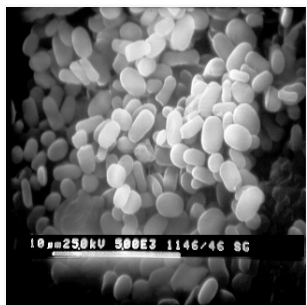
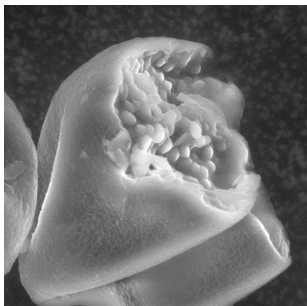
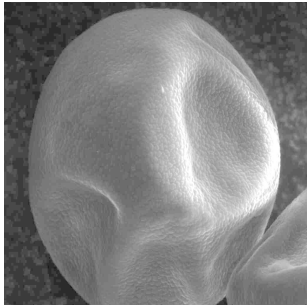


Granules Cytoplasmiques de Pollen & Allergies Respiratoires



Oussama ABOU CHAKRA

XIV^{ème} Journées d'Études Scientifiques 2009

15 & 16 Janvier 2010

Salle Dewally - AMIENS

INERIS
maîtriser le risque
pour un développement durable

PECSA
PHYSICOCHIMIE DES ELECTROLYTES
COLLOIDES ET SCIENCES ANALYTIQUES

ESPCI
ParisTech

RNSA
RESEAU NATIONAL DE SURVEILLANCE AEROBIOLOGIQUE

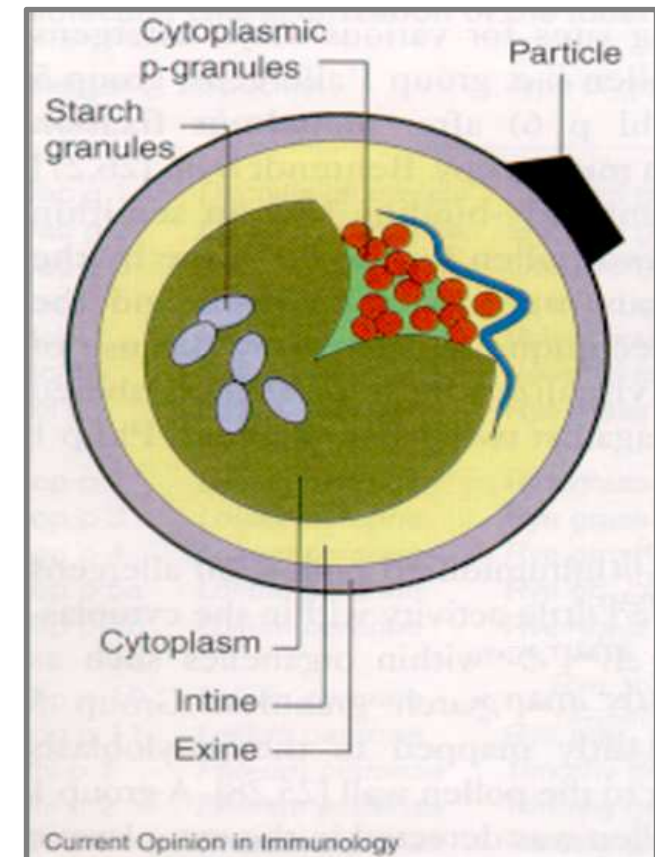
Granules Cytoplasmiques de Pollen (GCP)

- Petites particules ($\text{\O} < 5\mu\text{m}$)
 - * submicroniques
 - * subpolliniques
 - * paucimicroniques.

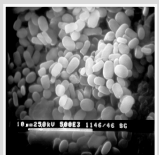
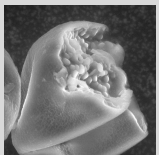
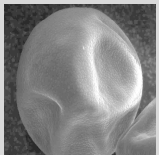
- Starch granules:
 - réserves énergétiques
 - 700 – 1000 granules / pollen

- p-particules :
 - précurseur de la membrane
 - 1 million granules / pollen

(Taylor, 2002; Helsop-Harison, 1982)

