

Immunotoxicologie

Dr Bouhafs Guedgoudi Leila
Master I Toxicologie Fondamentale et Appliquée
Université de Jijel

Contenu du programme

- 1- Immunosuppression et xénobiotiques: conséquences physiopathologiques et mécanismes ;
- 2- Mécanismes généraux des hypersensibilités liées aux molécules sensibilisantes ;
- 3- Activation et maturation des cellules dendritiques par les molécules sensibilisantes ;
- 4- Tolérance immunologique et allergie aux xénobiotiques ;
- 5- Méthodes de détection des molécules sensibilisantes ;
- 6- Maladies auto-immunes d'origine toxique ;
- 7- Toxicités particulières des produits issus des biotechnologies pour la santé

Définition de l'immunotoxicologie

L'immunotoxicologie est une discipline de toxicologie très récente individualisée à la fin des années 1970, elle étudie le dysfonctionnement immunitaire résultant de l'exposition d'un organisme à un **xénobiotique**

Définition d'un xénobiotique : Xéno : étranger

En écologie et science de la vie, un xénobiotique désigne, substance ou molécule étrangère à la biosphère.

En chimie, les molécules xénobiotiques sont des molécules chimiques de synthèse étrangères à l'organisme et résistantes à la biodégradation

En **toxicologie**, toute substance étrangère au consommateur qui peut causer des troubles plus ou moins importants. **Médicaments; métaux lourds; pesticides; polluants de l'air; cosmétiques et additifs alimentaires.**

En généralement, un xénobiotique est une substance possédant des propriétés toxiques même à faible concentration .

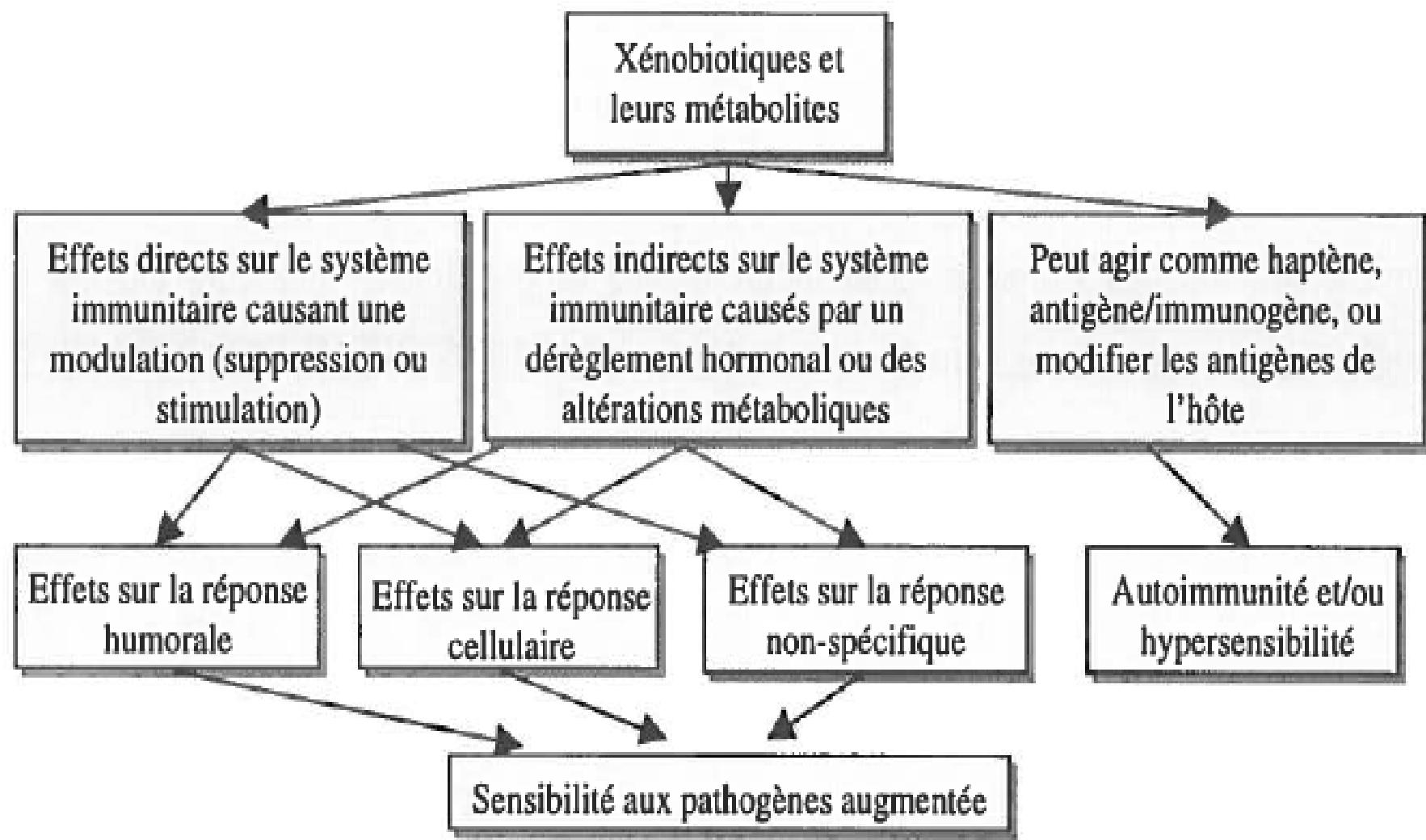
Immunotoxicité: est l'ensemble des effets délétères provoqués par un xénobiotique ou par tout autre constituant biologique ou physique de l'environnement sur le système immunitaire, à la suite d'une exposition professionnelle, environnementale ou thérapeutique.

-On distingue des effets immunotoxiques directs, des réactions d'hypersensibilité et des phénomènes auto-immunitaires .

➤ **Effets immunotoxiques directs:** correspondent aux perturbations de la réponse immunitaire normale qui est soit diminuée (**immunosuppression**), soit augmentée (**immunostimulation**)

-L'immunosuppression est le mieux connu des domaines de l'immunotoxicologie, l'immunostimulation est rare

schéma générale de l'immunotoxicité



Immunotoxicologie expérimentale: Mise au point des tests *in vitro* et *in vivo* chez l'animal afin de prédire un effet immunotoxique chez l'homme.

Immunotoxicologie clinique: enregistre les accidents immunotoxiques dus aux xénobiotiques chez une population exposée dont le but de trouver le mécanisme d'action immunotoxique aux niveaux cellulaires et moléculaires.

