

Magnésium et Système immunitaire: Données récentes

F. Gaudin-Harding

Laboratoire de Biochimie, Tour D4. 1E, Faculté de Pharmacie, Rue J. B. Clément,
92290 Chatenay-Malabry (France)

CNRS ERA 396
INSERM ATP 74-79-106-01

Zusammenfassung

In dieser Arbeit werden die neuesten Ergebnisse über die Rolle von Magnesium in der Funktion des Immunsystems dargestellt. Die analysierten Arbeiten betreffen hauptsächlich:

- die Effekte eines experimentellen Magnesiummangels (Erzeugung von Immunglobulinen in verschiedenen Spezies, Fähigkeit der Lymphozyten zur blastischen Verwandlung, unmittelbare Hypersensitivität in Ratten)
- die Beziehungen zwischen Magnesemia und dem Immunsystem in Menschen (unmittelbare Hypersensitivität, Komplement)
- *in vitro* Untersuchungen über die Lymphozytfunktionen und das Komplement
- die Bedeutung von Hormonen in dem Immunsystem.

Summary

This paper reviews some of the results obtained during the last few years on the role of magnesium in the function of the immune system. The works analysed are mainly concerned with:

- the effects of an experimental magnesium deficiency (production of immunoglobulins in various species, ability of lymphocytes to blast transformation, immediate hypersensitivity in the Rat)
- the relations between magnesemia and the immune system in Man (immediate hypersensitivity, complement)
- *in vitro* investigations of the lymphocyte functions and of the complement
- the importance of hormones in the immune system.

Résumé

Cet article tente de faire une mise au point des connaissances acquises ces dernières années sur l'intervention du magnésium sur le fonctionnement du système immunitaire. Les travaux analysés concernent essentiellement:

- les effets de la carence expérimentale en magnésium (production d'immunoglobulines, chez diverses espèces, aptitude des lymphocytes à la transformation blastique, hypersensibilité immédiate chez le Rat).
- les relations entre la magnésémie et le système immunitaire chez l'Homme (hypersensibilité immédiate, complément).
- des études réalisées *in vitro* sur les fonctions lymphocytaires et le complément.
- l'importance des hormones dans le système immunitaire.

I — Introduction

Le Professeur H. G. Classen et les organisateurs de ce Symposium m'ont demandé de faire un exposé sur les nouvelles acquisitions (depuis 1975) dans le domaine

des relations pouvant exister entre le magnésium et le fonctionnement du système immunitaire en excluant le problème du cancer et je tiens à les remercier de leur confiance. Je me permets toutefois de signaler que ce texte rédigé en décembre 1980 ne fera état que des travaux qui ont particulièrement attiré mon attention et par avance je m'excuse des inévitables omissions, que je m'efforcerais de combler dans le rapport oral d'août 1981.

Les recherches ont porté soit sur des travaux expérimentaux où l'on compare les résultats obtenus chez des animaux spécifiquement carencés en Mg et témoins; soit sur des études *in vitro* avec modification des milieux de culture. Les travaux cliniques sont peu nombreux.

Le magnésium intervient dans un si grand nombre de réactions métaboliques qu'il sera de ce fait très difficile de situer le mécanisme concerné lors de carences magnésiques expérimentales dans ses relations avec le système immunitaire. On sait que la carence magnésique affecte entre autres:

- le métabolisme énergétique: altérations par exemple du rapport P/O au niveau des mitochondries.
- le métabolisme protéique: ralentissement de la synthèse protéique
- le métabolisme nucléaire: erreur dans la répllication, ralentissement de la synthèse nucléaire.

Ne serait-ce qu'en considérant l'action du magnésium comme activateur de l'A.T.P., on peut se rendre compte de la multiplicité des lieux d'intervention de ce cation.

Les lieux d'intervention du magnésium seront par contre mieux définis dans des expériences *in vitro*; par exemple:

- dans les études concernant l'activation, par le magnésium dans certaines étapes du système complémental.
- dans les études de cultures cellulaires en milieu défini, notamment en ce qui concerne le besoin en magnésium des différents types de cellules cytotoxiques aux différentes étapes de leur action.

Ce rapport s'efforcera d'être un complément aux rapports des Symposium internationaux sur le magnésium de Vittel (1971) et de Montréal (1976).

II — Magnésium et hypersensibilité

A — Crise d'apparence allergique du rat carencé en magnésium

La crise d'apparence allergique du rat carencé en magnésium est connue depuis 1932 et a fait l'objet de nombreuses études [rapport de Vittel 1971, *Bois et Jasmin* [11], *Battifora* [7], *Mandeville et Jasmin* [49]. Rapport de Montréal 1976, *Larvor* [45], *Hass* [37]. Elle se caractérise entre autres par l'apparition de signes cliniques (hyperémie des oreilles, dermatoses) des modifications au niveau sanguin (modification de la formule sanguine, élévation de l'histamine et de la sérotonine . . .). Après la période aiguë, des altérations sont fréquentes au niveau de la rate (splénomégalie), des reins (calcification), du thymus (tumeur). Ces dernières années quelques précisions ont été apportées quant à l'évolution comparée dans le temps des différents paramètres sanguins (*S. Claverie-Benureau et al.* [19]). C'est ainsi qu'il a été établi que le pic des éosinophiles précède toujours celui de l'histamine. Les cellules basophiles, rarement décelables chez les rats témoins, apparaissent dans la dernière période de la crise hyperémique du rat carencé et paraissent immatures comme celles décrites par *Combs* [22]. L'inflammation atteint la rate qui s'hypertrophie: on observe alors de nombreux mastocytes et éosinophiles et l'histamine est élevée, les altérations n'atteignent pas le thymus pendant cette période. Actuellement les interrelations entre les différents paramètres: cellules basophiles, mastocytes, polynucléaires neutrophiles, éosinophiles, ne sont pas encore bien expliquées au cours de la carence magnésique en raison de leur complexité, mais les progrès importants réalisés ces dernières années dans la connaissance du rôle de ces cellules vont peut-être permettre dans un avenir proche une meilleure compréhension de ces problèmes. On peut se référer pour le rôle des éosinophiles aux travaux de *Gleich* [29, 30], *Hubscher* [39], *Scheinmann* [67], *Valone* [68], *Weller* [71] et pour les basophiles et mastocytes aux travaux de *Askenase* [5], *Lalaurie* [44], *Lichtenstein et al.* [48]. Les mastocytes, basophiles, éosinophiles et polynucléaires neutrophiles possèdent un grand nombre de médiateurs; leurs activités enzymatiques sont très intenses et ils possèdent aussi des facteurs chimiotactiques pour d'autres cellules. Des facteurs chimiotactiques vis-à-vis des éosinophiles ont été trouvés chez les mastocytes, mais aussi chez les polynucléaires (*Konig et al.* [42]). On sait aussi (*Beaven* [8]) qu' *in vitro* l'histamine peut réguler la migration des éosinophiles qu'elle favorise aux faibles concentrations et inhibe aux fortes concentrations. D'autres facteurs isolés des lymphocytes T de la souris ont aussi une activité chimiotactique vis-à-vis des éosinophiles: l'ESP (Eosinophil stimulation precursor) et l'ECFP (eosinophil chemotactic factor precursor) (*Konig et al.* [42]). Les éosinophiles joueraient-ils aussi un rôle dans la régulation de la libération de l'histamine? Cette possibili-

