

IgE spécifiques et histamino-libération

A. BERNADY, A. TAYTARD, J.M. TUNON DE LARA

RÉSUMÉ

La mesure de l'histamine libérée après activation des basophiles a été largement utilisée en recherche et parfois en pratique allergologique. Cette technique permet en effet de mettre en évidence la présence d'IgE spécifiques à la surface de ces cellules et de démontrer ainsi une sensibilisation IgE-dépendante. La comparaison de cette méthode aux techniques de référence que sont les tests cutanés et les RAST pour diagnostiquer la sensibilisation à IgE montre que l'histamino-libération est une méthode dont le rapport coût efficacité interdit son utilisation en routine. De nouvelles techniques visant à évaluer la dégranulation des basophiles (e.g. expression du CD63, dosage des leucotriènes) permettent d'en améliorer la sensibilité ou la spécificité mais n'ont pas à ce jour démontré une performance supérieure à celle des tests cutanés ou des dosages directs d'IgE spécifiques. En revanche, la recherche d'IgE vis-à-vis de certains médicaments induisant une allergie IgE-dépendante peut être réalisée en mesurant l'histamino-libération lorsque les dosages directs d'IgE ne sont pas disponibles et que les tests cutanés ne sont pas interprétables. La procédure doit cependant être validée pour une molécule donnée et comparée aux techniques utilisant l'allergène couplé à un support.

SUMMARY

Specific IgE and histamine release. – Histamine release measurement from basophils has been widely used for research purposes and has sometimes been proposed to investigate IgE sensitization ex vivo. When compared with reference techniques (i.e. skin tests and RAST), histamine release measurement is less cost-effective and should not to be used for routine diagnosis of specific allergens responsible for IgE-mediated disease. Both sensitivity and specificity of basophil degranulation study have been improved using other techniques such as the measurement of CD63 expression or leukotriene assay. However, their comparative merits with that of skin tests and RAST remain to be evaluated and their cost does not allow routine utilisation. Histamine release has nevertheless been used in drug allergy diagnosis when specific IgE assay is not available. This procedure remains to be validated for each allergenic molecule and needs to be compared with techniques using antigen coupling.

INTRODUCTION

Le diagnostic d'allergie est difficile parce qu'il repose en grande partie sur des données cliniques d'interrogatoire sans que l'on dispose d'un test biologique qui en apporte la certitude. En effet, les investigations réalisées en pratique courante consistent le plus souvent à mettre en évidence la responsabilité des immunoglobulines E (IgE) qui représentent le support biologique de l'hypersensibilité immédiate, mécanisme à l'origine d'un

grand nombre d'allergies. La mise en évidence d'IgE spécifiques, reflétant la sensibilisation à l'allergène, peut se faire selon plusieurs méthodes, directes ou indirectes, plus ou moins coûteuses, variant en sensibilité et spécificité [1]. Cependant, il est clair que la découverte d'IgE spécifiques n'est que le témoin passif d'une sensibilisation, qui pour certains antigènes (e.g. acariens) touche une grande proportion de la population générale, et qui en aucun cas ne prouve la pathologie allergique, même si elle argumente en sa faveur [2].

Service des Maladies Respiratoires, Hôpital du Haut Lévéque, CHU de Bordeaux, 5, av. de Magellan, 33604 PESSAC Cedex.

Tirés à part : Pr J.M. Tunon de Lara (même adresse).

BERNADY A., TAYTARD A., TUNON DE LARA J.M. – IgE spécifiques et histamino-libération. *Rev. fr. Allergol.*, 1996, **36** (8), 884-888.

La mesure de l'histamine libérée par les basophiles sanguins est une des méthodes permettant de détecter la présence dans l'organisme d'IgE spécifiques [3]. Largement utilisée en recherche fondamentale, son utilité en pratique courante est plus discutable en raison des difficultés techniques d'interprétation et de son rapport coût/efficacité. Utilisée parfois afin de détecter des IgE spécifiques pour lesquelles on ne dispose pas de dosage direct, sa place et ses limites méritent d'être analysées à la lumière des techniques immunologiques actuelles.