1.Rappel immunologique

- le système immunitaire (SI) contribue au maintien de l'intégrité de l'organisme par l'élimination des constituants étrangers (microorganisme et greffes) et des constituants du « soi » modifiés.

- Le SI est la cible de plusieurs constituants de l'environnement : les Xénobiotiques: médicaments, polluants industriels (pesticides organochlorés et métaux lourds), les polluants de l'air, les toxiques naturels (mycotoxine), les radiations ionisantes et les radiations UV

Organisation du SI

Trois parties :

1) Les organes:

- les organes lymphoïdes primaires
- les organes lymphoïdes secondaires

2) Les cellules:

- lymphocytes B
- lymphocytes T
- cellules présentatrices de l'antigène (CPA)

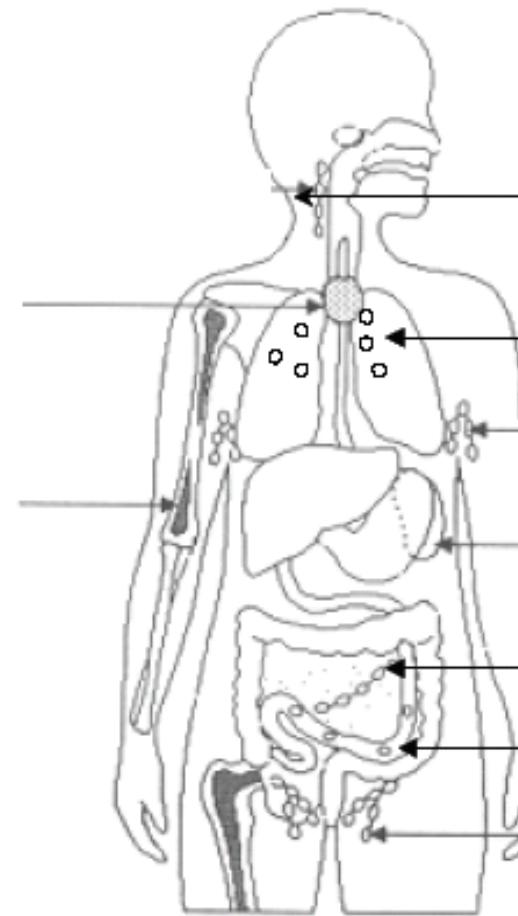
3) Les molécules:

- les anticorps ou immunoglobulines (= Ac ou Ig)
- les molécules du Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH)
- les cytokines

Organes et tissus lymphoïdes

Organes lymphoïdes primaires

Thymus
Moëlle osseuse



Organes lymphoïdes secondaires

Anneau de Waldeyer
Ganglions
Amygdales
végétations

Tissu lymphoïde associé
aux bronches

Ganglions lymphatiques

Rate

Ganglions mésentériques

Plaques de Peyer

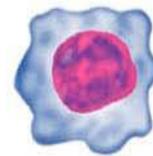
Tissus lymphoïdes uro-génital

ORL Iaires: assurent la production et/ou la maturation des lymphocytes. Leur développement est précoce dans la vie foetale et il est indépendant de toute stimulation antigénique. En effet, les ORL Iaires ne sont pas des sites où les lymphocytes rencontrent des antigènes étrangers

ORL IIaires: sont le lieu de rencontre entre les antigènes et les cellules immunocompétentes (B et T). Leur développement est tardif dans la vie foetale. Ils grossissent lors d'une stimulation antigénique. Leur structure anatomique général contribue à faciliter le piégeage de l'antigène et optimise la présentation de l'antigène à un lymphocyte. ils contiennent des cellules dendritiques qui capturent et présentent l'antigène et des lymphocytes qui régulent la réponse immunitaire

Légende :

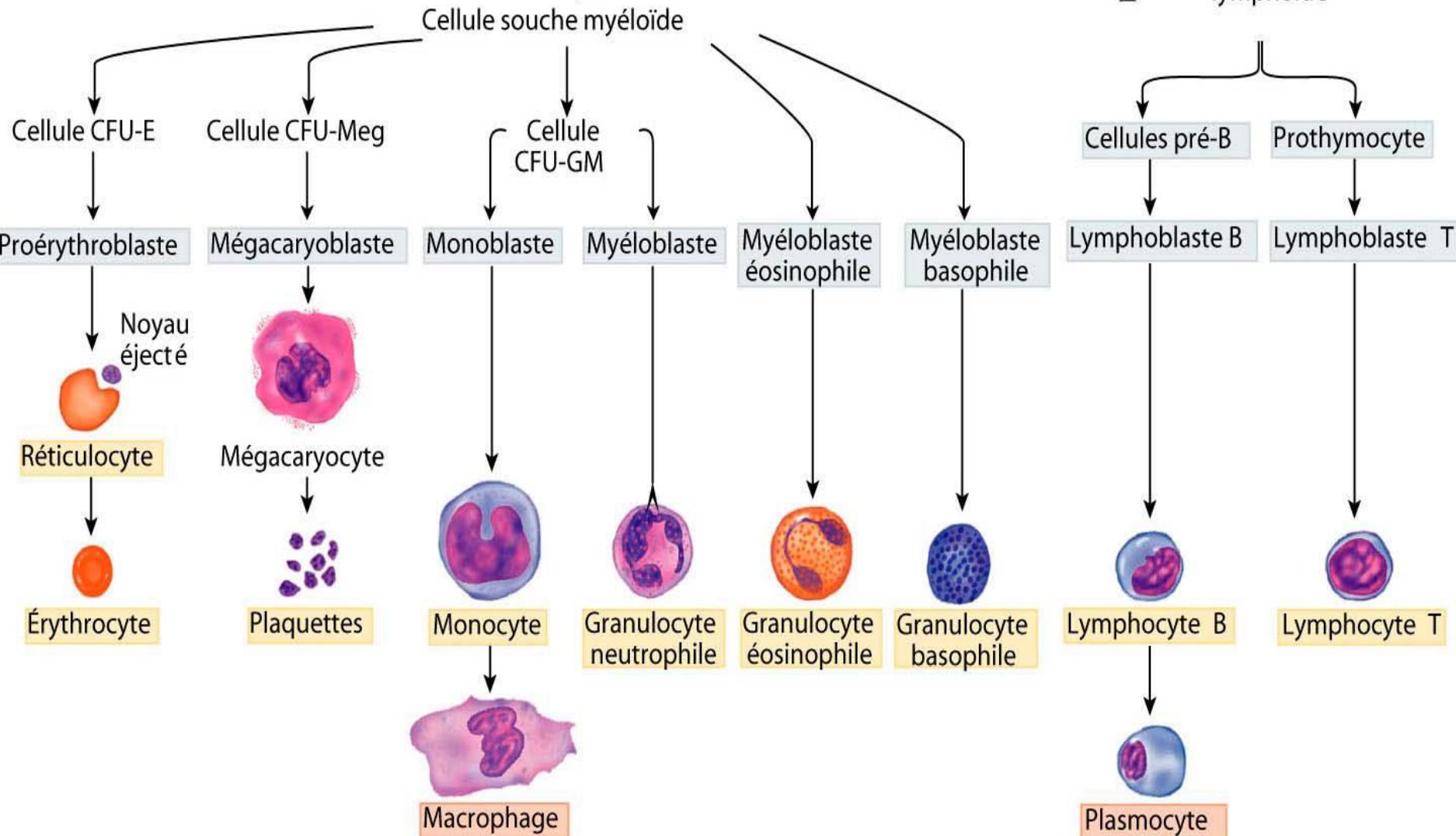
- Cellules précurseurs, ou cellules blastiques
- Éléments figurés du sang circulant
- Cellules tissulaires