té n'est pas à exclure. Les travaux de *Gleich* [30] tendent à le montrer: le sérum anti-éosinophile de Lapin, injecté à des cobayes dans le but d'éliminer les éosinophiles au cours d'hypersensibilité de type immédiat, entraîne une diminution de la libération de l'histamine des mastocytes péritonéaux.

Par ailleurs, les éosinophiles pourraient avoir un rôle modulateur sur les réactions de type inflammatoire. En effet, la plupart des substances isolées de leurs granules sont capables de neutraliser les effets des médiateurs libérés au cours de la dégranulation mastocytaire: une histaminase, qui inactive l'histamine par désamination oxydative; une arylsulfatase, capable d'inactiver la slow reactive substance of anaphylaxis (S.R.S.A.) et l'Eosinophil-Chemotactic Factor of anaphylaxis (E.C.F.A.) une activité phospholipasique, capable d'inactiver le platelet activating factor (P.A.F.), une activité peroxydasique et phosphatasique acide; une M.B.P. (major basic protein) qui peut neutraliser l'héparine *Gleich* [29].

Les polynucléaires possèdent aussi une histaminase, dont l'activité n'est peut-être pas à négliger, car leur nombre est très important au cours de la crise.

Il faut noter par ailleurs que la présence d'un facteur capable d'inhiber la dégranulation mastocytaire a été signalé dans les éosinophiles, l'E.D.I. (eosinophil derived inhibitor) (*Hubscher* [39]).

Au cours de la carence magnésique du Rat, il y a des variations dans les populations mastocytaires. *Bélangier* [9] les étudie dans la peau où elles diminuent et dans la moelle osseuse et *Veilleux* [69] met en évidence un accroissement de ces cellules dans le rein et le duodenum. Par ailleurs *Kraeuter et Schwartz* [43] observent des différences dans les teneurs en histamine qui sont inférieures dans les mastocytes formés après la période aiguë de la crise. La dégranulation mastocytaire est souvent déclenchée par les IgE qui se fixent à leur surface. A notre connaissance ces IgE n'ont pas été évalués dans le sérum de rats carencés dans la période postérieure à la crise allergique. Ce travail sera prochainement entrepris.

La crise d'apparence allergique du rat carencé en magnésium ne dépend pas de la nature de la protéine du régime. En effet des régimes carencés en magnésium à base de protéine de soja ou d'albumine d'oeuf donnent des résultats analogues à ceux des régimes à base de caséine (*F. Conjat et al.* [23]). La réduction modérée de l'ingestion d'un régime carencé en magnésium retarde la crise mais ne l'annule pas. (*F. Gaudin-Harding et al.* [28]).

Enfin la crise du rat carencé en magnésium se produit aussi chez des animaux atrichis qui n'ont pas de pelage mais possèdent un thymus. Ce modèle expérimental permet l'observation des premiers symptômes au niveau de la peau et peut être utile pour étudier l'action d'agents antinflammatoire au niveau local (*Claverie-Benureau et al.* [18]).

B — Hypersensibilité chez le cobaye

Des cobayes modérément carencés en magnésium ont été soumis à un test classique d'hypersensibilité retardée: aucune différence significative n'a été observée entre animaux témoins et carencés. Chez les animaux en fin d'expérience certains résultats classiques de la carence magnésique ont été trouvés: hypertrophie de la rate, hypertrophie des reins, titres d'immunoglobulines sériques inférieurs à ceux des témoins. Par ailleurs, il n'a pas été observé de différences dans l'histaminémie ni dans les teneurs en immunoglobulines homocytotropes (essais de perméabilité des vaisseaux capillaires (*Lefèvre* et *Gaudin* [46])).

C — Hypersensibilité immédiate chez l'homme

Chyrek-Borowska et al., [16] ont étudié parallèlement l'histaminémie, l'éosinophilie et la magnésémie chez 28 malades asthmatiques pendant les périodes aiguës et les périodes asymptomatiques et chez 30 témoins; 17 parmi les 28 malades présentaient de l'asthme atopique et 11 de l'asthme non atopique souvent d'origine bactérienne. Ils mettent en évidence pendant la période de crise une baisse significative du magnésium sérique corrélée avec une montée de l'histaminémie et de l'éosinophilie, chez les malades atteints d'asthme atopique.

Au niveau des leucocytes *Coffey* et al. [20] d'une part et *Mue* et al. (59) d'autre part, ont montré que l'activité de l'adénosine triphosphatase calcium et magnésium dépendante est plus importante dans les cellules du sang périphérique de malades atteints d'asthme bronchique que dans celle des témoins. Ceci est vrai pendant les périodes de crise aussi bien qu'entre les crises. Aucune corrélation nette n'est mise en évidence entre l'activité de l'A.T.P. ase et le pourcentage des leucocytes neutrophiles et éosinophiles. *Coffey* et *Middleton* [21] mettent aussi en évidence une augmentation de l'activité adénosine triphosphatase dans les plaquettes des enfants asthmatiques.

