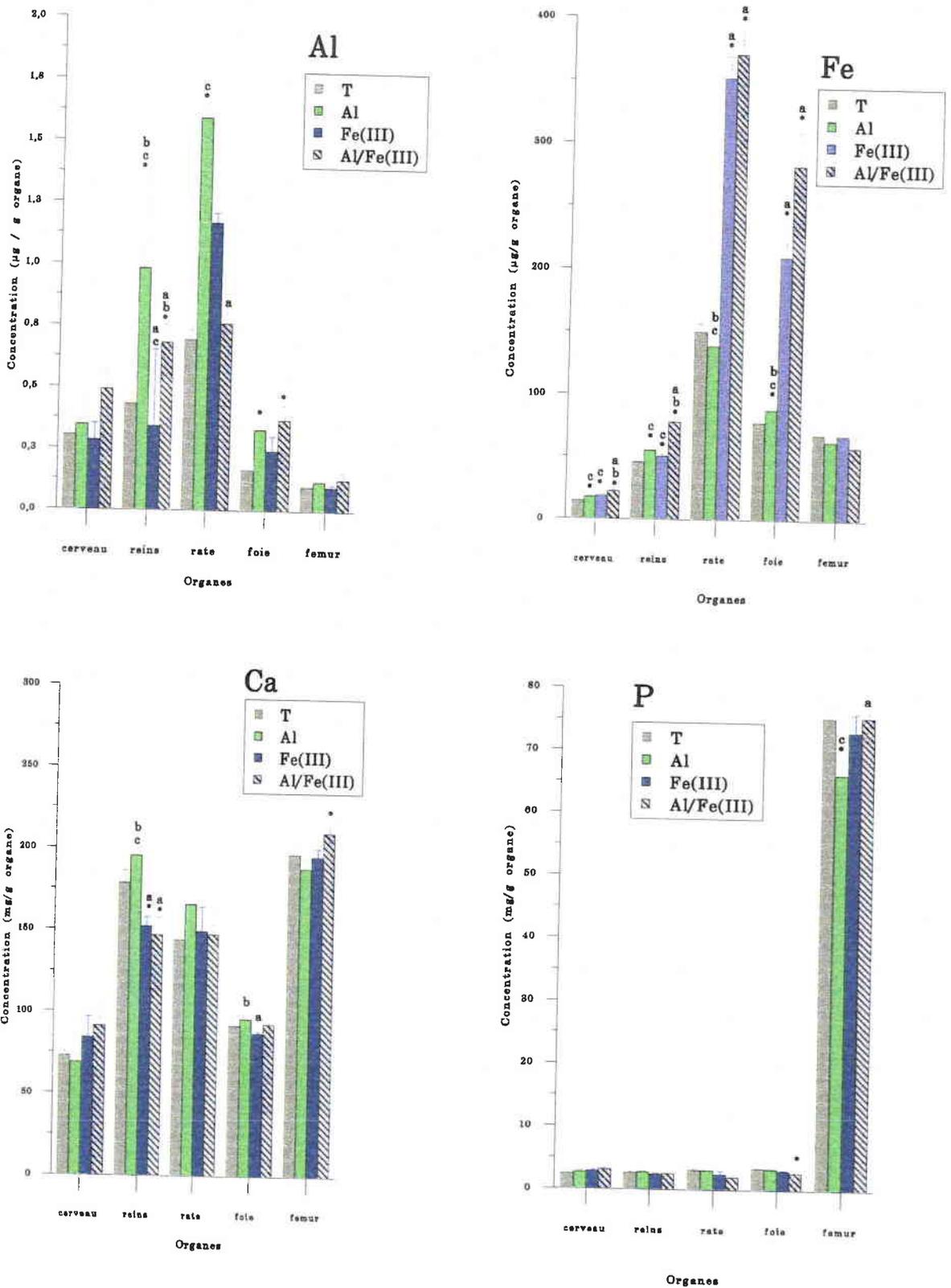


Figure 22 : Concentration en aluminium (Al), fer (Fe), calcium (Ca), et phosphore (P) dans différents organes après 10 jours d'intoxication.

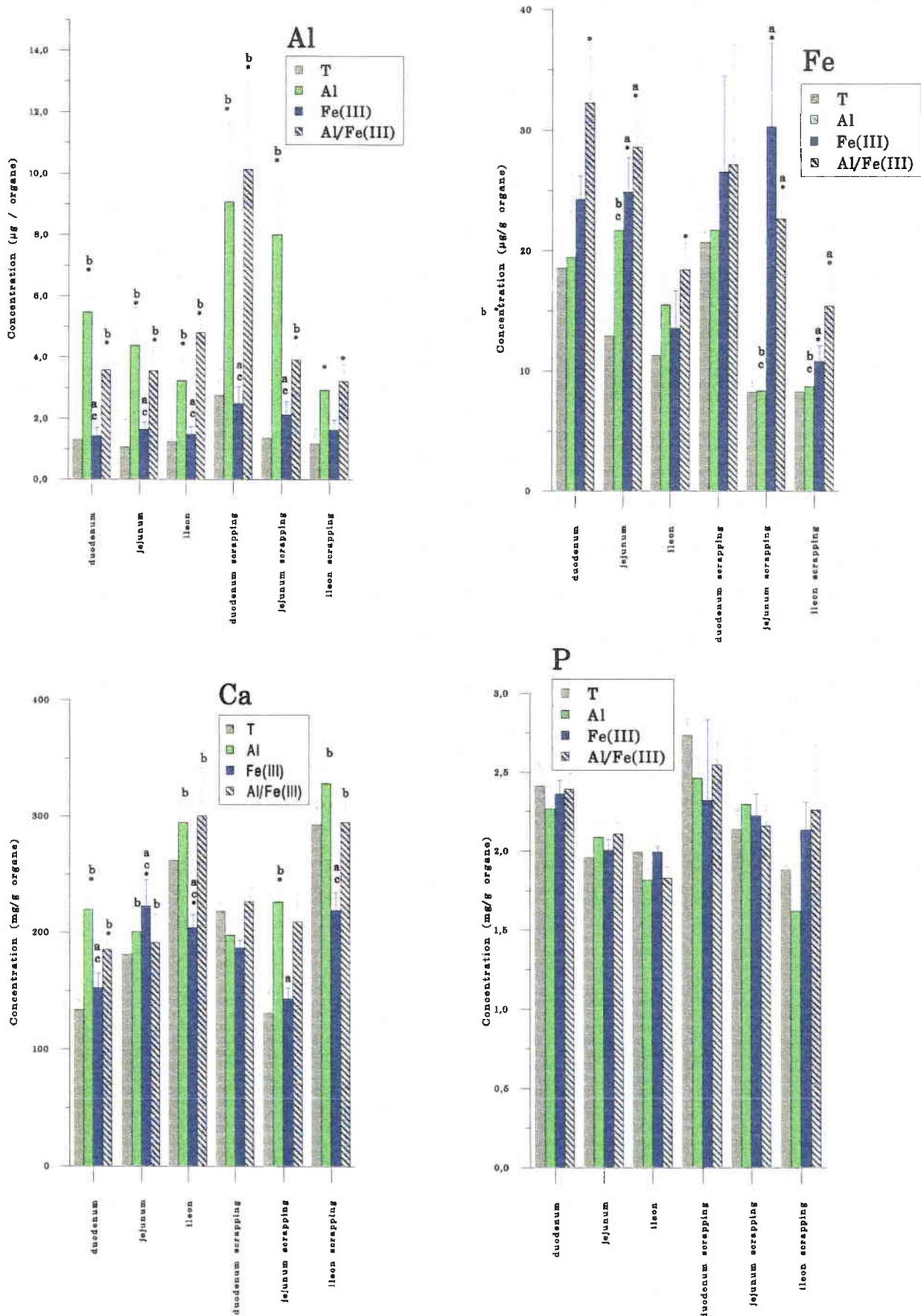


Figure 23 : Concentration en aluminium (Al), fer (Fe), calcium (Ca), et phosphore (P) dans différents fragments intestinaux après 10 jours d'intoxication.

Tableau 20 :Concentrations en magnésium (Mg), potassium (K) et sodium (Na) dans les différents organes pour le traitement de 10 jours.

ORGANES	Groupes	Concentrations tissulaires ($\mu\text{g/g}$ organe)		
		Mg	K	Na
CERVEAU	T	155 \pm 22	3249 \pm 433	887 \pm 85
	Al	170 \pm 23	3534 \pm 181	927 \pm 85
	Fe(III)	177 \pm 13	3648 \pm 532	1009 \pm 112
	Al/Fe(III)	183 \pm 30	4033 \pm 638	1081 \pm 273
RATE	T	225 \pm 19	4797 \pm 605	495 \pm 43
	Al	200 \pm 17 ^c	4292 \pm 213	488 \pm 13
	Fe(III)	153 \pm 58	3381 \pm 1097	360 \pm 126
	Al/Fe(III)	106 \pm 43 ^{*a}	3981 \pm 790	375 \pm 92
REINS	T	279 \pm 22	2829 \pm 417	998 \pm 81
	Al	321 \pm 7 ^{*bc}	2691 \pm 624	968 \pm 167
	Fe(III)	271 \pm 17 ^a	2520 \pm 233	911 \pm 94
	Al/Fe(III)	270 \pm 23 ^a	2829 \pm 417	866 \pm 119
FOIE	T	1238 \pm 109	3860 \pm 427	615 \pm 101
	Al	1607 \pm 110 [*]	3957 \pm 692	488 \pm 48
	Fe(III)	1985 \pm 835	3812 \pm 125	518 \pm 41
	Al/Fe(III)	2909 \pm 1146 [*]	2646 \pm 1098	562 \pm 153
FEMUR	T	4473 \pm 388	11548 \pm 631	4360 \pm 327
	Al	5014 \pm 436	11789 \pm 849	4591 \pm 700
	Fe(III)	7452 \pm 3612	10645 \pm 160	4185 \pm 273
	Al/Fe(III)	6786 \pm 4149	10613 \pm 870	4379 \pm 278

Résultats exprimés en moyenne \pm écart-type (N = 6 animaux / groupe).

^{*} signifie significativement différent du groupe témoin ($p < 0.05$).

^{a,b,c} signifie significativement différent du groupe (a) Al, (b) Fe(III) et/ou (c) Al/Fe(III) ($p < 0.05$).

Tableau 21 :Concentrations en magnésium (Mg), potassium (K) et sodium (Na) dans les différents fragments intestinaux pour le traitement de 10 jours.

ORGANES	Groupes	Concentrations tissulaires ($\mu\text{g/g}$ organe)		
		Mg	K	Na
DUODENUM	T	219 \pm 17	1830 \pm 159	1468 \pm 153
	Al	224 \pm 14	2049 \pm 547	1564 \pm 139
	Fe(III)	264 \pm 24	2199 \pm 260	1433 \pm 82
	Al/Fe(III)	248 \pm 32	1809 \pm 449	1564 \pm 144
DUODENUM SCRAPPING	T	250 \pm 14	1661 \pm 359	1812 \pm 244
	Al	235 \pm 21	1578 \pm 125	1536 \pm 106
	Fe(III)	238 \pm 95	1466 \pm 603	1251 \pm 341
	Al/Fe(III)	260 \pm 43	1604 \pm 105	1429 \pm 256
JEJUNUM	T	211 \pm 17	1561 \pm 240	1020 \pm 165
	Al	211 \pm 20	1695 \pm 195	1311 \pm 108
	Fe(III)	194 \pm 7	1575 \pm 187	1182 \pm 120
	Al/Fe(III)	220 \pm 26	1584 \pm 370	1245 \pm 165
JEJUNUM SCRAPPING	T	196 \pm 30	1678 \pm 448	1173 \pm 153
	Al	216 \pm 41	1579 \pm 617	1409 \pm 271
	Fe(III)	200 \pm 17	1246 \pm 73	989 \pm 172
	Al/Fe(III)	202 \pm 52	1403 \pm 598	1159 \pm 181
ILEON	T	203 \pm 15	1896 \pm 113	930 \pm 78
	Al	187 \pm 14	1460 \pm 294	682 \pm 158
	Fe(III)	191 \pm 18	1518 \pm 239	688 \pm 158
	Al/Fe(III)	171 \pm 31	1438 \pm 520	847 \pm 168
ILEON SCRAPPING	T	200 \pm 11	1295 \pm 131	1068 \pm 103
	Al	147 \pm 52	715 \pm 395	909 \pm 365
	Fe(III)	194 \pm 18	1316 \pm 178	1046 \pm 51
	Al/Fe(III)	211 \pm 41	899 \pm 856	1039 \pm 108

Résultats exprimés en moyenne \pm écart-type (N = 6 animaux / groupe).

Pour les teneurs en magnésium, le cerveau, le fémur et l'intestin ne présentent pas de différence significative. Pour la rate, le foie et les reins, le groupe Al est supérieur aux autres groupes ($p < 0,05$). Dans la rate, les groupes Al et T ont une teneur en magnésium supérieure au groupe Al/Fe(III) ($p < 0,01$). Dans le foie, les groupes Al et Al/Fe(III) sont supérieurs au groupe T ($p < 0,05$).

Pour les autres éléments, sodium et potassium, aucune différence significative n'a été observée dans les organes étudiés.

b - Traitements de 60 jours

Les figures 24 à 27 montrent les effets des métaux administrés par voie orale sur les concentrations en aluminium (Al), fer (Fe), calcium (Ca) et phosphore (P) dans les différents tissus prélevés : cerveau, reins, rate, foie, fémur (figures 24 et 26) et dans différents fragments intestinaux (figures 25 et 27).

Les tableaux 22 et 23 présentent les résultats obtenus pour les dosages de magnésium (Mg), potassium (K) et sodium (Na).

Tout d'abord, nous remarquons que, quel que soit l'organe, les concentrations en Mg, K et Na ne présentent aucune différence selon le traitement administré par voie orale, et ceci aussi bien pour le lot avec ou sans citrate.

➔ Traitement de 60 jours sans addition de citrate dans l'alimentation

Les concentrations en Al, Fe, Ca et P sont très stables au niveau du cerveau, la surcharge alimentaire avec des métaux ne modifie pas de façon significative les concentrations minérales cérébrales. Il en est de même pour les concentrations en Al, Fe, Ca et P au niveau du fémur.

Pour les concentrations en Al, les autres organes présentent des différences selon les groupes. Le groupe Al est toujours significativement plus élevé que le groupe T :

- de 25% pour la rate ($p < 0.0005$),
- de 20% pour les reins ($p < 0.05$),
- de 14% pour le foie ($p < 0.05$).

Le groupe Al/Fe(II) est également plus élevé que le groupe T pour les reins (31%) et le foie (22%). Les groupes Fe(III), Al/Fe(III) et Fe(II) ne présentent pas de différences de teneurs aluminiques dans ces organes avec les teneurs des témoins et ils sont inférieurs au groupe Al/Fe(II). Au niveau de la rate, le groupe Al est significativement supérieur à tous les autres groupes ($0,05 < p < 0,0005$).

Pour les concentrations en fer, ce sont les groupes Fe(II) et Al/Fe(II) qui présentent les plus fortes concentrations. Ils sont significativement différents du groupe T, mais aussi de tous les autres groupes. Le groupe Al est identique au groupe T et toujours distinct des autres groupes. Les groupes Al/Fe(II) et Fe(II) sont supérieurs aux groupes T et Al d'environ 53% pour les reins ($p < 0,0001$), 62% pour la rate ($p < 0,0005$) et le foie ($0,05 < p < 0,0001$). Les groupes Fe(III) et Al/Fe(III) ont une concentration en fer intermédiaire aux groupes Al et T d'une part et Fe(II) et Al/Fe(II) d'autre part. Par rapport aux groupes Al et T, les groupes avec du fer(III) ont une concentration supérieure de 18%, 30% et 45% pour respectivement les reins ($p < 0,05$), la rate ($p < 0,005$) et le foie ($p < 0,0001$).

Pour les concentrations calciques, il n'existe que peu de différences. Pour les reins, le groupe Al/Fe(II) est légèrement inférieur au groupe T de 7% ($p < 0,05$). Au niveau de la rate, c'est le groupe Fe(II) qui est inférieur aux groupes T et Fe(III), de 7% également ($p < 0,05$). Pour les concentrations hépatiques, il n'existe aucune différence significative.

Pour les teneurs en phosphore dans la rate, les groupes Fe(II) et Al/Fe(II) sont plus importants que les groupes Al, Fe(III) et Al/Fe(III) de 12% ($p < 0,0005$). Dans le foie, le groupe Fe(II) est significativement plus élevé que les groupes T ($p < 0,05$), Al et Al/Fe(II) ($p < 0,05$) d'environ 13%. Le groupe Fe(III) est également plus élevé que le groupe T ($p < 0,05$).

Au niveau des fragments intestinaux, nous avons une répartition assez stable.

Pour les teneurs en Al, le groupe Fe(III) n'est pas différent du groupe témoin, et ils sont toujours différents des autres groupes, sauf pour le jéjunum, le jéjunum scrapping et l'iléon où le groupe Fe(II) n'est pas différent. Pour le duodénum et l'iléon, le groupe Al a les teneurs les plus élevées (2482 et 1541 μg Al/g organe). Il est différent des groupes ayant les 2 métaux en supplémentation : Al/Fe(III) et Al/Fe(II) de respectivement 44% et 38% pour le duodénum ($p < 0,005$) et de 47% et 40% pour l'iléon ($p < 0,05$). Dans le jéjunum, le jéjunum scrapping, il

n'y a pas de différence entre les groupes Al, Al/Fe(III) et Al/Fe(II). Au niveau du duodénum scrapping, le groupe Al/Fe(III) est inférieur aux groupes Al de 30% ($p < 0,05$), Fe(II) de 40% ($p < 0,005$), et Al/Fe(II) de 45% ($p < 0,001$). Dans l'iléon scrapping, les groupes Fe(III), Fe(II) et Al/Fe(II) sont inférieurs aux groupes Al de 73% et Al/Fe(III) de 46% ($0,05 < p < 0,0005$).

Pour le fer, nous avons l'ordre suivant pour le duodénum, le jéjunum, l'iléon et le jéjunum scrapping : les groupes Al, T < Fe(III) < Al/Fe(III) < Fe(II) et Al/Fe(II). Pour l'iléon scrapping, les groupes Al/Fe(III) et Fe(II) sont ceux avec les plus fortes concentrations ferriques (20 et 22 mg Fe/g organe respectivement). Ils sont supérieurs de 38% aux groupes Al, Al/Fe(II) et Fe(III). Dans le duodénum scrapping, seul le groupe Al se différencie des autres groupes traités ($p < 0,05$).

Pour les concentrations plasmatiques en calcium, nous avons les groupes Al/Fe(III) et Fe(III) qui sont significativement inférieurs aux groupes Al et T. Les groupes Fe(II) et Al/Fe(II) sont toujours significativement supérieurs aux autres groupes ($p < 0,05$). Il n'y a pas de différence significative dans le duodénum.

Pour les concentrations sanguines en phosphore, c'est l'inverse. Les groupes Fe(II) et Al/Fe(II) sont les plus faibles, alors que les groupes T et Al sont supérieurs aux autres groupes.

Pour les teneurs en magnésium, potassium, sodium, il n'y a pas de différences significatives.

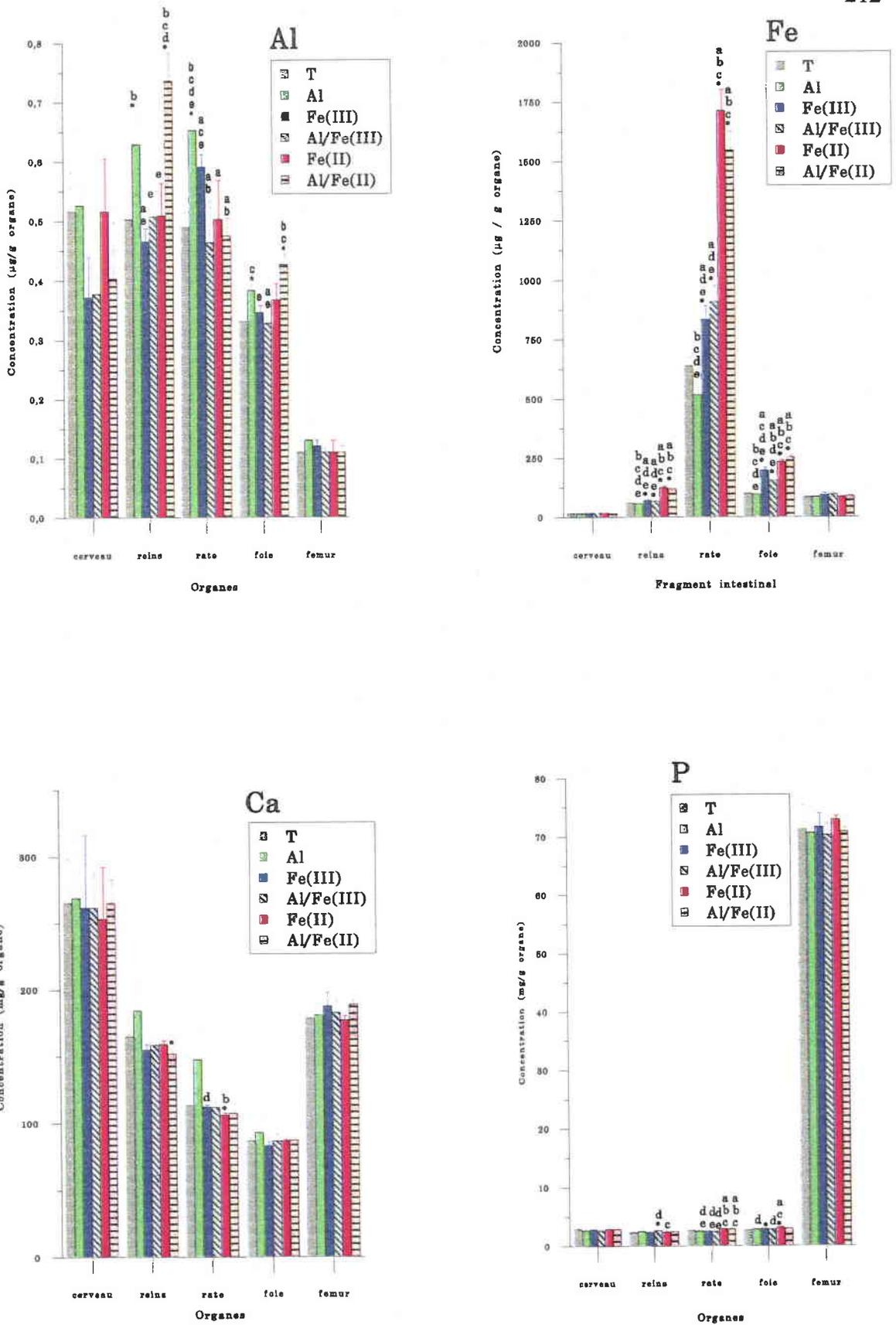


Figure 24 : Concentration en aluminium (Al), fer (Fe), calcium (Ca), et phosphore (P) dans différents organes après 60 jours d'intoxication.

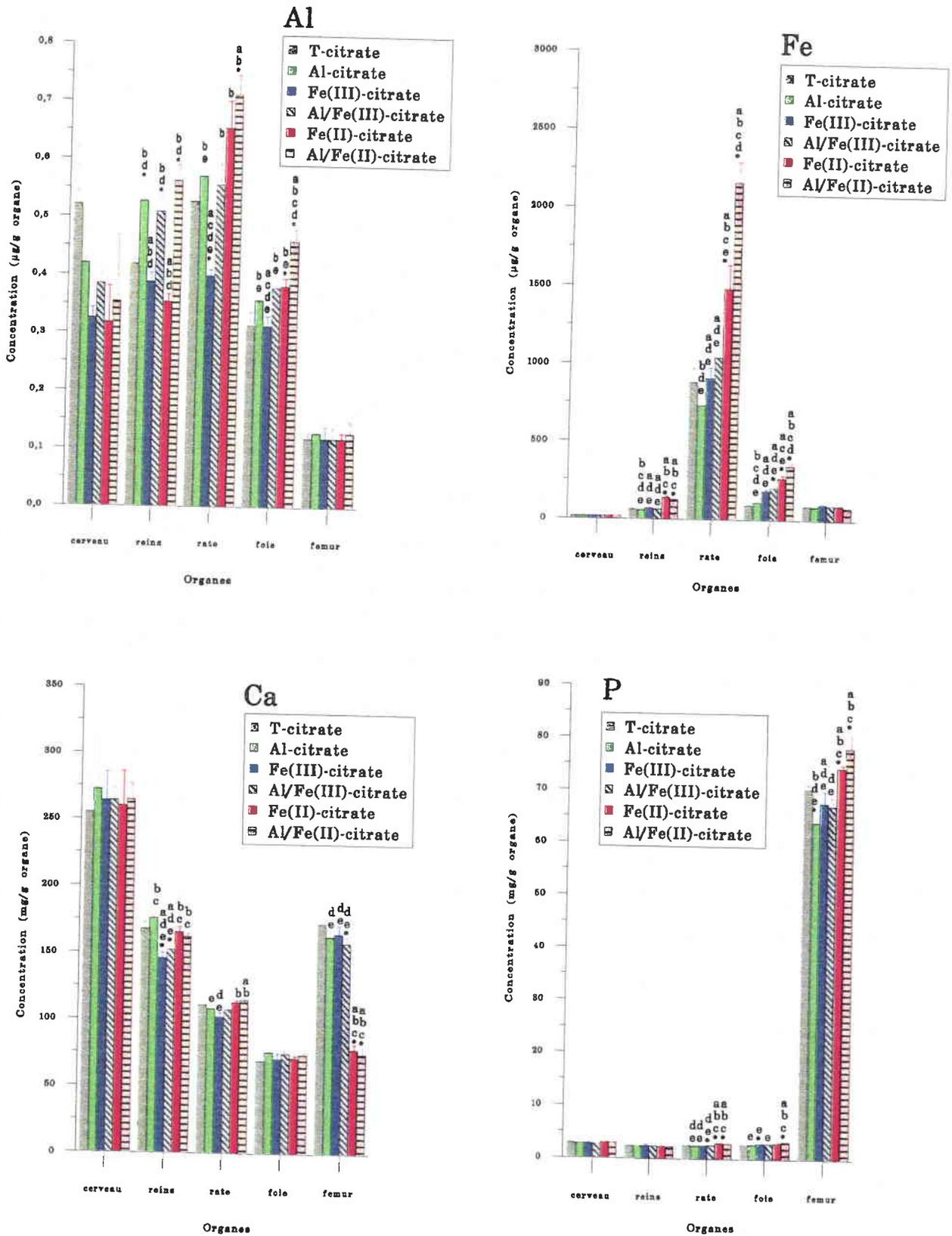


Figure 25 : Concentration en aluminium (Al), fer (Fe), calcium (Ca), et phosphore (P) dans différents organes après 60 jours d'intoxication, avec addition de citrate.

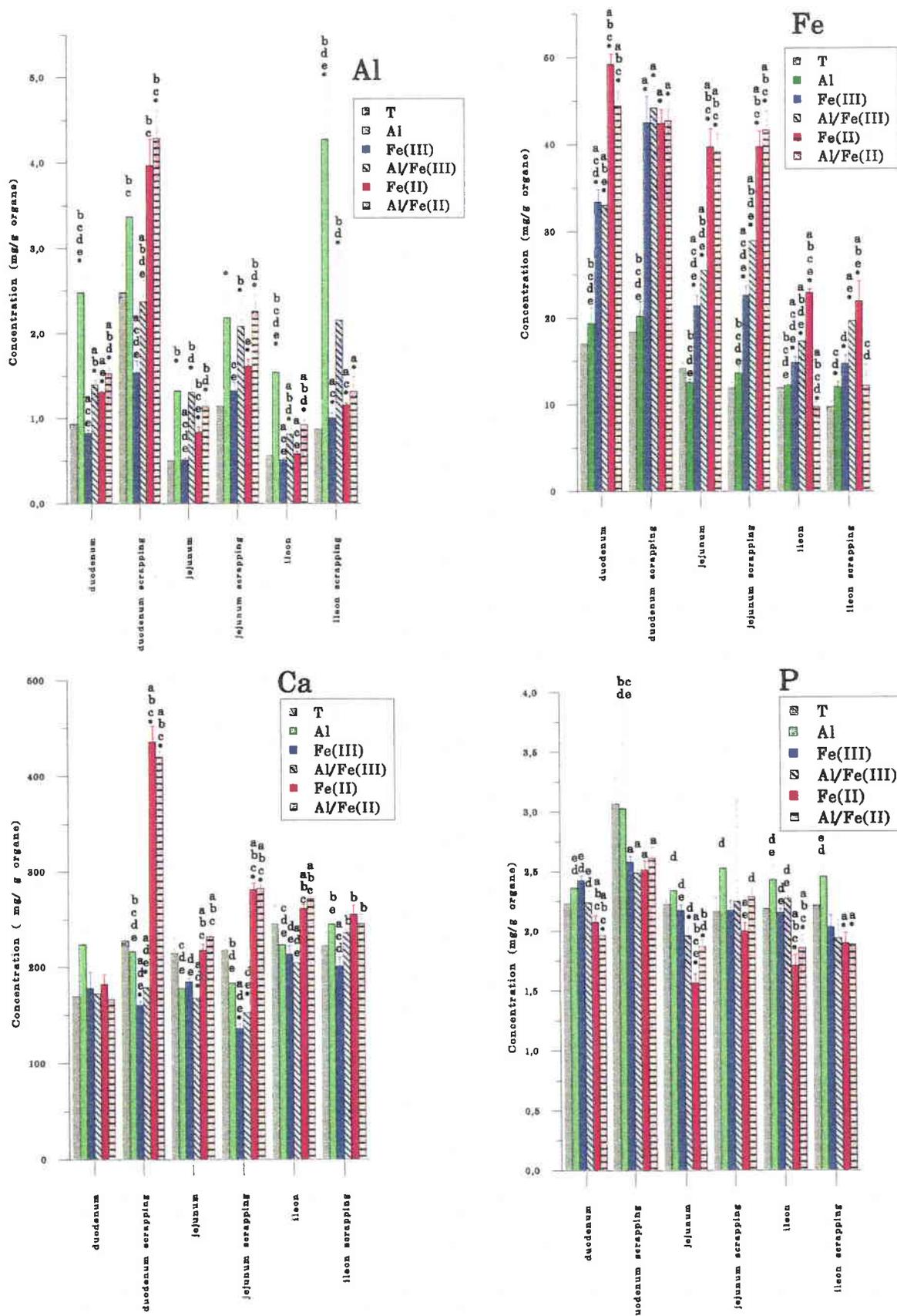


Figure 26 : Concentration en aluminium (Al), fer (Fe), calcium (Ca), et phosphore (P) dans différents fragments intestinaux après 60 jours d'intoxication.

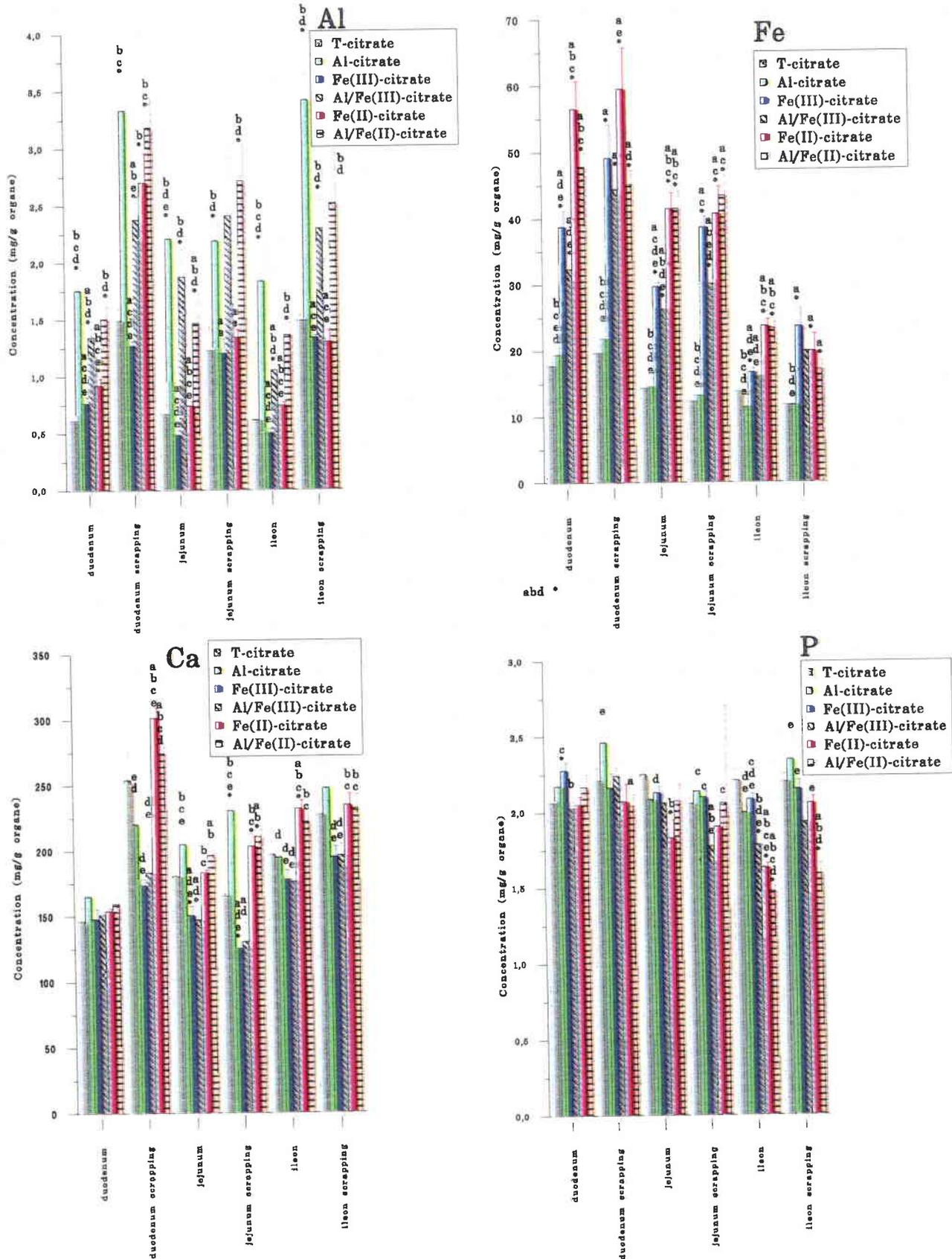


Figure 27 : Concentration en aluminium (Al), fer (Fe), calcium (Ca), et phosphore (P) dans différents fragments intestinaux après 60 jours d'intoxication, avec addition de citrate.

Tableau 22 : Concentration en magnésium (Mg), potassium (K) et sodium (Na) dans les différents organes pour le traitement de 60 jours (Résultats en mg / g organe).

ORGANES	Groupes	TRAITEMENT SANS CITRATE			TRAITEMENT AVEC CITRATE		
		Concentrations tissulaires			Concentrations tissulaires		
		Mg	K	Na	Mg	K	Na
CERVEAU	T	0.21 ± 0.01	3.68 ± 0.13	0.85 ± 0.02	0.18 ± 0.01	3.37 ± 0.15	0.96 ± 0.08
	Al	0.19 ± 0.01	3.43 ± 0.26	0.89 ± 0.06	0.17 ± 0.01	3.36 ± 0.16	0.96 ± 0.13
	Fe(III)	0.19 ± 0.01	3.51 ± 0.12	0.92 ± 0.06	0.18 ± 0.02	3.47 ± 0.15	1.01 ± 0.04
	Al/Fe(III)	0.19 ± 0.01	3.59 ± 0.16	0.97 ± 0.22	0.17 ± 0.01	3.33 ± 0.07	0.94 ± 0.05
	Fe(II)	0.22 ± 0.02	3.58 ± 0.12	0.84 ± 0.11	0.20 ± 0.04	3.58 ± 0.40	1.07 ± 0.13
	Al/Fe(II)	0.23 ± 0.01	3.57 ± 0.32	0.91 ± 0.06	0.19 ± 0.02	3.49 ± 0.13	1.08 ± 0.16
RATE	T	0.19 ± 0.03	4.59 ± 0.56	0.57 ± 0.08	0.20 ± 0.01	4.09 ± 0.17	0.86 ± 0.03
	Al	0.19 ± 0.01	4.33 ± 0.10	0.66 ± 0.05	0.20 ± 0.02	4.03 ± 0.29	0.87 ± 0.08
	Fe(III)	0.19 ± 0.01	4.21 ± 0.67	0.61 ± 0.06	0.19 ± 0.01	3.97 ± 0.28	0.84 ± 0.16
	Al/Fe(III)	0.18 ± 0.02	4.41 ± 0.31	0.56 ± 0.07	0.18 ± 0.01	4.18 ± 0.35	0.87 ± 0.18
	Fe(II)	0.22 ± 0.03	4.51 ± 0.24	0.69 ± 0.11	0.19 ± 0.01	4.08 ± 0.43	0.84 ± 0.11
	Al/Fe(II)	0.20 ± 0.02	4.29 ± 0.26	0.67 ± 0.08	0.18 ± 0.01	3.97 ± 0.45	0.87 ± 0.03
REINS	T	0.20 ± 0.02	2.55 ± 0.31	1.78 ± 0.21	0.20 ± 0.01	2.62 ± 0.26	2.42 ± 0.18
	Al	0.20 ± 0.01	2.89 ± 0.49	1.85 ± 0.19	0.21 ± 0.01	2.83 ± 0.16	2.21 ± 0.18
	Fe(III)	0.20 ± 0.01	2.88 ± 0.41	1.86 ± 0.35	0.22 ± 0.01	2.82 ± 0.16	2.22 ± 0.27
	Al/Fe(III)	0.20 ± 0.01	2.85 ± 0.32	1.86 ± 0.24	0.21 ± 0.01	2.73 ± 0.17	2.25 ± 0.19
	Fe(II)	0.21 ± 0.02	2.70 ± 0.21	1.87 ± 0.27	0.21 ± 0.03	2.78 ± 0.25	2.49 ± 0.13
	Al/Fe(II)	0.21 ± 0.03	2.85 ± 0.21	1.87 ± 0.24	0.19 ± 0.04	2.63 ± 0.22	2.26 ± 0.41
FOIE	T	0.26 ± 0.01	3.53 ± 0.13	1.00 ± 0.07	0.25 ± 0.01	3.88 ± 0.18	0.92 ± 0.06
	Al	0.26 ± 0.02	3.77 ± 0.17	1.11 ± 0.04	0.24 ± 0.01	3.80 ± 0.15	0.90 ± 0.06
	Fe(III)	0.26 ± 0.01	3.88 ± 0.60	1.03 ± 0.11	0.23 ± 0.02	3.88 ± 0.18	0.90 ± 0.07
	Al/Fe(III)	0.26 ± 0.03	3.75 ± 0.23	0.96 ± 0.20	0.26 ± 0.01	3.90 ± 0.22	0.92 ± 0.07
	Fe(II)	0.27 ± 0.03	3.75 ± 0.46	1.08 ± 0.08	0.26 ± 0.05	3.85 ± 0.25	0.87 ± 0.13
	Al/Fe(II)	0.28 ± 0.04	3.65 ± 0.31	1.11 ± 0.06	0.28 ± 0.04	3.96 ± 0.49	0.87 ± 0.09
FEMUR	T	4.68 ± 0.41	14.87 ± 1.96	10.44 ± 1.11	4.68 ± 0.25	14.99 ± 0.49	10.62 ± 0.93
	Al	4.52 ± 0.43	15.34 ± 1.06	10.13 ± 0.75	3.81 ± 0.92	14.13 ± 0.34	8.88 ± 2.39
	Fe(III)	4.60 ± 0.23	15.77 ± 1.51	10.96 ± 1.07	4.71 ± 0.21	15.14 ± 0.53	10.65 ± 0.94
	Al/Fe(III)	4.61 ± 0.09	15.22 ± 1.78	10.95 ± 1.05	4.41 ± 0.54	15.13 ± 0.38	9.81 ± 1.07
	Fe(II)	5.04 ± 0.62	13.64 ± 2.74	10.91 ± 1.03	4.52 ± 0.34	14.55 ± 0.94	10.75 ± 1.07
	Al/Fe(II)	4.71 ± 0.28	14.29 ± 1.53	10.99 ± 0.73	4.84 ± 0.41	13.27 ± 1.25	11.01 ± 1.09

Résultats exprimés en moyenne ± écart-type (N = 6 animaux / groupe).

Tableau 23 : Concentration en magnésium (Mg), potassium (K) et sodium (Na) dans les différents fragments intestinaux pour le traitement de 60 jours (Résultats en mg / g organe). A. Prelevement tissulaire total. B. Prelevement après scrapping.

A. Prelevement tissulaire total.

ORGANES	Groupes	TRAITEMENT SANS CITRATE			TRAITEMENT AVEC CITRATE		
		Concentrations tissulaires			Concentrations tissulaires		
		Mg	K	Na	Mg	K	Na
DUODENUM	T	0.25 ± 0.03	1.74 ± 0.20	1.52 ± 0.21	0.26 ± 0.02	1.52 ± 0.05	1.30 ± 0.11
	Al	0.22 ± 0.03	1.89 ± 0.19	1.47 ± 0.17	0.27 ± 0.02	1.62 ± 0.15	1.49 ± 0.25
	Fe(III)	0.23 ± 0.02	1.79 ± 0.23	1.48 ± 0.08	0.29 ± 0.04	1.79 ± 0.17	1.39 ± 0.23
	Al/Fe(III)	0.27 ± 0.03	1.87 ± 0.23	1.59 ± 0.18	0.25 ± 0.03	1.42 ± 0.14	1.40 ± 0.13
	Fe(II)	0.23 ± 0.03	1.79 ± 0.25	1.59 ± 0.08	0.29 ± 0.02	1.63 ± 0.24	1.34 ± 0.22
	Al/Fe(II)	0.24 ± 0.01	1.77 ± 0.18	1.47 ± 0.16	0.28 ± 0.05	1.62 ± 0.16	1.43 ± 0.15
JEJUNUM	T	0.32 ± 0.02	1.52 ± 0.09	1.52 ± 0.09	0.29 ± 0.02	1.45 ± 0.09	1.35 ± 0.09
	Al	0.31 ± 0.04	1.59 ± 0.21	1.40 ± 0.15	0.27 ± 0.03	1.43 ± 0.11	1.46 ± 0.14
	Fe(III)	0.30 ± 0.02	1.59 ± 0.16	1.49 ± 0.19	0.29 ± 0.02	1.59 ± 0.14	1.32 ± 0.09
	Al/Fe(III)	0.32 ± 0.02	1.67 ± 0.27	1.51 ± 0.13	0.29 ± 0.02	1.47 ± 0.18	1.41 ± 0.17
	Fe(II)	0.32 ± 0.02	1.64 ± 0.19	1.57 ± 0.17	0.31 ± 0.05	1.43 ± 0.16	1.48 ± 0.18
	Al/Fe(II)	0.31 ± 0.02	1.57 ± 0.53	1.48 ± 0.22	0.30 ± 0.05	1.57 ± 0.17	1.37 ± 0.09
ILEON	T	0.33 ± 0.04	1.60 ± 0.28	1.47 ± 0.27	0.28 ± 0.02	1.56 ± 0.17	1.37 ± 0.08
	Al	0.31 ± 0.05	1.68 ± 0.26	1.37 ± 0.14	0.25 ± 0.03	1.47 ± 0.21	1.31 ± 0.21
	Fe(III)	0.31 ± 0.04	1.62 ± 0.31	1.37 ± 0.13	0.26 ± 0.03	1.46 ± 0.14	1.24 ± 0.13
	Al/Fe(III)	0.29 ± 0.03	1.64 ± 0.18	1.40 ± 0.18	0.26 ± 0.03	1.52 ± 0.20	1.29 ± 0.15
	Fe(II)	0.32 ± 0.03	1.74 ± 0.49	1.53 ± 0.23	0.27 ± 0.02	1.46 ± 0.20	1.28 ± 0.17
	Al/Fe(II)	0.31 ± 0.05	1.69 ± 0.33	1.38 ± 0.15	0.29 ± 0.03	1.59 ± 0.22	1.36 ± 0.28

Résultats exprimés en moyenne ± écart-type (N = 6 animaux / groupe).

B. Prelevement de muqueuse intestinale après scrapping.

ORGANES	Groupes	TRAITEMENT SANS CITRATE			TRAITEMENT AVEC CITRATE		
		Concentrations tissulaires			Concentrations tissulaires		
		Mg	K	Na	Mg	K	Na
DUODENUM SCRAPPING	T	0.26 ± 0.02	1.45 ± 0.05	1.30 ± 0.11	0.22 ± 0.04	1.14 ± 0.11	1.56 ± 0.77
	Al	0.27 ± 0.02	1.43 ± 0.15	1.49 ± 0.25	0.26 ± 0.07	1.48 ± 0.46	1.58 ± 0.82
	Fe(III)	0.29 ± 0.04	1.59 ± 0.17	1.39 ± 0.23	0.21 ± 0.03	1.12 ± 0.14	1.61 ± 0.49
	Al/Fe(III)	0.25 ± 0.03	1.47 ± 0.14	1.40 ± 0.13	0.18 ± 0.06	1.11 ± 0.41	1.57 ± 0.10
	Fe(II)	0.29 ± 0.02	1.43 ± 0.24	1.34 ± 0.22	0.22 ± 0.02	1.42 ± 0.41	1.58 ± 0.57
	Al/Fe(II)	0.28 ± 0.05	1.57 ± 0.16	1.43 ± 0.15	0.23 ± 0.02	1.58 ± 0.64	1.63 ± 0.53
JEJUNUM SCRAPPING	T	0.29 ± 0.02	1.56 ± 0.09	1.35 ± 0.09	0.22 ± 0.01	1.27 ± 0.20	1.64 ± 0.26
	Al	0.27 ± 0.03	1.47 ± 0.11	1.46 ± 0.14	0.25 ± 0.04	1.31 ± 0.21	1.72 ± 0.21
	Fe(III)	0.29 ± 0.02	1.46 ± 0.14	1.32 ± 0.09	0.22 ± 0.02	1.35 ± 0.25	1.71 ± 0.18
	Al/Fe(III)	0.29 ± 0.02	1.52 ± 0.18	1.41 ± 0.17	0.20 ± 0.03	1.18 ± 0.27	1.65 ± 0.13
	Fe(II)	0.31 ± 0.05	1.46 ± 0.16	1.48 ± 0.18	0.25 ± 0.05	1.30 ± 0.42	1.71 ± 0.25
	Al/Fe(II)	0.30 ± 0.05	1.59 ± 0.17	1.37 ± 0.09	0.25 ± 0.03	1.27 ± 0.28	1.75 ± 0.13
ILEON SCRAPPING	T	0.28 ± 0.02	1.14 ± 0.17	1.37 ± 0.08	0.24 ± 0.02	1.48 ± 0.19	1.64 ± 0.07
	Al	0.25 ± 0.03	1.48 ± 0.21	1.31 ± 0.21	0.26 ± 0.05	1.63 ± 0.32	1.74 ± 0.44
	Fe(III)	0.26 ± 0.03	1.12 ± 0.14	1.24 ± 0.13	0.25 ± 0.04	1.48 ± 0.16	1.72 ± 0.37
	Al/Fe(III)	0.26 ± 0.03	1.11 ± 0.20	1.29 ± 0.15	0.25 ± 0.02	1.24 ± 0.22	1.70 ± 0.15
	Fe(II)	0.27 ± 0.02	1.42 ± 0.20	1.28 ± 0.17	0.24 ± 0.03	1.49 ± 0.16	1.73 ± 0.16
	Al/Fe(II)	0.29 ± 0.03	1.58 ± 0.22	1.36 ± 0.28	0.23 ± 0.03	1.54 ± 0.27	1.69 ± 0.16

Résultats exprimés en moyenne ± écart-type (N = 6 animaux / groupe).

➔ Traitement de 60 jours avec addition de citrate dans l'alimentation

Au niveau du cerveau, nous n'observons aucune différence significative entre les groupes, comme avec le traitement sans citrate. Pour les concentrations en aluminium et en fer au niveau du fémur, en calcium pour le foie et en phosphore pour les reins, il n'y a pas non plus de différence entre les groupes.

Pour les concentrations en aluminium dans les reins, les groupes Al, Al/Fe(III) et Al/Fe(II) sont significativement supérieurs aux groupes T, Fe(III) et Fe(II) d'environ 14% pour le groupe Al ($0.05 < p < 0.005$), 10% pour Al/Fe(III) ($0.05 < p < 0.005$), et 21% pour Al/Fe(II) ($0.05 < p < 0.005$). Dans la rate, le groupe Fe(III) est inférieur à tous les autres groupes ($p < 0,05$). Le groupe Al/Fe(II) est celui qui a la plus forte teneur en aluminium dans la rate ; il présente 35% de plus que le groupe T et 24% de plus que le groupe Al ($p < 0,01$). Les concentrations au niveau du foie ont une répartition identique à celle de la rate. Le groupe Fe(III) est inférieur à tous les groupes, excepté le groupe T ($p < 0,05$). Le groupe Al/Fe(II) est supérieur à tous les groupes : 46% par rapport aux groupes T et Fe(III), 28% par rapport au groupe Al et 20% par rapport aux groupes Al/Fe(III) et Fe(II) ($p < 0,05$).

Les concentrations en fer ont le même profil, quels que soient les organes : les groupes Fe(II) et Al/Fe(II) sont supérieurs à tous les autres groupes ($0,05 < p < 0,001$). Le groupe Al n'est pas significativement différent du groupe T, par contre, il est inférieur à tous les autres. Les groupes Fe(III) et Al/Fe(III) ne sont pas différents entre eux, mais différents des autres groupes et de valeurs intermédiaires entre les groupes T, Al et Fe(II), Al/Fe(II).

Au niveau des concentrations calciques, les groupes Fe(III) et Al/Fe(III) sont inférieurs aux concentrations des groupes T (10%), Al (15%), et Fe(II) et Al/Fe(II) (8%) pour les reins ($p < 0,05$). Dans la rate, le groupe Al/Fe(II) est supérieur de 5% au groupe Al ($p < 0,05$) et de 12% au groupe Fe(III) ($p < 0,05$). De même, le groupe Fe(II) est supérieur de 11% au groupe Fe(III) ($p < 0.01$). Dans le fémur, par contre, les groupes Al/Fe(II) et Fe(II) sont inférieurs de 55% environ à tous les autres groupes ($p < 0,0001$). Le groupe Al/Fe(III) présente également une diminution de la concentration calcique par rapport au groupe T de 8% ($p < 0,05$).

Pour les concentrations en phosphore, les groupes Al/Fe(II) et Fe(II) ont des valeurs plus élevées que les autres groupes dans la rate et le fémur. Le pourcentage d'augmentation est de 19% dans la rate ($p < 0,005$) et de 12% en moyenne dans le fémur ($0,05 < p < 0,005$). Dans le foie, seul le groupe Al/Fe(II) se distingue avec 15% en plus dans sa concentration en phosphore ($p < 0,05$). Dans le fémur, nous remarquons également que le groupe Al est significativement différent du groupe T : la diminution de la teneur en phosphore observée est de 9% ($p < 0,001$).

Dans l'intestin, les concentrations obtenues dans les différents organes suivent ce qui a été observé dans le traitement sans citrate.

Pour les concentrations aluminiques, le groupe Al est celui qui a les plus fortes concentrations. Le groupe Al/Fe(II) a une concentration équivalente au groupe Al dans le duodénum, le jéjunum, le jéjunum scrapping et l'iléon scrapping. Le groupe Al/Fe(III) vient ensuite, bien que sa concentration ne soit pas significativement différente des groupes précédemment cités pour le jéjunum, le jéjunum scrapping et l'iléon scrapping. Dans les concentrations les plus faibles, nous retrouvons les groupes avec une nourriture supplémentée en fer.

Bien entendu, pour les concentrations en fer, nous observons l'inverse : le groupe Al n'est pas significativement différent du groupe témoin, quel que soit le fragment. Ce sont les groupes Fe(II) et Al/Fe(II) qui ont la concentration la plus élevée en fer, excepté pour l'iléon scrapping où c'est le groupe Fe(III) et dans le duodénum où ce même groupe a un taux en fer identique au groupe Fe(II).

Pour les concentrations calciques dans l'intestin, nous observons, comme pour le protocole sans citrate, que les groupes Fe(II) et Al/Fe(II) ont des concentrations plus élevées que les autres groupes, alors que les groupes Fe(III) et Al/Fe(III) sont inférieurs au groupe témoin pour les 3 fragments scrapping ($0,05 < p < 0,0001$).

Pour les concentrations en phosphore, nous n'observons que de très faibles variations. Pour les fragments iléaux, nous voyons que les groupes Fe(II) et Al/Fe(II) sont significativement différents des groupes Al et Fe(III). Au niveau du duodénum, nous voyons que le groupe Fe(III) est celui qui contient la plus forte concentration de phosphore.

➔ Influence du traitement au citrate

Dans ce paragraphe, nous comparerons chaque groupe avec le groupe équivalent en traitement avec et sans citrate.

Au niveau des teneurs en fer, nous observons qu'elles sont toujours supérieures dans les groupes traités avec du citrate lorsqu'il existe une différence significative, et ceci aussi bien dans les organes que dans les fragments intestinaux ($0.05 < p < 0.0005$). Par contre, pour les teneurs en aluminium, calcium et phosphore, elles sont généralement supérieures dans les groupes traités sans citrate ($0,05 < p < 0,0001$).

V – Discussion

Comme nous l'avons déjà signalé, l'aluminium et le fer ont des propriétés physico-chimiques très proches, et des études ont montré qu'il existe entre le métabolisme de ces deux éléments une interrelation. Dans le sérum, la fraction dominante de l'aluminium est sous forme non-ultrafiltrable et largement liée à la transferrine (Cochran et coll., 1987 ; Martin et coll., 1987). Des expériences ont mis en évidence que la transferrine intervenait non seulement dans le transport sérique, mais aussi dans le passage transmembranaire et dans la toxicité de l'aluminium. Le transport de l'aluminium lié à la transferrine par l'intermédiaire de récepteurs ou par des processus d'endocytose a été démontré dans plusieurs lignées cellulaires (Fernandez Menendez et coll., 1991 ; Mladenovic, 1988 ; Abreo et coll., 1991 ; Kasai et coll., 1991 ; McGregor et coll., 1991 ; Cochran et coll., 1991).

Au niveau intracellulaire, l'aluminium peut interférer avec le métabolisme du fer à plusieurs niveaux comme la régulation de la ferritine par le fer, l'utilisation du fer pour la synthèse de l'hème et l'expression de la transferrine (Abreo et coll., 1994 ; Abreo & Glass, 1993). Les études en rapport avec l'interaction des métaux sont souvent basées sur une déficience en fer : (a) des études cliniques rapportent une corrélation négative entre les concentrations sériques en ferritine et en aluminium chez des patients dialysés (Huang et coll., 1992 ; D'Haese et coll., 1990 ; Cannata et coll., 1993) ; (b) des patients insuffisants rénaux avec un taux sérique en ferritine faible ont une excrétion aluminique urinaire élevée suggérant une absorption de l'aluminium accrue (Lin

et coll., 1995); (c) une lignée cellulaire d'intestin de rat a un transport transmembranaire au niveau des récepteurs transferrine augmenté lorsqu'il y a une déficience en fer (Cannata et coll., 1991 ; Fernandez Menendez et coll., 1991). Ainsi nous avons voulu aborder le problème inverse, c'est-à-dire en présence d'un apport de fer, c'est pourquoi notre étude porte sur une supplémentation de l'alimentation en fer et en aluminium, afin d'observer l'influence de ces métaux au niveau des organes, du sang et de l'intestin.

Effet de l'exposition orale au fer et à l'aluminium sur l'évolution pondérale des animaux

Durant le traitement avec 248 mmol Al/g croquette (soit 6,71 g Al/g croquette) et 248 mmol Fe/g croquette (soit 13,84 g Fe/kg croquette), nous observons, dès les premiers jours, une diminution de la croissance pour tous les groupes traités. Cette perte de poids est d'autant plus marquée chez les animaux du groupe Al/Fe(III). La perte de poids était tellement conséquente que nous avons arrêté l'étude après 10 jours. Les animaux du groupe Al/Fe(III) avaient déjà perdu 32% de leur poids corporel initial et les animaux des groupes Al et Fe(III) en étaient à 8% de perte de leur poids de départ. Graff et Burnel (1995 a et b) qui utilisaient des doses similaires d'aluminium en traitement oral observaient également un retard dans l'évolution pondérale des animaux. Cette perte de poids est attribuée d'une part à la carence en phosphore qu'entraîne l'aluminium par précipitation dans la lumière intestinale, mais également à la diminution de la prise alimentaire journalière.

Lors du traitement avec des doses 10 fois plus faibles, nous n'observons plus de perte de poids. Cependant, la croissance est retardée par rapport aux témoins. Pour les groupes dont l'alimentation contient du Fe(II), la croissance est encore plus ralentie que pour les groupes Al, Fe(III) et Al/Fe(III). Ceci est observé qu'il y ait du citrate ou non dans la nourriture

Ainsi la diminution de la prise alimentaire est corrélée positivement avec le ralentissement de la croissance. Les animaux peuvent refuser la nourriture car le pH des croquettes reconstituées est différent de celui des croquettes standards M25 et plus acide notamment pour les croquettes contenant les deux métaux.

Effet de l'exposition orale au fer et à l'aluminium sur les concentrations plasmatiques et sanguines en minéraux

Pour le traitement de 10 jours, nous observons que le groupe Al/Fe(III) est celui qui a la plus forte aluminémie, puis les groupes Al et Fe(III), et enfin le groupe témoin. L'augmentation de l'aluminémie indiquerait une absorption facilitée en présence du fer. L'augmentation de l'aluminémie dans le groupe Fe(III) peut être due à une augmentation de l'aluminium présent à l'état de traces et étant biodisponible dans la poudre de croquettes.

Ces résultats sont confirmés avec le traitement de 60 jours, où les plus fortes aluminémies sont obtenues pour les groupes Al/ Fe(II), Al/Fe(III) et Al/Fe(II)-citrate.

Nous voyons que les concentrations en calcium et en phosphore sont influencées de manière significative après 10 jours de traitement. Les concentrations sont inversement corrélées, du fait de la balance phosphocalcique. Les groupes Al et Al/Fe(III) ont une teneur plasmatique en calcium supérieure aux groupes Fe(III) et T, alors que leur concentration en phosphore est inférieure.

Pour le traitement de 60 jours avec des doses en métal plus faibles, nous voyons que les groupes contenant du Fe(II), c'est-à-dire Fe(II), Fe(II)-citrate, Al/Fe(II) et Al/Fe(II)-citrate ont des concentrations plus faibles en phosphore et calcium que tous les autres groupes. Ceci est dû à la complexation avec l'aluminium, mais surtout aux déficiences alimentaires. Par contre, les groupes Al et Al-citrate ne présentent pas de différence par rapport au groupe T car cette dose est certainement trop faible pour engendrer une différence sur les concentrations sanguines. En effet, la fonction rénale est capable, grâce aux phénomènes de réabsorption, de compenser les carences en phosphore. Les éléments minéraux sont réabsorbés de l'urine et les concentrations plasmatiques sont maintenues constantes (Walton & Gray, 1979).

Pour les autres éléments (magnésium, potassium et sodium), seuls les groupes contenant du fer(II) sont significativement inférieurs aux autres. Ainsi, aucune différence n'est observée entre les groupes T, Al, Al/Fe(III) et Fe(III), que se soit sur 10 jours ou 60 jours d'intoxication. Le milieu de circulation est de composition stable, excepté lors de carences alimentaires importantes et sur des périodes qui se prolongent.

