

Université Ferhat Abbas Sétif 1  
Faculté des Sciences de la Nature  
et de la Vie



UNIVERSITE LILLE NORD DE France  
École Doctorale Biologie-Santé  
Faculté des Sciences Pharmaceutiques  
et Biologiques de Lille

## **THÈSE**

Présentée en Cotutelle entre  
l'Université Ferhat Abbas Sétif 1 - Algérie  
et l'Université de Lille - France  
Pour l'obtention du diplôme de

## **DOCTORAT**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie  
Spécialité : Parasitologie, Immunologie, Ecologie Animale

Par

**Mohamed Amir KEZAI**

### **Titre**

**Association de l'infection chronique à *Toxoplasma gondii* avec la schizophrénie : étude épidémiologique et rôle potentiel de l'activation de la voie des kynurénines dans le système nerveux central de l'hôte infecté.**

Soutenue le 03 Novembre 2020

#### Composition du jury :

Monsieur le Docteur Abdelhalim KHANCHOUCHE, Président du jury / Examineur

Madame le Docteur Odile POULAIN-GODEFROY, Rapporteur

Monsieur le Docteur Bilal YAHIAOUI, Rapporteur

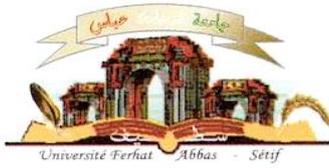
Madame le Professeur Delphine ALLORGE, Examineur

Monsieur le Professeur Mustapha BOUNECHADA, Directeur de thèse

Madame le Docteur Sabrina MARION, Directeur de thèse

Centre d'Infection et d'Immunité de Lille, Institut Pasteur de Lille  
Équipe 2 - Biologie des parasites Apicomplexes  
INSERM U1019 - CNRS UMR 8204 - Université de Lille  
1 rue du Professeur Calmette 59019 Lille Cedex, FRANCE





Université Ferhat Abbas Sétif 1  
Faculté des Sciences de la Nature  
et de la Vie



UNIVERSITE LILLE NORD DE France  
École Doctorale Biologie-Santé  
Faculté des Sciences Pharmaceutiques  
et Biologiques de Lille

## **THÈSE**

Présentée en Cotutelle entre  
l'Université Ferhat Abbas Sétif 1 - Algérie  
et l'Université de Lille - France  
Pour l'obtention du diplôme de

## **DOCTORAT**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Spécialité : Parasitologie, Immunologie, Ecologie Animale

Par

**Mohamed Amir KEZAI**

### **Titre**

**Association de l'infection chronique à *Toxoplasma gondii* avec la schizophrénie : étude épidémiologique et rôle potentiel de l'activation de la voie des kynurénines dans le système nerveux central de l'hôte infecté.**

Soutenue le 03 Novembre 2020

#### Composition du jury :

Monsieur le Docteur Abdelhalim KHANCHOUCHE, Président du jury / Examineur

Madame le Docteur Odile POULAIN-GODEFROY, Rapporteur

Monsieur le Docteur Bilal YAHIAOUI, Rapporteur

Madame le Professeur Delphine ALLORGE, Examineur

Monsieur le Professeur Mustapha BOUNECHADA, Directeur de thèse

Madame le Docteur Sabrina MARION, Directeur de thèse

Centre d'Infection et d'Immunité de Lille, Institut Pasteur de Lille  
Équipe 2 - Biologie des parasites Apicomplexes  
INSERM U1019 - CNRS UMR 8204 - Université de Lille  
1 rue du Professeur Calmette 59019 Lille Cedex, FRANCE



# *Dédicaces*

*Je dédie ce travail*

*A ma maman qui m'a soutenu et encouragé durant ces  
années d'études*

*Qu'elle trouve ici le témoignage de ma profonde  
reconnaissance*

*A mes deux oncles qui m'ont toujours encouragé et à qui  
je souhaite plein de bonheur et de santé*

*Aux enfants Rabah, Mouatez, Mahdi, Hadda, Hacem,  
Houcine*

*A tous mes amis*

***Amir***

# *Remerciements*

*Je tiens tout d'abord à remercier le bon DIEU pour la volonté, la patience, et la force qu'il m'a donné durant l'élaboration de ce travail.*

*Je tiens à exprimer mes plus vifs remerciements respects et gratitude à mes deux directeurs de thèse le Docteur Sabrina MARION ainsi que le Professeur Mustapha BOUNECHADA pour la grande confiance qu'ils m'ont accordée en acceptant d'encadrer ce travail doctoral.*

*Je tiens à exprimer mes plus vifs remerciements à toute l'équipe du CIIJL plus particulièrement le Docteur Jamal KHALIFE pour m'avoir accueilli au sein de son équipe mais aussi, le Professeur el moukhtar ALJOUAT, le Docteur Mathieu GISSOT, Thomas MOUVEAUX, Jacques TROLET, le Docteur Christine PIERROT, Caroline DeWitte ainsi que Sylia CHEHADE et Asma-Sarah KHELIFA.*

*Toute ma gratitude et mon plus profond respect va vers Monsieur le Docteur AbdelHalim KHANCHOUCHE, le docteur YAHIAOUI Bilal, le Professeur Mohamed Lamine Alouani ainsi que Asma TOBEL pour leurs précieuses aides au cours de cette recherche, ainsi que leurs conseils en or.*

*Je tiens aussi à remercier tous nos collaborateurs notamment le Docteur David BLUM, Kevin Carvalho, le Professeur Delphine ALLORGE ainsi que le Docteur Odile POULAIN-GODEFRUY.*

## Résumé

La toxoplasmose est une maladie zoonotique causée par le parasite *Toxoplasma gondii*, un protozoaire qui traverse la barrière hémato-encéphalique pour atteindre le système nerveux central (SNC) où il infecte plusieurs types cellulaires notamment les astrocytes, les neurones et les microglies. Ce parasite intracellulaire obligatoire ne persiste sous forme de kystes qu'au sein des neurones aboutissant à une infection chronique pouvant durer toute la vie de l'hôte infecté. La toxoplasmose latente cérébrale est accompagnée par une augmentation de la concentration en dopamine et glutamate et d'une inflammation chronique de bas grade, notamment causée par une activation des microglies et des astrocytes. La schizophrénie est une maladie mentale touchant 1% de la population mondiale caractérisée par le développement de graves troubles cognitifs et psychiatriques. Cette maladie qui s'établit à l'adolescence est corrélée à une inflammation chronique du SNC et à l'activation de la voie des kynurénines (KP) dans les astrocytes activés. L'activation de la voie KP résulte en la production de l'acide kynurénine (KYNA) par les astrocytes, un métabolite neuroactif qui altère les fonctions neuronales à forte concentration. Nous nous sommes intéressés au cours de cette thèse au lien pouvant exister entre la toxoplasmose et la schizophrénie. En particulier, nous avons exploré si l'infection latente par *T. gondii* active la voie KP et la production de métabolites neuroactifs comme le KYNA ou l'acide quinoléique. D'une part, une première étude épidémiologique menée sur un échantillon de la population algérienne à forte prévalence pour la toxoplasmose indique une association significative entre la schizophrénie et le statut infectieux avec une séroprévalence de 70% chez les patients atteints de schizophrénie contre 52,9% chez les témoins et un odds ratio (OR) calculé de 2,081. Cette association est plus prononcée chez les sujets de moins de 38 ans (OR= 2.715), suggérant que l'infection par le parasite *T. gondii* pourrait favoriser l'apparition de la schizophrénie. D'autre part, notre étude menée à l'institut pasteur de Lille a montré que l'infection chronique à long terme (6 mois) de souris C57BL/6 par des souches de type II induit un environnement inflammatoire dans le SNC caractérisé par la production de cytokines pro-inflammatoires et anti-inflammatoires et de manière importante, induit l'activation de la voie KP. Par ailleurs, après utilisation d'une autre souche parasitaire de type II moins virulente, nos résultats ne semblent pas montrer de corrélation directe entre le niveau d'inflammation et le niveau d'activation de la voie KP, suggérant une action directe de l'infection, qui pourrait être liée à l'activation des astrocytes et microglies par le parasite. Nos résultats obtenus *in vitro* sur des cultures d'astrocytes primaires ont confirmé nos précédents résultats obtenus dans le SNC de souris chroniquement infectées. En effet, l'infection par une souche de type II induit une forte activation des astrocytes caractérisée par l'augmentation de l'expression des molécules du CMH-I, le recrutement de la protéine GFAP autour de la vacuole parasitaire et la production de cytokines pro- et anti-inflammatoires. En outre l'infection des astrocytes induit l'activation de la voie des KP mise en évidence par l'expression des enzymes IDO-1, IDO-2 et KATIII. De manière intéressante, nos résultats suggèrent que le parasite diminue l'activation des astrocytes, probablement via des facteurs parasitaires sécrétés. Notre étude révèle donc que l'infection chronique par le parasite *T. gondii* module l'activité astrocytaire ainsi que l'activation de la voie des kynurénines, un mécanisme qui pourrait potentiellement favoriser l'apparition ou le développement des troubles cognitifs observés chez les patients schizophrènes.

**Mots-clés :** *Toxoplasma gondii*, Schizophrénie, Astrocyte, Voie des kynurénines

## Abstract

Toxoplasmosis is a zoonotic disease caused by the parasite *Toxoplasma gondii*, a protozoan that crosses the blood-brain barrier to reach the central nervous system (CNS) where it infects several cell types including astrocytes, neurons and microglia. This obligate intracellular parasite only persists as cysts in neurons resulting in a life-long chronic infection. Latent cerebral toxoplasmosis is correlated by an increase in the levels of dopamine and glutamate and the establishment of low-grade chronic inflammation, notably caused by the activation of microglia and astrocytes. Schizophrenia is a mental illness affecting 1% of the world's population characterized by the development of severe cognitive and psychiatric disorders. This disease, which develops at the adolescence, is correlated with a chronic inflammation of the CNS and the activation of the kynurenine pathway (KP) in activated astrocytes. Activation of the KP results in the production of kynurenic acid (KYNA) by astrocytes, a neuroactive metabolite that alters neuronal functions at high concentrations. In this project, we aimed to investigate a putative functional link between toxoplasmosis and schizophrenia. In particular, we explored whether latent infection by *T. gondii* activates the KP and the production of neuroactive metabolites such as KYNA and quinolinic acid. On one hand, an epidemiological study carried out in a sample of the Algerian population characterized by a high prevalence for toxoplasmosis indicates a significant association between schizophrenia and the *T. gondii* infectious status with a seroprevalence of 70% in patients with schizophrenia against 52.9 % in controls and a calculated odds ratio (OR) of 2.081. This association is more pronounced in subjects under 38 years of age (OR = 2.715), suggesting that infection could promote the onset of schizophrenia. On the other hand, our study carried out at Pasteur Institute of Lille showed that a long-term chronic infection (6 months) of C57BL/6 mice by a type II strain induces an inflammatory environment in the CNS characterized by the production of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines and importantly, induces the activation of the kynurenine pathway. Furthermore, after using another less virulent type II parasitic strain, our results do not show a direct correlation between the level of inflammation and the level of the activation of the KP, suggesting a direct action of the infection, which could be related to the activation of astrocytes and microglia by the parasite. Our results obtained in vitro on primary astrocyte cultures confirmed our previous results obtained in the CNS of chronically infected mice. Infection with a type II strain induces a strong activation of astrocytes characterized by increased expression of MHC-I molecules, the recruitment of the GFAP protein around the parasitic vacuole and the production of pro- and anti-inflammatory cytokines. In addition, the infection of astrocytes induces the activation of the KP demonstrated by the increased expression of the enzymes IDO-1, IDO-2 and KATII. Interestingly, our results suggest that the parasite decreases the activation of astrocytes, possibly via secreted parasitic factors. Our study therefore reveals that chronic infection with *T. gondii* modulates astrocytic activity as well as the activation of the kynurenine pathway, a mechanism that could potentially promote the appearance or development of the cognitive disorders observed in schizophrenic patients.