IgE SPÉCIFIQUES : MÉTHODES DE DÉTECTION

A distance des symptômes, les arguments diagnostiques en faveur de l'origine allergique d'une pathologie se limitent le plus souvent à objectiver un état de sensibilisation IgE-dépendant vis-à-vis d'un allergène suspect. Il est alors possible de détecter ces IgE spécifiques, soit en circulation dans l'organisme, soit fixées à la surface de cellules exprimant un récepteur spécifique pour les IgE, le plus souvent de haute affinité (FcεRI). Différentes méthodes sont utilisables pour cela.

Les IgE spécifiques circulantes

La détection d'IgE spécifiques en pratique courante se fait par des méthodes de dosage utilisant un support solide couplé à l'allergène, un anticorps spécifique anti-IgE, et un système de marquage radioactif ou immuno-enzymatique. La méthode la plus courante est celle du Radio-Allergo-Sorbent-Test (RAST) mais de nombreuses techniques sont maintenant disponibles avec de bons résultats de spécificité et sensibilité. Ces techniques de dosage sont en fait limitées par le nombre et la qualité des allergènes que l'on veut étudier, ainsi que par la nature des épitopes impliqués dans la réaction allergique [4]. Par ailleurs, la valeur accordée aux IgE circulantes au sein de la réponse allergique doit être modulée. En effet, celle-ci n'est pas toujours le reflet de la production d'IgE au niveau d'un organe [5] ni celui de la fixation des IgE sur leur récepteurs spécifiques au niveau tissulaire [6]. Ceci est du reste fréquemment observé en pratique lorsque des patients authentiquement allergiques (e.g. allergie au venin d'hyménoptère) ont des concentrations normales d'IgE totales et parfois des quantités indétectables d'IgE spécifiques circulantes. Si la détection des IgE spécifiques semble importante à considérer dans le diagnostic allergologique, il est alors peut-être préférable d'étudier les IgE fixées au niveau cellulaire.

Les IgE spécifiques fixées à la surface des cellules

La méthode la plus performante pour étudier la sensibilisation aux allergènes est la réalisation de tests cutanés qui permettent d'explorer *in vivo* la fixation d'IgE spécifiques à la surface des mastocytes et leur activation au niveau cutané par l'allergène reconnu. Il s'agit en fait d'une exploration indirecte s'appuyant sur l'activation des mastocytes cutanés par le biais des IgE spécifiques et conduisant à la libération de nombreux médiateurs dont les effets vasculaires et neurogéniques se traduisent par une papule et un érythème [7]. Les méthodes simplifiées utilisant les pricks ont maintenant valeur de référence pour la plupart des cas et leur résultat montre une sensibilité supérieure à celle des RAST pour un coût inférieur [1, 8]. Les limites rencontrées par les tests cutanés sont les modifications de la réactivité cutanée liées au sujet ou aux médicaments ainsi que les effets directs que peuvent avoir certains allergènes sur les cellules mastocytaires pouvant provoquer des réactions faussement positives indépendantes de la réponse à IgE. *Ex vivo*, il est également possible d'étudier les IgE spécifiques fixées à la surface des basophiles circulants en activant ces cellules avec l'allergène responsable de la sensibilisation à IgE. La mesure de l'activation peut être faite en mesurant la quantité de médiateurs libérés comme l'histamine reflétant ainsi la présence d'IgE anti-allergènes à la surface cellulaire. Comme pour les tests cutanés, les allergènes peuvent cependant avoir une action directe sur les cellules et l'activation des basophiles peut être influencée par des facteurs ne dépendant pas de la sensibilisation à IgE.