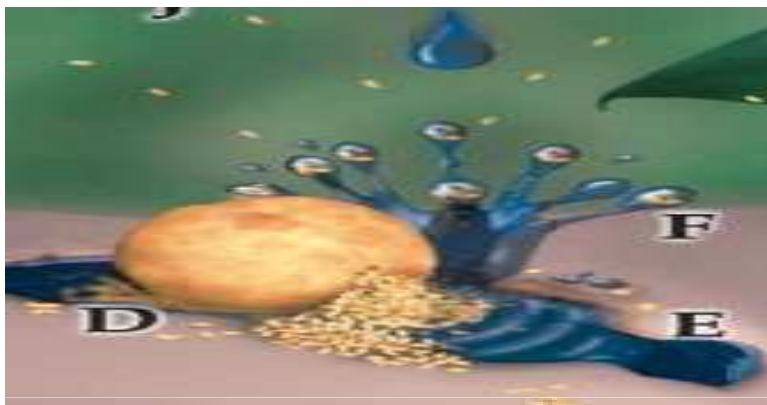


Behrendt, 2001

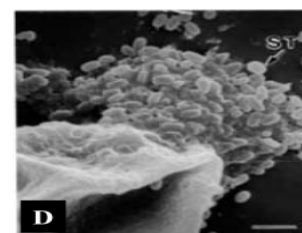
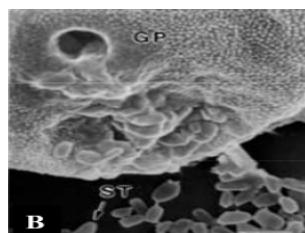
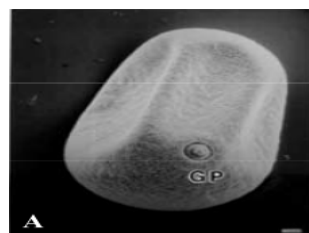
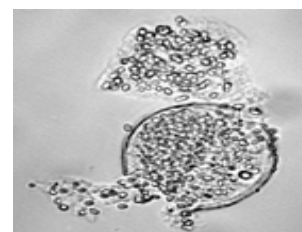
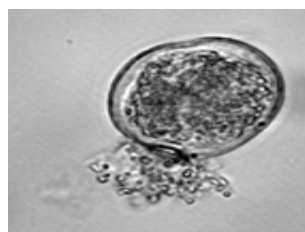
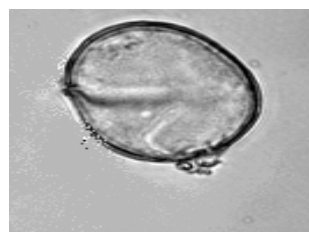
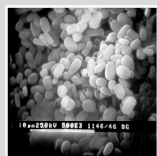
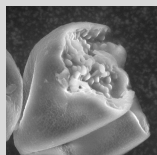
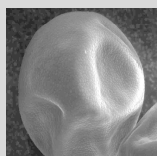


Granules Cytoplasmiques de Pollen (GCP)

- Facteurs météorologiques : orage, pluie ... (Marks, 2001)



Solomon, 2002



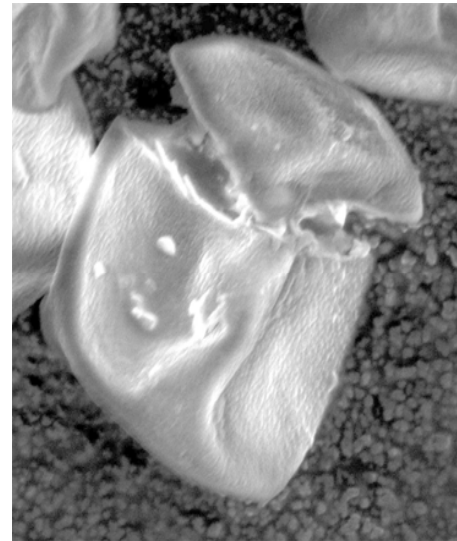
Grote, 2001

Granules Cytoplasmiques de Pollen (GCP)

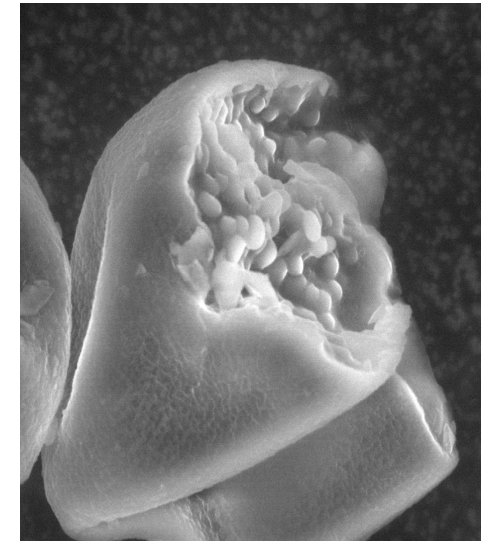
- Pollution atmosphérique : pollen endommagé



AIR

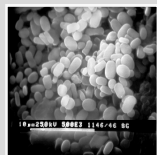
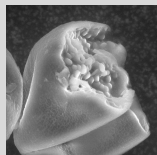
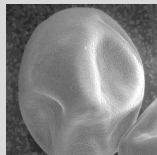


NO₂ - 2 ppm



O₃ - 0,7 ppm

Motta, 2004



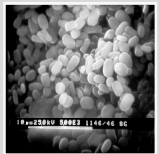
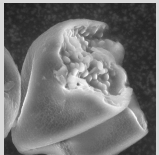
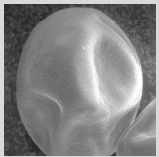
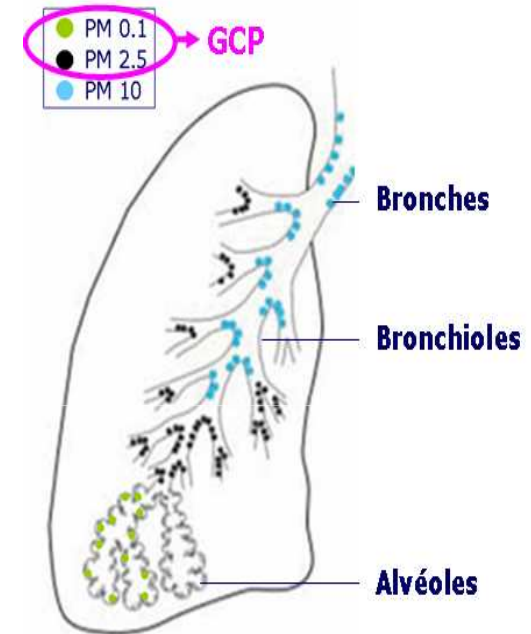
Problématique

- Changement pollinique
 - * saison pollinique plus longue
 - * ↗ concentration pollinique

- Pollution atmosphérique

- Granules - épisodes d'asthme associés aux orages (thunderstorm asthma, Melbourne et Londres) (Suphioglu, 1992; Taylor, 1994)

- Taille et nombre des GCP



GCP - ↗ Allergie respiratoires?