**Keywords:** *Toxoplasma gondii*, Schizophrenia, Astrocyte, Kynurenine pathway

# Table des matières

---

TABLE DES MATIÈRES	IX
LISTE DES FIGURES	XII
LISTE DES ABREVIATIONS	XIV
INTRODUCTION	18
1.1 Taxonomie	18
1.2 Morphologie et biologie du parasite	19
1.2.1 Le tachyzoïte	19
1.2.2 Bradyzoïtes et kystes tissulaires	21
1.2.3 Oocystes et sporozoïtes	23
1.3 Génotypes du parasite <i>T. gondii</i>	24
1.4 Cycle de vie du parasite	25
1.5 Conversion Tachyzoïtes-Bradyzoïtes	27
1.6 Cycle lytique du tachyzoïte chez l'hôte intermédiaire	29
1.7 Mode de transmission	33
1.7.1 Transmission horizontale	33
1.7.2 Transmission Verticale	33
1.7.3 Autres modes de transmission	33
1.8 Physiopathologie	34
1.8.1 La toxoplasmose congénitale	35
1.8.2 La toxoplasmose chez l'immunodéprimé	35
1.8.3 La toxoplasmose chronique	36
1.9 Diagnostic	36
1.10 Traitements	37
2 Réponse immunitaire	38
2.1 Réponse innée lors de la toxoplasmose aiguë	38
2.2 Le rôle des effecteurs parasitaires dans l'évasion à la réponse immunitaire	41
2.3 Immunité adaptative	45
2.3.1 La réponse immunitaire adaptative à médiation cellulaire	45
2.3.2 La réponse immunitaire adaptative à médiation humorale	45
2.4 Immunité dans le système nerveux central	48
3 La voie des kynurénines	54
3.1 Généralités	54
3.2 La voie des Kynurénines et l'inflammation	59
3.3 La voie des kynurénines et la maladie d'Alzheimer	61
3.4 La voie des kynurénines lors des infections	63
3.5 La voie des kynurénines et la toxoplasmose chronique cérébrale	64
4 Schizophrénie	64
4.1 Définition	64
4.2 Épidémiologie	65
4.3 Sémiologie	65

4.4 Diagnostic de la Schizophrénie .....	67
4.5 Etiopathogénie .....	69
4.5.1 Facteurs génétiques .....	69
4.5.2 Facteurs neurochimiques .....	70
4.5.3 Facteurs périnataux .....	71
4.6 Traitements .....	72
4.7 Schizophrénie et inflammation .....	73
4.8 La voie des kynurénines et la schizophrénie .....	75
4.9 Schizophrénie et Toxoplasmose .....	76
4.9.1 Etudes épidémiologiques .....	76
4.9.2 Perturbation de la dopamine et du glutamate lors de l'infection .....	77
4.9.3 Neuroinflammation / voie des kynurénines induites lors de l'infection et risques pour la schizophrénie .....	79
4.9.4 Schizophrénie et pharmacothérapie de la toxoplasmose .....	79
<b>OBJECTIFS DE LA THESE</b> .....	<b>82</b>
<b>MATERIELS ET METHODES</b> .....	<b>85</b>
1 Etude épidémiologique .....	85
1.2 Caractéristiques de la cohorte .....	85
1.3 Analyse sérologique .....	86
1.4 Analyse statistique .....	86
2 Expérimentation in vitro .....	88
2.1 Culture cellulaire .....	88
2.1.1 Fibroblastes humains .....	88
2.1.2 Astrocytes primaires .....	88
2.1.3 Souches parasitaires .....	89
2.2 Infection et stimulation des astrocytes primaires .....	90
2.3 Cytométrie en flux .....	90
2.4 Analyse de l'expression de gènes d'intérêt par RTqPCR .....	91
2.4.1 Extraction de l'ARN d'astrocytes et rétrotranscription .....	91
2.4.2 Analyse des transcrits par PCR en temps réel (qPCR) .....	91
2.5 ELISA sur surnageant d'astrocytes primaires .....	93
2.6 Immunofluorescence indirecte sur astrocytes primaires .....	93
3 Expérimentation in vivo .....	95
3.1 Animaux .....	95
3.2 Détection des kystes parasitaires dans le cerveau .....	95
3.3 Quantification des parasites dans le cerveau par qPCR .....	95
3.4 Mesure de l'expression de gènes d'intérêt par RTqPCR .....	96
3.5 Dosage des métabolites de la vie KP dans le cerveau de souris .....	98
3.6 Immunofluorescence indirecte sur coupes fines de cerveau en paraffine .....	98
<b>RESULTATS</b> .....	<b>101</b>
1 Etude épidémiologique sur le lien entre la schizophrénie et la toxoplasmose chronique .....	101
1.1 Association entre la schizophrénie et l'infection par <i>T. gondii</i> .....	102
1.2 Comparaison des taux d'IgG anti- <i>T. gondii</i> chez les patients atteints de schizophrénie et les sujets témoins .....	106

1.3 Association entre la schizophrénie et les antécédents de problèmes psychologiques dans la famille.....	107
2 Réponse cytokinique et activation de la voie KP dans le CNS lors d'une infection chronique par <i>T. gondii</i> .....	108
2.1 Réponse cytokinique dans le SNC lors d'une infection chronique .....	109
2.2 Modulation de la voie des kynurénines lors de l'infection chronique par <i>T. gondii</i> .....	112
2.3 Activation des astrocytes dans le cerveau .....	115
3 Influence du parasite <i>T. gondii</i> sur l'activité des astrocytes .....	117
3.1 Analyse phénotypique des astrocytes primaires infectées par <i>T. gondii</i> .....	117
3.2 Réponses astrocytaires induites par l'infection.....	119
3.3 Réponse cytokinique des astrocytes infectés .....	123
3.4 Modulation de la voie des kynurénines dans les astrocytes infectés .....	124
<b>DISCUSSION ET PERSPECTIVES</b>	128
Etude épidémiologique.....	128
Réponse inflammatoire induite lors de la toxoplasmose chronique .....	130
Induction de la voie des kynurénines lors de la toxoplasmose chronique.....	133
Activation astrocytaire et modulation parasitaire.....	135
Réponse inflammatoire induite par les astrocytes lors de l'infection par le parasite <i>T. gondii</i> .....	136
Modulation de la voie des kynurénines dans les astrocytes infectés par <i>T. gondii</i> .....	137
Lien entre la schizophrénie et les voie des kynurénines induite par <i>T. gondii</i> .....	139
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	151

# Liste des figures

---

Figure 1: Modèle schématique de la division cellulaire chez *T. gondii*

Figure 2: Morphologie d'un tachyzoïte de *T. gondii*

Figure 3: Microscopie électronique d'un bradyzoïte dans le kyste tissulaire. et microscopie électronique d'un kyste tissulaire dans le cerveau

Figure 4: Répartition géographique des génotypes de *T. gondii*.

Figure 5: Cycle de vie du parasite *T. gondii*

Figure 6: Facteurs associés à l'interconversion tachyzoïte - bradyzoïte.

Figure 7: Représentation schématique du rôle des effecteurs parasitaires lors de l'invasion et de la formation de la VP

Figure 8: Cycle lytique de *T. gondii*

Figure 9: Modes de transmission de *T. gondii*

Figure 10: Réponse immunitaire au niveau gastro-intestinal

Figure 11: Modulation des réponses des monocytes par les effecteurs parasitaires.

Figure 12: Mécanismes de résistance au parasite *T. gondii* régulés par l'IFN $\gamma$ .

Figure 13: Représentation de la cinétique de production des anticorps anti-*T. gondii* après une primo-infection

Figure 14: Réponse immunitaire et mécanismes effecteurs anti-parasitaires lors d'une infection aiguë par *T. gondii*.

Figure 15: Schéma des interactions physiques et cellulaires qui composent la barrière hémato-encéphalique

Figure 16: Cellules du système nerveux central et infection par *T. gondii*

Figure 17: Transmission et dissémination des parasites dans le cerveau

Figure 18: Voies de signalisation induites par l'acide kynurénique (KYNA)

Figure 19: Schéma du métabolisme de la voie de la kynurénine

Figure 20: Activation de la voie KP dans un contexte inflammatoire.

Figure 21: Pourcentage d'individus séropositifs pour *T. gondii* chez les patients atteints de schizophrénie et les témoins sains.

Figure 22: Courbe de la fonction d'efficacité du récepteur (ROC: Receiver operating characteristic) et Barplot de la distribution de la population étudiée en fonction de l'âge

Figure 23: Distribution des taux d'IgG dans la population étudiée

Figure 24: Modulation de l'expression des cytokines pro-inflammatoires et anti-inflammatoires lors d'une infection chronique.

Figure 25: Charge parasitaire dans le cerveau des souris infectées.

Figure 26: Modulation de la voie des kynurénines durant l'infection chronique

Figure 27: Comparaison de la modulation de la voie des kynurénines par les deux souches parasitaires

Figure 28: Dosage des métabolites de la voie des kynurénines

Figure 29: Changements morphologiques des astrocytes

Figure 30: Caractérisation des astrocytes infectés et vérification de l'activation astrocytaire par l'IFN $\gamma$  par la mesure de la phosphorylation de STAT1.

Figure 31: Modulation de l'expression des molécules du CMH-I par *T. gondii*.

Figure 32: Pourcentage d'astrocytes positifs pour la protéine GFAP

Figure 33: Immunofluorescence des astrocytes infectés par le parasite *T.gondii*.

Figure 34: Modulation de la réponse cytokinique des astrocytes par l'infection.

Figure 35: Induction de la voie KP dans les astrocytes.

Figure 36: Comparaison des cytokines proinflammatoires selon la charge parasitaire

Figure 37: Recrutement de LC3 à la membrane de la VP

# Liste des abréviations

---

3-HK	3-hydroxykynurenin
ABA	abscisic acid
ADN	Acide DéoxyriboNucléique
ADNc	Acide DéoxyriboNucléique complémentaire
ADNg	Acide DéoxyriboNucléique génomique
Ahr	Arylhydrocarboné receptor
AMA	Apical Membrane Antigen
ANOVA	Analysis Of VAriance
AP-1	Activator Protein 1
ApiAP2	Apicomplexan Apetela-2
APR	Apical Polar Ring (Anneau Polaire Apical)
ARNm	Acide RiboNucléique messenger
ARNr	Acide RiboNucléique ribosomique
ASC	Apoptosis-associated Speck-like protein containing a CARD domain
ASK1	Apoptosis Signal-regulating Kinase 1
ATF	Activating Transcription Factor
ATG	AuTophagy
BAG	Bradyzoïte AntiGen
BBB	Blood Brain Barrier
BiP	Binding Immunoglobulin Protein
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool
CAM	Calmodulin-like protein
CAMLG	CaLcium Modulating LiGand
CD	Cluster of Differentiation
CDA	Cell division autoantigen
CDA-1	Cell Division Autoantigen 1
CDPK	Calcium-Dependent Protein Kinase
CMH-I	Complexe Majeur d'Histocompatibilité de type I
CMI	Complexe Membranaire Interne
CPA	Cellule Présentatrice d'Antigène
CSF	Cerebrospinal fluid
DAPI	Di Aminido Phenyl Indol
DC	Dendritic cell
DHFR	dihydrofolate réductase
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DRD2	Dopamine Receptor D2
DTT	DiThioThréitol
EDTA	EthyleneDiamineTetraacetic Acid
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assays
FITC	Fluorescéine isothiocyanate
GABA	G-aminobutyric acid
GADD34	Growth Arrest and DNA-Damage-inducible 34

GAP	Glideosome Associated Proteins
GBP	Guanylate Binding Protein
GBPs	Guanylate binding proteins
GFAP	Glial fibrillary acidic protein
GPI	Glycosylphosphatidylinositol
GRA	Granule dense protein
HFF	Humain Foreskin fibroblast
IDO	Indoleamine 2,3-dioxygénase
IFA	Immunofluorescence assay
IFAT	Indirect fluorescent antibody test
IFN	Interferon
Ig	Immunoglobulin
IHA	Indirect haemagglutination assays
IL	Interleukine
IMC	Inner Membrane Complex
iNOS	inducible Nitric Oxyde Synthase
IRG	Immune Related GTPase
IRGs	Immunity-related GTPases
ISAGA	Immunosorbent agglutination assay
ISG	Interferon-Stimulated Gene
IVN	Intravacuolar network
JAK	JAnus Kinase
JM	Jonction mobile
KAT	kynurenine aminotransferases
KO	Knock-Out
KP	Kynurenine pathway
KYN	l-kynurénine
KYNA	Kynurenic Acid
LT	Lymphocytes T
LTh	LT helper
MAPK	Mitogen-Activated Protein Kinases
MCP1	Monocyte Chimioattractive Protein 1
MIC	MICroneme protein
MVP	Membrane de la vavuole parasitophore
MyD88	Myeloid Differentiation primary response 88
MYR	MYc Regulation 1
NCBI	National Center for Biotechnology Information
NFkB	Nuclear Factor-Kappa B
NK	Natural Killer
NLR	NOD Like Receptor
NLRP3	NLR family Pyrin domain containing 3
NMDA	N-méthyl-d-aspartate
NO	Nitric Oxide
NOX2	NADPH OXYdase 2
Nrf2	Nuclear factor erythroid-2-related factor
NTPases	Enzymes dégradant les nucléotides triphosphate

NuRD	Nucleosome Remodeling Deacetylase
OVA	OVAAlbumin
PAF	Paraformaldéhyde
PAMP	Pathogen Associated Molecular Pattern
PBS	Phosphate buffered saline
PCR	Polymerase Chain Reaction
PRR	Pattern Recognition Receptor
qPCR	quantitative Polymerase Chain Reaction
QPRT	quinolinate phosphoribosyltransferase
QUIN	quinolinic acid
ROI	Oxygen Reactive Intermediates
RON	RhOptry Neck protein
ROP	RhOptry Protein
ROS	Reactive Oxygen Species
SAG	Surface antigen
SDS	Sodium Dodecyl Sulfate
SIDA	Syndrôme d'immunodéficience acquise
SNC	Système nerveux central
SVF	Sérum de Veau Foetal
TCR	T Cell Receptor
TDO	Tryptophane 2,3-dioxygénase 2
TGF	Transforming Growth Factor
Th1	T helper 1
TLR	Toll-Like-Receptors
TNF	Tumor Necrosis Factor
TRAF	TNF Receptor-Associated Factor
TRAF6	TNF receptor-associated factor
VIH	Virus de l'immunodéficience humaine.
VP	Vacuole parasitophore
WB	Western Blotting

# Introduction

# Introduction

---

## 1 *Toxoplasma gondii* : agent de la toxoplasmose

### 1.1 Taxonomie

*Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) est un protozoaire intracellulaire obligatoire appartenant au phylum des Apicomplexes responsable d'une anthroponose cosmopolite, la toxoplasmose. Ce phylum regroupe de nombreux micro-organismes pathogènes causant des pathologies humaines et vétérinaires ayant un impact sanitaire et économique considérable: *Plasmodium*, responsable du paludisme; *Eimeria*, agent des coccidioses aviaires; ou encore *Cryptosporidium* et *Babesia*.

