

SUR LE DÉTERMINISME DE LA RÉACTION CUTANÉE ANAPHYLACTIQUE ACTIVE DU RAT

J. DAMAS¹, J. LECOMTE¹ et J. SALMON²

RÉSUMÉ

Les réactions cutanées activement provoquées par l'administration d'ovalbumine dans la patte du rat sensibilisé porteur d'IgG circulants, sont caractérisées par un œdème d'apparition immédiate et de développement rapide. L'évolution de cet œdème n'est pas modifiée si les taux de kininogènes circulants ont été préalablement abaissés, suite au traitement par acide ellagique (8 mg.kg^{-1} , iv). Le système des kinines n'est pas en cause dans le déterminisme de l'œdème. L'installation de cet œdème est ralentie si l'animal a été prétraité par prométhazine (10 mg.kg^{-1} , ip) et méthysergide (5 mg.kg^{-1}), ce qui établit le rôle de l'histamine et de la sérotonine dans sa pathogénie. De même, son importance est diminuée après blocage des lipoxgénases par la phénidone (50 mg.kg^{-1}) empêchant la formation des leukotriènes et des prostaglandines : celles-ci participent également au déterminisme du gonflement. L'œdème est complètement supprimé durant les 30 premières minutes qui suivent l'injection de l'antigène lorsque le rat a été traité par la combinaison prométhazine-méthysergide-phénidone. Passé la demi-heure, le gonflement finit par rejoindre les valeurs des témoins. L'œdème n'étant pas aboli par l'association prométhazine-méthysergide-phénidone, des facteurs autres que l'histamine, la sérotonine et les dérivés de l'acide arachidonique doivent participer à son développement.

SUMMARY

Active cutaneous anaphylactic reaction in rat. — Active cutaneous anaphylactic reactions (ACA) induced by the injection of ovalbumine in the paw of sensitized rats, are characterized by an important swelling, appearing without latency. The oedema is not modified by pretreatment with ellagic acid (8 mg.kg^{-1} , iv), a potent kininogen depletor. The kinin system does not take part in the development of the swelling. Early stages of ACA are inhibited by promethazine (10 mg.kg^{-1} , ip) and methysergide (5 mg.kg^{-1}). So histamine and serotonin are involved in this early phase. ACA is completely suppressed during the first 30 minutes by a combination of promethazine, methysergide and phenidone. After 30 minutes, oedema is identical as in the animals treated by phenidone alone. Factors other than mast-cells amines and arachidonic acid derivatives, are also involved in ACA.

La réaction cutanée anaphylactique passive du rat (PCA) a été largement étudiée depuis Ovary [10, 11]. Deux types d'anticorps homologues peuvent y participer : des anticorps réaginisques de type IgE et des anticorps précipitants de type IgGa. La PCA

se traduit essentiellement par une augmentation de la perméabilité vasculaire que met bien en évidence l'extravasation des colorants fixés aux protéines plasmatiques circulantes. Les lésions locales produites par les IgE sont abolies par l'association anti-histaminiques anti- H_1 et anti-sérotonine anti-5-HT₁ : elles dépendent principalement, sinon exclusivement, d'une atteinte mastocytaire. Les lésions déclenchées par les

¹ Institut Léon Fredericq, Physiologie humaine, normale et pathologique, Université de Liège.

² Laboratoire d'Immunopathologie, Institut de Pathologie, Université de Liège.

Tirés à part : Pr J. DAMAS, Institut Léon Fredericq, Physiologie humaine, Université de Liège, 17, place Delcour, B-4020 LIÈGE (Belgique).

DAMAS J., LECOMTE J., SALMON J. — Sur le déterminisme de la réaction cutanée anaphylactique active du rat. *Rev. fr. Allergol.*, 1982, 22 (n° 4-5), 181-184.

IgG sont partiellement supprimées par cette association. En outre, la diéthylcarbamazine qui inhibe la libération des leukotriènes, dont la SRS-A [9], n'a aucun effet supprimeur sur ces dernières. Toutefois ajoutée à l'association anti-H₁ - anti-HT₁, elle augmente le pouvoir supprimeur de celle-ci : à des atteintes mastocytaires précoces succède donc l'intervention de médiateurs d'une autre origine, vraisemblablement les leukotriènes [2, 5, 6].