Objectifs

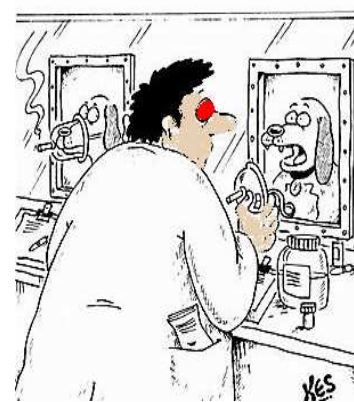
?

épidémiologique



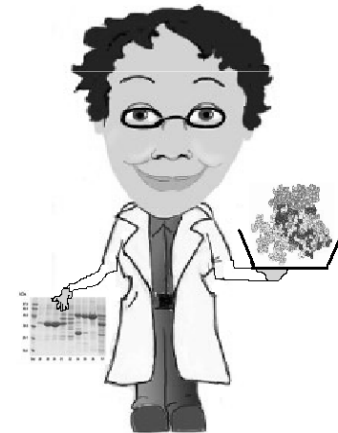
Mettre en cause
l'effet des pollen et
des GCP dans les
allergies respiratoires

expérimental

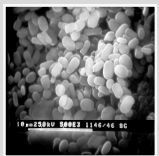
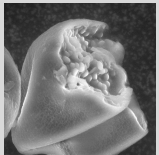
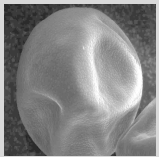