Le fait d'ajouter du citrate à l'alimentation augmente l'aluminémie du groupe Al, mais aussi la calcémie pour les groupes Al/Fe(II) et Al/Fe(III), le phosphore pour les groupes Fe(III) et Al/Fe(III), le magnésium pour les groupes Al et Al/Fe(II), le sodium pour les groupes Fe(II) et Al/Fe(II). Le citrate, comme nous l'avons déjà évoqué, pourrait former un complexe stable facilitant le passage de l'aluminium et évitant sa précipitation dans le milieu digestif (Martin, 1986 a et b ; Froment et coll., 1989 ; Van der Voet et coll., 1989 ; Walker et coll., 1990). L'augmentation de l'absorption du calcium a également été démontrée en présence de citrate (Harvey et coll., 1988). Le citrate diminuerait la résistance transmembranaire et ouvrirait les jonctions serrées des cellules épithéliales, augmentant ainsi le passage transcellulaire de différents éléments (Martinez-Paloma et coll., 1980).

Effet de l'exposition orale au fer et à l'aluminium sur les concentrations en aluminium et en fer dans les organes

Au niveau des tissus étudiés, il existe des différences significatives. Dans le cerveau, nous n'avons pas observé de variations. Pour les concentrations en aluminium, il n'y a pas de modifications au niveau osseux quel que soit le groupe étudié. Bien entendu, les groupes intoxiqués à l'aluminium sont ceux qui présentent les plus fortes concentrations dans les organes, y compris dans les tissus intestinaux. L'aluminium fixé dans les cellules sous forme équivalente à la ferritine (Fe^{3+} remplacé par Al^{3+}) ne peut plus ressortir des cellules, contrairement au Fe^{3+} , car il ne présente qu'un seul degré d'oxydation. Pour les concentrations en fer, nous observons l'équivalent avec les groupes contenant du fer, mais nous remarquons que les groupes absorbant simultanément de l'aluminium et du fer ont un taux plus élevé en fer que les groupes dont l'alimentation est enrichie uniquement en fer. De plus se sont les animaux intoxiqués au Fe^{2+} (fer ferreux) qui présentent la plus forte teneur en fer. De même, les concentrations aluminiques dans les organes et dans les fragments intestinaux présentent des valeurs supérieures pour le groupe Al/Fe(II). Le fer ferreux faciliterait donc le passage de l'aluminium dans le milieu intérieur et son stockage dans les organes. L'aluminium semble également faciliter l'absorption du fer. Ces résultats sont en accord avec des travaux antérieurs. Le Fe^{2+} faciliterait l'absorption de l'aluminium par la muqueuse intestinale en stimulant la synthèse de ferritine (Van der Voet & De Wolff, 1987 c). Seul le fémur ne présente pas de différence significative au niveau des teneurs en fer.

Au niveau des autres éléments, nous n'observons pas de modifications particulières permettant de conclure à une possible interaction entre le fer et l'aluminium. Signalons la diminution significative de la concentration en phosphore dans le fémur pour le traitement de 10 jours et celui de 60 jours contenant du citrate. Les concentrations en calcium et en phosphore dans l'intestin évoluent de façon inverse : les groupes avec de fortes concentrations en calcium, Fe(II) et Al/Fe(II), sont ceux qui présentent les plus faibles taux de phosphore. Pour les concentrations en magnésium, potassium et sodium, aucune différence notable n'a pu être signalée. L'addition de citrate ne modifie pas non plus de façon radicale les différentes concentrations en minéraux. Ainsi, sur une période de 60 jours, les organismes ont le temps de s'adapter et de prévenir les changements dans les concentrations tissulaires pour minimiser les différences. Cependant, sur de plus longues périodes ou sous des conditions différentes, l'organisme peut ne plus être capable d'adapter avec autant de succès la régulation du métabolisme minéral. Par exemple, les animaux et les hommes avec un dysfonctionnement rénal ou intestinal pourraient être plus sensibles à une surcharge alimentaire en métal.

QUATRIEME PARTIE

INFLUENCE DU PHOSPHATE D'ALUMINIUM SUR L'ALCOOLEMIE

I - Introduction

Le phénomène alcool a, depuis de nombreuses années, préoccupé les Pouvoirs Publics et motivé la réflexion médicale car le comportement de l'individu en état d'ébriété peut présenter un danger potentiel pour la société. En particulier, la boisson alcoolique est fâcheusement connue pour être responsable d'un bon nombre d'accidents de la route, mais aussi, d'accidents du travail et d'accidents domestiques (Ades, 1986).

L'alcoolisme change de visage, et ces modifications affectent tous les pays du monde. La consommation d'alcool augmente presque partout. Les modalités de la consommation de l'alcool se modifient également et avec elles la répartition dans les groupes sociaux et les groupes d'âge.

Devant ce problème de société, quelle solution peut-on entrevoir ?

La cinétique de l'absorption gastro-intestinale de l'alcool n'est pas régulière, mais présente un pic, comme nous le verrons plus loin dans ce rapport. C'est à ce moment que l'organisme présente les modifications sensorielles et motrices les plus marquées. En modifiant cette cinétique d'absorption pour la répartir dans le temps afin d'éviter un pic d'alcoolémie trop important, les perturbations comportementales seraient ainsi atténuées.

C'est dans ce sens que s'est orientée notre réflexion et que l'idée d'utiliser une substance réduisant les échanges entre la muqueuse gastro-intestinale et l'alcool ingéré est apparue.

Le traitement thérapeutique de l'alcoolisme peut être envisagé de deux manières. Les sujets alcoolo-dépendants nécessitent une abstinence, vis à vis de l'alcool,

totale et définitive. Pour les sujets non alcoolo-dépendants, le traitement peut envisager un changement progressif du comportement pour arriver à une consommation contrôlée (Voilquin, 1988). La consommation contrôlée est parfois remise en question. L'utilisation d'une substance qui permettrait de diminuer le taux d'alcool dans le sang chez les "buveurs excessifs" sans problème psychologiques, où le seul but à atteindre, est la modération, pourrait trouver sa place dans le traitement thérapeutique.

Après un rappel sur les troubles comportementaux et sur l'absorption de l'alcool éthylique au niveau gastro-intestinal, nous présenterons les premiers essais sur l'animal de laboratoire que nous avons effectué puis seront exposés les arguments en faveur de notre travail.

II – Quelques rappels sur le sujet

L'alcool éthylique $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ est une petite molécule simple, peu polarisée. Elle est très soluble dans l'eau et assez soluble dans les solvants lipophiles.

Le coefficient de partage graisse/eau est de 30/1, ce qui est très favorable, au passage de l'alcool à travers les membranes cellulaires par diffusion passive.

Lorsque l'éthanol est ingéré, on peut considérer schématiquement trois phases (Dillemann, 1985):

- Première phase : son absorption
- Deuxième phase : sa distribution
- Troisième phase : son métabolisme

1) L'absorption de l'alcool éthylique

L'alcool ingéré ne subit pas la voie de résorption habituelle, au niveau des villosités intestinales. L'assimilation de l'alcool commence au niveau de l'estomac où il diffuse librement à travers la paroi. C'est, en effet, une substance directement assimilable qui ne subit aucune dégradation enzymatique. Grâce à son faible poids moléculaire, la vitesse de résorption de l'éthanol suit la loi de diffusion de Fick et est directement proportionnelle à la différence de

concentration des deux milieux en cause : le contenu gastrique ou intestinal et le sang.

Certains facteurs peuvent influencer le passage de l'alcool vers le compartiment sanguin :

- la dose d'alcool administrée
- la concentration de la solution alcoolique
- le degré de jeûn
- la nature de la muqueuse
- tout paramètre modifiant la courant sanguin

La totalité du tube gastro-intestinal est capable d'absorber l'alcool éthylique (y compris le colon). L'absorption la plus importante a lieu au niveau de l'intestin grêle, immédiatement après le passage du pylore. La vitesse du passage dans le sang est donc également fonction de la rapidité de l'évacuation gastrique (Wilson & Hoyumpa, 1979).

En fait, l'alcool est absorbé à la même vitesse que l'eau et par les mêmes mécanismes, c'est-à-dire selon les lois physiques qui régissent l'écoulement des fluides par différence de pressions hydrostatiques et osmotiques.

2) La distribution dans l'organisme de l'alcool éthylique

Après l'absorption, l'éthanol arrive dans le compartiment sanguin par le système porte et traverse le foie avant d'atteindre la circulation générale. Il diffuse rapidement à travers les capillaires et se distribue dans l'eau des compartiments intracellulaires et extracellulaires.

Au niveau du sang, la courbe d'alcoolémie qui donne la concentration en alcool en fonction du temps évolue en deux phases :

- une phase ascendante, correspondant à la résorption
- une phase descendante, correspondant à l'élimination

Le point culminant de la courbe traduit le moment où le taux de résorption est égal au taux d'élimination par les urines (moins de 10 %) et par transformation (métabolisme) (Wendell & Thurman, 1978).

Le taux d'équilibre de l'alcoolémie dans le cerveau, le foie, les poumons, les reins est rapidement obtenu, principalement grâce au flux sanguin important de ces organes.

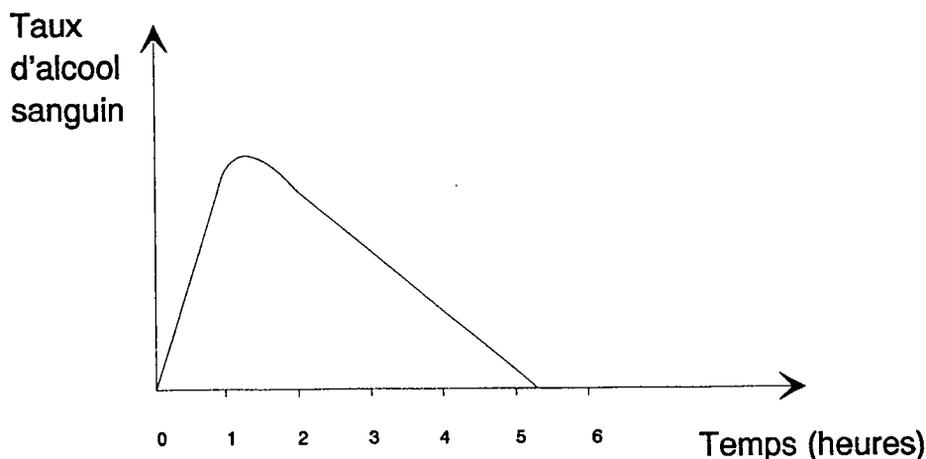


Figure 28 : Evolution de la concentration d'alcool dans le sang en fonction du temps.

3) Signes physiopathologiques de l'alcoolémie

Les études portant sur les données de physiopathologie sont nombreuses et approfondies. Différents paramètres comportementaux à des niveaux croissants d'alcoolémie ont été étudiés.

Les perturbations apparaissent déjà pour de faibles alcoolémies ($0,30 \text{ g.L}^{-1}$) et se généralisent rapidement à partir de $0,50 \text{ g.L}^{-1}$, pour devenir constantes à $0,80 \text{ g.L}^{-1}$. Globalement, on peut rappeler le tableau d'HINGLAIS et DESANTI (tableau 24).

L'alcool et la route sont incompatibles car l'absorption de quelques dizaines de grammes d'alcool est suffisante pour entraver la sécurité routière (Seguin, 1956).

La législation française s'est ainsi constituée; rappelons simplement quelques dates essentielles :

- 1970 : fixation d'un taux légal d'alcoolémie (contraventionnel à $0,80 \text{ g.L}^{-1}$ et délictuel à $1,20 \text{ g.L}^{-1}$)
- 1978 : possibilité de contrôles préventifs et d'annulation du permis
- 1983 : taux délictuel dès $0,80 \text{ g.L}^{-1}$

- 1986 : retrait immédiat du permis si présomption d'ivresse. Suspension directe si la vérification est positive
- 1987 : équipement progressif des Forces de l'Ordre en éthylotests et éthylomètres
- 1995 : taux contraventionnel à 0.50 g.L⁻¹

Tableau 24 : Perturbations physiopathologiques en fonction du taux d'alcoolémie.

TAUX D'ALCOOLEMIE (en g.L ⁻¹)	OBSERVATIONS
0.10	Pas d'atteinte appréciable
0.15	Légère atteinte du contrôle moteur
0.60	Allongement du temps de réaction lors d'un choix
1.00	Taux critique : - allongement du temps de réaction simple - apparition d'une incoordination motrice - allongement du temps de réaction auditif et optique
1.50	Troubles neuro-sensoriels nets Ivresse clinique chez 50 % des sujets
2.00 à 2.20	Ivresse évidente chez 100 % des sujets
4.00	Coma
5.00 à 7.00	Mort

4) Le métabolisme de l'alcool éthylique

Une fois l'absorption et la distribution achevée, la clairance de l'alcool du compartiment sanguin (ou épuration plasmatique de l'alcool) est la résultante du métabolisme de l'alcool et de son excrétion sous forme inchangée par l'organisme (Alcohol and the gastrointestinal tract, 1980).

La phase descendante de la courbe d'alcoolémie est presque linéaire et on peut parler du coefficient d'éthyloxydation qui s'évalue aux environs de 0.1 g d'alcool / L de sang / heure.

Le métabolisme a lieu principalement au niveau des hépatocytes où l'éthanol est oxydé par l'alcool déshydrogénase cytoplasmique, le système d'oxydation microsomial et le système catalasique. Le métabolite final est l'acide acétique, il est libéré dans la circulation sanguine sous forme d'acétate puis est utilisé au niveau des tissus périphériques sous forme d'acétylcoenzymeA. Ainsi le foie joue un rôle prépondérant dans ces processus d'oxydation. Toutefois, les enzymes nécessaires à ce métabolisme se retrouvent dans de nombreux autres tissus.

En conclusion, pour diminuer l'alcoolémie, on peut intervenir :

- ① soit sur l'absorption de l'alcool,
- ② soit sur la vitesse de transformation de l'alcool en acide acétique.

Jusqu'à présent, les études et les produits visant à diminuer l'alcoolémie se sont intéressés à accélérer la vitesse de transformation métabolique de l'alcool: une firme belge a lancé un produit : L'Alsaver[®]. Celui-ci présente les inconvénients d'être très cher et d'imposer à l'organisme une surcharge glucidique (un adulte doit ingérer 60 à 150 grammes de fructose, glucose et maltose pour obtenir un effet).

La solution ① présente l'avantage de ne pas surcharger l'organisme en produit supplémentaire, à condition que le produit soit efficace avant l'absorption de l'alcool et ensuite éliminer dans les fèces.

III - Matériel et méthodes

1) Matériel utilisé

Le matériel nécessaire à cette étude est décrit ci-dessous :

- seringues 2 ml (Terumo)
- aiguilles 0.5 mm x 16 mm (Terumo)
- coussin chauffant (Wetzotherm)
- canule en acier pour gavage à extrémité renflée (Polylabo)
- soie naturelle numéro 2.5 Déc. (Laboratoire Flandre)
- ballon et colonne à distiller en pyrex

2) Produits utilisés

Le Phosphalugel[®] est un produit du laboratoire pharmaceutique Boehringer Ingelheim (Yamanouchi Pharma). Le bichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$), l'acide nitrique (HNO_3), et l'iodure de potassium (KI) proviennent de Prolabo (France). L'acide picrique ($(C_6H_2(NO_2)_3OH)$) et le thiosulfate de sodium ($Na_2S_2O_3$) ont été commandé chez Aldrich (France).

3) Protocole expérimental

Le protocole expérimental est basé sur ceux utilisés dans d'autres études comparables (Schanker et coll., 1957 ; Hava & Hurwitz, 1973 ; Anthone et coll., 1993).

L'animal est anesthésié au pentobarbital sodique (Sanofi, Santé Animale) à une dose de 90 mg / kg en injection intrapéritonéale. Il est ensuite mis sur un coussin chauffant et sous une lampe électrique allumée afin d'éviter l'hypothermie pendant l'expérimentation.

Sur le rat placé en décubitus dorsal, on pratique une laparotomie médiane et l'estomac de l'animal est dégagé. L'arrivée de l'oesophage au niveau du cardia est repérée et libérée de ses attaches mésentériques. L'oesophage est clampé le plus loin possible de l'estomac et on prépare une ligature lâche. On incise l'oesophage environ un centimètre au dessus du cardia et on y introduit une canule à extrémité renflée, ce qui évite le retrait de la canule lors des inspirations de l'animal. On adapte une seringue à l'extrémité libre de la canule afin d'injecter directement les solutions dans la cavité stomacale. L'abdomen est ensuite refermé avec quelques points de suture. Une compresse humidifiée avec une solution de chlorure de sodium à 0.9 % (Aldrich) est déposée sur la plaie pour éviter le dessèchement.

On travaille toujours avec deux animaux en parallèle, un animal témoin et un animal essai, auxquels on perfuse les solutions suivantes :

SOLUTIONS PERFUSEES		ANIMAL TEMOIN	ANIMAL ESSAI
PHOSPHALUGEL®	DOSE	-	1 mL
	DUREE	-	1 heure
EAU	DOSE	1 mL	-
	DUREE	1 heure	-
ETHANOL 40 %	DOSE	1 mL	1 mL
	DUREE	1 heure	1 heure

Après le temps d'incubation, le sang est prélevé par ponction intracardiaque. Le volume sanguin est déterminé avec précision.

4) Dosage de l'alcool dans le sang

La technique utilisée pour déterminer l'alcoolémie a été choisie pour être facilement réalisable au laboratoire. Cette technique de dosage est celle prévue dans les conditions d'application de l'article 13 du décret n° 55-808 portant règlement d'administration publique et relatif aux mesures concernant la lutte contre l'alcoolisme (Coulet, 1958 ; Lundquist, 1959 ; Alby, 1979).

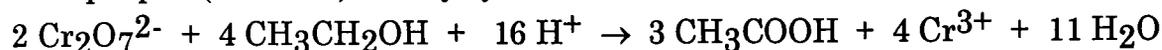
a - Separation de l'alcool du sang par distillation

Un volume de sang, exactement mesuré, est introduit dans un ballon à distiller en verre, contenant déjà 65 ml de solution aqueuse saturée d'acide picrique (Aldrich), que l'on porte à ébullition. Il est recueilli environ 40 mL de distillat qui est complété à 50 mL exactement avec de l'eau distillée.

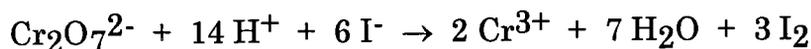
b - Dosage de l'alcool dans le distillat

Tous les dosages seront réalisés en triple.

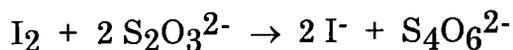
On mesure 5 mL de bichromate de potassium N/20 (Prolabo) préparé dans l'acide nitrique pur (Prolabo) et on y ajoute exactement 10 mL de distillat :



Dix minutes après cette opération, il est ajouté 50 mL d'eau distillée, puis 10 mL de solution aqueuse d'iodure de potassium à 1 % (Prolabo) :



L'iode libéré est dosé par addition d'une solution de thiosulfate de sodium N/20 (Aldrich) en présence d'empois d'amidon comme indicateur :



La quantité d'alcool, exprimée en grammes par litre de sang, est donnée par la formule suivante :

$$[(5 - n) \times 2.87] / p$$

avec n qui représente le volume en mL de la solution titrée de thiosulfate de sodium versé,

p qui représente le volume en mL de la prise d'essai de sang.

Remarque :

La validité de la technique de dosage a été préalablement vérifiée sur des solutions aqueuses et des échantillons sanguins surchargés avec des quantités connues d'éthanol.

Tableau 25 : Validité de la technique de dosage (n est le nombre d'essais réalisés).

Valeurs théoriques	Valeurs obtenues	Ecart-type
1 g.L ⁻¹ (n = 10)	0.95 g.L ⁻¹	0.07 g.L ⁻¹
0.2 g.L ⁻¹ (n = 10)	0.21 g.L ⁻¹	0.05 g.L ⁻¹

IV - Résultats

Pour chaque expérience, deux rats sont perfusés en parallèle. Les moyennes obtenues sont données ci-dessous :

Tableau 26 : Alcoolémie obtenue chez le rat en présence ou non de Phosphalugel®.

GROUPE (n = 30 expériences)	ALCOOLEMIE (g.L ⁻¹)
SANS TRAITEMENT	0.79 ± 0.21
TRAITEMENT AU PHOSPHALUGEL®	0.23 ± 0.15

Dans tous les cas, on obtient une diminution de l'alcoolémie. Si on calcule la différence d'alcoolémie entre les animaux témoin et les animaux traités au Phosphalugel®, la diminution est en moyenne de 71 %.

D'après la théorie de Widmark, la quantité d'alcool présente dans l'organisme (m) est égale au produit de la concentration dans le sang en gramme par litre (p), du poids du corps (M) et de l'espace solvant ou fraction du corps où se dissout l'alcool (E). E est évalué à 0.70 pour le mâle :

$$m = p \times M \times E$$

Pour un rat de 250 g, on peut calculer le taux maximal d'alcool sanguin que l'on aurait pu retrouver si la totalité de l'éthanol administré passait dans le système vasculaire. Sachant que la dose d'alcool injectée dans l'estomac est de 0.40 gramme :

$$p = m / (M \times E)$$

Donc, l'alcoolémie maximale est : $p = 0.40 / (0.25 \times 0.70)$
 $= 2.29 \text{ g.L}^{-1}$

V - Discussion

Ainsi, l'expérimentation animale donne une première approche tout à fait convainquante et on peut affirmer que le Phosphalugel® a une action positive sur la diminution de l'alcoolémie.

De plus, plusieurs caractéristiques intrinsèques du ce gel d'aluminium font que le Phosphalugel® atténuerait l'alcoolémie. Ces caractéristiques se rapportent soit directement au produit actif : le phosphate d'aluminium (Vatier et coll., 1987 ; Vatier, 1988), soit à un excipient : le sorbitol.

① Le Phosphalugel® recouvre l'épithélium stomacal puis intestinal, formant ainsi une couche protectrice qui limite les échanges. Habituellement, la muqueuse gastrique se comporte comme un tamis muni de très petits pores où seules les substances hydrosolubles sont absorbées.

Le passage au niveau intestinal est plus rapide que celui de l'estomac, mais le mécanisme est identique. Les membranes épithéliales se comportent comme une couche lipoprotéique traversée par de minuscules pores remplis d'eau (les pores représentent moins de 0.1 % de la surface membranaire). Les substances hydrosolubles se déplacent à travers ces pores selon un gradient osmotique, puis ressortent par les bordures latérales des cellules pour rejoindre la circulation sanguine.

Le phosphate d'aluminium recouvre les pores membranaires, réduisant ainsi considérablement l'absorption.

De plus, l'éthanol dès une concentration de 10 % peut provoquer des lésions au niveau de la couche épithéliale, ce qui augmente la perméabilité des muqueuses (Baraona et coll., 1974). Si celles-ci sont préalablement recouvertes d'une substance protectrice, le contact direct entre l'alcool et les tissus n'est plus possible et les lésions seront diminuées ou évitées (Fromm, 1979 ; HAGEL et coll., 1982 ; Hollander et coll., 1986 ; Dijoseph et coll., 1990), réduisant ainsi le passage de l'alcool vers le sang (Hollander & Tarnawski, 1989).

Le Phosphalugel® agit comme une barrière mécanique qui limite les échanges, cette propriété a d'ailleurs été largement démontrée en ce qui concerne l'absorption de médicaments (Hurwitz, 1971 ; Hurwitz & Sheehan, 1971 ; Hurwitz & Schlozman, 1974).

② Une autre propriété des antiacides est de retarder la vidange gastrique par leur pouvoir tampon (Hurwitz et coll., 1976).

En effet, la vacuité de l'estomac accélère le transit transpylorique, alors que la présence de substances (ou d'aliments) le retarde et étalera l'alcoolémie dans le temps (la courbe de l'alcoolémie aura un profil plus arrondi). Lorsque l'alcool est mélangé à d'autres aliments, l'absorption est ralentie en raison de leur effet ralentissant la vidange gastrique.

Un pouvoir tampon important, susceptible de neutraliser l'acidité gastrique, comme le provoque le Phosphalugel[®], ralentira le transit. Le temps de séjour de l'alcool dans l'estomac sera donc prolongé; or cet organe est moins favorable à l'absorption que l'intestin grêle. La valeur maximale de l'alcoolémie sera moins rapidement atteinte et surtout plus faible.

③ Le péristaltisme de l'intestin grêle est diminué en présence d'aluminium d'une manière réversible (le phénomène disparaît lorsque l'aluminium n'est plus en contact avec les tissus) (Cunat et coll., 1998). Ce phénomène est également favorable au ralentissement du passage de l'alcool vers le sang. Dans l'intestin, le bol alimentaire subit des mouvements de brassage qui augmentent le contact du chyme avec les villosités intestinales et par conséquent favorisent l'absorption.

Puisque ces mouvements intestinaux sont partiellement inhibés, la surface de contact et l'absorption ne sont plus optimales.

④ Certains auteurs ont suggéré que l'aluminium pourraient augmenter la viscosité du mucus sécrété par l'estomac (Past et coll., 1992). Ceci augmenterait encore la couche protectrice au niveau de cet organe et rendrait plus difficile encore le passage de l'éthanol vers la circulation sanguine.

⑤ Chaque sachet contient du sirop de sorbitol à 70 % utilisé pour éviter la constipation. Il favorise le transit intestinal et vient ainsi compenser l'effet de l'aluminium sur le péristaltisme.

De plus, le sorbitol peut agir également en ralentissant la vitesse d'évacuation gastrique. Les solutés comme le glucose, le sorbitol ou le sulfate de sodium sont, du point de vue osmotique, efficaces et réduisent le transfert transpylorique du bol alimentaire.

D'autre part, le sorbitol semblerait être une des substance les plus actives, avec le fructose, pour réduire l'alcoolémie en agissant au niveau du métabolisme (cette propriété est utilisée pour l'Alsaver[®]).

L'ingestion chronique d'alcool entraîne des perturbations métaboliques et à long terme des altérations fonctionnelles puis organiques des tissus et des organes. En effet, l'éthanol est un toxique pour l'organisme, d'une part parce qu'il lèse les muqueuses digestives et qu'il réduit leur capacité d'absorption, d'autre part parce qu'il perturbe le fonctionnement cellulaire. C'est pourquoi il est indispensable de traiter efficacement tous les problèmes liés à l'alcoolisme. Ainsi les patients non alcoolo-dépendant pourrait atteindre plus facilement une consommation modérée dont les valeurs maximales sont variables d'un individu à l'autre. En général, elles sont de l'ordre de 40 grammes d'alcool par jour pour un homme et de 20 grammes d'alcool par jour pour une femme. Ainsi la prise simultanée de Phosphalugel[®] pourrait contribuer à diminuer le pic d'alcoolémie et donc à amoindrir les effets physiologiques de l'alcool lors de cette consommation modérée et contrôlée. Car nous avons vu que le Phosphalugel[®] présente de nombreuses caractéristiques qui contribuent à diminuer le pic d'alcoolémie en répartissant dans le temps le passage transmembranaire de l'éthanol.

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

L'étude de la biodisponibilité de l'aluminium au niveau intestinal a été abordé par une approche *in vitro* dans un premier temps et *in vivo* dans un second temps.

L'approche *in vitro* a permis la mise en évidence d'un effet des métaux sur les contractions péristaltiques de l'intestin de rat Wistar. En effet, la technique d'intestin isolé nous a permis d'observer l'influence de plusieurs métaux sur les contractions spontanées de l'intestin. Ces métaux ont été choisis pour leur similitude physico-chimiques avec l'aluminium. Il apparaît que tous les métaux ont un effet réversible sur le péristaltisme, excepté le fer. Le métal pour lequel les modifications sont les plus marquées est l'yttrium. Il réduit de façon significative l'amplitude des contractions intestinales. De plus, des précipités d'yttrium ont été détecté par des techniques de microanalyses (images X et spectres) au niveau des espaces intercellulaires et dans des vésicules membranaires : les *caveolae intracellulari* probablement impliquées dans le transport de molécules de l'espace extracellulaire vers l'espace intracellulaire par le processus de potocytose. Ainsi l'yttrium semble modifier les contractions intestinales par l'altération des échanges vers l'intérieur de la cellule.

Le fer a également été étudié mais ce métal ne traverse pas la séreuse intestinale et reste donc sans effet sur les contractions intestinales.

Le chrome et l'aluminium ont un comportement identique : ils diminuent l'amplitude des contractions péristaltiques mais reste sous une forme dispersée au niveau du tissu intestinal. Ces deux métaux peuvent intervenir à plusieurs niveaux dans la régulation des contractions intestinales. Leur constante d'affinité avec le phosphate étant élevée, ces métaux peuvent interagir avec les composés phosphorylés de la cellule, tel que l'ATP ou l'AMP cyclique. De même, la régulation des contractions fait intervenir un complexe Ca^{2+} -calmoduline où l'aluminium peut se fixer et modifier la configuration de la calmoduline, rendant ainsi la protéine inaccessible au calcium et modifiant les phénomènes contractiles du muscle lisse intestinal.

L'étude *in situ* de plusieurs composés aluminiques nous a permis de mettre en évidence l'influence des composés qui complexent l'aluminium en testant plusieurs sels d'aluminium. Pour cela, nous avons utilisé la technique de l'intestin perfusé chez le rat Wistar.

Comme nous l'avons montré, la quantité d'aluminium retenue dans la muqueuse intestinale est inversement corrélée avec la concentration plasmatique mesurée après perfusion. Ainsi, les composés inorganiques de l'aluminium, le glutamate d'aluminium et le lactate d'aluminium, sont plus difficilement absorbés alors que les complexes organiques de l'aluminium traverse facilement la barrière intestinale. Nous avons démontré que l'absorption des composés d'aluminium est étroitement liée à la composition moléculaire des complexes et notamment au nombre de groupements carboxylique, hydroxyle et azoté. L'ordre décroissant de l'absorption intestinale pour les composés aluminiques testés est le suivant : citrate d'aluminium › tartrate d'aluminium › gluconate d'aluminium › lactate d'aluminium › glutamate d'aluminium › sulfate d'aluminium et chlorure d'aluminium › nitrate d'aluminium. Plus le complexe formé entre le chélateur et le métal est stable, plus l'absorption intestinale de l'aluminium est importante.

Lorsque le complexe est facilement absorbé (citrate d'aluminium, tartrate d'aluminium, gluconate d'aluminium), peu de différence d'accumulation de l'aluminium entre les ségments intestinaux est observée. Par contre, pour les autres solutions nous observons une accumulation de l'aluminium plus élevée dans le jéjunum, le duodénum puis l'iléon. Ces variations sont due aux modifications de pH le long du tractus intestinal : le pH acide à la sortie de l'estomac va tendre vers les pH 7-8 au niveau de l'arrivée des canaux biliaires et pancréatiques (jéjunum). L'aluminium, sous l'influence de cette augmentation de pH, va précipiter localement et la concentration tissulaire en aluminium va s'accroître.

L'utilisation du DNP, un inhibiteur des processus actifs, ne modifie pas l'absorption de l'aluminium indiquant que pour les concentrations et les conditions définies pour notre étude, l'aluminium emprunterait majoritairement la voie de passage paracellulaire. Cependant, la voie transcellulaire intervient également car l'augmentation des concentrations aluminiques dans le perfusat ne correspond pas à une augmentation proportionnelle de l'aluminémie, mais semble atteindre une valeur limite. Cette observation peut refléter un transport par des phénomènes saturables soit énergie-dépendants, soit par l'intermédiaire de transporteurs. Les résultats obtenus dans les expériences où les taux de calcium, de glucose ou de phosphore sont modifiés confirment que l'aluminium emprunte une voie saturable. L'aluminium et le calcium seraient en compétition

pour leur fixation sur les protéines de transport. Par contre, l'augmentation de la concentration calcique provoque également la fermeture des jonctions serrées de l'espace paracellulaire et diminue le passage de l'aluminium le long des entérocytes. De même, la suppression de glucose, de phosphore et de calcium dans la perfusion diminue l'absorption de l'aluminium en réduisant les contractions péristaltiques de l'intestin et donc en diminuant les phénomènes de brassage nécessaires à optimiser les mécanismes d'absorption.

Une étude *in vivo* a également été réalisée en intoxiquant des rats Wistar au fer ou / et à l'aluminium car plusieurs observations ont démontré une interférence entre ces deux métaux au niveau de leur absorption intestinale.

Un premier protocole avait été mis en place sur la base d'une concentration aluminique utile pour chélater le phosphore alimentaire soit 248 μmol de métal par gramme de croquette (soit 6,7 mg Al / g croquette et 13,8 mg Fe / g croquette). Ce protocole a été interrompu au 10^{ème} jour de traitement en raison d'une perte de poids, trop importante pour les animaux du groupe Al/Fe(III), qui s'accroissait de jour en jour. Le protocole a été repris avec une dose inférieure de 24,8 μmol de métal par gramme de croquette mais sur une période de 60 jours. L'évolution pondérale des groupes d'animaux ayant un régime alimentaire standard supplémenté en métal est ralentie par rapport aux groupes témoins mais les animaux ne perdent pas de poids. Cette différence pondérale est corrélée avec une perturbation de la prise alimentaire certainement due à l'acidité des croquettes engendrée par l'ajout des métaux. L'administration orale d'aluminium est liée au problème de la spéciation de l'aluminium au niveau digestif. L'aluminium se complexant aux phosphates, seule une faible fraction reste biodisponible et franchit la barrière intestinale. Nous observons cependant une augmentation de l'aluminémie chez tous les groupes traités. L'hyperaluminémie la plus importante est obtenue pour les groupes combinant les deux métaux, ce qui indique une action positive du fer sur l'absorption intestinale de l'aluminium. Cette interaction est d'autant plus marquée que ces groupes ingèrent en quantité absolue moins de métal que les autres groupes du fait de la diminution de prise alimentaire journalière. Nous remarquons également que les groupes ayant du Fe^{2+} dans leur alimentation présentent une carence en fer sanguin. Le traitement de 10 jours entraîne une diminution de la phosphatémie chez les groupes Al et Al/Fe(III) qui est liée à la formation de complexes phospho-aluminiques, limitant ainsi la biodisponibilité du phosphore apporté par l'alimentation. L'augmentation de la calcémie s'explique par le réajustement de la balance phospho-calcique. Ces variations ne sont pas observées pour le traitement avec des doses plus faibles

car l'aluminium ne complexe pas une quantité suffisante de phosphore pour provoquer des modifications remarquables dans les concentrations sanguines. De plus, la fonction rénale compense les carences en phosphore par des mécanismes de réabsorption des éléments minéraux dans l'urine. Les concentrations sanguines des autres éléments étudiés (Mg, K et Na) ne sont pas modifiées par les traitements.

L'addition de citrate provoque également une augmentation de l'aluminémie. Au niveau des organes, aucune différence n'a été observée dans le cerveau. Les groupes traités à l'aluminium ont une augmentation de la teneur aluminique dans les reins, le foie, la rate et l'intestin. Les concentrations ferriques dans les organes sont également augmentée dans les groupes où l'alimentation a été enrichie en fer. Nous observons que les groupes absorbant de l'aluminium et du fer (Fe^{2+}) présentent une plus forte accumulation de fer dans les organes que les groupes $Fe(II)$ et $Fe(III)$ ainsi que d'aluminium par rapport au groupe Al. Les deux métaux faciliteraient donc mutuellement leur absorption intestinale en stimulant la synthèse de ferritine. Pour les autres éléments minéraux étudiés, nous observons peu de variations :

- une diminution de la teneur en phosphore dans le fémur pour le traitement de 10 jours et celui de 60 jours avec addition de citrate, qui en complexant le calcium plasmatique provoque une déminéralisation du tissu osseux
- une corrélation négative entre les concentrations intestinales en phosphore et en calcium,
- pas de différence pour les concentrations en magnésium, sodium et potassium.

L'aluminium et le fer agiraient donc de façon synergique pour leur absorption intestinale réciproque et sur leur accumulation tissulaire.

Lors de ce travail sur l'absorption intestinale de l'aluminium, une réflexion basée sur certaines propriétés de l'aluminium, et en particulier sur le phosphate d'aluminium a engendré une idée pouvant peut-être trouver sa place dans un schéma thérapeutique de l'alcoolisme.

Les propriétés du phosphate d'aluminium ayant donné naissance à cette réflexion sont les suivantes :

- le phosphate d'aluminium recouvre les épithéliums digestifs d'une couche protectrice mécanique qui limite l'absorption des molécules hydrosolubles,
- le phosphate d'aluminium retarde la vidange gastrique par son pouvoir tampon,
- l'aluminium diminue les contractions spontanées de l'intestin, diminuant ainsi le brassage nécessaire à optimiser l'absorption intestinale,

- l'aluminium augmente la viscosité du mucus sécrété par l'estomac et augmenterait d'autant la couche protectrice de l'épithélium.

Ces observations nous ont conduit à penser que l'ingestion de phosphate d'aluminium pourrait diminuer le passage dans l'organisme de l'alcool éthylique. Des expérimentations chez le rat Wistar par la technique in situ de perfusion stomacale et intestinale nous ont confirmé cette hypothèse.

Enfin pour terminer ce travail, je rappellerai ici brièvement les principaux facteurs biologiques influençant l'absorption de l'aluminium par le tractus digestif.

LA BIODISPONIBILITE ET LA SPECIATION DE L'ALUMINIUM DANS LA LUMIERE INTESTINALE :

La digestion est une suite de phénomènes mécaniques et de phénomènes chimiques qui s'accomplissent parallèlement tout au long du tube digestif. L'aluminium ingéré par voie orale va donc subir des transformations liées à ces mécanismes : en général la forme chimique de l'aluminium qui sera absorbée n'est pas la forme ingérée.

↳L'absorption intestinale de l'aluminium dépend des espèces chimiques.

Au niveau intestinal, la forme complexée la plus stable est la plus biodisponible et elle sera donc la plus facilement absorbée.

↳L'absorption intestinale de l'aluminium dépend de la quantité.

Pour une même espèce chimique, l'absorption est corrélée avec la concentration d'aluminium présente du côté muqueux de l'intestin.

↳L'absorption intestinale de l'aluminium dépend de la présence de chélateurs.

Si les complexes formés entre les complexes organiques et l'aluminium sont absorbés plus facilement que les autres composés d'aluminium, c'est qu'ils ont le potentiel de se lier à l'aluminium et de faciliter son transport à travers la barrière intestinale. Ainsi la présence d'autres ions dans la lumière intestinale affecte la spéciation et la quantité des espèces d'aluminium biodisponibles.

↳L'absorption intestinale de l'aluminium dépend du pH.

Le pH est une variable fondamentale qui influe sur tous les paramètres précédemment cités : les espèces chimiques, les quantités biodisponibles et les complexes formés avec d'autres ions.

LA CAPACITE D'ABSORPTION DES ORGANISMES.

↳L'absorption intestinale de l'aluminium dépend de la prédisposition de l'organisme.

Lors de nos expériences chez le rat, nous avons observé qu'il existe, pour une situation donnée (mêmes conditions expérimentales : même concentration en aluminium, même âge), des variations considérables d'un animal à l'autre. Il semblerait que certains organismes possèdent une capacité plus grande d'absorption intestinale que d'autres.

On peut penser qu'il existe également une prédisposition chez certains individus à absorber l'aluminium : on a constaté que des insuffisants rénaux traités par des gels d'aluminium étaient atteints d'encéphalopathie, alors que d'autres patients dans les mêmes conditions ne présentaient pas de signes cliniques graves .

↳L'absorption intestinale de l'aluminium dépend de l'âge de l'organisme.

Les animaux âgés possèdent un potentiel d'absorption de l'aluminium moins important que les jeunes animaux, lié au degré de maturité de la barrière intestinale.

LES VOIES DE TRANSPORT DE L'ALUMINIUM.

↳L'absorption intestinale de l'aluminium dépend du segment intestinal.

Le pH et la spéciation interviennent encore à ce niveau. Pour les espèces chimiques dissociées de l'aluminium, l'absorption intestinale ne peut avoir lieu qu'à la sortie de l'estomac (pH acide) dans le duodénum. Pour les espèces complexées de l'aluminium, l'absorption peut se faire tout au long de l'intestin grêle, avec cependant une absorption maximale au niveau du jéjunum.

↳L'absorption intestinale de l'aluminium peut empreinter deux voies.

Le processus physiologique de l'absorption intestinale inclut :

- une voie de passage intracellulaire : l'aluminium pénètre dans les entérocytes,
- une voie de passage extracellulaire : l'aluminium n'est pas véhiculé dans les entérocytes. Ce transport a été observé notamment en présence de citrate excédentaire et permet un transfert d'aluminium plus élevé que la voie intracellulaire.

Il est devenu aujourd'hui indispensable de connaître la chimie et les processus physiologiques de l'absorption de l'aluminium dans le tractus gastro-intestinal pour pouvoir limiter l'entrée de ce métal dans le milieu intérieur. Mais il est très difficile de modéliser l'absorption de l'aluminium car certains paramètres, tels que le taux de remplissage de l'estomac, la réponse des sécrétions gastriques au bol alimentaire ou la présence de cette nourriture dans l'intestin, ne peuvent que difficilement être contrôlés.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Les abréviations des revues utilisées dans ce chapitre sont celles relatives aux Current Contents, Institute for Scientific Information.

- ABERCROMBIE D.E., FOWLER R.C., 1997, Possible aluminum content of canned drinks., Toxicol. Ind. Health, **13**, 649-654.
- ABRAMSON M.J., WLODARCZYK J.H., SAUNDERS N.A. & HENSLEY M.J., 1989, Does aluminum smelting cause lung disease ?, Amer. Rev. Resp. Dis., **139**, 1042-1057.
- ABREO K., GLASS J. & SELLA M.L., 1990a, Aluminum inhibits hemoglobin synthesis but enhances iron uptake in friend erythroleukemia cells, Kidney Int., **37**, 677-681.
- ABREO K., SELLA M'L. & BROWN S.T., 1990b, Aluminum in domestic water. Overload may be hazardous to dialysis patients, J. Environ. Health, **52**, 289-290.
- ABREO K., JANGULA J., JAIN S.K., SELLA M. & GLASS J., 1991, Aluminum uptake and toxicity in cultured mouse hepatocytes, J. Am. Soc. Nephrol., **1**, 1299-1304.
- ACKLEY D.C. & YOKEL R.A., 1997, Aluminum citrate is transported from brain into blood via the monocarboxylic acid transporter located at the blood-brain barrier, Toxicology, **120**, 89-97.
- ACKRILL P. & DAY J.P., 1984, Therapy of aluminium overload (II), Contr. Nephrol., **38**, 78-80.
- ACKRILL P. & DAY J.P., 1985, Desferrioxamine in the treatment of aluminum overload. Clin. Nephrol., **24**, 594-597.
- ACKRILL P. & DAY J.P., 1993, The use of desferrioxamine in dialysis-associated aluminium disease, in « Moving points in nephrology. Contrib. Nephrol. », **102**, 125-134, Bourke E., Mallick N.P., Pollack V.E. (Eds), Karger, Basel.
- ACKRILL P., DAY J.P., GARSTANG F.M., HODGE K.C., METCALFE P.J., BENZO Z., HILL K., RALSTON A.J. & DENTON J., 1982, Treatment of facturing renal ostedistrophy by desferrioxamine, Proc. Eur. Dial. Transplant. Assoc., **19**, 203-207.
- ACKRILL P., RALSTON A.J. & DAY J.P., 1986, Role of desferrioxamine in the treatment of dialysis encephalopathy, Kidney Int., **29**, S104-S107.
- ACKRILL P., RALSTON A.J., DAY J.P. & HODGE KC., 1980, Successful removal of aluminium from patient with dialysis encephalopathy, Lancet, **II**, 692-693.
- ADAMSON R.H., CANELLOS G.P. & SIEBER S.M., 1975, Studies on the antitumor activity of gallium nitrate (NSC-15200) and other group IIIa metal salts, Cancer Chemother. Rep., Part 1, **59**, 599-610.

- ADES J., 1986, Les conduites alcooliques, Instantanés Médicaux, **57**, 31.
- ADLER A.J. & BERLYNE G.M., 1985, Duodenal aluminum absorption in the rat: effect of vitamin D, Amer. J. Physiol., **12**, 209-213.
- ADLER A.J., LEE J. & BERLYNE G.M., 1986, Aluminum binding activity in canine duodenal mucosal extracts, Biomed. Pharmacotherapy, **40**, 269-271.
- ADLER A.J., ZARA C. & BERLYNE G.M., 1989, Effect of aluminum on bidirectional calcium flux in rat everted intestinal sacs, Am. J. Physiol., **257**, 433-437.
- AGARWAL S.K., AYYASH L., GOURLEY C.S., LEVY J., FABER K. & HUGHES C.L., 1996, Evaluation of the developmental neuroendocrine and reproductive toxicology of aluminium, Fd. Chem. Toxic., **34**, 49-53.
- AGGERBECK H. & HERON I., 1995, Adjuvanticity of aluminium hydroxide and calcium phosphate in diphtheria-tetanus vaccines-I, Vaccine, **13**, 1360-1365.
- AGGERBECK H., FENGER C. & HERON I., 1995, Booster vaccination against diphtheria and tetanus in man. Comparison of calcium phosphate and aluminium hydroxide as adjuvants-II, Vaccine, **13**, 1366-1374.
- AHN H.W., FULTON B., MOXON D. & JEFFERY E.H., 1995, Interactive effects of fluoride and aluminum uptake and accumulation in bones of rabbits administered both agents in their drinking water, J. Toxicol. Environ. Health, **44**, 337-350.
- AIKOH H. & NISHIO M.R., 1996, Aluminum content of various canned and bottled beverages, Bull. Environ. Contam. Toxicol., **56**, 1-7.
- AISEN P., LEIBMAN A. & ZWEIER J., 1978, Stoichiometric and site characteristics of the binding of iron to human transferrin, J. Biol. Chem., **253**, 33-40.
- AKESON M.A., MUNNS D.N. & BURAU R.G., 1989, Adsorption of Al³⁺ to phosphatidylcholine vesicles, Biochem. Biophys. Acta., **986**, 160.
- ALAIS C. & LINDEN G., 1991, Les aliments dans le tube digestif, in Abrégés de Biochimie Alimentaire, Masson, Paris, 160.
- ALBY M.L., 1979, Contribution à l'étude de l'interaction entre alcool éthylique et les médicaments chez les rongeurs, Docteur en médecine, Paris VI, 30 pages.
- ALDERMAN F.R. & GIDELMAN H.J., 1980, Improved electrothermal determination of aluminium in serum by atomic absorption spectroscopy, Clin. Chim. Acta, **26**, 258-260.
- ALFASSI Z.B. & RIETZ B., 1994, Determination of aluminum by instrumental neutron activation analysis in biological samples with special reference to NBS SRM 1577 bovine liver, Analyst, **119**, 2407-2410.
- ALFREY A.C., 1983, Aluminum, Adv. Clin. Chem., **23**, 69-91.
- ALFREY A.C., 1984, Aluminum intoxication, N. Engl. J. Med., **310**, 1113-1115.
- ALFREY A.C., 1986, Systemic toxicity of aluminum in man, Neurobiol. Aging, **7**, 5543-5544.
- ALFREY A.C., HEGG A. & CRASWELL P., 1980, Metabolism and toxicity of aluminum in renal failure, Am. J. Clin. Nutr., **33**, 1509-1516.

- ALFREY A.C., LEGENDRE G.R. & KAEHNY W.D., 1976, The dialysis encephalopathy syndrome: possible aluminum intoxication, N. Engl. J. Med., 294, 184-188.
- ALFREY A.C., MISHELL J.M., BURKS J., CONTIGUGLIA S.R., RUDOLPH H., LEWIN E. & HOLMES J.H., 1972, Syndrome of dyspraxia and multifocal seizures associated with chronic hemodialysis, Trans. Am. Soc. Artif. Int. Organs, 18, 257-261.
- ALI N., CRAXTON A., SUMMER M. & SHEARS B., 1995, Effects of aluminium on the hepatic inositol polyphosphate phosphatase., Biochem. J., 305, 557-561.
- ALLAIN P. & MAURAS Y., 1979, Determination of aluminium in blood, urine and water by inductively coupled plasma emission spectrometry, Anal. Chem., 51, 2089-2091.
- ALLAIN P., GAUCHARD F. & KRARI N., 1996, Enhancement of aluminum digestive absorption by fluoride in rats, Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol., 91, 225-231.
- ALLAIN P., LEBLONDEL G. & MAURAS Y., 1988, Effect of aluminum and deferoxamine on biliary iron elimination in the rat, P. Soc. Exp. Biol. Med., 188, 471-473.
- ALLAIN P., MAURAS Y., KRARI N., DUCHIER J., COURNOT A. & LARCHEVEQUE J., 1990, Plasma and urine concentrations in healthy subjects after administration of sucralfate, Br. J. Clin. Pharmacol., 29, 391-395.
- ALLEN H.E., HALLEY-HENDERSON M.A. & HASS C.N., 1989, Chemical composition of bottled mineral water, Arch. Environ. Health, 44, 102-116.
- ALLEN V.G., 1987, Influence of aluminum on magnesium metabolism. In C.R. Symposium « Magnesium in Cellular Processes and Medicine », 50-66, Blacksburg, Altura, Durlach, Seelig (Eds.), Karger, Basel, 1987.
- ALTMAN P., PLOWMAN D., MARSH F. & CUMMINGHAM J., 1988, Aluminium chelation therapy in dialysis patients: evidence for inhibition of haemoglobin synthesis by low levels of aluminium, Lancet, I, 1012-1015.
- ALVA A.K., EDWARDS D.G., ASHER C.J. & BLAMEY F.P., 1986, Relationships between root length of soybean and calculated activities of aluminum monomers in nutrient solution, Soil Sci. Soc. Am. J., 50, 959-962.
- ANANE R., BONINI M. & CREPPY E.E., 1997, Transplacental passage of aluminum from pregnant mice to fetus organs after maternal transcutaneous exposure, Hum. Exp. Toxicol., 16, 501-504.
- ANDERSEN J.R., 1988, Aluminum in peritoneal dialysis fluid as determined by stabilised temperature platform furnace atomic absorption spectrometry, J. Pharmaceut. Biomed. Anal., 6, 29-33.
- ANDERSON R., KAMEN B.A., ROTHBERG K.G. & LACEY S.W., 1992, Potocytosis sequestration and transport of small molecules by caveolae, Science, 255, 410-411.
- ANDRASI E., FARKAS E., SCHEIBLER H., REFFY A., BEZUR L., 1995, AL, Zn, Cu, & Fe levels in brain in Alzheimer's disease, Arch. Gerontol. Geriat., 21, 89-97.
- ANDREOLI S.P., BERGSTEIN J.M. & SHERRARD D.J., 1984, Aluminum intoxication from aluminum-containing phosphate binders in children with azotemia not undergoing dialysis, N. Engl. J. Med., 310, 1079-1084.

- ANDRESS D.L., KOPP J.B., MALONEY N.A., COBURN J.W. & SHERRARD D.J., 1987, Early deposition of aluminum in bone diabetic patients of hemodialysis, N. Engl. J. Med., **316**, 292-296.
- ANDRESS D.L., MALONEY N.A., ENDRESS D.B. & SHERRARD D.J., 1986, Aluminum-associated bone disease in chronic renal failure: high prevalence in a long-term dialysis population, J. Bone Miner. Res., **1**, 391-398.
- ANGHILERI L.J., MAINCENT P. & THOUVENOT P., 1994, Long-term oral administration of aluminum in mice : Aluminum distribution in tissues and effects on calcium metabolism, Ann. Clin. Lab. Sci., **24**, 22-26.
- ANTHONE G.J., BARRY M.K. & YEO C.J. , 1993, Site specificity and meal stimulation of the intestinal absorption of water, electrolytes, and bile acids, Am. J. Surg., **165**, 704-707.
- ARMSTRONG R.A., WINSPER S.J. & BLAIR J.A., 1996, Aluminium and Alzheimer's disease: review of possible pathogenic mechanisms, Dementia, **7**, 1-9.
- ARZE R.S., PARKINSON I.S., CARTLIDGE N.E.F., BRITTON F. & WAR M.K., 1981, Reversal of aluminium dialysis encephalopathy after desferrioxamine treatment, Lancet, **II**, 1116-1119.
- ATIENZAR F., DESOR D., BURNEL D., KELLER J.M., LEHR P. & VASSEUR P., 1998, Effect of aluminum on superoxide dismutase activity in the adult rat brain, Biol. Trace Elem. Res., **65**, 19-29.
- BAES C.F.J. & MESMER R.E., 1976, The hydrolysis of cations, Wiley J. & sons, New-York, 112.
- BAKER J.P. & SCHOFIELD C.L., 1982, Water Air Soil Pollution, **18**, 289.
- BAKER L.R.I., BARNETT M.D., BROZOVIC B., CATTEL W.R., ACKRILL P., Mc ALISTER J. & NIMMON C., 1976, Haemosiderosis in a patient on regular haemodialysis: treatment by desferrioxamine, Clin. Nephrol., **6**, 326-328.
- BAKIR A.A., HRYHORCZUK D.O., BERMANE E. & DUNEA G., 1986, Acute fatal hyperaluminemic encephalopathy in undialysed and recently dialysed uremic patients, Trans. Am. Soc. Artif. Int. Organs, **32**, 71-176.
- BAKIR A.A., HRYHORCZUK D.O., AHMED S., HESSL S.M., LEVY P.S., SPENGLER R. & DUNEA G., 1989, Hyperaluminemia in renal failure: the influence of age and citrate intake, Clin. Nephrol., **31**, 40-44.
- BARAONA E., PIROLA R.C. & LIEBER C.S., 1974, Small intestinal damage and changes in cell population produced by ethanol ingestion in the rat, Gastroenterology, **66**, 226-234.
- BATAINEH H., AL-HAMOOD M.H. & ELBETIEHA A.M., 1998, Assessment of aggression, sexual behavior and fertility in adult male rat following long-term ingestion of four industrial metals salts, Hum. Exp. Toxicol., **17**, 570-576.
- BAYDAR T., AYDIN A., DURU S., ISIMER A. & SAHIN G., 1997, Aluminum in enteral nutrition formulas and parenteral solutions, J. Toxicol. Clin. Toxicol., **35**, 277-281.
- BEGIN R., MASSE S. & DUFRESNE A., 1995, Further information on aluminium inhalation in silicosis, Occup. Environ. Med., **52**, 778-780.

- BELLES M., SANCHEZ D.J., GOMEZ M., CORBELLA J. & DOMINGO J.L., 1998, Silicon reduces aluminum accumulation in rats: relevance to the aluminum hypothesis of Alzheimer disease, Alzheimer Dis. Assoc. Disord., 12, 83-87.
- BELLIA J.P., BIRCHALL J.D. & ROBERTS N.B., 1996, The role of silicic acid in the renal excretion of aluminium, Ann. Clin. Lab. Sci., 26, 227-233.
- BELLOWS C.G., AUBIN J.E. & HEERSCHKE J.N.M., 1995, Aluminum inhibits both initiation and progression of mineralization of osteoid nodules formed in differentiating rat calvaria cell cultures, J. Bone Miner. Res., 10, 2011-2016.
- BEN-HUR E., NAGELKERKE J.F., DUBBELMAN T.M.A.R. & VAN STEVENINCK J., 1992, The effect of fluoride on photodynamic-induced fluorescence changes of aluminium phthalocyanine in chinese hamster cells, Int. J. Radiat. Biol., 61, 767-772.
- BENNET R.J. & BREEN C.M., 1989, Towards understanding root growth responses to environmental signals: the effect of aluminium on maize, S. Afr. J. Sci., 85, 9-12.
- BENNET R.W., PERSAUD T.V.N. & MOORE K.L., 1975, Experimental studies on the effects of aluminum on pregnancy and fetal development, Anat. Anzeiger, 138, 365-378.
- BERGER B., 1984, Anomalies des neurotransmetteurs dans la maladie d'Alzheimer, Rev. Neurol., 140, 539-552.
- BERGER B., TASSIN J.P., RANCUREL G. & BLANC G., 1980, Catecholaminergic innervation of the human cerebral cortex in presenile and senile dementia, In Enzymes and neurotransmitters in mental disease, 317-328, Usdin E., Sourkes T.L. & Youdim M.B.H. (Eds.), Wiley J. & sons, New-York.
- BERLYNE G.M., PEST D., BEN-ARI J., WEINBERGER G., STERN M., GILMORE G.R. & LEVINE R., 1970, Hyperaluminemia from aluminum resins in renal failure, Lancet, 2, 494-496.
- BERLYNE G.M., YAGIL R., BEN-ARI J., WEINBERGER G., KNOPF E. & DANOVITCH G.M., 1972, Aluminum toxicity in rats, Lancet, I, 564-567.
- BERNUZZI V., 1988, Contribution à l'étude expérimentale des effets d'intoxications aluminiques précoces chez le rat : développement physique, maturation neuromotrice, comportement en situations d'apprentissage, doctorat de toxicologie, Université de Metz.
- BERNUZZI V., DESOR D. & LEHR P.R., 1989, Developmental alterations in offspring of female rats orally intoxicated by aluminum chloride or lactate during gestation, Teratology, 40, 21-27.
- BERRY J.P., HENOC P. & GALLE P., 1978, Phagocytosis by cells of pulmonary alveoli: transformation of crystalline particles, Am. J. Pathol., 93, 27-44.
- BERTHOLF R.L., BROWN S., RENOE B.W., WILLS M.R. & SAVORY J., 1983, Improved determination of aluminium in serum by electrothermal atomic absorption spectroscopy, Clin. Chem., 29, 1087-1089.
- BERTHOLF R.L., HERMAN M.M., SAVORY J., CARPENTIER R.M., STURGILL B.C., KATSETOS C.D., VANDERBERG S.R. & WILLS M.R., 1989, A long term intravenous model of aluminum maltol toxicity in rabbits: tissue distribution, hepatic, renal and neuronal cytoskeletal changes associated with systemic exposure, Toxicol. Appl. Pharmacol., 98, 58-74.

- BERTHOLF R.L., NICHOLSON J.R.P., WILLS M.R. & SAVORY J., 1987, Measurement of lipid peroxidation products in rabbit brain and organs (response to aluminum exposure), Ann. Clin. Lab. Sci., **17**, 418-423.
- BERTHOLF R.L., WILLS M.R. & SAVORY J., 1984, Quantitative study of aluminum binding to human serum albumin and transferrin by a chelate competitive binding assay, Biochem. Biophys. Res. Commun., **125**, 1020-1024.
- BERTSCH P.M. & ANDERSON M.A., 1989, Speciation of aluminum in aqueous solutions using ion chromatography, Anal. Chem., **61**, 535-539.
- BIA M.J., COOPER K., SCHNALL S., DUFFY T., HENDLER E., MALLUCHE H. & SALOMON L., 1989, Aluminum induced anemia: pathogenesis and treatment in patients on chronic hemodialysis, Kidney Int., **36**, 852-858.
- BIDLACK W.R., BROWN R.C., MESKIN M.S., LEE T.C. & KLEIN G.L., 1987, Effect of aluminum on the hepatic mixed function oxidase and drug metabolism, Drug. Nutr. Interact., **5**, 33-42.
- BIEGO G.H., JOYEUX M., HARTEMANN P. & DEBRY G., 1998 a, Daily intake of essential minerals and metallic micropollutants from foods in France, Sci. Total Environ., **217**, 27-36.
- BIEGO G.H., JOYEUX M., HARTEMANN P. & DEBRY G., 1998 b, Determination of mineral contents in different kinds of milk and estimation of dietary intake in infants, Food Addit. Contam., **15**, 775-781.
- BIELARCZYK H., TOMASZEWICZ M. & SZUTOWICZ A., 1998, Effect of aluminum on acetyl-CoA and acetylcholine metabolism in nerve terminals, J. Neurochem., **70**, 1175-1181.
- BIENVENU P., NOFRE C. & CIER A., 1963, Toxicité générale comparée des ions métalliques; Relation avec la classification périodique, C.R. Acad. Sci., **256**, 1043.
- BIRCHALL J.D., 1992, The interrelationship between silicon and aluminum in the biological effects of aluminium in "Aluminum in Biology and Medicine", 50-61, Chadwick D.J. & Whelan J. (Eds.), Wiley J. & sons, Chichester.
- BIRCHALL J.D. & CHAPPEL J.S., 1987, The solution chemistry of aluminium and silicon and its biological significance, Proceedings of the second international symposium on geochemistry and health, « Monograph series: geochemistry and health. science reviews », Thorton I. (Ed.), The Fairways, Northwood, Middlesex, United Kingdom.
- BIRCHALL J.D. & CHAPPEL J.S., 1988, Aluminium, chemical physiology, and Alzheimer's disease, Lancet, 1008-1010.
- BIRCHALL J.D., EXLEY C., CHAPPEL J.S. & PHILLIPS M.J., 1989, Acute toxicity of aluminum to fish eliminated in silicon-rich acid waters, Nature, **338**, 146-148.
- BISCHOFF F. & BRYSON G., 1964, Carcinogenesis through solid state surfaces, Proc. Exp. Tumor Res., **5**, 85-133.
- BISHOP N., MCGRAW M. & WARD N., 1989a, Aluminium in infant formulas, Lancet, 565-566.
- BISHOP N.J., MORLEY R., DAY J.P. & LUCAS A., 1997, Aluminum neurotoxicity in preterm infants receiving intravenous-feeding solutions, N. Engl. J. Med., **336**, 1557-1561.