III — Magnésium et activités lymphocytaires

A — Réponse immunitaire humorale (RIH) — Synthèse et sécrétion des immunoglobulines (Igs)

La production d'Igs a été étudiée comparativement chez des animaux carencés ou témoins.

— *Chez la Souris, Elin* [26] a montré qu'après immunisation par des globules rouges de mouton, la RIH était inférieure chez les animaux carencés par rapport aux témoins (titres d'hémagglutinines et nombre de cellules spléniques formant plaque de lyse (PFC). Des résultats analogues sont obtenus par *Pillet* et al. [64] et par *Guenounou* et al. [34]. Dans l'expérience de ces derniers auteurs, le nombre de PFC est estimé après une première immuni-

sation (IgM) et une seconde immunisation (IgG). Ils vérifient que l'effet du régime carencé sur la production d'Igs n'est pas dû à la réduction de l'ingestion alimentaire (méthode du pair feeding). La réponse est au contraire significativement supérieure dans le groupe témoin soumis à la restriction alimentaire. Les teneurs en IgE ou analogues sont par contre, plus élevées chez les souris carencées après immunisation par de l'albumine, *Prouvot-Danon* et al. [65].

Si le régime est non seulement carencé en magnésium mais hyperprotéique, la réponse anti globule rouge de mouton évaluée par le nombre de CFP est encore plus basse (*Lelièvre* et al. [47]). Ceci est probablement dû à une accentuation de la carence en raison de la surcharge protéique. Ce groupe [47] étudie actuellement la RI au niveau des cellules spléniques par la méthode de *Mishell* et *Dutton*, méthode de culture cellulaire avec immunisation *in vitro* qui permettra de déceler éventuellement des populations immuno-suppressives.

— *Chez le Rat, Alcock* et *Shils* [3] et *McCoy* et *Kenny* [51] montrent aussi que la RIH est inférieure chez les carencés par rapport aux témoins.

— *Chez le Cobaye, Lefèvre* et *Gaudin-Harding* [46] obtiennent des résultats qui vont dans le même sens (titres d'hémagglutinines).

B — Réponse immunitaire cellulaire (R.I.C.)

a — Aptitude à la formation blastique précédant la mitose

Pour étudier les capacités des cellules à se diviser on peut utiliser des substances, les lectines, qui ne sont pas des antigènes mais peuvent stimuler des lymphocytes et induire la transformation blastique précédant la mitose. L'importance de la transformation blastique peut être évaluée par l'incorporation de la thymidine tritiée dans le DNA des noyaux.

Plusieurs auteurs utilisent ce test pour comparer l'aptitude à la transformation blastique de cellules issues d'animaux carencés en magnésium et témoins. Dans les milieux de culture au moment de l'addition de lectine les cellules disposent de calcium et de magnésium. *Mease* [53] avait comparé des «pools» de lymphocytes circulants issus de rats carencés ou témoins. Il avait conclu à une capacité moindre à former des blastes chez les lymphocytes provenant de rats carencés sous l'action stimulante de la PHA (mitogène pour les lymphocytes T). C'est à des résultats allant dans le même sens que parviennent *Gunther* et *Averdunk* [35] et *Armier* et al. [4] qui testent les cellules d'organes lymphoïdes (rate et thymus). *Gunther* et *Averdunk* utilisent d'une part la PHA et la Con A (stimulant les lymphocytes T) et d'autre part le LPS (stimulant des lymphocytes B). Ils étudient les cellules provenant d'animaux carencés pendant la période chronique de la carence et montrent que les lymphocytes B aussi bien que les T sont affectés. *Armier* et al. étudient l'indice de stimulation à la PHA des cellules spléniques issues de rats ca-

rencés ou témoins avant et pendant la période hyperémique, période pendant laquelle l'histaminémie est élevée. Ils montrent qu'il existe une corrélation inverse entre indice de stimulation et histaminémie. Pendant la période d'hyperémie l'histamine de la rate est très élevée par rapport à celles des témoins. Cette élévation n'a pas lieu dans le thymus des animaux carencés (*Claverie Benureau et al.* [19]). Il reste beaucoup plus d'histamine dans les cellules spléniques de rate mises en culture provenant d'animaux carencés que dans celles provenant d'animaux témoins. Si l'histamine a un effet mitogène à de très faibles concentrations (*Morgan et al.* [57]) elle inhibe la mitose aux fortes concentrations présentes au cours de la crise hyperémique du rat. L'action inhibitrice de l'histamine sur les fonctions lymphocytaires a d'ailleurs été montrée chez l'homme (*Wang et Zweiman* [70]) et chez le Cobaye (*Rocklin et al.* [66]).

L'histamine doit être en grande partie localisée dans les mastocytes mais pourrait être aussi transportée par une sous-population de lymphocytes B ou T; ceci a été suggéré par les travaux de *Ballet et Merler* [6].

L'histamine pourrait aussi agir directement sous forme libre pour inhiber la réponse des lymphocytes T à la PHA car ce mitogène joue un rôle actif dans la libération de l'histamine par des mastocytes (*Hook et al.* [38]).

Rocklin [66] propose un modèle pour expliquer le rôle de régulation de l'histamine sur les réactions de l'immunité cellulaire: l'histamine, par l'intermédiaire des récepteurs H₂ des lymphocytes T, provoquerait la sécrétion du facteur HSF (histamine suppressor factor) qui agirait sur les lymphocytes, provoquant l'inhibition de la prolifération cellulaire. L'histamine agirait comme un inhibiteur, exerçant un retro-contrôle négatif sur la prolifération lymphocytaire. *Brostoff et al.* [14] ont aussi montré *in vitro* que l'histamine peut inhiber la transformation blastique des lymphocytes humains, induite par la Con A.