Évaluer le potentiel
allergique des GCP

analytique



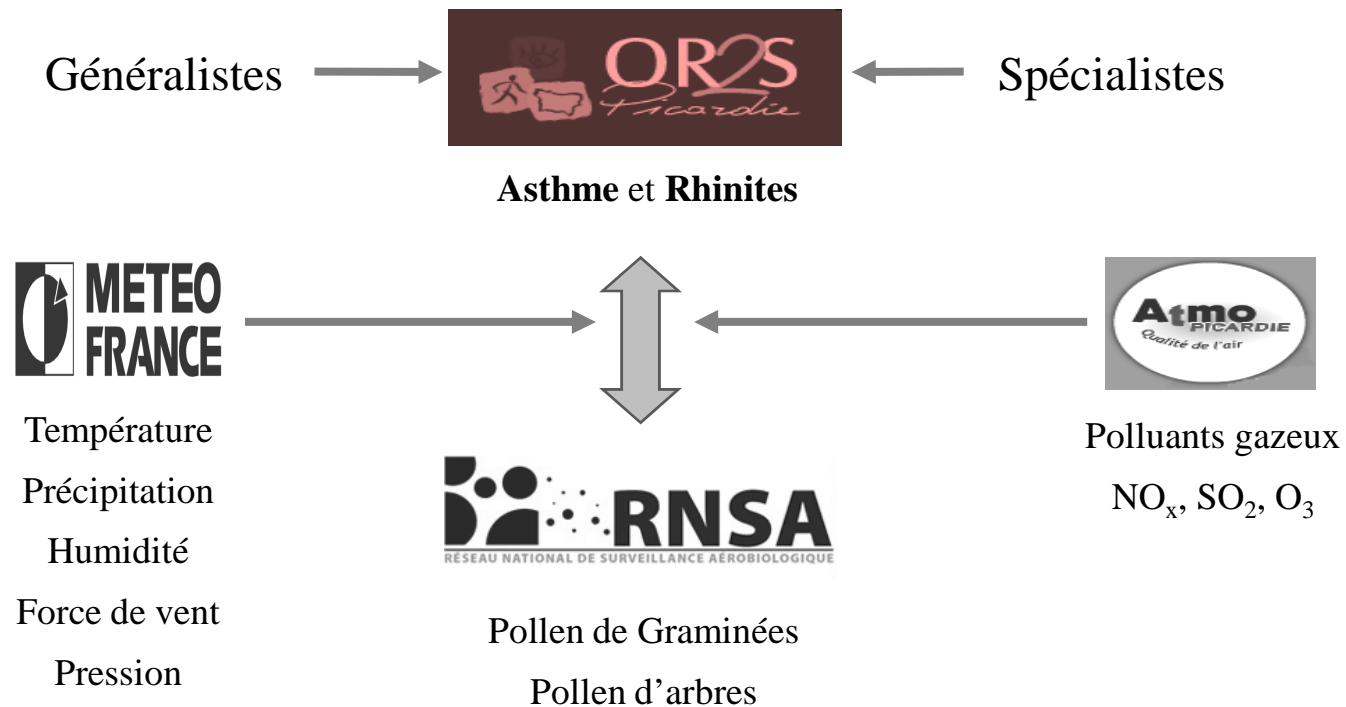
Caractériser les
allergènes des GCP



Étude épidémiologique

Corréler les concentrations polliniques aux symptômes d'allergies respiratoires

Méthodologique

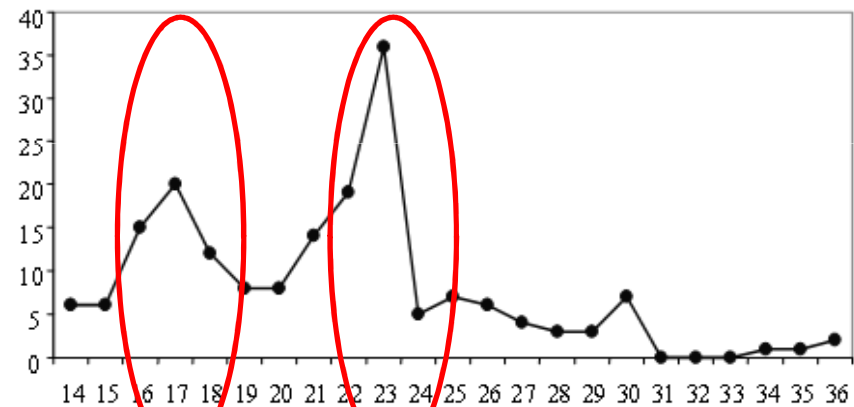


Allergies respiratoires

Etude (184 sujets): Amiens / 2 avril – 9 septembre 2007

2 pics de consultations
~ pics de pollen

Nombre de symptômes par semaine



P. arbres

P. graminées



Régressions

Régressions linéaires simples

	Pollen	Polluants atmosphériques	Facteurs Météorologiques
Rhinites	Graminées (R=0,52)	Ozone (R=0,64)	✗
Asthme	✗	✗	Précipitation (R=0,51)

Régressions linéaires multiples (Asthme)

Pollen: Platane - Autres taxons

Polluants: NO_x - O₃ - SO₂

Météo.: Température - Humidité - Vent

R² = 67 %



Conclusions

- Biais de l'étude:
 - Faible nombre de sujets
 - Durée de l'étude
- Asthme et rhinites: Relation significative avec
 - Pollen
 - Polluants
 - Facteurs météorologiques: précipitations

GCP associés aux épisodes d'asthme liés aux orages.
(Suphioglu et al, 1992)

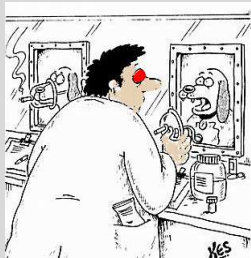
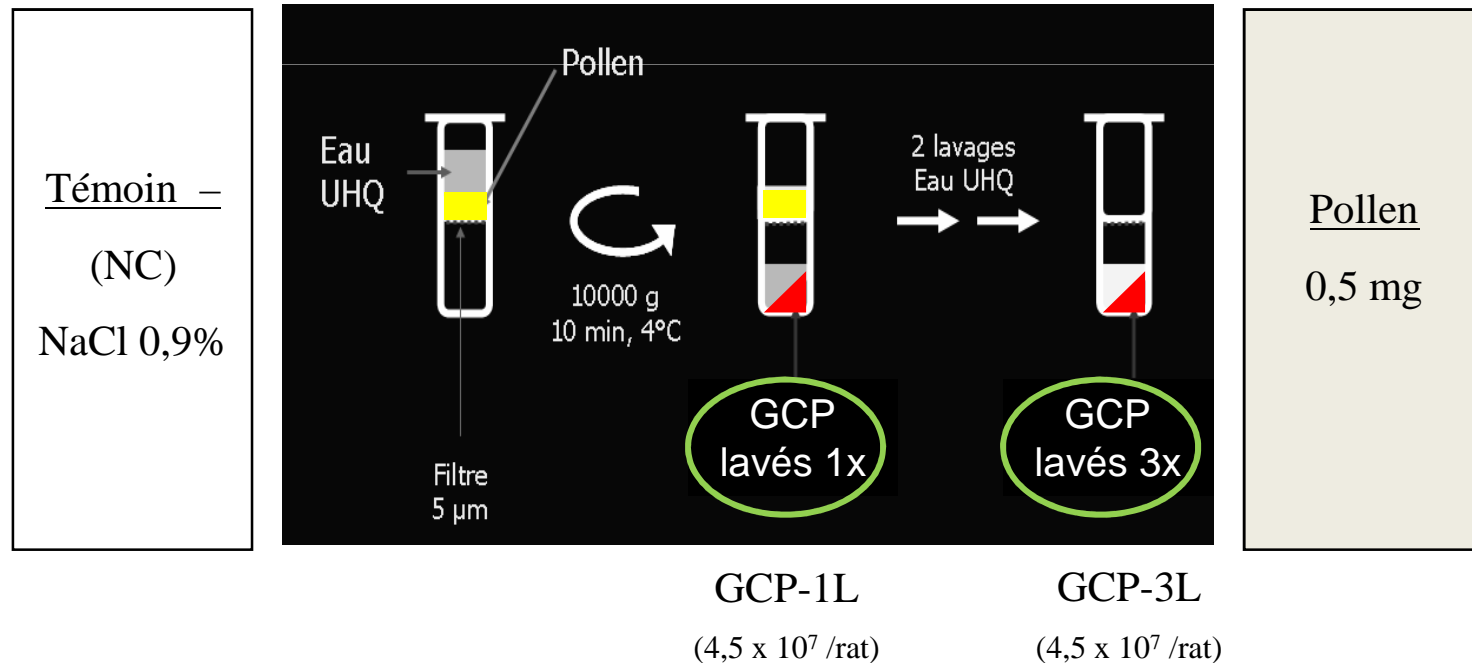
Mise en cause des GCP dans les maladies respiratoires.