- BISHOP N.J., ROBINSON M.J., LENDON M., HEWITT C.D. & O'HARA M., 1989b, Increased concentration of aluminium in the brain of a parenterally fed preterm infant, Arch. Dis. Child., **64**, 1316-1317.
- BJERTNESS E., CANDY J.M., TORVIK A., INCE P., McARTHUR F., TAYLOR G.A., JOHANSEN S.W., ALEXANDER J., GRONNESBY J.K., BAKKETEIG L.S. & EDWARDSON J.A., 1996, Content of brain aluminum is not elevated in Alzheimer disease, Alz. Dis. Assoc. Dis., **10**, 171-174.
- BJORNSTAD H.E., OUGHTON D.H. & SALBU B., 1992, Determination of aluminium-26 using a low-level liquid scintillation spectrometer, Analyst, **117**, 435-437.
- BLANUSA M., PRESTER L., CRNOGORAC M., PURETIC Z., BUBIC-FILIPI L. & DADIC Z., 1997, Aluminium in water ,for preparation of dialysate and in serum of dialysed patients, Arc. Hig. Rada. Toksikol., **48**, 197-204.
- BLOTCKY A.J., HOBSON D., LEFFLER J.A., RACK E.P. & RECKER R.R., 1976, Determination of trace aluminum in urine by neutron activation analysis, Anal. Chem., **48**, 1084-1088.
- BOMMER J., WALDHERR R., WIESER P.H. & RITZ E., 1983, Concomitant lysosomal storage of iron and aluminium dialysis patients, Lancet, **I**, 1930.
- BONHAUS D.W., Mc CORMACK K.W., MAYOR G.H., MATTSON J.C. & HOOK J.B., 1978, Effect of aluminium on microtubule subunit protein aggregation in vitro and microtubule formation in vivo, Kidney Int., **14**, 671.
- BONHOMME L., LOMBARD M.N., HALPERN S. & FRAGU P., 1989, Augmentation de la concentration d'aluminium nucléaire pendant la régénération hépatique: Etude par microscopie ionique analytique, C. R. Acad. Sci. Ser. III-Vie, **308**, 293-297.
- BOUDEY M., BUREAU F., PLACE C., NEUVILLE D., DROSDOWSKY M., ARHAN P. & BOUGLE D., 1997, Effect of small variations of aluminum intake on calcium metabolism in young rats, J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr., **24**, 124-127.
- BOUGLE D., BUREAU F., MORELLO R., GUILLOIS B. & SABATIER J.P., 1997, Aluminum in the premature infant, Trace Elem. Electrol., **14**, 24-26.
- BOUGLE D., SABATIER J.P., BUREAU F., LAROCHE D., BROUARD J., GUILLOIS B. & DUHAMEL J.F., 1998, Relationship between bone mineralization and aluminium in the healthy infant, Eur. J. Clin. Nutr., **52**, 431-435.
- BOUKARI M., ROTTEMBOURG J., JAUDON M.C., CLAVEL J.P., LEGRAIN M. & GALLI A., 1978, Influence de la prise prolongée de gels d'alumine sur les taux sériques d'aluminium chez les patients atteints d'insuffisance rénale chronique, La Nouvelle Presse Médicale, **7**, 85-88.
- BOURDEAU A.M., PLACHOT J.J., COURNOT-WITMER G., POINTILLART A., BALSAN S. & SACHS C., 1987, Parathyroid response to aluminum in vitro: ultrastructural changes and PTH release, Kidney Int., **31**, 15-24.
- BOYE N.P., SALO O.P., HYLDEBRANDT N., WIHL J.A., BEVAN A., HARRIS R.I. & LOVELY J.R., 1990, Immunotherapy of tree pollen allergy with a modified alginate conjugated birch pollen extract compared to an aluminium adsorbed extract, Allergy, **45**, 241-248.
- BRADLEY C. & LEUNG F.Y., 1994, Aluminum determined in plasma and urine by atomic absorption spectroscopy with a transversely heated graphite atomizer furnace, Clin. Chem., **40**, 431-434.

- BRAHM M., 1986, Serum-aluminium in nondialysed chronic uremic patients before and during treatment with aluminium-containing phosphate-binding gels, Clin. Nephrol., 25, 231-235.
- BRÄUNLICH H., FLECK C., KERSTEN L., STEIN G., LASKE V., MÜLLER A. & KEIL E., 1986, Renal effects of aluminium in uraemic rats and in rats with intact kidney function, J. Appl. Toxicol., 6, 55-59.
- BRÄUNLICH H., GWIASDA H., GWIASDA J. & WINNEFELD K., 1988, Pharmakokinetik und nephrotoxizität von aluminium bei ratten unterschiedlichen alters, Pharmazie, 43, 633-638.
- BRENNER S.R. & YOON K.W., 1994, Aluminum toxicity in rat hippocampal neurons, Neurosci. Lett., 178, 260-262.
- BRICKER N.S., SLATOPOLSKY E., REISS E. & AVIOLI L.V., 1969, Calcium, phosphorus and bone in renal disease and transplantation, Arch. Inter. Med., 123, 543-553.
- BROWN D.J., DAWBORN J.K., HAM K.N. & XIPPEL J.M., 1982, Treatment of dialysis osteomalacia with desferrioxamine, Lancet, 2, 343-345.
- BROWN D.J.A., 1983, Effects of calcium and aluminum concentrations on the survival of Brown Trout (*Salmo trutta*) at low pH, Bull. Environ. Contam. Toxicol., 30, 582-587.
- BROWN G.M., DONALDSON K. & BROWN D.M., 1989, Bronchoalveolar leukocyte response in experimental silicosis: modulation by a soluble aluminum compound, Toxicol. Appl. Pharmacol., 101, 95-105.
- BUGE A., POISSON M., MASSON S., BLEIBEL J.M., LAFFORGUE B., RAYMOND P. & JAUDON M.C., 1978, Encéphalopathie prolongée et réversible chez un dialysé chronique : responsabilité probable des sels d'aluminium, La Nouvelle Presse Médicale, 7, 2053-2059.
- BUGE A., POISSON M., MASSON S., BLEIBEL J.M., MASHALY R., JAUDON M.C., LAFFORGUE B., LEBKIRI B. & RAYMOND P., 1979, Encéphalopathie réversible des dialysés après arrêt de l'apport d'aluminium, La Nouvelle Presse Médicale, 8, 2729-2733.
- BUGIANI O. & GHETTI B., 1982, Progressing encephalomyelopathy with muscular atrophy, induced by aluminum powder, Neurobiol. Aging, 3, 209-222.
- BURGESS E., 1991, Aluminum toxicity from oral sucralfate therapy, Nephron, 59, 523-524.
- BURGESS E., MURUVE D. & AUDETTE R., 1992, Aluminum absorption and excretion following sucralfate therapy in chronic renal insufficiency, Am. J. Med., 92, 471-475.
- BURKS J.S., ALFREY A.C., HUDDLESTONE J., NORENBERG M.D. & LEWIN E., 1976, A fatal encephalopathy in chronic haemodialysis patient, Lancet, I, 764-768.
- BURNATOWSKA-HLEDIN M., EBNER K.V. & MAYOR G.H., 1986, In vivo and in vitro effects of aluminum treatment on rat liver mitochondrial function, Biol. Trace Elem. Res., 10, 235-242.
- BURNATOWSKA-HLEDIN M.A., MAYOR G.H. & LAU K., 1985a, Renal handling of aluminum in the rat: clearance and micropuncture studies, Am. J. Physiol., 249, F192-F197.
- BURNATOWSKA-HLEDIN M.A., SCHWARTZ K., KOVAN J. & MAYOR G., 1985b, Effect of desferrioxamine (DFO) and ethylenediamine N,N'-bis(2-hydroxyphenylacetic) acid (EDBHPA) in aluminum (Al) loaded rats, Kidney Int., 27, 158.

- BURNEL D., HUTIN M.F., MASSON A. & NETTER P., 1982a, Dosage de l'aluminium par polarographie impulsionnelle, Ann. Fals. Exp. Chim., 75, 177-183.
- BUSHINSKY D.A., SPRAGUE S.M., HALLEGOT P., GIROD C., CHABALA J.M. & LEVI-SETTI R., 1995, Effects of aluminum on bone surface ion composition., J. Bone Miner. Res., 10, 1988-1997.
- BÜSSELBERG D., PLATT B., HAAS H.L. & CARPENTER D.O., 1993, Voltage gated calcium channel currents of rat dorsal root ganglion (DRG) cells are blocked by Al³⁺, Brain Res., 622, 163-168.
- BÜSSELBERG D., PLATT B., MICHAEL D., CARPENTER D.O. & HAAS H.L., 1994, Mammalian voltage-activated calcium channel currents are blocked by Pb²⁺, Zn²⁺, and Al³⁺, J. Neurophysiol., 71, 1491-1497.
- CACINI W. & YOKEL R.A., 1988, Accumulation of aluminum by rabbit renal cortex, Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol., 59, 93-105.
- CALDWELL C.R., 1989, Analysis of aluminum and divalent cation binding to wheat root plasma membrane proteins using terbium phosphorescence, Plant Physiol., 91, 233-241.
- CALEVRO F., CAMPANI S., RAGGHIANI M., BUCCI S. & MANCINO G., 1998, Test of toxicity and teratogenicity in biphasic vertebrates treated with heavy metals (Cr 3+, Al 3+, Cd 2+), Chemosphere, 37, 3011-3017.
- CAM J.M., LUCK V.A., EASTWOOD J.B. & DE WARDENER H.E., 1976, The effect of aluminium hydroxide on calcium, phosphorus and aluminium metabolism in normal subjects, Clin. Sci. Molec. Med., 51, 407-414.
- CAMPBELL I.R., CASS J.S., CHOLAK J. & KEHOE R.A., 1957, Aluminum in the environment of man. A review of his hygienic status, Arch. Ind. Health, 15, 359-448.
- CAMPBELL P.G.C., BISSON M., BOUGIE R., TESSIER A. & VILLENEUVE J.P., 1983, Speciation of aluminum in acidic freshwaters, Anal. Chem., 55, 2246-2252.
- CAMPISTOL J.M., CASES A., BOTEY A. & REVERT A., 1989, Acute aluminum encephalopathy in an uremic patient, Nephron, 51, 103-106.
- CANDY J.M., KLINOWSKI J., PERRY R.H., PERRY E.K., FAIRBAIRN A., OAKLEY A.E., CARPENTIER T.A., ATACK J.R., BLESSED G., & EDWARDSON J.A., 1986, Aluminosilicates and seniles plaque formation in Alzheimer's disease, Lancet, I, 354-357.
- CANDY J.M., OAKLEY A.E., MOUNTFORT S.A., TAYLOR G.A., MORRIS C.M., BISHOP H.E. & EDWARDSON J.A., 1992a, The imaging and quantification of aluminium in the human brain using dynamic secondary ion mass spectrometry (SIMS), Biol. Cell., 74, 109-118.
- CANDY J.M., PERRY R.H., PERRY E.K., IRVING D., BLESSED G., FAIRBAIRN A.F. & TOMLINSON B.E., 1983, Pathological changes in the nucleus of Meynert in Alzheimer's and Parkinson's diseases, J. Neurol. Sci., 54, 277-289.
- CANDY J.M., PERRY R.H., PERRY E.K., IRVING D., BLESSED G., FAIRBAIRN A.F. & TOMLINSON B.E., 1992b, Aluminium accumulation in relation to senile plaques and neurofibrillary tangle formation in the brains of patients with renal failure, J. Neurol. Sci., 107, 210-218.
- CANNATA J.B., BRIGGS J.D., JUNOR B.J.R., FELL G.S. & BEASTALL G., 1983, Effect of acute aluminium overload on calcium and parathyroid-hormone metabolism, Lancet, 501-503.

- CARAMELO C.A., CANNATA J.B., RODELES M.R., FERNANDEZ MARTIN J.L., MOSQUERA J.R., MONZU B., OUTEIRINO J., BLUM G., ANDREA C., LOPEZ FARRE A.J., ACUNA G., CASADO S. & HERNANDO L., 1995, Mechanisms of aluminum-induced microcytosis: lessons from accidental aluminum intoxication, Kidney Int., 47, 164-168.
- CARTIER F., ALLAIN P., GARY J., CHATEL M., MEMAULT F. & PECKER S., 1978, Encéphalopathie myoclonique progressive des dialysés. Rôle de l'eau utilisée pour l'hémodialyse, La Nouvelle Presse Médicale, 7, 97-103.
- CASES A., KELLY J., SABATER F., TORRAS A., CINTA GRINO M., LOPEZ-PEDRET J. & REVERT L., 1990, Ocular and auditory toxicity in hemodialyzed patients receiving desferrioxamine, Nephron, 56, 19-23.
- CHAINY G.B.N., SAMANTA L. & ROUT N.B., 1996, Effect of aluminum on superoxide dismutase, catalase and lipid peroxidation of rat liver, Res. Commun. Mol. Path. Pharmacol., 94, 217-222.
- CHAN Y.L., ALFREY A.C., POSEN S., LISSNER D., HILLS E., DUNSTAN C.R. & EVANS R.A., 1983, Effect of aluminum on normal and uremic rats: tissue distribution, vitamin D metabolites, and quantitative bone histology, Calcif. Tissue Int., 35, 344-351.
- CHANG W.J., YING Y.S., ROTHBERG K.G., HOOPER N.M., TURNER A.J., GANBLIEL H.A., DE GUNZBURTG J., MUMBY S.M., GILMAN A.G., ANDERSON R.G.W., 1994, Purification and characterization of smooth muscle cell caveolae., J. Cell Biol., 126, 127-138.
- CHAPPUIS P., DUHAUX L., PAOLAGGI F., DE VERNEJOUL M.C. & ROUSSELET F., 1988, Analytical problems encountered in determining aluminum status from hair in controls and hemodialyzed patients, Clin. Chem., 34, 2253-2255.
- CHARHON S.A., CHAVASSIEUX P., CHAPUY M.C., ACCOMINOTTI M., TRAEGER J. & MEUNIER P.J., 1986, Traitement par la desferrioxamine de l'ostéomalacie par intoxication à l'aluminium, La Nouvelle Presse Médicale, 15, 55-59.
- CHARHON S.A., EL YAFI S., GAILLARD M., BERUARD M., JANIN G., ACCOMINOTTI M., TRAEGER J. & MEUNIER P.J., 1988, Deferoxamine for the diagnosis and treatment of aluminum-associated osteodystrophy, Contr. Nephrol., 64, 160-169.
- CHARLOT G., 1963, L'analyse quantitative et les réactions en solutions, Masson, Paris.
- CHARY-VALCKENAERE I., FENER P., JOUZEAU J.Y., NETTER P., PAYAN E., FLOQUET J., BURNEL D., KESSLER M., POUREL J. & GAUCHER A., 1994, Experimental articular toxicity of aluminum compounds in vivo, J. Rheumatol., 21, 1542-1547.
- CHASSARD-BOUCHAUD C., 1996, Analytical microscopy and environment - Current developments using bioindicators of pollution by stable and radioactive elements, Cell. Mol. Biol., 42, 361-683.
- CHASSARD-BOUCHAUD C. & GALLE P., 1986, Bioaccumulation d'aluminium par les organismes marins. Mise en évidence par microscopie corpusculaire analytique, C.R. Acad. Sci. Ser., III-Vie, 302, 55-61.
- CHAYA S.S., JOSHI J.G., 1996, Inhibition of isocitrate dehydrogenase from pig liver by aluminium., in C.R. Symposium « Metal Ions in Biology and Medicine », Collery P., Corbella J., Domingo J.L., Etienne J.C. & J.M Llobel (Eds.), LibbeyJ., Eurotext, Barcelona, 4, 119-122.

- CHAZAN J.A., BLONSKY S.L., ABUELO J.G. & PEZZULLO J.C., 1988, Increased body aluminium. An independent risk factor for mortality in patients undergoing long-term hemodialysis, Arch. Inter. Med., **148**, 1817-1820.
- CHAZAN J.A., LEW N.L. & LOWRIE E.G., 1991, Increased serum aluminum. An independent risk factor for mortality in patients undergoing long-term hemodialysis, Arch. Inter. Med., **151**, 319-322.
- CHERRORET G., BERNUZZI V., DESOR D., HUTIN M.F., BURNEL D. & LEHR P.R., 1992, Effects of postnatal aluminum exposure on choline acetyltransferase activity and learning abilities in the rat, Neurotoxicol. Teratol., **14**, 259-264.
- CHEVALIER G., GAUTHIER L. & MOREAU G., 1985, Histopathological and electron microscopic studies of gills of brook trout, *Savelinus fontinalis*, from acidified lakes, Can. J. Zool., **63**, 2062-2070.
- CHMIELNICKA J., NASIADEK M., LEWANDOWSKA-ZYNDUL E. & PINKOWSKI R., 1996, Effect of aluminum on hematopoiesis after intraperitoneal exposure in rats, Ecotox. Environ. Safety, **33**, 201-206.
- CHMIELNICKA J., NASIADEK M., PINKOWSKI R. & PARADOWSKI M., 1994, Disturbances of morphological parameters in blood of rats orally exposed to aluminum chloride, Biol. Trace Elem. Res., **42**, 191-199.
- CHOLAK J., HUBBARD D.M. & STORY R.V., 1943, Determination of aluminum in biological materials, Ind. Eng. Chem. Anal. Ed., **15**, 57-60.
- CHONG Y.H. & SUH Y.H., 1995, Aggregation of amyloid precursor proteins by aluminium in vitro, Brain Res., **670**, 137-141.
- CHRISTOFFERSEN M.R. & CHRISTOFFERSEN J., 1985, The effect of aluminum on the rate of dissolution of calcium hydroxyapatite - a contribution to the understanding of aluminum-induced bone disease, Calcif. Tissue Int., **37**, 673-676.
- CLARKSON E.M., LUCK V.A., HYNSON W.V., BAILEY R.R., EASTWOOD J.B., WOODHEAD J.S., CLEMENTS V.R., O'RIORDAN J.L.H. & DE WARDENER H.E., 1972, The effects of aluminium hydroxide on calcium, phosphorus and aluminum balances, the serum parathyroid hormone concentration and the aluminium content of bone in patients with chronic renal failure, Clin. Sci., **43**, 519-531.
- CLAUBERG M. & JOSHI J.G., 1993, Regulation of serine protease activity by aluminum: Implications for Alzheimer disease., Proc. Natl. Acad. Sci. (USA), **90**, 1009-1012.
- CLAVEL J.P., LAVIROTTE P. & GALLI A., 1983, Contamination par le cuivre, le zinc ou l'aluminium des prélèvements sanguins destinés au dosage de ces métaux, Pathol. Biol., **31**, 851-854.
- COCHRAN M., CHAWTUR V., PHILLIPS J.W. & DILENA B., 1994, Effect of citrate infusion on urinary aluminium excretion in the rat, Clin. Sci., **86**, 223-226.
- COCHRAN M., COATES J. & NEOH S., 1984, The competitive equilibrium between aluminum and ferric ions for the binding sites of transferrin, FEBS Lett., **176**, 129-132.
- COCHRAN M., COATES J.H. & KURUCSEV T., 1987, Direct spectrophotometric determination of the two site binding of aluminum to transferrin, Life Sci., **40**, 2337-2341.
- COCHRAN M., ELLIOTT D.C., BRENNAN P. & CHAWTUR V., 1990b, Inhibition of protein kinase C activation by low concentrations of aluminium, Clin. Chim. Acta, **194**, 167-172.

- COCHRAN M., GODDARD G. & LUDWIGSON N., 1990a, Aluminum absorption by rat duodenum: further evidence of energy-dependent uptake, Toxicol. Lett., **23**, 287-294.
- COCHRAN M., NEOH S. & STEPHENS E., 1983, Aluminium interaction with ⁶⁷Ga uptake by human plasma and transferrin, Clin. Chim. Acta, **132**, 199-203.
- COCHRAN M., PATTERSON D., NEOH S., STEVENS B. & MAZZACHI R., 1985, Binding of Al by protein in plasma of patients on maintenance haemodialysis, Clin. Chem., **31**, 1314-1316.
- COLOMBO M.I., LENHARD J., MAYORGA L., BERON W., HALL H. & STAHL P.D., 1994, Inhibition of endocytic transport by aluminum fluoride implicates GTPases as regulators of endocytosis, Mol. Membr. Biol., **11**, 93-100.
- COLOMINA M.T., GOMEZ M., DOMINGO J.L. & CORBELLA J., 1994, Lack of maternal and developmental toxicity in mice given high doses of aluminium hydroxyde and ascorbic acid during gestation, Pharmacol. Toxicol., **74**, 236-239.
- COLUSSI G., ROMBOLA G., DE FERRARI M.E., MINOLA E. & MINETTI L., 1987, Vitamin D treatment: a hidden risk factor for aluminum bone toxicity ?, Nephron, **47**, 78-80.
- COOKE A.R. & BIRCHALL A., 1969, Absorption of ethanol from the stomach, Gastroenterology, **57**, 269-271.
- COOKE N., TETTELBAUM S. & AVIOLI L., 1978, Antacid-induced osteomalacia and nephrolithiasis, Arch. Intern. Med., **138**, 1007-1009.
- CORAIN B., BOMBI G.G., TAPPARO A., NICOLINI M., ZATTA P., PERAZOLLA M. & FAVARATO M., 1990, Alzheimer's disease and aluminum toxicology, Environ. Health Persp., **89**, 233-235.
- CORNELIS R. & SCHUTYSER J., 1984, Analytical problems related to Al-determination in body fluids, water and dialysate, Contr. Nephrol., **38**, 1-11.
- CORRIGAN F.M., REYNOLDS G.P. & WARD N.I., 1993, Hippocampal tin, aluminum and zinc in Alzheimer's disease, Biometals, **6**, 149-154.
- CORRIN B., 1963, Aluminium pneumoconiosis. I. In vitro : comparison of stamped aluminium powders containing different lubricating agents and a granular aluminium powder, Brit. J. Industr. Med., **20**, 264-267.
- CORRIN B., 1963, Aluminium pneumoconiosis. II. Effect on the rat lung of intratracheal injections of stamped aluminium powders containing different lubricating agents and of a granular aluminium powder, Brit. J. Industr. Med., **20**, 268-276.
- COSTANTINI S., GIORDANO R., IOPPOLO A., MANTOVANI A., BALLANTI P., MOCETTI P. & BONUCCI E., 1989, Distribution of aluminium following intraperitoneal injection of aluminium lactate in the rat, Pharmacol. Toxicol., **64**, 47-50.
- COUJARD R., POIRIER J. & RACADOT J., 1980, Précis d'histologie humaine., Masson Paris, New-York, Barcelone, Milan, 282-290.
- COULET M., 1958, Le contrôle de l'alcoolémie en cas de crime, délit ou accident de la circulation, Docteur en Médecine, Clermont-Ferrand, 21-61.
- COURNOT G., BOURDEAU A., PLACHOT J.J., JORGETTI V., LE CHARPENTIER Y., WASSEF M., BOURDON R., DUBOST C., GALLE P., DRÜEKE T., SACHS C. & BALSAN S.,

Aluminium et hormone parathyroïdienne, Symposium "Aluminium et insuffisance rénale – III", 131-137, Paris, 25-26 mai 1984.

- COURNOT-WITMER G. & PLACHOT J.J., 1990, Parathyroid glands in chronic aluminum intoxication, Ultrastruct. Pathol., 14, 211-219.
- COURNOT-WITMER G., ZINGRAFF J., PLACHOT J.J., ESCAIG F., LEFEVRE R., BOUMATI P., BOURDEAU A., GARABEDIAN M., GALLE P. & BOURDON R., 1981, Aluminium localization in bone from haemodialyzed patients: relationship to matrix mineralization, Kidney Int., 20, 539-546.
- CRAPPER D.R. & DALTON A.J., 1973a, Alterations in short-term retention, conditioned avoidance response acquisition and motivation following aluminum induced neurofibrillary degeneration, Physiol. Behav., 10, 925-933.
- CRAPPER D.R. & DALTON A.J., 1973b, Aluminum induced neurofibrillary degeneration, brain electrical activity and alterations in acquisition and retention, Physiol. Behav., 10, 935-945.
- CRAPPER D.R. & TOMKO G.J., 1975, Neuronal correlates of an encephalopathy associated with aluminum neurofibrillary degeneration, Brain Res., 97, 253-264.
- CRAPPER D.R., KRISHNAN S.S. & DALTON A.J., 1973, Brain aluminium distribution in Alzheimer's disease and experimental neurofibrillary degeneration, Science, 180, 511-513.
- CRAPPER D.R., KRISHNAN S.S. & QUITTKAT S., 1976, Aluminium, neurofibrillary degeneration and Alzheimer's disease, Brain, 99, 67-80.
- CRAPPER McLACHLAN D.R., KRUCK T.P., LUKIW W.J. & KRISHNAN S.S., 1991, Would decreased aluminum ingestion reduce the incidence of Alzheimer's disease?, Can. Med. Assoc. J., 145, 793-804.
- CUCARELLA C., MONTOLIU C., HERMENEGILDO C., SAEZ R., MANZO L., MINANA M.D. & FELIPO V., 1998, Chronic exposure to aluminum impairs neuronal glutamate-nitric oxide-cyclic GMP pathway, J. Neurochem., 70, 1609-1614.
- CUNAT L., MEMBRE H., MARCHAL L., CHAUSSIDON M. & BURNEL D., 1998, The effects of aluminum, iron, chromium, and yttrium on rat intestinal smooth muscle *in vitro*, Biol. Tr. Elem. Res., 64, 43-59.
- CUSHNER H.M., COPLEY J.B. & FOULKS C.J., 1986, Calcium-citrate, a new phosphate-binding and alkalinizing agent for patients with renal failure, Curr. Ther. Res., 40, 998-1004.
- CUSHNER H.M., COPLEY J.B., LINDERBERG J.S. & FOULKS C.J., 1988, Calcium-citrate, a non-aluminum-containing phosphate-binding agent for treatment of CRF, Kidney Int., 33, 95-99.
- CUTLER P. & BLAIR J.A., 1987, The effect of lead and aluminium on rat dihydropteridine reductase, Arch. Toxicol., Suppl. 11, 227-230.
- DABEKA R.W. & MCKENZIE A.D., 1990, Aluminium levels in canadian infant formulae and estimation of aluminium intakes from formulae by infants 0-3 months old, Food Addit. Contam., 7, 275-282.
- DATTA A.K., WEDLUND P.J. & YOKEL R.A., 1990, Investigating aluminium citrate speciation by high-performance liquid chromatography, J. Trace Elem. Electr. Hlth. Dis., 4, 107-114.

- DAVE G., 1985, The influence of pH on the toxicity of aluminum, cadmium and iron to eggs and larvae of the Zebrafish, *Brachydanio rerio*, *Ecotoxicol. Environ. Safety*, **10**, 253-267.
- DAVISON A.M., WALKER G.S., OLI H. & LEWINS A.M., 1982, Water supply aluminium concentration, dialysis dementia, and effect of reverse-osmosis water treatment, *Lancet*, 785-787.
- DAY J.P., BARKER J., EVANS L.J.A., PERKS J., SEABRIGHT P.J., ACKRILL P., LILLEY J.S., DOWN P.V. & NEWTON G.W.A., 1991, Aluminium absorption studied by Al-26 tracer, *Lancet*, **337**, 1345.
- DAYDE S. & BERTHON G., 1990, Potential toxicity of presumably insoluble aluminium salts in presence of common dietary acids, *Food Addit. Contam.*, **7**, 155-157.
- DE BONI U., CRAPPER D.R. & LACHLAN D.A., 1980, Senile dementia and Alzheimer's disease: a current view, *Life Sci.*, **27**, 1-14.
- DE BONI U., SCOTT J. & CRAPPER D.R., 1974, Intracellular aluminium binding on histochemical study, *Histochemie*, **40**, 31-37.
- DE BROE M.E., VAN DE VYVER F.L., BEKAERT A.B., D'HAESE P., PAULUS G.J., VISSER W.J., VAN GRIEKEN R., DE WOLFF F.A. & VERBUEKEN A.H., 1984, Correlation of serum aluminum values with tissue aluminum concentration, *Contr. Nephrol.*, **38**, 37-46.
- DE JONG G., AMMERLAAN C.C.A., VAN NOORT W.L., VAN EIJK H.G., VAN LANDEGHEM G.L., D'HAESE P.C. & DE BROE M.E., 1995, An in vitro study on the binding of Al(III) to human serum transferrin with the isoelectric focusing technique, *Biometals*, **8**, 352-356.
- DENT C.E & WINTER C., 1974, Osteomalacia is due to phosphate depletion from excessive aluminum hydroxyde ingestion, *B. Med. J.*, **1**, 551-552.
- DE KOM J.F., DISSELS H.M., VAN DER VOET G.B. & DE WOLFF F.A., 1997, Serum aluminium levels of workers in the bauxite mines, *J. Toxicol. Clin. Toxicol.*, **35**, 645-651.
- DE WOLFF F.A., 1985, Toxicological aspects of aluminum poisoning in clinical nephrology, *Clin. Nephrol.*, **24**, 9-14.
- DE WOLFF F.A. & VAN DER VOET G.B., 1986, Biological monitoring of aluminium in renal patients, *Clin. Chim. Acta*, **160**, 183-188.
- DE WOLFF F.A., VAN DER VOET G.B., 1996, Interaction of iron, sodium and with intestinal aluminium absorption., in *Metals Ions Biology and Medicine*, 366-368, Collery P., Corbella J., Domingo J.L., Etienne J.C, Llobel J.M, and Libbey J. (Eds.), Eurotext, Paris.
- DEFOSSEZ A., PERSUY P., TRAMU G. & DELACOURTE A., 1986, Etude immunohistochimique des lésions élémentaires de la maladie d'Alzheimer, *L'Encéphale*, **12**, 161-168.
- DELHAIZE E. & RYAN P.R., 1995, Aluminum toxicity and tolerance in plants, *Plant. Physiol.*, **107**, 315-321.
- DELONCLE R., GUILLARD O., CLANET F., COURTOIS P. & PIRIOU A., 1990, Aluminum transfer as glutamate complex through blood-brain barrier. Possible implication in dialysis encephalopathy, *Biol. Trace Elem. Res.*, **25**, 39-45.

- DELONCLE R., GUILLARD O., HUGUET F. & CLANET F., 1995, Modification of the blood-brain barrier through chronic intoxication by aluminum glutamate, Biol. Trace Elem. Res., **47**, 227-233.
- DELONCLE R., HUGUET F., BABIN P., FERNANDEZ B., QUELLARD N. & GUILLARD O., 1999, Chronic administration of aluminium L-glutamate in young mature rats: effects on iron levels and lipid peroxidation in selected brain areas, Toxicol. Lett., **104**, 65-73.
- DEMIRCAN M., ERGUN O., COKER C., YILMAZ F., AVANOGLU S. & OZOK G., 1998, Aluminum in total parenteral nutrition solutions produces portal inflammation in rats, J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr., **26**, 274-278.
- DEMONTIS R., LEFLON A., FOURNIER A., TAHIRI Y., HERVE M., MORINIERE P., ABDULL-MASSIH Z., ATIK H., BELBRIK S., RENAUD H. & PLAQUET R., 1986, 1 α (OH) vitamin D3 increases plasma aluminum hemodialyzed patients taking Al(OH)3, Clin. Nephrol., **26**, 146-149.
- DEMONTIS R., REISSI D., NOEL C., BOUDAILLIEZ B., WESTEEL P.F., LEFLON P., BRASSEUR J., COEVOET B. & FOURNIER A., 1989, Indirect clinical evidence that 1 α (OH) vitamin D3 increases the intestinal absorption of aluminum , Clin. Nephrol., **31**, 123-127.
- DENG Z., COUDRAY C., GOUZOUX L., MAZUR A., RAYSSIGUIER Y. & PEPIN D., 1998, Effect of oral aluminum and aluminum citrate on blood level and short- term tissue distribution of aluminum in the rat, Biol. Trace Elem. Res., **63**, 139-147.
- DESIGAN B., KATYAL R. & OJHA S., 1995, Biochemical changes in rat erythrocytes after chronicoral administration of aluminium, Med. Sci. Res., **23**, 665-666.
- DESJARDINS A., BERGERON J.P., GUEZZO H., CARTIER A. & MALO J.L., 1994, Aluminium potroom asthma confirmed by monitoring of forced expiratory volume in one second, Am. J. Respir. Crit. Care Med., **150**, 1714-1717.
- DEXTER D.T., WELLS F.R., LEES A.J., AGID F., AGID Y., JENNER P. & MARSDEN C.D., 198, Increased nigral iron content and alterations in other metal ions occurring in brain in Parkinson's disease, J. Neurochem., **52**, 1830-1836.
- DI JOSEPH J.F., BORELLA L.E., WELLS C.L. & NABIR MIR G., 1990, Mucosal protective activity of activated aluminum complex, Digestion, **45**, 19-25.
- DI PAOLO N., COMPARINI I.B.,GAROSI G., DI PAOLO M., CENTINI F., BRARDI S., MONACI G. & FINATO V., 1997, Uremia, dialysis and aluminium, Int. J. Artif. Organs, **20**, 547-552.
- DIAMANT W.H. & GAMBERTOGLIO J.G., 1976, Aluminium intoxication, N. Engl. J. Med., **294**, 1129.
- DIETL K.H., WINTERBERG B., BERTRAM H.P., STILL F.H., SPIEKER C. & KISTERS K., 1997, Aluminum bone disease improved after kidney transplantation-determination by atomic absorption spectroscopy, Trace Elements and Electrolytes, **14**, 113-115.
- DILLON P.J., YAN N.D. & HARVEY H.H., 1984, Acidic deposition: effects on aquatic ecosystems, Crit. Rev. Environm. Control, **13**, 167-194.
- DILLEMANN I., 1985, Influence de la gastrectomie sur le taux d'alcool sanguin, Docteur en Médecine, Nancy, 98 pages.
- DING W. & ZHU Q., 1997, Metabolism of aluminum in rats, Chung Hua Yu Fang I Hsueh Tsa Chih, **31**, 338-341.

- DiPAOLO J.A. & CASTO B.C., 1979, Quantitative studies of in vitro morphological transformation of Syrian hamster cells by inorganic metal salts, Cancer Res., **39**, 1008-1013.
- Directive du conseil du 15 juillet 1980 relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine, 80/778/C.E.E., Journal officiel des communautés Européennes, N° L 229/11.
- DOLUISIO J.T., BILLUPS N.F., DITTERT L.W., SUGITA E.T. & SWINTOSKY J.V., 1969, Drug absorption I: an in situ rat gut technique yielding realistic absorption rates, J. Pharm. Sci., **58**, 1196-1200.
- DOMINGO J.L., GOMEZ M., LLOBET J.M. & CORBELLA J., 1988, Comparative effects of several chelating agents on the toxicity, distribution and excretion of aluminium, Human Toxicol., **7**, 259-262.
- DOMINGO J.L., GOMEZ M., LLOBET J.M. & CORBELLA J., 1991a, Influence of some dietary constituents on aluminum absorption and retention in rats, Kidney Int., **39**, 598-601.
- DOMINGO J.L., GOMEZ M., LLOBET J.M. & RICHART C., 1991b, Effect of ascorbic acid on gastrointestinal aluminium absorption, Lancet, **338**, 1467.
- DOMINGO J.L., GOMEZ M., LLOBET J.M., RICHART C., CORBELLA J., 1992, Influence of ascorbic acid on the gastrointestinal absorption of aluminium., in Metals Ions in Biology and Medicine, 371-376, Anastossopoulou J., Collery Ph, Etienne J.C. & Thophanides Th (Eds.), Libbey, Eurotext, Paris, 2nd Ed.
- DOMINGO J.L., GOMEZ M., SANCHEZ D.J., LLOBET J.M. & CORBELLA J., 1993, Effect of various dietary constituents on gastrointestinal absorption of aluminium from drinking water and diet, Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol., **79**, 377-380.
- DOMINGO J.L., LLOBET J.M., GOMEZ M. & CORBELLA J., 1986, Acute aluminium intoxication: A study of the efficacy of several antidotal treatments in mice, Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol., **53**, 93-104.
- DOMINGUEZ M.C., SOLE E., GONI C. & BALLABRIGA A., 1995, Effect of aluminum and lead salts on lipid peroxidation and cell survival in human skin fibroblats, Biol. Trace Elem. Res., **47**, 57-67.
- DOS REIS L.M., TZANNO-MARTINS C. & JORGETTI V., 1997, Histochemical staining of bone aluminum: comparison of aluminum and acid solochrome azurine and their correlation with bone aluminum content, Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. Sao Paulo, **52**, 171-174.
- DRISCOLL C.T., 1985, Aluminum in acidic surface waters: chemistry, transport and effects, Environ. Health Perspect., **63**, 93-104.
- DRISCOLL C.T. & LETTERMAN R.D., 1988, Chemistry and fate of Al(III) in treated drinking water, J. Environ. Engin., **114**, 21-37.
- DRÜEKE T., 1980, Dialysis osteomalacia and aluminum intoxication, Nephron, **26**, 207-210.
- DRÜEKE T., 1986, L'exposition normale et l'intoxication aluminique, in Cahiers de toxicologie clinique et expérimentale, **1**, 16-24, Bourdon R., Druke T., Petit L. (Eds.).
- DRÜEKE T.B., JOUHANNEAU P., BANIDE H., LACOUR B., YIOU F. & RAISBECK G., 1997, Effects of silicon, citrate and the fasting state on the intestinal absorption of aluminium in rats, Clin. Sci., **92**, 63-67.

- DUBOIS F., BEGIN R., CANTIN A., MARTEL M., BILODEAU G., DUFRESNE A., PERREAULT G. & SEBASTIEN P., 1988, Aluminum inhalation reduces silicosis in a sheep model, Amer. Rev. Resp. Dis., **137**, 1172-1179.
- DUFRESNE A., LOOSEREEWANICH P., ARMSTRONG B., THERIAULT G. & BEGIN R., 1996, Inorganic particles in the lungs of five aluminum smelter workers with pleuro-pulmonary cancer, Am. Ind. Hyg. Assoc. J., **57**, 370-375.
- DUFRESNE A., SEBASTIEN P., MICHAUD D., PERRAULT G. & BEGIN R., 1994, Influence of aluminum treatments on pulmonary retention of quartz in sheep silicosis, Exp. Lung Res., **20**, 157-168.
- DUGGAN J.M., DICKENSON J.E., TYNAN P.F., HOUGHTON A. & FLYNN J.E., 1992, Aluminum beverage cans a dietary source of aluminum, Med. J. Australia, **156**, 604-605.
- EASTWOOD J.B., LEVIN G.E., PAZIANAS M., DENTON J. & FREEMONT A.J., 1990, Aluminum deposition in bone after contamination of drinking water supply, Lancet, **336**, 462-464.
- EBINA Y., OKADA S., HAMAZAKI S., OGINO F., LI J. & MIDORIKAWA O., 1986, Nephrotoxicity and renal cell carcinoma after use of iron and aluminum-nitrilotriacetate complexes in rats, J. Natl. Cancer Inst., **76**, 107-113.
- EBSTEIN R.P., OPPENHEIM G., EBSTEIN B.S., AMIRI Z. & STESSMAN J., 1986, The cyclic AMP second messenger system in man: the effects of heredity, hormones, drugs, aluminum, age and disease on signal amplification, Prog. Neuro-Psych. Biol. Psych., **10**, 323-353.
- ECELBARGER C.A. & GREGER J.L., 1991, Dietary citrate and kidney function affect aluminum, zinc and iron utilization in rats, J. Nutr., **121**, 1755-1762.
- ECELBARGER C.A., MacNEIL G.G. & GREGER J.L., 1994a, Importance of kidney function and duration of exposure on aluminum accumulation in mature rats, Nutr. Res., **14**, 577-586.
- ECELBARGER C.A., MACNEIL G.G. & GREGER J.L., 1994b, Tissue aluminum accumulation and toxic consequences in rats chronically fed aluminum with and without citrate, J. Agr. Food Chem., **42**, 2220-2224.
- EDWARDSON J.A., MOORE P.B., FERRIER I.N., LILLEY J.S., NEWTON G.W.A., BARKER J., TEMPLAR J. & DAY J.P., 1993, Effect of silicon on gastrointestinal absorption of aluminium, Lancet, **342**, 211-212.
- EKLÜND A., ARNS R., BLASCHKE E., HED J., HJERTQUIST S.O., LARSSON K., LÖWGREN H., NYSTRÖM J., SKÖLD C.M. & TORNLING G., 1989, Characteristics of alveolar cells and soluble components bronchoalveolar lavage fluid from non-smoking aluminium potroom workers, Brit. J. Med., **46**, 782-786.
- ELLIS H.A., Mc CARTHY J.H. & HERRINGTON J., 1979, Bone aluminium in haemodialysed patients and rats injected with aluminium chloride: relationship to impaired bone mineralization, J. Clin. Pathol., **32**, 832-844.
- ELLIS H.A., PANG M.M.C., MAWHINNEY W.H.B. & SKILLEN A.W., 1988, Demonstration of aluminium in iliac bone: correlation between aluminon and solochrome azurine staining techniques with data on flameless absorption spectrometry, J. Clin. Pathol., **41**, 1171-1175.
- ERASMUS R.T., SAVORY J., WILLS M.R. & HERMAN M.M., 1993, Aluminum neurotoxicity in experimental animals, Therapeut. Drug Monit., **15**, 588-592.

- ESTROV Z., COHEN A., GEFAND E.W. & FREEDMAN M.H., 1988, In vitro cytotoxicity of deferroxamine on humans marrow haematopoietic progenitors, Toxicol. Vitro, **2**, 131-134.
- EVANS P.H., KLINOWSKI J., YANO E. & NAOKO U., 1989, Alzheimer's disease: a pathogenic role for aluminosilicate-induced phagocytic free radicals, Free Rad. Res. Comms., **6**, 317-321.
- EVANS P.H., PETERHANS E., BERGE T. & KLINOWSKI J., 1992, Aluminosilicate-induced free radical generation by murine brain glial cells in vitro: potential significance in the aetiopathogenesis of Alzheimer's dementia, Dementia, **3**, 1-6.
- EXLEY C. & BIRCHALL J.D., 1992, The cellular toxicity of aluminium, J. Theor. Biol., **159**, 83-98.
- EXLEY C. & BIRCHALL J.D., 1996, Biological availability of aluminum in commercial ATP, J. Inorg. Biochem., **63**, 241-252.
- EXLEY C., CHAPPELL J.S. & BIRCHALL J.D., 1991, A mechanism for acute aluminium toxicity in fish, J. Theor. Biol., **151**, 417-428.
- EXLEY C., PRICE N.C. & BIRCHALL J.D., 1994, Aluminum inhibition of hexokinase activity in vitro: a study in biological availability, J. Inorg. Biochem., **54**, 297-304.
- EXLEY C., WICKS A.J., HUBERT R.B. & BIRCHALL D., 1996, Kinetic constraints in acute aluminium toxicity in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), J. Theor. Biol., **179**, 25-31.
- F.D.A., 1955, Aluminum cooking utensils. Food and Drug Officials U.S. Quart. Bull., **19**, 113-116.
- FAIRWEATHER-TAIT S.J., FAULKS R.M., FATEMI S.J.A. & MOORE G.R., 1987, Aluminium in the diet, Hum. Nutr.: Food Sci. Nutr., **41**, 183-192.
- FAIRWEATHER-TAIT S.J., PIPER Z., FATEMI S.J. & MOORE G.R., 1991, The effect of tea on iron and aluminium metabolism in the rat, Brit. J. Nutri., **65**, 61-68.
- FARNELL B.J., CRAPPER D.R., Mc LACHLAN J., BAIMBRIDGE K., DE BONI U., WONG L. & WOOD P.L., 1985, Calcium metabolism in aluminium encephalopathy, Exp. Neurol., **88**, 68-83.
- FARRAR G., ALTMANN P. & WELCH S., 1990, Accumulation cérébrale d'aluminium dans la maladie d'Alzheimer et le syndrome de Down, Lancet, **335**, 747-750.
- FASMAN G.D., PERCZEL A. & MOORE C.D., 1995, Solubilization of b-amyloid-(1-42)-peptide: reversing the b-sheet conformation induced by aluminum with silicates, Proc. Natl. Acad. Sci., **92**, 369-371.
- FAVUS M.J., 1985, Factors that influence absorption and secretion of calcium in the small intestine and colon, Am. J. Physiol., **248**, G147-G157.
- FEINROTH M., FEINROTH M.V. & BERLYNE G.M., 1982, Aluminum absorption in the rat everted gut sac, Miner. Electrolyte Metab., **8**, 29-35.
- FELSENFELD A.J., RODRIGUEZ M., COLEMAN M., ROSS D. & LLACH F., 1989, Desferrioxamine therapy in hemodialysis patients with aluminium-associated bone disease, Kidney Int., **35**, 1371-1378.
- FERNANDEZ S.I., GOMEZ A.C., ALLENDE M.T., DIAZ L.B. & CANNATA J.B., 1990, Iron (Fe) gastrointestinal (G-I) absorption (abs) in aluminium (Al) overload, Kidney Int., **37**, 1612.

- FERNANDEZ-LORENZO J.R., COCHO J.A., REY-GOLDAR M.L., COUCE M., FRAGA J.M., 1999, Aluminum contents of human milk, cow's milk, and infant formulas, J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr., **28**, 270-275.
- FERNANDEZ-MARTIN J.L., CANTEROS A., SERRANO M., GONZALEZ-CARCEDO A., DIAZ-CORTE C. & CANNATA ANDIA J.B., 1998, Prevention of aluminium exposure through dialysis fluids. Analysis of changes in the last 8 years, Nephrol. Dial. Transplant., **13**, 78-81.
- FIEJKA M., FIEJKA E. & DLUGASZECK M., 1996, Effect of aluminium hydroxide administration on normal mice: Tissue distribution and ultrastructural localization of aluminium in liver, Pharmacol. Toxicol., **78**, 123-128.
- FIELD G.B., 1984, Pulmonary function in aluminium smelters, Thorax, **39**, 743-7510.
- FIMREITE N., HANSEN O.O. & PETTERSEN H.C., 1997, Aluminum concentrations in selected foods prepared in aluminum cookware and its implications for human health, Bull. Environ. Contam. Toxicol., **58**, 1-7.
- FIRLING C.E., SEVERSON A.R. & HILL T.A., 1994, Aluminum effects on blood chemistry and bone development in the chick embryo, Arch. Toxicol., **68**, 541-547.
- FISHER C.E., KNOWLE M.E., MASSEY R.C., McWEEN D.J., 1989, Levels of aluminium in infant formulae, Lancet, 1024-1025.
- FLAREND R.E., HEM S.L., WHITE J.L., ELMORE D., SUCKOW M.A., RUDY A.C. & DANDASHLI E.A., 1997, In vivo absorption of aluminium-containing vaccine adjuvants using 26Al, Vaccine, **15**, 1314-1318.
- FLATEN A.K. & LUND W., 1997, Speciation of aluminium in tea infusions studied by size exclusion chromatography with detection with detection by post-column reaction, Sci. Total Environ., **207**, 21-28.
- FLATEN T.P., 1987, Geographical associations between aluminum in drinking water and dementia, Parkinson's disease and amyotrophic lateral sclerosis in Norway, Trace Elements in Medicine, **4**, 179.
- FLATEN T.P., 1990, Geographical associations between aluminum in drinking water and death rates with dementia (including Alzheimer's disease), Parkinson's disease and amyotrophic lateral sclerosis in Norway, Environ. Geochem. Health, **12**, 152-168.
- FLATEN T.P. & ODEGARD M., 1988, Tea, aluminium and Alzheimer's disease, Fd. Chem. Toxic., **26**, 959-960.
- FLATEN T.P., ALFREY A.C., BIRCHALL J.D., SAVORY J. & YOKEL R.A., 1996, Status and future concerns of clinical and environmental aluminum toxicology, J. Toxicol. Env. Health, **48**, 527-541.
- FLEMING L.W., STEWART W.K., FELL G.S. & HALLS D.J., 1982, The effect of oral aluminium therapy on plasma aluminium levels in patients with chronic renal failure in an area with low water aluminium, Clin. Nephrol., **17**, 222-227.
- FLENDRIG J.A., KRUIS H. & DAS H.A., 1976a, Aluminium intoxication: the cause of dialysis dementia ?, Proc. Eur. Dial. Transpl. Assoc., **13**, 355-361.
- FLENDRIG J.A., KRUIS H. & DAS H.A., 1976b, Aluminium and dialysis dementia, Lancet, 1235.

- FORBES W.F. & McLACHLAN D.R.C., 1996, Further thoughts on the aluminum-Alzheimer's disease link, J. Epidemiol. Commun. Health, 50, 401-403.
- FRAGA C.G., OTEIZA P.I., GOLUB M.S., GERSHWIN M.E. & KEEN C.L., 1990, Effects of aluminum on brain lipid peroxidation, Toxicol. Letters, 51, 213-219.
- FRANCE R.L. & STOKES P.M., 1987, Influence of manganese, calcium and aluminum on hydrogen ion toxicity to the amphipod *Hyaella azteca*, Can. J. Zool., 65, 3071-3078.
- FREEDMAN M.H., BOYDEN M., TAYLOR M. & SKARF B., 1988, Neurotoxicity associated with deferoxamine therapy, Toxicology, 49, 283-290.
- FREUNDLICH M., ABITBOL C., ZILLERUELO G. & STRAUSS J., 1985, Infant formula as a cause of aluminum toxicity in neonatal uraemia, Lancet, II, 527-529.
- FRIEDLAND R.P., BUDINGER T.F., KOSS E. & OBER B.A., 1985, Alzheimer's disease: anterior-posterior and lateral hemispheric alterations in cortical glucose utilisation, Neurosci. Lett., 53, 235-240.
- FRIEDLAND R.P., JAGUST W.J., HUESMAN R.H., KOSS E., KNITTEL B., MATHIS C.A., OBER B.A., MAZOYER B.M. & BUDINGER T.F., 1989, Regional cerebral glucose transport and utilization in Alzheimer's disease, Neurology, 39, 1427-1434.
- FROMENT D., MOLITORIS B.A., BUDDINGTON B., MILLER N & ALFREY A.C., 1989 a, Site and mechanism of enhanced gastrointestinal absorption of aluminum by citrate, Kidney Int., 36, 978-984.
- FROMENT D., BUDDINGTON B., MILLER N.L. & ALFREY A.C., 1989 b; Effect of the solubility on the gastrointestinal absorption of aluminum from various aluminum compounds in the rat, J. Lab. Clin. Med., 114; 237-242.
- FROMM D., 1979, Gastric mucosal barrier, Gastroenterology, 77, 396-398.
- FUCHS C., ARMSTRONG V.W., QUELLHORST E. & SCHELER F., 1984, Prophylaxis and methods for early recognition of aluminium intoxication, Contr. Nephrol., 38, 81-91.
- FUCHS C., BRASCHE M., PASCHEN K., NORDBERCK H. & QUELLHORST E., 1974, Aluminium bestimmung in serum mit flammenloser atomabsorption, Clin. Chim. Acta, 52, 71-80.
- FULTON B. & JEFFERY E.H., 1990, Absorption and retention of aluminum from drinking water. 1. Effect of citric and ascorbic acids on aluminum tissue levels in rabbits, Appl. Toxicol., 14, 788-796.
- FULTON B. & JEFFERY E.H., 1994, The temporal relationship between hepatic GSH loss, heme oxygenase induction, and cytochrome P450 loss following intraperitoneal aluminum administration to mice, Toxicol. Appl. Pharm., 127, 291-297.
- FURST A., 1971, Trace elements related to specific chronic diseases, Cancer Geol. Soc. Am. Mem., 123, 109-114.
- FURST A. & HARO R.T., 1969, A survey of metal carcinogenesis, Prog. Exp. Exp. Tumor Res., 12, 102-133.
- GALLE P., 1981, Mécanisme d'élimination rénale de deux éléments du groupe III A de la classification périodique : l'aluminium et l'indium, C.R. Acad. Sci. Ser., 292, 91-96.

- GALLE P., 1984, Sur la présence d'aluminium en forte concentration dans les neurones d'un malade décédé d'une démence rapidement évolutive, C.R. Acad. Sci., 3, 535-539.
- GALLE P. & GUIDICELLI C., 1982, Toxicité de l'aluminium pour l'hépatocyte. Localisation ultrastructurale et micro-analyse des dépôts, La Nouvelle Presse Médicale, 11, 1123-1125.
- GALLE P., BERRY J.P. & DUCKETT S., 1980, Electron microprobe ultrastructural localization of aluminum in rat brain, Acta Neuropathol., 49, 245-247.
- GALLE P., CAMPOS H. & GIUDICELLI C., 1983, Localisation ultrastructurale de l'aluminium dans les cellules parathyroïdiennes de malades en dialyse chronique, C.R. Acad. Sci. Ser., 296, 545-550.
- GALLE P., CHATEL M., BERRY J.P. & MENAULT F., 1979, Encéphalopathie myoclonique progressive des dialysés: présence d'aluminium en forte concentration dans les lysosomes des cellules cérébrales, La Nouvelle Presse Médicale, 8, 4091-4094.
- GAMMELGAARD B. & SANDBERG E., 1989, Aluminium and nickel in human albumin solutions, J. Trace Elem. Electr. Hlth. Dis., 3, 39-42.
- GANCHEV T., DYANKOV E., ZACHARIEVA R., PACHALIEVA I., VELIKOVA M. & KAVALDJIEVA B., 1998, Influence of aluminium on erythropoiesis, iron metabolism and some functional characteristics of erythrocytes in rats, Acta Physiol. Pharmacol. Bulg., 23, 27-31.
- GANROT P.O., 1986, Metabolism and possible health effects of aluminum, Environ. Health Perspect., 65, 363-441.
- GARBER B.T. & WEI E., 1974, Influence of dietary factors on the gastrointestinal absorption of lead, Toxicol. Appl. Pharmacol., 27, 685-691.
- GARBOSSA G., GUTNISKY A. & NESSE A., 1994, The inhibitory action of aluminum on mouse bone marrow cell growth: evidence for an erythropoietin and transferrin-mediated mechanism, Miner. Electrolyte Metab., 20, 141-146.
- GARBOSSA G., GUTNISKY A. & NESSE A., 1996, Depressed erythroid progenitor cell activity in aluminum-overloaded mice, Miner. Electrolyte Metab., 22, 214-218.
- GARCIA-PATOS V., PUJOL R.M., ALOMAR A., CISTERO A., CURELL R., FERNANDEZ-FIGUERAS T. & DE MORAGAS J.M., 1995, Persistent subcutaneous nodules in patients hyposensitized with aluminum-containing allergen extracts, Arch. Dermatol., 131, 1421-1424.
- GARDINER P.E., STOEPLER M. & NERNBERG H.W., 1984, The speciation of aluminum in human blood serum, in Trace Element - Analytical Chemistry in Medicine and Biology, 3, 299-310, Bratter P., Schramel P. (Eds.), Walter de Gruyter & Co., Germany.
- GARRUTO R.M., SHANKAR S.K., YANAGIHARA R., SALAZAR A.M., AMYX H.L. & GAJDUSEK D.C., 1989, Low-calcium, high-aluminum diet-induced motor neuron pathology in cynomolgus monkeys, Acta Neuropathol., 78, 210-219.
- GARRUTO R.M., YAMAGIHARA R. & GAJDUSEK D.C., 1990, Models of environmentally induced neurological disease: epidemiology and etiology of amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonism-dementia in the western pacific, Environ. Geochem. Health, 12, 137-151.
- GARRY V.F., GOOD P.F., MANIVEL J.C. & PERL D.P., 1993, Investigation of a fatality from nonoccupational aluminum phosphide exposure: measurement of aluminum in tissue and body fluids as a marker of exposure, J. Lab. Clin. Med., 122, 739-747.

- GEARY D.F., FENNELL R.S., ANDRIOLA M., GUDAT J., RODGERS B.M., & RICHARD G.A., 1980, Encephalopathy in children with chronic renal failure, J. Pediatr., **96**, 41-44.
- GELFANT S., 1963, Inhibition of cell division: a critical and experimental analysis, in International Review of Cytology, 1-39, Bourne G.H. and Danielli J.F. (Eds.), Academic Press, New-York & London.
- GIEBLER G., 1961, Vergleichende untersuchungen der z,r bestimmung von aluminiumionen in wasser gebrauchlichen methoden, Z. Anal. Chem., **184**, 401.
- GILANI S.H. & CHATZINOFF M., 1981, Aluminium poisoning and chick embryogenesis, Environ. Res., **24**, 1-5.
- GILLI P., DE BASTIANI P., FAGIOLI F., BUONCRISTIANI U., CAROBI C., STABELLINI N., SQUERZANTI R., ROSATI G. & FARINELLI A., 1980, Positive aluminium balance in patients on regular peritoneal treatment: an effect of low dialysate pH ?, Proc. Eur. Dial. Transpl. Assoc., **17**, 219-225.
- GILLI P., FAGIOLI F., MALACARNE F., BEDANI P.L., BUONCRISTIANI U., CAROBI C., LOCATELLI F., FARINELLI A., 1984, Serum aluminum levels and peritoneal dialysis, Int. J. Artif. Organs, **7**, 107-110.
- GITELMAN H.J. & ALDERMAN F.R., 1989, Electrothermal atomic absorption spectrometric determination of aluminium: elimination of serum matrix effects, Clin. Chem., **35**, 1517-1519.
- GITELMAN H.J., ALDERMAN F.R., KURS-LASKY M. & ROCKETTE H.E., 1995, Serum and urinary aluminium levels of workers in the aluminium industry, Ann. Occup. Hyg., **39**, 181-191.
- GLENNY A.T., POPE C.G., WADDINGTON H. & WALLACE U., 1926, The antigenic value of toxoid precipitated by potassium alum, J. Pathol. Bacteriol., **29**, 31-40.
- GLYNN A.W., SPAREN A., DANIELSSON L.G., SUNDSTROM B. & JORHEM L., 1999, Concentration-dependent absorption of aluminum in rats exposed to labile aluminum in drinking water, J. Toxicol. Environ. Health, **56**, 501-512.
- GODBOLD D.L., FRITZ E. & HUTTERMAN A., 1988, Aluminum toxicity and forest decline (root elongation/ Ca uptake/ x-ray microanalysis), Proc. Natl. Acad. Sci. (USA), **85**, 3888-3892.
- GOMEZ M., DOMINGO J.L., LLOBET J.M., CORBELLA J., JONES M.M. & MOLENDA J.J., 1994, A comparison of the ability of various chelating agents to mobilize aluminum from aluminum-loaded mice, in Metal Ions in Biology and Medicine, 97-101, Collery P., Poirier L.A., Littlefield N.A., Etienne J.C. (Eds.), John Libbey Eurotext, Paris.
- GOMEZ M., DOMINGO J.M., LLOBET J.M., RICHART C. & CORBELLA J., 1994, Effect of frequent dietary organic constituents on the gastrointestinal absorption of aluminum, in Metal ions in Biology and Medicine, 377-381, Collery P., Poirier L.A., Manfait M. & Etienne J.C. (Eds.), John Libbey Eurotext, Paris.
- GOMEZ M., SANCHEZ D.J., LLOBET J.M., CORBELLA J. & DOMINGO J.L., 1997 a, Concentrations of some essential elements in the brain of aluminum-exposed rats in relation to the age of exposure, Arch. Gerontol. Geriat., **24**, 287-294.
- GOMEZ M., SANCHEZ D.J., LLOBET J.M., CORBELLA J. & DOMINGO J.L., 1997 b, The effect of age on aluminum retention in rats, Toxicology, **116**, 1-8.
- GOOD P.F. & PERL D.P., 1993, Aluminium in Alzheimer's disease ?, Nature, **362**, 418.