Cellules souches hématopoïétiques pluripotentes

Cellule souche lymphoïde

Cellule souche myéloïde



La réponse immunitaire

La réponse immunitaire innée (naturelle)

- Non spécifique de l'antigène
- Phagocytose (neutrophiles, macrophages)
- Complément
- Lymphocytes Natural Killer

La réponse immunitaire spécifique

- ❖ Deux mécanismes majeurs:
 - L'immunité à médiation cellulaire
 - L'immunité humorale
- ❖ Spécificité vis-à-vis d'épitopes antigéniques (agents infectieux, greffes, cellules cancéreuses, cellules autologues)
- ❖ Nombreux types de cellules et cytokines impliqués
- ❖ Cytokines : effets multiples et chevauchants, voire synergiques
- ❖ Production de cellules « mémoires » T et B

La réponse immunitaire cellulaire

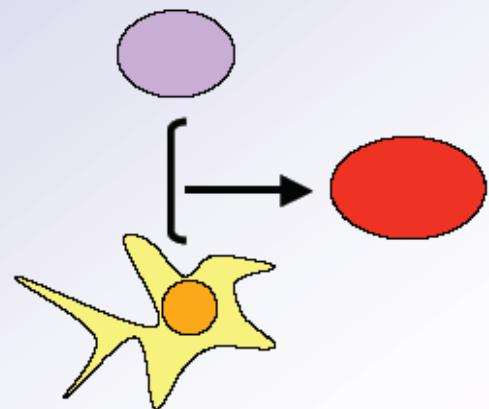
- ❖ Présentation de courtes séquences peptidiques antigéniques en association avec (CMH) par les cellules présentatrices de l'antigène (CPA)
- ❖ CMH I:+ peptide → lymphocyte T8
- ❖ CMHII+peptide → lymphocyte T4
- ❖ Reconnaissance spécifique de cet Ag par des cellules T, grâce à un récepteur de surface (TCR)
- ❖ Activation + prolifération + différentiation (via les cytokine) → T helper , T régulateur et CTL

La réponse immunitaire humorale

- ❖ Reconnaissance de l'Ag par les Ig membranaires de surface (BCR) sans association avec le CMH
- ❖ Nécessite une coopération des cellules T4(TH2) via les cytokines
- ❖ prolifération d'un ou plusieurs clones de lymphocyte B, différenciation en plasmocytes sécrétateurs d'Ac
- ❖ Le tout nécessite 8 à 14 jours