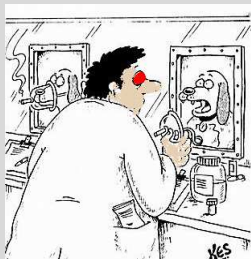
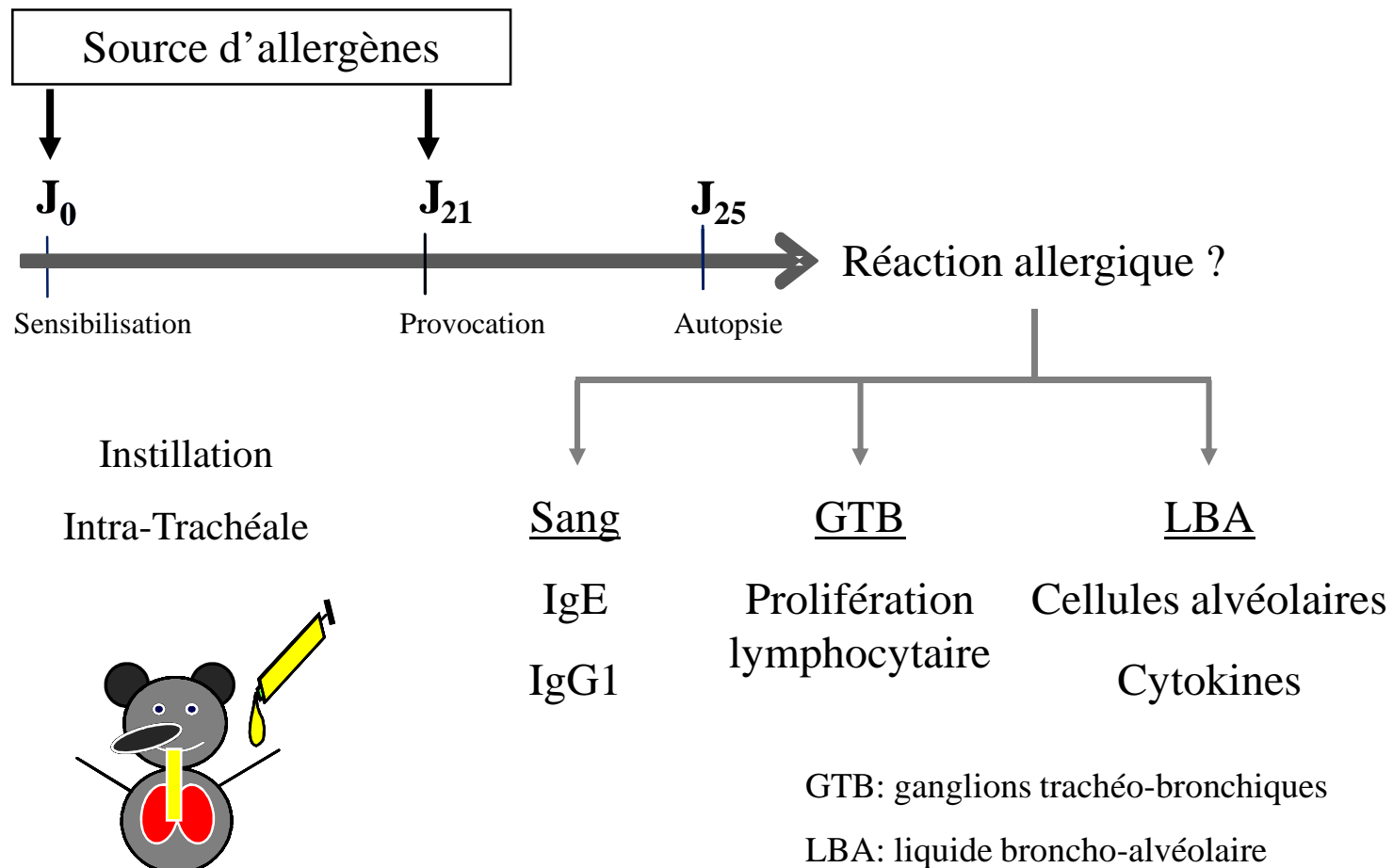
Étude expérimentale

Évaluer le potentiel allergique des Granules Cytoplasmiques de Pollen de Graminées (*Phleum pratense*) sur un modèle animal d'allergie, le rat Brown Norway.