- GOOD P.F., PERL D.P., BIERER L.M. & SCHMEIDLER J., 1992, Selective accumulation of aluminum and iron in the neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease: a laser microprobe (LAMMA) study, Ann. Neurol., **31**, 286-292.
- GOODMAN W.G., GILLIGAN J. & HORST R., 1984, Short-term aluminum administration in the rat. Effects on bone formation and relationship to renal osteomalacia, J. Clin. Invest., **73**, 171-181.
- GOODMAN W.G., HENRY D.A., HORST R., NUDELMAN R.K., ALFREY A.C. & COBURN J.W., 1984, Parenteral aluminum administration in the dog: II. Induction of osteomalacia and effect on vitamin D metabolism, Kidney Int., **25**, 370-375.
- GORSKY J.E., DIETZ A.A., SPENCER H. & OSIS D., 1979, Metabolic balance of aluminum studied in six men, Clin. Chem., **25**, 1739-1743.
- GOTO N. & AKAMA K., 1982, Histopathological studies of reactions in mice injected with aluminum-adsorbed tetanus toxoid, Immunol., **26**, 1121-1132.
- GOTOW T., TANAKA J. & TAKEDA M., 1995, The organization of neurofilaments accumulated in perikaryon following aluminum administration: relationship between structure and phosphorylation of neurofilaments, Neuroscience, **64**, 553-569.
- GRAFF L. & BURNEL D., 1995a, A possible non-aluminum oral phosphate binder? A comparative study on dietary phosphorus absorption, Res. Comm. Mol. Path. Pharmacol., **89**, 373-387.
- GRAFF L. & BURNEL D., 1995b, Reduction of dietary phosphorus absorption by oral phosphorus binders, Res. Comm. Mol. Path. Pharmacol., **90**, 389-401.
- GRANADILLO V.A., TAHAN J.E., SALGADO O., ELEJALDE L.E., RODRIGUEZ-ITURBE B., ROMERO G.B. & ROMERO R.A., 1995, The influence of the blood levels of lead, aluminum and vanadium upon the arterial hypertension, Clin. Chem. Acta, **233**, 47-59.
- GRAVES A.B., WHITE E., KOEPESELL T.D., REIFLER B.V., VAN BELLE G. & LARSON E.B., 1990, The association between aluminum-containing products and Alzheimer's disease, J. Clin. Epidemiol., **43**, 35-44.
- GREGER J.L., 1985, Aluminum content of the american diet, Food Technol., **34**, 73-80.
- GREGER J.L., 1987, Aluminum and tin, Wld. Rev. Nutr. Diet., **54**, 255-285.
- GREGER J.L., 1988, Aluminum in the diet and mineral metabolism, in Metal Ions in Biological Systems, Aluminum and Its Role in Biology, 199-215, Volume 24, Sigel H. (Ed.), Dekker M., New-York.
- GREGER J.L., 1993, Aluminum metabolism, Annu. Rev. Nutr., **13**, 43-63.
- GREGER J.L. & BAIER M.J., 1983a, Excretion and retention of low or moderate levels of aluminium by human subjects, Fd. Chem. Toxic., **21**, 473-477.
- GREGER J.L. & BAIER M.J., 1983b, Effect of dietary aluminium on mineral metabolism of adult males, Am. J. Clin. Nutr., **38**, 411-419.
- GREGER J.L. & POWERS C.F., 1992, Assesment of exposure to parenteral and oral aluminum with and without citrate using a desferrioxamine test in rats, Toxicology, **76**, 119-132.

- GREGER J.L. & RADZANOWSKI G.M., 1995, Tissue aluminium distribution in growing, mature and aging rats: relationship to changes in gut, kidney and bone metabolism, Food Chem. Toxicol., **33**, 867-875.
- GREGER J.L. & SUTHERLAND J.E., 1997, Aluminum exposure and metabolism, Crit. Rev. Clin. Lab. Sci., **34**, 439-474.
- GREGER J.L., BULA E.N. & GUM E.T., 1985, Mineral metabolism of rats fed moderate levels of various aluminium compounds for short periods of time, J. Nutr., **115**, 1708-1716.
- GREGER J.L., GUM E.T. & BULA E.N., 1986, Mineral metabolism of rats fed various levels of aluminum hydroxide, Biol. Trace Elem. Res., **9**, 67-77.
- GRISWOLD W.R., REZNICK V., MENDOZA S.A., TRAUNER D. & ALFREY A.C., 1983, Accumulation of aluminum in a nondialyzed uremic child receiving aluminum hydroxide, Pediatrics, **71**, 56-58.
- GROCOTT S.C., JEFFERIES L.P., BOWSER T., CARNEVALE J. & JACKSON P.E., 1992, Applications of ion chromatography and capillary ion electrophoresis in the alumina and aluminium industry, J. Chromatogr., **602**, 257-264.
- GUILLARD O., PINEAU A., FAUCONNEAU B., CHOBAUT J.C., DESAULTY A., ANGOT A., LE BORGNE E., FURON O., 1997, Biological levels of aluminium after use of aluminium-containing bone cement in post-otoneurosurgery, J. Trace Elem. Med. Biol., **11**, 53-56.
- GULYA K., RAKONCZAY Z. & KASA P., 1990, Cholinotoxic effects of aluminum in rat brain, J. Neurochem., **54**, 1020-1026.
- GUPTA S. & AHLAWAT S.K., 1995, Aluminum phosphide poisoning-a review, Clin. Toxicol., **33**, 19-24.
- GUPTA A. & SHUKLA G.S., 1995, Effect of chronic aluminum exposure on the levels of conjugated dienes and enzymatic antioxidants in hippocampus and whole brain of rat, Bull. Environ. Contam. Toxicol., **55**, 716-722.
- GUPTA R.K., GRIFFIN P., CHANG A.C., RIVERA R., ANDERSON R., ROST B., CECCHINI D., NICHOLSON M. & SIBER G.R., 1996, The role of adjuvants and delivery systems in modulation of immune response to vaccines, In Novel strategies in design and production of vaccines, 105-113, Cohen S. & Shafferman A. (Eds.), Plenum Press, New York.
- GUPTA R.K., ROST B.E., RELYVELD E. & SIBER G.R., 1995, Adjuvant properties of aluminum and calcium compounds, In The subunit and adjuvant approach, 229-248, Powell M.F. & Newman M.F. (Eds.), Plenum Press, New York.
- HACKENBERG U., 1972, Chronic ingestion by rats of standard diet treated with aluminum phosphide., Toxicol Appl Pharm., **23**, 147-158.
- HADDOW A. & HORNING E.S., 1960, On the carcinogenicity of an iron-dextran complex, J. Natl. Cancer Inst., **24**, 109-147.
- HANTSON P., MAHIEU P., GERSDORFF M., SINDIC C. & LAUWERYS R., 1995, Fatal encephalopathy after otoneurosurgery procedure with an aluminum-containing biomaterial, Clin. Toxicol., **33**, 645-648.
- HARRINGTON C.R., WISCHIK C.M., Mc ARTHUR F.K., TAYLOR G.A., EDWARDSON J.A. & CANDY J.M., 1994, Alzheimer's-disease-like changes in tau protein processing: association with aluminium accumulation in brains of renal dialysis patients, Lancet, **343**, 993-997.

- HARRIS S.A., 1961, Soluble aluminium in plants and soils, Nature, **189**, 513-514.
- HARRIS W.R., 1992, Equilibrium model for speciation of aluminum in serum, Clin. Chem., **38**, 1809-1818.
- HARRISON W.H., CODD E. & GRAY R.M., 1972, Aluminium inhibition of hexokinase, Lancet, **277**.
- HART M.M. & ADAMSON R.H., 1971, Antitumor activity and toxicity of salts of inorganic group IIIa metals: aluminum, gallium, indium, and thallium, Proc. Nat. Acad. Sci. US, **68**, 1623-1626.
- HART M.M., SMITH C.F., YANCEY S.T. & ADAMSON R.H., 1971, Toxicity and antitumor activity of gallium nitrate and periodically related metal salts, J. Nat. Cancer Inst., **47**, 1121-1127.
- HARVEY J.A., ZOBITZ M.M. & PAK C.Y.C., 1988, Dose dependency of calcium absorption : a comparison of calcium carbonate and calcium citrate, J. Bone Miner. Res., **3**, 253-258.
- HASSANALY F., LARROQUE M., DESCH G. & LILLAMAND G., 1987, Dosage semi-automatique de l'aluminium sérique par spectrophotométrie d'absorption atomique sans flamme, Clin. Chem. Newsletters, 44-48.
- HAVA M. & HURWITZ A., 1973, The relaxing effect of aluminum and lanthanum on rat and human gastric smooth muscle in vitro, Eur. J. Pharmacol., **22**, 156-161.
- HARVEY J.A., ZOBITZ M.M. & PAK C.Y.C., 1988, Dose dependency of calcium absorption: a comparison of calcium carbonate and calcium citrate, J. Bone Mineral Res., **3**, 253-258.
- HAWKINS N.M., COFFEY S., LAWSON M.S. & TREVOR DELVES H., 1994, Potential aluminium toxicity in infants fed special infant formula, J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr., **19**, 377-381.
- HENDERSON A.S., 1986, The epidemiology of Alzheimer's disease, Br. Med. Bull., **42**, 30-10.
- HENRY D.A., GOODMAN W.G. & NUDELMAN R.K., 1984, Parenteral aluminium administration in the dog. I. Plasma kinetics, tissue levels, calcium metabolism and parathyroid hormone, Kidney Int., **25**, 362-369.
- HEWITT C.D., O'HARA M., DAY J.P. & BISHOP N., 1987, Exposure of infants to aluminium from milk formulae and intravenous fluids. Trace element, in Analytical Chemistry in Medicine and Biology, **4**, 481-488, Brätter P. & Schramelz P. (Eds.), Walter de Gruyter & Co., Berlin.
- HIRSCH E.C., BRANDEL J.P., GALLE P., JAVOY-AGID F. & AGID Y., 1991, Iron and aluminum increase in the substantia nigra of patients with Parkinson's disease: an X-ray microanalysis, J. Neurochem., **56**, 446-451.
- HIS E., BEIRAS R., SEAMAN M.N., PAGANO G. & TRIEFF N.M., 1996, Sublethal and lethal toxicity of aluminum industry effluents to early developmental stages of the *Crassostrea gigas* oyster, Arch. Environ. Contam. Toxicol., **30**, 335-339.
- HODGE K.C., DAY J.P., O'HARA M., ACKRILL P. & RALSTON A.J., 1981, Critical concentration of aluminium in water used for dialysis, Lancet, **II**, 802-803.
- HODSMAN A.B., SHERRARD D.J., WONG E.G.C., BRICKMAN A.S., LEE D.B.N., ALFREY A.C., SINGER F.R., NORMAN A.W. & COBURN J.W., 1981, Vitamin-D-resistant

- osteomalacia in hemodialysis patients lacking secondary hyperparathyroidism, Ann. Intern. Med., **94**, 629-637.
- HÖHR D., ABEL J. & WILHEL M., 1989, Renal clearance of aluminium: studies in the isolated perfused rat kidney, Toxicol. Lett., **45**, 165-174.
 - HOLLANDER D. & TARMAWSKI A., 1989, Are antacids cytoprotective?, Gut, **30**, 145-147.
 - HOLLANDER D., TARNAWSKI A. & GERGELY H., 1986, Protection against alcohol-induced gastric mucosal injury by aluminum-containing compounds - sucralfate, antacids, and aluminum sulfate, Scand. J. Gastroenterol., **21**, 151-153.
 - HOLLOSI M., SHEN Z.M., PERCZEL A. & FASMAN G.D., 1994, Stable intrachain an interchain complexes of neurofilament peptides: a putative link between Al³⁺ and Alzheimer disease, Proc. Natl. Acad. Sci., **91**, 4902-4906.
 - HORECKER B.R., STOTZ E. & HOGNESS T.R., 1989, The promoting effect of aluminum, chromium and the rare earths in the succinic deshydrogenase-cytochrome system, J. Biol. Chem., **128**, 251-256.
 - HOYER S., OESTERREICH K. & WAGNER O., 1988, Glucose metabolism as the site of the primary abnormality in early-onset dementia of Alzheimer type, J. Neurol., **235**, 143-148.
 - HUGUET F., DELONCLE C., GUILLARD O. & PIRIOU A., 1991, Maladie d'Alzheimer : neurotoxicité de l'aluminium et système dopaminergique, Soc. Fr. Toxicol., **11**, 366-367.
 - HUGUET F., DELONCLE R., GUILLARD O., INGRAND P. & PIRIOU A., 1993, In vitro and in vivo effects of aluminium L-glutamate complex on dopamine accumulation in rat hippocampal slices, Pharmacol. Toxicol., **73**, 57-59.
 - HULTBERG H., 1985, Changes in fish populations and water chemistry in lake Gardsjön and neighbouring lakes during the last century, Ecol. Bull. (Stockholm), **37**, 64-72.
 - HUNG K.Y., HO C.Y., KUO Y.M., LEE S.H., HSEIH S.J., YANG C.S., PENG C.J., WU D.J., HUNG J.T., CHEN P.Y., CHEN J.S. & CHEN W.Y., 1997, Trace elements burden in geriatric hemodialysis patients: a prospective multicenter collaborative study, Int. J. Artif. Organs, **20**, 553-556.
 - HUNN J., CLEVELAND B. & LITTLE E.E., 1987, Influence of pH and aluminum developing brook trout in a low calcium water, Environ. Pollut., **43**, 63-73.
 - HURLEY L.S. & LÖNNERDAL B., 1982, Zinc binding in human milk: citrate versus picolinate, Nutr. Rev., **40**, 65-71.
 - HURWITZ A., 1971, The effects of antacids on gastrointestinal drug absorption. II. Effect on sulfadiazine and quinine, J. Pharmacol. Exp. Ther., **179**, 485-489.
 - HURWITZ A. & SCHEEHAN M.B., 1971, The effects of antacids on the absorption of orally administered pentobarbital in rat, J. Pharmacol. Exp. Ther., **179**, 124-131.
 - HURWITZ A. & SCHLOZMAN D.L., 1974, Effects of antacids on gastrointestinal absorption of isoniazid in rat and man, Am. Rev. Respiratory Disease, **109**, 41-47.
 - HURWITZ A., ROBINSON R.G., VATS T.S., WHITTIER F.C. & HERIN W.F., 1976, Effects of antacids on gastric emptying, Gastroenterology, **71**, 268-273.

- HUSAINI Y., RAI L.C. & MALLICK N., 1996, Impact of aluminium, fluoride and fluoroaluminate complex on ATPase activity of *Nostoc linckia* and *Chlorella vulgaris*, *Biometals*, 9, 277-283.
- HUTCHINSON G.E., 1945, Aluminum in soils, plants and animals, *Soil Sc.*, 60, 29-40.
- IANCU T.C., PERL D.P., STERNLIEB I., LERNER A., LESHINSKY E., KOLODNY E.H., HSU A. & GOOD P.F., 1996, The application of laser microprobe mass analysis to the study of biological material, *Biometals*, 9, 57-65.
- INOUE T., ISHIWATA H. & YOSHIHIRA K., 1988, Aluminum levels in food-simulating solvents and various foods cooked in aluminum pans, *J. Ag. Food Chem.*, 36, 599-601.
- IRWIN D.A., 1955, Histochemical reaction for the demonstration of Al in tissues, *Arch. Indus. Health*, 12, 218.
- ITTEL T.H., GRUBER E., HEINRICHS A., HANDT S., HOFSTADTER F. & SIEBERT H.G., 1992, Effect of fluoride on aluminum-induced bone disease in rats with renal failure, *Kidney Int.*, 41, 1340-1348.
- ITTEL T.H., KINZEL S., ORTMANN A. & SIEBERT H.G., 1996, Effect of iron status on the intestinal absorption of aluminum: a reappraisal, *Kidney Int.*, 50, 1879-1888.
- ITTEL T.H., STEINHAUSEN C., KISLINGER G., KINZEL S., NOLTE E. & SIEBERT H.G., 1997, Ultrasensitive analysis of the intestinal absorption and compartmentalization of aluminium in uraemic rats: a ²⁶Al tracer study employing accelerator mass spectrometry, *Nephrol. Dial. Transplant.*, 12, 1369-1375.
- JABLONSKI G., KLEM K.H., DANIELSEN C.C., MOSEKILDE L. & GORDELADZE J.O., 1995, Aluminium-induced bone disease in uremic rats: Effect of deferoxamine., *Biosci. Rep.*, 16, 49-63.
- JACOBS R.W., DUONG T., JONES R.E., TRAPP G.A. & SCHEIBEL A.B., 1989, A reexamination of aluminum in Alzheimer's disease: analysis by energy dispersive X-ray microprobe and flameless atomic absorption spectrophotometry, *Can. J. Neurol. Sci.*, 16, 498-503.
- JAKOBSSON I., LINDBERG T., BENEDIKTSSON B. & HANSSON B.G., 1985, Dietary bovine b-lactoglobulin is transferred to human milk, *Acta Pediatr. Scand.*, 74, 342-345.
- JACQMIN-GADDA H., COMMENGES D., LETENNEUR L. & DARTIGUES J.F., 1996, Silica and aluminum in drinking water and cognitive impairment in the elderly, *Epidemiology*, 7, 281-285.
- JAUDON M.C., 1991, L'aluminium, in *Les Oligoéléments en Médecine et Biologie*, 625- 643, Chappuis P. (Ed.), Médicales Internationales.
- JAUDON M.C. & CLAVEL J.P., 1984, Techniques de dosages de l'aluminium, in C.R. Symposium « *Aluminium et Insuffisance Rénale. III* », Paris, 25-26 mai 1984.
- JAULMES P. & HAMELLE G., 1971, Présence et taux des oligoéléments dans les aliments et les boissons de l'homme, *Ann. Nutr. Aliment.*, 25, 133-202.
- JEDERLENIC P.J., ABRAHAM J.L., CHURG A., HIMMELSTEIN J.S., EPLER G.R. & GAENSLER E.A., 1990, Pulmonary fibrosis in aluminum oxide workers. Investigation of nine workers, with pathologic examination and microanalysis in three of them, *Amer. Rev. Resp. Dis.*, 142, 1179-1184.

- JEFFERY E.H., ABREO K., BURGESS E., CANNATA J. & GREGER J.L., 1996, Systemic aluminum toxicity: effects on bone, hematopoietic tissue, and kidney, J. Toxicol. Env. Health, **48**, 649-665.
- JEFFERY E.H., JANSEN H.T. & DELLINGER J.A., 1987, In vivo interactions of aluminum with hepatic cytochrome P-450 and metallothionein, Fund. Appl. Toxicol., **8**, 541-548.
- JENSEN P., PETTERSSON S., DRAKENBERG T. & ASP H., 1989, Aluminum effects on vacuolar phosphorus in roots of beech (*Fagus sylvatica*), J. Plant. Physiol., **134**, 37-42.
- JOBST K. & NAGY J., 1995, Can aluminium-containing antacid produce dementia ?, Nephron, **71**, 473.
- JOHNSON A.C. & WOOD M., 1990, DNA, a possible site of action of aluminum in *Rhizobium* spp., Appl. Environ. Microbiol., **56**, 3629-3633.
- JOHNSON G.W. & JOPE R.S., 1986, Aluminum increases cyclic AMP in rat cerebral cortex in vivo, Life Sci., **39**, 1301-1305.
- JOHNSON G.W. & JOPE R.S., 1987, Aluminum alters cyclic AMP and cyclic GMP levels but not presynaptic cholinergic markers in rat brain in vivo, Brain Res., **403**, 1-6.
- JOHNSON N.M., DRISCOLL C.T., EATON J.S., LIKENS G.E. & Mc DOWELL W.H., 1981, Acid rain, dissolved aluminum and chemical weathering at the Hubbard Brook Experimental Forest, New Hampshire, Geochim. Cosmochim. Acta, **45**, 1421-1437.
- JONES D.L. & KOCHIAN L.V., 1995, Aluminum inhibition of the inositol 1,4,5,-trisphosphate signal transduction pathway in wheat roots: A role in aluminum toxicity?, Plant Cell, **7**, 1913-1922.
- JONES D.L. & KOCHIAN L.V., 1997, Aluminum interaction with plasma membrane lipids and enzyme metal binding sites and its potential role in Al cytotoxicity, FEBS Lett., **400**, 51-57.
- JOUHANNEAU P., RAISBECK G.M., YIOU F., LACOUR B., BANIDE H. & DRÜEKE T.B., 1997, Gastrointestinal absorption, tissue retention, and urinary excretion of dietary aluminum in rats determined by using ²⁶Al, Clin. Chem., **43**, 1023-1028.
- JULKA D., VASISHTA R.K. & GILL K.D., 1996, Distribution of aluminum in different brain regions and body organs of rat, Biol. Trace Elem. Res., **52**, 181-192.
- KAEHNY W.D., ALFREY A.C., HOLMAN A.F. & SHORR W.J., 1977b, Aluminum transfer during hemodialysis, Kidney Int., **12**, 361-365.
- KAEHNY W.D., HEGG A.P. & ALFREY A.C., 1977a, Gastrointestinal absorption of aluminum from aluminum-containing antacids, N. Engl. J. Med., **296**, 1389-1390.
- KAISER L., SCHWARTZ K.A., BURNATOWSKA-HLEDIN M.A. & MAYOR G.H., 1984, Microcytic anemia secondary to intraperitoneal aluminum in normal and uremic rats, Kidney Int., **26**, 269-274.
- KANAZIRSKA M., VASSILEV P.P., BIRZON S.Y. & VASSILEV P.M., 1997, Voltage-dependent effect of Al³⁺ on channel activities in hippocampal neurons, Biochem. Biophys. Res. Commun., **232**, 84-87.
- KANDIAH J. & KIES C., 1994, Aluminum concentrations in tissues of rats: effect of soft drink packaging, Biometals, **7**, 57-60.

- KARLIK S.J. & EICHHORN G.L., 1989, Polynucleotide cross-linking by aluminum, J. Inorg. Biochem., **37**, 259-269.
- KARLIK S.J., EICHHORN G.L. & CRAPPER McLACHLAN D.R., 1980, Molecular interactions of aluminum with DNA, Neurotoxicol., **1**, 83-88.
- KARLIK S.J., EICHHORN G.L., LEWIS P.N. & CRAPPER D.R., 1980, Interaction of aluminum species with deoxyribonucleic acid, Biochemistry, **19**, 5991-5998.
- KASA P., SZERDAHELYI P. & WISNIEWSKI H.M., 1995, Lack of topographical relationship between sites of aluminum deposition and senile plaques in the Alzheimer's disease brain, Acta Neuropathol., **90**, 526-531.
- KASARSKIS E.J., TANDON L., LOWELL M.A. & EHMANN W.D., 1995, Aluminum, calcium, and iron in the spinal cord of patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis using laser microprobe mass spectroscopy: a preliminary study, J. Neurologic. Sci., **130**, 203-208.
- KATO H., SHIBANO M., SAITO T., YAMAGUCHI J., YOSHIHARA S. & GOTO N., 1994, Relationship between hemolytic activity and adsorption capacity of aluminum hydroxide and calcium phosphate as immunological adjuvants for biologicals, Microbiol. Immunol., **38**, 543-548.
- KATYAL R., DESIGAN B., SODHI C.P. & OJHA S., 1997, Oral aluminum administration and oxidative injury, Biol. Trace Elem. Res., **57**, 125-130.
- KATZMAN R., 1986, Alzheimer's disease, N. Engl. J. Med., **313**, 964-973.
- KAWAHARA M., MURAMOTO K., KOBVAYASHI K., MORI H. & KURODA Y., 1994, Aggregation and neurotoxicity of amyloid β -protein acceleration by aluminum, Neurobiol. Aging, **15**, S49-S50.
- KAY S. & THORNTON J.L., 1955, Observations on the intraperitoneal injection of aluminum hydroxide in mice, A.M.A. Arch. Pathol., **60**, 651-654.
- KAYE M., HODSMAN A.B. & MALYNOWSKI L., 1990, Staining of bone aluminum: use of acid solochrome azurine, Kidney Int., **37**, 1142-1147.
- KHAVKIN M., ROJTMAN M.J., KHAVKIN Y., KHASSANOVA Z., COLLERY P. & KHASSANOVA L., 1996, Colloidal antiseptics on base of aluminium hydroxide, in Metals Ions in Biology and Medicine, 672, Collery P., Corbella J., Domingo J.L., Etienne J.C & Llobel J.M (Eds.), J. Libbey, Eurotext, Paris, 4th Ed.
- KIDDER L.S., KLEIN G.L., GUNDBERG C.M., SEITZ P. K., RUBIN N.H., & SIMMONS D.J., 1993, Effects of aluminum on rat bone cell populations, Calcified Tissue Int., **53**, 357-361.
- KING G.A., DE BONI U. & CRAPPER P.R., 1975, Effect of aluminum upon conditioned avoidance response acquisition in the absence of neurofibrillary degeneration, Pharmacol. Biochem. Behav., **3**, 1003-1009.
- KING S.J., OLDHAM C., POPPLEWELL J.F., CARLING R.S., DAY J.P., FIFIELD L.K., CRESSWELL R.G., LIU K. & DI TADA M.L., 1997, Determination of aluminum-26 in biological materials by accelerator mass spectrometry, Analyst, **122**, 1049-1055.
- KING S.W., WILLS M.R. & SAVORY J., 1979, Serum binding of aluminium, Res. Commun. Chem. Pathol. Pharm., **26**, 161-169.

- KIRSCHBAUM B.B. & SCHOOLWERTH A.C., 1989a, Acute aluminum toxicity associated with oral citrate and aluminum-containing antacids, Am. J. Med. Sci., **297**, 9-11.
- KIRSCHBAUM B.B. & SCHOOLWERTH A.C., 1989b, Hyperaluminaemia associated with oral citrate and aluminium hydroxyde, Hum. Toxicol., **8**, 45-47.
- KISS T., SOVAGO I. & MARTIN R.B., 1991, Al³⁺ binding by adenosine-5'-phosphate: AMP, ADP, and ATP, Inorg. Chem., **30**, 2130-2132.
- KLEBER C.J. & PUTT M.S., 1995, Investigation of the effects of aluminum mouthrinses on rat dental caries and plaque, Caries Res., **29**, 237-242.
- KLEBER C.J. & PUTT M.S., 1984, Aluminum and dental caries. A review of the literature, Clin. Preventive Dentistry, **6**, 14-25.
- KLEIN G.L., 1995, Aluminum in parenteral solutions revisited-again, Am. J. Clin. Nutr., **61**, 449-456.
- KLEIN G.L., ALFREY A.C., MILLER N.L., SHERRARD D.J., HAZLET T.K., AMET M.E. & COBURN J.W., 1982a, Aluminum loading during total parenteral nutrition, Am. J. Clin. Nutr., **35**, 1425-1429.
- KLEIN G.L., OTT S.M., ALFREY A.C., SHERRARD D.J., HAZLET T.K., MILLER N.L., MALONEY N.A., BERQUIST W.E., AMENT M.E. & COBURN J.W., 1982 b, Aluminum as a factor in the bone disease of long-term parenteral nutrition, Trans. Assoc. Am. Physicians, **95**, 155-164.
- KLEIN G.L., GOLDBLUM R.M., MOSLEN M.T., PYRON D.L., MANN P.A., LEE T.C. & ALFREY A.C., 1993, Increased biliary transferrin excretion following parenteral aluminium administration to rats, Pharmacol. Toxicol., **72**, 373-376.
- KLEIN G.L., HEYMAN M.B., LEE T.C., MILLER N.L., MARATHE G., GOURLEY W.K. & ALFREY A.C., 1988, Aluminum-associated hepatobiliary dysfunction in rats: relationships to dosage and duration of exposure, Pediat. Res., **23**, 275-278.
- KLOTZ F. & HORST W.J., 1988, Genotypic differences in aluminium tolerance of soybean (*Glycine max L.*) as affected by ammonium and nitrate-nitrogen nutrition, J. Plant Physiol., **132**, 702-707.
- KNOLL O., KELLINGHAUS H., BERTRAM H.P., ZUMKLEY H. & GRAEFE U., 1984, Gastrointestinal absorption of aluminum in chronic renal insufficiency, Contr. Nephrol., **38**, 24-31.
- KNOLL O., LAHL H., B+CKMANN J., HENNIG H. & UNTERHALT B., 1986, Aluminum contamination of tap water and food, Trace Elem. Med., **3**, 172-175.
- KOBAYASHI D., MURASE K., ODANI A., HAYASHI K. & YAMAUCHI O., 1996, Effects of aluminum(III) on catechol-stimulated nerve growth factor biosynthesis by cultured mouse brain astroglial cells, Biochem. Mol. Biol. Int., **38**, 675-684.
- KOCH K.R., 1990, Quantitative determination of aluminum in tea by means of aluminum-27 nuclear magnetic resonance spectrometry, Analyst, **115**, 823-825.
- KOCH K.R., POUGNET M.A. & DE VILLERS D., 1989, Determination of aluminium levels in tea and coffee by inductively coupled plasma optical emission spectrometry and graphite furnace atomic absorption spectrometry, Analyst, **114**, 911-913.

- KOCHIAN L.V., 1995, Cellular mechanisms of aluminum toxicity and resistance in plants, Ann. Rev. Plant Phys. Plant Mol. Biol., **46**, 237-260.
- KONGERUD J. & SAMUELSEN S.O., 1991, A longitudinal study of respiratory symptoms in aluminum potroom workers, Am. Rev. Respir. Dis., **144**, 10-16.
- KONGERUD J. & SOYSETH V., 1991, Methacholine responsiveness, respiratory symptoms and pulmonary function in aluminium potroom workers, Eur. Respir. J., **4**, 159-166.
- KONISHI Y., YAGYU K., KINEBUCHI H., SAITO N., YAMAGUCHI T. & OHTSUKI Y., 1996, Chronic effect of aluminium ingestion on bone in calcium-deficient rats, Pharmacol. Toxicol., **78**, 429-434.
- KOO W.W.K., KAPLAN L.A., BENDON R., SUCCOP P., TSANG R.C., HORN J. & STEICHEN J.J., 1986, Response to aluminum in parenteral nutrition during infancy, J. Pediatr., **109**, 877-883.
- KOO W.W.K., KAPLAN L.A. & KRUG-WISPE S.K., 1988, Aluminum contamination of infant formulas, J. Parent. Enteral Nutr., **12**, 170-173.
- KORCHAZHKINA O., WRIGHT G. & EXLEY C., 1998, Action of Al-ATP on the isolated working rat heart, J. Inorg. Biochem., **69**, 153-158.
- KOVALCHIK M.T., KAEHNY W.D., HEGG A.P., JACKSON J.T. & ALFREY A.C., 1978, Aluminium kinetics during hemodialysis, J. Lab. Clin. Med., **92**, 712-720.
- KRISHNAN S.S., GILLESPIE K.A. & CRAPPER D.R., 1972, Determination of aluminium in biological material by atomic absorption spectrophotometry, Anal. Chem., **8**, 1469-1470.
- KRIZEK M., SENFT V. & MOTAN J., 1997, Aluminum and the human body, Cas. Lek. Cesk., **136**, 544-547.
- KRUCK T.P.A., 1993, Aluminium-Alzheimer's link?, Nature, **363**, 119.
- KRUEGER G.L., MORRIS T.K., SUSKIND R.R. & WIDNER E.M., 1984, The health effects of aluminum compounds in mammals, Crit. Rev. Toxicol., **13**, 1-24.
- KUMAR S., 1998, Biphasic effect of aluminium on cholinergic enzyme of rat brain, Neurosci. Lett., **248**, 121-123.
- KURODA Y., KOBAYASHI K., ICHIKAWA M., KAWAHARA M. & MURAMOTO K., 1995, Application of long-term cultured neurons in aging and neurological research: aluminum neurotoxicity, synaptic degeneration and Alzheimer's disease, Gerontology, **41**, 2-6.
- LALL S.B., SINHA K., MITTRA S. & SETH S.D., 1997, An experimental study on cardiotoxicity of aluminium phosphide, Indian J. Exp. Biol., **35**, 1060-1064.
- LAMOUR Y. & DAVOUS P., 1983, Démences de type Alzheimer : Données récentes, La Nouvelle Presse Médicale, **12**, 1415-1420.
- LANDINO L.M. & MACDONALD T.L., 1997, Inhibition of the GDP/GTP exchange reaction of ras p21 by aluminum ion, J. Inorg. Biochem., **66**, 99-102.
- LANDSBERG J.P., Mc DONALD B. & WATT F., 1992, Absence of aluminium in neuritic plaque cores in Alzheimer's disease, Nature, **360**, 65-68.
- LANTZY R.J. & MACKENZIE F.T., 1978, Atmospheric trace metals: global cycles and assessment of man's impact, Geochim. Cosmochim. Acta, **43**, 511-525.

- LAPRESLE J., DUCKETT S. & GALLE P., 1975, Documents cliniques, anatomiques et biophysiques dans une encéphalopathie avec présence de dépôts d'aluminium, C.R. Soc. Biol., 282, 282-285.
- LARSON E.A., ASH S.R., WHITE J.L. & HEM S.L., 1986, Phosphate binding gels: balancing phosphate adsorption and aluminum toxicity, Kidney Int., 29, 1131-1135.
- LEDERMAN R.J. & HENRY C.E., 1978, Progressive dialysis encephalopathy, Ann. Neurol., 4, 199-204.
- LEE B.L., CHUA L.H., ONG H.Y., YANG H.G., WU J. & ONG C.N., 1996, Determination of serum and urinary aluminum by HPLC with fluorometric detection of Al-lumogallion complex, Clin. Chem., 42, 1405-1411.
- LEE P.N., 1989, Epidemiological research on Alzheimer's disease: past, present and future, Environ. Technol. Lett., 10, 327-333.
- LEGENDRE G.R. & ALFREY A.C., 1976, Measuring picogram amounts of aluminum in biological tissues by flameless atomic absorption analysis of a chelate, Clin. Chem., 2253-2256.
- LEONARD A. & GERBER G.B., 1988, Mutagenicity, carcinogenicity and teratogenicity of aluminium, Mutat. Res., 196, 247-257.
- LEUNG F.Y. & HENDERSON A.R., 1983, Assessment of quality control sera suitable for aluminum determination by atomic absorption spectrometry, Chem. Toxicol. & Clin. Chem. Metal
- LEVI R., WOLF T., FLEMINGER G. & SOLOMON B., 1998, Immuno-detection of aluminium and aluminium induced conformational changes in calmodulin. Implications in Alzheimer's disease, Mol. Cell Biochem., 189, 41-46.
- LEVINE S.N., SONNIER G.B. & ABREO K., 1990, Effects of diabetes mellitus and aluminum toxicity on myocardial calcium transport, Toxicology, 65, 137-148.
- LICHTHE F.E., HOPPER S. & OSBORN T.W., 1980, Determination of silicon and aluminum in biological matrices by inductively coupled plasma emission spectrometry, Anal. Chem., 52, 120-124.
- LIEBERHERR M., GROSSE B., COURNOT-WITMER G., THIL C.L. & BALSAN S., 1982, In vitro effects of aluminum on bone phosphatases: a possible interaction with bPTH and vitamin D₃ metabolites, Calcif. Tissue Int., 34, 280-284.
- LIN J.L., KOU M.T. & LEU M.L., 1996, Effect of long-term low-dose aluminum-containing agents on hemoglobin synthesis in patients with chronic renal insufficiency, Nephron, 74, 33-38.
- LIN J.L. & LEU M.L., 1996, Aluminium- containing agents may be toxic in predialysis chronic renal insufficiency patients, J. Intern. Med., 240, 243-248.
- LIN J.L., YANG Y.J., YANG S.S., LEU M.L., 1997, Aluminum utensils contribute to aluminum accumulation in patients with renal disease, Am. J. Kidney Dis., 30, 635-638.
- LIONE A., 1982, The mobilization of aluminium from three brands of chewing gum, Food Chem. Toxicol., 20, 945-946.
- LIONE A., 1983, The prophylactic reduction of aluminium intake, Food Chem. Toxicol., 21, 103-109.

- LIONE A., 1985, Aluminum intake from non-prescription drugs and sucralfate, Gen. Pharmacol., 16, 223-228.
- LIONE A., ALLEN P.V. & SMITH J.C., 1984, Aluminium coffee percolators as a source of dietary aluminium, Food Chem. Toxicol., 22, 265-268.
- LITOV R.E., SICKLES V.S., CHAN G.M., SPRINGER M.A. & CORDANO A., 1989, Plasma aluminum measurements in term infants fed human milk or a soy-based infant formula, Pediatrics, 84, 1105-1107.
- LIU J.X. & NORDBERG G.F., 1995, Nephrotoxicities of aluminium and/or cadmium-metallothionein in rats: creatinine excretion and metabolism of selected essential metals, Pharmacol. Toxicol., 77, 155-160.
- LIU J., NORDBERG G.F. & FRECH W., 1996, Aluminium accumulation in some tissues of rats with compromised kidney function induced by cadmium-metallothionein, Pharmacol. Toxicol., 78, 289-295.
- LIUKKONEN-LILJA H. & PIEPPONEN S., 1992, Leaching of aluminium from aluminium dishes and packages, Food Addit. Contam., 9, 213-223.
- LJUNGGREN K.G., LIDUMS V. & SJOGREN B., 1991, Blood and urine concentrations of aluminium among workers exposed to aluminum flake powders, Brit. J. Ind. Med., 48, 106-109.
- LOEB L.A., 1985, Apurinic sites as mutagenic intermediates, Cell, 40, 483-484.
- LONDON G.M., DE VERNEJOU M.C., FABIANI F., MARCHAIS S., GUERIN A., METIVIER F., CHAPPUIS P. & LLACH F., 1989, Association between aluminum accumulation and cardiac hypertrophy in hemodialyzed patients, Am. J. Kidney Dis., 13, 75-83.
- LONG J.F., NAGODE L.A., STEINMEYER C.L. & RENKES G., 1994, Comparative effects of calcitriol and parathyroid hormone on serum aluminum in vitamin D-depleted rabbits fed an aluminum-supplemented diet, Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol., 83, 3-14.
- LOPEZ F.F., CABRERA C., LORENZO M.L. & LOPEZ M.C., 1998, Aluminium levels in wine, beer and other alcoholic beverages consumed in Spain, Sci. Total Environ., 220, 1-9.
- LOTE C.J., WILLMOTT K.L., THEWLES A. & WOOD J.A., 1996, Strategies to improve urinary aluminium excretion in the rat, in Metals Ions in Biology and Medicine, 396-398, Collery P., Corbella J., Domingo J.L., Etienne J.C., Llobel J.M. (Eds.), J. Libbey, Eurotext, Paris, 4th ed.
- LOTZ M., ZISMAN E. & BARTTER F.C., 1968, Evidence for a phosphorus-depletion syndrome in man, N. Engl. J. Med., 278, 409-415.
- LOVELL M.A., EHMANN W.D., MARKESBERY W.R., MELETHIL S., SWYT C.R. & ZATTA P.F., 1996, Standardization in biological analyses of aluminum: what are the needs?, J. Toxicol. Env. Health, 48, 637-648.
- LUKASZEWSKI K.M. & BLEVINS D.G., 1996, Root growth inhibition in boron-deficient or aluminum-stressed squash may be a result of impaired ascorbate metabolism, Plant Physiol., 112, 1135-1140.

- LUKIWI W.J., 1997, Alzheimer's disease and aluminum, In Mineral and Metal Neurotoxicology, 12, 113-126, Yasui M., Strong M., Ota K. & Verity M.A (éds.), CRC Press, Boca Raton Florida.
- LUNDQUIST F., 1959, The determination of ethyl alcohol in blood and tissues, in Methods of biochemical analysis, 217-251, Glick D. (Ed.), Intersciences Publishers, New-York.
- MAHIEU S., CALVO M.L., MILLEN N., GONZALEZ M. & CONTINI M.C., 1998, Growth and metabolism of calcium in rats chronically poisoned with aluminium hydroxide., Acta Physiol. Pharmacol. Ther. Latinoam., 48, 32-40.
- MAITANI T., KUBOTA H., HORI N., YOSHIHIRA K. & TAKEDA M., 1994, Distribution and urinary excretion of aluminium injected with several organic acids into mice: relationship with chemical state in serum studied by the HPLC-ICP method, J. Appl. Toxicol., 14, 257-261.
- MALLEY D.F., HUEBNER J.D. & DONKERSLOOT K., 1988, Effects on ionic composition of blood and tissues of *Anodonta grandis grandis* (Bivalvia) of an addition of aluminum and acid to a lake, Arch. Environ. Contam. Toxicol., 17, 479-491.
- MALLUCHE H.H., FAUGERE M.C., FRIEDLER R.M., MATTHEWS C. & FANTI P., 1987, Calcitriol, parathyroid hormone, and accumulation of aluminum in bone in dogs with renal failure, J. Clin. Invest., 79, 754-761.
- MALLUCHE H.H., SMITH A.J., ABREO K. & FAUGERE M.C., 1984, The use of deferoxamine in the management of aluminum accumulation in bone in patients with renal failure, N. Engl. J. Med., 311, 140-144.
- MANNA G. & DAS R.K., 1972, Chromosome aberrations in mice induced by aluminium chloride, Nucleus, 15, 180-186.
- MANNA G.K. & PARIDA B.B., 1965, Aluminium chloride induced meiotic chromosome aberrations in the grasshopper, *Phloeoba antennata*, Naturwissenschaften, 52, 647-648.
- MANSOUR J.M., EHRLICH A. & MANSOUR T.E., 1983, The dual effects of aluminum as activator and inhibitor of adenylate cyclase in the liver fluke *fasciola hepatica*, Biochem. Bioph. Res. Comm., 112, 911-918.
- MARCUS D.L., DE LEON M.J., GOLDMAN J., LOGAN J., CHRIISTMAN D.R., WOLF A.P., FOWLER J.S., HUNTER K., TSAI J., PEARSON J. & FREEDMAN M.L., 1988, Altered glucose metabolism in microvessels from patients with Alzheimer's disease., Ann. Neurol., 26, 91-94.
- MARKESBERY W.R., EHMANN W.D., HOSSAIN T.I.M., ALAUDDIN M. & GOODIN D.T., 1981, Instrumental neuron activation analysis of brain aluminium in Alzheimer disease and aging., Ann. Neurol., 10, 511-516.
- MARQUES H.M., 1991, Kinetics of the release of aluminum from human serum dialuminum transferrin to citrate, J. Inorg. Biochem., 41, 187-193.
- MARQUIS J.K., 1982, Aluminum neurotoxicity: an experimental perspective, Bull. Environ. Contam. Toxicol., 29, 43-49.
- MARQUIS J.K., 1983, Aluminum inhibition of human serum cholinesterase, Bull. Environ. Contam. Toxicol., 31, 164-169.
- MARQUIS J.K. & LERRICK A.J., 1982, Noncompetitive inhibition by aluminum, scandium and yttrium of acetylcholinesterase from *Electrophorus electricus*, Biochem. Pharmacol., 31, 1437-1440.

- MARTIN R.B., 1986a, Citrate binding of Al³⁺ and Fe³⁺, J. Inorg. Biochem., **28**, 181-187.
- MARTIN R.B., 1986b, The chemistry of aluminum as related to biology and medicine, Clin. Chem., **32**, 1797-1806.
- MARTIN R.B., SAVORY J., BROWN S., BERTHOLF R.L. & WILLS M.R., 1987, Transferrin binding of Al³⁺ and Fe³⁺, Clin. Chem., **33**, 405-407.
- MARTINEZ-PALOMO A., MEZA I., BEATY G. & CERREJIDO M., 1980, Experimental modulation of occluding junctions in a cultured transporting epithelium, J. Cell Biol., **8**, 736-745.
- MARTYN C.N., BARKER D.J.P., OSMOND C., HARRIS E.C., EDWARDSON J.A. & LACEY R.F., 1989, Geographical relation between Alzheimer's disease and aluminium in drinking water, Lancet, **I**, 59-62.
- MARTYN C.N., COGGON D.N., INSKIP H., LACEY R.F. & YOUNG W.F., 1997, Aluminum concentrations in drinking water and risk of Alzheimer's disease, Epidemiology, **8**, 281-286.
- MAS J.L., ALPEROVITCH A. & DEROUESNE C., 1987, Epideémiologie de la démence de type Alzheimer, Rev. Neurol., **143**, 161-171.
- MASON J. & SEIP H.M., 1984, The current state of knowledge on acidification of surface waters and guidelines for further research, Ambio, **14**, 45-51.
- MATSUSHIMA F., MESHITSUKA S. & NOSE T., 1997, Aluminum contents in dried and cooked sea vegetables, Nippon Eiseigaku Zasshi, **51**, 763-769.
- MAURAS Y., ALLAIN P. & RIBERI P., 1982, Etude de l'absorption digestive de l'hydrocarbonate d'aluminium chez l'individu sain, Thérapie, **37**, 598-600.
- MAYOR G.H., KEISER J.A., MAKDANI D. & KU P.K., 1977, Aluminum absorption and distribution: effects of parathyroid hormone, Science, **197**, 1187-1189.
- MAYOR G.H., SPRAGUE S.M., HOURANI M.R. & SANCHEZ T.V., 1980, Parathyroid hormone-mediated aluminum deposition and egress in the rat, Kidney Int., **17**, 40-44.
- MAZZAFERRO S., PERRUZZA I., COSTANTINI S., PASQUALI M., ONORATO L., SARDELLA D., GIORDANO R., CIARALLI L., BALLANTI P., BONUCCI E., CINOTTI G. & COEN G., 1997, Relative roles of intestinal absorption and dialysis-fluid-related exposure in the accumulation of aluminium in haemodialysis patients, Nephrol., **12**, 2679-2682.
- Mc CAHON C.P. & PASCOE D., 1989, Short-term experimental acidification of a welsh stream: Toxicity of different forms of aluminium at low pH to fish and invertebrates, Arch. Environ. Contam. Toxicol., **18**, 233-242.
- Mc CARTHY J.T., MILLINER D.S. & JOHNSON W.J., 1990, Clinical experience with desferrioxamine in dialysis patients with aluminium toxicity, Q. J. Med., **74**, 257-276.
- Mc CARTHY J.T., MILLINER D.S., KURTZ S.B., JOHNSON W.J. & MOYER T.P., 1986, Interpretation of serum aluminum values in dialysis patients, Amer. J. Clin. Pathol., **86**, 629-636.
- Mc CORMACK K.M., OTTOSEN L.D., SANGER V.L., SPRAGUE S., MAYOR G.H. & HOOK J.B., 1979, Effect of prenatal administration of aluminum and parathyroid hormone on fetal development in the rat, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **161**, 74-79.

- Mc DERMOTT J.R., SMITH A.I., IQBAL K. & WISNIEWSKI H.M., 1977, Aluminum and Alzheimer's disease, Lancet, II, 710.
- Mc DERMOTT J.R., SMITH A.I., IQBAL K. & WISNIEWSKI H.M., 1979, Brain aluminum in aging and Alzheimer disease, Neurology, 29, 804-814.
- Mc DERMOTT J.R., SMITH A.I., WARD H.K., PARKINSON L.J. & KERR D.N., 1978, Brain aluminium concentration in dialysis encephalopathy, Lancet, I, 901-904.
- Mc DIARMID C.W. & GARDNER R.C., 1996, Al toxicity in yeast. A role for Mg?, Plant Physiol., 112, 1101-1109.
- Mc GEER P.L., 1984, Aging, Alzheimer's disease and the cholinergic system, Can. J. Physiol. Pharmacol., 62, 741-754.
- Mc GREGOR S.J., NAVES M.L., ORIA R., VASS J.K. & BROCK J.H., 1990, Effect of aluminium on iron uptake and transferrin-receptor expression by human erythroleukaemia K562 cells, Biochem. J., 272, 377-382.
- Mc KEE M.J., KNOWLES C.O. & BUCKER D.R., 1989, Effects of aluminum on the biochemical composition of atlantic salmon, Arch. Environ. Contam. Toxicol., 18, 243-248.
- Mc LACHLAN D.R.C., BERGERON C., SMITH J.E., BOOMER D. & RIFAT S.L., 1996, Risk for neuropathologically confirmed Alzheimer's disease and residual aluminum in municipal drinking water employing weighted residential histories, Neurology, 46, 401-405.
- Mc LAUGHLIN A.I., KAZANTZIS G., KING E., TEARE D., PORTER R.J. & OWEN R., 1962, Pulmonary fibrosis and encephalopathy associated with the inhalation of aluminum dust, Brit. J. Ind. Med., 19, 253-262.
- Mc NALL A.D. & FOSMIRE G.J., 1996, Zinc status does not affect aluminum deposition in tissues of rats, Biol. Trace Elem. Res., 53, 7-18.
- MESSING B., PFEIFFER A., GINESTON J.L., CHAPPUIS P., LEFLON P., BUISINE A. & TERRIER J.L., 1986, Quels sont, en nutrition parentérale chez l'adulte, les solutés responsables de l'apport aluminique excessif ?, La Nouvelle Presse Médicale, 15, 1425.
- MEREDITH M. & BLUM A.L., 1989, Antacids and the toxicity of aluminum : a real problem or not ?, Gastroenterol. Clin. Biol., 13, 441-444.
- MILACIC R., BENEDIK M. & KNEZEVIC S., 1997, Absorption-desorption processes of aluminium, zinc and copper on plastic tubing in haemodialysis monitors, Clin. Chim. Acta, 265, 169-182.
- MILLER C.A. & LEVINE E.M., 1974, Effects of aluminium salts on cultured neuroblastoma cells, J. Neurochem., 22, 751-758.
- MILLER J.L., HUBBARD C.M., LITMAN B.J. & Mc DONALD T.L., 1989, Inhibition of transducin activation and guanosine triphosphatase activity by aluminum ion, J. Biol. Chem., 264, 243-250.
- MILLER R.G., KOPFLER F.C., KELTY K.C., STOBBER J.A. & ULMER N.S., 1984, The occurrence of aluminum in drinking water, J. Am. Water Works Ass., 84-91.
- MILLER K.B., ROSENWASSER L.J. & BESSETTE J.M., 1981, Rapid desensitization for deferoxamine anaphylactic reaction, Lancet, I, 1059.

- MILLINER D.S., MALEKZADEH M., LIEBERMAN E. & COBURN J.W., 1987, Plasma aluminum levels in pediatric dialysis patients: comparison of hemodialysis and continuous ambulatory peritoneal dialysis, Mayo. Clin. Proc., **62**, 269-274.
- MILLINER D.S., SHINABERGER J.H., SHUMAN P. & COBURN J.W., 1985, Inadvertent aluminum administration during plasma exchange due to aluminum contamination of albumin-replacement solutions, N. Engl. J. Med., **312**, 165-167.
- MILNE F.J., SHARFE B., BELL P. & MEYERS A.M., 1983, The effect of low aluminium water and desferrioxamine on the outcome of dialysis encephalopathy, Clin. Nephrol., **20**, 202-207.
- MINAMI T., ICHII M., TOHNO Y., TOHNO S., UTSUMI M., YAMADA M.O. & OKAZAKI Y., 1996, Age-dependent aluminum accumulation in the human aorta and cerebral artery, Biol. Trace Elem. Res., **55**, 199-205.
- MITROVIC D.R., STANKOVIC A., FRONT P. & KUNTZ D., 1987, La toxicité de l'aluminium sur les tissus est-elle due à la production de radicaux libres d'oxygène?, La Nouvelle Presse Médicale, **16**, 1702.
- MJÖBERG B., 1990, Aluminium may cause senile dementia and bone fragility, Calcif. Tissue Int., **47**, 259-260.
- MJÖBERG B., HELLQUIST E., MALLMIN H. & LINDH U., 1997, Aluminum, Alzheimer's disease and bone fragility, Acta Orthop. Scand., **68**, 511-514.
- MLADENOVIC J., 1988, Aluminum inhibits erythropoiesis in vitro, J. Clin. Invest., **81**, 1661-1665.
- MOLITORIS B.A., FROMENT D.H., MACKENZIE T.A., HUFFER W.H. & ALFREY A.C., 1989, Citrate: a major factor in the toxicity of orally administered aluminum compounds, Kidney Int., **36**, 949-953.
- MONTENEGRO J., AGUIRRE R., SARACHO R., MOINA I. & MARTINEZ I., 1998, Factors influencing serum aluminum in CAPD patients, Clin. Nephrol., **50**, 77-83.
- MONTIEL A. & WELTE B., 1984, Aluminium dans l'eau: origine - chimie - traitement, in C.R. Symposium Aluminium et insuffisance rénale – III, Paris, 25-26 mai 1984, 13-19.
- MORAES M.S. & LEITE S.R.A., 1994, Inhibition of bovine brain acetylcholinesterase by aluminum, Brazilian L. Med. Biol. Res., **27**, 2635-2638.
- MORENO A., DOMINGUEZ C. & BALLABRIGA A., 1994, Aluminium in the neonate related to parenteral nutrition, Acta Paediatr., **83**, 26-29.
- MORGAN E.H. & REDGRAVE T.G., 1998, Effects of dietary supplementation with aluminum and citrate on iron metabolism in the rat, Biol. Trace Elem. Res., **65**, 117-131.
- MORIE T., IWAMOTO M., HARADA N., SHIGEKI M., YAMADA M. & KUSUNOSE Y., 1996, Urinary excretion of aluminium: effects of aging and diurnal variation, Arch. Gerontol. Geriatr., **22**, 287-295.
- MORINIERE P., ROUSSEL A., TAHIRI Y., FREMONT F., MAUREL G., JAUDON M.C., GUERIST J. & FOURNIER A., 1982, Substitution of aluminum hydroxide by high doses of calcium carbonate in patients on chronic hemodialysis: disappearance of hyperaluminemia and equal control of hyperparathyroidism, Proc. Eur. Dial. Transplant. Assoc., **19**, 784-787.
- MORRISSEY J., ROTHSTEIN M., MAYOR G. & SALTOPOLSKY E., 1983, Suppression of parathyroid hormone secretion by aluminum, Kidney Int., **23**, 699-704.

- MORRONI M., BARBATELLI G., CARBONI V., SBARBATI A. & CINTI S., 1995, Subcutaneous nodules in a patient hyposensitized with aluminium-containing allergen extracts: a microanalytical study, Anal. Cell. Pathol., 9, 235-241.
- MOSHTAGHIE A.A., ANI M. & BAZRAFESHAN M.R., 1992, Comparative binding study of aluminum and chromium to human transferrin. Effect of iron, Biol. Trace Elem. Res., 32, 39-46.
- MUFSON E.J., BOTHWELL M. & KORDOWER J.H., 1989, Loss of nerve growth factor receptor-containing neurons in Alzheimer's disease: a quantitative analysis across subregions of the basal forebrain, Exp. Neurol., 105, 221-232.
- MULLER G., BERNUZZI V., DESOR D., HUTIN M.F., BURNEL D. & LEHR P., 1990, Development alterations in offspring of female rats orally intoxicated by aluminum lactate at different gestation periods, Teratology, 42, 253-261.
- MULLER G., HUTIN M.F., BURNEL D. & LEHR P., 1992, Aluminum transfer through milk in female rats intoxicated by aluminum chloride, Biol. Trace Elem. Res., 34, 79-87.
- MULLER J.F., GELOT M.A., NETTER P. & KAUFMANN R., 1982, Detection of aluminium by LAMMA spectrometry in plasma and in synovial liquids of patients on chronic dialysis, Biomedicine, 36, 380-383.
- MULLER L. & WILHELM M., 1987, Uptake and distribution of aluminium in rat hepatocytes and its effect on enzyme leakage and lactate formation, Toxicology, 44, 203-212.
- MUNCK B.G. & SCHULTZ S.G., 1974, Properties of the passive conductive pathway across *in vitro* jejunum, J. Membr. Biol., 16, 163-174.
- MUNDY W.R., FREUDENRICH T., SHAFER T.J. & NOSTRANDT A.C., 1995, In vitro aluminum inhibition of brain phosphoinositide metabolism: comparison of neonatal and adult rats, Neurotoxicology, 16, 35-44.
- MUNDY W.R. KODAVANTI P.R.S., DULCHINOS V.F. & TILSON H.A., 1994, Aluminum alters calcium transport in plasma membrane and endoplasmic reticulum from rat brain, J. Biochem. Toxicol., 9, 17-23.
- MUNDY W.R., FREUDENRICH T.M. & KODAVANTI P.R., 1997, Aluminum potentiates glutamate-induced calcium accumulation and iron-induced oxygen free radical formation in primary neuronal cultures, Mol. Chem. Neuropathol., 32, 41-57.
- MURAMOTO S., 1981, Influence of complexans (NTA, EDTA) on the toxicity of aluminum chloride and sulfate to fish at high concentrations, Bull. Environ. Contam. Toxicol., 27, 221-225.
- MUSSI I., GALZAFERRI G., BURATTI M. & ALESSIO L., 1984, Behavior of plasma aluminium levels in occupationally exposed subjects, Int. Arch. Environ. Health, 54, 155-161.
- NABRZYSKI M. & GAJEWSKA R., 1998, Aluminium determination in foods by using spectrometric oxine and flame AAS methods, Nahrung, 42, 109-111.
- NAGATA T., HAYATSU M. & KOSUGE N., 1992, Identification of aluminum forms in tea leaves by ²⁷Al NMR, Phytochemistry, 31, 1215-1218.
- NAGEL J., SVEC D., WATERS T. & PIREMAN P., 1977, IgE synthesis in man. I - Development of specific IgE. Antibodies after immunization with tetanus diphtheria (Td) toxoids, J. Immunol., 118, 334-341.