Par ailleurs dans une importante série de travaux, une équipe d'ASTON University (Birmingham — Grande Bretagne) étudient les effets mitogènes sur des thymocytes isolés de rat d'un grand nombre de stimulants hormonaux en relation d'une part avec le calcium et le magnésium et d'autre part avec des hormones sexuelles stéroïdes. *Morgan et al.* [55 — 57] démontrent que les hormones mitogènes à certaines concentrations peuvent être divisées en deux groupes. Les hormones du premier groupe (parmi lesquelles l'hormone parathyroïdienne, l'acétylcholine, l'insuline et l'histamine) ont besoin d'ions calcium pour exercer leur pouvoir mitogène et sont inhibées par l'oestradiol. Les hormones du second groupe (parmi lesquelles le glucagon, la dopamine, l'isoprénaline et probablement l'adrénaline et certaines prostaglandines) ont besoin d'ions magnésium mais pas d'ions calcium et peuvent être inhibées par la testostérone.

Perris et Morgan [63] et *Morgan et al.* [58] montrent aussi qu'à certaines concentrations les nucléotides cycli-

ques, adénosine 3' 5' monophosphate (AMPc) et guanosine 3' 5' monophosphate (GMPc) sont mitogènes pour des lymphocytes thymiques en culture. Aux concentrations fortes, l'action mitogène des nucléotides est inhibée par la testostérone ou par omission d'ions magnésium dans le milieu. L'addition d'oestradiol ou l'absence de calcium empêche l'action mitotique aux faibles concentrations de nucléotides cycliques.

Dans un travail très récent *Edwards et al.* [25] étudient les variations du calcium plasmatique et des mitoses dans la moelle osseuse et dans la rate, après une épreuve antigénique chez des Rats et des souris. Dans ce cas l'augmentation du calcium plasmatique et des mitoses vont de pair. Dans celui de la carence magnésique expérimentale chez le Rat il y a augmentation du calcium sérique (*Classen* [17]) mais diminution des possibilités de mitose [4, 35].

Tous ces travaux mettent en évidence la complexité des facteurs pouvant réguler l'activité mitotique.

b — Activité cytotoxique lymphocytaire

Ces dernières années, un grand nombre de travaux ont été consacrés aux cellules tueuses chargées de la destruction de cellules étrangères (cellules d'un greffon, cellules infectées par un virus et peut être cellules cancéreuses (revue de *Zagury* [76]). On distingue plusieurs phases dans le processus qui va conduire à la destruction complète des cellules cibles: 1. phase de reconnaissance, 2. coup léthal 3. lyse de la cellule. Actuellement trois catégories de lymphocytes sont connus comme étant capables d'exercer la fonction de cellules tueuses:

- Le lymphocyte T tueur (cytotoxic T lymphocyte CTL) qui reconnaît des antigènes d'histocompatibilité étrangère. Ce lymphocyte a appris à reconnaître la cellule cible dans le thymus.
- La cellule K (Killer) dénommée aussi ADCC (antibody dependent cytotoxic cell) qui reconnaît l'antigène de la cellule cible en liaison avec les anticorps.
- La cellule NK (natural killer) qui est capable de détruire certaines cellules. On ne sait pas encore quelle est la nature de l'antigène reconnu.

La possibilité de cultiver ces cellules a permis le développement de nombreuses expériences *in vitro*. L'environnement minéral a ainsi pu être étudié avec quelque précision.

De nombreux travaux s'accordent à souligner l'importance des ions calcium et magnésium dans les phases 1 et 2. Selon certains auteurs les besoins en calcium et magnésium aux phases 1 et 2 seraient différents selon la cellule tueuse (*Golstein* [31]). Parmi les travaux concernant ces problèmes on peut citer les articles très récents de *Martz* [50] et de *McLennan et al.* [52] qui indiquent aussi la bibliographie antérieure.

IV — Magnésium et relations entre macrophage, lymphocytes et immun complexes

Sous l'effet d'une stimulation, les lymphocytes peuvent sécréter des médiateurs appelés lymphokines parmi lesquels le MIF (macrophage migration inhibitory factor). Pour empêcher la migration des macrophages, le MIF doit se fixer à leur surface. *Block* et al. [10] montrent que Ca^{++} et Mg^{++} interviennent pour cette liaison MIF-macrophage. *Johnson* et al. [41] confirment la nécessité de la présence de Ca^+ et Mg^{++} pour que le MIF puisse exercer son pouvoir d'inhibiteur de migration. De plus, ces auteurs distinguent une étape d'activation des macrophages provoquée par des lymphokines, étape qui nécessiterait du Mg^{++} et pas de Ca^{++} .

Walia et al. [73] montrent par ailleurs des différences dans les possibilités de liaison d'immun complexes à la surface des macrophages ou des lymphocytes. Ces liaisons dépendent d'une part de l'environnement minéral (calcium ou magnésium) d'autre part de la nature des Igs du complexe. Deux complexes immuns sont successivement étudiés: IgM GRB et IgG GRB, (GRB = globules rouges de boeuf; en anglais ORBC = ox red blood cells). Les travaux de ces auteurs permettent de conclure que la liaison IgM GRB à la surface des lymphocytes n'est optimale qu'en présence de Mg^{++} et la liaison de ce même complexe à la surface des macrophages nécessite Ca^{++} . Par contre, la présence de Ca^{++} et de Mg^{++} n'est pas nécessaire à la liaison IgG GRB à la surface des macrophages ou des lymphocytes.

V — Magnésium et complément

Le magnésium est activateur de diverses enzymes de la synthèse protéique à ce titre il intervient vraisemblablement dans la formation des protéines qui constituent le système complémentaire. Ce système est présent dans le sérum à l'état inactif mais peut, sous l'effet d'un stimulus, être activé par séquences successives en empruntant soit la voie classique pour laquelle les ions calcium et magnésium sont nécessaires, soit la voie alterne plus directement sous la dépendance du magnésium (*Revus de Peltier* [61], de *Müller-Eberhard* et *Schreiber* [60]). La mise en jeu de l'activation du système peut avoir un point de départ immunologique (réaction antigène anticorps) ou non immunologique (contact avec une endotoxine par exemple). Tous les phénomènes impliquant l'activation du complément sont entre autres sous la dépendance des ions Ca et Mg et cette activation est bloquée par des chélateurs tels que l'EDTA. Certaines fractions du complément activées par la voie classique ou alterne (Mg dépendant) interviennent dans des réactions aussi diverses que la lyse cellulaire, le chimiotactisme (C_{3a} , C_{5a} , C, 5, 6, 7), la dégranulation mastocytaire (C_{3a} , C_{5a}), l'immunoadhérence, l'opsonisation et la phagocytose. D'autre part, ces complexes immuns dans la glomérulonéphrite par exemple activent le système complément. Il n'est pas