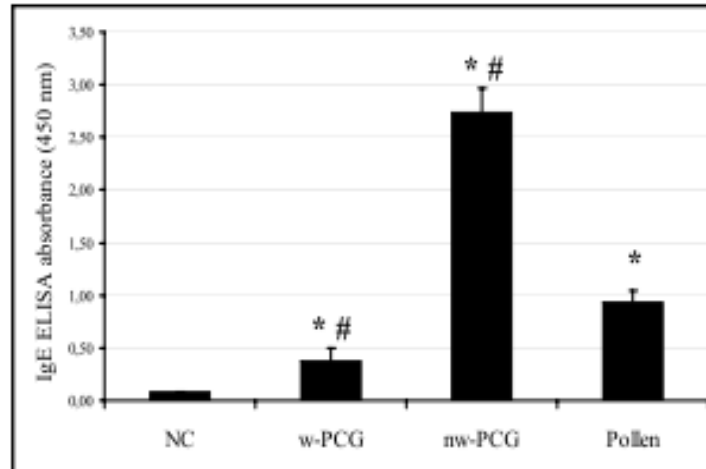
Obtention des GCP



Protocole expérimental

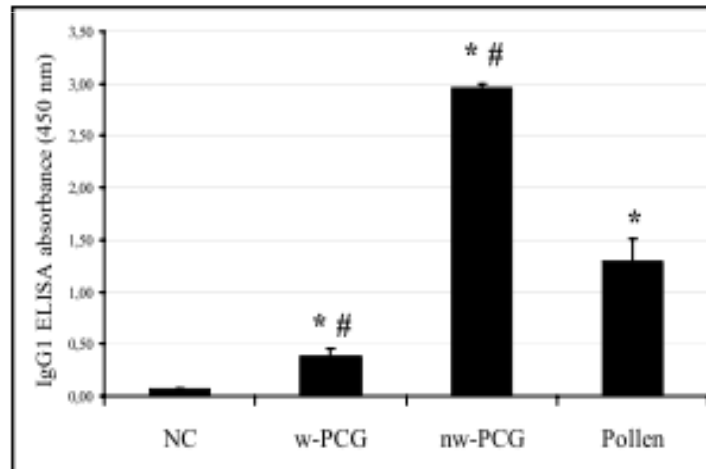


Réponses humorales



GCP-1L et GCP-3L > NC

GCP-1L > Pollen > GCP-3L

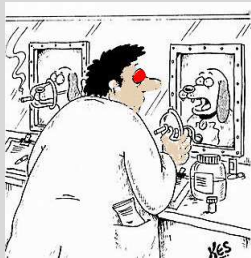


- Présence d'endotoxines dans la suspension de pollen et des GCP-1L

(Ormstad, 2003)

- Quantité d'allergènes hydrosolubles (GCP-1L > Pollen > GCP-3L)

w-PCG = GCP-3L / nw-PCG = GCP-1L



Réponses cellulaires

Treatment group	Pro-allergy cells ($\times 10^6$)	
	Eosinophils	Lymphocytes
NC	0.40 ± 0.09	0.21 ± 0.06
w-PCG	<u>5.32 ± 1.33 *</u>	<u>0.63 ± 0.21 *#</u>
nw-PCG	<u>5.05 ± 1.18 *</u>	<u>0.35 ± 0.12 *</u>
Pollen	<u>4.00 ± 0.83 *</u>	0.11 ± 0.09

w-PCG = GCP-3L / nw-PCG = GCP-1L

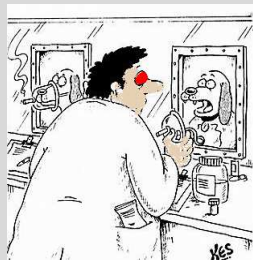
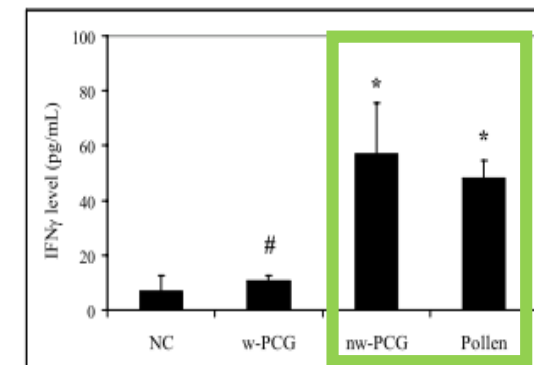
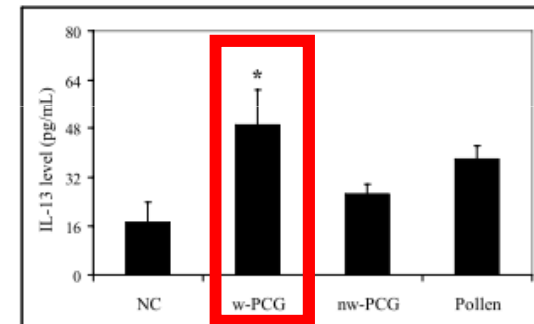
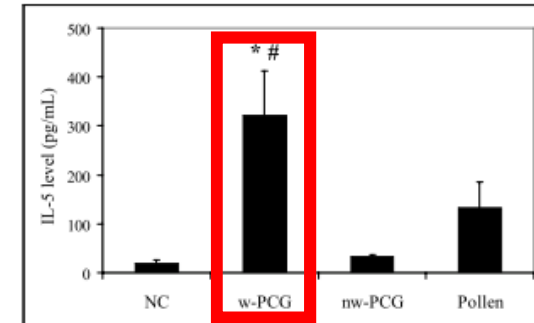
GCP-3L: \nearrow IL-5 et IL-13, cellules.