*T. gondii* a été découvert en 1908 parallèlement par les docteurs Charles Nicolle et Louis Manceaux en Afrique du Nord (Institut Pasteur de Tunis) chez le rongeur et par le docteur Alfonso Slendore chez le lapin au Brésil. En 1909, Nicolle et Monceaux ont nommé ce nouveau micro-organisme *Toxoplasma* faisant référence à sa forme en arc (du grec "toxon" pour arc et "plasma" pour forme) et *gondii* pour l'hôte dans lequel il a été découvert le *Ctenodactylus gundi* (Ferguson, 2009).

Selon une classification utilisée depuis plusieurs décennies et acceptée par le monde de la recherche, ce protozoaire appartient au royaume des Protista, phylum des Apicomplexa, classe des Sporozoasida, ordre des Eucoccidiorida, famille des Sarcocystidae et genre *Toxoplasma* dont une seule espèce *Toxoplasma gondii* (Long, 2019).

Cependant et en se basant sur des similitudes phylogénétiques et ultra-structurelles, une nouvelle classification a été suggérée par (Adl et al., 2012) *T. gondii* apparaît alors dans un super groupe appelé SAR comprenant: Stramenopiles, Alveolata et Rhizaria. Plus précisément, il apparaît à l'intérieur du groupe Alveolata (premier groupe); parmi les alveolata, il est classé comme Apicomplexa (deuxième groupe); parmi les Apicomplexa, il est classé comme Conoidasida (troisième groupe); parmi ceux-ci, il est classé comme Coccidia (quatrième groupe); et enfin parmi les Coccidia, il fait partie du groupe Eimeriorina (cinquième groupe), avec d'autres parasites associés tels que *Cyclospora* et *Neospora* (Adl et al., 2012).

## 1.2 Morphologie et biologie du parasite

*T. gondii* existe sous trois formes infectieuses : le tachyzoïte, le bradyzoïte, tous deux résultant de la multiplication asexuée chez les hôtes intermédiaires et le sporozoïte provenant de la multiplication sexuée chez l'hôte définitif (voir aussi chapitre 1.4).

### 1.2.1 Le tachyzoïte

Le tachyzoïte est la forme responsable de la dissémination du parasite dans l'organisme lors de la phase aiguë de l'infection. Le tachyzoïte résulte d'une multiplication rapide par endodyogénie répétée (Dubey, 2010) (Figure 1) où chaque cycle de division est composé de quatre phases : G1, S (duplication de l'ADN), M (Mitose) et C (Cytokinèse) et dure de 6 à 9h (Radke, 2001). Il aboutit à la formation de deux cellules filles à l'intérieur de la cellule mère. Cette forme de reproduction asexuée peut se produire dans tous les types de cellules nucléés de l'organisme (Weiss, 2013).

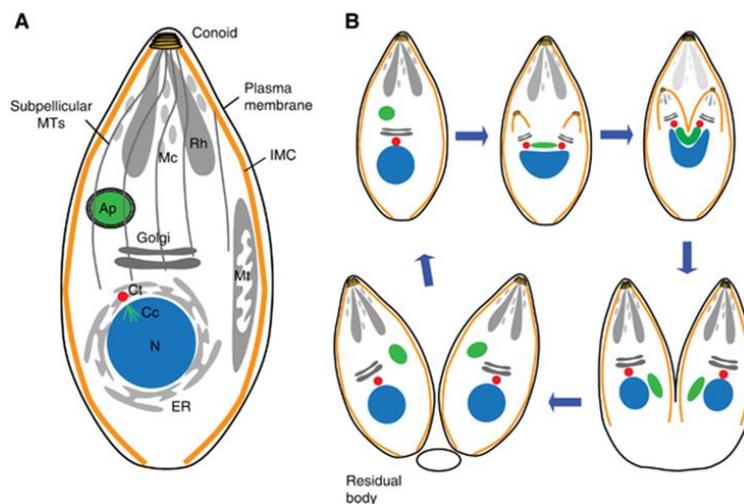


Figure 1: **Modèle schématique de la division cellulaire chez *T. gondii*** (Jacot et al., 2013). **A**. Organisation ultrastructurale du tachyzoïte. Organites sécrétoires apicaux : rhoptries (Rh) et micronèmes (Mc); Ap: apicoplaste entouré de quatre membranes; Ct: centrosome; Cc: centrocône; Mt: mitochondrie; ER: réticulum endoplasmique; IMC: complexe membranaire interne; MT: microtubules; N: noyau. **B**. Représentation schématique de la division du tachyzoïte. L'endodyogénie commence par la duplication des centrosomes et la fission de l'appareil de Golgi. Simultanément, l'apicoplaste s'allonge avec ses deux extrémités étroitement associées aux centrosomes fixant ainsi la polarité de l'axe de division. Les cellules filles émergent par formation *de novo* de la pellicule (comprenant le cytosquelette de microtubules ancrés à l'IMC). Par force mécanique des pellicules filles, l'apicoplaste et le noyau se séparent en deux. Les rhoptries et les micronèmes sont fabriqués *de novo* à la fin du processus d'endodyogénie. Après la division, les constituants résiduels de la cellule mère sont éliminés dans le corps résiduel. ER, Mt, Cc et MT ne sont pas représentés.

---

En forme de croissant, un tachyzoïte mesure environ 2 à 6  $\mu\text{m}$  et peut se déplacer par glissement, flexion, ondulation ou rotation (Dubey, 2010). Il n'a aucun moyen visible de locomotion comme les cils, les flagelles ou les pseudopodes (Dubey, 2010). Il possède une extrémité antérieure pointue et une extrémité postérieure arrondie. A son extrémité antérieure, il est constitué d'un complexe apical constitué de deux anneaux apicaux polaires (extérieur et intérieur) où sont ancrés des organelles de sécrétion spécifiques aux apicomplexes : les micronèmes et les rhoptries. Le complexe apical joue un rôle essentiel dans la motilité parasitaire et l'invasion de la cellule hôte (Carruthers and Boothroyd, 2007) (voir chapitre 1.6). Le tachyzoïte est délimité par une pellicule (enveloppe extérieure) comprenant la membrane plasmique et le complexe membranaire interne (CMI) dans lequel est ancré le cytosquelette d'actino-myosine (Figure 2) (Dobrowolski and Sibley, 1997) et les microtubules sous-pelliculaires (Sweeney et al., 2010). Le tachyzoïte est également constitué des organelles classiques des cellules eucaryotes : un noyau, un Golgi, un réticulum endoplasmique et une mitochondrie unique. D'autres organites spécifiques sont présents tels que les micropores (impliqués dans l'endocytose), les granules denses (voir chapitre 2.2) et l'apicoplaste.

Le parasite *T. gondii* contient trois génomes: un génome mitochondrial, codant seulement pour 3 gènes, un génome circulaire de 35kb dans l'apicoplaste codant les protéines et l'ARN assurant l'activité des ribosomes ainsi que des enzymes du métabolisme lipidique et pour finir un génome nucléaire de ~ 65 Mb, haploïde dans tous les stades asexués et réparti en 14 chromosomes (Walochnik and Duchêne, 2016).

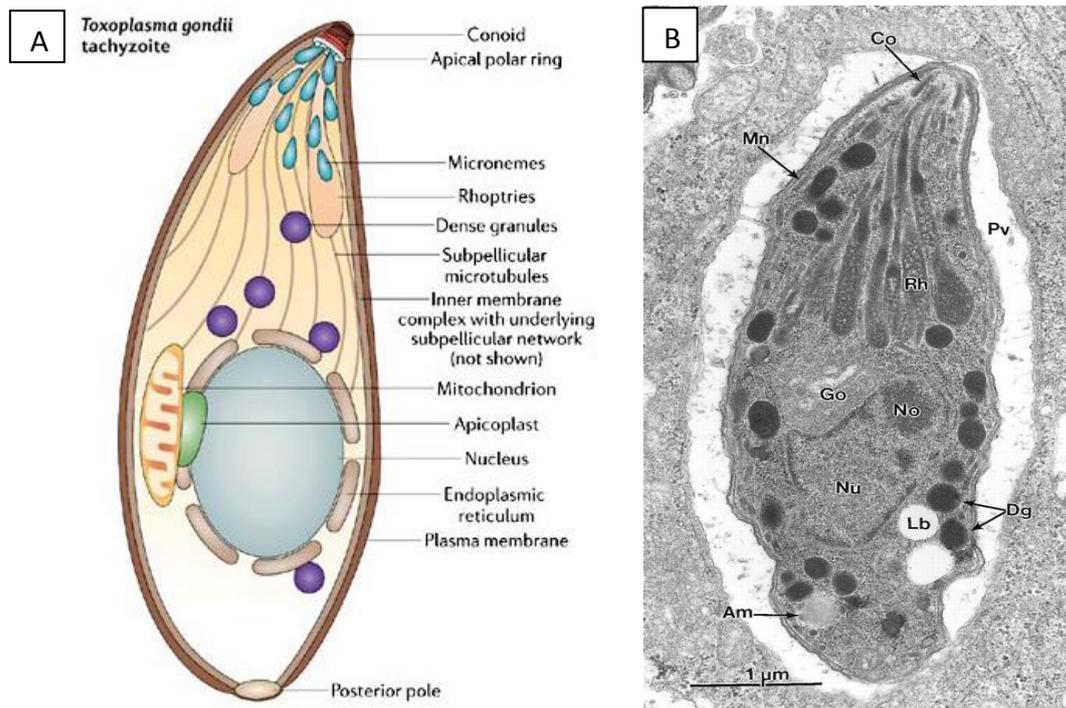


Figure 2: **A- Morphologie d'un tachyzoïte de *T. gondii*** (Dubey et al., 1998). Le complexe apical comprend les rhoptries et les micronemes (les organites sécrétoires) et le conoïde depuis lequel émergent les microtubules sous-pelliculaires rayonnant à partir de l'anneau polaire apical. Entre la membrane plasmique externe et les microtubules sous-pelliculaires se trouve un réseau appelé complexe membranaire interne, formant ainsi la pellicule à trois couches qui est caractéristique des Apicomplexa (Baum et al., 2006). **B- Micrographie électronique à transmission d'un tachyzoïte** (Dubey et al., 1998) de la souche VEG de *T. gondii* dans une cellule d'exsudat péritonéal de souris. Am, granule d'amylopectine; Co, conoïde; Dg, granule dense; Go, Golgi; Mn, micronemes; No, nucléole, Nu, noyau; Pv, vacuole parasitophore; Rh, rhoptry.

### 1.2.2 Bradyzoïtes et kystes tissulaires

Résultant de la conversion des tachyzoïtes, le bradyzoïte (5-8.5 x 1-3 µm de taille) est le stade enkysté du parasite, responsable de la phase chronique de l'infection. Il se divise à l'intérieur de kystes intracellulaires d'une manière lente par endodyogénie asynchrone (Dubey, 2010). Le bradyzoïte possède une forme plus mince que le tachyzoïte avec un noyau situé vers l'extrémité postérieure, alors que le noyau du tachyzoïte est plus central. D'une forme sphéroïde, les kystes se développent dans le cerveau, les yeux et les muscles squelettiques et cardiaques (plus rarement dans les poumons, le foie et les reins) et persistent durant toute la vie de l'hôte infecté (Tu et al., 2018). Leur taille est variable. Les kystes tissulaires jeunes peuvent avoir un diamètre de 5 µm et ne contenir que deux bradyzoïtes, tandis que les plus âgés

peuvent en contenir des milliers (Figure 3B). Ces kystes atteignent 100  $\mu\text{m}$  de longueur (forme allongée) dans les cellules musculaires et un diamètre de 70  $\mu\text{m}$  au sein des neurones (Dubey, 2010).

La forme kystique du parasite est responsable de la transmission entre hôtes par carnivorerisme. La rupture des kystes conduit à la libération des bradyzoïtes (Figure 3A) qui se convertissent rapidement en tachyzoïtes. La multiplication et dissémination rapide des tachyzoïtes qui est corrélée à une forte inflammation et la destruction des tissus peut entraîner des pathologies sévères (voir chapitre 1.8) (Singh, 2015). Le kyste est formé d'une paroi dérivant de la membrane de la vacuole parasitophore (VP) composée à la fois d'une couche externe compacte et une deuxième couche plus souple s'étendant dans la matrice du kyste. La formation de la matrice et paroi du kyste est en partie régulée par les protéines contenues dans les granules denses (notamment les protéines GRA1, GRA2, GRA4, GRA6, GRA9, et GRA12) qui après sécrétion dans l'espace vacuolaire forment le réseau intravacuolaire (IVN) (Ferguson, 2004). L'IVN, après une étape de maturation, participera à la formation de la paroi kystique (Guevara et al., 2019; Hammoudi et al., 2015). La paroi du kyste est une structure épaisse qui consiste en une couche externe semblable à une éponge condensée qui se transforme en une couche plus lâche s'étendant dans la matrice du kyste (Tu et al., 2020). En plus des protéines de granules denses, la paroi est également composée de protéines telles que MAG1, MAG2, MCP3, MCP4, BCP1 et de glycoprotéines (CST1-9) dont le rôle n'est pas encore défini (Tu et al., 2020) sauf pour MCP3 qui semble jouer un rôle important dans la croissance et donc la taille du kyste (Tu et al., 2020).