- NAGY E. & JOBST K., 1994, Aluminium dissolved from kitchen utensils, Bull. Environ. Contam. Toxicol., 52, 396-399.
- NATHAN E. & PEDERSEN S.E., 1980, Dialysis encephalopathy in a non-dialysed uraemic boy treated with aluminum hydroxide orally, Acta Paediat. Scand., 69, 793-796.
- NAYLOR G.J., SHEPERD B., TRELIVING L., Mc HARG A., SMITH A., WARD N. & HARPER M., 1990, Tissue aluminum concentration stability over time, relationship to age and dietary intake, Biol. Psychiatry, 27, 884-890.
- NEKIPELOV M.I., 1966, Hygienic standard for aluminum nitrate in water basins, Hyg. Sanit. (USSR), 31, 204-208.
- NERI L.C. & HEWITT D., 1991, Aluminium, Alzheimer's disease, and drinking water, Lancet, 338, 390.
- NESTEL A.W., MEYERS A.M., PAIKER J. & ROLLIN H.B., 1994, Effect of calcium supplement preparation containing small amounts of citrate on the absorption of aluminium in normal subjects and in renal failure patients, Nephron, 68, 197-201.
- NETTER P., BURNEL D., HUTIN M.F., KESSLER M. & FAURE G., 1981, Aluminium in joint tissues of patient taking aluminium hydroxide, Lancet, 1056-1057.
- NETTER P., FENER P., STEINMETZ J., BURNEL D., GILLET P., GAUCHER A., KESSLER M., POUREL J., BARDIN T. & BANNWARTH B., 1991a, Amorphous aluminosilicates in synovial fluid in dialysis-associated arthropathy, Lancet, 337, 554-555.
- NETTER P., KESSLER M., BURNEL D., HUTIN M.F., DELONS S., BENOIT J. & GAUCHER A., 1984, Aluminium in the joint tissues of chronic renal failure patients treated with regular hemodialysis and aluminium compounds, J. Rheumatol., 11, 66-70.
- NETTER P., KESSLER M., GAUCHER A. & BANNWARTH B., 1990, Does aluminum have a pathogenic role in dialysis associated arthropathy?, Ann. Rheum. Dis., 49, 573-575.
- NETTER P., KESSLER M., GAUCHER A., BURNEL D. & FENER P., 1991b, Aluminum and dialysis associated arthropathy, Nephron, 59, 669.
- NOLL C.A. & STEFANELLI L.J., 1963, Fluorimetric and spectrophometric determination of aluminium in industrial water, Anal. Chem., 35, 1914-1916.
- NORDAL K.P., DAHL E., ALBRECHTSEN D., HALSE J., LEIVESTAD T., TRETTLI S. & FLATMARK A., 1988c, Aluminium accumulation and immunosuppressive effect in recipients of kidney transplants, Br. Med. J., 297, 1581-1582.
- NORDAL K.P., DAHL E., SORHUS K., BERG K.J., THOMASSEN Y., KOFSTAD J. & HALSE J., 1988a, Gastrointestinal absorption and urinary excretion of aluminium in patients with predialysis chronic renal failure, Pharmacol. Toxicol., 63, 351-354.
- NORDAL K.P., DAHL E., THOMASSEN Y., BRODWALL E.K. & HALSE J., 1988b, Seasonal variations in serum aluminum concentrations, Pharmacol. Toxicol., 62, 80-83.
- NOSTRANDT A.C., SHAFER T.J., MUNDY W.R. & PADILLA S., 1996, Inhibition of rat brain phosphatidylinositol-specific phospholipase C by aluminum: regional differences, interactions with aluminum salts, and mechanisms, Toxicol. Appl. Pharm., 136, 118-125.
- OCTIVE J.C., WOOD M. & JOHNSON A.C., 1991, Mutagenic effects of aluminum, Mutat. Res., 264, 135-137.

- OGOSHI K., YANAGI S., MORIYAMA T. & ARACHI H., 1994, Accumulation of aluminum in cancers of the liver, stomach, duodenum and mammary glands of rats, J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis., **8**, 27-31.
- O'HARA R.W. & BROWN J.M., 1967, Comparison of the carcinogenic actions of subcutaneous implants of iron and aluminium in rodents, J. Natl. Cancer Inst., **38**, 947-957.
- OHMAN L.O. & MARTIN R.B., 1994, Citrate as the main small molecule binding Al³⁺ in serum, Clin. Chem., **40**, 598-601.
- OKADA Y., IRINAJIRI A. & INOUE A., 1977, Electrical properties and active solute transport in rat small intestine, J. Membr. Biol., **31**, 221-232.
- ONDREICKA R., GINTER E. & KORTUS J., 1966, Chronic toxicity of aluminum in rats and mice and its effects on phosphorus metabolism, Brit. J. Ind. Med., **23**, 305-312.
- OPPENHEIM W.L., NAMBA R., GOODMAN W.G. & SALUSKY I.B., 1989, Aluminum toxicity complicating renal osteodystrophy - A case report, J. Bone. Joint Surg.(USA), **71**, 446-452.
- OTEIZA P.I., 1994, A mechanism for the stimulatory effect of aluminum on iron-induced lipid peroxidation, Arch. Biochem. Biophys., **308**, 374-379.
- OTEIZA P.I., FRAGA C.G. & KEEN C.L., 1993, Aluminum has both oxidant and antioxidant effects in mouse brain membranes, Arch. Biochem. Biophys., **300**, 517-521.
- OTT S.M., MALONEY N.A., KLEIN G.L., ALFREY A.C., AMENT M.E., COBURN J.W. & SHERRARD D.J., 1983, Aluminum is associated with low bone formation in patients receiving chronic parenteral nutrition, Ann. Intern. Med., **98**, 910-914.
- OTT S.M., FEIST E., ANDRESS D.L., LUI C.C., SHERRARD D.J., ALFREY A.C., SLATOPOLSKY E. & HOWARD G.A., 1987, Development and reversibility of aluminum-induced bone lesion in the rat, J. Lab. Clin. Med., **109**, 40-47.
- OTT S.M., MALONEY N.A., COBURN J.W., ALFREY A.C. & SHERRARD D.J., 1982, The prevalence of bone aluminum deposition in renal osteodystrophy and its relation to the response to calcitrol therapy, N. Engl. J. Med., **307**, 709-713.
- OUGHTON D.H., SALBU B. & BJORNSTAD H.E., 1992, Use of an aluminium-26 tracer to study the deposition of aluminium species on fish gills following mixing of limed and acidic waters, Analyst, **117**, 619-621.
- OWEN L.M.W., CREWS H.M., BISHOP N.J. & MASSEY R.C., 1994, Aluminum uptake from some foods by guinea pigs and the characterization of aluminium in "in vivo" intestinal digesta by SEC-ICP-MS", Fd. Chem. Toxic., **32**, 697-705.
- OWEN L.M.W., CREWS H.M., MASSEY R.C. & BISHOP N.J., 1995, Determination of copper, zinc and aluminium from dietary sources in the femur, brain and kidney of guinea pigs and a study of some elements in in vivo intestinal digesta by size-exclusion chromatography inductively coupled plasma mass spectrometry, Analyst, **120**, 705-712.
- OWNBY J.D. & POPHAM H.R., 1990, Citrate reverses the inhibition of wheat root growth caused by aluminum, J. Plant. Physiol., **135**, 588-591.
- PAGANO G., HIS E., BEIRAS R., DE BIASE A., KORKINA L.G., IACCARINO M., ORAL R., QUINIOU F., WARNAU M. & TRIEFF N.M., 1996, Cytogenetic, developmental, and biochemical effects of aluminum, iron, and their mixture in sea urchins and mussels, Arch. Environ. Contam. Toxicol., **31**, 466-474.

- PAI S.M. & MELETHIL S., 1989, Kinetics of aluminum in rats I: dose-dependent elimination from blood after intravenous administration, J. Pharm. Sci., **78**, 200-202.
- PAILLER F.M., BEQUET D., CORBE H. & GUIDICELLI C.P., 1995, L'aluminium, cause hypothétique de la maladie d'alzheimer, Presse Méd., **24**, 489-490.
- PARISIEN M., CHARHON S.A., ARLOT M., MAINETTI E., CHAVASSIEUX P., CHAPUY M.C. & MEUNIER P.J., 1988, Evidence for a toxic effect of aluminum on osteoblasts: a histomorphometric study in hemodialysis patients with aplastic bone disease, J. Bone Miner. Res., **3**, 259-267.
- PARKER D.R., KINRAIDE T.B. & ZELAZNY L.W., 1989, On the phytotoxicity of polynuclear hydroxy-aluminum complexes, Soil Sci. Soc. Am. J., **53**, 789-796.
- PARKINSON I.S., WARD M.K. & KERR D.N., 1981, Dialysis encephalopathy, bone disease and anaemia: the aluminium intoxication syndrome during regular haemodialysis, J. Clin. Pathol., **34**, 1285-1294.
- PARKINSON I.S., WARD M.K. & KERR D.N.S., 1982, A method for the routine determination of aluminium in serum and water by flameless atomic absorption spectrometry, Clin. Chim. Acta, **125**, 125-133.
- PARRY R., PLOWMAN D., DELVES H.T., ROBERTS N.B., BIRCHALL J.D., BELLIA J.P., DAVENPORT A., AHMAD R., FAHAL I. & ALTMANN P., 1998, Silicon and aluminium interactions in haemodialysis patients, Nephrol. Dial. Transpl., **13**, 1759-1762.
- PARTRIDGE N.A., REGNIER F.E., WHITE J.L. & HEM S.L., 1989, Influence of dietary constituents on intestinal absorption of aluminum, Kidney Int., **35**, 1413-1417.
- PEGON Y., 1978, Dosage de l'aluminium dans les liquides biologiques par absorption atomique sans flamme, Anal. Chim. Acta, **101**, 385-391.
- PENNINGTON J.A.T., 1987, Aluminium content of foods and diets, Food Addit. Contam., **5**, 161-232.
- PENNINGTON J.A.T. & SCHOEN S.A., 1995, Estimates of dietary exposure to aluminium, Food Addit. Contam., **12**, 119-128.
- PERAZZOLO M., FONTANA L., FAVARATO M., CORAIN B., BOMBI G.G., TAPPORO A., NICOLINI M., CORVAJA C. & ZATTA P., 1990, Effects of aluminium (III) on plasmatic membranes, In: Metal Ions in Biology and Medicine, 326-328, Collery P., Poirier L.A., MANFAIT M., Etienne J.C. (Eds.), John Libbey Eurotext, Paris.
- PEREIRO GARCIA M.R., DIAZ GARCIA M.E. & SANZ-MEDEL A., 1990, Spectrofluorimetric optosensing of aluminium in a flow injection system: determination of aluminium in dialysis fluids and concentrates, Analyst, **115**, 575-579.
- PERL D.P. & BRODY A.R., 1980, Alzheimer's disease: X-ray spectrometric evidence of aluminum accumulation in neurofibrillary tangle-bearing neurons, Science, **208**, 297-299.
- PERL D.P. & GOOD P.F., 1988, Aluminum, environment and central nervous system disease, Environ. Technol. Letters, **9**, 901-906.
- PERL D.P., GAJDUSEK D.C. & GARRUTO R.M., 1982, Intraneuronal aluminum accumulation in amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonism dementia of Guam, Science, **217**, 1053-1054.

- PERRIN B. & CERTAIN B., 1984, L'aluminium dans les liquides de préparations pharmaceutiques, in C.R. Symposium « Aluminium et Insuffisance Rénale – III », 33-61, Paris, 25-26 mai 1984.
- PERRY E.K., GIBSON P.H., BLESSED G., PERRY E.K. & TOMLINSON B.E., 1977, Neurotransmitter enzyme abnormalities in senile dementia-choline-acetyltransferase and glutamic acid decarboxylase activities in necropsy brain tissue, J. Neurol. Sci., 34, 247-265.
- PERRY S.T., KULKARNI S.B., LEE K.L. & KENNEY F.T., 1982, Selective effect of the metalcarcinogen beryllium on hormonal regulation of gene expression in cultures cells, Cancer Res., 42, 473-476.
- PERRY T.L., YONG V.W., KISH S.J., ITO M., FOULKS J.G., GODOLPHIN W.J. & SWEENEY V.P., 1983, Neurochemical abnormalities in brains of renal failure patients treated by repeated hemodialysis, J. Neurochem., 45, 1043-1048.
- PETIOT J., POSTAIRE E., PROGNON P. & HAMON M., 1983, Dosage par spectrométrie d'absorption atomique des traces d'aluminium contenues dans les solutés pour hémodialyse ou hémofiltration, Ann. Pharm. Fr., 41, 229-237.
- PETTERSSON S. & STRID H., 1989a, Effects of aluminium on growth and kinetics of K⁺(⁸⁶Rb) uptake in two cultivars of wheat (*triticum aestivum*) with different sensitivity to aluminium, Physiologia Plantarum, 76, 255-261.
- PETTERSSON S. & STRID H., 1989b, Initial uptake of aluminium in relation to temperature and phosphorus status of wheat (*Triticum aestivum* L.) roots, J. Plant Physiol., 134, 672-677.
- PHANUPHAK P., KHAOPLOD P., SRIWANTHANA B., PHANPANICH T., WONGURAI S. & ROUMIUNTZEFF M., 1989, Immunoenhancement with combined rabies and aluminum-adsorbed tetanus vaccines, Vaccine, 7, 249-252.
- PHELPS K.R., VIGORITA V.J., BANSAL M. & EINHORN T.A., 1988, Histochemical demonstration of iron but not aluminum in a case of dialysis-associated osteomalacia, Am. J. Med., 84, 775-780.
- PHILIBERT J., VIGNES A., BRECHET Y. & COMBRADE P., 1998, Métallurgie de l'aluminium, in Métallurgie, du minerai au matériau, chapitre 11, 181-198, Masson, Paris.
- PIA MULLER J. & BRUININK A., 1994, Neurotoxic effects of aluminum on embryonic chick brain cells, Acta Neuropathol., 88, 359-366.
- PICCOLI A., ANDRIANI M., MATTIELO G., NORDIO M., MODENA F. & DALLA ROSA C., 1989, Serum aluminum level in the veneto chronic haemodialysis population: cross-sectional study on 1,026 patients, Nephron, 51, 482-490.
- PIERRE F., BARUTHIO F., DIEBOLD F. & BIETTE P., 1995, Effect of different exposure compounds on urinary kinetics of aluminium and fluoride in industrially exposed workers, Occup. Environ. Med., 52, 396-403.
- PIGOTT R. & ISHMAEL J., 1981, An assessment of the fibrogenic potential of two refractory fibers by intraperitoneal ingestion in rats, Toxicol. Lett., 8, 153-163.
- PLATEK F., RANIERI N. & WOLNIK K.A., 1997, A false report of product tampering involving a rodent and soft drink can: light microscopy, image analysis and scanning electron microscopy/energy dispersive X-ray analysis, J. Forensic. Sci., 42, 1171-1175.
- PLATT B. & BÜSSELBERG D., 1994a, Combined actions of Pb²⁺, Zn²⁺, and Al³⁺ on voltage-activated calcium channel currents, Cell. Mol. Neurobiol., 14, 831-840.

- PLATT B. & BÜSSELBERG D., 1994b, Actions of aluminum on voltage-activated calcium channel currents, Cell. Mol. Neurobiol., **14**, 819-828.
- PLATT B., HAAS H. & BÜSSELBERG D., 1993, Extracellular pH modulates aluminium-blockage of mammalian voltage-activated calcium channel currents, Neuropharmacol. Neurotoxicol., **4**, 1251-1254.
- PLATT B., HAAS H. & BÜSSELBERG D., 1994, Aluminium reduces glutamate-activated currents of rat hippocampal neurones, Neuroreport., **5**, 2329-2332.
- PLATTS H.M., GOODE G.C. & HISLOPE J.S., 1977, Composition of the domestic water supply and the incidence of fractures and encephalopathy in patients on home dialysis, Brit. Med. J., **2**, 657-660.
- PLAYLE R.C., GOSS G.G. & WOOD C.M., 1989, Physiological disturbances in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) during acid and aluminum exposures in soft water of two calcium concentrations, Can. J. Zool., **67**, 314-324.
- POULSEN L.K. & WEEKE B., 1985, Aluminum hydroxide absorbed allergens used in modified RAST, Allergy, **40**, 405-416.
- POWELL J.J., AINLEY C.C., EVANS R. & THOMPSON R.P., 1994, Intestinal perfusion of dietary levels of aluminium: Association with the mucosa, Gut., **35**, 1053-1057.
- POWELL J.J., GREENFIELD S.M., PARKES H.G., NICHOLSON J.K. & THOMPSON R.P., 1993, Gastro-intestinal availability of aluminium from tea, Food Chem. Toxicol., **31**, 449-454.
- POYNARD T., KLEPPING C., AUDIGIER J.C., BARTHELEMY C., BEL A., DELMONT J., FOURNET J., GAUCHER P. & RACHAIL M., 1990, Randomized double-blind clinical trial of aluminum phosphate versus ranitidine in the acute treatment of duodenal ulcer, Digestion, **47**, 105-110.
- PRIEST N.D., NEWTON D., DAY J.P., TALBOT R.J. & WARNER A.J., 1995, Human metabolism of aluminium-26 and gallium-67 injected as citrates, Hum. Exp. Toxicol., **14**, 287-293.
- PRIEST N.D., TALBOT R.J., NEWTON D., DAY J.P., KING S.J. & FIFIELD L.K., 1998, Uptake by man of aluminium in a public water supply, Hum. Exp. Toxicol., **17**, 296-301.
- PROVAN S.D. & YOKEL R.A., 1988a, Influence of calcium on aluminum accumulation by the rat jejunal slice, Res. Commun. Chem. Pathol. Pharm., **59**, 79-92.
- PROVAN S.D. & YOKEL R.A., 1988b, Aluminum uptake by the in situ rat gut preparation, J. Pharmacol. Exp. Ther., **245**, 928-931.
- PROVAN S.D. & YOKEL R.A., 1990, Reduced intestinal calcium and dietary calcium intake, increased aluminum absorption, and tissue concentration in the rat, Biol. Trace Elem. Res., **23**, 119-132.
- PUN K.K., HO P.W.M. & LAU P., 1990, Effects of aluminum on the parathyroid hormone receptors of bone and kidney, Kidney Int., **37**, 72-78.
- PURVES L.R., PURVES M., LINTON N., BRANDT W., JOHNSON G. & JACOBS P., 1988, Properties of the transferrin associated with rat intestinal mucosa, Biochem. Biophys. Acta, **966**, 318-327.

- QUARTLEY B., ESSELMONT G., TAYLOR A. & DOBROTA M., 1993, Effect of oral aluminium citrate on short-term tissue distribution of aluminium, Food Chem. Toxicol., **31**, 543-548.
- QUINTINA C., OLMEDILLA A., ANTOINE N. & OLLACARIZQUETA A., 1987, The occurrence of metals Al, Fe, Ni, Cu, Zn in the nuclei of animal cells: an ultrastructural, in situ, X-ray microanalytical study, Biol. Cell, **61**, 115-119.
- RADIC N., 1976, Determination of nanomole amounts of aluminium by use of a fluoride ion-selective electrode, Analyst, **101**, 657-660.
- RADUNOVIC A., UEDA F., RAJA K.B., SIMPSON R.J., TEMPLAR J., KING S.J., LILLEY J.S., DAY J.P. & BRADBURY M.W., 1997, Uptake of 26-Al and 67-Ga into brain and other tissues of normal and hypotransferrinaemic mice, Biometals, **10**, 185-191.
- RANDALL L.C., CARDON J.J., SPRAGUE S., KEISER J., MAYOR G.H. & RECH R.H., 1982, Behavioral changes in rats after chronic aluminium and parathyroid hormone administration, Neurobehav. Toxicol. Teratol., **4**, 403-410.
- RANDALL M.E., 1983, Aluminum toxicity in an infant not on dialysis, Lancet. I, 1327-1328.
- READER J.P. & MORRIS R., 1988, Effects of aluminium and pH on calcium fluxes, and effects of cadmium and manganese on calcium and sodium fluxes in brown trout (*Salmo trutta L.*), Comp. Biochem. Physiol., **91**, 449-457.
- RECKER R.R., BLOTCKY A.J., LEFFLER J.A. & RACK E.P., 1977, Evidence for aluminum absorption from the gastrointestinal tract and bone deposition by aluminum carbonate ingestion with normal renal function, J. Lab. Clin. Med., **90**, 810-815.
- REDDY G.S. & SRINIVASAN V.A., 1997, Performance of aluminium hydroxide gel and oil adjuvant rabies vaccines in bovines, Zentralbl. Bakteriol., **286**, 523-526.
- REDHEAD K., QUINLAN G.J., DAS R.G. & GUTTERIDGE J.M.C., 1992, Aluminium-adjuvanted vaccines transiently increase aluminium levels in murine brain tissue, Pharmacol. Toxicol., **70**, 278-280.
- RENNER K.A. & HOWARD J.B., 1996, Aluminum fluoride inhibition of nitrogenase: Stabilization of a nucleotide -Fe-protein -MoFe -protein complex, Biochemistry, **35**, 5353-5358.
- REUSCH G., 1961, Kasnitischer Beitrag zum Problem der Aluminiumlunge, Dtsch. Med. Wochenschrift., **86**, 525-528.
- REUSCHE E. & SEYDEL U., 1993, Dialysis-associated encephalopathy: light and electron microscopic morphology and topography with evidence of aluminum by laser microprobe mass analysis, Acta Neuropathol., **86**, 249-258.
- REUSCHE E., GREKE P., KRUGER S., ROHWER J., LINDNER B. & ROB P.M., 1999, A long-term organic brain syndrome and brain stem symptoms in an undiagnosed dialysis-associated encephalopathy, Dtsch. Med. Wochenschr., **124**, 176-181.
- REYNOLDS A.F., OJEMANN G.A. & WARD A.A., 1975, Intracellular recording during focal hyperthermia of penicillin and alumina experimental epileptic foci, Exp. Neurol., **46**, 583-604.
- RICHMOND J., STREHLOW C.D. & CHALKLEY S.R., 1993, Dietary intake of Al, Ca, Cu, Fe, Pb, and Zn in infants, Brit. J. Biomed. Sci., **50**, 178-186.

- RIEDERER P., SOFIC E., RAUSCH W.D., SCHMIDT B., REYNOLDS G.P., JELLINGER K. & YODIM M.B.H., 1989, Transitions metals, ferritin, glutathione and ascorbic acid in Parkinsonian brains, J. Neurochem., 52, 515-520.
- RIFAT S.L., EASTWOOD M.R. & CRAPPER D.R., 1990, Effect of exposure of miners to aluminum powder, Lancet, 336, 1162-1165.
- ROBERTS E., 1986, Alzheimer's disease may begin in the nose and may be caused by aluminosilicates, Neurobiol. Aging, 7, 561-567.
- ROBERTS N.B. & WILLAMS P., 1988, Serum aluminum measurements by DC plasma emission spectrometry, Ann. Clin. Biochem., 25, 169-175.
- RODGER R.S.C., MURALIKRISHNA G.S., HALLS D.J., HENDERSON J.B., FORREST J.A., Mc DOUGALL A.I. & FELL G.S., 1991, Ranitidine suppresses aluminium absorption in man, Clin. Sci., 80, 505-508.
- ROGERS M.A. & SIMON D.G., 1999, A preliminary study of dietary aluminium intake and risk of Alzheimer's disease, Age Ageing, 28, 205-209.
- RÖLLIN H.B., THEODOROU P. & KILROE-SMITH T.A., 1991, The effect of exposure to aluminium on concentrations of essential metals in serum of foundry workers, Brit. J. Ind. Med., 48, 243-246.
- RÖLLIN H.B., THEODOROU P. & CANTRELL A.C., 1996, Biological indicators of exposure to total and respirable aluminium dust fractions in a primary aluminium smelter, Occup. Environ. Med., 53, 417-421.
- ROSA I.V., HENRY P.R. & AMMERMAN C.B., 1982, Interrelationships of dietary phosphorus, aluminum and iron on performance and tissue mineral composition in lambs, J. Anim. Sci., 55, 1231-1240.
- ROSENLOF K., FYHRQUIST F. & TENHUNEN R., 1990, Erythropoietin, aluminum and anaemia in patients on haemodialysis, Lancet, 335, 247-249.
- ROSSOR M.N., EMSON P.C., MOUNTJOY C.Q., ROTH M. & IVERSEN L.L., 1980., amounts of immunoreactive somatostatin in the temporal cortex in senile dementia of Alzheimer type, Neurosci. Lett., 20, 373-377.
- ROSSOR M.N., GARRET N.J., JOHNSON A.L., MOUNTJOY C.Q., ROTH M. & IVERSEN L.L., 1982, A post mortem study of the cholinergic and GABA systems in senile dementia, Brain, 105, 313-330.
- ROTTEMBOURG J., GALLEGUO J.L., JAUDON M.C., CLAVEL J.P. & LEGRAIN M., 1984, Serum concentration and peritoneal transfer of aluminum during treatment by continuous ambulatory peritoneal dialysis, Kidney Int., 25, 919-924.
- ROVELLI E., LUCIANI L., PAGANI C., ALBONICO C., COLLEONI N., & D'AMICO G., 1988, Correlation between serum aluminum concentration and signs encephalopathy in a large population of patients dialyzed with aluminum-free fluids, Clin. Nephrol., 29, 294-298.
- RUFTY T.W., Mc KOWN C.T., LAZOF D.B. & CARTER T.E., 1995, Effects of aluminium on nitrate uptake and assimilation, Plant Cell Environ., 18, 1325-1331.
- RUTHERFORD W.E., BORDIER P., MARIE P., HRUSKA K., HARTEH H., GREENWALT A., BLONDIN J., HADDAD J., BRICKER N. & SLATOPOLSKY E., 1977, Phosphate control and 25-hydroxycholecalciferol administration in preventing experimental renal osteodystrophy in the dog, J. Clin. Invest., 60, 332-341.

- SABOURAUD D., CHATEL M., MENAULT F., DIEN PERON J., CARTIER F., GARRE M., GARY J. & PECKER S., 1978, L'encéphalopathie myoclonique progressive des dialysés, Rev. Neurol., **134**, 574-602.
- SAHIN G., AYDIN A., ISIMER A., ÖZALP I. & DURU S., 1995a, Aluminum content of infant formulas used in Turkey, Biol. Trace Elem. Res., **50**, 87-95.
- SAHIN G., TASKIN T., BENLI K. & DURU S., 1995, Impairment of motor coordination in mice after ingestion of aluminum chloride, Biol. Trace Elem. Res., **50**, 79-85.
- SAHIN G., VAROL I., TEMIZER A., BENLI K., DEMIRDAMAR R. & DURU S., 1994, Determination of aluminum levels in the kidney, liver, and brain of mice treated with aluminum hydroxide, Biol. Trace Elem. Res., **41**, 129-135.
- SAKANASHI BROWN T. & SCHWARTZ R., 1992, Aluminum accumulation in serum liver and spleen of Fe-depleted and Fe-adequate rats, Biol. Trace Elem. Res., **34**, 1-10.
- SAKHAE K., RUM L., PADALINO P., 1996, The lack of influence of long-term potassium citrate and calcium citrate treatment in total body aluminum burden in patients with functioning kidneys, J. Am. Coll. Nutr., **15**, 102-106.
- SALAZAR-GUTIERREZ M.M., WHITE J.L. & HEM S.L., 1988, Controlling the degree of dispersion of aluminium hydroxide suspensions by adsorption of ionic solutes, Drug Dev. Ind. Pharm., **14**, 1495-1516.
- SALIB E. & HILLIER V., 1996, A case-control study of Alzheimer's disease and aluminium occupation, Brit. J. Psychiat., **168**, 244-249.
- SALINAS F., MUNOZ DE LA PENA A. & DURAN M.S., 1988, Determination of aluminium with 8-hydroxyquinoline-5-sulfonic acid in presence of a cationic surfactant by first and second derivative synchronous fluorimetry, Anal. Lett., **21**, 1457-1468.
- SALUSKY I.B., FOLEY J., NELSON P. & GOODMAN W.G., 1991, Aluminum accumulation during treatment with aluminum hydroxide and dialysis in children and young adults with chronic renal disease, N. Engl. J. Med., **324**, 527-531.
- SALUSKY I.B., COBURN J.W., NELSON P. & GOODMAN W.G., 1990, Prospective evaluation of aluminum loading from formula in infants with uremia, J. Pediatrics, **116**, 726-729.
- SALUSKY I.B., COBURN J.W., PAUNIER L., SHERRARD D.J. & FINE R.N., 1984, Role of aluminum hydroxide in raising serum aluminum levels in children undergoing continuous ambulatory peritoneal dialysis, J. Pediat., **105**, 717-720.
- SAN L.N., UYSAL H., GOKBEL H., BEDIZ C.S. & SAYAL A., 1998, Pulmonary function of workers in the aluminum industry, Am. J. Ind. Med., **33**, 305-307.
- SANCHEZ ROJAS F., GARCIA DE TORRES A., BOSCH OJEDA C. & CANO PAVON J.M., 1988, N-(3-hydroxy-2-pyridyl)salicylaldehyde as a reagent for the selective fluorimetric determination of aluminium in waters, Analyst, **113**, 1287-1290.
- SANTOS F., MASSIE M.D. & CHAN J.C.M., 1986, Risk factors in aluminum toxicity in children with chronic renal failure, Nephron, **42**, 189-195.
- SARIN S., GUPTA V. & GILL K.D., 1997, Alterations in lipid composition and neuronal injury in primates following chronic aluminium exposure, Biol. Trace Elem. Res., **59**, 133-143.

- SASAKI M., YAMAMOTO Y. & MATSUMOTO H., 1996, Lignin deposition induced by aluminum in wheat (*Triticum aestivum*) roots, Physiol. Plantarum, **96**, 193-198.
- SAVORY J., BROWN S., BERTHOLF R.L. MENDOZA N. & WILLS M.R., 1988, Aluminum Methods Enzymol., **158**, 289-301.
- SAVORY J., EXLEY C., FORBES W.F., HUANG Y., JOSHI J.G., KRUCK T., Mc LACHLAN D.R.C. & WAKAYAMA I., 1996, Can the controversy of the role of aluminum in Alzheimer's disease be resolved? What are the suggested approaches to this controversy and methodological issues to be considered ?, J. Toxicol. Env. Health, **48**, 615-635.
- SAVORY J., NICHOLSON J.R. & WILLS M.R., 1987, Is aluminium leaching enhanced by fluoride?, Nature, **327**, 107-108.
- SAVORY J. & WILLS M.R., 1984, Dialysis fluids as a source of aluminum accumulation, Contr. Nephrol., **38**, 12-23.
- SAYER M.D., READER J.P., DALZIEL T.R. & MORRIS R., 1991, Mineral content and blood parameters of dying brown trout (*Salmo trutta* L.) exposed to acid and aluminum in soft water, Comp. Biochem. Physiol., **99**, 345-348.
- SCHAAPER R.M., KOPLITZ R.M., TKESKELASHVILI L.K. & LOEB L.A., 1987, Metal-induced lethality and mutagenesis: possible role of apurinic intermediates, Mutat. Res., **177**, 179-188.
- SCHANKER L.S., SHORE P.A., BRODIE B.B. & HOGBEN C.A., 1957, Absorption of drugs from the stomach. I. The rat, J. Pharmacol. Exp. Ther., **120**, 528-539.
- SCHLATTER C., STEINEGGER A., RICKENBACHER U., HANS C. & LENGYEL A., 1990, Aluminium levels in blood plasma of persons working in the aluminium industry, Environ. Geochem. Health, **12**, 59-64.
- SCHEUHAMMER A.M., 1987, The chronic toxicity of aluminium ,cadmium, mercury and lead in birds: a review, Environ. Pollution, **46**, 263-295.
- SCHINDLER D.W., 1988, Effects of acid rain on freshwater ecosystems, Science, **239**, 149-157.
- SCHMIDT P.F., BARCKHAUS R. & WINTERBERG B., 1990, Localization of toxic ions in tissues by a laser microprobe mass analyser LAMMA 500., In Metal Ions Biology and Medicine, 192-195, Coltery P., Poirier L.A., Manfait M., Etienne J.C. (Eds.), J. Libbey Eurotext, Paris.
- SCHNEIDER H., KULBE K.D., WEBER H. & STREICHER E., 1985, Aluminum-free oral phosphate binder, Clin. Nephrol., **24**, S98-S102.
- SCHNEIDER H., KULBE K.D., WEBER H. & STREICHER E., 1984, Aluminum-free intestinal phosphate binding, Contr. Nephrol., **38**, 32-36.
- SCHONHOLZER K.W., SUTTON R.A., WALKER V.R., SOSSI V., SCHULZER M., ORVIG C., VENCZEL E., JOHNSON R.R., VETTERLI D., DITTRICH-HANNEN B., KUBIK P. & SUTER M. , 1997, Intestinal absorption of trace amounts of aluminium in rats studied with ²⁶aluminium and accelerator mass spectrometry, Clin. Sci., **92**, 379-383.
- SCHROEDER T.M. & CASPERS M.L., 1996, Kinetics of aluminum-induced inhibition of d-aminolevulinic acid dehydratase in vitro, Biochem. Pharmacol., **52**, 927-931.
- SCHÜTZE K., HENTSCHEL E., HAPPONEN P. & AKKILA J., 1995, Sucrafate effervescent tablet: treatment of peptic ulcer disease and change in serum aluminium concentration, Hepato-Gastroenterol., **42**, 240-245.

- SCHWARZ Y., KIVITY S., FISCHBEIN A., ABRAHAM J.L., FIREMAN E., MOSHE S., DANNON Y., TOPILSKY M. & GREIF J., 1998, Evaluation of workers exposed to dust containing hard metals and aluminum oxide, Am. J. Ind. Med., 34, 177-182.
- SCHWARZ Y.A., KIVITY S., FISCHBEIN A., RIBAK Y., FIREMAN E., STRUHAR D., TOPILSKY M. & GREIF J., 1994, Eosinophilic lung reaction to aluminium and hard metal, Chest., 105, 1261-1263.
- SCOTT C.W., FIELES A., SYGOWSKI L.A. & CAPUTO C.B., 1993, Aggregation of tau-protein by aluminum, Brain Res., 628, 77-84.
- SEDMAN A.B., KLEIN G.L., MERRITT R.J., MILLER N.L., WEBBER K.O., GILL W.L., ARNAND H. & ALFREY A.C., 1985, Evidence of aluminum loading in infants receiving intravenous therapy, N. Engl. J. Med., 312, 1337-1343.
- SEDMAN A.B., MILLER N.L., WARADY B.A., LUM G.M. & ALFREY A.C., 1984a, Aluminum loading in children with chronic renal failure, Kidney Int., 26, 201-204.
- SEDMAN A.B., WILKENING G.N., WARADY B.A., LUM G.M. & ALFREY A.C., 1984b, Encephalopathy in childhood secondary to aluminum toxicity, J. Pediatr., 105, 836-838.
- SEGUIN J.H.F., 1956, Etude concernant les taux d'alcoolémie et leur interprétation chez un certain nombre d'accidentés de la circulation, Docteur en Médecine, Bordeaux, 93 pages.
- SEIBOLD M., 1960, Die kombinierte verwendung von ionenaustauschern z,r vorbehandlung des serums bei der aluminiumbestimmung mit eriochromcyanin-R.Z, Anal. Chem., 173, 388.
- SEUX R., 1984, Influence des facteurs physico-chimiques sur la teneur en aluminium de l'eau destinée aux bains de dialyse, I C.R. Symposium Aluminium et insuffisance rénale - III - Paris, 25-26 mai 1984, 21-31.
- SEVERSON A.R., HAUT C.F., FIRLING C.E. & HUNTLEY T.E., 1992, Influence of short-term aluminum exposure on demineralized bone matrix induced bone formation, Arch. Toxicol., 66, 706-712.
- SHABIK P & HARTWELL J.L., 1969, Survey on compounds which have been tested for carcinogenic activity, US Public Health Service Publication, 149, 3-4.
- SHAFER T.J. & MUNDY W.R., 1995, Effects of aluminum on neuronal signal transduction: mechanisms underlying disruption of phosphoinositide hydrolysis, Gen. Pharmacol., 26, 889-895.
- SHAINKIN-KESTENBAUM R., ADLER A.J., BERLYNE G.M. & CARUSO C., 1989, Effect of aluminum on superoxide dismutase, Clin. Sci., 77, 463-466.
- SHANN J.R. & BERTSCH P.M., 1993, Differential cultivar response to polynuclear hydroxyaluminum complexes, Soil Sci. Soc. Am. J., 57, 116-120.
- SHEA T.B. & BEERMANN M.L., 1994, Multiple interactions of aluminum with neurofilament subunits: regulation by phosphate-dependent interactions between C-terminal extensions of the high and middle molecular weight subunits, J. Neurosci. Res., 38, 160-166.
- SHEA T.B., BEERMANN M.L. & NIXON R.A., 1995a, Aluminum treatment of intact neuroblastoma cells alters neurofilament subunit phosphorylation, solubility, and proteolysis, Mol. Chem. Neuropathol., 26, 1-11.

- SHEA T.B., BEERMANN M.L. & WANG F.S., 1995b, Relative susceptibility of cytoskeleton-associated and soluble neurofilament subunits to aluminum exposure in intact cells. A possible mechanism for reduction of neurofilament axonal transport during aluminum neurotoxicity, Mol. Chem. Neuropathol., **24**, 203-219.
- SHELLEY W.B. & HURLEY H.J., 1980, Anhydrous formulation of aluminum chloride for chronic folliculitis, JAMA- J. Am. Med. Assn., **244**, 1956-1957.
- SHERRARD D., 1991, Aluminium: much a do about something, N. Engl. J. Med., **324**, 558-559.
- SHIRODKAR S., HUTCHINSON R.L., PERRY D.L., WHITE J.L. & HEM S.L., 1990, Aluminum compounds used as adjuvants in vaccines, Pharmaceut. Res., **7**, 1282-1288.
- SHORT A.I.K., WINNEY R.J. & ROBSON J.S., 1980, Reversible microcytic hypochromic anaemia in dialysis patients due to aluminum intoxication, Proc. Eur. Dial. Transplant. Assoc., **17**, 226-233.
- SHORTLE W.C. & SMITH K.T., 1988, Aluminum-induced calcium deficiency syndrome in declining red spruce, Science, **240**, 1017-1018.
- SIEGEL N. & HAUG A., 1983, Aluminum interaction with calmodulin. Evidence for altered structure and function from optical and enzymatic studies, Biochim. Biophys. Acta, **744**, 36-45.
- SIEGEL N., COUGHLIN R. & HAUG A., 1983, A thermodynamic and electron paramagnetic resonance study of structural changes in calmodulin induced by aluminium binding, Biochem. Biophys. Res. Commun., **115**, 512-517.
- SIEGEL N., SUHAYDA C. & HAUG A., 1982, Aluminium changes the conformation of calmodulin, Physiol. Chem. Physics., **14**, 210-212.
- SIM M., DICK R., RUSSO J., BERNARD B., GRUBB P., KRIEG E., MUELLER C. & McCAMMON C., 1997, Are aluminium potroom workers at increased risk of neurological disorders?, Occup. Environ. Med., **54**, 229-235
- SIMON P., ANG K.S., TANQUEREL T., ALLAIN P. & MAURAS Y., 1982, Surcharge tissulaire en aluminium chez les hémodialysés. Test à la desferrioxamine, La Nouvelle Presse Médicale, **11**, 209.
- SIMPSON A.M., HATTON W. & BROCKBANK M., 1988, Aluminum, its use and control in potable water, Environ. Technol. Lett., **9**, 907-916.
- SINGH H.P., SINGH C.K. & SINGH R.R., 1998, Effect of potash alum (aluminium potassium sulphate) on human semen and sperm, Indian J. Physiol. Pharmacol., **42**, 311-314.
- SINGH S., SINGH D., WIG N., JIT I. & SHARMA B.K., 1996, Aluminum phosphide ingestion - a clinico-pathologic study, Clin. Toxicol., **34**, 703-706.
- SIROVER M.A. & LOEB L.A., 1976, Infidelity of DNA synthesis in vitro: screening for potential metal mutagens or carcinogens, Science, **194**, 1434-1436.
- SJÖGREN B. & ELINDER C.G., 1992, Proposal of a dose-response relationship between aluminium welding fume exposure and effect on the central nervous system, Med. Lav., **83**, 484-488.
- SJÖGREN B., ELINDER C.G., LIDUMS V. & CHANG G., 1988, Uptake and urinary excretion of aluminum among welders, Int. Arch. Occup. Envir. Health, **60**, 77-79.

- SJÖGREN B., IREGREN A., FRECH W., HAGMAN M., JOHANSSON L., TESARZ M. & WENNERBERG A., 1996, Effects on the nervous system among welders exposed to aluminium and manganese, Occup. Environ. Med., **53**, 32-40.
- SJÖGREN B., LIDUMS V., HAKANSSON M. & HEDSTROM L., 1985, Exposure and urinary excretion of aluminum during welding, Scand. J. Work Envir. Health, **11**, 39-43.
- SJÖGREN B., LUNDBERG I. & LIDUMS V., 1983, Aluminum in the blood and urine of industrially exposed workers, Brit. J. Ind. Med., **40**, 301-304.
- SKALSKY H.L. & CARCHMAN R.A., 1983, Aluminum homeostasis in man, J. Amer. Coll. Toxicol., **2**, 405-423.
- SLANINA P., FALKEBORN Y., FRECH W. & CEDERGREN A., 1984, Aluminium concentrations in the brain and the bone of rats fed citric acid, aluminium citrate or aluminium hydroxyde, Food Chem. Toxicol., **22**, 391-397.
- SLANINA P., FRECH W., BERNHARSON A. & CEDERGREN A., 1985, Influence of dietary factors on aluminium absorption and retention in the brain and bone of rats, Acta Pharmacol. Toxicol., **56**, 331-336.
- SLANINA P., FRECH W., EKSTROM L.G., LOOF L., SLORACH S. & CEDERGREN A., 1986, Dietary citric acid enhances absorption of aluminum in antacids, Clin. Chem., **32**, 539-541.
- SLASKI J.J., 1989, Effect of aluminium on calmodulin-dependent and calmodulin-independent NAD kinase activity in wheat (*triticum aestivum* L.) root tips, J. Plant Physiol., **133**, 696-701.
- SMEYERS-VERBEKE J. & VERBEELEN D., 1985, Determination of aluminum in bone by atomic absorption spectroscopy, Clin. Chem., **31**, 1172-1174.
- SMEYERS-VERBEKE J. & VERBEELEN D., 1988, Determination of aluminum in dialysate concentrates by L'vov platform graphite furnace atomic absorption spectrometry, Anal. Chem., **60**, 380-383.
- SMEYERS-VERBEKE J., VERBEELEN D. & MASSART D.L., 1980, The determination of aluminum in biological fluids by means of graphite furnace atomic absorption spectrometry, Clin. Chim. Acta, **108**, 67-73.
- SMITH D.B., JAMES A.L., BURKS J.S. & ALFREY A.C., 1980, Dialysis encephalopathy in peritoneal dialysis, J. Amer. Med. Assoc., **244**, 365-366.
- SNYDER J.W., SERRONI A., SAVORY J. & FARBER J.L., 1995, The absence of extracellular calcium potentiates the killing of cultured hepatocytes by aluminum maltolate, Arch. Biochem. Biophys., **316**, 434-442.
- SIROVER M.A. & LOEB L.A., 1976, Infidelity of DNA synthesis in vitro: screening for potential metal mutagens or carcinogens, Science, **194**, 1434-1436.
- SOMOVA L.I., MISSANKOV A. & KHAN M.S., 1997, Chronic aluminum intoxication in rats: dose-dependent morphological changes, Methods Find Exp. Clin. Pharmacol., **19**, 599-604.
- SORENSON J.R.J., CAMPBELL I.R., TEPPER L.B. & LINGG R.D., 1974, Aluminum in the environment and human health, Environ. Health Perspect., **8**, 3-95.
- SOYSETH V., KONGERUD J., BOE J. & FONNELAND T., 1992, Bronchial responsiveness and work-related asthma in aluminium potroom workers: effect of removal from exposure, Eur. Respir. J., **5**, 829-833.

- SPENCER A.J., WOOD J.A., SAUNDERS H.C., FREEMAN M.S. & LOTE C.J., 1995, Aluminium deposition in liver and kidney following acute intravenous administration of aluminium chloride or citrate in conscious rats, Hum. Exp. Toxicol., **14**, 787-794.
- SPENCER H. & LENDER M., 1979, Adverse effects of aluminium containing antacids on mineral metabolism, Gastroenterology, **76**, 603-606.
- SPENCER H., KRAMER L., NORRIS C. & OSIS P., 1982, Effect of small doses of aluminum - containing antacids on calcium and phosphorus metabolism, Am. J. Clin. Nutr., **36**, 32-40.
- SPENCER H., KRAMER L., NORRIS C. & WIATROWSKI E., 1980, Effect of aluminum hydroxide on fluoride metabolism, Clin. Pharmacol. Ther., **28**, 529-535.
- SPENCER H., KRAMER L., NORRIS C. & WIATROWSKI E., 1981, Effect of aluminum hydroxide on plasma fluoride and fluoride excretion during a high fluoride intake in nem, Toxicol. Appl. Pharmacol., **56**, 140-144
- SPRAGUE S.M., KRIEGER N.S. & BUSHINSKY D.A., 1993, Aluminum inhibits bone nodule formation and calcification in vitro, Am. J. Phys. (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 33), **264**, 882-890.
- SRINIVASAN P.T., VIRAGHAVAN T. & SUBRAMANIAN K.S., 1999, Aluminum in drinking water: An overview, Water S.A. (Pretoria), **25**, 47-55.
- STANTON M.F., 1974, Fiber carcinogenesis: is asbestos the only hazard?, J. Natl. Cancer Inst., **52**, 633-634.
- STARKEY B.J., 1987, Aluminium in renal disease: current knowledge and future developments, Ann. Clin. Biochem., **24**, 337-344.
- STOCKHAUSEN H.B., SCHROD L., BRATTER P. & ROSICK U., 1990, Aluminium loading in premature infants during intensive care as related to clinical aspects, J. Tr. Elem. Elect. Health Dis., **4**, 209-213.
- STOKES P.M., BAILEY R.C. & ROULX G.R., 1985, Effects of acidification on metal availability to aquatic biota, with special reference to filamentous algae, Environ. Health Perspect., **63**, 79-87.
- STRONG M.J., 1994, Aluminum neurotoxicity: an experimental approach to the induction of neurofilamentous inclusions, J. Neurol. Sci., **124**, 20-26.
- STRONG M.J. & JAKOWEC D.M., 1994, 200kDa and 160kDa neurofilament protein phosphatase resistance following in vivo aluminum chloride exposure, Neurotoxicology, **15**, 799-808.
- STUMM W. & MORGAN J.J., 1981, Aquatic chemistry, Wiley J. & sons, New York.
- SUGAWARA C., SUGAWARA N., IKEDA N., OKAWA H., OKAZAKI T., OTAKI J., TAGUCHI K., YOKOKAWA K. & MIYAKE H., 1987, Effects of ingested 4000 ppm aluminum on the essential metals, especially zinc, in intact and ethanol treated mice, Drug and Chem. Toxicol., **10**, 195-207.
- SULLIVAN D.M., KEHOE D.F. & SMITH R.L., 1987, Measurement of trace levels of total aluminium in foods by atomic absorption spectrophotometry, J. Assoc. Off. Anal. Chem., **70**, 118-120.

- SULLIVAN T.J., DRISCOLL C.T., GHERINI S.A., MUNSON R.K., COOK R.B., CHARLES D.F. & YATSKO C.P., 1989, Influence of aqueous aluminium and organic acids on measurement of acid neutralizing capacity in surface waters, Nature, **338**, 408-410.
- SULLIVAN D.M., KEHOE D.F. & SMITH R.L., 1987, Measurement of trace levels of total aluminium in foods by atomic absorption spectrophotometry, J. Assoc. Off. Anal. Chem., **70**, 118-120.
- SUTHERLAND J.E. & GREGER J.L., 1998, Effect of the size of an oral dose aluminium on the relative importance of biliary v. urinary aluminium excretion in conscious rats, Food Chem. Toxicol., **36**, 505-512.
- SUTHERLAND J.E., RADZANOWSKI G.M. & GREGER J.L., 1996, Bile is an important route of elimination of ingested aluminum by conscious male Sprague-Dawley rats, Toxicology, **109**, 101-109.
- SUZUKI M., HIRASAWA Y. & TANIZAWA T., 1995, Silent and progressing accumulation of aluminum in bone without definite histological osteomalacic aspects in chronic hemodialysis patients, Clin. Nephrol., **44**, S51-S55.
- SWAIN C. & CHAINY G.B., 1997, Aluminum effect on lipid peroxidation and on the activities of superoxide dismutase and catalase in the cerebral hemisphere and liver of young chicks, J. Trace Elem. Med. Biol., **11**, 77-82.
- SWEENEY V.P., PERRY T.L., PRICE J.D., REEVE C.E., GODOLPHIN W.J. & KISH S.J., 1985, Brain d-aminobutyric acid deficiency in dialysis encephalopathy, Neurology, **35**, 180-184.
- SZCZEKOCKI W. & CHMIELEWSKI J., 1978, Indices of the occupational exposure to aluminum oxide dusts, Bull. Inst. Marit. Trop. Med. Gdynia, **29**, 37-42.
- TAKEDA M., NISHIMURA T., KUDO T., TANIMUKAI S., GOTOW T., TANABE H., MIKI T., NAKAMURA Y., NIIGAWA H., MORITA H., TANAKA T., TATEBAYASHI Y. & TADA K., 1991, Characterization of intracytoplasmic neurofilament accumulation in hamster brain caused by Alzheimer buffy coat inoculation: comparison with experimental neurofibrillary changes produced by aluminum intoxication, Gerontol., **37**, 31-42.
- TALBOT R.J., NEWTON D., PRIEST N.D., AUSTIN J.G. & DAY J.P., 1995, Inter-subject variability in the metabolism of aluminium following intravenous injection as citrate, Human. Exp. Toxicol., **14**, 595-599.
- TAM S.C. & Mc COLL J.G., 1990, Aluminum and calcium binding affinities of some organic ligands in acidic conditions, J. Environ. Qual., **19**, 514-520.
- TANG S., MacCOLL R. & PARSONS P.J., 1995, Spectroscopic study of the interaction of aluminum ions with human transferrin, J. Inorg. Biochem., **60**, 175-185.
- TAPPARO A., SOLDA L., BOMBI G.G., ZAMBENEDETTI P., ZATTA P.F., BERTANI R. & CORAIN B., 1995, Analytical validation of a general protocol for the preparation of dose-controlled solutions in aluminium toxicology, Analyst, **120**, 2425-2429.
- TARTRAI E., ADAMS Z., TIMAR M. & UNGVARY G., 1983 Comparative histopathological and biochemical analysis of early stages of exposure to non-silicogenic aluminium silicate and strongly silicogenic quartz-dust in rats, Exp. Pathol., **23**, 163-171.
- TAYLOR A. & WALKER A.W., 1992, Measurement of aluminium in clinical samples, Ann. Clin. Biochem., **29**, 377-389.

- TAYLOR G.A., MOORE P.B., FERRIER N., TYRER S.P. & EDWARDSON J.A., 1998, Gastrointestinal absorption of aluminium and citrate in man, J. Inorg. Biochem., 69, 165-169.
- TENNAKONE K. & WICKRAMANAYAKE, 1987, Aluminium leaching from cooking utensils, Nature, 235, 202.
- TERRY R.D., 1982, Brain disease in aging, especially senile dementia, In Aging and the Brain, 18, 47-59, Terry R.D. (Ed.), Raven Press, New-York.
- TIELEMANS C., COLLART F., WENS R., SMEYERS-VERBECKE J., VAN HOOF I., DRATURA M. & VERBEELEN D., 1985, Improvement of anaemia with deferoxamine in haemodialysis patients with aluminum-induced bone disease, Clin. Nephrol., 24, 237-241.
- TIPTON I.H., STEWART P.L. & MARTIN P.G., 1966, Trace elements in diets and excreta, Health Phys., 12, 1683-1689.
- TOKUTAKE S., NAGASE H., MORISAKI S. & OYANAGI S., 1995, Aluminium detected in senile plaques and neurofibrillary tangles is contained in lipofuscin granules with silicon, probably as aluminosilicate, Neurosci. Lett., 185, 99-102.
- TOTH S.J., 1968, Metallic elements in inland waterways, J. Amer. Water Works Assoc., 60, 455.
- TRAPP G.A., 1980, Studies of aluminium interactions with enzymes and proteins. The inhibition of hexokinase, Neurotoxicology, 1, 89.
- TRAPP G.A., 1983, Plasma aluminium is bound to transferrin, Life Sci., 33, 311-316.
- TRAPP G.A., 1986, Interactions of aluminium with cofactors, enzymes and other proteins, Kidney Int., 29, 12-16.
- TRAPP G.A., MINER G.D., ZIMMERMAN R.L., MASTRI A.R. & HESTON L.L., 1978, Aluminum levels in brain in Alzheimer's disease, Biol. Psychiat., 13, 709-718.
- TRONCOSO J.C., HOFFMAN P.N., GRIFFIN J.W., HESS-KOZLOW K.W. & PRICE D.L., 1985, Aluminum intoxication : a disorder of neurofilament transport in motor neurons, Brain Res., 342, 172-175.
- TRONCOSO J.C., MARCH J.L., HANER M. & AEBI U., 1990, Effect of aluminum and other multivalent cations on neurofilaments in vitro : an electron microscopic study, J. Struct. Biol., 103, 2-12.
- TRUCHET M., 1976, Mise en évidence, par microsonde électronique et par microanalyse ionique, de localisations naturelles d'aluminium dans les noyaux de divers types cellulaires, C.R. Acad. Sci. Ser., 282, 1785-1788.
- TSOU V.M., YOUNG R.M., HART M.H. & VANDERHOOF J.A., 1991, Elevated plasma aluminum levels in normal infants receiving antacids containing aluminum, Pediatrics, 87, 148-151.
- TZOURIO C., ALPEROVITCH A., MACCARIO J. & DARTIGUES J., 1991, Is dementia of the Alzheimer type a purely genetic illness? A modelling approach, Neuroepidemiology, 10, 288-296.
- UCHIDA H. & NAGAI M., 1997, Intakes and health effects of aluminum. Is aluminum a risk factor Alzheimer's disease?, Nippon Koshu Eisei Zasshi, 44, 671-681.

- ULRICH B., MAYER R. & KHANNA P.K., 1979, Deposition von Luftverunreinigungen und ihre Auswirkungen in Waldökosystemen im Solling, Schriften aus der Forstlichen Fakultät der Universität Göttingen und der Niedersächsischen Forstlichen Versuchsanstalt, 58, 1-291.
- UNGVARY G., TIMAR M., TATRAL E., BACSY E. & GAAL G., 1983, Analysis of aluminium-silicate storage foci in the lungs, Exp. Pathol., 23, 203-214.
- VAN DER VOET G.B., 1992, Intestinal absorption of aluminum, in Symposium « Aluminium in Biology and Medicine », 109-122, London, 19-21 November, 1991, Chadwick D.J. & Whelan J. (Eds.), Wiley J. & sons, Chichester.
- VAN DER VOET G.B., VAN GINKEL M.F. & DE WOLFF F.A., 1989, Intestinal absorption of aluminum in rats: stimulation by citric acid and inhibition by dinitrophenol, Toxicol. Appl. Pharmacol., 99, 90-97.
- VAN DER VOET G.B. & DE WOLFF F.A., 1984, A method of studying the intestinal absorption of aluminum in the rat, Arch. Toxicol., 55, 168-172.
- VAN DER VOET G.B. & DE WOLFF F.A., 1985 a, Monitoring of aluminium in whole blood, plasma, serum and water by a single procedure using flameless atomic absorption spectrophotometry, J. Anal. Toxicol., 9, 97-100.
- VAN DER VOET G.B. & DE WOLFF F.A., 1985 b, Intestinal absorption of aluminium in rats, Arch. Toxicol., 8, S316-S318.
- VAN DER VOET G.B. & DE WOLFF F.A., 1986, Intestinal absorption of aluminum in rats: effects of intraluminal pH and aluminum concentration, J. Appl. Toxicol., 6, 37-41.
- VAN DER VOET G.B. & DE WOLFF F.A., 1987c, The effect of di-and trivalent iron on the intestinal absorption of aluminum in rats, Toxicol. Appl. Pharm., 90, 190-197.
- VAN DER VOET G.B. & DE WOLFF F.A., 1987a, Intestinal absorption of aluminium in rats: effect of sodium, Arch. Toxicol., 231-235.
- VAN GINKEL M.F., VAN DER VOET G.B. & DE WOLFF F.A., 1990a, Improved method of analysis for aluminum in brain tissue, Clin. Chem., 36, 658-661.
- VAN GINKEL M.F., VAN DER VOET G.B., VAN EIJK H.G. & DE WOLFF F.A., 1990b, Aluminium binding to serum constituents: a role for transferrin and for citrate, J. Clin. Chem. Clin. Biochem., 28, 459-463.
- VAN LANDEGHEM G.F., DE BROE M.E. & D'HAESE P.C., 1998b, Al and Si: their speciation, distribution, and toxicity, Clin. Biochem., 31, 385-397.
- VAN LANDEGHEM G.F., D'HAESE P.C., LAMBERTS L.V. & DE BROE M.E., 1997, Competition of iron and aluminum for transferrin: the molecular basis for aluminum deposition in iron-overloaded dialysis patients?, Exp. Nephrol., 5, 239-245.
- VAN LANDEGHEM G.F., D'HAESE P.C., LAMBERTS L.V., DJUKANOVIC L., PEJANOVIC S., GOODMAN W.G. & DE BROE M.E., 1998a, Low serum aluminum values in dialysis patients with increased bone aluminum levels, Clin. Nephrol., 50, 69-76.
- VANDEPUTTE D., VAN GRIEKEN R.E., JACOB W.A., SAVORY J., BERTHOLF R.L. & WILLS M.R., 1989, Ultrastructural localization of aluminum maltol-treated rabbits by laser microprobe mass analysis, Biomed. Environ. Mass Spectr., 18, 598-602.
- VARNER J.A., 1998, Chronic administration of Al-fluoride or Na-fluoride to rats in drinking water : alterations in neuronal and cerebrovascular integrity, Brain Res., 784, 284-298.

- VASSILEV T.L., 1978, Aluminum phosphate but not calcium phosphate stimulates the specific IgE response in guinea pigs to tetanus toxoid, Allergy, **33**, 155-159.
- VATIER J., 1988, Différentes propriétés des médicaments anti-acides. Pouvoir adsorbant de l'ion aluminium vis-à-vis des sels biliaires et des lysolécithines, La gazette médicale, suppl. 30, 21-23.
- VATIER J., LIONNET F. & VITRE M.T., 1987, Activité antiacide du cation aluminium : comparaison de l'effet de l'hydroxyde et du phosphate "in vitro" en systèmes fermés et ouverts, Gastroenterol. Clin. Biol., **11**, 758-763.
- VATIER J., VALLOT T. & MIGNON M., 1990, Plaidoyer pour l'usage des sels d'aluminium en thérapeutique gastroentérologique, Gastroenterol. Clin. Biol., **14**, 815-819.
- VELASCO M., VELASCO F. & FERIA-VELASCO A., 1976, Alumina cream-induced focal motor epilepsy in cats. Part 3. Ultrastructure of the epileptogenic focus, Arch. Invest. Med. (Mexique), **7**, 157-170.
- VERBEELEN D., SMEYERS-VERBEKE J., VAN HOFF I. & DE ROY G., 1988, The effect of desferrioxamine on tissue aluminum concentration and bone histology in aluminum-loaded rats with renal failure, J. Trace Elem. Electr. Health Dis., **2**, 67-72.
- VERBUEKEN A.H., VAN DE VYVER F.L., NOUWEN E.J., VAN GRIEKEN R.E. & DE BROE M.E., 1988, Localization of aluminum in tissues, Contr. Nephrol., **64**, 124-133.
- VERSTRAETEN S.V., GOLUB M.S., KEEN C.L. & OTEIZA P.I., 1997, Myelin is a preferential target of aluminum-mediated oxidative damage, Arch. Biochem. Biophys., **344**, 289-294.
- VIERSTRA R. & HAUG A., 1978, The effect of Al³⁺ on the physical properties of membrane lipids in thermoplasma acidophilum+, Biochem. Bioph. Res. Comm., **84**, 138-143.
- VOILQUIN J.P., 1988, Médecin généraliste et alcoologie, in Alcoologie, chapitre 37, Edition du département d'alcoologie thérapeutique, Riom Laboratoire-CERM, Riom, 4ème édition.
- VOISIN C., FISEKCI F., BUCLEZ B., DIDIER A., COUSTE B., BASTIEN F., BROCHARD P. & PAIRON J.C., 1996, Mineralogical analysis of the respiratory tract in aluminium oxide-exposed workers, Eur. Respir. J., **9**, 1874-1879.
- VON METZLER A., 1970, Über den Einfluss zentralwirkender Mittel auf Induktionstumoren bei der Ratte, Klin. Wochenschr., **48**, 693-694.
- VORBRODT A.W. ., DOBROGOWKA D.H. & LOSSINSKY A.S., 1994, Ultracytochemical studies of the effects of aluminum on the blood-brain barrier of mice, J. Histochem. Cytochem., **42**, 203-212.
- VYAD S.B. & DUFFY L.K., 1995, Interaction of synthetic Alzheimer B-protein- derived analogs with aqueous aluminum: A low-field 27 Al NMR investigation, J. Protein. Chem., **14**, 366-644.
- VYAS S.B. & DUFFY L.K., 1995, Stabilization of secondary structure of Alzheimer b-protein by aluminum (III) ions and D-Asp substitutions, Biochem. Bioph. Res. Comm., **206**, 718-723.
- WAGNER J.C., BERRY G. & TIMBRELL V., 1973, Mesotheliomata in rats after inoculation with asbestos and other materials, Br. J. Cancer., **28**, 173-185.