GCP-1L: \nearrow IFN γ et cellules

\nearrow cellules – asthme

Spécificité des allergènes de GCP

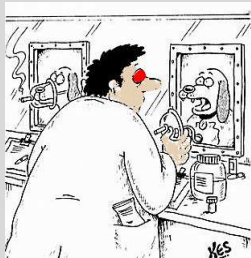
Présence d'endotoxines



Conclusions

- Comme les grains de pollen, les GCP seuls induisent des réactions allergiques et inflammatoires chez le rat Brown Norway.
- Les GCP semble induire l'asthme et le pollen les rhinites

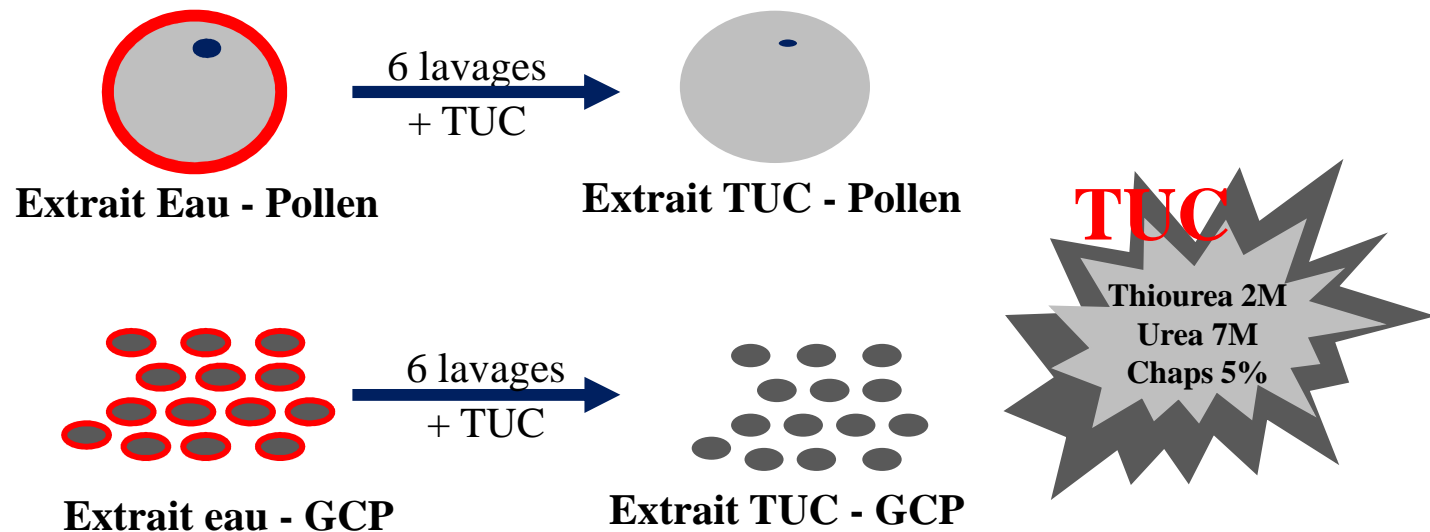
GCP - allergènes



Étude analytique

Caractériser les allergènes hydrosolubles et non hydrosolubles des GCP par des méthodes immunochimiques (1D & 2D).