Cette paroi semble limiter les échanges avec la cellule hôte car elle n'est perméable qu'aux molécules de faibles poids moléculaires (10kDa maximum) (Tu et al., 2018). Notamment, il a été démontré que contrairement aux tachyzoïtes, les kystes intra-neuronaux ne présentent pas d'antigènes parasitaires sur les molécules du CMH-I (Complexe Majeur d'Histocompatibilité de type I) dans les neurones infectés (Salvioni et al., 2019).

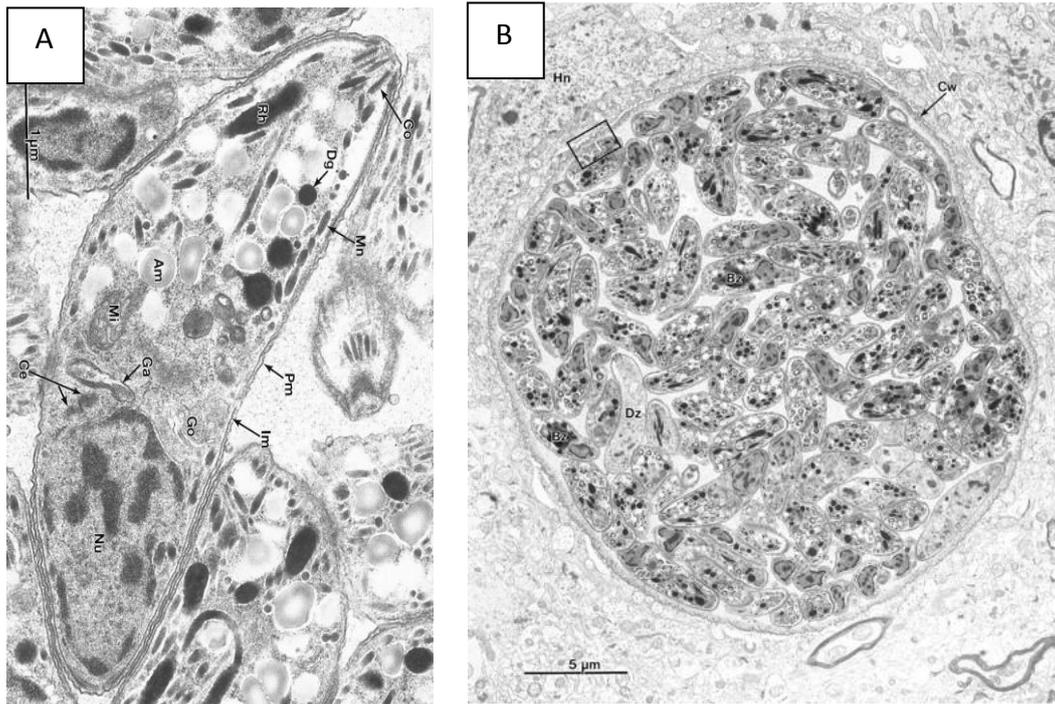


Figure 3: **A- Microscopie électronique d'un bradyzoïte dans le kyste tissulaire** (Dubey et al., 1998): Am, granule d'amylopectine; Ce, centrioles; Co, conoïde; Dg, granule dense aux électrons; Ga, complément de Golgi (apicoplaste); Allez, complexe de Golgi; Im, complexe de membrane interne; Mi, mitochondrie; Mn, micronème; Nu nucleus; Pm, plasmalemma; Rh, rhoptry. **B- Microscopie électronique d'un kyste tissulaire dans le cerveau** (Dubey et al., 1998) d'une souris inoculée 8 mois plus tôt avec des oocystes de la souche VEG de *T. gondii*. Cette section ultramince du kyste montre environ 110 bradyzoïtes (Bz). Le kyste tissulaire est entouré d'une paroi kystique (Cw) et est situé dans le cytoplasme de la cellule hôte près du noyau de la cellule hôte (Hn). Quelques bradyzoïtes semblent dégénérés (Dz).

### 1.2.3 Oocystes et sporozoïtes

Les oocystes sont issus de la multiplication sexuée dans l'intestin de l'hôte définitif, les félinés, et sont dotés d'une forme sphérique limitée par une membrane résistante. Les oocystes non sporulés constituent la forme de résistance et de dissémination du parasite *T. gondii* dans le milieu extérieur (Dubey and Dubey, 2010; Singh, 2015). Ils présentent un diamètre de  $10\mu\text{m} \times 12\mu\text{m}$  et un cytoplasme constitué d'un large noyau qui contient un nucléoplasme amorphe et un nucléole distinct. 1 à 5 jours suivant l'excrétion des oocystes dans les déjections des chats, la sporulation se produit dans le milieu extérieur selon les conditions d'humidité, d'oxygène et de température et donne naissance à des oocystes sporulés de forme ellipsoïde avec un diamètre de  $11\mu\text{m} \times 13\mu\text{m}$  qui contiennent 2 sporoblastes chacun avec 2 noyaux. L'allongement des deux sporoblastes forme alors deux sporocystes ovoïdes qui mesurent  $6\mu\text{m} \times 8\mu\text{m}$

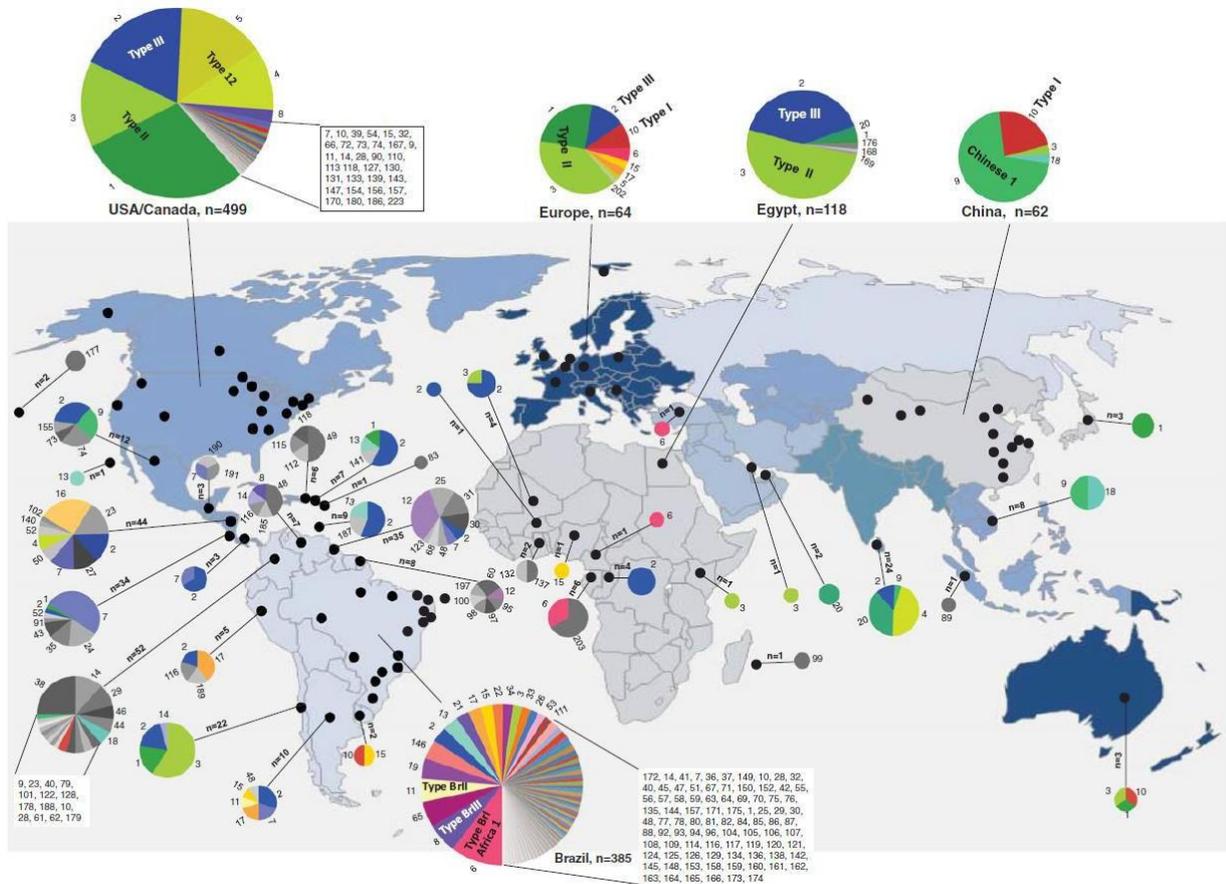
contenant chacun quatre sporozoïtes mesurant  $2\mu\text{m} \times 8\mu\text{m}$  de taille avec un noyau sous-terminal (Singh, 2015).

Après l'ingestion des oocystes sporulés par l'hôte intermédiaire, la paroi protectrice est digérée dans l'estomac et les sporozoïtes pénètrent les entérocytes et les cellules caliciformes de l'épithélium intestinal via un mécanisme encore très peu élucidé puis sont transportés vers la lamina propria où ils se convertissent en tachyzoïtes et disséminent dans l'hôte (Singh, 2015).

### 1.3 Génotypes du parasite *T. gondii*

La toxoplasmose est une maladie cosmopolite (Figure 4) dont l'agent pathogène *T. gondii* possède plusieurs génotypes. En effet, en se basant sur six marqueurs génétiques, les génotypes de l'espèce *T. gondii* ont été groupés en trois lignées principales : Type I, Type II et Type III avec une divergence de la séquence nucléotidique de seulement 2% (Dardé, 2008). Cependant, ces 3 lignées présentent des virulences distinctes chez leurs hôtes. En effet, les souches de Type I (souche RH par exemple) sont très virulentes chez la souris de laboratoire présentant une dose létale d'un seul parasite pour 100% des animaux morts (DL100) 10 jours après injection intrapéritonéale. Au contraire, les souches de Type II (souche PRU par exemple) possèdent une virulence intermédiaire (DL50  $>10^3$ ) et les souches de Type III (souche VEG par exemple) sont très peu virulentes (DL50  $>10^5$ ) chez la souris de laboratoire (Simon et al., 2019). De plus, de par leur très grande virulence, l'infection par les souches de Type I n'aboutit pas à l'établissement d'une infection latente au contraire des souches de Type II et III qui présentent un pouvoir kystogénique élevé (Boothroyd and Grigg, 2002; Saeij et al., 2005). Il est à noter qu'une étude récente a démontré que les souches de Type I peuvent aussi former des kystes chez certains rongeurs sauvages, un phénomène probablement lié à un polymorphisme des gènes de résistance à l'infection chez ces rongeurs (Hassan et al., 2019; Murillo-León et al., 2019). Des techniques évoluées de génotypage par PCR-RFLP (séquençage multilocus de gènes ainsi que marqueurs microsatellites), ont permis de mettre en évidence un croisement entre ces trois lignées générant des souches classées comme atypiques avec un

polymorphisme génétique qui ne correspond pas aux trois lignées initialement décrites (Weiss, 2013) (Galal et al., 2019).



## 1.4 Cycle de vie du parasite

*T. gondii* est un parasite possédant un cycle de vie hétéroxène facultatif composé d'une phase sexuée chez les félinés qui constituent les hôtes définitifs et une phase asexuée chez les hôtes intermédiaires: tous les homéothermes dont l'Homme (Tenter et al., 2000) (Figure 5). Comme mentionné précédemment (chapitre 1.2), chez les hôtes intermédiaires, *T. gondii* subit deux phases de développement. Dans la première phase, les tachyzoïtes se multiplient rapidement par endodyogenèse répétée dans

différents organes de l'hôte (chapitre 1.2.1). Les tachyzoïtes peuvent se convertir en bradyzoïtes (contenus dans les kystes tissulaires) qui à leur tour vont se multiplier lentement par endodyogénie principalement au niveau du système nerveux central (SNC), l'œil ainsi que les muscles squelettiques et cardiaques.

Les kystes tissulaires persistent toute la vie de l'hôte et sont transmis par carnivorerisme aux hôtes intermédiaires ou définitifs. Si ingérés par un hôte définitif, les bradyzoïtes initient tout d'abord une phase de prolifération asexuée consistant en une multiplication par endodyogénie suivie d'une endopolygénie répétée dans les cellules épithéliales de l'intestin grêle du chat. Les étapes terminales de cette multiplication asexuée déclenchent la phase sexuée du cycle de vie: la gamogonie aboutissant à la formation du macrogamète femelle et du microgamète mâle. Les oocystes non sporulés formés après fécondation sont libérés dans la lumière intestinale et relargués dans l'environnement avec les fèces. La sporogonie se produit à l'extérieur de l'hôte et conduit au développement d'oocystes infectieux qui contiennent deux sporocystes, contenant chacun quatre sporozoïtes (Tenter et al., 2000).

