



Allergènes de contact forts Strong contact sensitizers

J.-P. Lepoittevin

Laboratoire de dermatochimie CNRS-UMR 7177, clinique dermatologique,
institut de chimie, CHU de Strasbourg, université Louis-Pasteur, 1, place de l'Hôpital, 67091 Strasbourg cedex, France

Résumé

Deux paramètres importants contrôlent la sensibilisation à une molécule xénobiotique : le potentiel sensibilisant, qui est une donnée intrinsèque à chaque molécule, et l'exposition. Il est souvent difficile de quantifier l'exposition d'un patient à un allergène donné, ce qui rend difficile la définition des allergènes forts. En effet, la prévalence d'un allergène, telle que l'on peut la déterminer par la réalisation de tests épicutanés, n'est pas le reflet de sa force, mais la combinaison du potentiel sensibilisant et de l'exposition. La définition des allergènes forts dérive principalement d'études expérimentales chez l'animal permettant de déterminer le seuil de sensibilisation ou la dose par centimètre carré capable d'induire une sensibilisation significative. Il est à noter que sur un nombre limité de cas étudiés, une bonne corrélation a été trouvée entre les seuils déterminés expérimentalement chez la souris par la méthode du *Local Lymph Node Assay* (LLNA) et ceux déterminés chez l'homme par la méthode du *Human Repeated Insult Patch Test* (HRIPT). Sur la base de cette classification, on se rend compte que les allergènes forts sont assez courants et que la population générale y est exposée régulièrement. Ces sensibilisants forts couvrent une grande diversité chimique, mais ils présentent tous une même caractéristique, la capacité à se lier rapidement aux résidus nucléophiles des protéines.

© 2008 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Abstract

Two important parameters control skin sensitization to a xenobiotic molecule: its sensitizing potential, an intrinsic property of each chemical, and exposure. It is often difficult to quantify a patient's exposure to a given allergen, which makes it difficult to define strong allergens. Indeed, the prevalence of an allergen, as determined by patch testing, reflects not its strength but a combination of sensitizing potential and exposure. The definition of strong sensitizers is therefore mainly derived from animal experiments where it is possible to assess a sensitization threshold or the dose per square centimeter that is able to induce significant sensitization. It has been shown in a limited number of case studies, that there is a good correlation between sensitization thresholds assessed in mice by the *Local Lymph Node Assay* (LLNA) and those obtained in humans with the *Human Repeated Insult Patch Test* (HRIPT). Based on this classification, one can recognize that strong sensitizers are quite common and that the general population is exposed regularly to them. Although the strong sensitizers include a broad diversity of chemicals, they have in common the ability to rapidly modify nucleophilic residues of proteins.

© 2008 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Mots clés : Potentiel sensibilisant ; Allergène fort ; Allergie de contact ; *Local Lymph Node Assay* (LLNA) ; *Human Repeated Insult Patch Test* (HRIPT)

Keywords: Allergic contact dermatitis; Strong sensitizers; *Local Lymph Node Assay*; *Human Repeated Insult Patch Test*

1. Introduction

L'exposition à un allergène de contact peut, dans certains cas, conduire à une sensibilisation. Au-delà des variations interindividuelles, la compréhension des mécanismes moléculaires et cellulaires de la sensibilisation a permis de dégager les

principaux paramètres contrôlant la sensibilisation [1,2]. Ainsi, deux paramètres semblent particulièrement importants : le potentiel sensibilisant et l'exposition [3]. En effet, les nombreuses études conduites chez l'animal ont permis de mettre en évidence qu'à exposition égale, le pourcentage d'animaux sensibilisés est différent d'une molécule sensibilisante à l'autre. Cette caractéristique, propre à chaque molécule, combine les paramètres de pénétration, l'aptitude de la molécule à modifier les protéines épidermiques et sa capacité

Adresse e-mail : jplepoit@chimie.u-strasbg.fr.