Etapes de la réponse immune Spécifique

Ly T CD4 naïf
TCR spécifique
de l'Ag



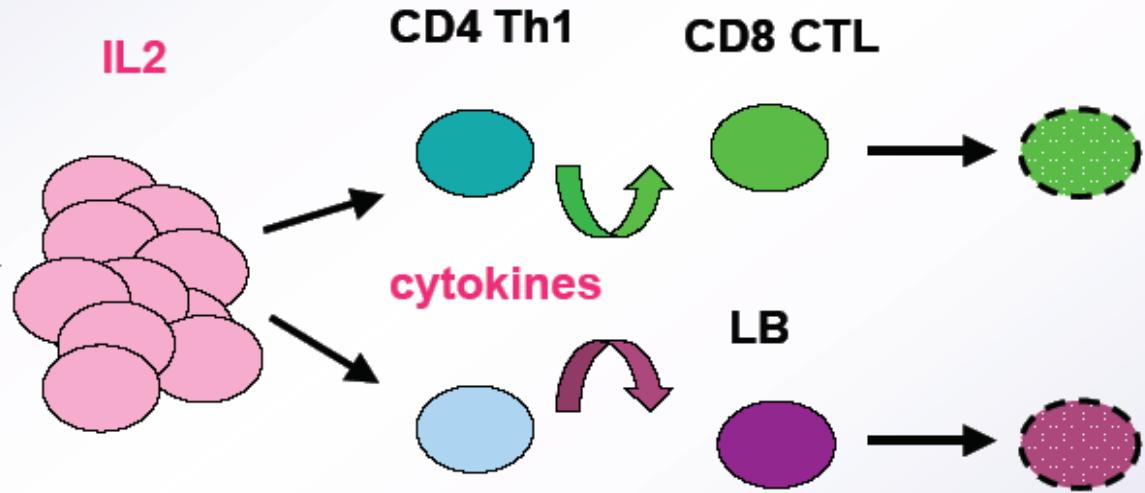
CMH
CPA/Ag

1. Reconnaissance
Spécifique

2. Activation

3. Prolifération
clonale

IL2



CD4 Th1

CD4 Th2

CD8 CTL

LB

+ Ag

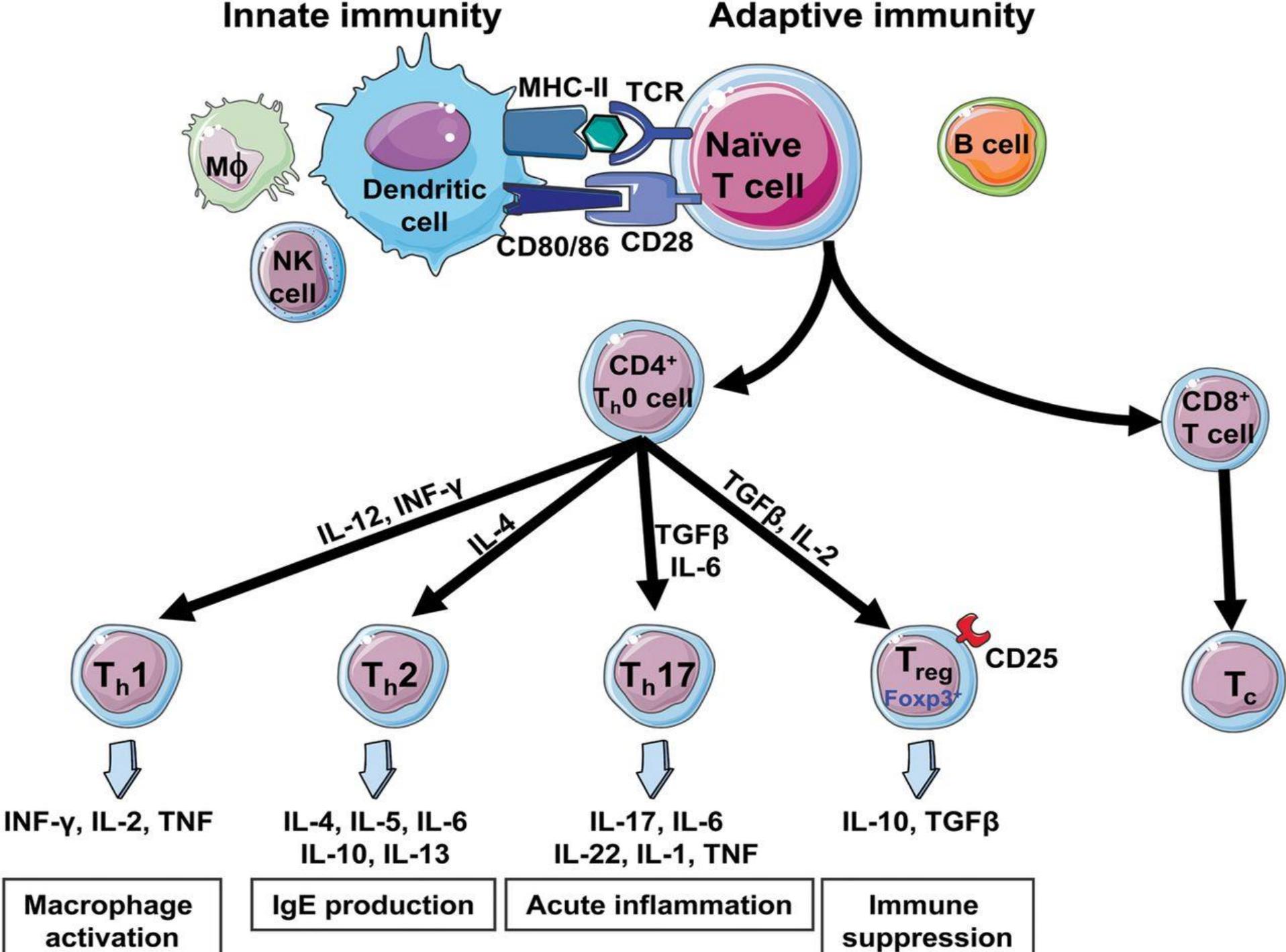
6. Mort

5. Effecteurs

4. Différenciation

5'. Mémoire





Chapitre 1

Immunosuppression et xénobiotiques:
conséquences physiopathologiques et
mécanismes

1 Définition de l'immunosuppression

altération du système immunitaire conduisant à une diminution de la réponse immune. Phénomènes le plus souvent dépendants de la dose, pour lesquels les variations de sensibilité individuelles sont faibles mais les variations de sensibilité d'espèce peuvent être fortes.

1.1 Place des immunosuppresseurs (IS) dans la réponse immunitaire

L'immunosuppression peut être naturelle ou à usage thérapeutique.

IS naturelle:

Afin de maintenir la tolérance au soi et d'éviter les réactions immunitaires excessives, les T régulateurs naturels (CD4+ CD25+ forts FoxP3+) et les T régulateurs induits Th3 exercent une fonction suppressive par leur :

- Capacité à réduire la production d'IL-2.
- Diminution l'expression des molécules du CMH
- Diminution de l'expression des molécules costimulatrices par les CPA