Par ailleurs, Ovary [10] a aussi montré qu'il est également possible de provoquer des lésions anaphylactiques cutanées chez le rat, en injectant dans le derme de l'animal sensibilisé une solution de l'antigène préparant. Ces lésions cutanées anaphylactiques actives (ACA) se marquent de même par une augmentation de la perméabilité vasculaire ainsi que par un gonflement œdémateux de la région. Brocklehurst et coll. [3] se sont servis de ces mêmes lésions activement provoquées pour démontrer que leur déterminisme ne dépend pas d'une libération de l'histamine ni de la 5-hydroxytryptamine, bien que « in situ », les mastocytes dermiques soient régulièrement dégranulés [7]. Enfin, Harada et coll. [6] ont inhibé la phase précoce des réactions actives par les antihistaminiques de synthèse et par la diéthylcarbamazine, ce qui suggère l'intervention des leukotriènes.

Pour notre part, nous avons été conduits à réexaminer le comportement des réactions allergiques actives tégumentaires et à en modifier l'évolution par des agents pharmacodynamiques afin de mieux en connaître le déterminisme.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

PRÉPARATION

Nous utilisons des rats Wistar d'un poids moyen de 250 g. Ces animaux ont été activement sensibilisés au moyen d'une solution à 1 p. cent d'ovalbumine en NaCl 0,9 g p. cent mélangée à un volume égal d'adjuvant de Freund. Le mélange est injecté par voie intramusculaire à la dose de 0,5 ml, une fois par semaine pendant 3 semaines. Huit jours après la dernière injection intramusculaire, les animaux reçoivent 0,5 ml de la solution d'ovalbumine par la voie intrapéritonéale ; la période de sensibilisation dépasse donc 1 mois.

Après 10 jours, du sang est prélevé par ponction des sinus rétro-orbitaires ; l'analyse du sérum par une technique de précipitation semi-quantitative permet de vérifier si une quantité suffisante d'anticorps circulants a été synthétisée. Seuls les animaux préparés de manière efficace, ainsi qu'en témoigne la concentration plasmatique en précipitines, c'est-à-dire en IgG, sont retenus pour les essais ultérieurs. Les animaux servant à notre analyse ont été utilisés dans le courant du mois qui suit la détermination de leur taux d'anticorps circulants.

Les rats sont divisés en plusieurs lots : groupes témoins et groupes traités par divers agents pharmacodynamiques dont la nature et la posologie seront précisées plus loin. Les groupes témoins reçoivent, chaque fois, par la même voie, le solvant sous un même volume de solution saline (NaCl 0,9 g p. cent).

Le volume des pattes arrière est d'abord mesuré, en utilisant un pléthysmomètre Ugo Basile. Nous injectons ensuite dans un espace intraplantaire 0,1 ml d'une solution d'ovalbumine à 1.10^{-3} , soit 100 µg. Suite à cette injection déclenchante (temps 0), le volume des pattes est à nouveau mesuré après des délais de 1/2, 1, 2 et 4 heures. Chaque mesure est répétée de deux à quatre fois et la moyenne, retenue pour les calculs ultérieurs. L'augmentation du volume est calculée ; l'importance de l'œdème anaphylactique est établie en exprimant en pourcentage, cette augmentation de volume par rapport à la valeur initiale, prise comme référence égale à 100 p. cent.

La signification des différences observées entre les résultats fournis par deux groupes d'animaux est estimée par le test de Wilcoxon.

SUBSTANCES UTILISÉES

Les substances suivantes ont été utilisées : l'ovalbumine UCB, l'indométacine (Indocid®, Merck, Sharp et Dohme), la diéthylcarbamazine (Hétrazan, Lederle), la prométhazine Specia, le méthylsergide Sandoz, la phénidone (1 phényl-3-pyrazolidine, Sigma), l'acide ellagique Aldrich. L'indométacine et l'acide ellagique sont mis en solution dans le Tris HCl 0,15 mol/l pH 7,4. Les autres substances sont dissoutes en NaCl 0,9 g p. cent.