à activer les cellules présentatrices d'antigène au travers d'un signal de danger. Par ailleurs, lors d'une exposition à une même molécule sensibilisante, le pourcentage d'animaux sensibilisés va dépendre d'un facteur d'exposition, souvent exprimé en $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. Ces paramètres sont très difficiles à estimer chez l'homme puisque l'exposition est généralement inconnue. La prévalence d'un sensibilisant dans une population de patients allergiques ne permet pas de classer les allergènes. Ainsi, un allergène fort/extrême peut avoir une faible prévalence si l'exposition de la population est très faible, alors qu'un sensibilisant modéré peut avoir une très forte prévalence si l'exposition de la population est très importante, comme c'est le cas pour le nickel par exemple.

2. Détermination du seuil de sensibilisation

Une manière de comparer le potentiel de sensibilisation de différents allergènes est de définir, pour chaque molécule, un seuil de sensibilisation. Ce seuil correspond à la quantité d'allergène par unité de surface pouvant induire une sensibilisation. La détermination de ce seuil de sensibilisation chez l'homme est particulièrement difficile en raison de la forte variation interindividuelle. Pendant de nombreuses années, le *Human Repeated Insult Patch Test* (HRIPT) a été utilisé pour évaluer le potentiel de sensibilisation d'une substance chez l'homme [4]. Ce test consiste en l'application répétée et sous occlusion de la substance à tester sur une période de trois semaines, suivi d'une période de repos de deux semaines. La mesure de la sensibilisation se fait alors au moyen d'un test épicutané à une concentration non irritante. De nombreuses variantes de ce test existent, mais revêtent un caractère non éthique au regard de la législation actuelle. Différentes instances réglementaires en Europe ont considéré, à juste titre, que cette pratique visant à sensibiliser délibérément des individus pour déterminer le seuil de sensibilisation d'une substance n'était pas acceptable.

Actuellement, c'est le LLNA, un test réalisé chez la souris qui est utilisé en toxicologie pour définir le seuil de sensibilisation [5]. Ce test repose sur l'application de la substance à tester sur l'oreille d'un groupe de souris aux jours 0, 1, 2 et l'injection de thymidine tritiée au jour 5. La mesure de l'incorporation de la radioactivité dans les ganglions drainant permet de mesurer la prolifération cellulaire faisant suite à l'exposition à la substance à tester. Par comparaison avec un groupe témoin, il est possible d'établir un indice de stimulation et la valeur de 3 a été retenue comme significative pour l'établissement d'une sensibilisation. Cette valeur de 3, permet de classer les molécules en sensibilisantes et non-sensibilisantes. L'établissement d'une courbe dose-réponse permet alors de définir la quantité de substance nécessaire pour atteindre un indice de stimulation de 3, soit la valeur de l'EC3. Il est alors possible de classer les sensibilisants en fonction de la dose nécessaire pour atteindre l'EC3.

Des études rétrospectives à partir de données historiques de type HRIPT ont permis de montrer qu'une bonne corrélation existait entre le seuil de sensibilisation chez l'homme et le seuil

Tableau 1

Classification du potentiel de sensibilisation à partir des valeurs de EC3 (LLNA)

Valeur de l'EC3 (%)	Potentiel de sensibilisation
≥ 10 – ≤ 100	Faible
≥ 1 – < 10	Modéré
$\geq 0,1$ – < 1	Fort
$< 0,1$	Extrême

de sensibilisation défini par le LLNA [6]. Ce sont donc les valeurs dérivées du LLNA qui doivent être prise en compte actuellement pour comparer le potentiel sensibilisant de molécules.

3. Classification des allergènes en fonction du seuil de sensibilisation

À des fins réglementaires, une classification des sensibilisants, basée sur les valeurs de l'EC3, a été proposée [7] (Tableau 1). Il s'agit de bornes nécessairement arbitraires, mais qui sont utiles pour l'évaluation et la gestion des risques de sensibilisation dans la population générale.

Il découle de cette classification que les molécules capables d'induire une sensibilisation chez la souris à des concentrations inférieures à 1 % doivent être considérées comme des sensibilisants forts. Si l'on tient compte du protocole OCDE de réalisation du LLNA, qui préconise une application de 25 μL sur une surface de 1 cm^2 , ce seuil de 1 % correspond, chez l'homme, à une exposition de 250 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$.