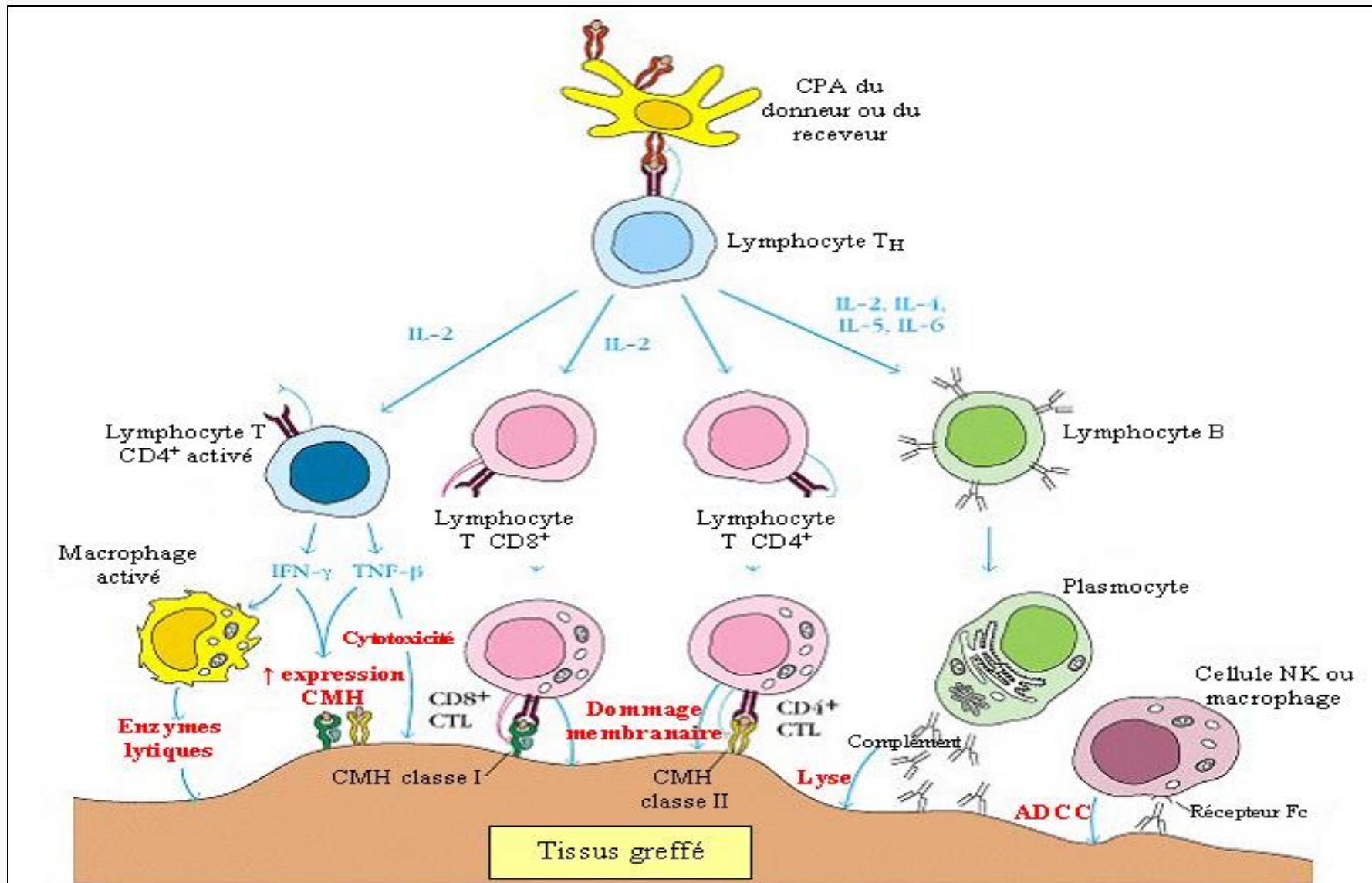
□ IS en thérapeutique

Médicaments qui modulent la réponse immune : agissent surtout sur l'immunité cellulaire → Agissent sur la phase précoce de la réponse immune = sur le déclenchement de la RI →
Donc inhibe l'activation + prolifération des LT alloréactifs (TCD4 auxiliaires)

Médicaments utilisés dans les domaines thérapeutiques:

- Transplantations d'organes
- Quelques maladies auto-immunes
- Maladies inflammatoires chroniques

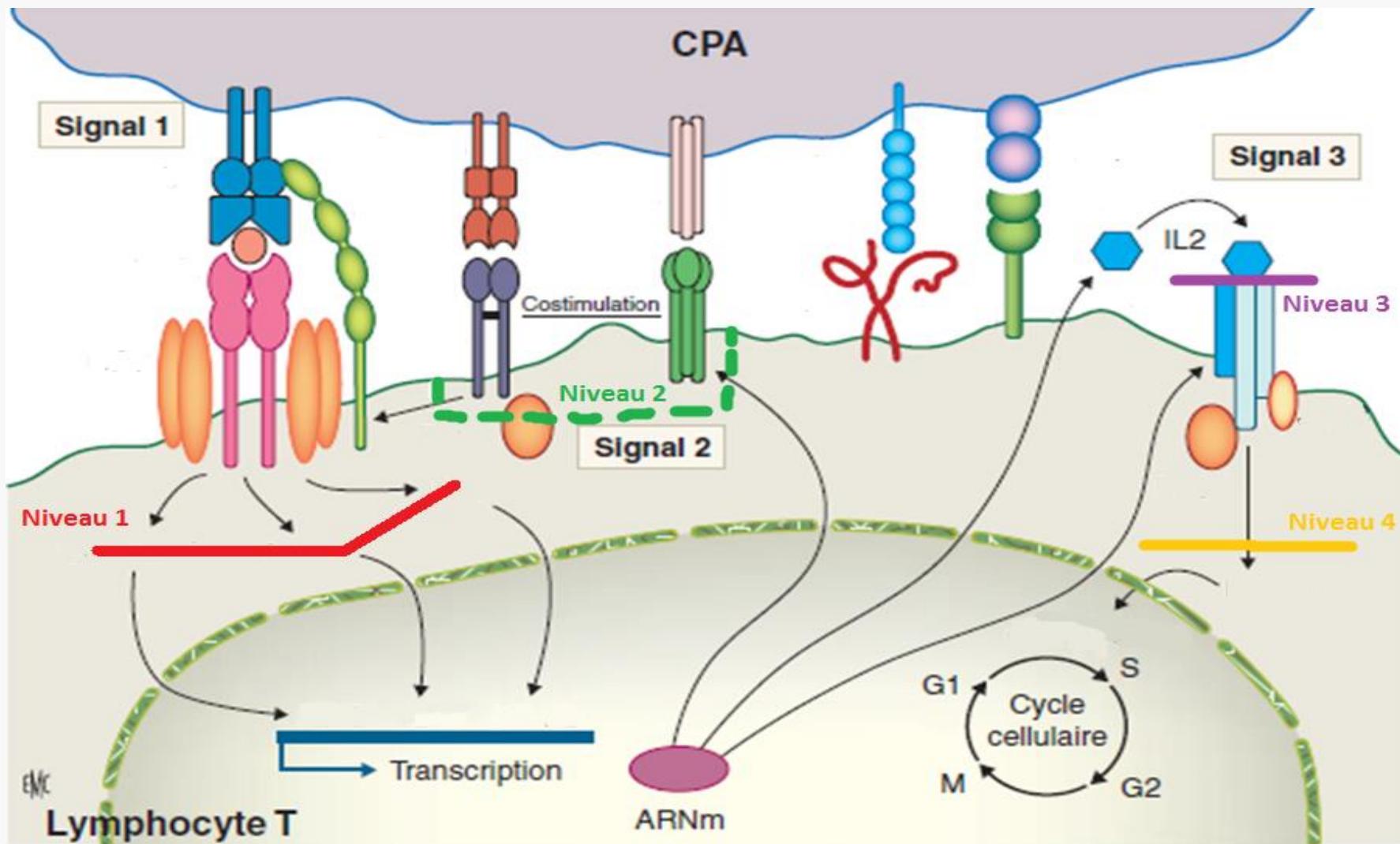
Prenons l'exemple d'une transplantation, la réaction immunitaire contre le greffon (partie transplanté ou greffé) est comme suit:



1.2.Cibles et mécanismes d'action des IS

En pratique la majorité des immunosuppresseurs actuellement utilisés bloquent la prolifération lymphocytaire en inhibant un des trois signaux de reconnaissance et d'activation et/ou la synthèse d'acides nucléiques.

