

TAUX SÉRIQUE D'ANTICORPS RÉAGINIQUES (IgE) CHEZ LA SOURIS EN CARENCE MAGNÉSIQUE

A. PROUVOST-DANON (*), P. LARVOR (**), Y. RAYSSIGUIER (**)
J. WYCZOLKOWSKA (***) et J. DURLACH (****)

RÉSUMÉ

L'influence de la carence magnésique expérimentale sur le taux sérique d'anticorps réagéniques (IgE) a été étudiée chez la souris Swiss (Centre de sélection et d'élevage du CNRS, Orléans-la-Source). Des souris constituant deux groupes, l'un mis sous régime déficitaire en magnésium, l'autre témoin (*pair-fed*), ont simultanément été immunisées par deux injections (aux jours 0 et 14) d'une faible quantité d'ovalbumine (1 microgramme). Au 21^e jour, les souris ont été saignées et les sérums recueillis titrés individuellement pour les anticorps IgE par la réaction d'anaphylaxie cutanée passive chez le rat. Les titres d'anticorps IgE anti-ovalbumine obtenus ont été significativement plus élevés chez les souris en carence magnésique que chez les souris témoins.

MOTS CLES MEDLINE : IgE * analyse - Magnésium * déficience - Anaphylaxie cutanée passive - Ovalbumine * immunologie.

SUMMARY

Serum reagin antibody (IgE) levels in mice deficient in magnesium. — The influence of experimental magnesium deficiency on the serum reagin antibody (IgE) levels was studied in Swiss mice (from the *Centre de Sélection et d'Élevage* of the CNRS, Orléans-la-Source). The mice, split into two groups — one group on a magnesium deficient diet, the other the controls (*pair-fed*) — were immunized simultaneously by two injections of small quantities of egg albumin (1 microgram). On the 21st day the mice were bled and the serum samples obtained were titrated individually for IgE content by means of the passive cutaneous anaphylaxis reaction in rats. The anti-egg albumin IgE antibody titres were significantly higher in the magnesium deficient mice than in the control mice.

INDEX TERMS : IgE * analysis - Magnesium * deficiency - Passive cutaneous anaphylaxis - Ovalbumin * immunology.

De nombreuses données cliniques et expérimentales sur les rapports entre le magnésium et les différents types d'allergie (au sens clinique du terme) soulignent que parmi les multiples facteurs conditionnant certains de ces phénomènes, le rôle étiologique du déficit magnésique mérite d'être envisagé (DURLACH, 1974).

Il nous a donc paru intéressant de rechercher l'incidence d'un régime pauvre en magnésium sur la production des anticorps IgE, c'est-à-dire du type d'anticorps produits dans les phénomènes d'anaphy-

laxie ou dans la définition clinique d'allergie de type I.

La souris a été choisie comme modèle expérimental pour deux raisons : elle produit deux types d'anticorps anaphylactiques (ou homocytotropes) (MOTA, 1967 ; PROUVOST-DANON, 1968 ; VAZ et PROUVOST-DANON, 1969) : l'anticorps IgG₁ et l'anticorps réaginique, identifié immunochimiquement comme appartenant à la classe des IgE (PROUVOST-DANON et coll., 1972), dont les propriétés biologiques et physico-chimiques sont similaires à celles des anticorps IgE humains. De plus, il est possible d'obtenir chez la souris des taux élevés et persistants d'anticorps IgE, par un système d'immunisation comportant l'injection répétée de très faibles doses d'antigène, ressemblant à beaucoup d'égards à la production de réagines au cours de l'allergie humaine (LEVINE et VAZ, 1970).

Travail présenté au Deuxième Colloque français sur le magnésium, Paris, 7 décembre 1974.

(*) Laboratoire de médecine expérimentale, Collège de France, 75231 PARIS CEDEX 05.

(**) Station de physiopathologie de la nutrition, Centre de recherches zoothermiques et vétérinaires de Theix, 63110 BEAUMONT.

(***) Adresse actuelle : Laboratoire des amines biogènes. Centre d'études moléculaires et macromoléculaires de l'Académie Polonaise des Sciences, LODZ (Pologne).

(****) Centre d'études sur le métabolisme magnésique, Institut biologique de l'Université, CHU Cochin, 27, faubourg St-Jacques, 75674 PARIS CEDEX 14.

PROUVOST-DANON A., LARVOR P., RAYSSIGUIER Y., WYCZOLKOWSKA J., DURLACH J. — Taux sérique d'anticorps réagéniques (IgE) chez la souris en carence magnésique. *Rev. franç. Allergol.*, 1975, 15 (n° 3), 147-150.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

ANIMAUX

Nous avons utilisé des souris Swiss femelles adultes provenant du Centre de sélection et d'élevage d'animaux de laboratoire du Centre National de la Recherche Scientifique (Orléans-la-Source). Des rats de souche Wistar ou Sprague-Dawley provenant de Charles River (St-Aubin-les-Elbeuf) ont été utilisés pour les réactions d'anaphylaxie cutanée passive.