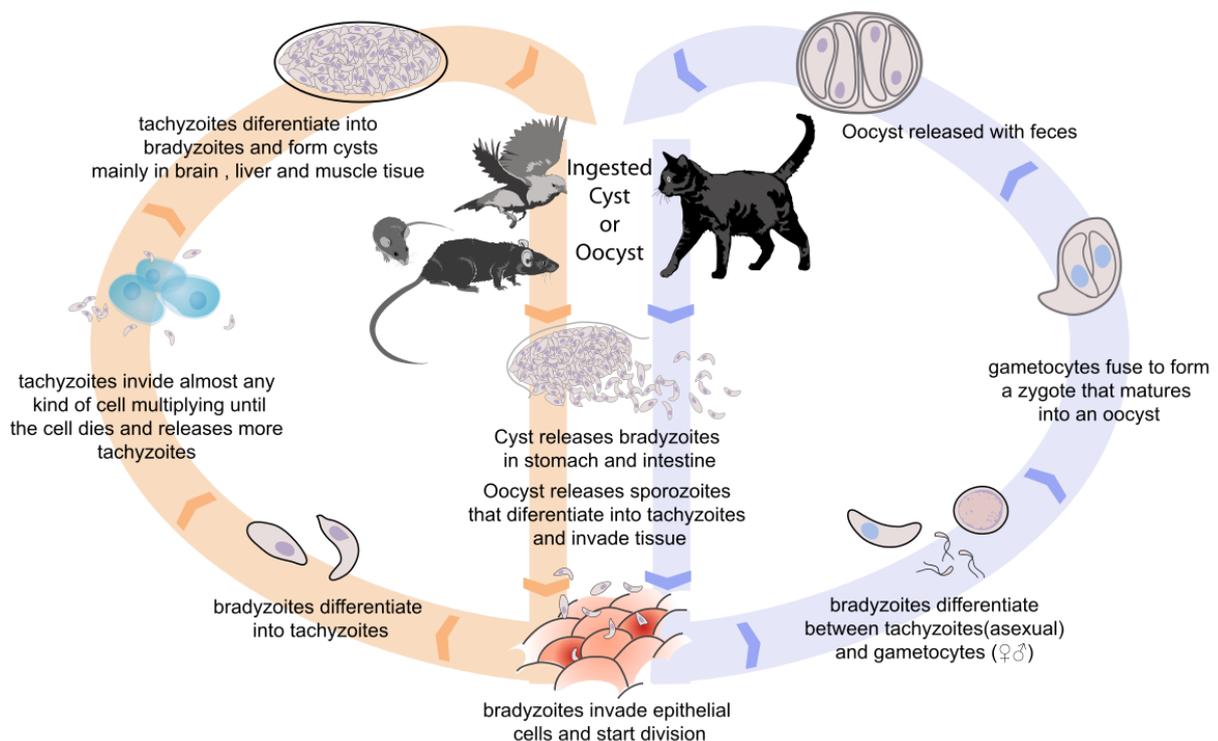


Figure 5 : Cycle de vie du parasite *T. gondii* (Portilho and Carvalho, 2019).

## 1.5 Conversion Tachyzoïtes-Bradyzoïtes

La conversion des tachyzoïtes en bradyzoïtes est la conséquence de plusieurs facteurs (Figure 6). Notamment, *in vitro* au sein de différents types cellulaires, des variations de pH et de température peuvent induire la conversion (Lüder and Rahman, 2017) ainsi que la carence en métabolites auxotrophes comme l'arginine et le cholestérol (Lüder and Rahman, 2017; Lyons et al., 2002). Le type cellulaire influence également la différenciation en bradyzoïte. En effet, il a été démontré que cette différenciation est favorisée dans les cellules post-mitotiques telles que les neurones ou les cellules musculaires squelettiques. Les neurones sont d'ailleurs le seul type cellulaire hébergeant des kystes tissulaires dans le cerveau lors d'une infection chronique (Mayoral et al., 2020). La conversion tachyzoïte-bradyzoïte est caractérisée par la transformation de la vacuole parasitophore en paroi kystique, un processus relativement rapide, commençant 6 à 9 jours après l'infection chez la souris (Lüder and Rahman, 2017).

Chez la souris, la réponse immunitaire pro-inflammatoire caractérisée par la sécrétion des deux cytokines l' $\text{IFN}\gamma$  et le  $\text{TNF-}\alpha$  ainsi que la production de l'oxyde nitrique (NO) favorisent la différenciation des tachyzoïtes en bradyzoïtes (Lüder and Rahman, 2017). Par ailleurs, certains facteurs intrinsèques à la cellule hôte infectée semblent également participer à ce processus. Notamment, il a été montré que deux protéines humaines favorisent la différenciation: la protéine CDA-1 (Cell Division Autoantigen 1) en inhibant la croissance de la cellule hôte, et la protéine CD73 en augmentant la concentration en adénosine (Lüder and Rahman, 2017). Il convient de noter que l'invasion des neurones primaires en culture (sans stress exogène) conduit à la conversion spontanée des tachyzoïtes en bradyzoïtes et à la formation de kystes intracellulaires par des mécanismes encore inconnus. Cela suggère que les cellules neuronales fournissent un microenvironnement cellulaire spécifique et non défini à ce jour qui déclencherait la conversion (Swierzy et al., 2017), un phénomène également observé dans les cellules musculaires squelettiques de souris (Lüder and Rahman, 2017; Swierzy and Lüder, 2015). De plus, les neurones semblent peu activés par l' $\text{IFN}\gamma$ . Ils perdent ainsi leur capacité à éliminer les kystes intracellulaires par l'induction des défenses intrinsèques à l'inverse des microglies et astrocytes (décrit dans le chapitre 2.4) (Cabral et al., 2016).

Une défaillance du système immunitaire aura pour conséquence la réactivation des kystes tissulaires et la conversion des bradyzoïtes en tachyzoïtes, comme c'est le cas chez les individus immunodéprimés suite à la réduction du nombre de lymphocytes T et des cytokines pro-inflammatoires (Lyons et al., 2002). La conversion du parasite d'un stade à un autre s'accompagne de changements morphologiques, moléculaires et épigénétiques suite à la mise en place d'un programme génétique spécifique à chaque stade (Lyons et al., 2002; Skariah et al., 2010; Tu et al., 2019). En effet, il a été démontré que les facteurs de transcription de la famille ApiAP2 sont impliqués dans la régulation de la conversion. Les protéines TgAP2IV-3, TgAP2Ib-1 et TgAP2XI-4 favorisent la conversion des tachyzoïtes en bradyzoïtes tandis que les protéines TgAP2IX-9, TgAP2IV-4 et TgAP2IX-4 inhibent ce processus (Hong et al., 2017). Récemment, un facteur de transcription de type Myb-like (BFD1) régulant la différenciation des tachyzoïtes en bradyzoïtes *in vitro* et chez la souris a été identifié. En effet, exprimé en condition de stress, BFD1 induit l'augmentation de l'expression de 90 gènes (sur 99 gènes préalablement identifiés comme spécifiques à la différenciation des tachyzoïtes en bradyzoïtes), notamment les gènes BAG1, LDH2 et ENO1 et diminue les niveaux d'expression de SAG1 spécifique du stade tachyzoïte (Waldman et al., 2020). De plus, l'inactivation de BFD1 bloque la formation des bradyzoïtes chez les souris, tandis que l'expression conditionnelle de BFD1 est suffisante pour induire une différenciation même en l'absence de facteurs de stress environnementaux (Waldman et al., 2020). Le rôle du BFD1 en tant que régulateur principal de la différenciation n'exclut pas les fonctions importantes des protéines ApiAP2 en tant que médiateurs en aval de la formation des bradyzoïtes, et des travaux supplémentaires sont nécessaires pour caractériser la hiérarchie des signalisations aboutissant à la conversion (Waldman et al., 2020).

Les connaissances actuelles suggèrent donc que l'induction de la différenciation des tachyzoïtes en bradyzoïtes est multifactorielle et implique la contribution du cycle cellulaire et du métabolisme de l'hôte ainsi que des réponses immunitaires dans l'environnement tissulaire.

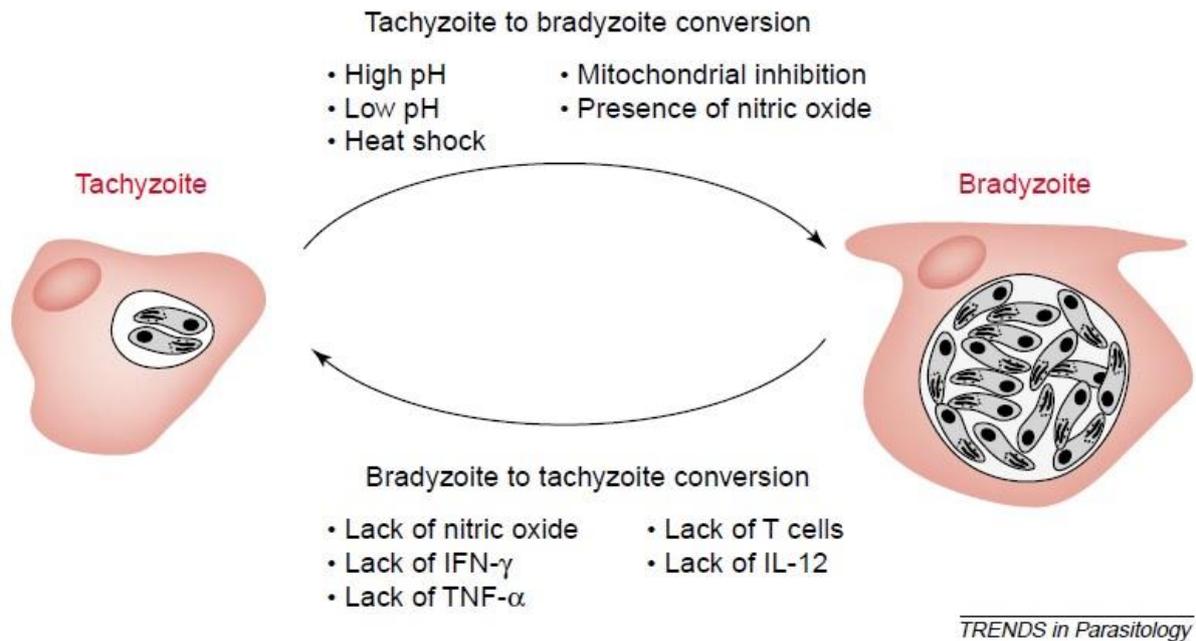


Figure 6: **Facteurs associés à l'interconversion tachyzoïte - bradyzoïte.** (Lyons et al., 2002) Le processus de conversion ou de différenciation des stades est réversible, même au sein d'un seul hôte. Abréviations : IFN, interféron ; IL, interleukine ; TNF, facteur de nécrose tumorale.

## 1.6 Cycle lytique du tachyzoïte chez l'hôte intermédiaire

Le cycle lytique représente les étapes par lesquels le parasite s'attache, envahit, forme une vacuole parasitophore (VP), se réplique et enfin sort de cette cellule hôte. Les tachyzoïtes glissent dans l'environnement extracellulaire à la recherche d'une cellule cible. Le premier contact du parasite avec cette cellule se fait par sa couche protéique de surface. En effet, le parasite est recouvert de protéines de surface ancrées dans la membrane plasmique par un groupement GPI (glycosylphosphatidylinositol) appelés SAG (surface antigen) notamment SAG1, qui reconnaissent les protéoglycanes sulfatés sur la cellule hôte (Bishop et al., 2005; He et al., 2002). Après ce premier contact avec la cellule hôte, le calcium intracellulaire du parasite augmente induisant la sécrétion des micronèmes qui s'accumulent au pôle apical formant ainsi des complexes d'adhésion aux récepteurs de la cellule hôte (Huynh et al., 2003).

Le parasite sécrète ensuite les protéines RONS (rhoptries neck proteins) (Figure 7) et un complexe composé de RON2, RON4, RON5, RON8 est alors formé au niveau de la membrane plasmique de la cellule hôte, qui s'associe avec les protéines de

micronemes AMA1 insérées dans la membrane plasmique du parasite pour former la jonction mobile (JM) (Blader et al., 2015). Une fois la JM formée, le parasite se propulse vers l'avant, invaginant ainsi la membrane plasmique de la cellule hôte pour former sa vacuole parasitophore (Blader et al., 2015). La JM fonctionne comme un tamis en excluant toutes les protéines de la membrane plasmique de la cellule hôte (Mordue et al., 1999). Cela se traduit par un compartiment vacuolaire dépourvu de récepteurs pour la machinerie intracellulaire de la cellule hôte, formé d'une membrane non-fusogénique (Blader et al., 2015). La membrane de la VP (MVP) est ensuite modifiée par l'insertion des protéines RON qui sont rapidement injectées dans le cytosol de la cellule hôte dès que la JM est formée. Au cours du processus d'invasion et de formation de la VP, la maturation de la MVP se poursuit de manière concomitante avec la sécrétion des protéines de granules denses (GRAs) au sein de l'espace vacuolaire, qui vont elles aussi s'associer avec la MVP et former le réseau de nanotubules intravacuolaires reliés à la MVP. Ainsi, les GRAs sont retrouvés à la MVP, dans l'espace intravacuolaire, ou sont transloqués plus part au cours de la réplication du parasite vers le cytosol ou le noyau de la cellule hôte (Rastogi et al., 2019).