DÉGRANULATION DES BASOPHILES, HISTAMINO-LIBÉRATION ET IgE SPÉCIFIQUES

L'activation des mastocytes et des basophiles, cellules exprimant le récepteur FcεRI pour les IgE, est donc un moyen d'étude des IgE spécifiques et par ce biais de la sensibilisation aux allergènes. Dans le sang circulant, seuls les basophiles sont présents et peuvent être facilement prélevés pour analyser leur dégranulation induite par l'allergène. Les tests de dégranulation des basophiles (TDBH) consistent à étudier en microscopie le nombre de polynucléaires basophiles dégranulés après contact avec l'allergène chez le sujet allergique et chez un témoin sain [9]. En cas de dégranulation, les basophiles ne prennent plus la coloration métachromatique et peuvent être identifiés puis quantifiés. Les résultats du TDBH sont tributaires du nombre de basophiles circulants, habituelle-

ment en faible proportion dans le sang ce qui conditionne la fiabilité des résultats. Différentes techniques ont été essayées pour enrichir le prélèvement en basophiles par gradients de densité mais la mauvaise reproductibilité du TDBH a été à l'origine de son abandon progressif. Une autre méthode pour quantifier la dégranulation des basophiles (et donc pour apprécier de manière indirecte la présence d'IgE spécifiques à leur surface) est la mesure des médiateurs libérés ou produits lors de l'activation. Le médiateur préformé et majoritairement libéré après activation IgE-dépendante du basophile est l'histamine dont le dosage peut être fait dans le surnageant cellulaire par différentes méthodes. La méthode fluorimétrique est la plus ancienne, la moins coûteuse mais sa réalisation est délicate et sa sensibilité inférieure à celle des méthodes immunologiques [3, 10]. En effet les techniques radio-immunologiques permettent une mesure très sensible et très spécifique de l'histamine mais d'un coût beaucoup plus élevé à rapporter au bénéfice apporté par le test en question... Alors que l'histamine est le seul médiateur stocké mesurable à partir d'un basophile, les mastocytes contiennent dans leur granules d'importantes quantités de protéases et en particulier de tryptase, médiateur spécifique de cette cellule et libéré dans le sang lors d'un accident anaphylactique. Ce médiateur, en trop faible quantité dans les basophiles n'est donc pas utilisable dans l'étude des IgE spécifiques fixées sur les cellules circulantes. En revanche, d'autres médiateurs néoformés au décours d'une activation par les IgE pourraient être mesurés dans le surnageant d'une préparation de basophiles. Il s'agit essentiellement des médiateurs issus du métabolisme des phospholipides membranaires comme la PGD₂ ou le LTC₄. Différentes techniques de dosages permettent de mesurer leur concentration dans un surnageant cellulaire, et des méthodes rapides de type ELISA sont actuellement disponibles pour cela. Cependant certains produits instables comme la PGD₂ nécessitent des techniques de dosage plus sophistiquées [10]. La mesure de tel ou tel médiateur pour évaluer l'activation du basophile pourrait être importante si elle contribue à identifier le mécanisme d'activation en cause. En effet, un des facteurs de confusion limitant la valeur de ces différents dosages est l'activation de la cellule par d'autres stimuli que les IgE dimérisées par l'allergène. Il peut s'agir de facteurs extrinsèques et au premier rang l'allergène lui-même, ou de facteurs intrinsèques liés au terrain du sujet allergique (histaminolibération spontanée, effets d'autres facteurs sériques). Il convient alors de remarquer que la genèse des médiateurs lipidiques semble exclusivement liée à l'activation des récepteurs spécifiques des IgE [11] alors que les médiateurs préformés et stockés dans les granules peuvent être libérés après sti-

mulation de la cellule par des facteurs indépendants des IgE (e.g. codéine, 48/80, morphine, neuropeptides). La mesure des métabolites de l'acide arachidonique pourraient dans ce sens avoir une meilleure spécificité que celle de l'histamine mais nécessite la réalisation d'études permettant de valider la procédure. Enfin, il faut évoquer ici l'utilisation d'autres techniques comme la cytométrie de flux pour apprécier l'activation des basophiles. Il a été ainsi démontré que les basophiles activés expriment le CD63 (déterminant antigénique présent sur la membrane des granules) qui peut être reconnu par un anticorps monoclonal spécifique et mesurable en cytométrie. Cette expression peut être multipliée par 100 au cours de l'activation cellulaire induite par les anti-IgE ou par des stimuli non dépendant des IgE [12] ce qui n'améliore pas la spécificité du test alors que la technique de cytométrie permet d'en augmenter la sensibilité. De plus, le niveau d'expression, bien corrélé à la quantité d'histamine libérée, varie en fonction des sujets indépendamment de la stimulation à IgE, ce qui rend compte d'un « contenu » en antigène CD63 aussi variable que le contenu en histamine des basophiles. Ce type de technique n'apporterait donc pas de progrès dans la détection des IgE spécifiques fixées à la surface cellulaire.