□ La cellule T: principale cible des IS



Lors d'une transplantation d'organe, le recours à des immunosuppresseurs puissants est nécessaire pour éviter le rejet de l'organe ou la maladie de greffon-vs-hôte.

La réaction immunitaire se compose de quatre signaux intervenant à différents moments de l'activation de la cellule T

Le premier signal: intervient lors du contact entre les lymphocyte T et la cellule présentatrice d'antigène. En effet, le récepteur du lymphocyte T, au contact de l'antigène présenté, va envoyer un message au noyau de la cellule afin que celle-ci produise de l'interleukine. Pour éviter cela, les médicaments immunosuppresseurs de **niveau 1**, parmi lesquels on peut citer la "Ciclosporine" et le "Tacrolimus", vont venir inhiber la transcription du message envoyé au noyau sensé provoquer la production d'interleukines.

Le second signal, se nomme signal de costimulation. En effet lors du contact entre la cellule présentatrice d'antigène et le lymphocyte T, en complément du premier signal intervient un second signal. Celui-ci, afin d'assurer la réaction immunitaire, se compose de quatre molécules d'adhésion supplémentaires qui vont stabiliser la synapse immunologique (c'est la mise en place d'une interaction cellulaire entre la cellule sentinelle et le lymphocyte T). Ainsi, pour limiter la synthèse d'interleukine par ce second biais, les immunosuppresseurs de **niveau 2** tels que les "Corticoides" et les "Biomédicaments".

Le troisième signal, en réponse aux deux premiers consiste en la production d'interleukine(IL2). Sous forme d'ARN messager, le message sort du noyau et est traduit en la protéine qu'est l'interleukine2 dans le cytoplasme. Ceci dans le but d'activer le Lymphocyte T en venant se fixer sur un récepteur présent à la surface de celui-ci. En réponse à cela, les immunosuppresseurs de **niveau 3** vont bloquer le récepteur en question. Ainsi, l'interleukine 2 ne pourra point venir s'y fixer. Dans cette catégorie d'immunosuppresseurs, on retrouve des principes actifs tels que la rapamycine...

Le quatrième signal est la prolifération des lymphocytes T, c'est à dire la prolifération rapide de ces cellules. Pour stopper ce processus, on utilise des médicaments immunosuppresseurs de **niveau 4**. Catégorie dans laquelle nous pouvons retrouver le "Le flunomide" et "l'Azathioprine". Ces derniers inhibent le message envoyé par le récepteur permettant la prolifération de lymphocytes T. Le cycle cellulaire reste alors bloqué à la phase G1.

Récapitulation : signaux d'activation de T

Signale 1

- Reconnaissance Ag et activation Calcineurine grâce au complexe récepteur TCR/CD3
- Reconnaissance facilitée / molécules d'adhésion ICAM1, LFA1
- Complexe Calcium - Calmoduline → active Calcineurine qui déphosphoryle NFAT
- NFAT déphosphorylé va être un facteur de Transcription du gène de l'IL2

Signale 2

- Activation des molécules de costimulation → Associé au 1^{er} signal
→ Synthèse IL2 possible
- Cellules passe de G0 à G1

Signale 3

- IL2 active le LT qui l'a produite. Progression de phase G1 à S.
Implique la Protéine m-TOR
- m-TOR pour Target Of Rapamycine

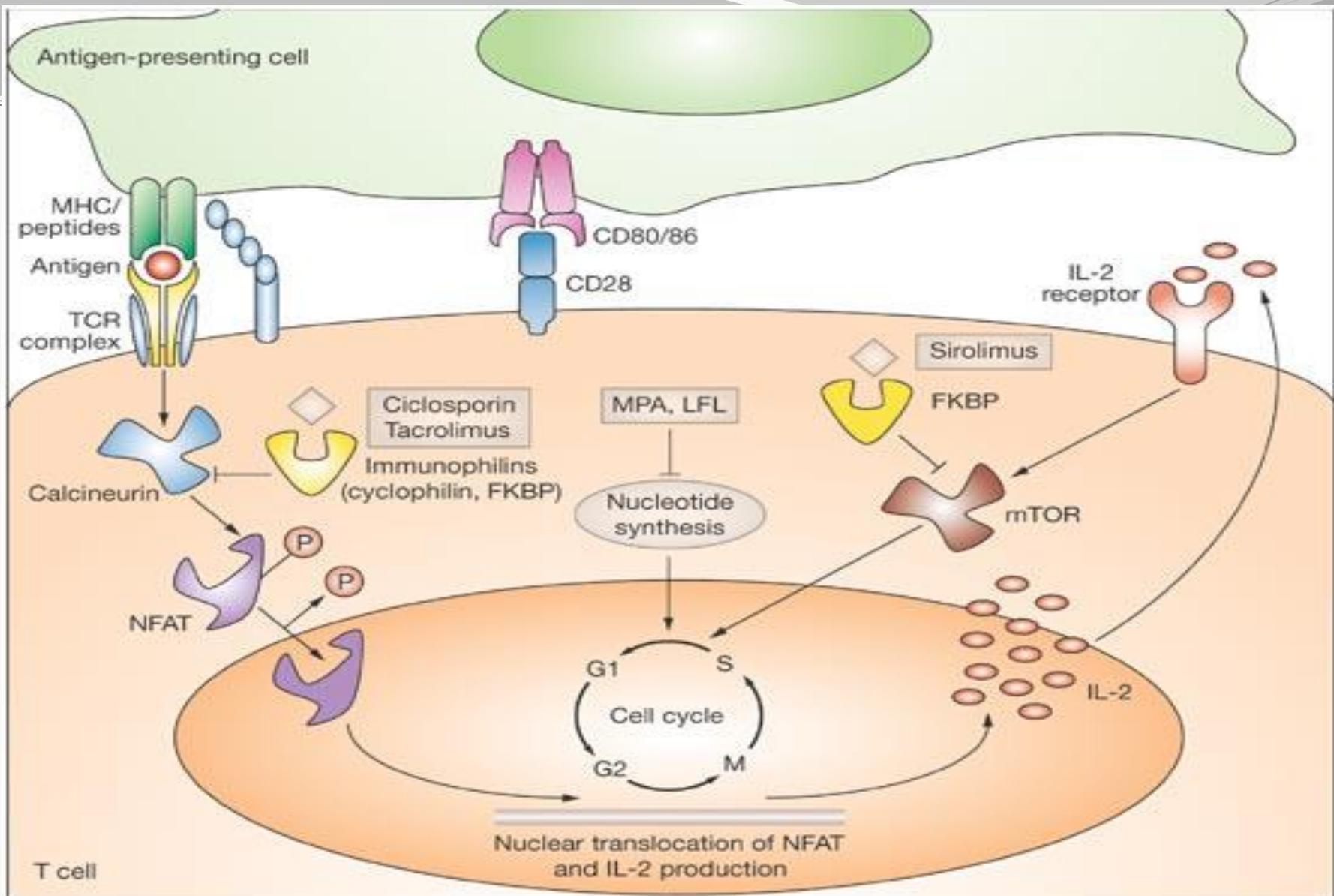


Schéma montrant cible et sites d'action des IS

Exemple de mécanisme d'action des inhibiteurs de la synthèse de l'IL2(inhibiteur de la calcineurine); cyclosporine et tacrolimus