RÉSULTATS

EVOLUTION DE LA RÉACTION ACTIVE (ACA)

L'injection locale de l'antigène provoque sans latence un gonflement de la patte et des régions malléolaires. Cet œdème croît rapidement au cours de la 1^{re} heure : 75 p. cent environ du volume maximal, le surplus étant acquis dans les 3 heures qui suivent. A partir de la 4^e heure, le gonflement va en se réduisant. Il est encore visible 24 heures après. Durant la période marquée par l'œdème, la peau est rouge et chaude. Des taches hémorragiques sont parfois visibles qui donneront lieu ultérieurement à des ecchymoses.

MODIFICATIONS PHARMACOLOGIQUES DE CETTE RÉACTION

Les résultats chiffrés sont présentés dans les tableaux I, II et III.

— La déplétion en kininogènes circulants provoquée par l'administration intraveineuse de 8 mg.kg^{-1}

TABLEAU I
ÉVOLUTION DE L'ŒDÈME ACA,
EXPRIMÉE EN POURCENTAGE DU VOLUME CONTRÔLE,
CHEZ LES CONTRÔLES ET CHEZ DES RATS PRÉTRAITÉS

NOMEN- CLATURE	NOMBRE	1 ^{re} HEURE	2 ^e HEURE	4 ^e HEURE
Contrôles	14	48,8 ± 3	45,9 ± 4	52,2 ± 6
Diéthyl- carbamazine (70 mg.kg ⁻¹ , ip)	9	38,1 ± 4,3	48,7 ± 5,5	58,2 ± 3,9
Diéthyl- carbamazine (70 mg.kg ⁻¹ , ip) + Indométacine (5 mg.kg ⁻¹ , ip)	10	23,4 ± 3,1 *	21 ± 3,8 **	25,6 ± 4 ***
Phénidone (40 mg.kg ⁻¹ , ip)	14	21,9 ± 3,2 *	21,4 ± 2,7 **	29,2 ± 3,2 ***

Significatif : * $p < 0,005$; ** $p < 0,001$; *** $p < 0,02$.

TABLEAU II
ÉVOLUTION DE L'ŒDÈME ACA APRÈS PRÉTRAITEMENT
PAR PROMÉTHAZINE ET MÉTHYSERGIDE *

NOMEN- CLATURE	NBRE	30 MI- NUTES	1 HEURE	2 HEURES	4 HEURES
Contrôles	10	21,9 ± 3,4	20,4 ± 2,6	34,6 ± 6,5	29,5 ± 3,8
Prétraités	10	12,2 ± 2 **	18,8 ± 2,8	31,4 ± 3,3	33,3 ± 4,5

* Prométhazine (10 mg.kg⁻¹) ; méthysergide (5 mg.kg⁻¹) ; l'une et l'autre par voie intrapéritonéale.

** Significatif au seuil de 0,05.

TABLEAU III
ÉVOLUTION DE L'ŒDÈME ACA APRÈS PRÉTRAITEMENT
PAR PROMÉTHAZINE, MÉTHYSERGIDE, ET PHÉNIDONE ¹

NOMEN- CLATURE	NOMBRE	1 HEURE	2 HEURES	4 HEURES
Contrôles	10	39,4 ± 3,4	44,3 ± 4,8	40,9 ± 5,07
Prétraités	6	6,4 ± 1,9 *	25,2 ± 4,2 **	22,2 ± 3,07 ***

¹ Prométhazine 10 mg.kg⁻¹, méthysergide 5 mg.kg⁻¹, phénidone 50 mg.kg⁻¹ ; par voie ip.

* Significatif au seuil de 0,001.

** Significatif au seuil de 0,05.

*** Significatif au seuil de 0,02.

d'acide ellagique [4], 30 min avant l'antigène, ne modifie pas le décours de la réaction allergique active (5 rats).