LA MESURE DE L'HISTAMINO-LIBÉRATION A-T-ELLE UNE PLACE EN PRATIQUE ALLERGOLOGIQUE

Parmi les méthodes visant à détecter la présence d'IgE spécifiques dans l'organisme, les techniques s'appuyant sur la mesure de l'histaminolibération ne sont pas les plus performantes : coût élevé, difficultés techniques, faible spécificité... Les méthodes visant à les remplacer en amélioreraient la technicité, parfois la sensibilité ou la spécificité, mais n'apportent pas plus d'information que le dosage d'IgE. La réalisation de tests cutanés reste donc la méthode indirecte de référence pour démontrer une sensibilisation IgE dépendante, et celle-ci peut être facilement confirmée, lorsque cela est nécessaire, par une mesure directe des IgE circulantes [1, 8]. Cependant, si la sensibilisation à la plupart des allergènes peut être ainsi explorée, celle à certaines substances responsables de manifestations allergiques est parfois plus difficile à investiguer. En effet, les kits de mesure d'IgE spécifiques ne sont pas disponibles pour tous les allergènes, un certains nombres d'entre eux étant rarement recherchés et donc non commercialisés, certains autres étant difficilement couplés à une phase solide ou à un autre support nécessaire à la technique de dosage. La mise en évidence d'IgE spécifiques peut alors être étudiée en histamino-

libération, en s'entourant des précautions techniques nécessaires à ce type de dosage, ce qui suppose de valider la technique pour une molécule donnée et interdit les tests faits au cas par cas, peu interprétables. Ce type d'approche a été réalisée pour certains médicaments, responsables de réactions allergiques, pour lesquels on ne dispose pas de RAST dans le commerce. Ainsi, la sensibilisation IgE aux myorelaxants a pu être étudiée par mesure de l'histamino-libération leucocytaire [13, 14] avant qu'une méthode de dosage des IgE grâce à un couplage myorelaxant - sépharose ne soit mise au point [15]. Les méthodes d'histamino-libération ont une sensibilité de 53 à 90 p. cent en fonction des études et de l'adjonction de deutérium aux préparations. Lorsque l'on compare les deux méthodes (histamino-libération vs dosage des IgE), leur résultats sont concordants mais la mise en évidence directe des IgE reste la méthode la plus sensible. En revanche, les techniques d'histamino-libération permettent pour certains auteurs de mieux identifier les réactions croisées entre myorelaxants [14]. La mesure de l'histamino-libération a également été utilisée avec succès pour rechercher une sensibilisation à certains médicaments comme la rifamycine [16] mais la sensibilité des tests cutanés reste supérieure. En fait, ces observations ne sauraient encourager l'utilisation de l'histamino-libération comme test diagnostique de l'allergie médicamenteuse. En effet, il est admis que seule une partie des allergies médicamenteuses (e.g. myorelaxants, pénicilline) répond à un mécanisme IgE-dépendant alors que la plupart d'entre elles sont liées à une réponse anormale du lymphocyte T pour laquelle on ne dispose pas de test diagnostique [17]. De plus, les allergies médicamenteuses IgE dépendantes sont provoquées par des allergènes qui sont rarement multivalents et qui nécessitent d'être couplés à une protéine pour permettre la dimérisation de récepteurs à IgE. La mise en évidence d'une IgE spécifique d'un haptène complique alors singulièrement la tâche diagnostique et les techniques d'étude des basophiles activés sont prises en défaut. De nombreuses étapes devront donc être encore franchies avant de disposer de tests diagnostiques fiables pour confirmer le diagnostic d'allergie médicamenteuse [17].