- WALDRON EDWARD D., CHAN P. & SKORYNA S.C., 1971, Increased prothrombin time and metabolic changes with high serum aluminium levels following long-term exposure to Bayer-process alumine, Can. Med. Assn. J., 105, 1297-1299.
- WALKER J.A., SHERMAN R.A. & CODY R.P., 1990, The effect of oral bases on enteral aluminum absorption, Arch. Intern. Med., 150, 2037-2039.
- WALKER J.A., SHERMAN R.A. & EISINGER R.P., 1985, Thrombocytopenia associated with intravenous desferrioxamine, Amer. J. Kidney Dis., 6, 254-256.
- WALKER P.R., LEBLANC J. & SIKORSKA M., 1989, Effects of aluminum and other cations on the structure of brain and liver chromatin, Biochemistry, 28, 3911-3915.
- WALLACE S.V. & ANDERSON I.C., 1984, Aluminium toxicity and DNA synthesis in wheat roots, Agron. J., 76, 5-8.
- WANG S.T., PIZZOLATO S. & DEMSHAR H.P., 1991, Aluminum levels in normal human serum and urine as determined by zeeman atomic absorption spectrometry, J. Anal. Toxicol., 15, 66-70.
- WARD M.K., ELLIS H.A., FEEST T.C., PARKINSON I.S., KERR D.N.S., HERRINTON J. & GOODE G.L., 1978, Osteomalacic dialysis osteodystrophy evidence for a water-bone aetiological agent, probably aluminium, Lancet, II, 841-845.
- WARING C.P. & BROWN J.A., 1995, Ionoregulatory and respiratory responses of brown trout, *Salmo trutta*, exposed to lethal and sublethal aluminium in acidic soft waters, Fish Physiol. Biochem., 14, 81-91.
- WEATHERLEY N.S., ROGERS A.P., GOENAGA X. & ORMEROD S.J., 1990, The survival of early life stages of brown trout (*Salmo trutta* L.) in relation to aluminum speciation in upland Welsh streams, Aquatic Toxicol., 17, 213-230.
- WEBERG R. & BERGSTAD A., 1986, Gastrointestinal absorption of aluminum from single doses of aluminum containing antacids in man, Eur. J. Clin. Invest., 16, 428-432.
- WEBERG R., BERSTOD A., LADEHAUG B. & THOMASSEN Y., 1985, Are aluminium containing antacids during pregnancy safe?, Acta Pharmacol. Toxicol., 59, 63-65.
- WEINTRAUB R., HAMS G., MEERKIN M. & ROSENBERG A.R., 1986, High aluminium content of infant milk formulas, Arch. Dis. Child., 61, 914-916.
- WENDELL G.D. & THURMAN R.G., 1979, Effect of ethanol concentration on rates of ethanol elimination in normal and alcohol-treated rats in vivo, Biochem. Pharmacol., 28, 273-279.
- WENK G.L. & STEMMER K.L., 1983, Suboptimal dietary zinc intake increases aluminum accumulation into the rat brain, Brain Res., 288, 393-395.
- WETTSTEIN A., AEPPLI J., GAUTSCHI K. & PETERS M., 1991, Failure to find a relationship between mnemonic skills of octogenarians and aluminum in drinking water, Int. Arch. Occup. Environ. Health, 63, 97-103.
- WHITE L.R., STEINEGGER A.F. & SCHLATTER C., 1987, Pulmonary response following intratracheal instillation of potroom dust from an aluminum reduction plant into rat lung, Environ. Res., 42, 534-545.
- WHITEHEAD M.W., FARRAR G., CHRISTIE G.L., BLAIR J.A., THOMPSON R.P. & POWELL J.J., 1997, Mechanisms of aluminum absorption in rat, Am. J. Clin. Nutr., 65, 1446-1452.

- WIDE M., 1984, Effect of short-term exposure to five industrial metals on the embryonic and fetal development of the mouse, Environ. Res., **33**, 47-53.
- WILHELM M. & OHNESORGE F.K., 1990, Influence of storage conditions on aluminum concentrations in serum, dialysis fluid, urine and tap water, J. Anal. Toxicol., **14**, 206-210.
- WILHELM M., JAEGER D.E., SCHULL-CABLITZ H., HAFNER D. & IDEL H., 1996, Hepatic clearance and retention of aluminium: studies in the isolated perfused rat liver, Toxicol. Lett., **89**, 257-263.
- WILHELM M., JAEGER D.E. & SCHULL-CABLITZ, 1996, Studies on the hepatic handling of aluminium in the isolated perfused rat liver, in Metal Ions in Biology and Medicine, 454-458, Collery P., Corbella J., Domingo J.L., Etienne J.C., Llobel J.M. (éds.), J. Libbey, Eurotext, Paris, 4th Ed.
- WILL F., 1961, Fluorimetric determination of aluminium in the part-per billion range, Anal. Chem., **33**, 1360-1363.
- WILLIAMS J.W., VERA S.R., PETERS T.G., LUTHER R.W., BHATTACHARYA S., SPEARS H., GRAHAM A., PITCOCK J.A. & CRAWFORD A.J., 1986, Biliary excretion of aluminum osteodystrophy with liver disease, Ann. Intern. Med., **104**, 782-783.
- WILLS M.R. & SAVORY J., 1983, Aluminum poisoning: dialysis encephalopathy, osteomalacia and anemia, Lancet, **II**, 29-33.
- WILLS M.R. & SAVORY J., 1985, Water content of aluminum, dialysis dementia, and osteomalacia, Environ. Health Pers., **63**, 141-147.
- WILLS M.R., HEWITT C.D., STURGILL B.C., SAVORY J. & HERMAN M.M., 1993, Long-term oral or intravenous aluminum administration in rabbits: I. Renal and hepatic changes, Ann. Clin. Lab. Sci., **23**, 1-16.
- WILSON F.A. & HOYUMPA A.M., 1979, Ethanol and small intestinal transport, Gastroenterology, **76**, 388-403.
- WINNEY R.J., COWLE J.F., CUMMING A.D., SHORT A.I., SMITH G.D. & ROBSON J.S., 1984., Epidemiology of aluminum toxicity in a "low incidence area", Contr. Nephrol., **38**, 47-58.
- WINTERBERG B., FISCHER R., KORTE R., ZUMKLEY H. & BERTRAM H.P., 1990, Bone lead, bone aluminium and renal insufficiency, In Metal Ions in Biology and Medicine, 332-335, Collery P., Poirier L.A., Manfait M., Etienne J.C. (éds.), John Libbey Eurotext, Paris.
- WISNIEWSKI H.M., SURTMAN J.A. & SHEK J.W., 1982, Chronic model of neurofibrillary changes induced in mature rabbits by metallic aluminum, Neurobiol. Aging, **3**, 11-22.
- WITTERS H.E., VAN PUymbROECK S., VAN DEN SANDE I., VANDERBORGHT O.L.J., 1990, Haematological disturbances and osmotic shifts in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) under acid and aluminium exposure, J. Comp. Physiol., **160**, 563-571.
- WONG P.C.L., LAI J.C.K., LIM L. & DAVISON A.N., 1981, Selective inhibition of L-glutamate and gammaaminobutyrate transport in nerve ending particles by aluminum, manganese and cadmium chloride, J. Inorg. Biochem., **14**, 253-260.
- WOODSON G.C., 1998, An interesting case of osteomalacia due to antacid use associated with stainable bone aluminum in a patient with normal renal function, Bone, **22**, 695-698.

- WU J., ZHOU C.Y., WONG M.K., LEE H.K. & ONG C.N., 1997, Urine levels of aluminum after drinking tea, Biol. Trace Elem. Res., 57, 271-280.
- WURTMAN R., 1985, La maladie d'Alzheimer, Pour la Science, 46-55.
- XIE C.X. & YOKEL R.A., 1996, Aluminum facilitation of iron-mediated lipid peroxidation is dependent on substrate, pH, and aluminum and iron concentrations, Arch. Biochem. Biophys., 327, 222-226.
- XU Z.X., FOX L., MELETHIL S., WINBERG L. & BADR M., 1990, Mechanism of aluminum-induced inhibition of hepatic glycolysis: inactivation of phosphofructokinase, J. Pharmacol. Exp. Ther., 254, 301-305.
- YANG M.S., WONG H.F. & YUNG K.L., 1998, Determination of endogenous trace metal contents in various mouse brain regions after prolonged oral administration of aluminum chloride, J. Toxicol. Environ. Health, 55, 445-453.
- YAO X.L., JENKINS E.C. & WISNIEWSKI H.M., 1994, Effect of aluminum chloride on mitogenesis, mitosis, and cell cycle in human short-term whole blood cultures: lower concentrations enhance mitosis, J. Cell. Biochem., 54, 473-477.
- YASE Y., 1980, The role of aluminum in CNS degeneration with interaction of calcium, Neurotoxicol., 1, 101-109.
- YASUI M. & OTA K., 1998, Aluminum decreases the magnesium concentration of spinal cord and trabecular bone in rats fed a low calcium, high aluminum diet, J. Neurol. Sci., 157, 37-41.
- YASUI M., KIHARA T. & OTA K., 1992, Calcium, magnesium and aluminum concentrations in Parkinson's disease, Neurotoxicol., 13, 593-600.
- YATES C.M., SIMPSON J., GORDON A., MALONEY A.J.F., ALLISON Y., RITCHIE I.M. & URQUHART A., 1983, Catecholamines and cholinergic enzymes in pre-senile and senile Alzheimer type dementia and Down's syndrome, Brain Res., 280, 119-126.
- YATES C.M., SIMPSON J., RUSSELL D. & GORDON A., 1980, Cholinergic enzymes in neurofibrillary degeneration produced by aluminum, Brain Res., 197, 269-274.
- YATES C.M., SIMPSON J., GORDON A. & CHRISTIE J.E., 1989, Cholinergic enzymes in the spinal cord in Alzheimer type dementia, J. Neural. Transm., 1, 311-315.
- YOKEL R.A., 1983, Persistent aluminum accumulation after prolonged systemic aluminum exposure, Biol. Trace Elem. Res., 5, 467-474.
- YOKEL R.A., 1985, Toxicity of gestational aluminum exposure to the maternal rabbit and offspring, Toxicol. Appl. Pharmacol., 79, 121-133.
- YOKEL R.A., 1989a, Aluminum produces age related behavioral toxicity in the rabbit, Neurotoxicol. Teratol., 11, 237-242.
-
- YOKEL R.A., 1989b, Benefit v.s. risk of oral aluminum forms : antacid and phosphate binding v.s. absorption, Drug Chem. Toxicol., 12, 277-286.
- YOKEL R.A., 1994, Aluminum chelation: chemistry, clinical and experimental studies and the search for alternatives to desferrioxamine, J. Toxicol. Environ. Health, 41, 131-174.
- YOKEL R.A. & Mc MANARA P.J., 1989, Elevated aluminum persists in serum and tissues of rabbits after a six-hour infusion, Toxicol. Appl. Pharmacol., 99, 133-138.

- YOKEL R.A. & Mc NAMARA P.J., 1988, Influence of renal impairment, chemical form and serum protein binding on intravenous and oral aluminum kinetics in the rabbit, Toxicol. Appl. Pharmacol., 95, 32-43.
- YOKEL R.A. & Mc NAMARA P.J., 1990, The influence of dietary calcium reduction on aluminum absorption and kinetics in the rabbit, Biol. Trace Elem. Res., 23, 109-117.
- YOKEL R.A., LIDUMS V. & UNGERSTEDT U., 1991b, Aluminum mobilization by desferrioxamine assessed by microdialysis of the blood, liver and brain, Toxicology, 66, 313-324.
- YOKEL R.A., LIDUMS V., Mc NAMARA P.J. & UNGERSTEDT U., 1991a, Aluminum distribution into the brain and liver of rats and rabbits following intravenous aluminum lactate or citrate: a microdialysis study, Toxicol. Appl. Pharmacol., 107, 153-163.
- YOSHIDA S., YANO I., WAKAYAMA I., MITANI K. & YASE Y., 1990, Morphometric analysis of neurodegenerative changes induced by low calcium-magnesium and excessive aluminum intake, Biomed. Res., 11, 11-18.
- YOSHIMASU F., YASUI M., YASE Y. & CHEN K.M., 1980, Studies on amyotrophic lateral sclerosis by neutron activation analysis, Folia Psychiatr. Neurol. Jpn., 34, 75-82.
- YOSHINO M., MURAKAMI K. & YAMADA Y., 1990, Reversal by polyamine of the aluminum-induced inhibition of hexokinase from human brain, Biomed. Res., 11, 215-218.
- YOUSON J.H., SARGENT P.A. & PEARCE G.W., 1989, Iron and aluminum deposition in the meninges of the lamprey: identification of an aluminum-ferritin inclusion body, Anat. Record, 223, 13-20.
- ZAPATERO M.D., GARCIA DE JALON A., PASCUAL F., CALVO M.L., ESCANERO J. & MARRO A., 1995, Serum aluminium levels in Alzheimer's disease and other senil dementias, Biol. Tr. Elem. Res., 47, 235-240.
- ZATTA P., FAVARA M. & NICOLINI M., 1993, Deposition of aluminium in brain tissues of rats exposed to inhalation of aluminium acetylacetonate, Neuroreport, 4, 1119-1122.
- ZATTA P., NICOSIA V. & ZAMBENEDETTI P., 1998, Evaluation of MAO activities on murine neuroblastoma cells upon acute or chronic treatment with aluminium (III) or tacrine, Neurochem. Int., 32, 273-279.
- ZATTA P., GIORDANO R., CORAIN B. & BOMBI G.G., 1988, Alzheimer dementia and the aluminum hypothesis, Medical Hypotheses, 26, 139-142.
- ZATTA P., PERAZZOLO M. & CORAIN B., 1989, Tris acetylacetonate aluminium(III) induces osmotic fragility and acanthocyte formation in suspended erythrocytes, Toxicol. Lett., 45, 15-21.
- ZATTA P., ZAMBENEDETTI P., BRUNA V. & FILIPPI B., 1994, Activation of acetylcholinesterase by aluminium(III): the relevance of the metal species, Neuroreport, 5, 1777-1780.
- ZATTA P., ZAMBENEDETTI P., PIZZIUTI A. & PERAZZOLO M., 1995, Different effects of aluminum upon carbonic anhydrases and Na⁺/K⁺-ATPase activities in rat, Neurosci. Lett., 197, 65-68.
- ZATTA P., ZAMBENEDETTI P., TOFFOLETTI A., CORVAJA C. & CORAIN B., 1997, Aluminum (III) induces alterations on the physical state of the erythrocytic membrane: an ESR evaluation, J. Inorg. Biochem., 65, 109-114.

ANNEXES

ANNEXE 1

COMPOSITION DE LA NOURRITURE (Croquettes et Poudre)

M 25	Analyse chimique	Supplémentation	Total
MINERAUX			g/kg
Calcium	7.5	5	12.5
Phosphore	6.7	2	8.7
Sodium	0.9	2.4	3.3
Potassium	8.3		8.3
Chlore	3		3
Magnésium	1.7	0.2	1.9
OLIGOELEMENTS			mg/kg
Manganèse	28	52.6	80.6
Zinc	47.7	11.7	59.4
Cuivre	11.5	8	19.5
Cobalt	0.2	1.2	1.4
Iode	1.2	0.8	2
Fer	220	8	228
Sélénium	0.18		0.18
ACIDES AMINES			g/kg
Arginine	13.8		13.8
Lysine	12.7		12.7
Méthionine	4.1	0.5	4.6
Méthio + Cystine	7.5		7.5
Tryptophane	2.7		2.7
Isoleucine	9.9		9.9
Phénylalanine	9.8		9.8
Thréonine	8.5		8.5
Valine	10.3		10.3
Histidine	5.1		5.1
VITAMINES			UI/kg
A	5500	15000	20500
D3		2000	2000
			mg/kg
E	15	26	41
K3	0.44	3	3.44
B1	6.7	15	21.7
B2	3.4	6	9.4
B5	12	15	27
B6	3.6		3.6
B12	0.02	0.045	0.065
PP	66	37.5	103.5
H	0.36		0.36
Acide folique	1.20		1.20
Choline	1020	1000	2020
Acide ascorbique			

©Copyright 1998 by Humana Press Inc.
All rights of any nature, whatsoever, reserved.
0163-4984/98/6401-3-0043 \$12.25

The Effects Of Aluminum, Iron, Chromium, and Yttrium on Rat Intestinal Smooth Muscle In Vitro

LISIANE CUNAT,¹ HERVE MEMBRE,² LUC MARCHAL,²
MARC CHAUSSIDON,³ AND DANIEL BURNEL^{1,*}

¹*Laboratoire de Chimie Générale Appliquée à la Médecine, Faculté de Médecine, Université Henri Poincaré, Nancy I, 9 avenue de la Forêt de Haye, B.P. 184, 54505 Vandoeuvre les Nancy Cedex, France;* ²*Laboratoire d'Histologie et de Microscopie Electronique, Faculté de Médecine, Université Henri Poincaré, Nancy I, 9 avenue de la Forêt de Haye, B.P. 184, 54505 Vandoeuvre les Nancy Cedex, France;* ³*Centre de Recherches Péetrographiques et Géochimiques—CNRS, 15 rue Notre Dame des Pauvres, B.P. 20, 54501 Vandoeuvre les Nancy Cedex, France*

Received November 6, 1996; Revised October 5, 1997;
Accepted September 6, 1997

ABSTRACT

The modification of peristaltic activity in the presence of several metal ions has been investigated in the rat intestine by the isolated organ technique. The metals tested modify the intestinal movements: aluminum, chromium, and yttrium cause a decrease of amplitude, while iron showed no effect. By use of microscopic techniques, the presence of yttrium hydroxide was observed in the intestinal tissues. Iron also appears as a precipitate outside of the intestinal serosal, which may explain why iron did not modify the peristaltism. Chromium and aluminum were not apparent to microscope, despite being detected and quantified in the tissues by means of atomic emission spectrometer. We conclude that the trivalent ions of these elements may operate differently on the mechanisms of intestinal contractions: yttrium precipitates in intercellular spaces, iron precipitates outside the intestines, and chromium and aluminum remain in

*Author to whom all correspondence and reprint requests should be addressed.

solution and are distributed homogeneously in the smooth intestinal muscle.

Index Entries: Aluminum; chromium; iron; yttrium; precipitate form; rat; intestinal smooth muscle; microscopic studies; atomic emission spectrometer.

INTRODUCTION

There is little information available regarding the factors that control and modulate the absorption of nonessential and potentially toxic trace elements from the gastrointestinal tract. One element of interest is aluminum, since orally administered aluminum compounds have been shown to be toxic, at least in individuals with compromised renal functions (1-3). Indeed, elevated levels of aluminum in brain and bone have been associated with several neurological diseases and osteodystrophic lesions in hemodialyzed uremic patients (4,5).

Attempts to characterize aluminum behavior in the gastrointestinal tract have been met with difficulties because a suitable isotope is not available, and aluminum compounds form insoluble hydroxides at a physiological pH (6), which makes the interpretation of *in vitro* studies difficult. It has been established that several factors influence the intestinal absorption of aluminum compounds including the solubility of the chemical species involved, complexation of Al (III) ions with compounds such as citrate and intraluminal pH (7,8). Other factors, like contact time between aluminum and villi of the mucosal surface, could affect aluminum absorption, since this residence period is directly related to intestinal movements.

Until now aluminum is an element that does not appear to play a known role in the normal function of biological systems. The present work was carried to characterize the influence of aluminum on the peristaltic activity in the mammalian gut. In addition to aluminum, a number of others ions—iron, chromium, and yttrium—have also been studied. These elements were chosen because they are all trivalent cations and their affinity constants for different molecules are relatively similar, so comparison of their behavior may help to establish their role on peristaltic movements in rats.

MATERIALS AND METHODS

Reagents

Sodium chloride (NaCl), aluminum trichloride (hexahydrate, $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), yttrium trichloride (hexahydrate, $\text{YCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), and tartaric acid ($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_6$) were obtained from Aldrich, France. Sodium hydroxide (NaOH), potassium chloride (KCl), magnesium chloride (hexahydrate,

MgCl₂·6H₂O) were obtained from Merck, France. All other chemicals were obtained from Prolabo, France. All solutions were made up in ultra-pure water that was obtained using a Millipore system, model Milli-Q.

Solution Preparation

The solution used for all experiments is known as Tyrode's solution. Its the composition is 137.0 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 1.0 mM MgCl₂, 1.5 CaCl₂, 0.4 mM NaH₂PO₄, 12.0 mM NaHCO₃, 5.5 mM C₆H₁₂O₆. The osmolarity of this solution was determined by freezing point depression on an Knauer osmometer model ML. It was 290 mOsm. The pH was measured at 7.3–7.4.

Solutions containing the metals studied were prepared by iso-osmotic replacement of NaCl from Tyrode. The incubation media were made of 11.1 mM C₄H₆O₆ and 7.4 mM AlCl₃ for aluminum-tartrate: 7.4 mM C₆H₅O₇Na₃ and (a) 7.4 mM FeCl₃ for iron (III)-citrate, (b) 7.4 mM CrCl₃ for chromium (III)-citrate, and (c) 7.4 mM YCl₃ for yttrium-citrate. The pH of these solutions was adjusted by addition of sodium hydroxide, maintaining the osmolarity was 310 mOsm.

Animals

Male Wistar rats, weighing between 200–280 g (Iffa-Credo, France) maintained with a standard laboratory diet (Extra-Labo, France) and tap water ad libitum, were used for this study. They were kept at 22–23°C with 12/12 lighting cycles.

Isolated Rat Intestine Technique

The animal was anesthetized with a single dose of intraperitoneal 90 mg/kg pentobarbital-sodium (Sanofi santé Animale, France). The proximal small intestine was exposed by a midline abdominal incision and the first 3 cm of the distal to the pyloric valve were dissected. The free tissue was immediately rinsed with iso-osmotic Tyrode's solution manually stripping the mesentery from the intestine.

The intestine was then tied with two ligatures around the ends. One end was mounted to the bath cavity and the other was connected to a isotonic transducer (Letica). The bath consisted of a hollow tube filled with 20 mL of Tyrode's solution at 37°C, aerated with a mixture of 95% oxygen—5% carbon dioxide as depicted in Fig. 1, where the solution and gas flows are indicated by arrows.

The intestinal fragment so fitted was stretched for 30 min at a tension of 1000 mg, and the contractions were registered with a force displacement transducer on a Tacussel recorder at a speed 30 mm/min. Taking this as a baseline, the Tyrode's solution was replaced with the isotonic solution containing the ion to be studied, and the effects on the peristaltic movements were again registered.

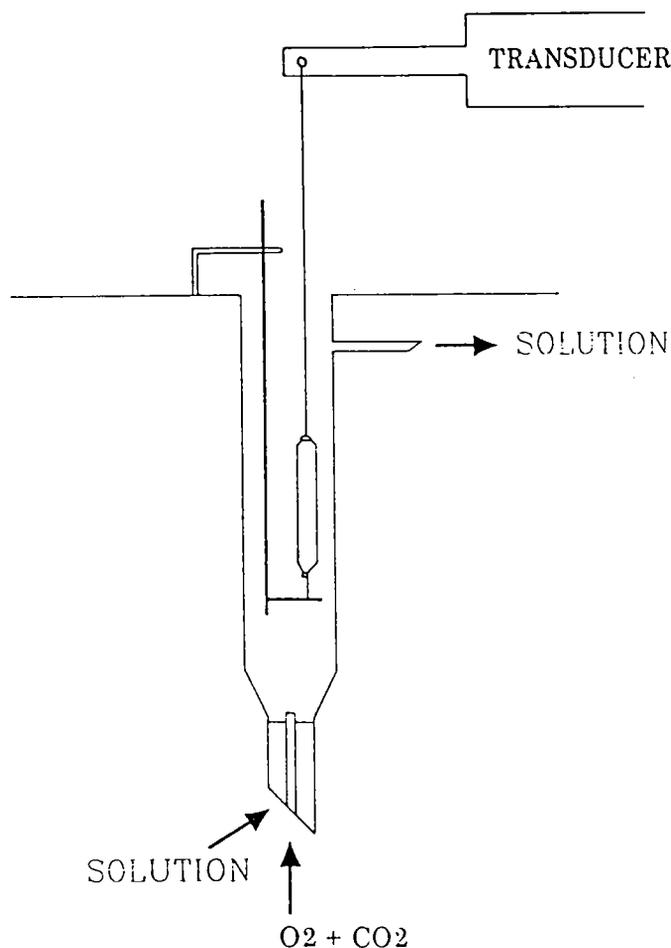


Fig. 1. Scheme of the apparatus used to measure intestinal contractions in a bath solution. Arrows indicate the direction of bath and gas mixture flows.

Metal Determinations

Ultrafiltration

Ultrafiltration was carried out by means of a Sartorius SM 13239 Centrisart 1 tube with a rupture mass of 10 kDa and a Labofuge 200 Heraeus centrifuge. Two millimeters of the solution containing the metal and Tyrode's solution were poured into each centrifuge tube and processed at about 3000 g for 30 min. Owing to the centrifugal force, the small upper tube tends to sink, forcing the liquid to pass through a selective mass membrane. This operation thus allows the liquid containing free metal or metal complexed to be collected in the upper tube. The metal contained in the ultrafiltrate is then assayed by an atomic emission spectrometer (AES), Spectra Span V, Beckman.

Acid Solutions

After the isolated organ experiment was performed, the intestinal tissues were treated with nitric acid (Suprapur, Merck) to dissolve all miner-

als. The acid solutions were used to establish the metal concentrations by AES before and after the sample was prepared for microscopic studies.

Microscopic Studies

For all microscopic studies, the intestinal sections were prepared as previously described for the isolated organ experiments.

X - ray Microanalysis

Transmission electron microscope. After the incubation time had elapsed, the tissue was recovered, cut into small pieces less than 1 mm on a side, and fixed in 2.5% glutaraldehyde buffered at pH 7.4 with cacodylate for 2 h. The pieces were then washed in the same buffer during twice in 1 h, postfixed in 1% osmium tetroxide, and dehydrated with ethanol. The sections were embedded in a mixture of epoxy resin (epikote 812), dodeceny succinic anhydrous (DDSA), methylnadic anhydrous (NMA), and tridimethylaminomethylphenol (DMP). Polymerization was achieved at 56°C. Sections were cut on a Reichert Ultracut ultramicrotome to a thickness of 100 nm. Histological sections were contrasted following standard procedures with uranyl acetate and Reynolds stain (9). The sections were then analyzed with an energy-dispersive X-ray microanalyzer (Edax PV 9800) attached to a Philips cm 12 transmission electron microscope.

Scanning electron microscope. The intestinal fragments were attached to aluminum stubs with their serosal side up and were coated with a 0.2-nm-thick layer of carbon. The different intestinal areas were then microanalyzed in a Cambridge stereoscan 250 electron microscope using a PGT X-ray energy dispersive spectrometer under a 30 kV accelerating voltage, a 600 pA beam current, and a 35° take-off angle. Spectra were recorded from areas of 12 μm^2 with a constant ionization size (depth: 2 μm). The microscope accelerating voltage, illumination, magnification, and focus were standardized and applied to three areas of each intestinal segment experimented.

Ion Microprobe

In the present study frozen tissues were used. The samples were obtained by immersion of pieces of the intestine in OCT solution followed by freezing in liquid nitrogen slush at -210°C . The 3- μm -thick sections were then obtained with a refrigerated microtome. The samples were coated with gold and trace amounts of metals were measured with a modified Cameca IMS 3F ion microprobe on thin sections of tissues with a 10 kV O^- primary beam, ranging in intensity from 1 to 20 nA and in diameter from 10 to 50 μm .

Statistical Analysis

Results are expressed as the mean \pm SD. The data were statistically analyzed using the Mann-Whitney's test or the Student's *t*-test. The significance level was set at $p < 0.05$ or $p < 0.01$.

RESULTS

Solution Speciation

The purpose of this study was to determine the extent of solution or precipitation of several trivalent ions in a bath containing isolated intestine segments. As shown in Fig. 2, the most of the metal remains in solution as either free- or complexed ions. In the presence of citrate, the extent of precipitation was always below to 10%: 0.5, 4.3, 8.6, and 9.3% for Cr, Fe, Al, and Y citrate solutions respectively. When other ligands like tartaric acid were used we observed an increase in the percentage of aluminum hydroxide formed. Indeed, aluminum hydroxide found was 9.3 and 23.7%, respectively, for the citrate and tartrate solutions. Aluminum and phosphorus precipitate and aluminum are not bioavailable in this form. With citrate, aluminum is in solution in complexed form and is available. The complexation with citrate is stronger than the precipitation with phosphorus.

Modification of Intestinal Contractions

When the metal under study was added to the Tyrode's solution, an increase in the osmolarity was observed from 290 mOsm, despite the replacement of one part of NaCl from Tyrode solution. However, this increase of 20 mOsm does not significantly affect the intestinal contractions. Fig. 3 shows a typical recording for the reference solution.

Aluminum, yttrium, chromium, and iron trivalent ions were chosen because of their similar charge and general chemical affinities. As seen in Table 1 and Fig. 4, the contractile activities were modified by the addition of these metals: the amplitudes decreased significantly corresponding to 73% reduction for aluminum citrate, 79% for chromium citrate and 87% for yttrium citrate (Mann-Whitney's test, $p \pm 0.01$). In contrast, yttrium increased the frequency of contractile activity about 39% (Mann-Whitney's test, $p \pm 0.01$). Aluminum citrate and chromium citrate did not significantly alter the frequency of reference solution. Iron citrate does not influence the small intestinal smooth muscle, neither in amplitude nor in frequency.

In order to establish whether the modification in the intestinal movements are actually due to the metal complex and not to the citrate, the isolated intestine experiment was repeated with aluminum tartrate. The peristaltic movements were also modified: the amplitude was decreased significantly by 59% (Mann-Whitney's test, $p \pm 0.01$), and the frequency remained unchanged. Using a control solution of sodium tartrate, no modifications of the intestinal contractions were observed (Table 2).

AES Determination of Metal in Intestinal Sections

For all treated groups, the metal concentrations were significantly different from those used as controls (Student's *t*-test, $p \pm 0.01$). Thus, we

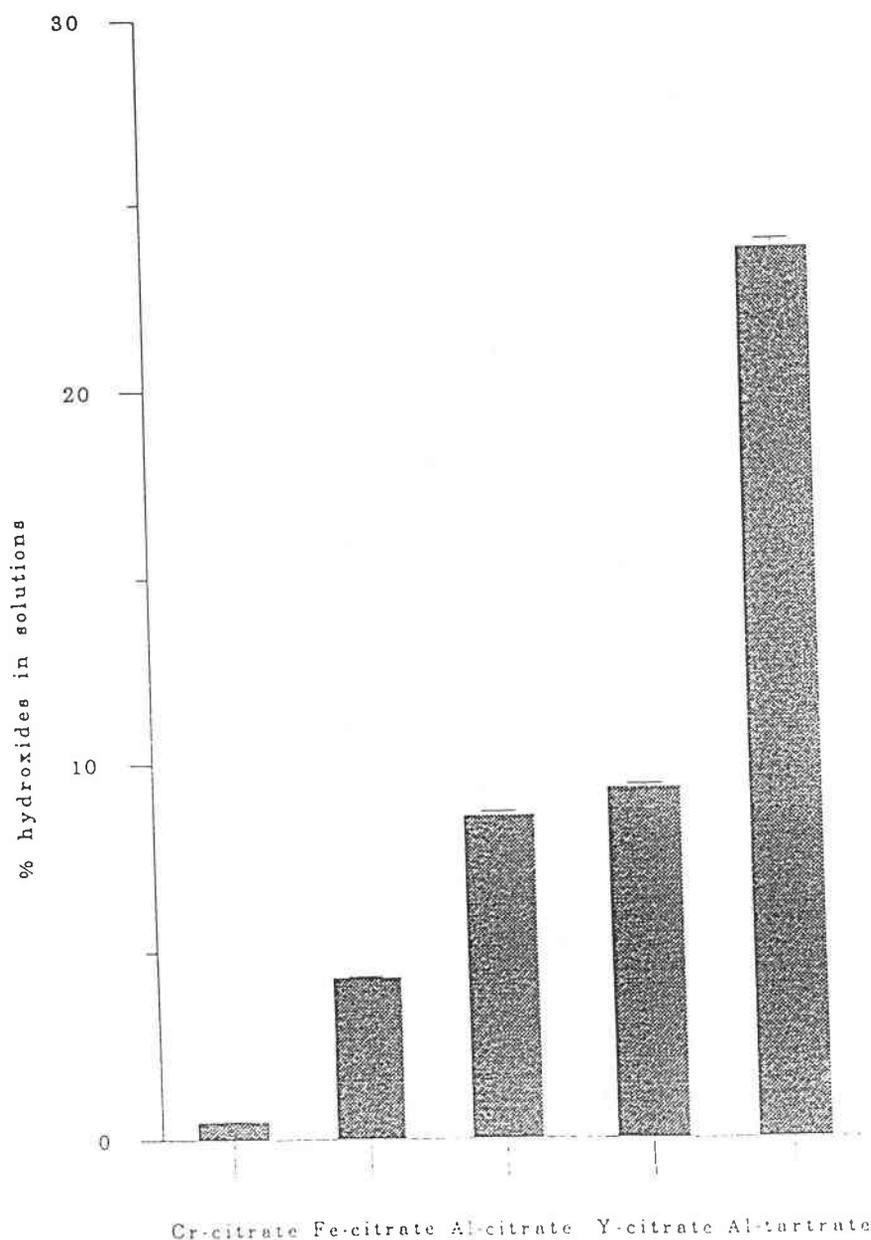


Fig. 2. Percentage of insoluble hydroxides in Tyrode's solution at pH 7.4 after ultrafiltration.

concluded that the different metals were present in intestinal tissues (Table 3a). We observed also that the aluminum concentration is greater in the case of aluminum tartrate than aluminum citrate, by a factor of about 3. Furthermore, when the first preparation stages for electron microscopy were carried out, we observed a decrease in the metal quantity contained in tissues (Table 3b). The leakage of metal was more important in the case of aluminum tartrate and aluminum citrate solutions, where the reduction was around 60% and 80% respectively. The extent of aluminum leaching for aluminum tartrate was about 25%. The smaller

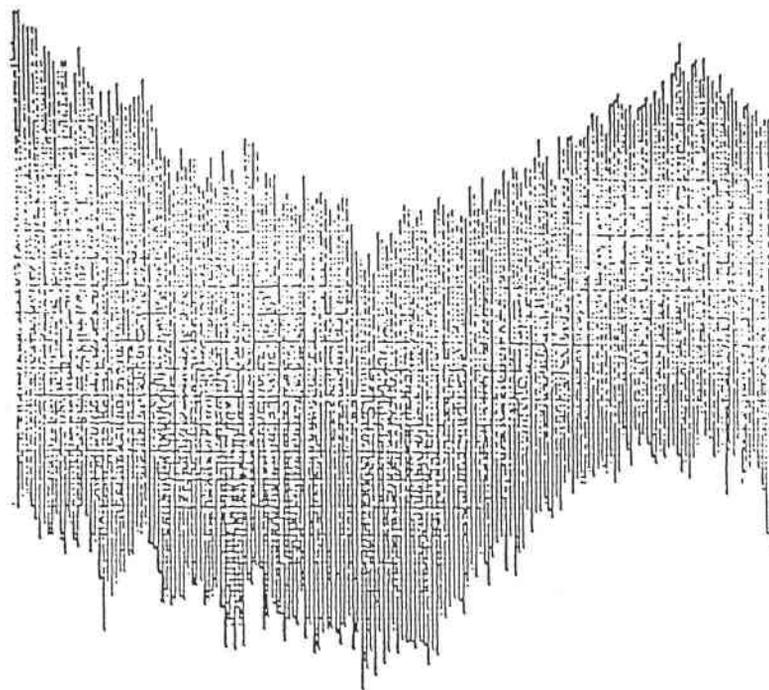


Fig. 3. Contractions of isolated rat intestine in Tyrode's solution with no other elements added. The recorder speed is 30 mm/min.

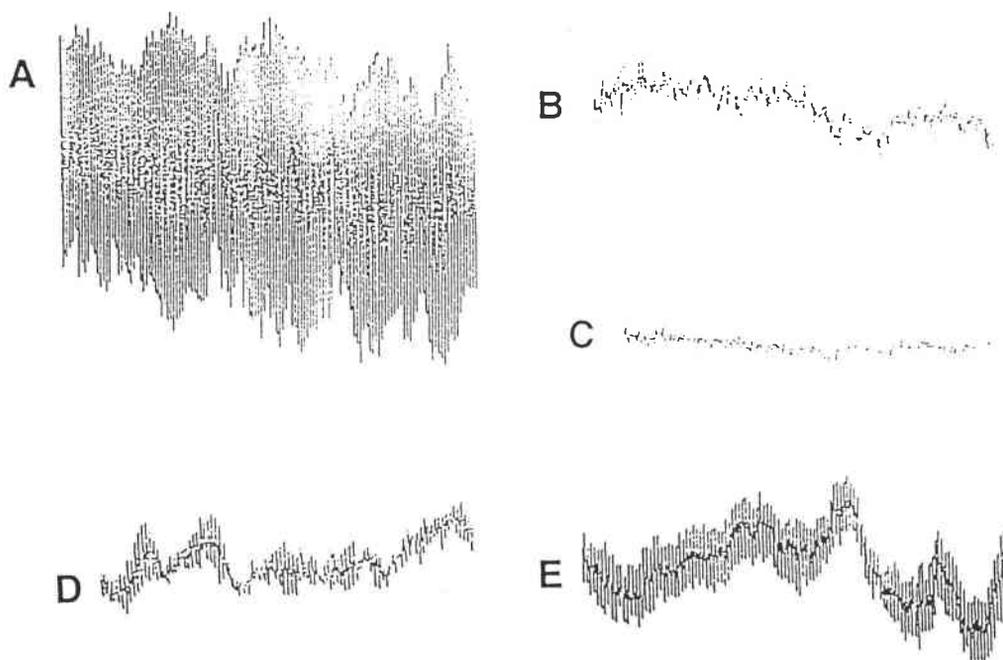


Fig. 4. Contraction of isolated rat intestine in a bath containing citrates of (a) iron, (b) chromium, (c) yttrium, (d) aluminum, and (e) aluminum tartrate. The recorder speed is 30 mm/min.

Table 1
Effects of Metals on Intestinal Smooth Muscle Contractions^a

SOLUTIONS	Amplitude (cm)		Frequency (contractions / min)	
	Reference solution (Tyrode)	Test solution (Metal)	Reference solution (Tyrode)	Test solution (Metal)
	Sodium chloride	3.7 ± 1.4	4.5 ± 2.1	33.5 ± 2.9
Aluminium citrate	4.5 ± 2.0 (a)	1.2 ± 0.7 (b)	34.9 ± 2.5	35.4 ± 4.7
Chromium citrate	3.1 ± 0.8 (a)	0.6 ± 0.3 (b)	36.9 ± 1.7	41.6 ± 6.6
Yttrium citrate	4.3 ± 2.1 (a)	0.4 ± 0.1 (b)	36.2 ± 2.0 (a')	50.3 ± 3.1 (b')
Iron citrate	3.9 ± 2.1	3.1 ± 1.9	36.0 ± 2.6	35.0 ± 2.5

^aValues represent mean ± standard error with 10 rats per treatment group. Values (a) are significantly different from (b), at $p < 0.05$, Student's *t*-test.

Table 2
Effects of Sodium Tartrate and Aluminum Tartrate on Intestinal Smooth Muscle Contractions^a

SOLUTIONS	Amplitude (cm)		Frequency (contractions / min)	
	Reference solution (Tyrode)	Test solution (Metal)	Reference solution (Tyrode)	Test solution (Metal)
	Sodium Tartrate	5.9 ± 1.9	2.5 ± 1.0	35.6 ± 2.8
Aluminium tartrate	5.4 ± 2.3 (a)	6.3 ± 2.1 (b)	35.8 ± 3.4	35.2 ± 2.2

^aValues represent mean ± standard error with 10 rats per treatment group. Values (a) are significantly different from (b), at $p < 0.05$, Student's *t*-test.

reductions observed were for iron citrate and yttrium citrate, about 20% and 15% respectively.

Transmission Electron Microscopic Observations

Figure 5 shows the transverse sections of rat duodenum smooth muscle fibers. In Fig. 5b, we observed an accumulation of yttrium precipitate in the external muscular layer. This precipitate was solely confined to intracellular spaces of muscular fibers. We also observed similar structures in some vesicles on the side of cellular membrane: caveolae intracellulari, Fig. 6. For the other metallic solutions, no evidence of pre-

Table 3
Concentrations of Metal in Intestinal Fragments using AES Determination^a

A

SOLUTIONS	Concentration ($\mu\text{g} / \text{g organ}$)			
	Al	Fe	Cr	Y
Control	1.2 ± 0.9	12.9 ± 3.2	0.5 ± 0.3	0.4 ± 0.2
Aluminium tartrate	$77.4 \pm 28.5^*$	-	-	-
Aluminium citrate	$23.7 \pm 15.2^*$	-	-	-
Iron citrate	-	$70.8 \pm 16.6^*$	-	-
Chromium citrate	-	-	$39.4 \pm 4.7^*$	-
Yttrium citrate	-	-	-	$413.0 \pm 82.2^*$

B

SOLUTIONS	Concentration ($\mu\text{g} / \text{g organ}$)			
	Al	Fe	Cr	Y
Control	3.4 ± 1.8	17.2 ± 5.8	0.3 ± 0.1	0.4 ± 0.2
Aluminium tartrate	$60.0 \pm 14.1^*$	-	-	-
Aluminium citrate	$9.3 \pm 2.7^*$	-	-	-
Iron citrate	-	$57.9 \pm 15.8^*$	-	-
Chromium citrate	-	-	$8.4 \pm 3.7^*$	-
Yttrium citrate	-	-	-	$351.6 \pm 127.7^*$

A. Concentrations after incubation in isolated organ bath. B. Concentrations after 2 h in glutaraldehyde and 2 h in cacodylate's buffer.

^aValues represent mean \pm standard error with six rats per treatment group. Values with asterisks are significantly different from control group, at $p < 0.01$, Student's *t*-test.

precipitate was found. The histological sections were similar to those observed with the reference micrographs (Fig. 5a).

The nature of precipitate was confirmed by scanning the spectra of the elements detected at dense points levels separated by about intercellular distances (Fig. 7). We proceeded likewise for different intracellular structures and on control areas (incubation in Tyrode's solution). On all spectra, we observed osmium (Os) used for contrast of sections, copper (Cu) that composed the grid, and chlorine (Cl) that derived from the resin. We only detected metal in yttrium sections and in dense points on the outside of cells. The accumulations were so confirmed to be yttrium precipitate.

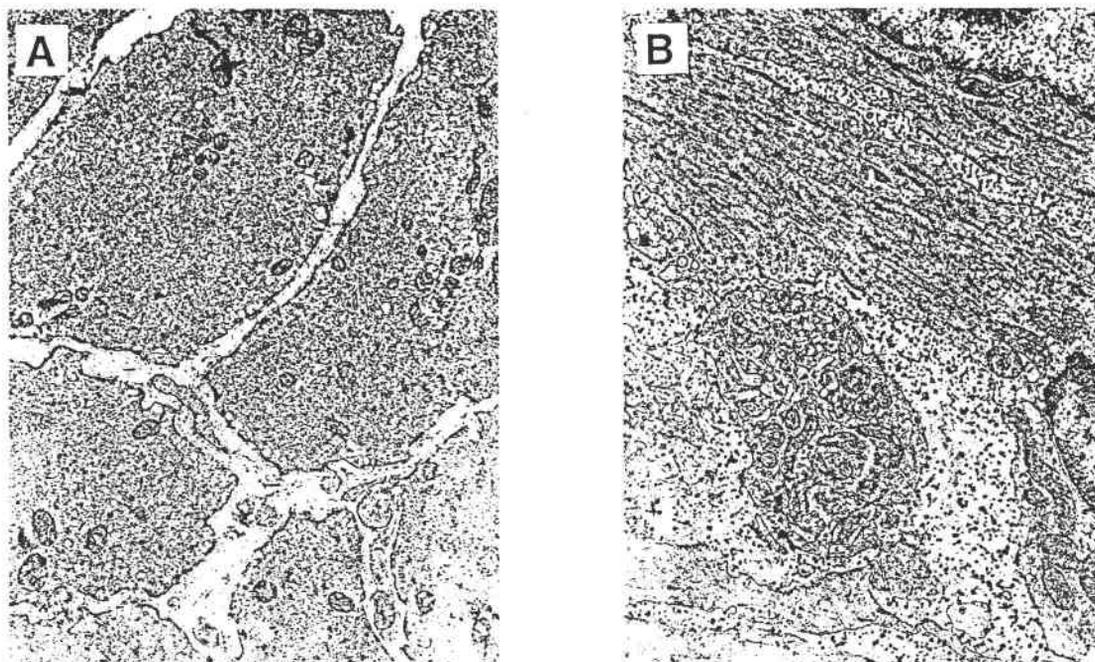


Fig. 5. Electron micrographs showing the fine structure of rat smooth muscle incubated with (a) Tyrode's solution and (b) yttrium citrate. Magnification in both cases is 8000x.

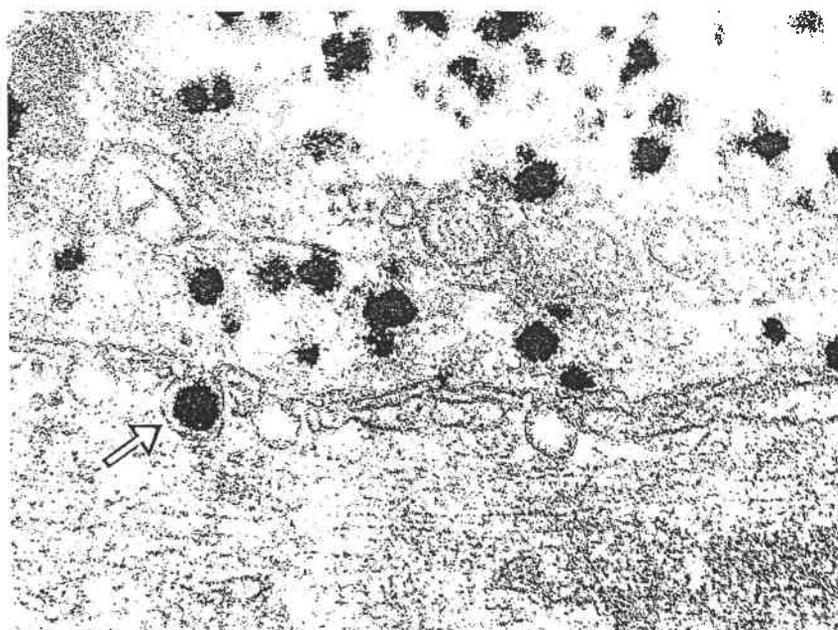


Fig. 6. 60000x magnification of yttrium precipitates in the intercellular space and in the caveolae intercelullaris (arrows).

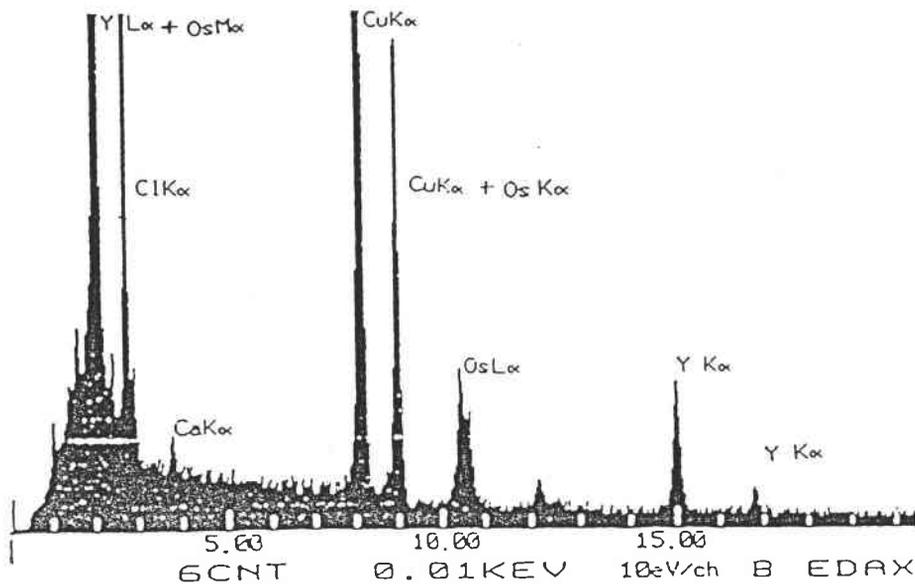


Fig. 7. X-ray EDAX microanalyzer spectra of intestinal areas after incubation in a solution containing yttrium ions.

Scanning Electron Microscopic Observations

All the samples were analyzed with this technique. They were bombarded either on the surface of the serosal side or on the transverse sections. At the bombarding intensity, we can reach the different layers of intestinal tissues. In the case of yttrium samples, the results previously obtained with transmission microscopy were confirmed and the X-ray images showed the presence of yttrium aggregates around the intestinal fragment in the muscular layers (Fig. 8a). The intestinal fragment plunged into iron solution showed several sites of accumulation on intestinal surface (Fig. 8b). These accumulations were localized on the serosal side. The analysis showed that the accumulations were constituted by iron (Fig. 9), but no iron precipitate was found inside the tissues. The X-ray images and spectra of the other samples did not show the presence of metals because their concentrations were below the detection limits.

Ion Microprobe Results

The spectra obtained did not allow us to reach a conclusion regarding the presence of metals, except for the yttrium sections. Therefore, the Al and Cr samples might have aggregates of metal inside or outside of the organ. However, as established by the AES, metals were present in the tissues, although this was not confirmed by microscopy.

In summary, our results indicate that yttrium was deposited as an insoluble precipitate in intercellular spaces of the intestinal muscular layers; iron stayed and precipitated outside of the serosal barrier, while aluminum and chromium entered the intestinal tissue remaining in a soluble and, therefore, undetectable form by microscopic studies.

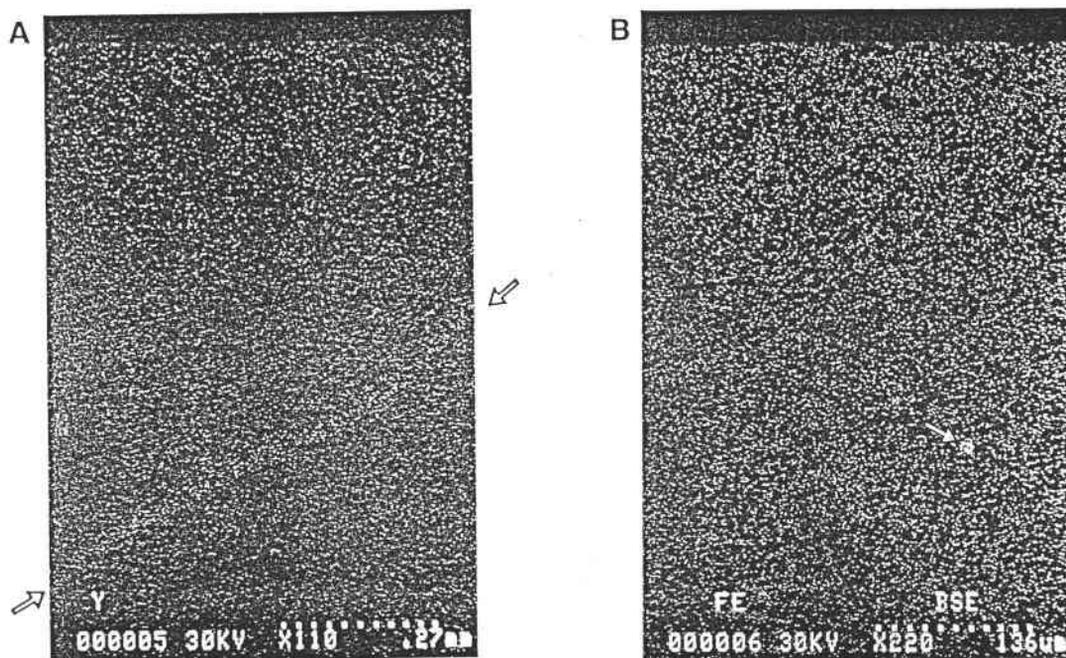


Fig. 8. X-ray images of (a) yttrium and (b) iron in rat intestines after incubation in solutions containing these ions.

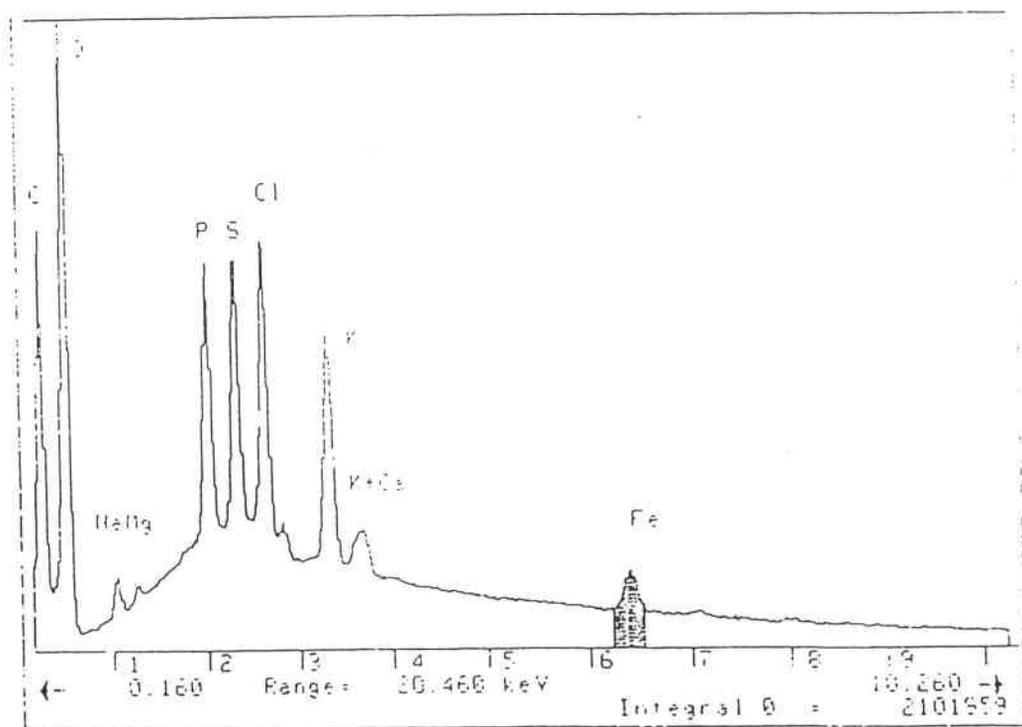


Fig. 9. Typical X-ray spectra of the metallic accumulation found on the serosal side of rat intestine.

DISCUSSION

The results presented for the ultrafiltration technique suggest that the metal ions are complexed under the conditions of the study. The metal ions tested were coordinated to citrate or tartrate; otherwise, in its cationic form, these species would not remain in solution at pH 7.4. Indeed in the range around neutral pH or in the presence of phosphate ions contained in Tyrode's solution, the metal most certainly forms insoluble precipitates, thus becoming physiologically inactive.

In this work, we have established that for aluminum the complexation capacity is maximum for citrate when compared to tartrate. This result was confirmed by AES determination of aluminum concentration in the intestinal fragments following incubation in aluminum-containing solutions. The rate of aluminum eliminated in the fixation's baths is greater for aluminum citrate solution than for aluminum tartrate. We observed also that the quantity of aluminum found in intestinal fragments is greater in the case of aluminum tartrate.

Similar results were obtained for the other metal: the metals with the lower affinity for citrate are the lower loss during the fixation stages. Such was the case of the yttrium solution. In contrast, chromium easily formed a citrate complex and was eliminated more readily. Generally speaking, we can consider that complexes that are more stable are better suited to be transported across tissue membranes. If such is the case, these molecules will not easily dissociate, thus avoiding the formation of insoluble metal salt precipitates in the intestinal tissues.

This study has also proved, by the *in vitro* organ isolated technique, that some metals have the capacity to alter intestinal spontaneous contractions. This effect is reversible, after the intestinal peristalsis is increased by the action of metal ions, the standard contractile activity, i.e., the activity measured as a base line, is recovered after rinsing in Tyrode's solution. Therefore, this effect is reversible. Our results indicate that yttrium reduce the intestinal smooth muscle contractility in the rat. The images and spectra obtained by microscopy show that this decrease is due to the presence of yttrium precipitate in intercellular spaces. Accumulation of yttrium was also found in membrane vesicles with uncertain physiological function: caveolae intracellulares (9). Caveolae have been often studied in vascular endothelia, where it seem that caveolae can sequester membrane bound ligands away from the extracellular space and facilitate their delivery to the cytoplasm of the cell. This process is called potocytosis (10,11). Thus, yttrium could modify intestinal contractions by inhibiting the potocytosis process, and this inhibition spared many molecule required for metabolism to penetrate in the cells. Until the molecules carried by potocytosis process are unknown and this explanation is a hypothesis unverified. We show that the rate of yttrium eliminated by the fixation stages is the lower, this is not in contradiction with our observation: yttrium precipitates in muscular tissues, and is eliminated with difficulty.

Concerning iron, we observed some accumulation of metal outside the intestinal serosal. Iron did not go through the tissue barrier, or, if it did, it was in very small amounts. This may explain why iron had no modifying effect on peristaltism. Iron carriers are located on the mucosal side around the villi. The quantity of iron measured in tissues by AES is about the same concentration found under stable physiological conditions. The iron concentration so determined was not due to excess of metal brought about by the incubation bath. We observed few losses of iron during the fixation's stages, indicated that iron was already incorporated into cellular structures.

For aluminum and chromium, a decrease in the amplitude of peristaltic movements was observed. However, any precipitate containing these elements was found in tissues. The AES determinations give us a net concentration of these elements but cannot accurately give us the localization of the metal. We can advance the hypothesis that these metals have similar action mechanisms. In the regulation of smooth muscle contraction (Fig. 10), we indicate that the intestinal movements are kept down by calcium, AMP cyclic, and the hydrolysis of ATP. Both aluminum and chromium ions could interact with phosphorylated compounds. If they are bound to other biological ligands, the metal could be homogeneously distributed hence interfere at different levels in the mechanisms governing muscular contractions, as demonstrated in our experiments on aluminum and chromium citrates.

Among the effects associated with an aluminum intake, a change in mineral metabolism has been reported. Aluminum interacts with molecules commonly found in biological systems, such as phosphate. Several investigators have demonstrated that the large oral doses of aluminum depress phosphorus absorption in humans (13–17) and laboratory animals (18,19). In fact, aluminum salts are used to treat hyperphosphatemia in renal patients because aluminum greatly reduces phosphorus absorption by forming insoluble complexes with phosphates in the gut (20). Also, aluminum binds to intracellular phosphate ligands. The stability constant have been determined for Al^{3+} binding to adenosine 5'—nucleotides (21). The strongest stability constants concern ATP and ADP, where chelation occurs.

