

Évaluation précoce de l'immunotoxicité⁽¹⁾

L'immunotoxicologie a été définie comme la discipline de la toxicologie qui étudie les effets adverses des xénobiotiques sur le système immunitaire et leurs conséquences pour l'homme [1]. Elle s'intéresse donc à tous les aspects des interactions entre système immunitaire et xénobiotiques : effets directs ou indirects des xénobiotiques sur la réponse immunitaire, réaction du système immunitaire dirigée contre le xénobiotique ou ses métabolites.

Toute activité toxicologique ne se justifiant qu'en fonction des risques qu'elle permet de prévoir et donc de prévenir, la connaissance des conséquences cliniques des effets immunotoxiques est le préalable à toute exploration immunotoxicologique.

Conséquences d'un effet immunotoxique

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

Effets immunotoxiques directs

Ils correspondent aux perturbations de la réponse immunitaire normale qui est soit diminuée (immunosuppression), soit augmentée (immunostimulation). Ces deux situations ont des conséquences bien distinctes. L'immunosuppression est le mieux

connu des domaines de l'immunotoxicologie, essentiellement pour des raisons historiques, les premiers médicaments immunosuppresseurs efficaces ayant été introduits en thérapeutique humaine, il y a plus de vingt-cinq ans. On reconnaît deux types de conséquences à un effet immunosuppresseur [2] : l'affaiblissement des résistances antimicrobiennes et l'augmentation de l'incidence de certains cancers.

Tout sujet immunodéprimé est susceptible de développer des complications infectieuses. Ces surinfections peuvent revêtir un aspect inhabituel par leur fréquence, leur sévérité, les germes responsables (infections opportunistes provoquées par des germes normalement peu pathogènes : *Listeria monocytogenes*, par exemple), certaines localisations particulières (toxoplasmose cérébrale) [3, 4]. Les exemples issus de la pathologie (complications infectieuses des déficits immunitaires congénitaux, du SIDA...) sont tout à fait illustratifs de ce phénomène que l'on observe couramment avec les médicaments immunosuppresseurs [5].

L'augmentation de l'incidence des lymphomes et, dans une moindre mesure, des leucémies aiguës est une autre complication d'une immunosuppression [4, 6] : « seconds cancers » apparaissant 60 mois en moyenne après le début d'une chimiothérapie anticancéreuse, toujours immunosuppressive, lymphomes B compliquant un traitement par l'azathioprine, la ciclosporine ou le FK 506.

Si un affaiblissement des mécanismes

de défense de l'hôte, spécifiques (cellulaires et/ou humoraux) et surtout non spécifiques (phagocytes) [7], vis-à-vis des agresseurs microbiens, est évidemment en cause dans la survenue des surinfections, l'apparition de lymphomes, essentiellement B, reste mal expliquée.

A côté de l'immunosuppression, abolition totale de la réponse immunitaire, l'immunodépression correspond à une diminution plus ou moins marquée, mais incomplète, de la réponse immunitaire. Cette distinction n'a rien d'académique pour le toxicologue chargé de l'évaluation préclinique des nouveaux médicaments. Avec l'introduction prochaine d'une exploration immunotoxicologique systématique avant la mise sur le marché [8], on se trouvera confronté à l'une des trois situations suivantes : la constatation de propriétés immunosuppressives (au sens strict), inattendues, conduira à l'arrêt du développement du nouveau médicament s'il ne peut être redéveloppé en tant qu'immunosuppresseur ; à l'inverse, l'absence totale de tout effet immunotoxicologique permettra d'être aussi rassurant que possible. En pratique, on risque de se trouver, le plus souvent, devant un médicament responsable de perturbations immunologiques plus ou moins accusées dont l'interprétation sera délicate : peut-on accepter la mise sur le marché d'un anxiolytique ou d'un antalgique induisant une diminution de 30 à 50 % de la production d'anticorps ? En d'autres termes, quelle diminution de la production d'anticorps (ou d'un autre paramètre immunologique) peut-on accepter

(1) Cet article a fait l'objet d'une présentation orale à la 4^e Journée Nationale d'Actualités en Immunologie, organisée par les Laboratoires Cassenne, à Paris, le 15 juin 1991.

sans risque d'induire les conséquences décrites plus haut (infections, lymphomes) ?