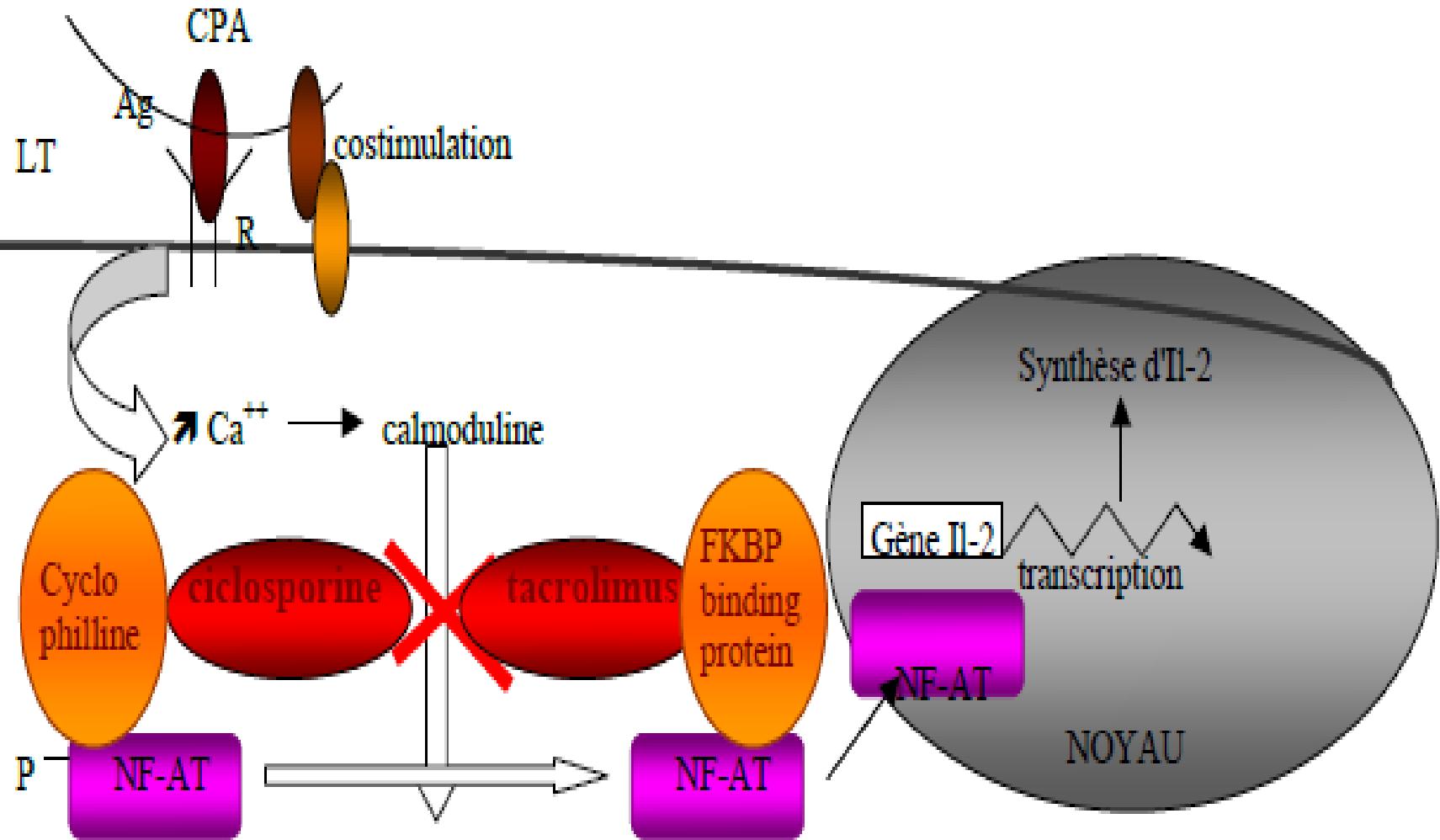
-Deux IS majeurs: la cyclosporine (CSA) et le tacrolimus ou FK506(TAC)

- la cyclosporine ainsi que le tacrolimus bloquent la déphosphorylation du facteur de transcription NF-AT(nuclear factor activator lymphT) pour la synthèse de l'IL2= inhibent donc la synthèse de l'IL2(le facteur de croissance de T)

CSA: Polypeptide cyclique découvert dans un champignon microscopique (*Tolypocladium inflatum Gams*); Indiqué dans la prévention et traitement du rejet du greffon en transplantation rénale, hépatique, cardiaque, pulmonaire, cardiopulmonaire et pancréatique. 2ème intention : greffe de moelle osseuse, maladies auto-immunes

Le TAC ou FK 506 est un macrolide obtenu à partir d'une souche de *Streptomyces tsukubaensis*; Indiqué dans la prévention du rejet du greffon au décours de la transplantation rénale ou hépatique ; traitement du rejet rebelle toutes greffes

□ Mécanisme d'action de CSA et TAC au niveau cellulaire



Ces deux IS se lient à des immunophilines dans le cytosol:

- La cyclosporine se fixe à la cyclophiline
- Le tacrolimus se lie au FKBP(FK binding protein)
 - Le complexe protéine - médicament se lie à la calcineurine et inhibe son activité phosphatasique, le NF-AT phosphorylé ne peut pas pénétrer dans le noyau et n'induit plus la synthèse de l'IL2.
 - La cyclosporine inhibe aussi la synthèse d'autres cytokine tels que: IL3, IL4, GM-CSF et le TNF(ce sont les cytokine qui interviennent dans le rejet de greffe)
 - Un autre mécanisme d'action a été proposé: la cyclosporine augmente la synthèse de la TGF- β (puissant inhibiteur de la prolifération lymphocytaire induite par l'IL2)