Chromium may present us with a similar situation. The solubility constant for chromium phosphate is $10^{-22.6}$ (for aluminum it is about 10^{-29}). Aluminum and chromium could also interact on calcium exchanges required to activate the kinase protein after the formation of Ca^{2+} -calmodulin complex. Calcium comes either from intracellular organella (endoplasmic reticulum) or from extracellular systems by diffusion across the calcium channel. It was demonstrated that aluminum and calcium were in competition in the mechanisms of intestinal absorption across epithelium (21,22). A similar situation may be occurring with ionic exchanges in muscular fibers. Authors have also shown that the fixation of aluminum on calmodulin modify the configuration of calcium-

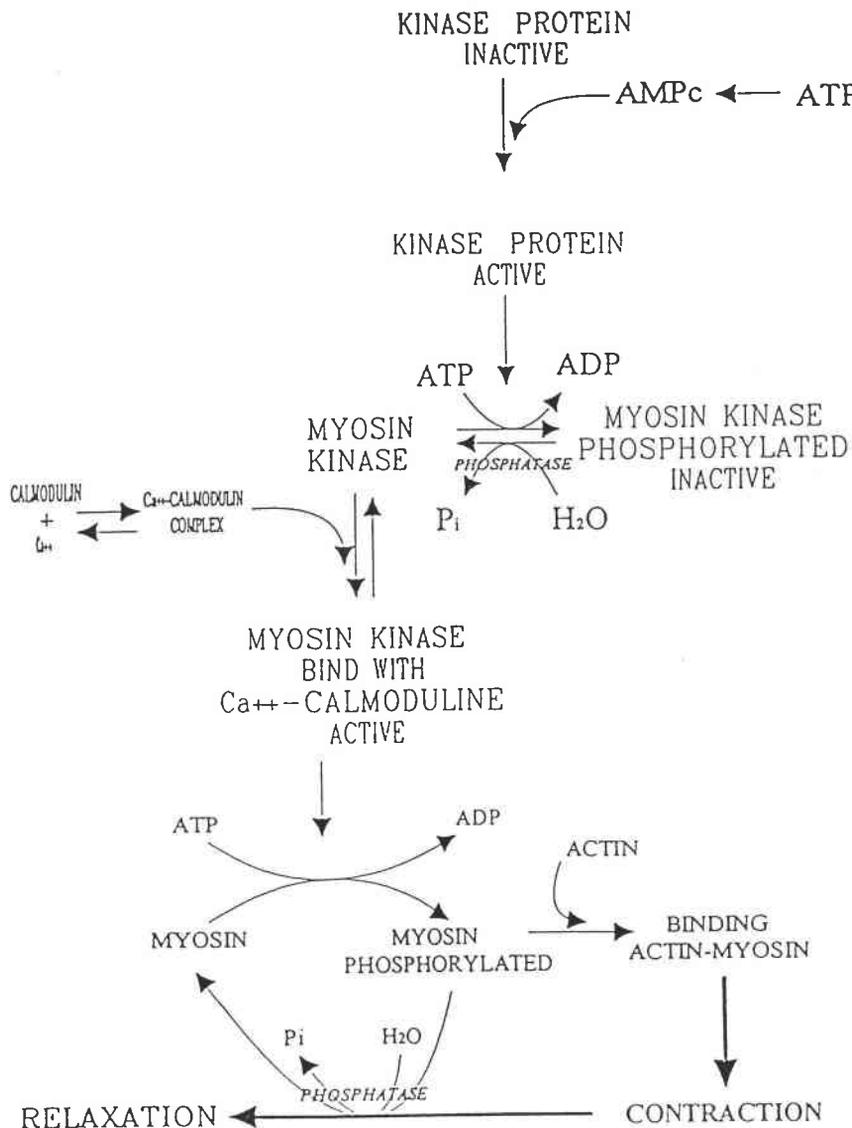


Fig. 10. Diagram of the regulation of smooth muscle contractile activity.

binding sites and inhibit the activity of Ca^{2+} -calmodulin complex (24). We have shown that metallic ions can modify the mechanisms and the regulation of the muscular contractions at different levels. This was not detectable with standard or electronic microscopy techniques used in this study. Consequently, the explanations given in this paper are hypotheses that will subsequently be the focus of future studies.

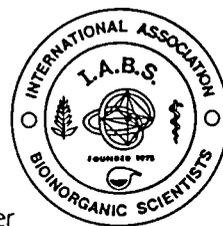
REFERENCES

1. A. C. Alfrey, G. R. Le Gendre, and W. D. Kaehny, The dialysis encephalopathy syndrome: Possible aluminum intoxication, *N. Engl. J. Med.* 294 (4), 184-188 (1976).
2. A. C. Alfrey, J. M. Mishell, J. Burks, S. R. Contiguglia, H. Rudolph, E. Lewin, and J. H. Holmes, Syndrome of dyspraxia and multifocal seizures associated with chronic hemodialysis, *Trans. Amer. Soc. Artif. Soc. Int. Organs* 18, 257-261 (1972).

3. B. J. Starkey, Aluminum in renal disease: current knowledge and future developments, *Ann. Clin. Biochem.* **24**, 337–344 (1987).
4. S. M. Ott, N. A. Maloney, J. W. Coburn, A. C. Alfrey, and D. J. Sherrard, The prevalence of bone aluminum deposition in renal osteodystrophy and its relation to the response to calcitriol therapy, *N. Engl. J. Med.* **307**, 709–713 (1982).
5. M. R. Wills and J. Savory, Aluminum poisoning: dialysis encephalopathy, osteomalacia, and anemia, *The Lancet* **2**, 29–34 (1983).
6. C. F. J. Baes and R. E. Mesmer, *The hydrolysis of cations*, Wiley, New York, 112 (1976).
7. J. L. Greger, Aluminum metabolism, *Annu. Rev. Nutr.* **13**, 43–63 (1993).
8. G. B. Van Der Voet, Intestinal absorption of aluminum, in: *Symposium Aluminum in Biology and Medicine*, London, 19–21 November, 1991, D. J. Chadwick and J. Whelan (eds.), John Wiley and Sons, Chichester, 109–122 (1992).
9. P. Galle, Techniques de routine et matériel nécessaire, in: *Techniques microscopiques*, C. Nezelof, P. Galle, N. Hinglais (eds.), Flammarion Médecine-Sciences, Paris 6°, 217–267 (1972).
10. R. Coujard, J. Poirier, and J. Racadot, *Précis d'histologie humaine*, Masson, Paris, 282–290 (1980).
11. R. G. W. Anderson, B. A. Kamen, K. G. Rothberg, and S. W. Lacey, Potocytosis: sequestration and transport of small molecules by caveolae, *Science (Wash DC)* **255**, 410–411 (1992).
12. W. J. Chang, Y. S. Ying, K. G. Rothberg, N. M. Hooper, A. J. Turner, H. A. Gambliel, et al., Purification and characterization of smooth muscle cell caveolae, *J. Cell Biology* **126** (1), 127–138 (1994).
13. M. Lotz, E. Zisman, and F. C. Bartter, Evidence for a phosphorus-depletion syndrome in man, *N. Engl. J. Med.* **278**, 409–415 (1968).
14. J. M. Cam, V. A. Luck, J. B. Eastwood, and H. E. De Wardener, The effect of aluminum hydroxide orally on calcium, phosphorus, and aluminum metabolism in normal subjects, *Clin. Sci. Mol. Med.* **51**, 407–414 (1976).
15. C. E. Dent and C. Winter, Osteomalacia due to phosphate depletion from excessive aluminum hydroxide ingestion, *Br. Med. J.* **1**, 551–552 (1974).
16. J. L. Greger and M. J. Baier, Effect of dietary aluminum on mineral metabolism of adult males, *Am. J. Clin. Nutr.* **38**, 411–419 (1983).
17. H. Spencer, L. Kramer, C. Norris, and P. Osis, Effect of small doses of aluminum-containing antacids on calcium and phosphorus metabolism, *Am. J. Clin. Nutr.* **36**, 32–40 (1982).
18. R. Ondreicka, J. Kortus, E. Ginter, and J. Kortus, Chronic toxicity of aluminum in rats and mice and its effects on phosphorus metabolism, *Br. J. Ind. Med.* **23**, 305–312 (1966).
19. I. V. Rosa, P. R. Henry, and C. B. Ammerman, Interrelationships of dietary phosphorus, aluminum and iron on performance and tissue mineral composition in lambs, *J. Anim. Sci.* **55**, 1231–1240 (1982).
20. K. Schaefer, D. Von Herrath, and C. M. M. Erley, Treatment of uremic hyperphosphatemia. Is there still a need for aluminum salts?, *Am. J. Nephrol.* **8**, 173–178 (1988).
21. T. Kiss, I. Sovago, and R. B. Martin, Al³⁺ binding by adenosine-5'-phosphates: AMP, ADP, and ATP, *Inorg. Chem.* **30**, 2130–2132 (1991).
22. S. D. Provan and R. A. Yokel, Reduced intestinal calcium and dietary calcium intake, increased aluminum absorption, and tissue concentration in the rat, *Biol. Tr. El. Res.* **23**, 119–132 (1990).
23. A. J. Adler, J. Lee, and G. M. Berlyne, Aluminum binding activity in canine duodenal mucosal extracts, *Biomed. Pharmacotherapy* **40**, 269–271 (1986).
24. N. Siegel and A. Haug, Aluminum interaction with calmodulin. Evidence for altered structure and function from optical and enzymatic studies, *Biochem. Biophys. Acta* **744**, 36–45 (1983).

Biological Trace Element Research

Editor-in-Chief: G. N. Schrauzer



The Journal of the International Association of Bioinorganic Scientists

Dr. Daniel Burnel
Laboratoire de Chimie Générale Appliquée a la Médecine
Université Henri Poincaré
9 Avenue de la Forêt de Haye, B.P. 184
54505 Vandoeuvre les Nancy Cedex, France

Department of Chemistry
University of California, San Diego
9500 Gilman Drive, 0314
La Jolla, CA 92093-0314
U.S.A.
(619) 534-5499
FAX (619) 534-5743

October 5, 1999

Dear Dr. Burnel:

I am pleased to inform you that your manuscript number 99095: "*Bioavailability and Intestinal Absorption of Aluminium in Rats: Effects of aluminium compounds and some dietary constituents,*" has been accepted for publication in Biological Trace Element Research.

You should be receiving proofs from the publisher as soon as they become available. Due to large volumes of material in process, average production times are upwards of eight months. Please remember that our Editorial Office is not involved in the printing process, so in case you have any further questions regarding galley proofs or the expected publication date, please contact: Mr. James Geronimo (geronimo@humanapr.com), The Humana Press, Inc., 999 Riverview Drive, Suite 208, Totowa, NJ 07512, phone (973) 256-1699, ext. 19. fax (973) 256-8341.

If you haven't done so already, would you consider becoming a member of the IABS? We are a chartered, non-profit organization created in 1973 to promote research on the biological aspects of inorganic compounds. Please let me know if you are interested in joining our association at \$350 per year, which includes a postage paid, one-year subscription to BTER at 40% savings over the regular subscription price. Visa[®], MasterCard[®] and JCB[®] cards are accepted as forms of payment.

Sincerely,

G.N.Schrauzer

BIOAVAILABILITY AND INTESTINAL ABSORPTION OF ALUMINUM IN RATS: EFFECTS OF ALUMINUM COMPOUNDS AND SOME DIETARY CONSTITUENTS

LISIANE CUNAT ⁽¹⁾, MARIE-CLAIRE LANHERS ⁽¹⁾,
MICHEL JOYEUX ⁽²⁾ and DANIEL BURNEL ⁽¹⁾

Département Environnement et Santé Publique, Faculté de Médecine, Université
Henri Poincaré Nancy I, 9 avenue de la Forêt de Haye, B.P. 184, 54505
Vandoeuvre les Nancy Cedex, France

⁽¹⁾ Laboratoire de Chimie Générale Appliquée à la Médecine

⁽²⁾ S.E.R.E.S.

ABBREVIATED FORM OF THE TITLE:

EFFECTS OF COMPOUNDS ON INTESTINAL Al ABSORPTION

INDEX ENTRIES :

Aluminum ; intestinal absorption ; speciation ; bioavailability ; perfusion

CORRESPONDING AUTHOR:

Professor Daniel BURNEL

Phone : 03 83 59 28 31

Fax : 03 83 59 28 52

Laboratoire de Chimie Générale Appliquée à la Médecine, Département
Environnement et Santé Publique, Université Henri Poincaré, Nancy I, 9 avenue
de la Forêt de Haye, B.P. 184, 54505 Vandoeuvre les Nancy Cedex, France

ABSTRACT

In the present investigation the deposition of aluminum in intestinal fragment and the appearance in blood were studied in a perfused rat intestine *in situ* during one hour with several aluminum forms (16 mM). We observed that aluminum absorption was positively correlated with the theoretic affinity of aluminum and the functional groups of the chelating agent. The absorption of aluminum after ingestion of organic compounds is more important than after ingestion of mineral compounds, with the following order: Al citrate > Al tartrate, Al gluconate, Al lactate > Al glutamate, Al chloride, Al sulfate, Al nitrate. Absorption depends on the nature of the ligands associated with the Al³⁺ ion in the gastrointestinal fluid. Higher the aluminum retention in intestinal fragment, lower was the absorption and appearance in blood. However, the higher aluminum concentration is always in the jejunal fragment because of the influence of pH variation on this fragment. Another objective of the present study was to determine the influence of several parameters on aluminum citrate absorption: with or without 0.1 mmol DNP/l, with aluminum concentration from 3.2, 16, 32, 48, to 64 mmol/l, media containing 0, 3, or 6 mmol Ca/l, with or without phosphorus or glucose. It is concluded that aluminum is absorbed from the gastrointestinal tract by: (1) paracellular energy-independent and non saturable route, mainly used for high aluminum concentration which is modified by extracellular calcium; and (2) a transcellular and saturable route, the aluminum level was not modified with enhancement of aluminum quantity in intestinal lumen. This pathway can be similar with calcium transfer through the intestine, and is energy-dependent because of a decrease of aluminum absorption which follows the removal of glucose and phosphorus.

INTRODUCTION

Aluminum is an ubiquitous element, which is naturally present or anthropogenetically introduced in our environment. It has unknown biological or biochemical functions but the gastrointestinal absorption of aluminum has been clearly demonstrated (1, 2). It is now generally accepted that aluminum is the toxic etiologic factor in several dialysis-related diseases (dialysis encephalopathy, osteomalacia, microcytic anaemia) and plays a possible role in various other disorders (Alzheimer's disease, amyotrophic lateral sclerosis) (3-6).

Studies in humans and animals have shown different elevated serum aluminum concentrations after repeated oral consumption of various aluminum forms, which suggests differences in oral bioavailability (7-10). It has also been observed that ingestion of aluminum compounds with fruit juices or citric acid, causes a clear increase in gastrointestinal absorption of aluminum in healthy subjects (11, 12) or in patients with chronic renal failure (13). This result suggests that dietary factors and the aluminum form in the intestinal lumen may significantly contribute to modify aluminum absorption.

Since aluminum-containing chemicals are widely used in medicine, food additives and cosmetics, and are also added to tap water in some areas as a flocculating agent during the water purification process, it is important to study factors that might increase the absorption of aluminum across the gastrointestinal barrier.

In the present study, we used an *in situ* rat gut technique to evaluate the potential of aluminum absorption from different chemical aluminum species. Eight forms of aluminum were assessed for their oral bioavailability; three of them were inorganic and five were organic ones. All forms were soluble in water. We also modified some of the conditions influencing the intestinal absorption of aluminum:

- The contact time between aluminum and intestinal wall.
- An uncoupler of oxidative phosphorylation, DNP, was used to determine the energy dependence of aluminum uptake at the luminal surface.
- Using one solution, aluminum citrate, we observed absorption of various metal concentrations.
- Different elements of the buffered media were removed from intestinal lumen in order to establish their importance.

METHODS

Reagents

Sodium chloride (NaCl), potassium chloride (KCl), aluminum trichloride (hexahydrate, $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), gluconic acid ($\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_7\text{Na}$), tartaric acid ($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_6$), glutamic acid (monohydrate, $\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_4$) and 2,4-dinitrophenol ($\text{C}_6\text{H}_4\text{N}_2\text{O}_5$) were obtained from Aldrich, France. Magnesium chloride (hexahydrate, $\text{MgCl} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) was obtained from Merck, France. All other chemical products like calcium chloride (CaCl_2), sodium phosphate monobasic (dihydrate, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), glucose ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$), sodium bicarbonate (NaHCO_3), aluminum sulfate (tetradecahydrate, $\text{O}_{12}\text{S}_3\text{Al}_2 \cdot 14\text{H}_2\text{O}$), aluminum nitrate (nonahydrate, $\text{N}_3\text{O}_9\text{Al} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$), aluminum lactate ($\text{AlC}_9\text{H}_{15}\text{O}_9$) and trisodium citrate (dihydrate, $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) were obtained from Prolabo, France. All solutions were made in ultra-pure water which was obtained by means of a Millipore system, model MILLI-Q.

Solution preparation

The solution used for all experiments is known as Tyrode's solution. Its composition is 137.0 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 1.0 mM MgCl_2 , 1.5 mM CaCl_2 , 0.4 mM NaH_2PO_4 , 12.0 mM NaHCO_3 and 5.5 mM $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$. The osmolarity of this solution was determined by freezing point depression on an KNAUER osmometer model ML. It was 290 mOsm. The pH was measured at 7.3 - 7.4.

Solutions containing aluminum were prepared by iso-osmotic replacement of NaCl from Tyrode. Aluminum concentration was selected to represent the amount of aluminum estimated to be in the diet (0.16 to 1.6 mmol of equivalent aluminum) (14). We used the smaller aluminum concentration of 0.16 mmol (or 4.32 μg Al). The rate of perfusion was 10 ml/h during an incubation time of 60 minutes, so 10 ml of aluminum's solution was perfused. For a quantity in contact with the intestine about 0.16 mmol Al, the aluminum concentration would be 1.6×10^{-2} M. Furthermore, the concentration of aluminum used must be sufficiently high for the observation of a measuring passage in the blood. The pH of the solutions was adjusted to 4.0 by addition of sodium hydroxide or chlorid acid, maintaining the osmolarity at 310 mOsm.

Then, for many experiments, we added 10^{-4} M of dinitrophenol (DNP) in aluminum solutions, according to the studies of Feinroth *et al.* (17).

Animals

Male Wistar rats, weighing between 200 and 280 g (Iffa-Credo, France) maintained with a standard laboratory diet (Extra-Labo, France) and tap water

ad libitum, were used for this study. They were kept at 22 - 23°C with 12 / 12 lighting cycles.

Perfusion of rat small intestine

The *in situ* rat gut technique was based on that described by Doluisio *et al.* (18). The animal was fasted overnight with access to water before starting of a perfusion experiment. Then the rat was anesthetized with a single intraperitoneal dose of 80 mg/kg sodium pentobarbital (Sanofi Santé Animale, France). Throughout the experiment, an overhead lamp and a cushion maintained the constant body temperature to 37°C.

After a small midline abdominal incision, the proximal small intestine was exposed with keeping complete mesenteric system intact. The intestine was cut and cannulated with polyethylene tubing (Biotrol pharma, France), the proximal cannula was located at the duodenum (distal to the pyloric valve) and the distal cannula above the coecum. The perfusion medium was kept at 37°C and circulated through polyethylene tubes with an infusion syringe pump (model A-99, Razel Scientific Instrument, USA). The intestinal segment was then returned to the peritoneal cavity and the abdominal opening was closed with sutures and kept warm and wet by application of warm saline (37°C) to gauze pad covering the incision.

The rat intestine was then cleaned by perfusion with Tyrode's solution at rate of 100 ml/h during 15 minutes. At the same rate, perfusion-containing aluminum followed, during 5 minutes, to pre-incubate the luminal surface with the treatment. The perfusion period with aluminum was then started (rate 10 ml/h) during 15, 30 or 60 minutes. In a second part, we modified the aluminum concentration (3.2 mM, 16 mM, 32 mM, 48 mM or 64 mM) or the concentration of other factors like calcium (0 mM, 1.5 mM, 3 mM or 6 mM CaCl₂), phosphorus (0 mM or 0.4 mM NaH₂PO₄) and glucose (0 mM or 5.5 mM C₆H₁₂O₆).

After the incubation time, blood was sampled by heart puncture in heparinized syringe (sodium heparin 5000 UI / ml, Panpharma, France).

At the end of each experiment, the intestine was recovered and cut into 3 segments i.e.; duodenal (0-8 cm distal to pyloric sphincter), jejunal (15 cm distally from the ligament of Treitz) and ileal (15 cm proximally the ileocecal valve). The free tissues were immediately rinsed with iso-osmotic Tyrode's solution, the mesentery was manually stripped from intestine, and then was weighed.

Metal determinations

Ultrafiltration. Ultrafiltration was carried out by means of a SARTORIUS SM 13239 Centrisart I tube with a rupture mass of 10000 Daltons and a Labofuge 200 HERAEUS centrifuge. Two ml of the solution containing the metal and

Tyrode's solution were poured into each the centrifuge tube and processed at about 3000 g for 30 minutes. Owing to the centrifugal force, the small upper tube tends to sink, forcing the liquid to pass through a selective mass membrane. This operation thus allows the liquid containing free metal or metal complexed to be collected in the upper tube. The metal contained in the ultrafiltrate is then assayed by an atomic emission spectrometer (AES), Spectra Span V, BECKMAN.

Intestinal segments. After the intestinal perfusion experiment was performed, the intestinal tissues were treated with nitric acid (Suprapur, MERCK) to dissolve every mineral. The acidic solutions were used to establish the aluminum concentrations in various intestinal fragments by assaying with the AES.

Blood samples. Blood samples were centrifuged at 3000 g during 3 minutes. The plasma was transferred to another tube and frozen at 4°C for later analysis by AES.

Statistical analysis

Results are expressed by mean \pm SD. The data were statistically analyzed using unpaired Student's t-test, paired Student's t-test or factorial ANOVA with posteriori Fisher's PLSD test depending on the nature of the experiment. A 0.05 level of probability was used as the criterion of significance.

RESULTS

Solution speciation.

The aim of this study was to determine the extent of solution or precipitation of several aluminum compounds used for the perfusate.

As shown in figure 1, the majority of metal remains in solution either as the free or complexed ions. In acidic conditions, pH 4, and in presence of ligands, soluble aluminum compounds are the predominant species. The extent of precipitation was always below 7 %, no precipitate for Al citrate, Al chloride, Al nitrate, Al sulfate, Al tartrate, 1.3 %, 2.0 % and 7.0 % for Al lactate, Al gluconate and Al glutamate, respectively.

At pH 4, aluminum is soluble and bioavailable, consequently aluminum absorption is theoretically possible.

Intestinal retention of aluminum.

The concentrations of aluminum in duodenum, jejunum and ileum of control and aluminum solutions – perfused rats are show in table 1.

Influence of solutions containing aluminum. For duodenum, the highest aluminum level was found for Al nitrate (about 220 $\mu\text{g Al/g organ}$), followed by Al chloride, Al sulfate, Al lactate and Al glutamate with a decrease of 35 % in aluminum concentration. No significant differences between Al citrate, Al gluconate, Al tartrate and controls were noted and aluminum levels were around 10 $\mu\text{g Al/g organ}$. Every time, we observed the same variations.

Five solutions induced high retention of aluminum in jejunum and could be graded in descending order: Al nitrate (350 $\mu\text{g Al/g organ}$), Al chloride (250 $\mu\text{g Al/g organ}$), Al lactate and Al glutamate (about 210 $\mu\text{g Al/g organ}$) and then Al sulfate 155 $\mu\text{g Al/g organ}$). Whereas Al citrate, Al gluconate, Al tartrate were not different from control according to the results obtained with duodenum.

In ileum, we observed that Al sulfate, Al tartrate, Al gluconate and control are significantly different from the other solutions. Perfusions with Al nitrate, Al citrate and Al glutamate had a little increase in the retention of aluminum in the distal segment of intestine (about 25 $\mu\text{g Al/g organ}$). Al lactate and Al chloride had greater concentration of aluminum in this segment (about 100 $\mu\text{g Al/g organ}$).

Figure 2 (a) summarize the difference between the various solutions.

Influence of intestinal segments. The findings displayed in table 1 extend the retention of aluminum in the three intestinal segments of the rats. Considering one solution, the observations are the same at every incubation time.

Two groups of aluminum solutions were characterized:

(1) the mineral solutions of aluminum and Al glutamate. The ileal aluminum concentration was significantly lower than the other segments (Paired t-test, $P < 0.0001$). The aluminum retention was higher in jejunum than duodenum, except the concentration of Al sulfate, which was not significantly different between duodenum and jejunum.

(2) the other solutions : organic solutions and control. There was not much difference between the intestinal fragments. Aluminum retention in ileum was equal to the other fragments for Al citrate, Al tartrate, Al lactate and Al gluconate, or ileum retained less aluminum for Al lactate, Al gluconate and control. The aluminum concentrations dosed in intestine were very small regarding the first group holding up above, except Al lactate. However, if one proximal segment of intestine retained more total aluminum than the others, it was also the jejunum (Al lactate).

In summary (figure 2 (b)), more intestinal segment retained aluminum, more the differences between the various fragments were significative. The higher aluminum concentration was obtained for jejunum, following by duodenum and by ileum. Unlike, we observed in solutions with less aluminum retention, a decrease in the difference between each intestinal fragment.

Influence of time incubation. There was a little difference in aluminum retention from contact time between aluminum solution and intestinal barrier.

Al citrate showed a decrease of aluminum retention in intestine after 60 minutes in comparison with the other times. This decrease changed from organ to organ between 50 and 60 %. With Al chloride for ileal aluminum retention, we observed also a decrease of 75 % at 30 and 60 minutes in comparison with aluminum retention at 15 minutes.

Even when the contact time is longer, we observed an increase in the aluminum retention for Al tartrate in duodenum and jejunum (28 %) for Al gluconate in duodenum and ileum (48 % and 47 % respectively), and for Al lactate and Al glutamate in ileum (43 % and 73 % respectively).

We also observed in plasma an enhancement of aluminum level with the incubation time and a maximum of transfer at 60 minutes for Al lactate (+ 35 %), Al gluconate (+ 38 %) and Al tartrate (+ 48 %). For Al sulfate and Al nitrate, we showed a peak in absorption after an incubation of 30 minutes, about respectively + 12 % and + 16 %, however the absorption was less important. With Al citrate, Al chloride and Al glutamate no significant difference was observed.

Appearance of aluminum in plasma

Figure 3 illustrates the plasma concentration curves. We observed that aluminum absorption was affected by the solution in the perfusate. In any case,

the appearance of aluminum in blood was significantly higher with a perfusion of Al citrate ($0.05 < P < 0.0001$) as compared to the other solutions except Al tartrate at 30 minutes (NS).

At 15 minutes the blood levels of aluminum was also significantly different from control for Al gluconate and Al lactate ($P < 0.05$), and this aluminum concentration was higher than the aluminum level found in the control of plasma.

When incubation time was twofold increased (30 minutes) Al citrate, Al lactate and Al gluconate still showed an marked aluminum absorption in addition with Al tartrate with an increase and a significant difference from controls ($P < 0.0001$).

With a perfusion of 60 minutes, we observed the clear difference between solutions so we could distinguish three significantly different groups:

- (1) Al citrate,
- (2) Al gluconate, Al tartrate, Al lactate,
- (3) Al chloride, Al nitrate, Al sulfate, Al glutamate, and control.

With a perfusion of 60 minutes, the Al forms used for the perfusate significantly affected the aluminum absorption and its appearance in blood, when the aluminum levels in plasma were less different with a reduced incubation time. For this reason, all the following experiments were realized with an incubation period of 60 minutes.

Effects of DNP

The results are demonstrated in figure 4.

After perfusion of aluminum solutions containing 0.01 mmol/l DNP, we observed a decrease of aluminum retention in intestinal fragments for several solutions; 32 % in duodenum for Al citrate ($P < 0.05$), respectively 62 % and 43 % in jejunum for Al sulfate and Al nitrate ($P < 0.05$), 94% in ileum for Al lactate ($P < 0.0001$) and respectively 41 % and 89 % in duodenum and ileum for Al glutamate ($P < 0.005$). However, no significant differences in aluminum plasma concentration was observed for these solutions.

For control solution, Al chloride, Al tartrate and Al gluconate, there was no significant modification between groups with or without DNP in aluminum absorption or aluminum retention.

Effects of aluminum concentration and dietary factors on intestinal absorption of aluminum citrate.

We chose aluminum citrate in the following experiments because the aluminum absorption across the intestine and appearance in blood is generally higher with this solution (figure 3).

The comparisons were realized with group 3 – reference with complete Tyrode's solution and 16 mmol Al/l – for each experiment from B to E. However, aluminum levels were always found to be higher in group 2 to 12 ($P < 0.0001$ for plasma and intestinal fragments) in comparison to the control solution (group 1).

Effect of aluminum concentration and DNP. The blood levels of aluminum, in agreement with the intestinal uptake levels, were affected by increased aluminum citrate concentrations in perfusate. Concerning the aluminum retention in duodenum, all the aluminum values were significantly different ($0.05 < P < 0.0001$). The aluminum retention in jejunal fragment was not significantly different with the presence of 16 or 32 mmol Al/l (group 3 and 4). Mean aluminum retention from all other groups were significantly different ($0.01 < P < 0.0001$). A significantly rank of the means ($0.05 < P < 0.0001$) for aluminum uptake by the ileal fragment has the following order:

group 1 < groups 2, 3 and 4 < groups 5 and 6. A particular interest is the variations observed for aluminum plasma values. There was no difference between groups 3, 4 and 5. The trend for the aluminum absorption in blood from the various concentrations of aluminum in perfusate was as follows: group 1 < group 2 < groups 3, 4 and 5 < group 6 ($0.05 < P < 0.0001$). When the aluminum concentration contained in perfusate was the highest (group 6: 64 mmol Al/l), the aluminum values observed in plasma were very variable from one rat to another (from 191.5 $\mu\text{g Al/l}$ to 1797 $\mu\text{g Al/l}$ for rats in the group 6). It seems that the aluminum absorption became random for the rat, may be corresponding to a little injury in intestinal membrane, which has an effect on cellular integrity. If we rule out group 6 values, the highest ones seem to be slowly reached for the passage of aluminum in blood; indeed there was no significant difference between the groups 3, 4 and 5.

Previously, we observed that addition of DNP in perfusate, reduced significantly the aluminum concentrations in duodenum for the group 3. When we proceeded by the same way with group 4, no modification was observed for the uptake of aluminum (no significant difference with or without DNP for a perfusion of 32 mmol Al/l).

Effect of calcium. The accumulation of aluminum in intestinal fragment was not affected by increasing calcium concentrations in the perfusate. However, blood levels were reduced about 50 % after perfusion with 3 and 6 mmol Ca / l ($0.05 < P < 0.005$, groups 9, 10 compared to 3).

Without calcium in perfusate, a reduction of around 50 % of the aluminum levels measured in duodenum, was observed ($P < 0.01$, group 8 compared to 3) and there was no significant effect for jejunum and ileum. Furthermore, a significant

effect was found for aluminum appearance in plasma. Aluminum plasma level in group 3 was approximately twofold higher than in group 8 receiving a perfusion without calcium ($P < 0.005$).

There was a significant effect for both experiments, either an increase or a decrease of calcium concentration in Tyrode's solution which caused a decrease of aluminum level in plasma with the same magnitude ($0.05 < P < 0.005$). The group 3 (reference) always had the highest level of aluminum.

The aluminum levels found in the intestine or in the blood were significantly higher than in the control group (group 1) without aluminum contained in perfusate.

Effect of phosphorus. In experiment D, phosphorus was removed from intestinal lumen and results were compared with group 3.

As depicted in Table 2, a significant decrease in aluminum concentration i.e., $P < 0.0001$ for plasma and $P < 0.05$ for duodenum and jejunum is resulted in group 11 which received the Tyrode's solution containing 16 mmol Al/l – but not phosphorus. It appears that the aluminum concentrations were reduced in plasma about 60 %, while in duodenum and jejunum had a mean decrease of 38 %. The aluminum level in ileum was not significantly different.

Effect of glucose. In experiment E, we took away glucose from Tyrode's solution. We observed a significant decrease in aluminum concentration for duodenum ($P < 0.005$) and plasma ($P < 0.05$) for group 11 compared with group 3. No difference appeared for jejunum and ileum. Aluminum level in blood was reduced about 42 % while aluminum accumulation in duodenum was about 55 %.

DISCUSSION

The objectives of the present study were to compare several parameters which could modify the intestinal absorption of aluminum, using the experimental technique of intestinal perfusion with healthy rats. Several factors may influence aluminum absorbed across the intestinal barrier, but the key factor for aluminum intoxication is its bioavailability. Aluminum may be found in colloidal form or as soluble complexes subsequent to reactions with chelating agents.

First of all, we verified the ultrafiltrability of different aluminum solutions used for the present study in tyrode's buffer at pH 4.

Every aluminum form maintained about 100 % ultrafiltrability, therefore, aluminum was soluble and bioavailable in all solutions. The variations in intestinal absorption were the inference from the chemical complex formed between aluminum and ligand molecule. Since all aluminum present in the different solutions were soluble, aluminum across the intestinal membrane was theoretically possible.

Role of aluminum solution. The aluminum levels in various intestinal fragments were modified according to the tested aluminum form. We also observed in duodenum and jejunum, the same distribution of aluminum retention i.e., Al nitrate > Al chloride, Al lactate, Al glutamate, Al sulfate > Al citrate, Al gluconate, Al tartrate. In ileal segment, the rank was different in comparison with proximal intestine i.e., Al lactate, Al chloride > Al nitrate, Al citrate, Al glutamate > Al sulfate, Al gluconate, Al tartrate. The aluminum absorption was also, and especially, an indication of the appearance of aluminum in blood. We observed that the highest level of aluminum was aluminum citrate according to many studies about this aluminum form (12, 14, 19-25). The order of the aluminum level in plasma after 60 minutes of perfusion was as follows: Al citrate > Al tartrate, Al gluconate, Al lactate > Al chloride, Al sulfate, Al glutamate, Al nitrate. As depicted in table 3, we observed that the appearance of aluminum in the plasma was negatively correlated with the amount of aluminum retained by the intestine. In other words, the more aluminum was retained by the mucosa, the less it appeared in the blood. This observation was confirmed by Van der Voet (26). We found that the intestinal tract poorly absorbed the inorganic compounds of aluminum, except aluminum glutamate, even when the organic compounds of aluminum passed easily through the intestinal barrier. Further experimental works showed that some acids like ascorbic acid, lactic acid, oxalic acid and other ones assisted the intestinal absorption of aluminum (8, 9, 10).

When we observed the molecular compound of aluminum complexes, we could establish an order of size based on affinity between organic and inorganic molecules and metal. Therefore we have established a rank order based on substitution functions. Aluminum preferentially forms complexes with organic molecules with functional groups like carboxylic $-\text{COOH}$, hydroxyl $-\text{OH}$, or amino $-\text{NH}_2$. Thus, within the same molecule, the quantity of group susceptible to bind with aluminum could have an influence on the capacity of formation for more or less stable complexes between acids and aluminum. Therefore, with comparison with the different formulas of compounds tested and their functional groups, we could establish theoretical order for the chelating action of organic acids (Table 4).

The better chelator of aluminum was the citric acid with three carboxylate and one hydroxyl group. Tartric and gluconic acids also showed interesting binding capacities with aluminum, but lower than citric acid. It was difficult to differentiate them because tartric acid owned two carboxylate and hydroxyl functionalities, when gluconic acid presented one carboxylate and five hydroxyl functionalities. We didn't know which group got the higher affinity with aluminum, so we couldn't differentiate these two acids. Lactic acid, with one hydroxyl and one carboxylate function, was classified afterwards. Concerning glutamic acid, we had two carboxylate and one nitrogenous function. However, with experimental pH, the $-\text{NH}_2$ functional group was in forms of $-\text{NH}_3^+$ ($\text{pK}_a = 9.67$) without complex capacity. After complexes formed with organic acids, aluminum had an affinity with some mineral molecule. Thus chloride and sulfate present complexed characters although relatively averaged with aluminum, in opposition with nitrate which is known for no complexing action with metallic cations.

So we remarked that aluminum absorption was positively correlated with the molecular affinity between aluminum and its ligand. Organic molecules were those with the higher affinity with aluminum because they have functional group $-\text{COO}^-$, $-\text{OH}$ and $-\text{NH}_2$. These molecules also have the higher crossing in blood circulation and the lower level of retention in intestine. There was Al citrate with the better absorption, then Al tartrate, Al gluconate, Al lactate and Al glutamate. The lower absorption of aluminum was with inorganic compounds; Al sulfate and Al chloride, then Al nitrate had lots of difficulties to cross the intestinal barrier and had the lower absorption from all tested solutions. Consequently, more the complex is stable, more the intestinal absorption is high because aluminum stays in soluble form. Even when an instable complex facilitates the formation of aluminum precipitate on aluminum phosphate, carbonate or hydroxide forms.

When aluminum precipitate was formed, the crossing of biological membrane became impossible and the metal was accumulated in the same place. Therefore, in this case a little quantity of aluminum was observed in plasma and values in intestine were very high.

Role of intestinal segments. The results of this study indicate that Al chloride, Al nitrate, Al sulfate, Al glutamate and Al lactate induce a different distribution of aluminum according to the intestinal fragments. Indeed, and under any incubation time, the decreasing order was as follows: jejunum > duodenum > ileum. For the other solutions, Al citrate, Al tartrate and Al gluconate, with a higher aluminum absorption and a lower accumulation in the mucosa, the difference between intestinal segments was minor.

We know that one important factor for aluminum absorption was the chemical form, and then, speciation was governed by pH. Van der Voet (27) showed that aluminum absorption is pH-dependent. One important aspect of the gastrointestinal tract in relation with the uptake of aluminum is its change in pH. Thus in duodenum, pH is acid (from 2 to 3 in the proximal fragment of intestine) and aluminum is on a $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$ soluble form in which aluminum is available for complexation and possible absorption. For this reason, some authors showed that the majority of aluminum absorption was in stomach or in duodenum (28,29). The pH increases progressively from distal duodenum (with intake of biliary and pancreatic secretions) to 3 to 8 in the distal ileum. Aluminum insoluble compounds are locally formed by the enhancement of pH. This phenomenon explained the increase of aluminum accumulation in jejunum. This results agree with Feinroth *et al.* (17). In the end of small intestine, aluminum accumulation was lower, due to the highest quantity of aluminum, which was previously used in insoluble aggregate or in transepithelial absorption. This result agree with the works of Partridge *et al.* (30).

More the studied compounds are highly soluble over a wide range of pH, like Al citrate, compared to other aluminum compounds, more the chelating agent may facilitate aluminum absorption via a direct effect on cellular transport mechanisms (31). To summarize at pH 4, as it was at the end of duodenum, aluminum was liable to stay on cationic state on $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$ form. The metal could stay in solution without precipitation and this even with lack of complexing agent, aluminum was bioavailable.

In jejunum and ileum, pH was nearly drawn to neutrality. Tartaric, lactic and gluconic acids were on chemical forms of tartrate, lactate and gluconate for 99 % or more. Citric acid had two functions on $-\text{COO}^-$ state and the third function with $\text{pK}_a = 6.39$ was for 80 % on $-\text{COO}^-$ and for 20 % on $-\text{COOH}$ form. With glutamic

acid, carboxylic functions were deprotonated (on $-\text{COO}^-$ form) and nitrogenous group was in non-complexing $-\text{NH}_3^+$ form.

Thus, except glutamic acid, there was no influence of pH on complexing capacity for the various tested acids.

Role of incubation time. In two solutions, we observed a decrease of aluminum accumulation in intestine without increase of aluminum appearance in plasma. A 60 minutes perfusion of Al chloride induces a decrease of aluminum accumulation in ileum. This could be the consequence of a remobilization of aluminum precipitation with a kinetic that did not take place on a shorter time. Al citrate also had a decrease of about 50 % in all intestinal segments after a 60 minutes perfusion. This duration seems to be required to get a balance transfer through the intestinal barrier. However, in plasma, we observed no difference, this could be due to the absorption which seems to be at the top since an incubation of 15 minutes.

For the other solutions, aluminum retention increased with duration. The increase is observed in duodenum and jejunum (Al tartrate), in duodenum and ileum (Al gluconate) or in ileum (Al lactate). In these cases, the increases of aluminum in intestine is correlated with a relatively important increase of aluminum absorption in plasma after 60 minutes (about + 40 %). For these solutions, the augmentation of aluminum concentration in intestine meant an increase of aluminum uptake. An augmentation of incubation time allows the absorption process in the gut, first from lumen to mucosa, and then from mucosa to bloodstream.

With Al nitrate, Al sulfate and Al glutamate, the increase of incubation's duration had little effect. In fact these solutions had a low affinity with aluminum, the aluminum accumulation in intestine immediately had a high level on the beginning of the perfusion. The formation of aluminum precipitates made the exchange and the absorption of metal difficult.

Mechanisms of aluminum absorption from the gastrointestinal tract. It has already been shown that intestinal absorption of aluminum included both paracellular passage routes along enterocyte (non-saturable by passive processes) and transcellular passage routes through the enterocyte (involving passive, facilitated and active saturable transport processes) (26, 32). Aluminum uptake appeared to consist in several phases. The initial phase is due to distribution or surface adsorption of aluminum on the intestinal mucosa. The second phase presumably results from the elimination of aluminum from the lumen and should reflect aluminum uptake by the luminal surface of the intestine (33). These phases seem to be the target of DNP, used for inhibition of active processes,

because we observed in our study a decrease of aluminum retention for different intestinal segments but no modification in appearance of aluminum in bloodstream. The concentration of DNP was directly transported from literature data (17). We also showed a significantly decrease of aluminum concentration in intestine; the transcellular pathway of metal was modified. In our study, we worked with high aluminum concentration in perfusate; that's the reason why the majority of aluminum absorption was through the paracellular and non-saturable passage. Consequently, the aluminum level in plasma was not modified because energy-dependant mechanisms were less important when quantity of aluminum in lumen was high. Munch & Schultz (34) suggested that jejunum, in particular, exhibits extensive paracellular pathway flux of cations, according to our results. In fact, Okada *et al.* (35) reported that the paracellular pathway in rat small intestine accounts for more than 90 % of the total tissue conduction. The observations suggest that a large fraction of aluminum uptake may occur between the cells, rather than through them. However, we couldn't disregard the transcellular pathway because we showed that the enhancement of aluminum concentration in perfusion's solution was accompanied by a progressively increase of aluminum retention in intestine. But no modification was observed in aluminum level of plasma for aluminum concentration in perfusate up to 48 mmol Al / l. This fact suggests the existence of a saturable mechanism for aluminum passage in bloodstream. On the other hand, with a 64 mmol Al / l perfusion, the mean of aluminum values in plasma suddenly increased with, however, important inter-individual variations. These variations could be explained by cellular lesions or by a modification in tightness of cellular junctions, which varied with individual. Thus except these values, we showed that aluminum absorption and its appearance in blood, take a saturable passage route down. Furthermore, several results indicate that one part of aluminum absorption was ruled by saturable mechanisms. These phenomenon could be either energy-dependant and / or limited carrier-dependant. The observations obtained from experiments C, D, and E about calcium, glucose and phosphorus agreed with these conclusions.

Numbers of investigators have demonstrated that at least part of the active absorption of aluminum may be due to processes shared with active absorption of calcium. Hyperparathyroidism was a factor related to aluminum enhancement uptake (36, 37). Adler and Berlyne in 1985 (35) studied the intestinal absorption of aluminum in vitamin D-deficient and vitamin D-sufficient rats. Their results suggest that aluminum was absorbed by both a non-saturable mechanism and a vitamin D-dependent saturable mechanism for which it may compete with

calcium. In the present investigation, the decrease of aluminum absorption, following acute intestinal perfusion with high calcium concentration, was observed about 50 % decrease of plasma aluminum concentration. These results agreed on the previous quoted results which suggest a competition between calcium and aluminum. Calcium and aluminum have affinity for the same cytoplasmic binding sites of soluble proteins (molecular weight of approximately 9000 to 10000 Daltons). The progress of aluminum across the enterocyte towards the basolateral membrane may be promoted by these proteins possibly in competition with calcium (38, 39). The absorption of calcium mainly takes place in duodenum (40). The aluminum absorption could be affected by factors that usually regulate calcium metabolism, like parathyroid hormone and vitamin D₃, with a stimulating action on intracellular synthesis of calcium binding-protein. But the 60 minutes incubation's time used in our experiments was shorter and no effect on aluminum absorption related to this increasing synthesis was observed. Moreover, we know that aluminum paracellular route depends on extracellular concentration of calcium by the modification of the tightness of epithelial tight junctions. Indeed, the calcium extracellular is required to close tight junctions (41). The increase of calcium concentration in perfusion's solution, closed epithelial tight junctions, and decreased the aluminum levels in plasma by diminution of paracellular aluminum flux. In contradiction with observations of Provan & Yockel (29, 42) and Yokel & Mc Namara (43) we also observed a decrease of aluminum absorption following a remove of calcium in perfusion liquid. But these studies, on calcium-deficient, were different than ours, either aluminum salt was different, or a minimum of calcium stays in solution, or the experimental protocol changed. In our study, the calcium removal in perfusate was followed by a quick decrease of aluminum absorption. We know that calcium was necessary for muscular contractions by binding on calmodulin, this mechanism occurred in intestinal peristalsis. Thus, with suppression of intraluminal calcium, the equilibrium of calcium was modified and intracellular calcium came from the cell into the intestinal lumen according to osmotic laws. The intestinal cells then lost calcium content and the aluminum supply modified the configuration of calcium binding-site and inhibited the activity of Ca²⁺-calmodulin complex (44). Furthermore, aluminum had an inhibitory action on the intestinal peristalsis (45), with a decrease in intensity of mixing movements which have an important role to optimize the contact between molecules and mucosa. Consequently the absorption was reduced, either of aluminum or of all other ions.

According to Feinroth *et al.* (17) we showed that the missing of glucose and of phosphorus inhibited aluminum absorption. Both of these parameters inhibit cellular respiration, suggesting that aluminum was actively transported. The decrease in aluminum absorption with phosphorus or glucose removal could result in reduction of intestinal peristalsis, like previously explained; but with interference on energy processes, as ATP formation, and not with modification on Ca^{2+} -calmodulin protein complex.

We have studied many factors, which have an influence on aluminum absorption with aluminum citrate salt because aluminum transport through the intestinal barrier was more important when aluminum was chelating and aluminum citrate complex was known for facilitating the absorption of the metal. However, citrate became an additional parameter in aluminum absorption investigations, already on dependence of various factors, which modified absorption and made difficult the interpretations of studies. For example, citric acid has been found to increase the absorption of other minerals including calcium (46), lead (47), and zinc (48), and could indirectly modify aluminum absorption. Aluminum absorption was facilitated by citrate and considered as to be important by several authors. However, when we established the total quantity of aluminum in organs, except intestine, after a 60 minutes perfusion with 48 mmol Al / l (higher concentration used with low inter-individual variations in the group), we only obtained 0.1 % of aluminum quantity perfused, i.e. 27 μg Al. The aluminum quantity in intestine was estimated at about 1.0 % of aluminum contained in perfusion, namely intestine and metal were directly in contact (results not communicated). Thus aluminum found in all the organs represented a very small fraction of luminal aluminum in intestine, according to Alfrey (49). And the majority of aluminum got rid through feces (50) and urine (51-53).

REFERENCES

1. W.D. Kaehny, A.P. Hegg and A.C. Alfrey, Gastrointestinal absorption of aluminum from aluminum-containing antacids, *N. Engl. J. Med.* **296**, 1389-1390 (1977).
2. J.L. Greger and M.J. Baier, Excretion and retention of low and moderate levels of aluminium by human subjects, *Food Chem. Toxicol.* **21**, 473-477 (1983).
3. M.R. Wills and J. Savory, Aluminium poisoning: dialysis encephalopathy, osteomalacia and anaemia, *Lancet* **II**, 29-34 (1983).
4. A.C. Alfrey, G.R. Legendre and W.D. Kaehny, The dialysis encephalopathy syndrome. Possible aluminum intoxication, *N. Engl. J. Med.* **294**, 184-188 (1976).
5. J.A. Flendrig, H. Kruis and H.A. Das, Aluminium and dialysis dementia, *Lancet* **I**, 1235 (1976).
6. I.S. Parkinson, M.K. Ward and D.N.S. Kerr, Dialysis encephalopathy, bone disease and anaemia: the aluminium intoxication syndrome during regular haemodialysis, *J. Clin. Pathol.* **34**, 1285-1294 (1981).
7. P. Slanina, W. Frech, A. Bernhardson, A. Cedergren and P. Mattsson, Influence of dietary factors on aluminum absorption and retention in the brain and bone of rats, *Acta Pharmacol. Toxicol.* **56**, 331-336 (1985).
8. J.L. Domingo, M. Gomez, J.M. Llobet and J. Corbella, Influence of some dietary constituents on aluminum absorption and retention in rats, *Kidney Int.* **39**, 598-601 (1991).
9. J.L. Domingo, M. Gomez, J.M. Llobet and C. Richart, Effect of ascorbic acid on gastrointestinal aluminium absorption, *Lancet* **338**, 1467 (1991).
10. M. Gomez, J.L. Domingo, J.M. Llobet, C. Richart and J. Corbella, Effect of frequent dietary organic constituents on the gastrointestinal absorption of aluminum, in *Metal ions in Biology and Medicine*, P. Collery, L.A. Poirier,

N.A. Littlefield and J.C. Etienne, eds., John Libbey Eurotext, Paris, pp. 377-381 (1994).

11. P. Slanina, W. Frech, L. Ekstrom, L. Loof, S. Slorach and A. Cedergren, Dietary citric acid enhances absorption of aluminum in antacids, *Clin. Chem.* **32**, 539-541 (1986).
12. R. Weberg and A. Berstad, Gastrointestinal absorption of aluminum from single doses of aluminum containing antacids in man, *Eur. J. Clin. Invest.* **16**, 428-432 (1986).
13. K.P. Nordal, E. Dahl, K. Sorhus, K.J. Berg, Y. Thomassen, J. Kofstad and J. Halse, Gastrointestinal absorption and urinary excretion of aluminum in patients with predialysis chronic renal failure, *Pharmacol. Toxicol.* **63**, 351-354 (1988).
14. P. Slanina and Y. Falkeborn, Aluminum concentrations in the brain and bone of rats fed citric acid, aluminum citrate or aluminum hydroxide, *Food Chem. Toxicol.* **22**, 391-397(1984).
15. E.A. Larson, S.R. Ash, J.L. White and S.L. Hem, Phosphate binding gels : balancing phosphate adsorption and aluminum toxicity, *Kidney Int.* **29**, 1131-1135 (1986).
16. G.L. Carlson and J.R. Malagelada, Chemistry of the antacids: Its relevance to antacid therapy, in *Antacids in the Eighties*, F. Halter, ed., Baltimore Urban and Schwarzenberg (1982).
17. M. Feinroth, M.V. Feinroth and G.M. Berlyne, Aluminum Absorption in the Rat Everted Gut Sac, *Mineral Electrolyte Metab.* **8**,29-35 (1982).
18. J.T. Doluisio, N.K. Billups, L.W. Dittert, E.T. Sugita and J.V. Swintosky, Drug absorption I: An *in situ* rat gut technique yielding realistic absorption rates, *J. Pharm. Sci.* **56**,1196-1200 (1969).
19. A.A. Bakir, D.O. Hryhorczuk, E. Bermane and G. Dunea, Acute fatal hyperaluminemic encephalopathy in undialysed and recently dialysed uremic patients, *Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs* **32**, 71-176 (1986).

20. R.D. Martin, Chemistry of aluminum as related to biology and medicine, *Clin. Chem.* **32**, 1797-1806 (1986).
21. R.B. Martin, Citrate binding of Al^{3+} and Fe^{3+} , *J. Inorg. Biochem.* **28**, 181-187 (1986).
22. D. Froment, B. Buddington, N.L. Miller and A.C. Alfrey, Effect of solubility on the gastrointestinal absorption of aluminum from various aluminum compounds in the rat, *J. Lab. Clin. Med.* **114**, 237-242 (1989).
23. G.B. Van Der Voet, M.F. Van Ginkel and F.A. De Wolff, Intestinal absorption of aluminum in rats : stimulation by citric acid and inhibition by dinitrophenol, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **99**, 90-97 (1989).
24. J.A. Walker, R.A. Sherman and R.P. Cody, The effect of oral bases on enteral aluminum absorption, *Arch. Intern. Med.* **150**, 2037-2039 (1990).
25. L.M.W. Owen, H.M. Crews, N.J. Bishop and R.C. Massey, Aluminum uptake from some foods by guinea pigs and the characterization of aluminium in "in vivo" intestinal digesta by SEC-ICP-MS, *Fd. Chem. Toxicol.* **32**, 697-705 (1994).
26. G.B. Van Der Voet, Intestinal absorption of aluminum, in *Aluminium in biology and medicine*, Ciba Foundation Symposium 169, J. Wiley and sons, eds., Chichester, New-York, Brisbane, Toronto, Singapore, pp. 109-122 (1992).
27. G.B. Van Der Voet and F.A. De Wolff, Intestinal absorption of aluminum in rats : effects of intraluminal pH and aluminum concentration, *J. Appl. Toxicol.* **6**, 37-41 (1986).
28. A.C. Alfrey, Systemic toxicity of aluminum in man, *Neurobiology of Aging* **7**, 5543-544 (1986).
29. S.D. Provan and R.A. Yokel, Influence of calcium on aluminum accumulation by the rat jejunal slice, *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharm.* **59**, 79-92 (1988).

30. N.A. Partridge, F.E. Regnier, J.L. White and S.L. Hem, Influence of dietary constituents on intestinal absorption of aluminum, *Kidney Int.* **35**, 1413-1417 (1989).
31. D. Froment, B.A. Molitoris, B. Buddington, N. Miller and A.C. Alfrey, Site and mechanism of enhanced gastrointestinal absorption of aluminum by citrate, *Kidney Int.* **36**, 978-984 (1989).
32. A.J. Adler and G.M. Berlyne, Duodenal aluminum absorption in the rat : effect of vitamin D, *Amer. J. Physiol.* **12**, 209-213 (1985).
33. S.D. Provan and R.A. Yokel, Aluminum uptake by the *in Situ* rat gut preparation, *J. Pharmacol. Exp. Therap.* **245** (3), 928-931 (1988).
34. B.G. Munck and S.G. Schultz, Properties of the passive conductive pathway accross *in vitro* jejunum, *J. Membr. Biol.* **16**, 163-174 (1974).
35. Y. Okada, A. Irinajiri and A. Inouye, Electrical properties and active solute transport in rat small intestine, *J. Membr. Biol.* **31**, 221-232 (1977).
36. G.H. Mayor, J.A. Keiser, D. Makdani and P.K. Ku, Aluminum absorption and distribution: effects of parathyroid hormone, *Science* **197**, 1187-1189 (1977).
37. G.H. Mayor, S.M. Sprague, M.R. Hourani and T.V. Sanchez, Parathyroid hormone-mediated aluminum deposition and egress in the rat, *Kidney Int.* **17**, 40-44 (1980).
38. A.J. Adler, J. Lee and G.M. Berlyne, Aluminum binding activity in canine duodenal mucosal extracts, *Biomed. Pharmacotherapy* **40**, 269-271 (1986).
39. M. Cochran, G. Goddard and N. Ludwigson, Aluminum absorption by rat duodenum: further evidence of energy-dependent uptake, *Toxicol. Lett.* **23**, 287-294 (1990).
40. M.J. Favus, Factors that influence absorption and secretion of calcium in the small intestine and colon, *Am. J. Physiol.* **248**, G147-G157 (1985).

41. A. Martinez-Palomo, I. Meza, G. Beaty and M. Cereijido, Experimental modulation of occluding junctions in a cultured transporting epithelium, *J. Cell Biology* **8**, 736-745 (1980).
42. S.D. Provan and R.A. Yokel, Reduced intestinal calcium and dietary calcium intake, increased aluminum absorption and tissue concentration in the rat, *Biol. Trace Elem. Res.* **23**, 119-132 (1990).
43. R.A. Yokel and P.J. Mc Namara, The influence of dietary calcium reduction on aluminum absorption and kinetics in the rabbit, *Biol. Trace Elem. Res.* **23**, 109-117 (1990).
44. N. Siegel and A. Haug, Aluminum interaction with calmodulin. Evidence for altered structure and function from optical and enzymatic studies, *Biochem. Biophys. Acta* **744**, 36-45 (1983).
45. L. Cunat, H. Membre, L. Marchal, M. Chaussidon and D. Burnel, The effects of aluminum, iron, chromium, and yttrium on rat intestinal smooth muscle *in vitro*, *Biol. Trace Elem. Res.* **64**, 43-59 (1998).
46. J.A. Harvey, M.M. Zobitz and C.Y.C. Pak, Dose dependency of calcium absorption : a comparison of calcium carbonate and calcium citrate, *J. Bone Mineral Res.* **3**, 253-258 (1988).
47. B.T. Garber and E. Wei, Influence of dietary factors on the gastrointestinal absorption of lead, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **27**, 685-691 (1974).
48. L.S. Hurley and B. Lonnerdal, Zinc binding in human milk : citrate versus picolinate, *Nutr. Rev.* **40**, 65-71 (1982).
49. A.C. Alfrey, Aluminum intoxication, *N. Engl. J. Med.* **310**, 1113-1115 (1984).
50. R. Ondreicka, E. Ginter and J. Kortus, Chronic toxicity of aluminum in rats and mice and its effects on phosphorus metabolism, *Brit. J. Ind. Med.* **23**, 305-312 (1966).

51. W. Szczekocki, and J. Chmielewski, Indices of the occupational exposure to aluminum oxide dusts, *Bull. Inst. Marit. Trop. Med. Gdynia* **29**, 37-42 (1978).
52. P. Galle, Mécanisme d'élimination rénale de deux éléments du groupe III A de la classification périodique: l'aluminium et l'indium, *C. R. Acad. Sci. Ser. III* **292**, 91-96 (1981).
53. M.A. Burnatowska-Hledin, K. Schwartz, J. Kovan and G. Mayor, Effect of desferrioxamine. (DFO). and ethylenediamine N,N'-bis. (2-hydroxyphenylacetic). acid. (EDBHPA). in aluminum. (Al). loaded rats, *Kidney Int.* **27**, 158 (1985).

FIGURE CAPTIONS

FIG. 1. Percentage of soluble aluminum in Tyrode's solution at pH 4.0 after ultrafiltration.

FIG. 2. Scheme represents influence of various parameters on aluminum retention.

FIG. 3. Appearance of aluminum in plasma after intestinal perfusion of solution containing 160 mM Al.

Results are expressed in $\mu\text{g Al/l}$, $n = 6/\text{treatment}$.

a-e Means that do not show a common superscript letter are significantly different (ANOVA, $P < 0.05$)

FIG. 4. (A) Duodenal, (B) jejunal, (C) ileal retention of aluminum, and (D) appearance of aluminum in plasma after perfusion of rat small intestine for 60 minutes. Perfusion was performed with 0.01 mmol DNP/liter or without DNP. Columns represent mean values for eight rats, SD are indicated by vertical bars. The number indicates the statistical difference between the group of rats perfused without DNP and with DNP.

Table 1: Intestinal tissue-associated aluminum after perfusion of various solutions and different incubation time.

Table 2: Experimental design and results of aluminum absorption after perfusion at varying luminal concentrations of aluminum citrate (experiment A), addition of 0.1 mmol DNP / liter (+) (experiment B) or modification of different dietary factors in Tyrode's solution (experiment C, D and E).

Table 3: Summarize with rank order of various parameters of aluminum forms tested and dissociation constants of acids (pKa).

Table 4: Formulas of organic acids used for the study and number of functional groups with an affinity for aluminum.