— L'administration intrapéritonéale d'indométacine, inhibiteur de la synthèse des prostaglandines [13] (5 mg.kg⁻¹), 60 min avant l'antigène, est également inactive sur ACA (2 séries de 5 rats).

La diéthylcarbamazine (70 mg.kg⁻¹, ip), inhibiteur de la libération de la SRS-A [9] s'est révélée inactive sur ACA (9 rats).

L'association indométacine (5 mg.kg⁻¹) et diéthylcarbamazine (70 mg.kg⁻¹), chacune administrée en deux endroits distincts de la cavité péritonéale, 60 min avant l'antigène, réduit significativement ACA, dès la première heure. Cette inhibition se poursuivra les 4 heures de l'observation (10 rats).

La phénidone qui inhibe à la fois la formation des prostaglandines et des leukotriènes [1] (40 mg.kg⁻¹, ip) injectée 60 min auparavant, inhibe ACA de la même manière et dans les mêmes proportions (tableau I) (14 rats).

— L'association prométhazine (10 mg.kg⁻¹) et méthysergide (5 mg.kg⁻¹) anti-H₁ et anti-HT, substances injectées simultanément 30 min avant, inhibe le gonflement durant les 30 premières minutes. Elle perd toute activité inhibitrice après ce délai (tableau II) (10 rats).

— L'association prométhazine (10 mg.kg⁻¹), méthysergide (5 mg.kg⁻¹), phénidone (50 mg.kg⁻¹), chaque substance étant injectée séparément au même moment, entraîne une inhibition de la réaction déclenchée 60 min plus tard par l'injection locale de l'ovalbumine. Cette inhibition est totale après une heure. Par la suite, elle est égale à celle que provoque la phénidone seule (tableau III) (6 rats).

DISCUSSION

— Nous confirmons les résultats d'Ovary [10], de Brocklehurst et coll. [3] et de Harada et coll. [6] : l'administration sous-cutanée de l'antigène préparant au rat sensibilisé porteur d'IgG, est suivie de l'apparition immédiate d'une lésion inflammatoire œdémateuse à caractère aigu. Celle-ci se complique parfois d'hémorragies.

Toutefois ces lésions présentent, d'un rat à l'autre, de grandes variations d'intensité, ce qui entraîne une certaine dispersion des résultats selon les animaux considérés. Cette variabilité d'ACA pour une même quantité d'antigène, a déjà été signalée par Ovary [10] qui lui, préfère le recours à la réaction allergique passive homologue pour l'estimation de la teneur en anticorps homocytophiles du plasma circulant [11].

Pour notre part, nous avons étudié cette réaction active en raison même de sa complexité, afin de

dégager autant que possible la nature des agents endogènes susceptibles de participer à son déterminisme.

— Le déterminisme de la PCA recourant à une classe particulière d'anticorps cytophiles se fixant sur les mastocytes (« early antibody » de Harada et coll. [6]) peut être mise en rapport avec une atteinte mastocytaire prépondérante puisque l'extravasation plasmatique locale est prévenue par les anti-histaminiques de synthèse [10, 6].

La pathogénie des lésions anaphylactiques actives (ACA) telles que nous les avons provoquées est plus complexe. On peut l'interpréter de la manière suivante en prenant argument de notre analyse pharmacologique. La fixation de l'antigène s'effectue d'abord sur les mastocytes sensibilisés qui libèrent leurs amines constitutives : histamine (H) et 5-hydroxytryptamine (5-HT), dans les premières minutes qui suivent ; d'où l'action inhibitrice précoce des anti-histaminiques anti-H₁ et anti-sérotinine anti-5-HT₁. Les effets perméabilisants de ces amines H et 5-HT sont, dans le courant de la première heure déjà, renforcés par l'intervention des substances formées à partir de l'activation de l'acide arachidonique : prostaglandines et leukotriènes. Certaines de ces dernières correspondent à la SRS-A [12]. Ainsi s'explique à la première heure, l'inhibition supplémentaire due à la phénidone qui bloque simultanément les cyclo-oxygénases et les lipoxygénases, enzymes formant ces deux types de substances [1].