□ Effets indésirables des inhibiteurs de la calcineurine: CSA et TAC

Type d'effet indésirable	Gravité	Nature	CSA/TAC
Toxicité rénale	Potentiellement très grave	Vasoconstriction réversible rapide + fibrose progressive	=
Toxicité neurologique	grave		TAC > CsA
Désordre glucidique	grave	Hyperglycémie - diabète	TAC > CsA
Désordres digestifs	modérée	Constipation, douleurs abdominales, diarrhée, nausée, vomissements	TAC > CsA
Désordres cardiovasculaires	grave	HTA, arythmies, insuffisance coronarienne	=
Infections bactériennes, fongiques et virales	grave		=
Hyperplasie gingivale	modérée		CsA > TAC
Hirsutisme, acnée	modérée		Hirsutisme: CsA >> TAC
Cancers et syndromes lymphoprolifératifs	Potentiellement très grave	Tumeurs cutanées, syndromes lymphoprolifératifs, sarcome de kaposi	=
Désordres biologiques	modérée	Hyperkaliémie, anémie, leucopénie, acidose	=

Immunosuppresseurs chimiques

- **HYDROCARBURES AROMATIQUES HALOGENES:**

- PCB (polychlorobiphényles)(Yu-Cheng, Taiwan), PBB (biphényles polybromés), Dioxine

- **HYDROCARBURES AROMATIQUES POLYCYCLIQUES:**

- benzo[a]pyrène, 3-méthylcholanthrène, diméthylbenzanthracène

- **CONTAMINANTS ALIMENTATION:**

- Mycotoxines (Ochratoxine A)
- THI (2-acétyl-4(5)tétrahydroxybutylimidazole)

- **PESTICIDES:**

- Organochlorés

Immunosuppression par les UV

- L'irradiation de la peau par les UV inhibe la réponse immunitaire locale et systémique.
- Un lien existe entre les endommagements de l'ADN provoqués par les UV dans les cellules dendritiques et l'immunosuppression (rôle IL-12)

1.3.Conséquences cliniques de l'effet l'immunosupresseur

- Les conséquences cliniques d'un IS sont bien connu en raison de l'expérience acquise avec l'utilisation des médicaments chez l'homme.

a) Baisse de la résistance vis à vis des agressions microbiennes et augmentation de l'incidence des infections

Une immunosuppression des réponses immunitaires par des xénobiotiques, peut dérégler l'équilibre fragile du système immunitaire et favoriser la prolifération rapide d'un pathogène, lui permettant ainsi d'envahir l'organisme

Cette baisse de résistance se traduit par des infections plus fréquentes, plus sévères, récidivantes ou atypiques(infections opportunistes)

-Toutes les localisations sont possibles, mais souvent , elles sont bronchopulmonaires ,gastro-intestinale, cutanées et infections du SNC

- Parmi les polluants chimiques de l'environnement, plusieurs composés organochlorés possèdent des propriétés immunsuppressives qui se traduisent par une baisse de la résistance vis à vis des infections bactériennes et virales.
 - Chez presque toutes les espèces étudiées y compris les primates, les substances similaires à la 2,3,7,8 tetrachlorobenzo-p-dioxine (TCDD) produisent une immunsuppression, une atrophie de thymus et une inhibition de quelques composants du complément.
- Les effets sont d'autant plus sévères que l'exposition a lieu durant la période pré- ou périnatale. Des enfants et des jeunes adultes exposés accidentellement à un mélange de biphenyl polychloré (BPC) et le polychlorodibenzofurane (PCDF)(au Taiwan lors de la consommation de l'huile de riz contaminé) a provoquer en comparaison aux valeurs observés chez les témoins :

- Une diminution des concentrations sérique de l'IgA et de l'IgM
- Une diminution de la population totale de lymphocytes T
- Une diminution de la population TCD8⁺

- Plus tard les enfants nés de mères exposées lors de cet incident ont connu plusieurs épisodes d'infections de bronchite et de pneumonie durant leurs six premiers mois de vie par rapport aux enfants nés de mères non exposées.
- L'étude faite chez des nouveaux -nés (Basse-côte-Nord du golf du Saint Laurent au Quebec) a permis d'établir une corrélation positive entre les concentrations plasmatiques de BPC et l'inhibition de sécrétion de l'IL 10 et du TNFa (deux cytokine pro-inflammatoire indispensable pour l'activation des macrophages)

- Certains métaux lourds (mercure, cadmium, plomb...) possèdent des propriétés immunosuppressive qui proviennent en partie de leurs effets cytotoxiques, par induction de l'apoptose ou de nécrose dans les cellules immunitaires entraînant une diminution de la résistance aux infections

□ Études réalisées en laboratoire pour vérifier l'impact de quelques xénobiotiques sur l'immunosuppression: complément de cours dans la séance TD

Syndrome de Yu-Cheng à Taiwan caractérisé par la chloracnée avec des lésions surinfectées



b) de l'augmentation de l'incidence de certains cancers

- Lors d'une transplantation d'organe, le recours à des immunosuppresseurs puissants est nécessaire pour éviter le rejet de l'organe ou la maladie de greffon-vs-hôte. Une analyse de la répartition des différents types de cancers observée après une transplantation d'organe montre que ce sont les cancers induits par les infections virales qui sont les plus fréquents (carcinomes cutanés et HPV, désordres lymphoprolifératifs et EBV, sarcomes de Kaposi et HHV8, hépatocarcinomes et hépatites B et C).
- Les cancers cutanés survient après une immunosuppression prolongée

- Les cancers de la peau et des lèvres chez 30% et 50% des transplantés rénaux et l'incidence augmente avec la durée du suivi des patients
- Lymphomes(surtout les lymph B) représente la principale complication de l'immunosuppression dans la 1ère année après la transplantation (dans 70% des cas)
- La survenue de lymphome, plus fréquente dans les population rurales en raison d'une exposition aux produits phytosanitaires

- Diverses études ont signalé un accroissement du risque de cancer chez des enfants exposés à des pesticides avant la naissance (lors de la grossesse) ou pendant l'enfance. L'exposition pourrait ainsi provenir du travail agricole des parents ou de contaminations domestiques de l'habitat ou de l'alimentation.
- D'autre part, des études de corrélations géographiques (ou écologiques) ont suggéré des associations entre l'exposition environnementale (habitations dans des zones polluées ou agricoles) et l'augmentation du risque de mortalité par cancer (tumeurs cérébrales, tumeurs du système hématopoïétique et de la vessie)