



## **Contribution des granules intrapolliniques à l'allergénicité des pollens. Modulation par les polluants atmosphériques**

**Oussama ABOU CHAKRA – oussama.abou-chakra@ineris.fr**

Thèse suivie à l'INERIS par : G. LACROIX (Direction des Risques Chroniques)

Directeur de thèse : G. PELTRE (ESPCI)

### **Contexte**

Depuis quelques décennies, les études épidémiologiques montrent que la fréquence des maladies respiratoires allergiques, y compris l'asthme et les rhinites allergiques est en constante augmentation. Sont concernés essentiellement les sujets jeunes et les habitants des grandes villes des pays développés. Ces maladies atopiques sont déclenchées par divers aéroallergènes, dont les pollens représentent la majeure partie. Toutefois, bien que les symptômes liés à ces affections coïncident avec la saison de pollinisation, il est maintenant bien établi qu'il n'existe pas de relation simple et directe entre ces 2 phénomènes et que d'autres facteurs doivent intervenir.

Parmi ceux-ci, les polluants atmosphériques semblent jouer un rôle important dans l'incidence des allergies et de la sensibilisation des populations, soit en agressant l'appareil respiratoire, soit en agissant sur les aéroallergènes. Lors d'un travail de thèse précédent, réalisé au sein de notre laboratoire, il a été montré que les polluants atmosphériques étaient capables de fragiliser, voire casser, les pollens et d'induire une libération de granules intracytoplasmiques (GCP) qui possèdent un potentiel au moins équivalent à celui du pollen pour sensibiliser les rats. Divers travaux ont par ailleurs mis en cause les GCP dans les épisodes épidémiques d'asthme associés aux orages (ou "thunderstorm asthma": TA).

En raison de leur petite taille (<5 µm contre 25-60 µm pour le pollen entier), nous pensons que les GCP sont susceptibles d'entraîner une réaction allergique plus importante que celle induite par le pollen entier, pour une même masse de matériel biologique. D'autre part, nous souhaitons étudier la pertinence épidémiologique de cette hypothèse en observant la corrélation des concentrations atmosphériques en granules avec le nombre d'admissions hospitalières à cause des allergies respiratoires et en particulier l'asthme.

### **Partie expérimentale**

Le pollen pouvant avoir des comportements très différents selon sa date de récolte, les caractéristiques de pollen récolté en 2003 et 2005, et ayant subi un traitement conservateur (ALLERCON, Suède), et de pollen non traité et récolté en 2006 (ALLERBIO, France) ont été comparées. Les quantités de protéines et de granules cytoplasmiques libérés par ces différents pollens ont été étudiées. La concentration en protéines des pollens récoltés en 2005 est plus élevée que celle des pollens de 2003 ( $32 \pm 0,6$  mg/mL vs.  $26 \pm 1,3$  mg/mL). Les pollens de 2005 libèrent également environ 20 % de plus de granules que les pollens de 2003. Ces résultats confirment les données de la littérature qui montrent que les pollens perdent leur capacité à libérer des granules en vieillissant. D'autre part, le vieux pollen perd des protéines et donc peut être allergène.

Par ailleurs, la concentration protéique et le nombre de granules issues du pollen non traité sont inférieurs à ceux du pollen traité. Cela peut amener à déduire que le traitement du pollen fragilise la membrane pollinique.

Une première expérimentation, réalisée sur des rats Brown Norway, a consisté à comparer l'allergénicité du pollen de 2003 et du pollen de 2005.

La réponse humorale a été évaluée par le dosage sérique des immunoglobulines E et G1, chez les rats exposés aux pollens ou au sérum physiologique. En comparant les rats sensibilisés aux pollens des 2 récoltes et au sérum physiologique, on remarque que les concentrations sériques des IgE sont plus élevées significativement chez les rats exposés aux pollens des 2 récoltes de 2003 et de 2005 ( $0,66 \pm 0,5$  et  $0,47 \pm 0,38$ ) par rapport aux témoins NaCl ( $0,08 \pm 0,003$ ). De même pour les immunoglobulines G1, les concentrations sont significativement plus élevées chez les rats sensibilisés aux pollens que ceux sensibilisés par le NaCl. Les rats sensibilisés aux pollens de 2003 et de 2005 ne montrent pas de différences significatives.