S'il est difficile, et peut-être irréaliste, de penser qu'une telle diminution de la réponse immunitaire soit suffisante pour provoquer directement de telles conséquences en raison de la réserve fonctionnelle du système immunitaire, il est légitime d'envisager qu'elle puisse jouer un rôle favorisant dans la survenue de ces complications chez des sujets déjà porteurs d'un ou de plusieurs facteurs de risque. L'immunodépression est-elle un facteur de risque ? Si oui, n'existe-t-il pas des populations à risque (personnes âgées, très jeunes enfants...) ? La réponse à ces deux questions sera un des défis de l'immunotoxicologie des prochaines années avec des implications médicales, réglementaires et économiques tout à fait capitales.

Les conséquences d'un effet immunostimulant sont encore mal connues car le développement de médicaments actifs est récent. Certains de leurs effets indésirables relèvent d'un mécanisme immunopharmacologique et peuvent donc être considérés comme des effets immunotoxiques [4].

Le syndrome pseudo-grippal en est le premier exemple : en début de traitement peut apparaître une réaction fébrile, relativement modérée, associée à des frissons, une sensation de malaise, une hypotension. Ce syndrome est normalement peu sévère, facilement corrigé par les antipyrétiques ; il s'agit parfois d'un véritable facteur limitant, par exemple l'utilisation de cytokines recombinantes (rTNF α) en thérapeutique [9]. Le mécanisme en est imparfaitement connu, mais impliquerait préférentiellement l'interleukine 1, libérée par les macrophages sous l'effet activateur direct de certains médicaments ou par le biais de l'interféron γ .

La seconde conséquence immunotoxique d'un traitement immunostimulant est représentée par l'« exacerbation » de pathologies sous-jacentes : maladie de Crohn, psoriasis, lupus érythémateux disséminé... Initiale-

ment décrite avec le lévamisole [10], elle est l'apanage aujourd'hui des traitements par cytokines, IL-2 notamment [11]. Les complications thyroïdiennes sont relativement fréquentes lors des traitements par l'interleukine 2 et pourraient traduire la stimulation de cellules T CD4⁺ auto-réactives, à l'origine d'un processus auto-immun.

L'inhibition du métabolisme hépatique oxydatif des médicaments constitue la troisième complication établie des traitements immunostimulants [12]. En inhibant l'activité des systèmes enzymatiques dépendant du cytochrome P450, les immunostimulants favorisent l'accumulation de médicaments associés (théophylline, phénytoïne, carbamazépine...) dont l'élévation des taux sériques se traduira par des signes cliniques de surdosage. Expérimentalement, tous les médicaments immunostimulants exercent cet effet dans lequel intervient probablement l'IL-1. Les conséquences cliniques sont inconstantes et en pratique limitées à l'interféron α et à certains vaccins (BCG).

A côté de ces complications assez bien connues, d'autres doivent être envisagées. Les immunostimulants ne sont-ils pas susceptibles de favoriser les réactions immuno-allergiques (asthme, rhume des foins, eczéma...) ? Malheureusement, peu de données cliniques ou expérimentales permettent de confirmer ou d'infirmer cette hypothèse.

Réactions d'hypersensibilité

Elles constituent les complications immunotoxiques les plus fréquentes et les plus importantes [4].

Les médicaments ne sont habituellement pas directement immunogéniques car, en dépit de leur origine étrangère à l'organisme (*non-self*), leur taille moléculaire est insuffisante. Ils doivent jouer le rôle d'haptène en se liant solidement à une protéine porteuse, ce qui implique qu'ils possèdent la réactivité chimique nécessaire et suffisante pour leur permettre de contracter une telle liaison. On admet, par postulat, que ce sont surtout des métabolites intermédiaires,

issus des processus de biotransformation, qui jouent ce rôle d'haptènes [13]. Par parenthèse, cette hypothèse, si elle est universelle, explique sans doute le caractère peu prédictif des tests d'allergie *in vitro* pratiqués avec la molécule mère et non pas avec le métabolite responsable. Il faut donc une étape obligatoire de sensibilisation suivie du déclenchement de la réponse lors d'un contact ultérieur qui n'est pas nécessairement le second. En fonction de la voie d'exposition, de la dose, des modalités d'administration, et d'autres facteurs dont la nature et l'importance sont mal connues, le système immunitaire dirigera une réponse spécifique contre cet haptène. Selon les caractéristiques de la réponse et des effecteurs impliqués : lymphocytes B ou T, anticorps IgE, IgG ou IgM, les manifestations cliniques de ces réactions immuno-allergiques sont extrêmement variables : anaphylaxie, atteinte sanguine, maladie sérique, dermite de contact... [14].