D'autres types d'informations semblent pouvoir être tirés des tests d'histamino-libération. En effet, de nombreux travaux ont été consacrés au concept de « releasability » des basophiles et des mastocytes visant à mesurer l'histamine spontanément libérée, et pouvant traduire l'aptitude d'un patient à développer un tableau clinique en rapport avec une histamino-libération non spécifique. En fait, le niveau d'histamino-libération spontanée varie très largement en fonction des études mais semble augmenté chez le sujet allergique et/ou asthmatique [18, 19].

De nombreux facteurs sont susceptibles de modifier l'histamino-libération comme la fixation d'IgE non spécifiques [20], les médicaments utilisés dans l'asthme [21] ou un certain nombre de cytokines produites par les cellules inflammatoires et regroupées sous le terme d'« histamine releasing factors » [22]. L'analyse scientifique de la libération d'histamine suppose donc d'étudier la relation entre la concentration d'un facteur de modulation et le pourcentage d'histamine libérée. Ceci a été fait avec les IgE permettant de définir un paramètre de sensibilité (estimé par le nombre de molécules d'IgE fixées à la surface cellulaire induisant une histaminolibération de 50 p. cent) et un paramètre de réactivité ou réponse maximale (estimé par le % d'histamino-libération obtenu par la fixation d'un nombre optimal d'IgE) [23]. Ce type d'approche permettra peut-être de quantifier la réponse allergique et sa modulation thérapeutique mais reste, pour le moment, une technique de recherche fondamentale non applicable en routine. De plus, ces données confirment les difficultés qui existent lors de la réalisation des tests d'histamino-libération pour mettre en évidence une sensibilisation à IgE et permettent de comprendre le manque de fiabilité des tests réalisés avec des basophiles de donneur.

CONCLUSION

La mesure de l'histamino-libération a largement contribué à la compréhension d'un certain nombre de mécanismes de la réaction allergique et a permis d'analyser de manière indirecte la sensibilisation IgE dépendante. La comparaison des différentes méthodes visant à identifier les IgE spécifiques d'un allergène montre que l'histamino-libération a un rapport coût/efficacité beaucoup plus élevé que le dosage direct des IgE spécifiques circulantes, et *a fortiori* que les tests cutanés, pour l'immense majorité des allergènes. Les techniques de routine (i.e. tests cutanés et RAST) sont en fait prises en défaut pour des allergènes médicamenteux ou professionnels qui se comportent comme des haptènes ou qui mettent en jeu d'autres mécanismes que la réponse à IgE. Dans ce cas la technique d'histamino-libération n'apporte pas plus d'information et ne doit pas être utilisée. Reste le problème des allergènes induisant une réponse à IgE pour lesquels on ne dispose pas de dosage direct, et dont les tests cutanés restent négatifs ou non interprétables. Les techniques d'histaminolibération sont alors à comparer avec les autres techniques utilisant l'allergène couplé à un support et doivent être validées pour la molécule donnée. Ces contraintes restreignent considérablement l'utilisation de ces tests en pratique courante.