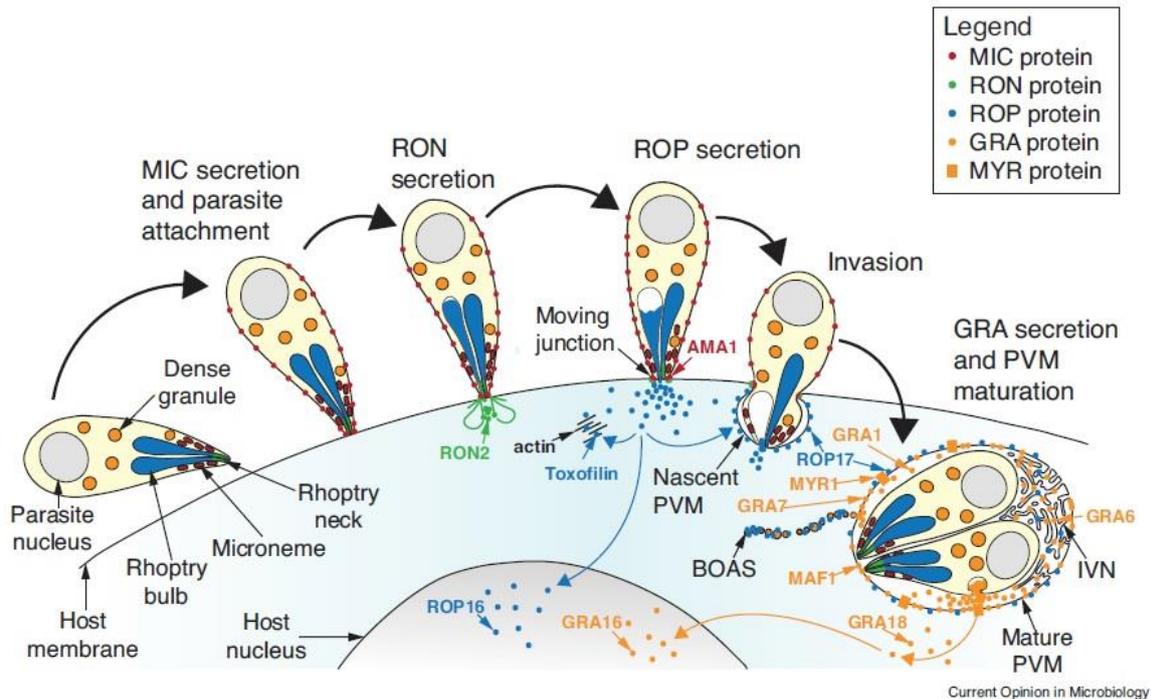
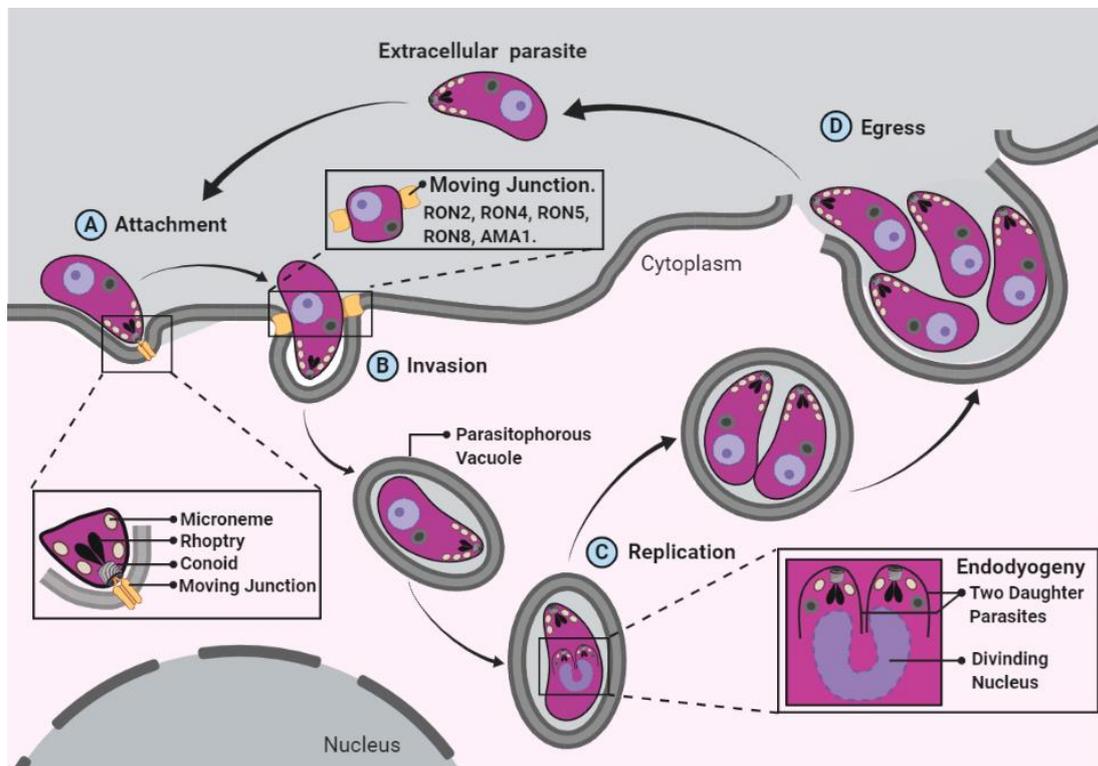


Figure 7 : **Représentation schématique du rôle des effecteurs parasites lors de l'invasion et de la formation de la VP** (Rastogi et al., 2019). Les protéines RONs (en vert) sont libérées après l'attachement du parasite à la cellule hôte pour s'associer à la protéine TgAMA1 (en rouge) et former la jonction mobile (JM) permettant l'invasion du parasite. Durant l'invasion, la structure protectrice enveloppant le parasite (la MVP) est générée. Lors de cette étape, les protéines ROPs (en bleu) sont injectées dans le cytosol de la cellule hôte et se retrouvent associées à la MVP (TgROP17) ou à l'actine cytosolique de l'hôte (Toxofiline). D'autres, comme TgROP16 s'accumulent directement dans le noyau de la cellule hôte. Une fois les parasites complètement internalisés dans la cellule hôte, la maturation de la MVP se produit de manière concomitante avec la sécrétion des protéines GRAs débutée dès l'invasion. Ainsi, les GRAs sont retrouvées à la MVP, dans l'espace intravacuolaire, au niveau du réseau intravacuolaire nanotubulaire (IVN) ou sont transloquées à travers la MVP vers le cytosol ou le noyau de la cellule hôte via le translocon TgMYR1 (en orange).

Après l'invasion des tachyzoïtes dans une cellule hôte, il existe une période variable de phase de latence avant que le parasite se divise (Dubey, 2010) par endodyogénie (chapitre 1.2.1) d'une manière synchronisée et exponentielle pour effectuer jusqu'à 8 cycles correspondant à 256 parasites par VP dans des fibroblastes humains (Robert-Gangneux and Darde, 2012). Cette phase de retard est partiellement dépendante du parasite. En effet, le taux d'invasion et de croissance varie en fonction de la souche de *T. gondii* et des cellules hôtes infectées. Plusieurs phénomènes peuvent induire la sortie du parasite (« egress ») de sa cellule hôte. En effet, l'établissement rapide d'une réponse cytotoxique de type Th1 induite par l'infection (voir chapitre 2.3), est corrélée à la sécrétion de la perforine et l'activation des récepteurs de mort cellulaire (Fas/FasL) par les cellules T CD8 cytotoxiques. Ceci entraîne des lésions dans la membrane

plasmique (Persson et al., 2007) de la cellule hôte ainsi qu'une baisse du  $K^+$  intracellulaire, déclenchant ainsi la sortie du parasite (Moudy et al., 2001; Persson et al., 2007). En absence de réponse inflammatoire (e.g. *in vitro* dans les cultures cellulaires), le parasite se réplique jusqu'à maturité en produisant en continu de l'acide abscissique (ABA), qui à des concentrations dépassant un seuil limite provoque la sortie du parasite (Nagamune et al., 2008). En outre, la réplication du parasite conduit à l'acidification de la vacuole parasitophore qui induit aussi la sortie du parasite (Roiko et al., 2014). Le parasite sécrète aussi des enzymes appelées NTPases appauvrissant la cellule hôte en ATP conduisant à l'arrêt des pompes  $Na^+/K^+$ , à la baisse du  $K^+$  intracellulaire et finalement à la sortie du parasite (Blader et al., 2015).



**Figure 8: Cycle lytique de *T. gondii*** (Blader et al., 2015). **A-** Dans une première étape, le parasite adhère fermement à la cellule hôte en formant la jonction mobile après sécrétion du contenu des rhoptries et micronèmes. **B-** Le parasite envahit la cellule hôte en formant la vacuole parasitophore (PV) dans le cytoplasme de la cellule hôte. **C-** Le parasite se réplique par endodyogénie, au sein de la PV. **D-** Enfin, les parasites rompent la membrane de la PV et la membrane de la cellule hôte et sortent avant d'envahir les cellules voisines.

## 1.7 Mode de transmission

La transmission du parasite peut se faire suivant plusieurs modes (Figure 9) résumés ci-dessous.

### 1.7.1 Transmission horizontale

Les oocystes présents dans les selles d'un chat contaminent l'environnement et sont distribués par l'eau de ruissellement, l'érosion, et les arthropodes. Il est alors important de bien laver les légumes et de porter des gants lors du jardinage ou lors du changement de litière des chats pour éviter la contamination accidentelle des mains par les oocystes sporulés (Singh, 2015).

Les kystes tissulaires de *T. gondii* sont présents dans la plupart des viandes comestibles. Une contamination peut donc s'effectuer par ingestion de viande contaminée crue ou mal cuite ou ingestion accidentelle de kystes présents sur des couteaux, des planches à découper ou autres ustensiles qui ont eu un contact avec de la viande contaminée.

### 1.7.2 Transmission Verticale

Chez l'homme, la toxoplasmose congénitale (voir chapitre 1.8.1) se produit chez les femmes exposées pour la première fois au parasite pendant leur grossesse et est causée par le passage transplacentaire des tachyzoïtes depuis la mère vers le fœtus. Dans la quasi-totalité des cas, une infection antérieure permet le développement d'une immunité protectrice à long terme chez la mère. Cependant, il est important de souligner que certains génotypes atypiques de *T. gondii* semblent pouvoir surmonter l'immunité maternelle et induire une infection fœtale chez les femmes déjà immunisées (Singh, 2015).

### 1.7.3 Autres modes de transmission

La transplantation d'organes est un mode de transmission bien reconnu par la communauté médicale. Les kystes tissulaires présents dans les organes contaminés par *T. gondii* peuvent se réactiver après transplantation et induire des infections fatales chez les receveurs immunodéprimés. Moins fréquemment, l'immunosuppression effectuée pour permettre une transplantation réussie peut

induire une réactivation de kystes tissulaires présents dans certains organes du receveur et provoquer alors de graves pathologies (Singh, 2015).

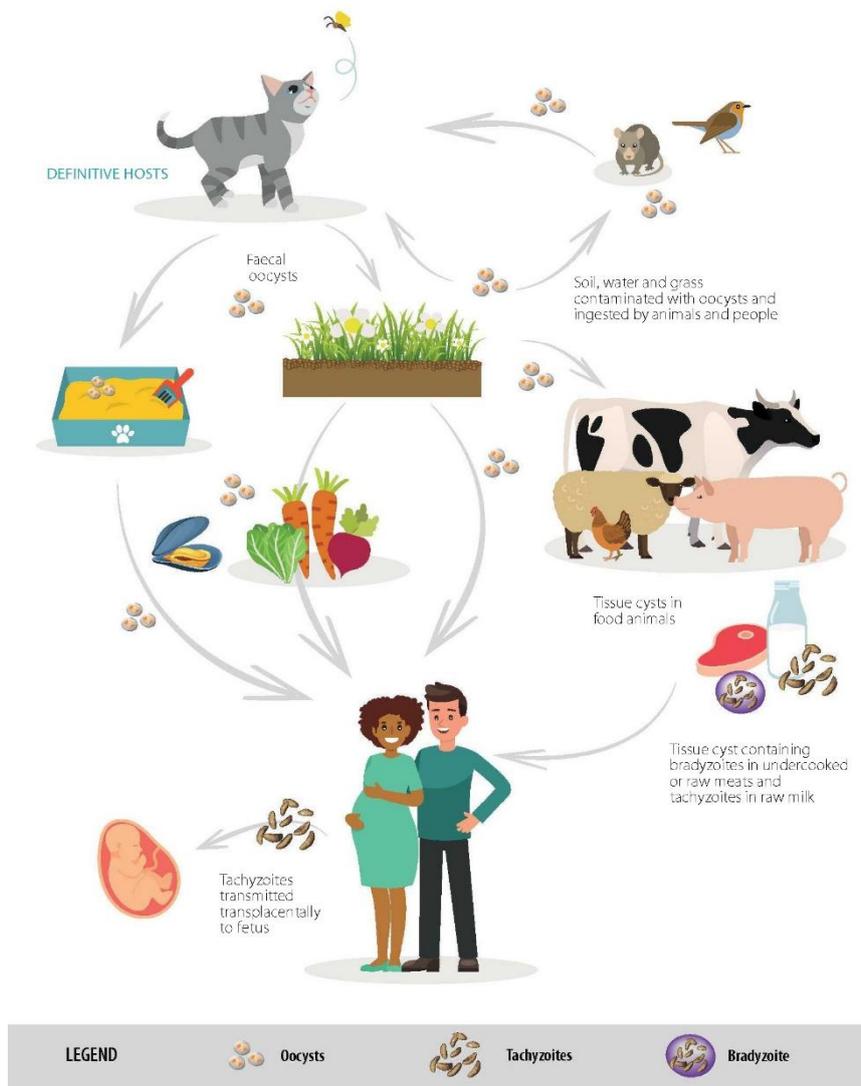


Figure 9: Modes de transmission de *T. gondii* (Koutsoumanis et al., 2018).

## 1.8 Physiopathologie

La toxoplasmose est l'une des parasitoses humaines les plus courantes dans le monde avec une prévalence mondiale de 30%, qui augmente avec l'âge. Cette séroprévalence varie entre les différents pays selon les habitudes alimentaires et les conditions d'hygiène. De plus, en raison de facteurs environnementaux ayant un

impact sur la survie des oocystes, l'infection est plus fréquente dans les climats chauds et à basse altitude que dans les climats froids et les régions montagneuses. L'infection est généralement asymptomatique chez les individus immunocompétents, néanmoins 10% à 20% des patients atteints d'une infection aiguë peuvent développer une lymphadénopathie cervicale ou des symptômes grippaux. Cependant l'infection par *T. gondii* est un risque de pathologies sévères pour le fœtus d'une femme primo-infectée durant la grossesse et chez les individus immunodéprimés (Kota and Shabbir, 2020).