étonnant de trouver très fréquemment l'ion Mg^{++} cité dans les nombreux travaux concernant les fractions du complément, surtout de la voie alterne. Ces travaux pourraient à eux seuls d'ailleurs faire l'objet d'un exposé. La plupart d'entre eux sont réalisés *in vitro*. Nous ne citerons ici que quelques travaux parmi les plus récents illustrant des aspects très divers de l'action du complément et de Mg^{++} :

- 1 — activation de la voie alterne par *Thermophilic actinomyces* (*Edwards* [24]).
- 2 — activation de la voie alterne par l'hémoglobine (*Wilson* [74]).
- 3 — mécanisme d'attaque de cellules infectées par un virus, par un anticorps antiviral et le complément (*Pérrin* et al. [62]).
- 4 — pouvoir opsonisant dans la destruction de *Staphylococcus aureus* (*Verbrugh* et al. [72]).
- 5 — rôle de la fraction C_3 et de Mg^{++} de *Mycoplasma pneumoniae*. La déformation de la cellule (rounding) ne nécessite que le Mg^{++} . La destruction nécessite Ca^{++} et Mg^{++} (*Brecht* et *Bitter Suermann* [13]).
- 6 — solubilisation de complexes immuns (*Miller* [54]).
- 7 — liaison entre polynucléaires et glomérule activée surtout par Mg^{++} et activation de la voie alterne du complément (*Yamamoto* et al. [75]).

Il n'existe à notre connaissance pas de travaux concernant les différentes fractions du complément chez des animaux carencés en magnésium ou témoins. Des connaissances dans ce domaine seraient pourtant bien utiles pour aider à la compréhension d'altérations de la réponse immunitaire chez des animaux carencés, et peut-être aussi des réactions inflammatoires telles que la crise «allergique» du rat carencé en magnésium.

Un travail sur l'analyse de différentes fractions du complément et les teneurs sériques en calcium et en magnésium a été effectué par *Chevalier* et al. [15] chez des enfants malnutris. La fraction C_4 est significativement abaissée dans les groupes dont la calcémie ou la magnésémie sont basses. La fraction C_3 c est corrélée avec la calcémie et la fraction C_3PA (actuellement appelée facteur B) avec la magnésémie.

VI — Magnésium et organes lymphoïdes

On sait depuis longtemps que la carence magnésique provoque chez le Rat une splénomégalie, une certaine involution du poids du thymus et tardivement chez une partie des animaux, l'apparition de tumeurs (voir rapports de *Vittel* et de *Montréal* [2, 40]).

Peu de données nouvelles ont été apportées ces dernières années dans ce domaine. *Agbo* et *Gaudin-Harding* [1] qui ont observé la classique splénomégalie, ont procédé à l'analyse des rates provenant de rats carencés ou témoins après 42 jours d'expérience, c'est-à-dire pendant la période chronique de la carence. L'analyse porte sur la teneur en eau, en ions (Ca, Mg, Na, K) et en protéines. Ils trouvent des valeurs significativement

moindres chez le groupe carencé par rapport au témoin, pour les protéines et le potassium: ceci correspond probablement à une synthèse protéique diminuée. La splénomégalie n'est en tous cas pas de nature oedémateuse, comme le montrent les teneurs voisines en eau et en sodium. Il n'y a pas de calcification et le magnésium tissulaire n'est pas diminué.

Chez des mutants atrichis (non athymique) soumis à la carence magnésique, on observe après 20 jours de carence une involution du thymus plus importante chez les rats homozygotes, que chez les hétérozygotes; la splénomégalie est très importante à la fois dans le groupe hétérozygote et dans le groupe homozygote (*Claverie-Benureau* et al. [18]).

Par ailleurs, dans une étude portant sur un très grand nombre de veaux recevant des implants d'anabolisants de synthèse, *Gropp* et al. [32] ont mis en évidence une diminution du magnésium sérique et de la taille du thymus chez des femelles recevant une association de stéroïdes augmentant particulièrement le poids corporel.

VII — Magnésium et résistance à l'infection

Peu de travaux relatent la résistance globale aux infections, comparée chez des animaux d'expérience carencés et témoins. *Elin* [27] n'a pas obtenu de différences (mesure de la DL 50) entre des lots de souris carencées ou témoins après agression par divers agents pathogènes *Bouley* et *Gaudin-Harding* [12] étudient la résistance naturelle de la souris à l'infection expérimentale par voie respiratoire (*Pasteurella multocida*). La mortalité infectieuse n'est pas significativement différente entre les deux lots de 40 animaux carencés ou témoins.

D'autres travaux par contre semblent indiquer une résistance moindre à l'infection. *Hass* [36] montre qu'au cours de ses travaux une partie des rats carencés en magnésium mourait d'encéphalite parasitaire. Dans l'une de nos expériences [18] sur des rats atrichis carencés ou non en magnésium, nous avons observé une infection spontanée par *Staphylococcus aureus* dans le groupe carencé. Doit-on voir dans ce cas une résistance moindre à l'infection ou une pénétration favorisée par les dermatoses (plaies de grattage)?

VIII — Conclusions

La réponse immunitaire à une agression antigénique dépend d'un très grand nombre de facteurs qui n'ont pas tous été envisagés lors de l'étude de la carence magnésique expérimentale. Les travaux décrits dans la littérature ne concernent que certains aspects de la question. Si de nombreuses études portent sur la rate et le thymus, elles n'ont que très rarement été étendues au niveau des ganglions lymphatiques et des fonctions lymphoïdes du système digestif, (plaques de Peyer notamment). Les possibilités de migration des lymphocytes n'ont pas été non plus étudiées comparativement chez les animaux carencés et témoins. Enfin le

système macrophagique n'a pas été exploré, non plus que le système complémentaire dont l'importance est pourtant grande. Il reste donc bien des lacunes à combler.