A côté des réactions d'hypersensibilité relevant d'un mécanisme immuno-allergique, il existe des réactions déclenchées lors d'un premier contact, ne faisant donc pas intervenir un mécanisme de reconnaissance spécifique de l'antigène médicamenteux par le système immunitaire. On parle de réactions pseudo-allergiques [15], par libération directe d'histamine, activation non spécifique du système du complément (à l'origine de la plupart des accidents des produits de contraste radiologiques), intolérance à l'aspirine et aux anti-inflammatoires non stéroïdiens.

Phénomènes auto-immunitaires

Des médicaments peuvent enfin être responsables de réactions plus ou moins comparables aux maladies auto-immunes spontanées.

On distingue des maladies spécifiques d'organe au cours desquelles les auto-anticorps produits sont relativement homogènes (anticorps anti-récepteur de l'acétylcholine dans la myasthénie, anticorps anti-Rhésus dans les anémies hémolytiques auto-immunes...) et des maladies systémiques (lupus

érythémateux disséminé, par exemple) caractérisés par une production hétérogène d'auto-anticorps.

Un petit nombre de médicaments peut provoquer des réactions auto-immunes spécifiques d'organe [4] : anémies hémolytiques auto-immunes et α -méthyl-Dopa ou myasthénies et pénicillamine, en tout point comparables à la maladie spontanée si ce n'est une rétrocession totale, bien que lente, à l'arrêt du traitement responsable. Le mécanisme de ces réactions est inconnu. Il n'est pas sûr que la diminution de la fonction des lymphocytes T suppresseurs, souvent invoquée, soit réellement en cause.

Les réactions systémiques sont plus fréquentes, mais, cliniquement et biologiquement, elles s'éloignent de la pathologie spontanée : syndromes lupiques sans atteinte neurologique ni rénale, pseudo-maladie sérique sans immun-complexes circulants... Ces réactions sont en fait plus proches cliniquement d'une réaction du greffon contre l'hôte (*graft-versus-host disease*, GvH) d'où le terme de « réaction pseudo-GvH » qui a été proposé pour les définir [16] et qui a servi au développement du test du ganglion poplité.

Prédiction préclinique d'un effet immunotoxique

L'immunotoxicologie est une discipline très récente, individualisée à la fin des années 1970. Elle ne dispose encore pas des bases réglementaires auxquelles est attaché par nécessité le toxicologue. Les tests disponibles sont directement issus de l'immunologie : ils n'ont donc pas été conçus pour répondre aux préoccupations spécifiques de l'exploration toxicologique. De plus, ils souffrent d'un manque de standardisation et de validation. De cela découle le caractère limité des possibilités actuelles en matière de prédiction précoce d'un effet immunotoxique, c'est-à-dire au stade préclinique.

Prédiction d'un pouvoir immunosuppresseur

La prédiction, au stade préclinique, d'un effet immunosuppresseur est la seule possibilité réelle de l'immunotoxicologue. On a proposé [17] des

protocoles permettant de détecter les médicaments et xénobiotiques susceptibles d'exercer un tel effet de manière inattendue.

Ces protocoles se conçoivent actuellement dans le cadre des essais de toxicité subchronique, d'une durée de 21 à 90 jours, réalisés chez le rat. Ces protocoles comportent plusieurs étapes. La première est une étape fonctionnelle au cours de laquelle on pourra mettre en évidence d'éventuelles perturbations des principaux paramètres de la réponse immunitaire. Outre l'examen anatomopathologique des principaux organes lymphoïdes et la numération des populations et sous-populations lymphocytaires, ces tests étudieraient la production d'anticorps, l'immunité cellulaire, la phagocytose et l'activité des cellules NK. Dans un second temps, on cherchera à confirmer et à expliquer les altérations observées lors de la première étape et leur signification sera évaluée à l'aide de modèles d'infections expérimentales. L'ensemble de ces données peut être interprété en fonction des données toxicologiques disponibles pour chaque molécule et permet de définir un potentiel immunosuppresseur que les agences réglementaires jugeront acceptables ou non. Certains protocoles ont déjà fait l'objet d'une validation interlaboratoires [18].