RÉFÉRENCES

1. American Academy of Allergy and Immunology. The use of in vitro tests for IgE antibody in the specific diagnosis of IgE-mediated disorders and in the formulation of allergen immunotherapy. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1992, 90, 263-267.
2. Platts-Mills T.A.E., Ward G.W., Sporik R., Gelber L.E., Chapman M.D., Heymann P.W. – Epidemiology of the relationship between exposure to indoor allergens and asthma. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.*, 1991, 94, 339-345.
3. Siraganian R.P., Brodsky M.J. – Automated histamine analysis for in vitro allergy testing. I. A method utilising allergen-induced histamine release from whole blood. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1976, 57, 525-529.
4. Tunon de Lara J.M. – Régulation de la réponse allergique par les épitopes T et B. *Rev. Fr. Allergol. Immunol. Clin.*, 1995, 35, 525-529.
5. Vernejoux J.M., Tunon De Lara J.M., Villanueva P., Vuillemin L., Taytard A. – Salivary IgE in allergic patients and normal donors. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 1994, 104, 101-103.
6. Tunon de Lara J.M., Redington A.E., Bradding P., Church M.K., Hartley J.A., Semper A.E., Holgate S.T. – Dendritic cells in normal and asthmatic airways : expression of the α -subunit of the High affinity Immunoglobulin E receptor (Fc ϵ RI- α). *Clin. Exp. Allergy*, 1996, 26, 648-655.
7. Bousquet J., Michel F.B. – Tests cutanés d'allergie immédiate. In : *Allergologie*. J. Charpin, D. Vervloet, Paris, Medecine Sciences Flammarion. pp. 386-395, 1992.
8. American Academy of Allergy and Immunology. Skin testing and radioallergosorbent testing (RAST) for diagnosis of specific allergens responsible for IgE-mediated diseases. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1983, 72, 515-517.
9. Leynadier F., Luce H., Dry J. – Méthodologie simplifiée du test de dégranulation des basophiles humains. *Rev. Fr. Allergol.*, 1981, 21, 173-175.
10. Hamberger C. – Dosage des médiateurs des mastocytes et des basophiles. In : *Mastocytes-Basophiles*. Avancées en biologie clinique. Paris, Éd Biotem 1996, pp. 97-106.
11. Church M.K., El Lati S.G., Caulfield J.P. – Neuropeptide-induced secretion from human skin mast cells. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.*, 1991, 94, 308-310.
12. Knol E.F., Mul F.P.J., Jansen H., Calafat J., Roos D. – Monitoring human basophil activation via CD63 monoclonal antibody 435. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1991, 88, 328-338.
13. Vervloet D., Arnaud A., Senft M., Dor P., Bongrand P., Charpin J., Alazia M. – Leucocyte histamine release to suxamethonium in patients with adverse reactions to muscle relaxant. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1984, 75, 338-342.
14. Mata E., Guéant J.L., Moneret-Vautrin D.A., Bermejo N., Gérard P., Nicolas J.P., Laxenaire M.C. – Clinical evaluation of in vitro leucocyte histamine release in allergy to muscle relaxant drugs. *Allergy*, 1992, 47, 471-476.
15. Guéant J.L., Mata E., Monin B., Moneret-Vautrin D.A., Kamel L., Nicolas J.P., Laxenaire M.C. – Evaluation of a new reactive solid phase for radioimmunoassay of serum specific IgE against muscle relaxant drugs. *Allergy*, 1991, 46, 452-458.
16. Cardot E., Tillié-Leblond I., Jeannin P., Facon A., Breuil K., Patte F., Tonnel A.B. – Anaphylactic reaction to local administration of rifamycin SV. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1995, 95, 1-7.
17. De Weck A.L. – Techniques d'exploration en allergie médicamenteuse. *Rev. Fr. Allergol. Immunol. Clin.*, 1996, 36, 282-288.
18. Casolaro V., Galeone D., Giacummo A., Sanduzzi A., Mellillo G., Marone G. – Human basophil/mast cell releasability. V. Functional comparisons of cells obtained from peripheral blood, lung parenchyma, and bronchoalveolar lavage in asthmatics. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1989, 139, 1375-1382.
19. Casolaro V., Spadaro G., Marone G. – Human basophil releasability. VI. Changes in basophil releasability in patients with allergic rhinitis of bronchial asthma. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1990, 142, 1108-1111.
20. Tunon de Lara J.M., Okayama Y., Savineau J.P., Marthan R. – IgE induced passive sensitization of human isolated bronchi and lung mast cells. *Eur. Respir. J.*, 1995, 8, 1861-1865.
21. Lebel B., Arnoux B., Chanez P., Bougeard Y.H., Daures J.P., Bousquet J. – Ex vivo pharmacologic modulation of basophil histamine release in asthmatic patients. *Allergy*, 1996, 51, 394-400.
22. Baeza M.L., Reddigari S., Haak-Frensscho M., Kaplan A.P. – Purification and further characterization of human mononuclear cell histamine-releasing factor. *J. Clin. Invest.*, 1989, 83, 1204-1210.
23. MacGlashan D.W. – Releasability of human basophils : cellular sensitivity and maximal histamine release are independent variables. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1993, 91, 605-615.