Certains résultats sont acquis:

- la réponse immunitaire humorale après immunisation est moindre chez les animaux carencés que chez les témoins (chez le Rat, la Souris et le Cobaye)
- Après stimulation par des lectines, la transformation blastique des cellules spléniques ou thymiques est de moindre importance quand les cellules sont issues de rats carencés par rapport à celles des rats témoins. Mais toute une série de travaux nous montrent que de nombreux stimulants, hormones ou médiateurs sont aussi capables d'intervenir.

D'une façon plus générale un certain nombre de travaux ont été réalisés ces dernières années dans le domaine de la nutrition en rapport avec la réaction immunitaire. *Gross* [33] dans une récente et détaillée revue générale fait une mise au point de ces questions. Les résultats dans leur ensemble mettent en évidence une relation certaine entre états carenciels ou certains déséquilibres alimentaires et réponse immunitaire. Certaines contradictions sont quelquefois observées dans les résultats.

Les quelques travaux analysés dans le présent travail et limités à la carence magnésique montrent la complexité du problème. Si tous les auteurs sont d'accord pour montrer une production moindre d'immunoglobulines après immunisation chez des animaux carencés, les essais pour provoquer directement une infection chez des animaux carencés ou témoins n'ont pas toujours montré de différences entre les deux groupes (DL 50). Les auteurs n'ont en général pas publié ces résultats négatifs. En fait, la réponse immunitaire dépend entre autres:

- de la résistance acquise à la suite d'agressions précédentes spécifiques ou non spécifiques, provoquées ou spontanées et dans ce dernier cas elles ne sont pas prises en compte par l'expérimentateur.
- de prédisposition pouvant être d'origine héréditaire; dans les lymphocytes de sujets asthmatiques les ATP ases calcium et magnésium dépendantes sont particulièrement élevées.
- des influences hormonales illustrées par exemple par les travaux de l'équipe de l'Université d'ASTON.
- de nombreux facteurs nutritionnels; dans le travail de CHEVALIER. Le déséquilibre alimentaire est celui du syndrome de malnutrition et les teneurs basses du magnésium sérique ne sont probablement qu'un aspect de la question.

Je tiens à remercier les collègues qui ont participé à ce travail par l'envoi de documents ou de commentaires, en particulier les Docteurs H. Classen, R. Elin, G. Hass, A. Peris, D. Zagury.

Je remercie aussi S. Claverie-Benureau pour sa participation à la révision du texte.