Pour des raisons encore une fois essentiellement historiques, on s'est peu intéressé aux propriétés immunostimulantes des médicaments et des xénobiotiques. Il n'est pas sûr que les protocoles précédents soient réellement applicables à cette situation particulière.

Prédiction d'un pouvoir sensibilisant

On a longtemps considéré que les réactions immuno-allergiques se distinguaient des effets toxiques par leur non-reproductibilité chez l'animal. Les tests de sensibilisation de contact effectués depuis un quart de siècle chez le cobaye [19] sont là pour démontrer le contraire. Ces tests permettent de détecter les produits fortement ou moyennement sensibilisants

après application topique dans des conditions bien standardisées, la sensibilisation étant révélée par une application déclenchante sous la forme d'un érythème plus ou moins intense, accompagné ou non d'œdème. Tout médicament à usage local, les cosmétiques, subissent ce type d'évaluation.

Toutefois, ces tests de sensibilisation de contact ont un intérêt prédictif plus large, car la sensibilisation, quelle que soit la voie utilisée, met toujours en jeu une dégradation partielle de l'antigène (*processing*), puis une présentation aux lymphocytes T auxiliaires. Les tests de sensibilisation de contact permettent, dans une certaine mesure, de prédire le pouvoir sensibilisant « général » d'une molécule, comme le montre l'expérience clinique bien corrélée aux résultats obtenus avec une multitude de médicaments, cosmétiques ou produits industriels qui sont depuis passés dans le domaine public, et comme le montrent également les résultats expérimentaux obtenus avec des médicaments administrés exclusivement par voie systémique chez l'homme et qui n'en donnent pas moins des réactions locales chez le cobaye [20].

En revanche, les tests d'anaphylaxie, anaphylaxie systémique ou cutanée passive, n'ont qu'un pouvoir prédictif extrêmement faible, limité aux molécules suffisamment grosses pour être spontanément immunogéniques ou suffisamment réactives pour se lier sans biotransformation préalable à des protéines porteuses. Ils n'ont, dans l'état actuel des choses, aucun intérêt pour les médicaments de petite taille, malheureusement les plus nombreux.

Prédiction d'un pouvoir auto-immunogène

Il n'existe aucun moyen permettant de prédire le risque de réactions auto-immunes spécifiques d'organe induites par les médicaments. En ce qui concerne les réactions systémiques, le concept de réaction pseudo-GvH a conduit au développement du test du ganglion poplité, équivalent d'une réaction locale du greffon con-

tre l'hôte chez la souris [21] ou chez le rat [22]. Ce test très simple consiste à injecter, dans le coussinet plantaire, le produit testé et son solvant dans la patte controlatérale. Au bout de 7 à 14 jours, les deux ganglions poplités sont prélevés et pesés. L'augmentation de poids du ganglion traité est le témoin de la réaction. Il permet de prédire les médicaments susceptibles de provoquer ce type de réactions chez l'homme. Le mécanisme en cause est encore largement spéculatif mais pourrait faire intervenir une interférence de ces médicaments ou de leurs métabolites avec les molécules de classe II du complexe majeur d'histocompatibilité. Ce test est en cours de validation et n'est pas de pratique courante.

Conclusion

Les interactions entre xénobiotiques et système immunitaire sont nombreuses [23], responsables de conséquences pathologiques potentiellement graves. S'il est possible de détecter un potentiel immunosuppresseur inattendu, la prédiction des autres effets immunotoxiques est encore inaccessible ou du domaine de la recherche. Le développement de méthodes plus spécifiques, mieux standardisées et correctement validées, devrait permettre, dans un avenir relativement proche, d'améliorer l'évaluation précoce de l'immunotoxicité des médicaments et des xénobiotiques ■

Jacques Descotes

Professeur de pharmacologie. Université Claude-Bernard, laboratoire d'immunotoxicologie fondamentale et clinique, Inserm U. 80-Cnrs URA 1177-UCBL, faculté de médecine Alexis-Carrel, 69008 Lyon, France.