ALIMENTATION

Les animaux sont du début à la fin de l'expérience nourris avec le même régime semi-synthétique pour l'ensemble de ses constituants à l'exception de l'apport de Mg^{++} : 30 ppm pour le groupe carencé et 1 000 ppm pour le groupe témoin (RAYSSIGUIER et coll., 1973). La quantité d'aliment distribuée aux témoins est appariée à celle des carencés pour éviter des différences importantes d'état nutritionnel global (système dit de *pair-feeding*).

IMMUNISATION

Les souris ont été immunisées par deux injections intrapéritonéales, la première en début d'expérience (jour 0), la seconde après un intervalle de deux semaines (jours 14), avec 1 microgramme d'ovalbumine (Sigma 5 fois cristallisée) mélangé à 1 mg de gel d'hydroxide d'aluminium, comme adjuvant (PROUVOST-DANON et coll., 1972). Les animaux ont été saignés 7 jours après le rappel (jour 21) par ponction du plexus veineux rétro-orbital, et les sérums séparés conservés à -20°C .

ANAPHYLAXIE CUTANÉE PASSIVE

Les anticorps IgE sériques ont été mesurés par la réaction d'anaphylaxie cutanée passive (PCA) selon la méthode d'OVARY (1964), soit chez la souris, soit chez le rat (MOTA et WONG, 1969). Ces derniers auteurs ont en effet montré que les anticorps réagins de la souris, et non les anticorps IgG₁, sensibilisent la peau du rat pour la réaction de PCA. Le temps de latence entre l'injection intradermique des anticorps sensibilisants et l'injection intraveineuse du bleu d'Evans avec l'antigène déclenchant (1 mg d'ovalbumine) est de 48 heures chez la souris et de 24 heures chez le rat. *Les titres d'anticorps IgE rapportés correspondent à la plus haute dilution de sérum donnant une tache bleue lors de l'injection de l'antigène.*

Nous avons testé de nombreux sérums de souris contenant des anticorps réagins (IgE) par les réactions de PCA homologues et hétérologues chez la souris et chez le rat respectivement : il y a corrélation entre les titres de PCA obtenus par ces deux

méthodes, la réaction de PCA hétérologue donnant des résultats systématiquement plus élevés (2 à 4 fois). La méthode de PCA hétérologue (chez le rat) pour le titrage des anticorps IgE de la souris présente des avantages en ce qu'elle élimine l'interférence des anticorps IgG₁ et en ce qu'elle permet un plus grand nombre de mesures sur un même animal, facilitant ainsi la manipulation et surtout l'analyse statistique des résultats ; nous l'avons utilisée de préférence.

ANALYSE STATISTIQUE

L'analyse statistique de la signification des différences observées a été effectuée au moyen du test *t* de Student, après transformation en racine carrée des résultats, de façon à rendre gaussienne la distribution des données. Cette transformation correspond à une distribution dont la variance est proportionnelle à la moyenne (SNEDECOR et COCHRAN, 1957). Après le calcul, les résultats de moyenne et erreur type ($\sigma/\sqrt{N}$) sont élevés au carré pour retrouver l'unité d'origine, ce qui donne une erreur type dissymétrique de part et d'autre de la moyenne. Ceci correspond bien au caractère dissymétrique de la courbe de fréquence.

RÉSULTATS

Les sérums recueillis au 21^e jour ont été testés individuellement pour les anticorps IgE par la réaction d'anaphylaxie cutanée passive (PCA).

PREMIÈRE EXPÉRIENCE

On utilise 17 sérums provenant de souris témoins et 13 provenant de souris carencées.

Quelques échantillons des sérums ont été testés par la réaction de PCA homologues. La moyenne des titres obtenus a été de 500 à 1 000 pour le groupe des carencés, et de moins de 250 pour le groupe des témoins.

Tous les sérums ont été ensuite testés par la réaction de PCA hétérologue, chez le rat. Les résultats sont les suivants (*) :

	Moyenne des titres $\pm$ erreur type ($\sigma/\sqrt{N}$) :
Témoins :	446 $\left\{ \begin{array}{l} + 114 \\ - 100 \end{array} \right.$
Carencés :	1 849 $\left\{ \begin{array}{l} + 317 \\ - 292 \end{array} \right.$

La différence entre les moyennes est statistiquement significative ($t = 5,15$; $p < 0,01$).

(*) NDLR : Les titres exprimés correspondent à des dilutions sériques et non, comme chez l'homme, à des ng/ml ou à des UI/ml.