### 1.8.1 La toxoplasmose congénitale

La toxoplasmose congénitale a des manifestations cliniques de grande envergure. Elle est asymptomatique dans la plupart des cas (75% des nourrissons atteints de toxoplasmose congénitale) même si des signes d'infections antérieures peuvent être détectés (calcifications cérébrales, cicatrices rétinienne). Les nouveau-nés à terme peuvent présenter également une forme bénigne de la maladie avec des symptômes tels qu'une hépatosplénomégalie et une lymphadénopathie. Les nouveau-nés prématurés présentent des symptômes neurologiques graves, comme des retards psychomoteurs ou mentaux à la naissance. Les symptômes sont généralement sévères et cliniquement apparents lorsque la mère contracte l'infection au cours du premier trimestre de grossesse et ne reçoit aucun traitement, pouvant aboutir à la mort *in utero* du fœtus (Kota and Shabbir, 2020).

### 1.8.2 La toxoplasmose chez l'immunodéprimé

La toxoplasmose présente un risque fatal pour les patients atteints du SIDA (syndrome d'immunodéficience acquise), les personnes atteintes d'un cancer sous chimiothérapie, les receveurs d'organes et de manière plus générale pour les patients sous immunodépresseurs. En effet, leur immunité réduite entraîne la réactivation des kystes tissulaires et la conversion des bradyzoïtes en tachyzoïtes (voir chapitre 1.5) qui vont se répliquer et disséminer. Notamment, dans le cas des patients atteints du SIDA, la réactivation des kystes intraneuronaux entraîne une hyper-inflammation et la destruction des tissus cérébraux, on parle alors de toxoplasmose cérébrale ou encéphalite toxoplasmique. Les symptômes observés chez les patients atteints du SIDA incluent des maux de tête, une désorientation, une somnolence, une

hémiparésie, des convulsions, le coma et parfois la mort (Peng et al., 2015). Lors de la toxoplasmose oculaire, la réactivation de kystes au niveau de la rétine entraîne des lésions, qui si non traitées peuvent entraîner une perte irréversible de la vision (Park and Nam, 2013). La réactivation de kystes au niveau des poumons peut entraîner une toxoplasmose pulmonaire mortelle dans 40% des cas si un traitement approprié n'est pas administré (Velásquez et al., 2016).

### 1.8.3 La toxoplasmose chronique

Longtemps considérée comme asymptomatique chez les individus immunocompétents, la toxoplasmose chronique cérébrale est maintenant un sujet de recherche actif. En effet, de nombreuses études ont mis en évidence une corrélation entre la séropositivité pour *T. gondii* et le développement de troubles psychiatriques sévères comme le syndrome bipolaire (Del Grande et al., 2017), le comportement suicidaire (Ling et al., 2011) et la schizophrénie (Torrey et al., 2012) (détaillé dans le chapitre 4.9 ). De même, il a été rapporté que la séropositivité à *T. gondii* était significativement et positivement associée à des antécédents de violence autodirigée non mortelle, et des atteintes suicidaires en Suède et Danemark (Pedersen et al., 2012; Zhang et al., 2012). De plus, et bien qu'encore contradictoire et sans corrélation prouvée au niveau épidémiologique (Mahami-Oskouei et al., 2016), la toxoplasmose chronique pourrait favoriser l'apparition de maladies neurodégénératives comme la maladie d'Alzheimer (Kusbeci et al., 2011) (voir chapitre 3.3 et chapitre 3.5).

## 1.9 Diagnostic

Le diagnostic de la toxoplasmose chez l'homme repose sur plusieurs techniques. La microscopie peut être utilisée pour détecter directement le parasite dans les fèces ou les tissus. Cependant, l'infection étant le plus souvent asymptomatique ou avec de faibles manifestations cliniques, un diagnostic sérologique est effectué dans la majorité des cas utilisant différentes techniques comme le dye test (DT), le Western Blotting (WB), l'enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA), l'immunosorbent agglutination assay (ISAGA), l'indirect fluorescent antibody test (IFAT) et l'indirect haemagglutination assays (IHA) qui permettent la détection des anticorps spécifiquement dirigés contre les antigènes parasitaires (IgA, IgE, IgM et IgG). Une autre méthode plus précise est la détection de l'ADN parasite par PCR utilisée principalement pour une détection précoce chez le fœtus lors d'une primo-infection de la femme enceinte (Liu et al., 2015).

---

## 1.10 Traitements

Les traitements médicamenteux sont seulement administrés dans les cas cliniquement graves incluant des symptômes de pneumonie, myocardite, méningo-encéphalite ou polymyosite mais aussi lors de signes de toxoplasmose oculaire (Rajapakse et al., 2013). Le traitement comprend généralement une combinaison de deux antimicrobiens, un inhibiteur de la dihydrofolate réductase (DHFR) (pyriméthamine ou triméthoprime) et un inhibiteur de la dihydropteroate synthétase (sulfonamides, tels que la sulfadiazine, le sulfaméthoxazole et la sulfadoxine), qui bloquent la synthèse de l'acide folique nécessaire à la production des acides nucléiques chez le parasite. La pyriméthamine semble être le médicament le plus efficace contre *T. gondii*. La combinaison pyriméthamine-sulfadiazine (pyr-sulf) (Dunay et al., 2018) est également administrée chez les enfants atteints de toxoplasmose congénitale (Rajapakse et al., 2013) durant leur première année de vie. La pyriméthamine peut être également combinée avec la clindamycine, l'atovaquone, la clarithromycine ou l'azithromycine. D'autres schémas thérapeutiques comprennent le triméthoprime, un autre inhibiteur de la DHFR, en association avec le sulfaméthoxazole (TMP-SMX; également connu sous le nom de cotrimoxazole) et l'atovaquone seul ou en association avec la sulfadiazine (Dunay et al., 2018).

Il est important de souligner que tous les médicaments utilisés en pratique clinique sont uniquement actifs contre le stade tachyzoïte du parasite et ne démontrent pas d'activité contre les kystes intra-tissulaires contenant des bradyzoïtes. Ceci est notamment lié au ralentissement métabolique de ce stade parasitaire, mais aussi au passage réduit de la drogue à travers la barrière hémato-encéphalique et probablement la paroi kystique. De plus, aucun vaccin n'est disponible à l'heure actuel pour l'homme (Dunay et al., 2018).

## 2 Réponse immunitaire

L'infection à *T. gondii* mène à la mise en place d'une réponse immunitaire robuste de type Th1 conduisant à l'élimination rapide du parasite pour des souches peu virulentes de types II et III. Les réponses immunitaires innée et adaptative mises en place permettent le contrôle de la réplication parasitaire mais aussi l'établissement d'une immunité protectrice à long terme face à une réinfection (Dupont et al., 2012; Yarovinsky, 2014a).

### 2.1 Réponse innée lors de la toxoplasmose aiguë

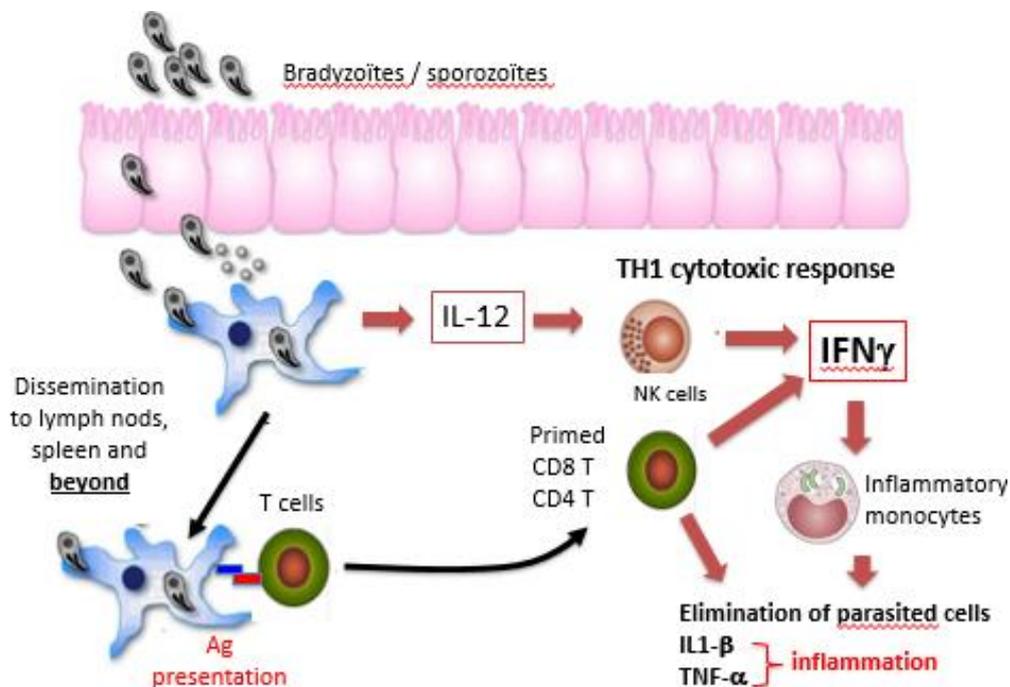
L'infection débute au niveau gastro-intestinal par l'invasion des entérocytes par les sporozoïtes et/ou bradyzoïtes (Figure 10). Tout d'abord, une réponse immunitaire locale est mise en place: les entérocytes limitent la réplication du parasite (NO, appauvrissement du milieu en fer) et sécrètent des cytokines et des chimiokines (Dimier and Bout, 1998). Ces dernières stimulent le recrutement des cellules immunitaires et leur activation au site de l'infection, notamment les cellules Natural Killer (NK), les neutrophiles et les monocytes inflammatoires.

Les cellules dendritiques (DCs) sont un des types cellulaires les plus précoces à interagir avec le parasite dans la muqueuse intestinale. La reconnaissance des motifs microbiens parasites, notamment par les Toll-Like-Receptors TLR11 et TLR12 (Koblansky et al., 2013; Plattner et al., 2008; Yarovinsky et al., 2005), induit l'activation des DCs et la sécrétion d'IL-12 qui joue un rôle clé dans l'activation précoce de la sécrétion de l'IFN $\gamma$  par les cellules NK et les Lymphocytes T (LT). Notamment, les TLR11 et TLR12 reconnaissent la protéine parasitaire *Tg*Profilin (*Tg*PRF) et activent la voie de signalisation NF- $\kappa$ B via la protéine MyD88 (O'Brien et al., 2008). Il en résulte la production d'IL-12 par les neutrophiles (Mantovani et al., 2011), les DCs (Mashayekhi et al., 2011) et les macrophages (Biswas et al., 2017; Gigley, 2016; Sasai et al., 2018). Ainsi, les parasites dépourvus de *Tg*PRF sont incapables d'induire la production d'IL-12 *in vitro* par les DCs et *in vivo* dans les souris (Plattner et al., 2008). De même, les souris délétées pour le gène codant TLR11 montrent de faibles niveaux de production d'IL-12 après infection (Sher et al., 2017; Yarovinsky et al., 2005). En accord avec ces résultats, les souris déficientes pour TLR11/TLR12 ou MyD88 montrent une forte susceptibilité à l'infection (Koblansky et al., 2013; Sher et al., 2017).

---

Bien que les humains et les rongeurs soient des hôtes intermédiaires de *T. gondii*, il existe des différences clés dans les réponses immunitaires innées induites chez ces espèces. En particulier, le TLR11 n'est pas fonctionnel chez l'homme, et le gène exprimant le TLR12 n'est pas présent dans le génome humain, ce qui implique des mécanismes distincts de détection des parasites dans les cellules humaines (Lima and Lodoen, 2019). Bien que ces mécanismes n'aient pas été complètement définis, il a été montré que l'IL-12 est principalement produite par les neutrophiles et les monocytes humains après phagocytose des parasites (Aldebert et al., 2007; Bliss et al., 1999).

Par ailleurs, en plus de leurs propriétés immuno-modulatrices (par la sécrétion de cytokines et chimiokines) au sein des différents tissus, les DCs sont des cellules présentatrices d'antigènes professionnelles qui vont rapidement migrer vers les organes lymphoïdes secondaires où elles vont présenter des antigènes parasitaires sur les molécules du Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH) et induire des réponses T-spécifiques permettant la résolution rapide de la phase aiguë de l'infection mais aussi le contrôle de la phase chronique (Blanchard et al., 2015; Buzoni-Gatel and Werts, 2006). Il est à noter que les propriétés migratoires des cellules immunitaires pourraient favoriser la dissémination rapide du parasite dans l'organisme suite à leur infection (Courret et al., 2006). En effet, des études ont montré que les DCs et les monocytes peuvent être utilisés comme transporteurs (« shuttle leucocytes ») par le parasite pour parasiter des organes distants du site d'infection comme le cerveau (Courret et al., 2006).



**Figure 10 : Réponse immunitaire au niveau gastro-intestinal.** Suite à la reconnaissance des motifs microbiens par les TLR, les DCs sécrètent l'IL-12 qui active la sécrétion de l'IFN $\gamma$  par les LT et les NK. L'IFN $\gamma$  induit les défenses antiparasitaires des macrophages et monocytes, qui avec l'action coordonnée cytotoxique des LT CD8+, permettent l'élimination rapide du parasite. En parallèle, les DCs migrent vers les organes lymphoïdes secondaires et présentent les antigènes parasitaires sur les molécules du CMH induisant les réponses T spécifiques.