La réponse cellulaire a été évaluée par la mesure de la prolifération des cellules des ganglions trachéobronchiques en présence du pollen de 2003 et de 2005. Les résultats des tests de prolifération de cellules des ganglions trachéobronchiques ne montrent pas de différences significatives chez les rats sensibilisés par les 2 pollens de 2003 et de 2005, pour les 3 concentrations de pollen (1, 10 et 100 µg/mL). Par contre, les réponses sont significativement supérieures chez les rats exposés aux pollens par rapport à ceux exposés à la solution de NaCl 0,9 %.

La perte de protéines observée précédemment ne semble donc pas influencer la réponse allergique des animaux.

Dans la deuxième expérimentation, l'allergénicité du pollen de 2006 (2,5 mg/mL ; ± Alum) a été comparée à celle de deux concentrations de granules ( $10^7$  et  $10^8$  gr/mL), la plus élevée correspondant à la concentration théorique de granules se trouvant dans 2,5 mg de pollen. Le dosage des IgE et des IgG1 renseigne sur la réponse humorale, alors que la réponse cellulaire est exprimée par l'infiltration cellulaire dans les poumons et la prolifération lymphocytaire en présence d'allergène.

Seuls les rats sensibilisés au pollen (± Alum) montrent des réponses supérieures à celle des témoins (NaCl). Les taux des immunoglobulines des rats sensibilisés aux granules sont identiques à ceux des témoins.

Le nombre de cellules dans le LBA est 2 fois supérieur chez les rats exposés au pollen et à la plus forte concentration de granules ( $13,8 \times 10^6$  et  $14,1 \times 10^6$  respectivement) par rapport aux rats témoins ( $6,7 \times 10^6$ ). Le pollen avec l'Alum et la faible concentration de granules ( $10^7$  gr/mL) n'augmentent pas significativement le nombre des cellules dans le LBA.

En présence de pollen, la prolifération des lymphocytes des rats exposés au pollen ou aux granules est significativement supérieure à celle des rats témoins. Cette augmentation est nettement marquée pour le groupe traité par le pollen. En présence de granules, le taux d'incorporation de la thymidine tritiée dans les cellules des ganglions trachéobronchiques est le même pour les rats traités, ce taux est statistiquement différent de celui des témoins.

**Conclusion :** Aux concentrations de granules utilisées, la réponse allergique des rats est plus faible que celle observée avec le pollen. Une comparaison des réponses aux pollens ou aux granules à masse égale sera effectuée.

## Partie épidémiologique

Cette partie comporte deux aspects ; le premier volet, métrologique, consiste à mettre au point une méthode permettant de compter les granules ; le second volet est l'obtention des données médicales.

Les particules atmosphériques  $PM_{10}$ , y compris les granules de pollen, seront prélevées par un Partisol. Ensuite, une détection colorimétrique sera couplée à une méthode par immuno-détection. La première consiste à colorer le constituant majeur des granules, l'amidon, par le Lugol. La détection immunologique se fera par des anticorps polyclonaux pour identifier à quel type végétal correspondent les granules.

Des contacts sont pris avec Pr de Blay (Hôpital de Strasbourg) et avec Dr Lhenry (OR2S – Picardie) pour nous permettre de recueillir les données d'admission hospitalière et de consultation d'allergologues suite aux allergies respiratoires dans les régions strasbourgeoise et amiénoise. De même, les quantités de particules biologiques (pollens...) dans l'air nous seront fournies par les réseaux nationaux de surveillance aérobiologique (RNSA) de Strasbourg et d'Amiens.