DEUXIÈME EXPÉRIENCE

On emploie 8 sérums témoins et 13 sérums carencés : les résultats des réactions de PCA chez le rat sont les suivants :

Témoins :	265	$\begin{cases} + & 142 \\ - & 111 \end{cases}$	(t = 2,84 ; p # 0,01)
Carencés :	785	$\begin{cases} + & 132 \\ - & 121 \end{cases}$	

Il s'agit bien d'anticorps IgE et non d'anticorps IgG₁. En effet, nous avons vérifié que la capacité d'induire la réaction de PCA chez le rat est détruite après chauffage à 56 °C ; elle est également neutralisée par absorption préalable avec un sérum spécifique anti-IgE de souris, obtenu comme précédemment décrit (PROUVOST-DANON et coll., 1972).

DISCUSSION

Les résultats montrent que, dans les conditions d'immunisation rapportées, des souris mises en carence magnésique ont des taux sériques d'anticorps IgE anti-ovalbumine significativement plus élevés (de 2 à 4 fois) que les animaux témoins.

Le mécanisme d'un tel phénomène n'est pas encore connu. On sait que les anticorps IgE se fixent fermement sur les mastocytes et que leur présence dans la circulation est le résultat d'un équilibre entre leur production et leur fixation sur les tissus. Il est possible que le taux sérique accru ne représente pas réellement une synthèse accrue des anticorps IgE, mais soit dû à une diminution de la quantité fixée sur les mastocytes par suite d'une altération de ceux-ci. En effet, des dégranulations de mastocytes ont été observées chez le rat au cours de la carence magnésique (BOIS et JASMIN, 1971).

Il semble que le processus et le temps d'immunisation soient importants pour l'apparition de ce phénomène. En effet, dans une expérience faite dans d'autres conditions d'immunisation, moins propices à une production élevée et persistante d'anticorps IgE, telles que l'injection d'une seule forte dose d'ovalbumine selon la méthode précédemment décrite (PROUVOST-DANON et coll., 1968), nous n'avons pas

observé de différence entre les taux d'anticorps IgE des souris carencées et des témoins, chez des sérums recueillis 8 jours après l'immunisation (observations non publiées).

Il pourrait bien cependant s'agir d'une formation accrue des anticorps IgE. Celle-ci pourrait être expliquée par la suppression de la synthèse d'IgG, qui peut inhiber la réponse IgE par un contrôle à *feed-back* négatif (TADA et OKUMURA, 1971). En effet, différents auteurs ont montré qu'au cours du déficit magnésique, les taux sériques d'immunoglobulines et d'anticorps IgG chez le rat (BATTIFORA, 1971 ; MCCOY et KENNEY, 1974 ; AUGUSTI et coll., 1973 ; ALCOCK et SHILS, 1974) ainsi que chez la souris (ELIN, 1974) sont diminués. Nous n'avons pas encore de données pour les expériences présentes sur les taux d'anticorps IgG totaux ; nous avons cependant observé qu'il n'y a pas de modifications des taux sériques des anticorps IgG₁ (observations non publiées). ELIN (1974) a également observé le retour aux valeurs témoins du taux des anticorps IgG₁ 12 jours après le début de l'expérience.

Une explication plus générale pourrait être proposée. En effet, il a été montré que la synthèse des IgE est contrôlée par les thymocytes, même en l'absence de modification de la réponse IgG : une coopération cellulaire entre les lymphocytes T et B est nécessaire pour l'induction de la réponse IgE ; par ailleurs, les lymphocytes T exercent un effet suppresseur sur cette réponse (TADA et coll., 1973 ; KATZ et coll., 1974 ; KISHIMOTO et ISHIZAKA, 1973). Des altérations thymiques ont été observées chez le rat privé de magnésium (STACHURA, 1971 ; ALCOCK et coll., 1973). Il est possible que dans les expériences présentes, le déficit magnésique provoque une insuffisance thymique qui soit à l'origine d'une augmentation de la formation des anticorps IgE.

CONCLUSION

Nous avons pu montrer que, dans les conditions d'immunisation décrites, le taux sanguin d'anticorps IgE a été augmenté chez la souris carencée en magnésium par rapport aux témoins non carencés. Plusieurs hypothèses peuvent expliquer ce phénomène dont la vérification nécessite de nouvelles recherches.