Dans une liste de 211 molécules, évaluées par la méthode du LLNA et publiée en 2005 [8], 13 molécules se classaient comme sensibilisants « extrêmes » et 21 comme sensibilisants « forts ». On voit donc que les sensibilisants forts ou extrêmes ne sont pas rares et que la population générale y est exposée. Parmi les sensibilisants extrêmes, on retrouve des molécules expérimentales avec lesquelles le consommateur n'est pas en contact, telles que le DNCB ou l'oxazolone mais également des molécules assez largement utilisées, telles que le mélange MCI/MI principe actif du conservateur Kathon CG très largement utilisé dans les cosmétiques ou la *p*-benzoquinone.

4. Caractéristiques des sensibilisants forts/extrêmes

Si l'on examine la structure chimique des sensibilisants forts/extrêmes, on constate une grande diversité et cette caractéristique n'est pas liée à une fonction chimique unique. Ce qui est beaucoup plus caractéristique, c'est que toutes ces molécules ont une très forte capacité à se lier aux résidus nucléophiles des protéines, directement (haptènes) ou après modification (pro/pré-haptènes). Cette caractéristique, a été confirmée par des études récentes de mesure de la déplétion peptidique induite par des molécules xénobiotiques [9]. Il a ainsi été possible de classer une série de molécules en fonction de leur potentiel de sensibilisation sur la base de leur réactivité chimique vis-à-vis de deux peptides portant un résidu nucléophile lysine ou cystéine [10].

Références

- [1] Rustemeyer T, van Hoogstraten IMW, von Blomberg BME, Scheper RJ. Mechanisms in allergic contact dermatitis. In: Frosch PJ, Menné T, Lepoittevin JP, editors. *Contact Dermatitis*. 4th ed., Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag; 2006. p. 11–43.
- [2] Lepoittevin JP. Molecular aspects of allergic contact dermatitis. In: Frosch PJ, Menné T, Lepoittevin JP, editors. *Contact Dermatitis*. 4th ed., Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag; 2006. p. 45–68.
- [3] Robinson MK, Gerberick GF, Ryan CA, McNamee P, White IR, Basketter DA. The importance of exposure estimation in the assessment of skin sensitization risk. *Contact Dermatitis* 2000;42:251–9.
- [4] Marzulli FN, Maibach IM. Test methods for allergic contact dermatitis in Humans. In: Zhai H, Wilhelm KP, Maibach HI, editors. *Marzulli and Maibach's Dermatotoxicology*. 7th ed., Boca Raton (FL): CRC Press; 2008. p. 463–7.
- [5] Kimber IA, Dearman RJ, Betts CJ, Basketter DA, Ryan CA, Gerberick GF. Local lymph node assay. In: Zhai H, Wilhelm KP, Maibach HI, editors. *Marzulli and Maibach's Dermatotoxicology*. 7th ed., Boca Raton (FL): CRC Press; 2008. p. 505–15.
- [6] Basketter DA, Clapp C, Jefferies D, Safford B, Ryan CA, Gerberick F, et al. Predictive identification of human skin sensitization thresholds. *Contact Dermatitis* 2005;53:260–7.
- [7] Kimber I, Basketter DA, Butler M, et al. Classification of contact allergens according to potency: proposals. *Food Chem Toxicol* 2003;41:1799–809.
- [8] Gerberick GF, Ryan CA, Kern PS, et al. Compilation of historical local lymph node data for evaluation of skin sensitization alternative methods. *Dermatitis* 2005;16:157–202.
- [9] Gerberick GF, Vassallo J, Bailey R, Morrall S, Lepoittevin JP. Development of peptide reactivity assay for screening contact allergens. *Toxicol Sci* 2004;81:332–43.
- [10] Gerberick F, Vassalo J, Foertsch L, Price B, Chaney J, Lepoittevin JP. Quantification of chemical peptide reactivity for screening contact allergens. *Toxicol Sci* 2007;97:417–27.