Extraits hydrosolubles et non hydrosolubles

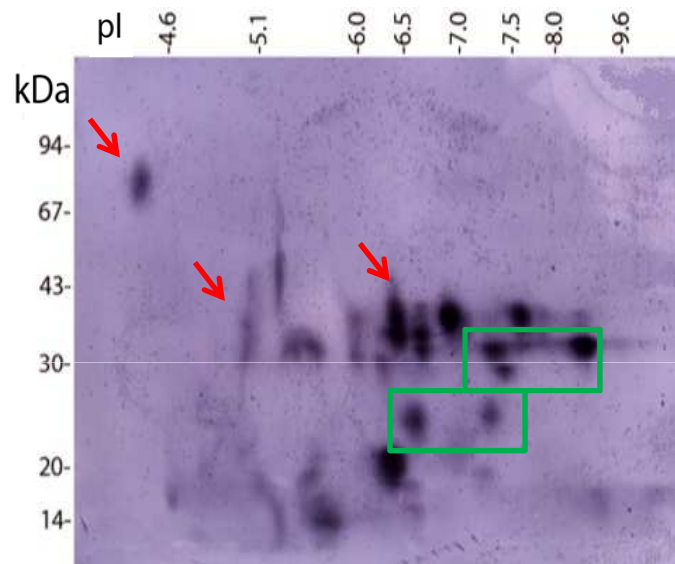


Pollen utilisé: Phleum pratense

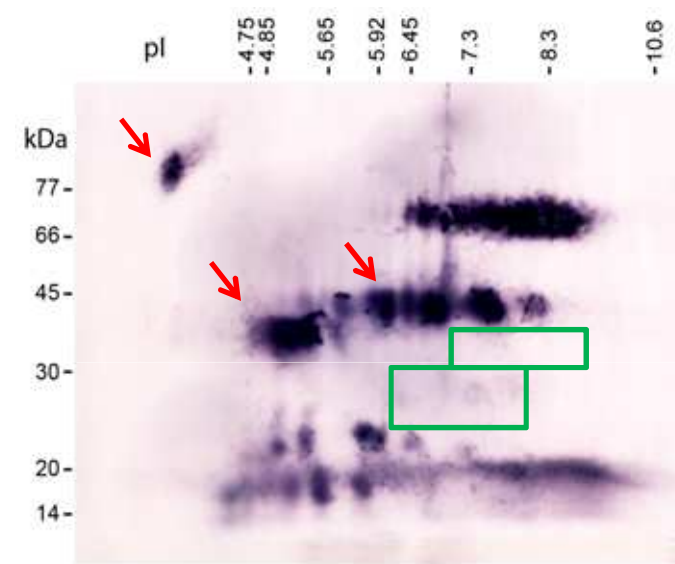


2 D immunoblot – extraits hydrosolubles

Extrait GCP



Extrait Pollen

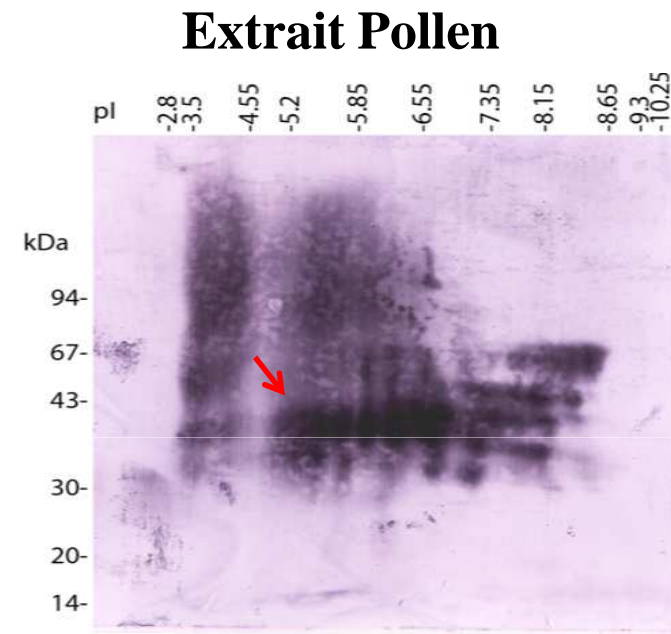
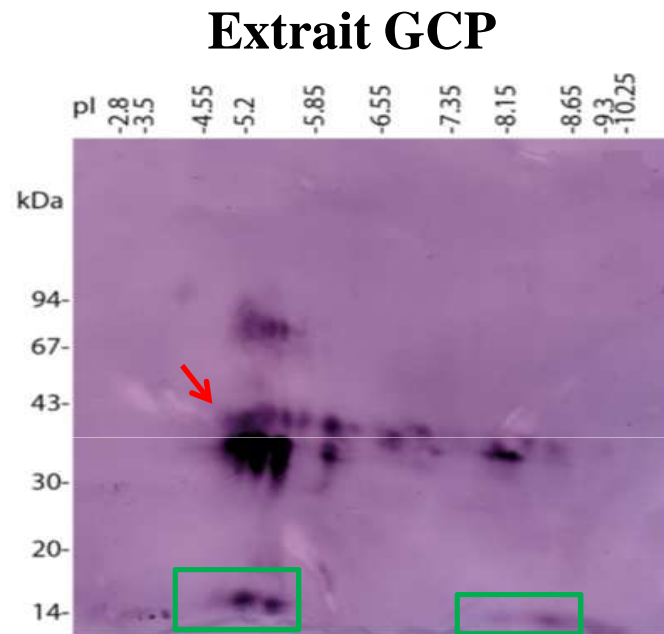


Rogerieux et al, 2007

- Des allergènes semblent être communs aux 2 extraits (même Mr; pI)
- Des allergènes sont associés uniquement à l'extrait de pollen
- Quelques allergènes sont associés uniquement à l'extrait de granules



2 D immunoblot – extraits non hydrosolubles



- L'extrait de pollen contient plus d'allergènes que celui des GCP
- La plupart des allergènes des GCP semblent être communs à ceux du pollen
- Des allergènes sont spécifiques de l'extrait de GCP



Conclusions

- Les GCP contiennent des allergènes hydrosolubles et non hydrosolubles.
- L'hétérogénéité du répertoire des allergènes des extraits de pollen est plus grande que celle des extraits GCP.
- Des allergènes sont associés uniquement aux granules cytoplasmiques de pollen.



Conclusions Générales

Étude épidémiologique

- **Corrélations positives** entre allergies respiratoires et facteurs atmosphériques (pollen, polluants et précipitations).

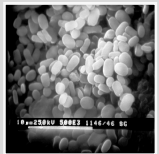
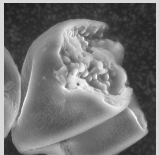
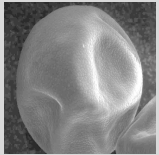
Étude expérimentale

- **Réponses humorales et cellulaires** induites chez des rats instillés avec des GCP.

Étude analytique

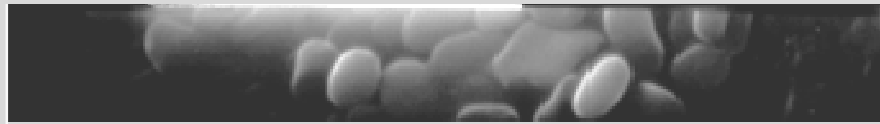
- Présence dans les GCP d'**allergènes** spécifiques, de nature **hydrosoluble** aussi bien que **non hydrosoluble**.

GCP → ALLERGIE





MERCI POUR VOTRE ATTENTION



Ghislaine Lacroix
Françoise Rogerieux



Michel Thibaudon



Hélène Sénéchal
Jean-Pierre Sutra
Pascal Poncet
François-Xavier Desvaux
Gabriel Peltre