Il faut que ces deux systèmes enzymatiques soient

simultanément bloqués pour que l'œdème soit inhibé, empêchant ainsi à la fois l'intervention des prostaglandines et des leukotriènes. Le fait que la diéthylcarbamazine qui supprime la libération des leukotriènes est inactive à elle seule, s'expliquerait par la dérivation de l'activation de l'acide arachidonique vers les prostaglandines. Réciproquement, l'indométacine — qui empêche la formation des prostaglandines — n'entraverait pas l'accumulation des leukotriènes. L'activation de l'acide arachidonique pourrait dépendre aussi bien des structures lésées « in situ » par les réactions antigène-anticorps que des facteurs apportés par les leucocytes et activés dans le foyer inflammatoire.

Les kininogènes et, par conséquent, les kinines endogènes, ne participent pas au déterminisme du foyer allergique, la déplétion préalable des kininogènes par l'acide ellagique étant sans effet.

— L'association anti-amines-phénidone supprime totalement la phase précoce d'ACA ; à ce stade, amines mastocytaires et dérivés de l'acide arachidonique sont seuls en cause. Puisque chez les animaux ainsi traités l'œdème apparaît après la 1^{re} heure et se développe, d'autres agents perméabilisants doivent alors intervenir que nos connaissances actuelles ne permettent pas d'identifier avec certitude.

Rappelons cependant que les anticorps de type IgG, chez le rat comme chez d'autres espèces animales, sont capables d'activer les facteurs complémentaires [2, 8, 14]. Ceux-ci méritent d'être étudiés en détail.

RÉFÉRENCES

- Blackwell G. J., Flower R. J. — 1-Phenyl 3-pyrazolidone : an inhibitor of arachidonate oxidation in lung and platelets. *Br. J. Pharmacol.*, 1978, 63, 360.
- Bloch K. J., Ohman J. L. — The stable homocytotropic antibodies of guinea-pig, mouse and rat, and some indirect evidence for the « in vivo » interaction of homocytotropic antibodies of two different rat immunoglobulin classes at a common receptor target cells. In : Austen K. F., Becker E. L., *Biochemistry of the acute allergic reactions*, pp. 45-64. Oxford-London, Blackwell Scientific Publications, 1971.
- Brocklehurst W. E., Humphrey J. H., Perry W. L. — Cutaneous antigen-antibody reactions in the rat. *J. Physiol.*, 1960, 150, 489-500.
- Gautvik K. M., Rugstad H. — Kinin formation and kininogen depletion in rats after intravenous injection of ellagic acid. *Br. J. Pharmacol.*, 1967, 31, 390-400.
- Green A. F., Garland L. G., Hodson H. F. — Antagonists of histamine, 5-hydroxytryptamin and SRS-A. *Handb. exp. Pharmacol.*, 1979, 50, 415-466.
- Harada M., Takeuchi M., Katagiri K. — Characterization of various types of rat cutaneous anaphylaxis from their drug susceptibilities. *Dermatologica*, 1971, 142, 193-201.
- Mota I. — Release of histamine from mast-cells. In : *Handb. exp. Pharmacol.*, Berlin, Springer Verlag, 1966, XVIII, 569-636.
- Nicholson A., Ferron D. T., Austen K. F. — Complement. In : *Handb. exp. Pharmacol.*, 1978, 50, 425-463.
- Orange R. P., Austen K. F. — Slow reacting substances of anaphylaxis. *Adv. Immunol.*, 1969, 10, 105-144.
- Ovary Z. — Cutaneous anaphylaxis in albino rats. *Int. Arch. Allergy appl. Immunol.*, 1952, 3, 293-301.
- Ovary Z. — Passive cutaneous anaphylaxis. In : *Immunological methods*. Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1964.
- Parker C. W. — The chemical nature of Slow Reacting Substances. *Adv. Inflammatory Res.*, 1982, 4, 1-24.
- Vane J. R. — Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nature*, 1971, 231, 232-235.
- Voisin G. A. — Biological role of rodent anaphylactic IgG₁ antibodies. *Agents and Actions*, 1976, 6, 5-15.