Bibliographie

- [1] *Agbo, C., Gaudin-Harding, F.*: Conséquences de l'ingestion de régimes carencés en thiamine et en magnésium chez le rat. Intern. J. Vitamin. Nutrit. Res., **47**, 219—233, 1977.
- [2] *Alcock, N. W., Shills, M. E., Lieberman, P. H., Erlandson, R. A.*: Thymic changes in the magnesium-depleted rat. Cancer Res., **33**, 2196—2204, 1973.
- [3] *Alcock, N. W., Shills, M. E.*: Serum immunoglobulin G in the magnesium depleted rat. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **145**, 855—858, 1974.
- [4] *Armier, J., Guenounou, M., Lebel, B., Gaudin-Harding, F.*: Nutrition et Immunologie — Histaminémie et réponse des cellules spléniques à la phytohématagglutinine au cours de la carence modérée en magnésium chez le rat. C. R. Acad. Sc., Paris, **288**, (D), 971—974, 1979.
- [5] *Askenase, P. W.*: Mechanisms of hypersensitivity: cellular interactions Basophil arrival and fonction in tissue hypersensitivity reactions. J. of Allergy and Clin. Immunol. **64**, 79—89, 1979.
- [6] *Ballet, J. J., Merler, E.*: The separation and reactivity *in vitro* of a subpopulation of human lymphocytes which bind histamine: correlation of histamine reactivity. Cellular Immunology, **24**, 250—259, 1976.
- [7] *Battifora, H. A.*: Effects of magnesium deficiency on blood cells: clinical and experimental data. In 1^{er} Intern. Symposium on Mg deficit in human pathology, Vittel, 1971, ed. by Durlach, 301—316.
- [8] *Beaven, M. A.*: Histamine: its role in physiological and pathological processes. Monographs in Allergy, n° 13, 1978.
- [9] *Belanger, L. F.*: Variations in the Mast Cell Populations of skin and bone-marrow in Magnesium Deprived Rats. The influence of Sex Hormones. J. Nutrition **107**, 2164—2170, 1977.
- [10] *Block, L. H., Aloni, B., Biemesderfer, D., Kashgarian, M., Bitensky, M. W.*: Macrophage migration inhibition factor: interactions with calcium, magnesium and cyclic AMP. J. Immunol. **121**, 1416—1421, 1978.
- [11] *Bois, P., Jasmin, G.*: Rapports expérimentaux entre magnésium et allergies. In first Internat. symposium on Magnesium deficit in human pathology, Vittel, 495—499, 1971.
- [12] *Bouley, G., Gaudin-Harding, F.*: Travaux non publiés.
- [13] *Bredt, W., Bitter-Suermann, D.*: Interactions between Mycoplasma pneumonia and guinea pig complement. Infect. Immun., **11**, 497—504, 1975.
- [14] *Brostoff, J., Pack, S., Lydyard, P. M.*: Histamine suppression of lymphocyte activation. Clin. Exp. Immunol., **39**, 739—745, 1980.
- [15] *Chevalier, P., Cornu, A., Delpuech, F., Joseph, A.*: Nutrition: deficiencia en calcium et en magnésium et fraction C₃ du complément. C. R. Acad. Sc., Paris, **288**, D; 267—269, 1979.
- [16] *Chyrek-Borowska, S., Obrzut, D., Hofman, J.*: The relation between magnesium, blood histamine level and eosinophilia in the acute stage of the allergic reactions in human. Arch. Immunol. Ther. Exp., **26**, 709—712, 1978.
- [17] *Classen, H. G., Marquardt, P., Ebel, H., Schumacher, K. A., Späth, M., Helbig, J.*: In second Intern. Symp. on Magnesium, Montreal 1976.
- [18] *Claverie-Benureau, S., Lebel, B., Gaudin-Harding, F.*: Magnesium deficiency allergy-like crisis in hairless rats. A suggested model for inflammation study. J. Physiol. **76**, 173—175, 1980.
- [19] *Claverie-Benureau, S., Lebel, B., Gaudin-Harding, F.*: Evolution of histamine and white blood cells in the blood, spleen and thymus during magnesium deficiency in the rat. Reproduction, Nutrition, Développement accepté pour publication 1981.
- [20] *Coffey, R. G., Hadden, J. W., Middleton, E.*: Increased adenosine triphosphatase in leucocytes of asthmatic children. J. Clin. Invest. **54**, 138—146, 1974.
- [21] *Coffey, R. G., Middleton, E.*: Increased adenosine triphosphatase activity in platelets of asthmatic children. Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. **48**, 171—81, 1975.
- [22] *Combs, J. W., Lagunoff, D., Benditt, C. P.*: Differentiation and proliferation of embryonic mast-cells of the rat. J. Cell. Biol., **25**, 577—592, 1965.
- [23] *Conjat, F., Lebel, B., Gaudin-Harding, F.*: Données sur la crise d'apparence allergique du rat carencé en Magnésium. Influence de la composition et du mode d'administration du régime. 8e colloque français sur le Magnésium, Paris 1980.
- [24] *Edwards, J. H.*: A quantitative study on the activation of the alternative path way of complement by mouldy hay dust and Thermophilic actinomyces. Clin. Allergy **6**, 19—25, 1976.
- [25] *Edwards, D. S., Rimmer, J. J., Atkinson, M. J., Perris, A. D.*: Changes in plasma calcium and bone marrow mitosis following antigenic challenge in Rats and Mice. J. of Endocrinol. 1981, in Press.
- [26] *Elin, R. J.*: The effect of magnesium deficiency in mice on serum immunoglobulin concentration and antibody plaque forming cells. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **148**, 620—624, 1975.
- [27] Travaux non publiés, communication personnelle.
- [28] *Gaudin-Harding, F., Claverie-Benureau, S., Armier, J., Davy, J., Lebel, B.*: Aromatic Amines (Serotonin and Histamine) and Magnesium Deficiency in the Rat. Intern. J. Vitamin. Nutrit. Res. **50**, 185—192, 1980.
- [29] *Gleich, G. J.*: The eosinophil: new aspects of structure and function. J. Allergy Clin. Immunol. **60**, (1), 73—83, 1977.
- [30] *Gleich, G. J., Olson, G. M., Loegering, D. A.*: The effect of ablation of eosinophils on immediate-type hypersensitivity reactions. Immunology, **38**, 343—353, 1979.
- [31] *Golstein, P., Fretwell, C.*: Functional fractionation of human cytotoxic cells using differences in their cation requirements. Nature **255** 5508 491—3, 1975.
- [32] *Gropp, J., Herlyn, D., Boehncke, E., Schulz, V., Sandersleben, J. F., Hanichen, T., Geisel, O.*: Physiological data including evaluation of immune response in relation to anabolic effects on veal calves. Environ. QUAL. SAF Suppl. **5**, 131—141, 1976.
- [33] *Gross, R. L., Newberne, P. M.*: Role of nutrition in Immunologic Function. In Physiological reviews, 1980.
- [34] *Guenounou, M., Armier, J., Gaudin-Harding, F.*: Effect of magnesium deficiency and food restriction on the immune response in young mice. Intern. J. Vitamin. Nutrit. Res. **48**, 290—295, 1978.
- [35] *Gunther, Y., Averdunk, R.*: Reduced lectin stimulation of lymphocytes from magnesium deficient rats. J. Clin. Chem. Clin. Biochem., **17**, 51—55, 1979.
- [36] *Hass, G. M.*: Communication au 8e Colloque français sur le magnésium. Paris nov. 1980.
- [37] *Hass, G. M., McCreary, P. A., Laing, G. H., Galt, R. M.*: Lymphoproliferative and Immunologic aspects of Magnesium deficiency. 2nd International. Symposium on Magnesium, Montreal 1976.
- [38] *Hook, W. A., Brown, H., Oppenbeim, J. J.*: Histamine release from leucocytes by Concanavalin A and other mitogens. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **147**, 659, 1974.
- [39] *Hubscher, T. T.*: Role of the eosinophils in the allergic reactions. I — EDI: an eosinophil-derived-inhibitor for histamine release. J. Immunol. **114**, 1379—1388, 1975.
- [40] *Jasmin, G., Bois, P.*: Lymphosarcome du thymus chez le rat carencé en magnésium. In first Intern. symposium on magnesium deficit in human pathology, Vittel, 403—406, 1971.
- [41] *Johnson, J. D., Hand, L., King-Thompson, N. L.*: The role of divalent cations on interactions between lymphokines and macrophages. Cellular Immunology **53**, 236—245, 1980.
- [42] *Konig, W., Czarneski, B. M., Lichtenstein, L. M.*: Eosinophil chemotactic factor. (E.C.F.). I — Release from