RÉFÉRENCES

- Berlin A, Dean J, Draper MH, et al. *Immunotoxicology*. Dordrecht : Martinus Nijhoff, 1987 : XXIV.
- Heise ER. Diseases associated with immunosuppression. *Environ Health Perspect* 1982 ; 43 : 9-19.
- Mandell LA. Infections in the immunocompromised host. *J Int Med Res* 1990 ; 18 : 177-90.
- Descotes J. *Drug-Induced Immune Diseases*. Amsterdam : Elsevier Science, 1990.
- Davies DM. Effects of drugs on infections. In : Davies DM, ed. *Textbook of Adverse Drug Reactions*, 2^e ed. Oxford : Oxford Press, 1981 : 518.
- Penn I. Tumors of the immunocompromised patient. *Annu Rev Med* 1988 ; 39 : 63-73.
- Peterson PK. Host defense abnormalities predisposing the patient to infection. *Am J Med* 1984 ; 76 : 2-10.
- Descotes J. *Introduction à l'immunotoxicologie*. Lyon : Éditions Lacassagne, 1991.
- Jakubowski AA, Casper ES, Gabrilove JL, et al. Phase I trial of intramuscularly administered tumor necrosis factor in patients with advanced cancer. *J Clin Oncol* 1989 ; 7 : 298.
- Descotes J, Évieux JCl. Immunomodulating agents : In : Dukes MNG, ed. *Meyler's Side-Effects of Drugs*, 10th ed. Amsterdam : Elsevier Science, 1984 : 711-4.
- Vial T, Descotes J. Clinical toxicity of interleukin-2. *Drug Safety* 1991 (sous presse).
- Descotes J. Immunomodulating agents and hepatic drug metabolizing enzymes. *Drug Metab Rev* 1985 ; 16 : 175-83.
- Parker CW. Hapten immunology and allergic reactions in humans. *Arthr Rheum* 1981 ; 24 : 1024-36.
- Wedner HJ. Allergic reaction to drugs. *Primary Care* 1987 ; 14 : 523-45.
- Descotes J. Pseudo-allergic drug reactions. *Clin Res Pract Drug Regul Affairs* 1986 ; 4 : 75-84.
- Gleichmann E, Pals ST, Rolink AG, et al. Graft-versus-host reactions : clues to the etiopathology of a spectrum of immunological diseases. *Immunol Today* 1984 ; 5 : 324-32.
- Dean JH, Luster MI, Boorman GA, Lauer LD. Procedures available to examine the immunotoxicity of chemicals and drugs. *Pharmacol Rev* 1982 ; 34 : 137-48.
- Luster MI, Munson AE, Thomas PT, et al. Development of a testing battery to assess chemical-induced immunotoxicity : national toxicology program's guidelines for immunotoxicity evaluation in mice. *Fund Appl Toxicol* 1988 ; 10 : 2-19.
- Oliver GJA, Botham PA, Kimber I. Models for contact sensitization. Novel approaches and future developments. *Br J Dermatol* 1986 ; 115 : 53-62.
- Laschi-Loquerie A, Tachon P, Veysseire C, Descotes J. Macrophage migration inhibition test to evaluate the sensitizing potential of drugs in the guinea-pig. *Arch Toxicol* 1987 ; 11 (suppl) : 325-8.

- Kammüller ME, Thomas C, De Bakker JM, et al. The popliteal lymph node assay to screen for the immune potential of chemicals. A preliminary study. *Int J Immunopharmacol* 1989 ; 11 : 293-7.
- Verdier F, Virat M, Descotes J. Applicability of the popliteal lymph node assay in the Brown-Norway rat. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 1990 ; 12 : 669-77.
- Descotes J. *Immunotoxicology of Drugs and Chemicals*, 2nd ed. Amsterdam : Elsevier Science, 1988.

Summary

Early assessment of immunotoxicity

Immunotoxicology is a new branch of toxicology devoted to the study of the adverse effects of xenobiotics on the immune system. Immunotoxic effects can be divided into direct effects, i.e. immunosuppression and immunoenhancement, hypersensitivity reactions and auto-immune phenomena. Such effects may have deleterious clinical consequences, particularly in patients treated with potentially immunotoxic therapeutic agents. To a certain extent, it is now possible routinely to detect compounds with unexpected immunosuppressive properties resulting in more severe infectious diseases or more frequent lymphomas. Tiered protocols have been designed in animals to evidence alterations in functional immune parameters, the relevance of which will be ascertained by means of experimental infections. By contrast, models available to predict the sensitizing potential of drugs or the risk for inducing auto-immune disorders are still restricted to research laboratories.

TIRÉS A PART

J. Descotes.

m/s n° 7, vol. 7, septembre 91