Table 1 – Intestinal tissue-associated aluminum after perfusion of various solutions and different incubation time.

	Controls	Inorganic solutions			Organic solutions				
	Saline	Al chloride	Al nitrate	Al sulfate	Al citrate	Al lactate	Al tartrate	Al glutamate	Al gluconate
Duodenum									
15 min	1.1 ± 0.2 ^{a1}	151.1 ± 25.7 ^b	197.6 ± 10.3 ^c	142.4 ± 24.6 ^{b1}	27.5 ± 4.5 ^{a1}	139.0 ± 12.9 ^{b1}	10.3 ± 1.9 ^{a1}	133.0 ± 6.2 ^b	6.7 ± 0.7 ^{a1}
30 min	1.0 ± 0.5 ^{a2}	150.9 ± 9.6 ^{b1}	231.4 ± 27.8 ^c	165.6 ± 23.5 ^{b2}	27.0 ± 5.5 ^{a2}	159.6 ± 14.0 ^{b2}	11.1 ± 1.2 ^{a2}	133.6 ± 10.4 ^b	9.5 ± 0.7 ^{a2}
60 min	1.1 ± 0.1 ^{a3}	139.4 ± 9.5 ^{b2}	224.3 ± 52.6 ^c	154.9 ± 27.8 ^{b3}	13.3 ± 1.4 ^{a3}	131.5 ± 12.0 ^b	14.4 ± 1.0 ^{a3}	116.3 ± 9.7 ^b	12.9 ± 0.9 ^{a3}
Jejunum									
15 min	1.1 ± 0.5 ^{a1}	288.9 ± 40.1 ^b	273.5 ± 21.4 ^b	132.0 ± 21.2 ^{d1}	32.5 ± 4.0 ^{a1}	222.6 ± 15.8 ^c	10.5 ± 0.9 ^{a1}	205.7 ± 18.2 ^c	11.3 ± 1.8 ^{a1}
30 min	1.1 ± 0.5 ^{a2}	235.4 ± 39.4 ^b	346.6 ± 55.1 ^c	147.0 ± 16.3 ^{d2}	32.5 ± 5.2 ^a	209.6 ± 20.2 ^b	9.5 ± 1.1 ^{a2}	255.1 ± 9.7 ^b	11.7 ± 1.3 ^{a2}
60 min	1.0 ± 0.6 ^{a3}	225.1 ± 26.2 ^b	446.8 ± 58.4 ^c	187.9 ± 30.3 ^{b3}	15.8 ± 2.3 ^{a3}	181.4 ± 24.2 ^b	14.5 ± 1.0 ^{a3}	177.0 ± 40.9 ^b	12.6 ± 1.0 ^a
Ileum									
15 min	0.4 ± 0.1 ^a	191.5 ± 48.3 ^b	15.3 ± 10.7 ^a	10.9 ± 2.2 ^a	27.9 ± 4.2 ^{a1}	77.0 ± 15.2 ^{c1}	8.2 ± 0.8 ^{a1}	17.9 ± 6.6 ^a	5.9 ± 0.9 ^a
30 min	0.4 ± 0.1 ^a	51.5 ± 20.3 ^{bc1}	15.5 ± 12.1 ^{ab}	10.9 ± 3.0 ^a	32.2 ± 5.1 ^{bc2}	117.8 ± 11.8 ^{d2}	11.6 ± 2.2 ^{a2}	28.4 ± 4.9 ^b	7.2 ± 1.0 ^{a2}
60 min	0.4 ± 0.1 ^a	45.5 ± 18.0 ^{b2}	6.3 ± 1.5 ^a	13.6 ± 5.5 ^a	11.6 ± 1.7 ^{a3}	135.9 ± 16.1 ^c	13.6 ± 1.3 ^{a3}	66.9 ± 12.3 ^b	11.1 ± 1.2 ^{a3}

Results are expressed in $\mu\text{g Al} \cdot \text{g}^{-1}$ weight, n = 6 / treatment.

^{a-d} Means in a line that do not show a common superscript letter are significantly different (ANOVA, P < 0.05)

¹⁻³ Means in a column that do not show a common index number are significantly different for comparison of different intestinal fragment with the same incubation time (Paired t-test, P < 0.05)

Table 2 – Experimental design and results of aluminum absorption after perfusion at varying luminal concentrations of aluminum citrate (experiment A), addition of 0.1 mmol DNP / liter (+) (experiment B) or modification of different dietary factors in Tyrode's solution (experiment C, D and E)

Experimental design							Al retention in intestine			Al levels in plasma
Experiment (no)	Group (no)	Al (mmol/l)	Ca (mmol/l)	P (mmol/l)	Glucose (mmol/l)	DNP	Duodenum ($\mu\text{g Al/g organ}$)	Jejunum ($\mu\text{g Al/g organ}$)	Ileum ($\mu\text{g Al/g organ}$)	($\mu\text{g Al/l}$)
A	1	0	1.5	0.4	5.5	-	1.1 \pm 0.1	1.0 \pm 0.6	0.4 \pm 0.1	37.7 \pm 2.1
	2	3.2	1.5	0.4	5.5	-	5.9 \pm 0.8	6.6 \pm 0.5	6.3 \pm 0.9 ^a	50.4 \pm 3.7
	3	16	1.5	0.4	5.5	-	13.3 \pm 1.4 [*]	15.8 \pm 2.3 ^{a*}	11.6 \pm 1.7 ^{a*}	141.2 \pm 14.6 ^a
	4	32	1.5	0.4	5.5	-	18.3 \pm 1.5	21.7 \pm 2.6 ^a	19.5 \pm 4.6 ^a	139.2 \pm 8.7 ^a
	5	48	1.5	0.4	5.5	-	43.9 \pm 7.9	34.8 \pm 5.4	33.6 \pm 3.9 ^b	185.2 \pm 22.7 ^a
	6	64	1.5	0.4	5.5	-	93.0 \pm 4.6	62.9 \pm 2.8	64.5 \pm 13.7 ^b	995.6 \pm 298.9
B	7	32	1.5	0.4	5.5	+	18.0 \pm 0.7	19.6 \pm 1.1	24.4 \pm 1.9	153.1 \pm 15.3
C	8	16	0	0.4	5.5	-	7.3 \pm 0.9	10.7 \pm 1.4 [*]	8.9 \pm 0.9 [*]	74.3 \pm 5.4 [*]
	9	16	3	0.4	5.5	-	15.4 \pm 1.7 [*]	14.4 \pm 1.8 [*]	9.8 \pm 1.5 [*]	73.8 \pm 19.4 [*]
	10	16	6	0.4	5.5	-	13.1 \pm 2.2 [*]	15.1 \pm 0.7 [*]	11.7 \pm 1.2 [*]	66.8 \pm 8.2 [*]
D	11	16	1.5	0	5.5	-	8.2 \pm 0.7	10.0 \pm 0.8	11.2 \pm 1.6	57.8 \pm 3.3
E	12	16	1.5	0.4	0	-	6.0 \pm 1.3	10.0 \pm 2.5	8.3 \pm 1.0	81.9 \pm 10.9

Data are mean \pm SD of n = 6 for each group.

^{a-b} Means in a column that do not show a common superscript letter are significantly different for experiment A

^{*} Means in a column that do not show an asterisk are significantly different for experiment C

(Unpaired t-test, P < 0.05)

Table 3 – Summarize with rank order of various parameters of aluminum forms tested and dissociation constants of acids (pKa)

Aluminum forms	Retention of Al in intestine			Level of Al in plasma	Affinity	pKa
	Duodenum	Jejunum	Ileum			
Al citrate	+	+	++	+++	+++++++	3.14 - 4.77 - 6.39
Al tartrate	+	+	+	++	+++++	2.98 - 4.34
Al glutamate	++	+++	++	+	+++	2.19 - 4.25 - 9.67
Al lactate	++	+++	+++	++	+++++	3.08 - 3.76
Al gluconate	+	+	+	++	+++++	3.60
Al chloride	++	+++++	+++	+	++	.
Al nitrate	+++	+++++	++	+	+	.
Al sulfate	++	++	+	+	++	.

++++ = Highest retention of aluminum in intestinal fragments, highest level of aluminum in plasma after 60 minutes of perfusion, highest affinity of molecular compounds of aluminum forms.

+ = Lowest in each of these parameters.

Table 4- Formulas of organic acids used for the study and number of functional groups with an affinity for aluminum

Acids	Formulas	Functional groups		
		-COOH	-OH	-NH ₂
CITRIC ACID	$\begin{array}{c} \text{CH}_2 - \text{COOH} \\ \\ \text{HO} - \text{C} - \text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 - \text{COOH} \end{array}$	3	1	-
LACTIC ACID	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CHOH} \\ \\ \text{COOH} \end{array}$	1	1	-
TARTRIC ACID	$\begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{CHOH} \\ \\ \text{CHOH} \\ \\ \text{COOH} \end{array}$	2	2	-
GLUCONIC ACID	$\begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{CHOH} \\ \\ \text{CHOH} \\ \\ \text{CHOH} \\ \\ \text{CHOH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$	1	5	-
GLUTAMIC ACID	$\begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH} - \text{NH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array}$	2	-	1

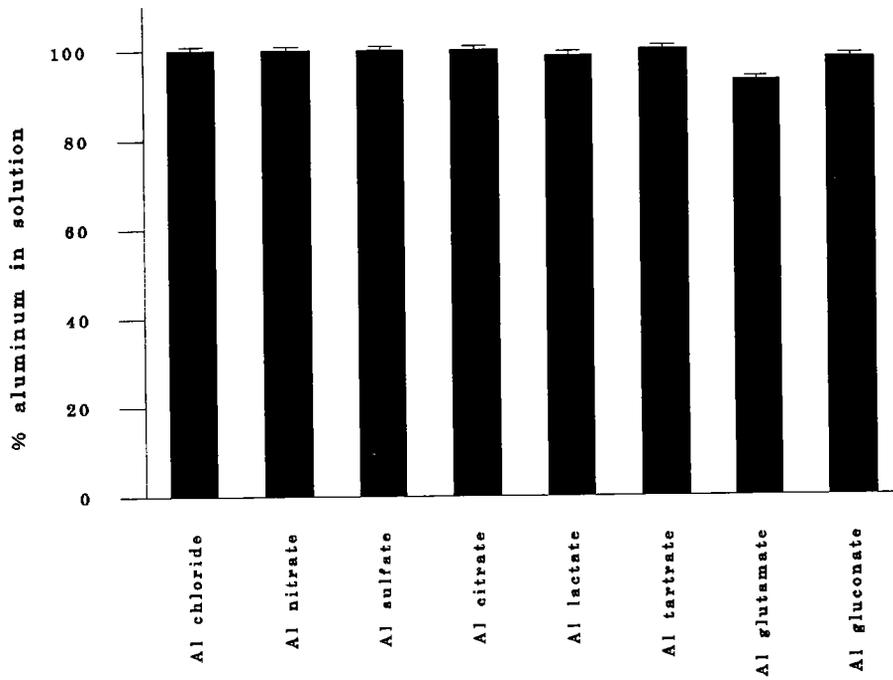
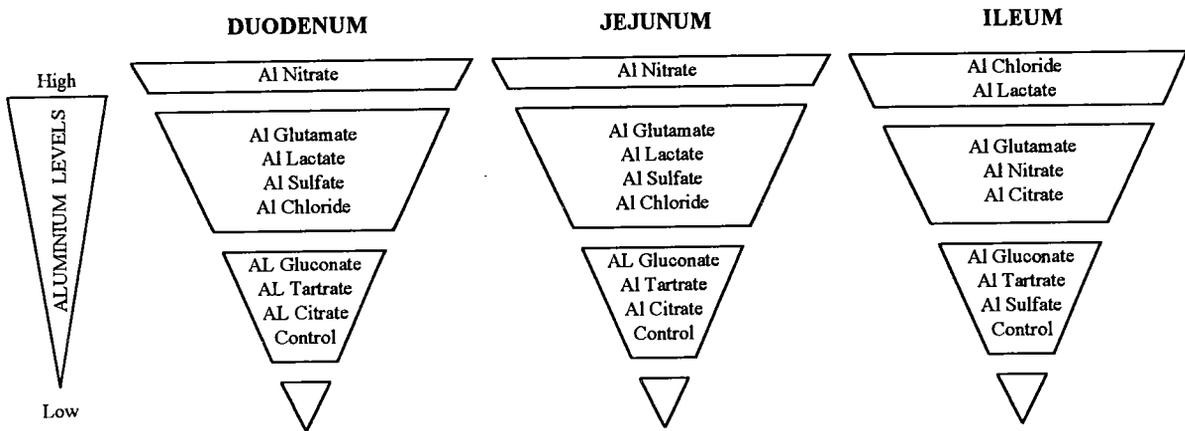
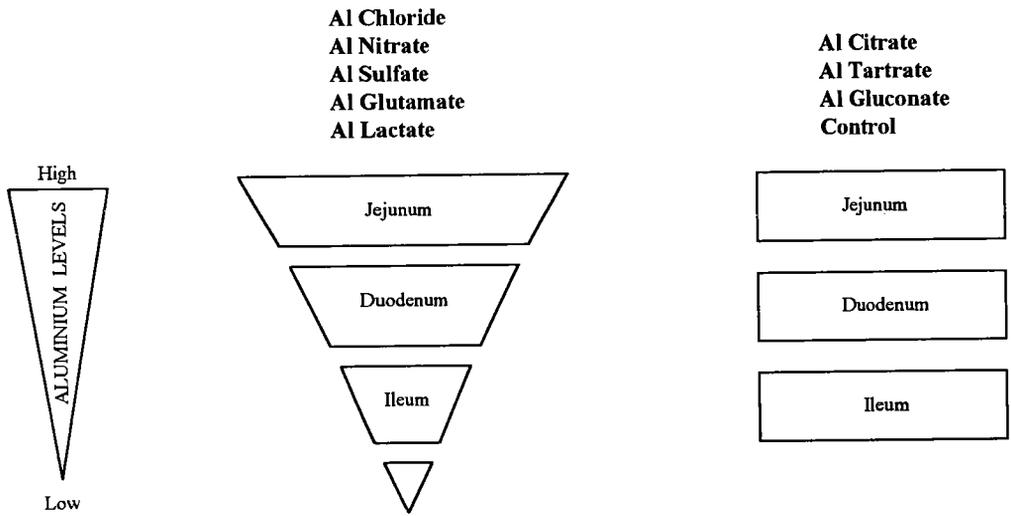


FIG. 1. Percentage of soluble aluminum in Tyrode's solution at pH 4.0 after ultrafiltration.



(a) Influence of various solutions on aluminum retention.



(b) Influence of intestinal fragments on aluminum retention.

Fig. 2 : Scheme represents influence of various parameters on aluminum retention.

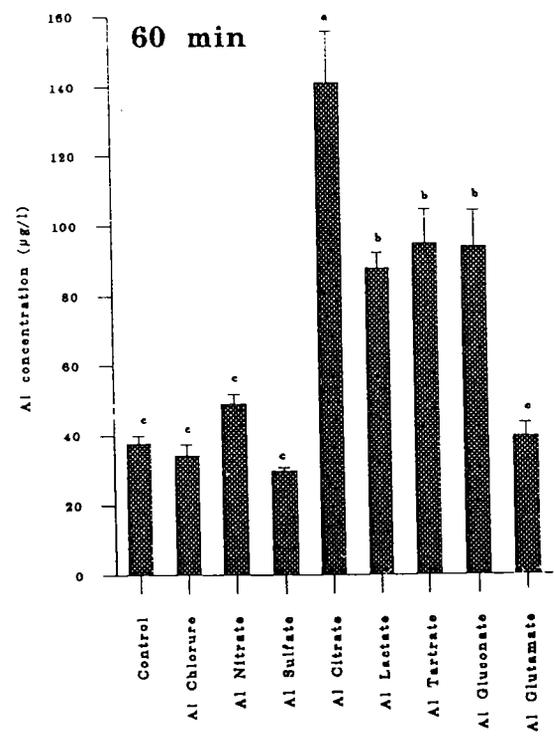
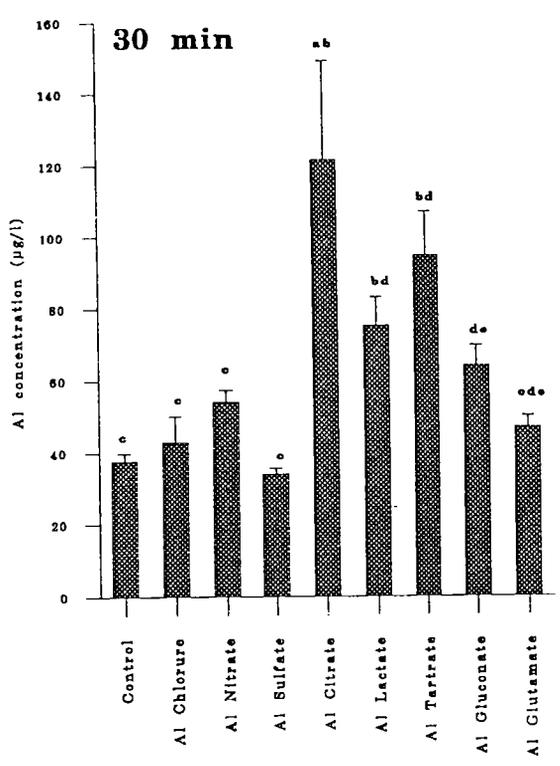
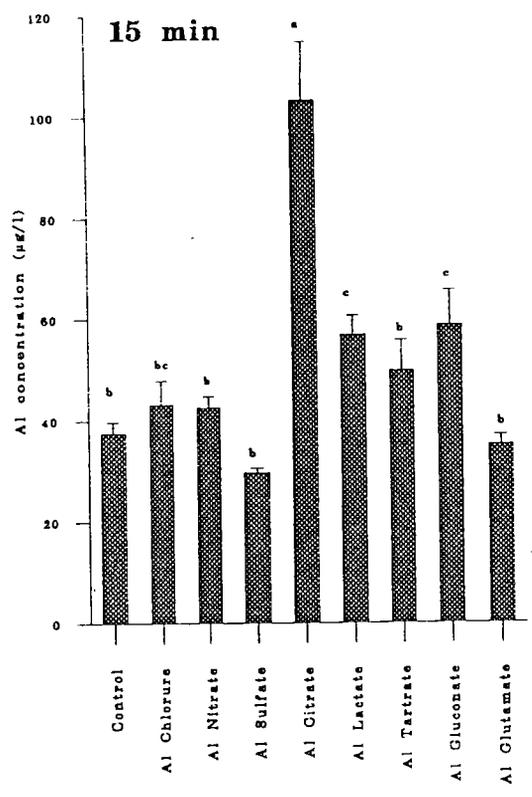
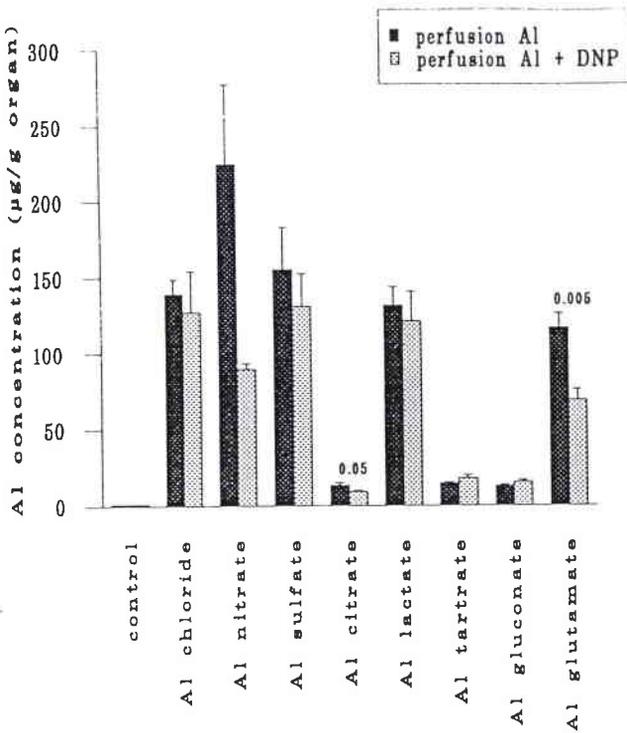
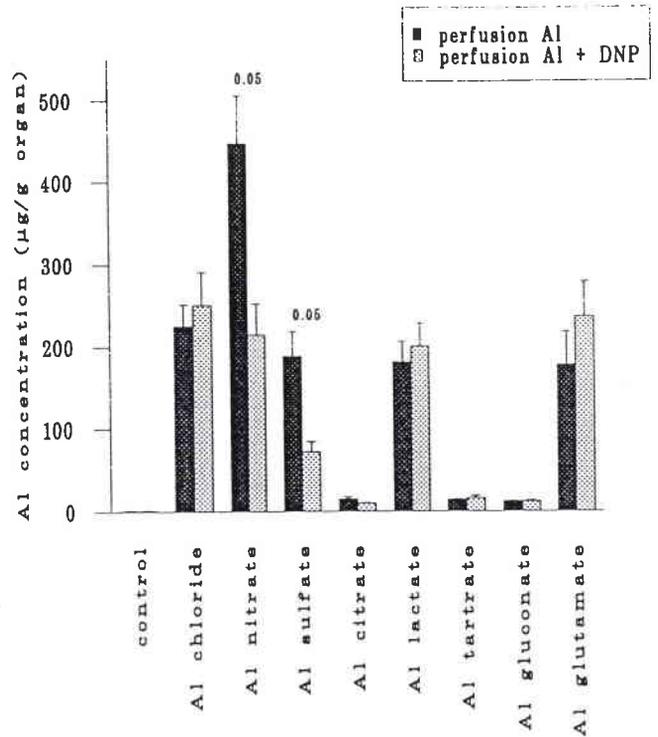


Figure 3: Appearance of aluminum in plasma after intestinal perfusion of solution containing 160 mM Al. Results are expressed in µg Al/l, n = 6/treatment. a-c Means that do not show a common superscript letter are significantly different (ANOVA, P<0.05)

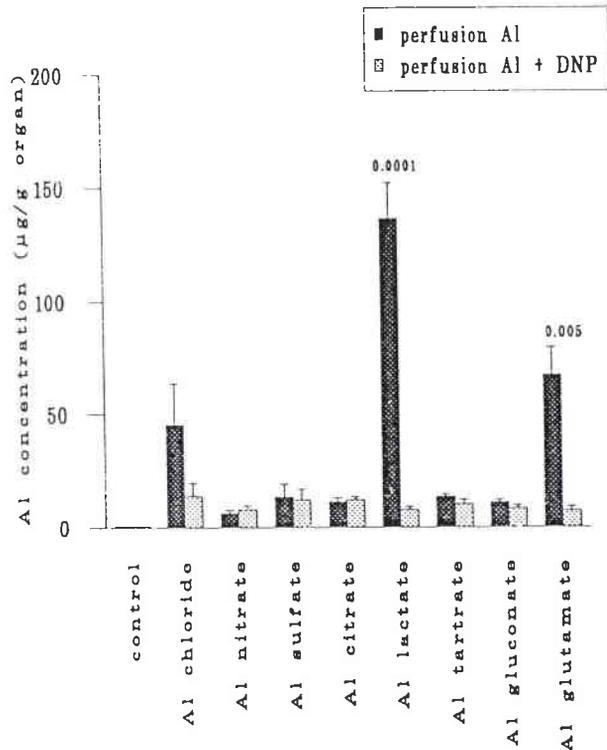
(A) DUODENUM



(B) JEJUNUM



(C) ILEUM



(D) PLASMA

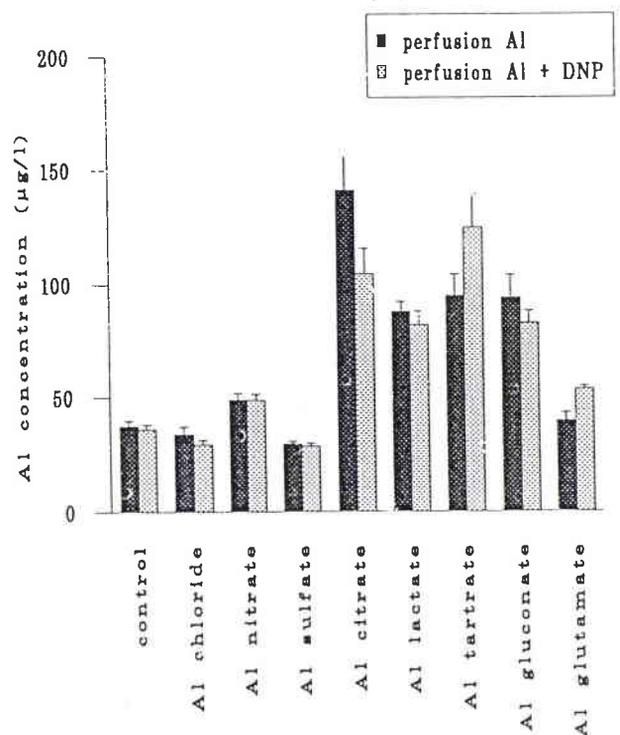
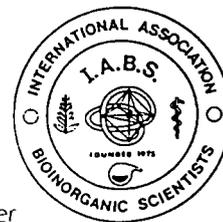


Figure 4: (A) Duodenal, (B) jejunal, (C) ileal retention of aluminum, and (D) appearance of aluminum in plasma after perfusion of rat small intestine for 60 minutes. Perfusion was performed with 0.01 mmol DNP/liter or without DNP. Columns represent mean values for eight rats, SD are indicated by vertical bars. The number indicates the statistical difference between the group of rats perfused without DNP and with DNP.

Biological Trace Element Research

Editor-in-Chief: G. N. Schrauzer



The Journal of the International Association of Bioinorganic Scientists

Dr. Daniel Brunel
Département Environnement et Santé Publique
Université Henri Poincaré, Nancy I
9 av de la Forêt de Haye, B.P. 184
54505 Vandoeuvre les Nancy Cedex, France

Department of Chemistry
University of California, San Diego
9500 Gilman Drive, 0314
La Jolla, CA 92093-0314
U.S.A.
(619) 534-5499
FAX (619) 534-5743

July 22, 1999

Dear Dr. Brunel:

I am pleased to inform you that your manuscript number 99059: *Nickel Absorption and Distribution from Rat Small Intestine, in situ*, has been accepted for publication in Biological Trace Element Research.

You should be receiving proofs from the publisher as soon as they become available. Due to large volumes of material in process, average production times are upwards of eight months. Please remember that our Editorial Office is not involved in the printing process, so in case you have any further questions regarding galley proofs or the expected publication date, please contact Mr. James Geronimo (geronimo@humanapr.com), The Humana Press, Inc., 999 Riverview Drive, Suite 208, Totowa, NJ 07512, phone (973) 256-1699, ext. 19. fax (973) 256-8341.

If you haven't done so already, would you consider becoming a member of the IABS? We are a chartered, non-profit organization created in 1973 to promote research on the biological aspects of inorganic compounds. Please let me know if you are interested in joining our association at \$350 per year, which includes a postage paid, one-year subscription to BTER at 40% savings over the regular subscription price. Visa[®], MasterCard[®] and JCB[®] cards are accepted as forms of payment.

Sincerely,

G.N.Schrauzer

Nickel Absorption and Distribution from
Rat Small Intestine *In Situ*

Nathalie Arnich, Marie-Claire Lanhers, Lisiane Cunat
Michel Joyeux and Daniel Burnel*

Département Environnement et Santé Publique, Laboratoire de
Chimie Générale Appliquée à la Médecine, Faculté de Médecine,
Université Henri Poincaré, Nancy I, 9 av de la Forêt de Haye,
B.P. 184, 54505 Vandoeuvre les Nancy cedex, France

* Author to whom correspondence should be addressed.

Abstract

The aim of this work was to study the absorption of nickel chloride in rats by means of the intestinal perfusion *in situ* technique at nickel concentrations of 1, 5, 10, 25 and 100 mg/l.

Active transport and facilitated diffusion seem to play an important role in the intestinal absorption of nickel at concentrations \leq 10 mg/l. At higher concentrations the absorption rate would be limited by saturation of the carriers. The distribution of the absorbed nickel was studied by intestinal perfusion of a 10 mg Ni/l solution for 30 or 60 min. Both in concentration and amount, the jejunum showed the higher values of absorbed nickel, followed by kidneys and liver. If all the collected organs (brain, heart, liver, lungs, spleen, kidneys and testicles) and blood, but not the small intestine are analyzed following a 60-min perfusion, it was found that 1.6% of the initial concentration had passed through the intestinal barrier.

Index entries: Nickel chloride; intestinal absorption; nickel distribution; rat intestine.

Introduction

In view of the ever-increasing accumulation of heavy metals in water and in foods, it seems necessary to have a better understanding the intestinal absorption of metal ions.

Nickel (Ni) is a first-row transition metal widely found in the environment. There are many studies on the effects of Ni by contact with the skin (1-4) and on respiratory effects following inhalation of nickel-containing dusts (5-9). Few articles have focused on the intestinal absorption of this element (10-12).

In our laboratory experiments of oral and intra-peritoneal nickel absorption *in vivo* and by the everted gut sacs and Ussing chamber techniques *in vitro* have been previously published, (13,14). The first type of experiments are time consuming and the latter allow only study of the isolated organs. These reasons led us to try an *in situ* technique to study the absorption of nickel by the small intestine of the rat. This approach seems to offer several advantages: First, the target organ is maintained in its natural environment with preservation of the circulation of blood and lymph, thus avoiding cellular damage often found in *in vitro* experiments. Second, the equipment used in this type of experiments is inexpensive and the technique itself is easy to carry out. The *in situ* technique shows good reproducibility of the results (15,16) in the nickel concentration ranges that are typical in human foodstuffs, estimated to be between 100 and 300 μg per day (17-20).

Materials and Methods

Animals

Sixty-four male albino rats of the Wistar strain (Iffa Credo, l'Arbresle, France) weighing 300 ± 50 g were used in group of 8 for each experiment. The animals were housed in

plastic cages in an air-conditioned room maintained at 22-23°C, in a 12-hour light-dark cycle for at least one week before the experiment. Food (Extra Labo standard pellets, Provins, France) and water were made available *ad libitum*.

Experimental design

Following a 20-24 h fast and under sodium pentobarbital anesthesia (60 mg/kg), the jugular vein was fitted with a #1 catheter (Biotrol Pharma). Another catheter of the same type was used for the duodenum connecting the free end of the catheter to a pump syringe (A-99, Bioblock). The ileum was fitted with a #2 catheter (Biotrol Pharma) to allow collection of the effluent. The intestine was first perfused with 0.9% saline at 37°C at a rate of 2 ml/min for 15 min to make sure that it was free of particulate matter. Afterwards, the perfusion was continued at a rate of 1 ml/min for 15 min to ensure a steady-state condition for collection of the effluent. Perfusion with nickel was carried out at a rate of 0.6 ml/min (21) using a isotonic solution of nickel(II) chloride ($\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, Merck) in 0.9% saline for treated rats. The controls were perfused with 0.9% saline only. In both cases the effluent was collected every 10 min. The measured concentration of nickel in the effluent allowed to follow the progress of the nickel solution as it was absorbed through the small intestine.

Several experiments were carried out. First, we studied the influence of several concentrations of nickel: 1.0, 5.0, 10., 25.0 and 100 mg/l on the concentration of this element in the whole small intestine and in blood after perfusion on the small intestine for 60 min. The blood was collected by cardiac and jugular vein puncture following standard laboratory techniques.

Secondly, nickel distribution in the body was studied by collecting various organs: duodenum, jejunum, ileum, brain,

heart, liver, lungs, spleen, kidneys and testicles. The organs were removed from the animal sacrificed after perfusion with a 10 mg Ni/l solution for 30- or 60-min. The water flux in the small intestine during perfusion was verified by the red phenol technique (22) using 0.9% saline in the same perfusion conditions as for nickel solutions. Subsequently, use of a 10 mg/l solution of nickel chloride allowed verification that the water flux was indeed not modified by the presence of nickel ions.

Nickel Determination

The tissues were treated with concentrated nitric acid (Suprapur, Merck) to dissolve all mineral material. Blood was first diluted 1:2 with 0.9% saline. Nickel concentrations were established by means of an atomic emission spectrometer (Spectrametrics Spectraspan V) at a wavelength of 341.48 nm. The technique has a detection limit of 2 mg/l.

Statistical Analysis

Results are expressed as the mean \pm SD. Experimental groups consisted of 8 rats. The Bartlett test was used to verify homogeneity of the variances. Comparison between groups was done by analysis of variance ANOVA. For the study concerning perfusion of nickel at different concentrations the Fisher test was used in cases where ANOVA showed significant effects. The results obtained from the organs were compared by use of Student's t-test. The null hypothesis was rejected at $p < 0.05$.

Results

Figure 1 shows the results obtained in the perfusion effluents. The data show appearance of nickel in two successive phases. First, a rapid increase of nickel concentration appears during the first 30 min of perfusion until a mean near 75% of the initial concentration is reached. This value is

observed in the 1, 5 and 25 mg Ni/l experiments and is slightly lower than that of the experiments at 10 and 100 mg/l concentrations. During this phase significant variability of the data was observed.

During the following 30 min of perfusion, a second phase with a slower rate of increase is observed until values that are about 100% of the initial concentration when 60 min have elapsed. In this second phase there was less variability of the data than that observed in the first stage of perfusion. In the plot on Fig. 1 the R-values (for rest) represent values obtained for the effluent that continued to flow after the pump had been stopped.

The results of the red phenol test showed that the water flux through the small intestine had variations of up to 10%, both in the presence- or in absence of nickel.

Figure 2 shows the results obtained in the intestine and in blood samples after 60 min perfusion with solutions at different nickel concentrations. The concentrations of nickel in organs and in blood samples showed a direct relationship to the initial concentration of nickel used for perfusion. In the small intestine, the nickel concentrations were significantly different to those of the controls, (0.19 $\mu\text{g/g}$ of nickel) for perfusions at 10, 25 and 100 mg Ni/l, which had values of 5, 7 and 19 $\mu\text{g/g}$ nickel, respectively.

In blood, there were no differences between nickel concentrations of the samples obtained by either jugular vein or cardiac puncture, allowing us to use either method for sample collection performing duplicate runs. The nickel concentration obtained with perfusion at the lowest nickel concentration of 1.0 mg/l was 28 $\mu\text{g/l}$, significantly different from the values obtained at higher concentrations of 10 mg/l (76 $\mu\text{g/l}$), 25 mg/l (93 $\mu\text{g/l}$) and 100 mg/l (208 $\mu\text{g/l}$). The effects at 10 mg Ni/l were significantly different from those ob-

tained at 1.0 and 100 mg/l. The effects of 100 mg Ni/l were significantly different from the remaining concentrations tested.

The results obtained in the different organs studied and in blood of rats by perfusion of the small intestine with a concentration of 10 mg Ni/l for 30- or 60 min are given in Table 1. In relation to the levels of nickel in the tissues, the values for controls were low, ranging from 0.06 $\mu\text{g Ni/g}$ for jejunum to 0.21 $\mu\text{g Ni/g}$ for ileum and spleen.

After perfusion for 30 min, the highest nickel concentration was found in the jejunum, which had a value 33.8 times higher than the controls. This was followed by the nickel content of the duodenum and ileum that were 9.1 and 7.4 higher than the controls, respectively. These three segments that constitute the small intestine appear as a distinct group with values above 1 $\mu\text{g Ni/g}$. The kidneys, liver and lungs showed also concentrations significantly different from those of the controls: 3.6, 2.2 and 1.4, respectively.

After perfusion for 60 min the organ with the highest nickel concentration was the jejunum, with a value 111 times that of the controls, followed by the ileum (32 times) and the duodenum, 19 times the control value. These tissues were again higher than the remaining organs, which showed always levels below 1 $\mu\text{g Ni/g}$.

If the results for 30- and 60-min perfusion are compared, values are consistently higher for longer perfusion times. Thus, in addition to kidneys (with a factor of 4.3 compared to controls), liver (2.2), lungs (1.8), heart (1.8), spleen (1.7) and testicles (1.4) all had nickel concentrations significantly higher than those of the controls. Only brain was not affected after perfusion for 60 min. In turn, concentrations of nickel in jejunum, ileum, lungs and spleen

were significantly different from those obtained after perfusion for 30 min, Table 1.

With regard to the amounts of nickel found in a number of organs, it appeared that those in the controls were low, ranging from 0.07 μg for duodenum and ileum to 0.33 μg for jejunum, except for liver which had a value of 1.23 μg .

Table 2 shows the mean value of each organ treated expressed in μg nickel present. The mean nickel concentration obtained in the controls is removed, because only the amount of nickel due to the perfusion is of interest. Following perfusion for 30 min, the three segments of the small intestine had the largest total nickel content of 4.52 μg . The values for brain, heart, lungs, spleen and testicles were not statistically significant from the controls so the total amount accumulated in the remaining organs (1.23 μg) derives mainly from liver and kidneys.

Following perfusion for 60 min, the small intestine showed again the highest accumulation of nickel, with a total of 33.22 μg , compared to 2.31 μg in all other organs. The amounts of nickel found in the brain and heart were not statistically different from the corresponding controls.

In the blood samples, the concentrations in the treated rats at 30 and 60 min, 45 $\mu\text{g Ni/l}$ and 81 $\mu\text{g Ni/l}$, respectively, were also significantly higher than the values found in blood obtained from the control animals, <10 $\mu\text{g Ni/l}$. A significant difference was observed between the two perfusion times.

Discussion

The concentration of nickel in the effluent showed that it took at least 30 min for the nickel solution to pass through the entire small intestine. After this time the concentration of nickel reaches a relatively stable level. This

result suggests that perfusion for shorter periods of time will not produce suitable results.

Although the results for the water flux experiments are not reported here, our values agree well with those reported in the literature (23-26). They showed that the water flux through the small intestine had variations of 10% or lower, both in presence or in absence of nickel, suggesting that the rats are in relatively the same conditions throughout the perfusion experiments. The relatively large variations observed for experiments with or without nickel could explain the fact that in some samples the nickel concentration in the effluent was 10% higher than the initial concentrations used.

For experiments carried out at different nickel concentrations for 60 min perfusion and considering that the weight of the small intestine and the blood volume are relatively the same for the experimental animals, the plots in Fig. 2 are taken to be representative of the amounts of nickel in these organs. These curves present similar profiles, with two successive stages. The first three points in the plot (1.0, 5.0 and 10 mg Ni/l) have a steeper slope. The subsequent points (25 and 100 mg Ni/l) show a less-pronounced slope, so the break point can be situated at a concentration of about 10 mg Ni/l.

These results suggest that different absorption mechanisms are involved in the intestinal absorption of nickel. When the concentration of the nickel solution used for the experiment is 10 mg/l or less, the active transport and facilitated diffusion mechanisms could be involved. But if the nickel concentration goes beyond 10 μ g/l, the non-specific carriers of nickel (at the surface of the erythrocytes) involved in the mechanisms of absorption would be saturated. Thus, the second part of the plots arises from passive diffusion taking place, which would take into account the concentration gradient.

This hypothesis would agree, at least partially, with previous suggestions that an active transfer of nickel takes place in the jejunum (10-12) and a passive mechanism takes over in the ileum (11-12). Another study, using the same perfusion technique (10), reported saturation of carriers at around 20 μM Ni (1 mg Ni/l), which is lower than our estimation. In addition, it was concluded that nickel is not appreciably retained by the intestinal wall, in direct contradiction with our findings.

The distribution of absorbed nickel after an *in situ* intestinal perfusion was studied at the 10 mg Ni/l concentration for two main reasons. In first place, it was the lowest concentration tested that presented significant results for the small intestine and for blood. Second, in view of the results for the nickel determination in the effluent, it took 30 min for the solution to reach the end of the small intestine. With a rate of perfusion of 0.6 ml per minute, this corresponds to approximately 20 ml of solution at 10 mg Ni/l, that is equivalent to 200 μg of nickel in direct contact with the intestinal wall. This would represent roughly the same amounts of nickel present in human foodstuffs, estimated to be between 100 and 300 μg Ni/day (15-18).

The nickel content in different organs reflects their ability to bind this element after 30 and 60 min of perfusion. At 30 min perfusion the small intestine is expected to show the highest concentrations of nickel because it is the organ in direct contact with the metal solution, agreeing well with results reported elsewhere (11-12, 27-29). Moreover, it is considered as a barrier (30) since nickel is retained by the constituents of the small intestine wall or adsorbed at the cells surface (10). After the small intestine, the highest organ concentrations are in the kidneys and liver. Based on these results, 0.8 % of the nickel perfused passed through the intestinal barrier.

Although lungs show significantly higher values than the controls, no conclusions can be derived from our data because they show a large standard deviation.

At 60 min perfusion the results are similar and, as expected, show higher nickel concentrations. Again, the small intestine has the highest values followed by the kidneys, which are the elimination organs for nickel (31-34). The amount of nickel absorbed is estimated at 1.6 %.

When the two perfusion times are compared in the case of liver, the same factor of increase between the experimental animals and the controls is observed, but not so for blood, which continues to increase at longer perfusion times. This may be an indication that hepatic cells are able to retain nickel until a stable concentration is reached after 30 min perfusion.

Overall, the results presented here are in good agreement with literature values for intestinal absorption (35-36) by perfusion (15-16), with in addition a study of the distribution in various organs of the nickel absorbed.

Considering the advantages of low cost, ease and short times of the experiments, the *in situ* technique can be used for other studies involving the intestinal absorption of other metal ions at concentrations of toxicological importance, or to assess the influence of other substances of inorganic or organic origin on the intestinal absorption of metals. It should be taken into consideration that the method requires the use of an anesthetic, which may be a factor affecting some properties of the intestinal membrane (37) and perhaps also interfering with intestinal absorption. This drawback may be overcome if the same experimental conditions are used to compare the patterns of intestinal absorption of different metals or compounds.

References

1. V. Simonetti, B.M. Manzini and S. Sedenari, *Contact Dermatitis* **39** 187-191 (1998).
2. M. Hindsen and M. Bruze, *Acta. Derm. Venereol.* **78** 367-370 (1998).
3. B. Santucci, C. Cannistraci, A. Cristaudo, E. Camera and M. Picardo, *Exp. Dermatol.* **7** 162-167 (1998).
4. W. Sosroseno, *Asian Pac. J. Allergy Immunol.* **13** 173-181 (1995).
5. Q. Zhang, Y. Kusaka, K. Sato, K. Nakakuki, N. Kohyama and K. Donaldson, *J. Toxicol. Environ. Health* **53** 423-438 (1998).
6. T. Toya, F. Serita, K. Sawatari and K. Fukuda, *Ind. Health* **35** 69-77 (1997).
7. J.M. Benson, I.Y. Chang, Y.S. Cheng, F.F. Hahn, C.H. Kennedy, E.B. Barr, K.R. Maples and M.B. Snipes, *Fundam. Appl. Toxicol.* **28** 232-244 (1995).
8. J.M. Benson, Y.S. Cheng, A.F. Eidson, F.F. Hahn, R.F. Henderson and J.A. Pickrell, *Toxicology* **103** 9-22 (1995).
9. R. Bajpai, M. Waseem and J.L. Kaw, *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.* **13** 251-257 (1994).
10. E.C. Foulkes and D. M. McMullen, *Toxicology* **38** 35-42 (1986).
11. J. Tallkvist and H. Tjälve, *Pharmacol. Toxicol.* **75** 233-243 (1994).
12. J. Tallkvist, A.M. Wing and H. Tjälve, *Pharmacol. Toxicol.* **75** 244-249 (1994).

13. S. Pluvinage, DEA de Toxicologie de l'Environnement, Metz (1996).
14. A. Morel, DEA de Toxicologie de l'Environnement, Metz (1997).
15. T. Morishita, N. Yata, A. Kamada and M. Aoki, *Chem. Pharm. Bull.* **19** 1925-1928 (1971).
16. J.V. Swintosky and E. Pogonowska-Wala, *Parm. Int.* **3** 163-167 (1982).
17. H.A. Schroeder, J.J. Balassa and I.H. Tipton, *J. Chron. Dis.* **15** 51-65 (1962).
18. B.G. Bennett, Summary Exposure Assessment for Nickel, in: *MARC Reports on Exposure Commitment Assessments of Environmental Pollutants I*, p.p. 17-30, Monitoring and Assessment Research Center, Chelsea College, University of London (1981).
19. J.A. Pennington and J.W. Jones, *J. Am. Dietet. Assoc.* **87** 1644-1650 (1989).
20. *Directives de la Qualité de l'Eau de Boisson*, Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 2nd. Edition, Geneva (1994).
21. P.N. Savina, A.E. Staubus, T. S. Gaginella and D.F. Smith, *J. Pharm. Sci.* **70** 239-243 (1981).
22. T. Koizumi, T. Arita and K. Kakemi, *Chem. Pharm. Bull.* **12** 421-427 (1964).
23. K.S. Shanker, D.J. Tocco, B.B. Brodie and C.A.M. Hogben, *J. Pharm.* **123** 81-88 (1958).
24. E.C. Foulkes, *Toxicology* **37** 117-125 (1985).

25. T. Endo, S. Nakaya and R. Kimura, *Physiol. Toxicol.* **63** 8-15 (1988).
26. M. Cochran, G. Goddar and N. Ludwigston, *Toxicol. Lett.* **51** 287-294 (1990).
27. A.E. Gómez-Ayala, M.S. Campos, I. López-Aliaga, I. Palmares, S. Hartiti, M. Barrionuello, M.J.M. Alfarez, M.C. Rodríguez-Matas and F. Lisbona, *Int. J. Vitam. and Nutr. Res.* **67** 106-114 (1997).
28. A.E. Gómez-Ayala, F. Lisbona, I. López-Aliaga, I. Palmares, M. Barrionuello, S. Hartiti, M.C. Rodríguez-Matas and M.S. Campos, *Lab. Anim.* **32** 72-79 (1998).
29. E. Tavares, O. Carreras, A. Gómez-Rubio, C. Herce-Pagliali and M.L. Murillo, *Life Sci.* **62** 787-797 (1998).
30. E.C. Foulkes, Intestinal Absorption of Heavy Metals, in: *Handbook of Experimental Pharmacology*, T.Z. Csaky Ed., **70** pp. 543-565, Springer-Verlag, Berlin (1984).
31. J.M. Haguenoer and D. Furon, Nickel, in: *Toxicologie et Hygiène Industrielle, Tome 2: Les dérivés minéraux*, Technique et Documentation, Paris pp. 543-592 (1982).
32. B. Sarkar, *Biol. Trace Elem. Res.* **21** 137-144 (1989).
33. K. Merrit, T.D. Crowe and S.A. Brown, *J. Biomed. Mater. Res.* **23** 845-862 (1989).
34. E. Nieboer, W.E. Sanford and B.C. Stace, Absorption, Distribution and Excretion of Nickel, in: *Nickel and Human Health: Current perspectives*, E. Nieboer and J.O. Nriagu, Eds., pp. 49-68, Wiley & Sons, New York (1992).
35. W.N. Solomon, F. Viteri, T.R. Schuler and F.H. Nielsen, *J. Nutr.* **112** 39-59 (1982).

Burnel et al., Nickel absorption in rat intestine

36. C.G. Elinder, L. Friberg, T. Kjellstrom, G. Nordberg and G. Oberdoester, Biological Monitoring of Metals, WHO/EHG/94 Geneva (1994).
37. H. Yuasa, K. Matsuda and J. Watanabe, *Biol. Pharmacol. Bull.* **18** 747-752 (1995).

Table 1.**Nickel concentration ($\mu\text{g/g}$) and amount (μg) in various organs and in blood ($\mu\text{g/l}$) (mean \pm SD).**

Organs	Controls		Perfused 30 min		Perfused 60 min	
	$\mu\text{g/g}$	μg	$\mu\text{g/g}$	μg	$\mu\text{g/g}$	μg
Duodenum	0.16 ± 0.03	0.07 ± 0.02	$1.46 \pm 1.22^*$	$0.27 \pm 0.24^*$	$2.98 \pm 2.30^*$	$1.46 \pm 1.3^*$
Jejunum	0.06 ± 0.03	0.33 ± 0.17	$2.03 \pm 0.74^*$	$4.39 \pm 1.16^*$	$6.66 \pm 2.86^{*\circ}$	$29.14 \pm 12.17^{*\circ}$
Ileum	0.21 ± 0.11	0.07 ± 0.2	$1.56 \pm 0.40^*$	$0.33 \pm 0.12^*$	$6.80 \pm 2.41^{*\circ}$	$3.09 \pm 0.88^{*\circ}$
Brain	0.10 ± 0.03	0.20 ± 0.06	0.09 ± 0.01	0.15 ± 0.02	0.10 ± 0.03	0.20 ± 0.05
Heart	0.14 ± 0.05	0.13 ± 0.03	0.16 ± 0.03	0.09 ± 0.03	$0.25 \pm 0.10^*$	0.18 ± 0.08
Liver	0.12 ± 0.03	1.23 ± 0.26	$0.26 \pm 0.05^*$	$1.91 \pm 0.49^*$	$0.26 \pm 0.05^*$	$2.35 \pm 0.19^*$
Lungs	0.14 ± 0.05	0.18 ± 0.05	$0.20 \pm 0.03^*$	0.20 ± 0.02	$0.25 \pm 0.05^*$	$0.29 \pm 0.06^{*\circ}$
Spleen	0.21 ± 0.07	0.13 ± 0.04	0.20 ± 0.02	0.12 ± 0.02	$0.35 \pm 0.12^{*\circ}$	$0.21 \pm 0.07^{*\circ}$
Kidneys	0.15 ± 0.03	0.32 ± 0.08	$0.54 \pm 0.09^*$	$0.85 \pm 0.15^*$	$0.64 \pm 0.23^*$	$1.20 \pm 0.46^*$
Testicles	0.07 ± 0.01	0.23 ± 0.03	0.07 ± 0.01	0.18 ± 0.03	$0.10 \pm 0.02^{*\circ}$	$0.30 \pm 0.04^*$
Blood	$\mu\text{g/L}$ < 10		$\mu\text{g/L}$ 45 ± 9		$\mu\text{g/L}$ $81 \pm 21^{*\circ}$	

*Significantly different from the controls

° Significantly different from the rats perfused for 30 min

Table 2.
Nickel accumulation (μg) in various organs (control values removed).

Organs	Perfused 30 min	Perfused 60 min
Duodenum	0.2	1.39
Jejunum	4.06	28.81
Ileum	0.26	3.02
Subtotal	4.52	33.22
Brain	0	0
Heart	0	0.05
Liver	0.68	1.12
Lungs	0.02	0.11
Spleen	0	0.08
Kidneys	0.53	0.88
Testicles	0	0.07
Subtotal	1.23	2.31

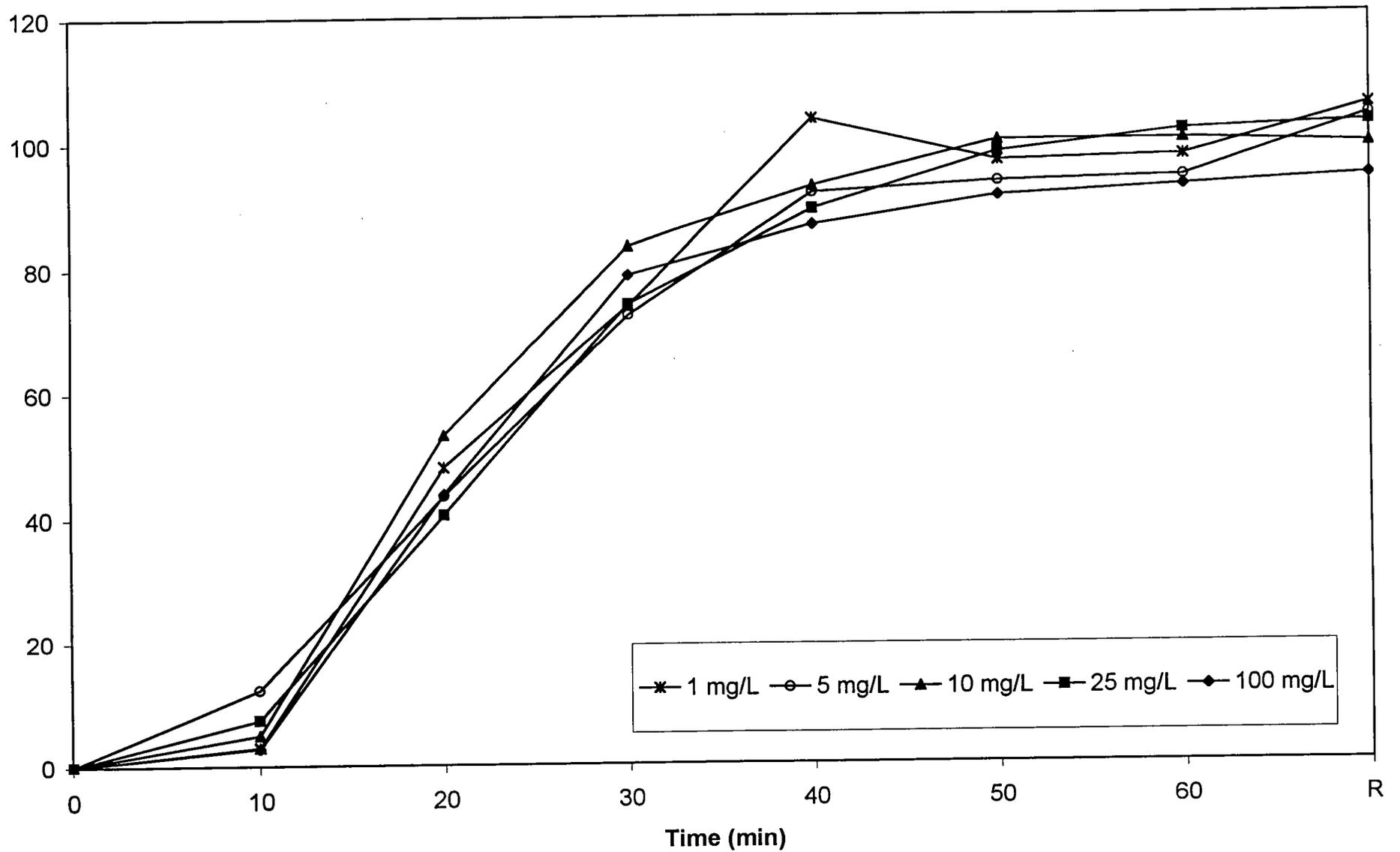


Fig 1: Concentration of nickel (percentage of the perfused concentration) in the effluent according to time.

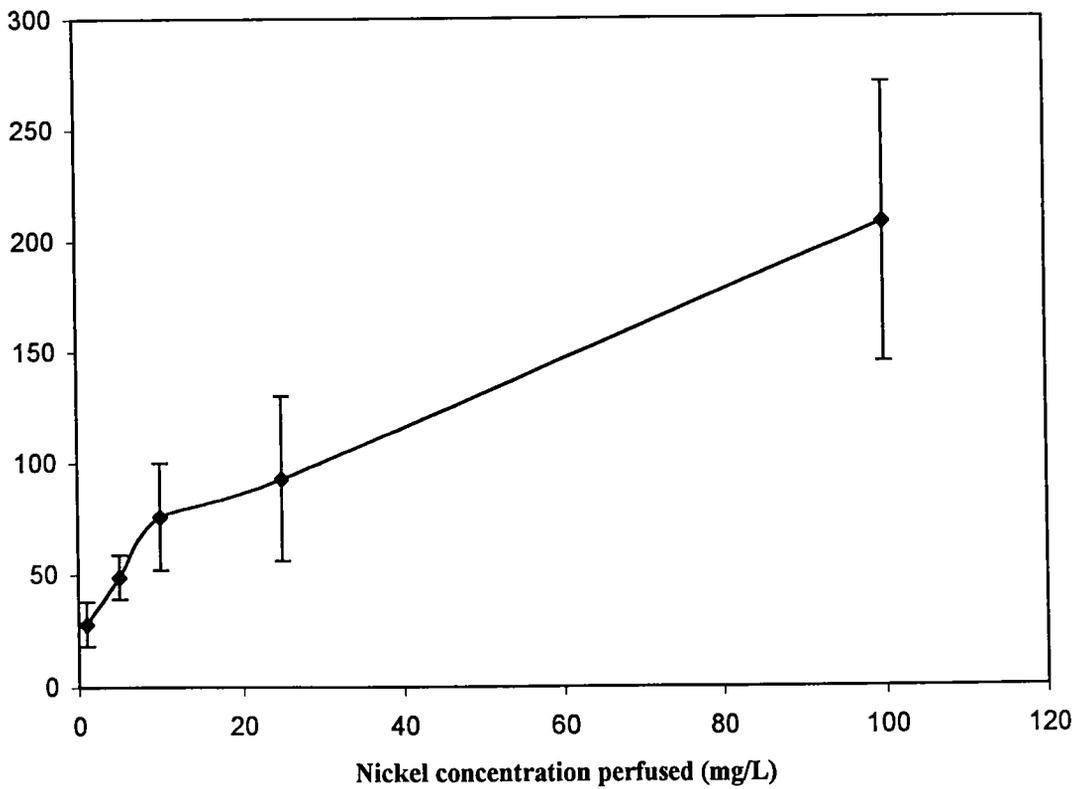
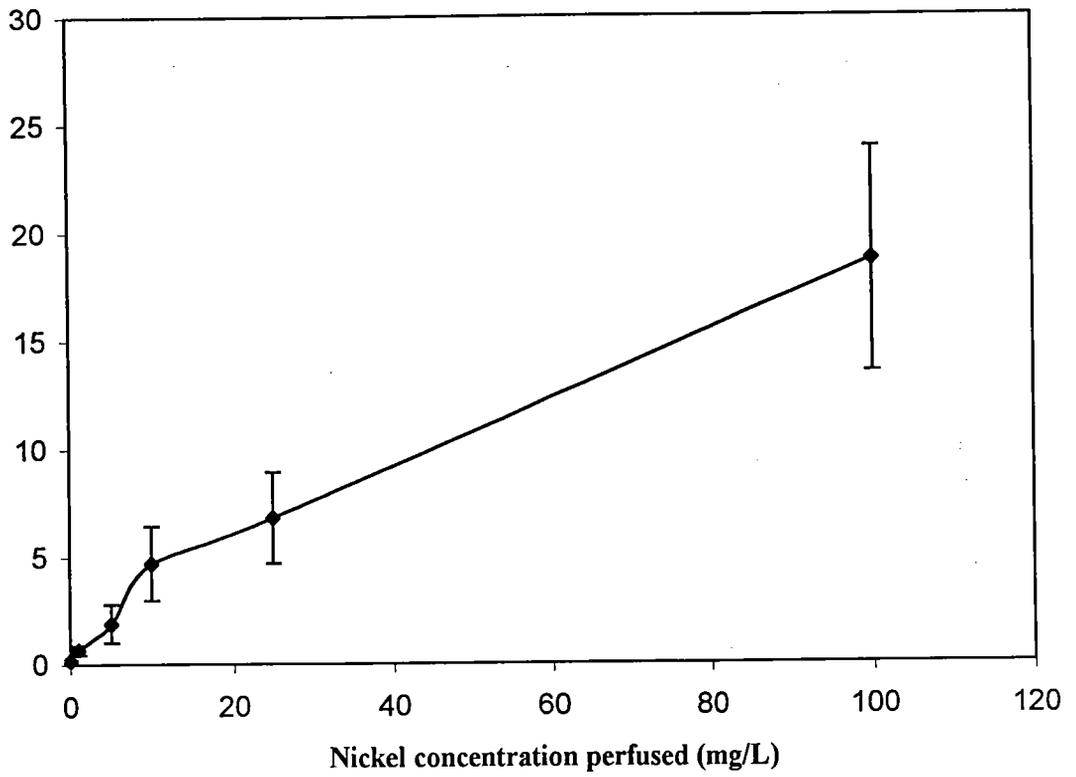


Fig 2: Nickel concentrations in the small intestine and in blood of rats according to different concentrations of nickel perfused.