- polymorphonuclear leucocytosis during phagocytosis. *J. Immunol.*, **117**, (1), 235, 1976.
- [43] Kraeuter, S. L., Schwartz, R.: Blood and mast-cell histamine levels in magnesium deficient rats. *J. of Nutrition*, **110**, 851—858, 1980.
- [44] Lalaurie, M., Modat, G.: Les mastocytes dans les hypersensibilités. *Travaux de la Soc. de Pharmacie de Montpellier*, **38**, 201—226, 1978.
- [45] Larvor, P.: 2nd International Symposium on Magnesium, Montreal 1976.
- [46] Lefèvre, A., Gaudin-Harding, F.: Carence magnésique et réponse immunitaire chez le cobaye: anticorps circulants et mesure de l'hypersensibilité retardée. 6e Colloque Français sur le Magnésium, Paris, 1978.
- [47] Lelièvre, M. L., Claverie-Benureau, S., Hatat, D., Zinbi, H., Guenounou, M., Gaudin-Harding, F.: Réponse immunitaire chez la souris recevant des régimes normo et hyperprotéiques carencés ou non en magnésium. 8e Colloque français sur le magnésium, Paris 1980.
- [48] Lichtenstein, L. M., Marone, G., Thomas, L. L., Malveaux, F. J.: The role of basophils in inflammatory reactions. *J. Invest. Dermatol.*, **71**, 65—69, 1978.
- [49] Mandeville, R., Jasmin, G.: Cytologie de la moëlle osseuse et du sang périphérique chez le rat pendant et après un déficit magnésique de 40 jours. In first Intern. Symp. on magnesium deficit in human pathology. Ed. by Durlach, Vitel, 407—410, 1973.
- [50] Martz, E.: Immune T lymphocyte to tumor cell adhesion. Magnesium sufficient, calcium insufficient. *J. Cell. Biol.*, **84**, 584—98, 1980.
- [51] Mc Coy, J. H., Kenney, M. A.: Depressed immune response in the Mg deficient rat. *J. Nutr.*, **105**, 791—797, 1975.
- [52] Mc Lennan, I. C., Gotch, F. M., Golstein, P.: Limited specific T-cell mediated cytotoxicity in the absence of extracellular calcium. *Immunology* **39**, 109—117, 1980.
- [53] Mease, A. D.: Carcinogenic potential of magnesium deficiency. *Lancet*, **2**, 590, 1974.
- [54] Miller, G. W.: Solubilization of IgA Immune precipitates by Complement. *J. Immunol.* **117** 1374—7, 1976.
- [55] Morgan, J. I., Perris, A. D.: The influence of sex steroids on calcium and magnesium induced mitogenesis in isolated rat thymic lymphocytes. *J. Cell. Physiol.* **83**, 287—96, 1974.
- [56] Morgan, J. I., Hall, A. K., Perris, A. D.: Inhibition of magnesium induced mitosis by testosterone. *J. Endocrinol.* **67**, 133—4, 1975.
- [57] —; —; —: Requirements for divalent cations by hormonal mitogens and their interactions with sex steroids. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **66**, 188—194, 1975.
- [58] —; —; —: The ionic dependence and steroid blockade of cyclic nucleotide-induced mitogenesis in isolated thymic lymphocytes. *J. of Cyclic. Nucleotide. Res.* **3**, 303—314, 1977.
- [59] Mue, S., Ise T., Shibahara, S., Takahashi, M., Takishima, T.: Leukocyte adenosine triphosphatase activity in human bronchial asthma Tohoku *J. Exp. Med.* **119**, 257—64, 1976.
- [60] Müller-Eberhard, H. J., Schreiber, R. D.: Molecular Biology and chemistry of the alternative pathway of complement. *Advances in Immunology*, **29**, 1—53, 1980.
- [61] Peltier, A. P.: Le complément. In *Ummunologie*, J. F. Bach éditeur, Flammarion France. English edition *Immunology* Wiley Press NY.
- [62] Perrin, L. H., Joseph, B. S., Cooper, N. R., Oldstone, M. B.: Mechanism of injury of virus infected cells by antiviral antibody and complement: participation of IgG, F(AB')₂ and the alternative complement pathway. *J. Exp. Med.* **143**, 1027—41, 1976.
- [63] Perries, A. D., Morgan, J. I.: Nucleotides and hormones as modulators of cell proliferation. *J. of Endocrinol.* **68**, 37p—38p, 1976.
- [64] Pillet, Ch., Quintin-Colonna, F., Person J. M.: Modifications observées sur les cellules immunocompétentes de la rate chez la souris carencée en Magnésium. *Allergie et Immunol.*, **8**, 11—25, 1976.
- [65] Prouvost-Danon, A., Larvor, P., Rayssiguier, Y., Wyszolowska, J., Durlach, J.: Taux sérique d'anticorps réaginsiques (Ig E) chez la souris en carence magnésique. *Rev. Fr. Allergol.*, **15**, 145—150, 1975.
- [66] Rocklin, R. E., Greineder, D. K., Melmon, K. L.: Histamine-induced suppressor factor (HSF). Further studies on the nature of the stimulus and the cell which produces it. *Cellular Immunology*, **44**, 404—415, 1979.
- [67] Scheinmann P., Jaubert F., Paupe J.: Physiopathologie de l'eosinophilie. *Rev. Franç. Allergol.*, **19**, 43—56, 1979.
- [68] Valone, F. M.: Modulation of human neutrophil and eosinophil polymorphonuclear leukocyte chemotaxis: an analytical review. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, U.S.A., **15**, 52—65, 1980.
- [69] Veilleux, R.: Mast-cell increase in the duodenum and kidney of magnesium deficient rats. *Laboratory Investigation*, **33**, 80—87, 1975.
- [70] Wang, S. R., Zweiman, B.: Histamine suppression of human lymphocyte response to mitogens. *Cellular Immunology*, **36**, 28—37, 1978.
- [71] Weller, P. F., Goetzl, E. J.: The regulatory and effector roles of eosinophils. *Advances in Immunology*, **27**, 339—371, 1979.
- [72] Verbrugh, H. A., Van Dijk, W.C., Peters, R., Van der Tol, M. E., Peterson, P. K., Verboeff, J.: Staphylococcus aureus opsonization mediated via the classical and alternative complement pathways. A kinetic study using Mg EGTA chelated serum and human sera deficient in IgG and complement factors C₁S and C₂. *Immunology* **36**, 391—7, 1979.
- [73] Walia, A. S., Shaw, D. R., Fuson, E. W., Anderson, B., Lamon, E. W.: Different divalent cation requirements for binding IgM complexes to lymphocytes and macrophages. *J. Exper. Med.* **151**, 1528—1533, 1980.
- [74] Wilson, W. A., Thomas, E. J.: Activation of the alternative pathway of human complement by hemoglobin. *Clin. Exp. Immunol.* **36**, 140—4, 1979.
- [75] Yamamoto, T., Kibara, I., Morita, T., Dite, T., Suzuki, Y.: Role of divalent cations in binding polymorphonuclear leukocytes to glomeruli with immune complexes. *Clin. Exp. Immunol.* **39**, 583—7, 1980.
- [76] Zagury, D.: Les cellules tueuses. *La Recherche* **114**, 928—937, 1980.