REFERENCES

- ALCOCK N. W., SHILS M. E., LIEBERMAN P. H., ERLANDSON R. A. — Thymic changes in the magnesium-depleted rat. *Cancer Res.*, 1973, 33, 2196-2204.
- ALCOCK N. W., SHILS M. E. — Serum immunoglobulin G in the magnesium-depleted rat. *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)*, 1974, 145, 855-858.
- AUGUSTI Y., RAYSSIGUIER Y., LARVOR P., DURLACH J. — Carence en magnésium chez le rat et variation de certains paramètres protéiques sériques. *C. R. Soc. Biol. (Paris)*, 1973, 167, 1804-1808.
- BATTIFORA H. — Effects of Mg deficiency on blood cells. Clinical and experimental data. In : DURLACH J. — *Premier Symposium international sur le déficit magnésique en pathologie humaine*. I. Volume des rapports, 502-516. Vittel, SGEMV, 1971.
- BOIS P., JASMIN G. — Rapports expérimentaux entre magnésium et allergies. In : DURLACH J. — *Premier Symposium international sur le déficit magnésique en pathologie humaine*. I. Volume des rapports, 495-499. Vittel, SGEMV, 1971.

- DURLACH J. — Magnésium et allergie : rapports expérimentaux et cliniques entre magnésium et hypersensibilité. Deuxième Colloque français annuel sur le magnésium, 1974. *Rev. franç. Allergol.*, 1975, 15, 133-146.
- ELIN R.J. — Cell-mediated immune response and immunoglobulin concentration in magnesium deficiency. *Fed. Proc.*, 1974, 33, part 2, 727.
- KATZ D.H., HAMAOKA T., NEWBURGER P.E., BENACERRAF B. — Hapten-specific IgE antibody responses in mice. IV. - Evidence for distinctive sensitivities of IgE and IgG lymphocytes to the regulatory influences of T cells. *J. Immunol.*, 1974, 113, 974-983.
- KISHIMOTO T., ISHIZAKA K. — Regulation of antibody response in vitro. VI. - Carrier-specific helper cells for IgG and IgE antibody response. *J. Immunol.*, 1973, 111, 720-732.
- LEVINE B., VAZ N.M. — Effect of combination of inbred strain, antigen and antigen dose on immune responsiveness and reagin production in the mouse. A potential mouse model for immune aspects of human atopic allergy. *Int. Arch. Allergy*, 1970, 39, 156-171.
- MCCOY H., KENNEY M.A. — Depressed immune response in the magnesium deficient rat. *Fed. Proc.*, 1974, 33, part 2, 728.
- MOTA I. — Biological characterization of mouse « early » antibodies. *Immunology*, 1967, 12, 343-348.
- MOTA I., WONG D. — Homologous and heterologous passive cutaneous anaphylactic activity of mouse antisera during the course of immunization. *Life Sci.*, 1969, 8, 813.
- OVARY Z. — Passive cutaneous anaphylaxis. In : J.F. ACKROYD. — *CIOMS Symposium on Immunological Methods*, 175-188. Oxford, Blackwell, 1964.
- PROUVOST-DANON A. — Mechanisms of antibody-mediated histamine release from mouse mast cells. In : K.F. AUSTEN, E.L. BECKER. — *CIOMS Symposium on the Biochemistry of the Acute Allergic Reactions*, 175-188. Oxford, Blackwell, 1968.
- PROUVOST-DANON A., PEIXOTO J., QUEIROZ JAVIERRE M. — Antigen-induced histamine release from mouse mast cells of mice producing reagin-like antibody. *Immunology*, 1968, 15, 271-286.
- PROUVOST-DANON A., BINAGHI R., BOUSSAC-ARON Y., ROCHAS S. — Immunochemical identification of mouse IgE. *Immunology*, 1972, 23, 481-491.
- RAYSSIGUIER Y., LARVOR P., BARLET J.P. — Etude de l'influence d'un phosphonate de sodium sur le taux rénal du calcium chez le rat carencé en magnésium. *C. R. Acad. Sci. (Paris)*, 1973, 276, série D, 2035-2038.
- SNEDECOR G.W., COCHRAN W.G. — Statistical methods (6th ed.). Ames (USA), Iowa State University Press, 1957.
- STACHURA J. — Badamia morfologiczne niektórych narządów szczura w warunkach zaburzeń gospodarki magnezu. *Folia med. Cracov.*, 1971, 13, 3, 375-410.
- TADA T., OKUMURA K. — Regulation of homocytotropic antibody formation in the rat. I. - Feed-back regulation by passively administered antibody. *J. Immunol.*, 1971, 106, 1002-1011.
- TADA T., OKUMURA K., TANIGUCHI M. — Regulation of homocytotropic antibody formation in the rat. VIII. - An antigen specific T cell factor that regulates anti-hapten homocytotropic antibody response. *J. Immunol.*, 1973, 111, 952-961.
- VAZ N.M., PROUVOST-DANON A. — Behaviour of mouse mast cells during anaphylaxis in vitro. *Progr. Allergy*, 1969, 13, 111-173.