Par ailleurs, les monocytes/macrophages activés contribuent à l'inhibition de la réplication parasitaire via l'expression de l'enzyme oxyde nitrique synthase (iNOS) et la production du monoxyde d'azote (NO) (Dunay et al., 2010). Les macrophages inhibent également la multiplication des tachyzoïtes après induction de l'expression de l'enzyme IDO (Yarovinsky, 2014a) qui active la voie des kynurénines et ainsi dégrade le tryptophane essentiel à la croissance du parasite (Pfefferkorn et al., 1986) (Figure 12).

Les macrophages et les monocytes infectés peuvent également répondre à l'infection par *T. gondii* par le biais des molécules de l'inflammasome NLRP1 et NLRP3 qui induisent la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires IL-1 $\beta$  et IL-18 limitant la réplication du parasite après déclenchement d'une mort cellulaire programmée appelée pyroptose (Schlee and Hartmann, 2016).

## 2.2 Le rôle des effecteurs parasitaires dans l'évasion à la réponse immunitaire

L'IFN $\gamma$  induit les défenses anti-parasitaires intrinsèques des monocytes inflammatoires et macrophages qui, avec l'action coordonnée des LT CD8<sup>+</sup> cytotoxiques, permettent l'élimination rapide du parasite (Dupont et al., 2012; Yarovinsky, 2014a). *T. gondii* a mis en place différentes stratégies afin de se répliquer (souches de type I) ou de persister (souches de type II) dans son hôte. Ces stratégies diffèrent donc en fonction de la souche. L'IFN $\gamma$  induit notamment l'expression des IRGs (Immunity-related GTPases) et GBPs (Guanylate binding proteins) responsables de la destruction de la VP dans de nombreux types cellulaires dont les macrophages et les monocytes (Saeij and Frickel, 2017) (Figure 12). Les IRGs sont des GTPases (hydrolyse du GTP) qui ont la faculté de s'associer aux membranes. Après stimulation par l'IFN $\gamma$ , de nombreuses IRGs (Irgm2, Irgm3, Irga6, Irgb6 et Irgd) sont recrutées à la membrane de la VP (MVP) et s'assemblent en complexes pour induire sa rupture suivie de la dégradation des parasites par les autophagosomes (Butcher et al., 2005; Ling et al., 2006; Taylor et al., 2007). Cependant, les souches de type I sécrètent des effecteurs contenus dans les rhoptries et granules denses (TgROP5(I)/TgROP17/TgROP18/TgGRA7) qui une fois assemblés en complexes actifs, induisent la phosphorylation des IRGs empêchant leur accumulation à la MVP (Etheridge et al., 2014). Les souches de type II présentent un polymorphisme au sein de l'allèle TgROP5, rendant cette protéine inactive. Ainsi le complexe parasitaire TgROP5(II)/TgROP17/TgROP18/TgGRA7 n'est pas assemblé à la MVP, ne perturbant donc pas le recrutement des IRGs et la destruction de la vacuole. Par ailleurs, l'expression des IRGs est dépendante du facteur de transcription STAT1 activé en aval de l'IFN $\gamma$ . L'infection par *T. gondii* est corrélée à la phosphorylation et la translocation nucléaire de STAT1 mais le parasite (souches de type I et de type II) sécrète le facteur TgIST contenu dans les granules denses qui bloque l'activité transcriptionnelle de STAT1 et donc la transcription des ISGs (IFN $\gamma$  Stimulated Genes) (Gay et al., 2016; Olias et al., 2016; Rosowski and Saeij, 2012). D'autre part, la protéine ROP16 sécrétée par le parasite possède une activité tyrosine kinase qui après translocation dans le noyau de la cellule hôte induit la phosphorylation des facteurs de transcription STAT3 et STAT6 (Signal Transducer and Activator of Transcription),

réprimant ainsi la réponse pro-inflammatoire de type Th1 (Ong et al., 2010; Yamamoto et al., 2009). Ceci entraîne notamment une diminution de l'expression de l'IL-12 (Butcher et al., 2011) (Figure 11).

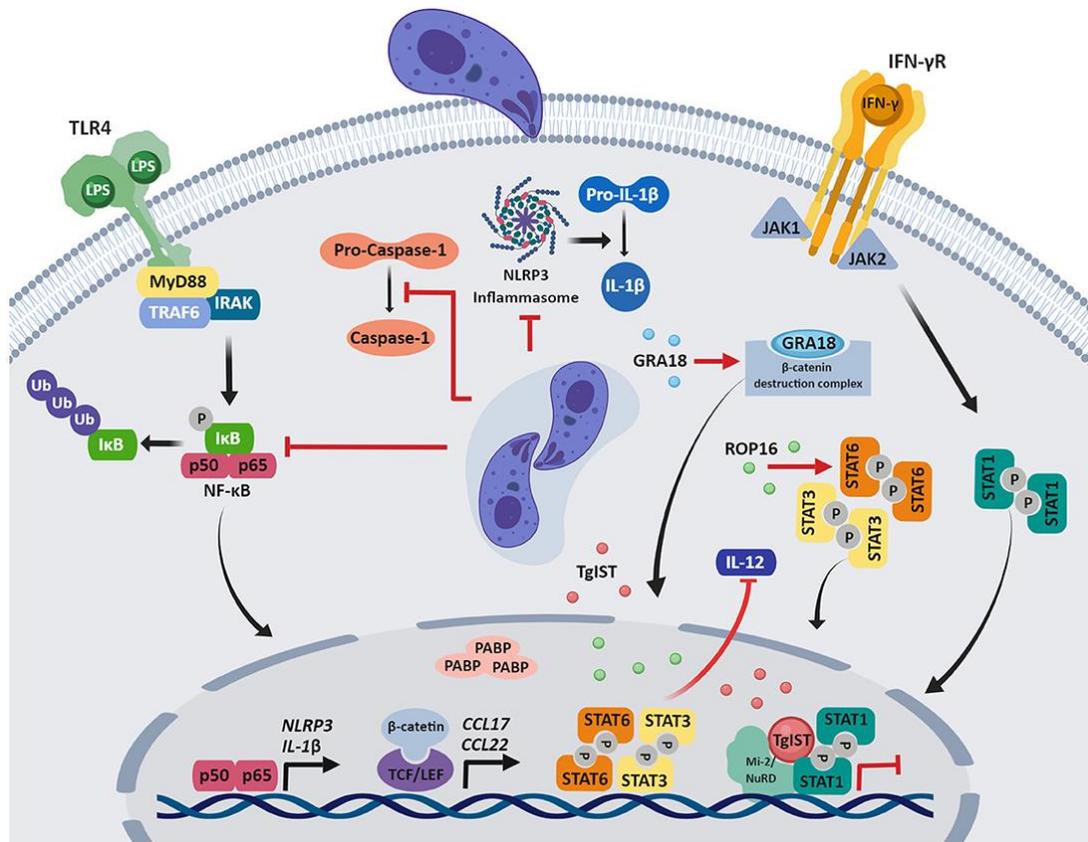


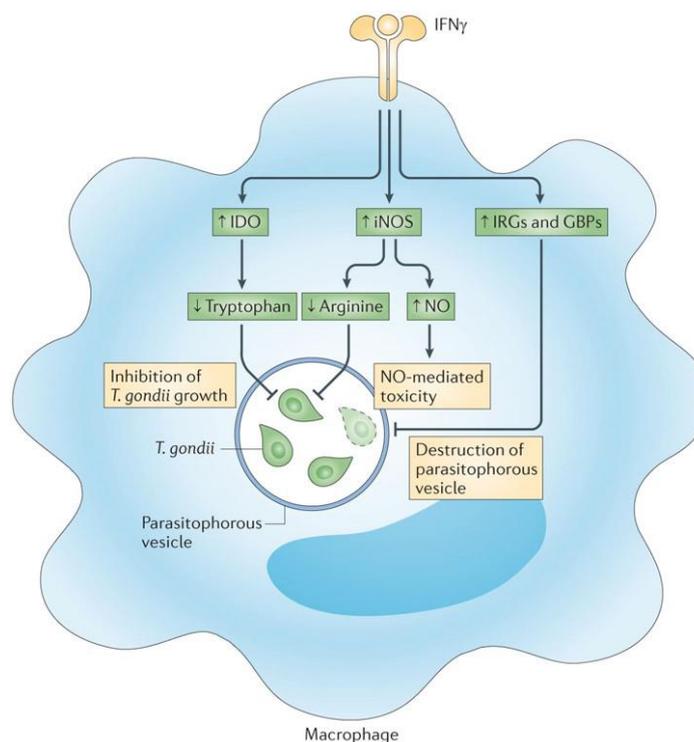
Figure 11 : **Modulation des réponses des monocytes par les effecteurs parasitaires.** (Lima and Lodoen, 2019). La stimulation par l'IFN $\gamma$  initie la signalisation JAK / STAT, activant la translocation des homodimères de STAT1 vers le noyau. La protéine TgIST sécrétée par le parasite se lie aux dimères STAT1 activés et également au complexe Mi2 / NuRD entraînant une altération de la chromatine et un blocage de l'expression de gènes induits par l'IFN $\gamma$ . A travers la sécrétion de ROP16, les souches de type I et III (mais pas de type II) phosphorylent et activent STAT3 et STAT6 dans les cellules humaines et de souris diminuant ainsi la production de l'IL-12. GRA18 sécrété par le parasite se lie au complexe de destruction de la  $\beta$ -caténine composé de la  $\beta$ -caténine, le GSK3 $\alpha$  /  $\beta$  et l'holoenzyme PP2A-B56 favorisant ainsi la stabilisation et la translocation nucléaire de la  $\beta$ -caténine, un coactivateur du facteur de transcription TCF/LEF de la voie Wnt et induisant ainsi l'expression de gènes dépendant de la  $\beta$ -caténine, notamment ceux associés à la réponse anti-inflammatoire CCL17 et CCL22. La phosphorylation du complexe P65/P50 induit sa translocation vers le noyau ainsi que l'activation de la voie NF- $\kappa$ B induisant la production de l'IL-1 $\beta$  et l'expression du capteur d'inflammasome NLRP3. La souche parasitaire de type I limite l'activation de NF- $\kappa$ B en réduisant la phosphorylation de p65/p50 et sa translocation vers le noyau et en réduisant la dégradation d'I $\kappa$ B $\alpha$  et la phosphorylation de p65/p50 dans les neutrophiles inhibant ainsi la production de l'IL-1 $\beta$  (notamment celle induite par les LPS). *T. gondii* inhibe également le clivage et l'activation de la caspase-1 dans les neutrophiles infectés, mais pas dans les monocytes humains infectés, représentant différents mécanismes de régulation de l'IL-1 $\beta$  spécifiques au type de cellule infectée.

À l'inverse de TgIST, l'effecteur TgGRA15, actif seulement dans les souches de type II, régule positivement la transcription de certains ISGs de manière dépendante de NF- $\kappa$ B et indépendante de STAT1 (Rosowski et al., 2011; Rosowski and Saeij, 2012). La découverte du facteur parasitaire GRA15 et de son activité extravacuolaire a défini un nouveau mécanisme d'action des protéines GRAs qui étaient considérées comme participant à la formation de l'IVN et à la maturation de la MVP. En effet, après sa sécrétion dans le cytosol de la cellule hôte, GRA15 induit l'activation et la translocation nucléaire des hétérodimères NF- $\kappa$ B p50 / p65, favorisant la libération de cytokines pro-inflammatoires, dont l'IL-12 (Rosowski et al., 2011). Par ailleurs, GRA6 est une autre protéine sécrétée spécifiquement par les souches de type II qui est ancrée dans la MVP. GRA6 active le facteur de transcription NFAT4 (facteur nucléaire des cellules T 4 activées) favorisant ainsi la synthèse des chimiokines Cxcl2 et Ccl2. Ces chimiokines attirent les monocytes inflammatoires et les neutrophiles vers le site d'infection, permettant ainsi le contrôle rapide de la propagation du parasite (Ma et al., 2014). GRA16 forme un complexe avec la phosphatase PP2A-B55 et le facteur HAUSP induisant ainsi l'expression du facteur suppresseur de tumeur p53. GRA16 faciliterait ainsi la survie des cellules hôtes infectées dans des conditions de stress (Bougdoor et al., 2013). GRA24 partage avec GRA16 la capacité de transloquer dans le noyau de la cellule hôte et régule l'expression de cytokines et chimiokines pro-inflammatoires, en particulier CCL2 / protéine chimioattractive monocyte 1 (MCP-1) et l'IL-12 (Braun et al., 2013)

En plus de ces protéines GRAs, GRA18 sécrété dans le cytoplasme de la cellule hôte par les souches de type I, s'associe avec et active le complexe GSK3 / PP2A-B56 bloquant ainsi la dégradation de la  $\beta$ -caténine (Figure 11). La  $\beta$ -caténine transloquée dans le noyau active alors la transcription des gènes impliqués dans la réponse anti-inflammatoire notamment CCL17 et CCL22, qui induisent une réponse de type TH2 (He et al., 2018).

En conclusion, les souches de types II favorisent la résolution rapide de la phase aiguë de l'infection en favorisant les défenses cellulaires intrinsèques des macrophages/monocytes afin d'établir une infection chronique au sein d'un hôte « préservé ». Au contraire, les souches de type I plus virulent parviennent à les inhiber et donc à se répliquer et disséminer rapidement, aboutissant à la mort rapide de l'hôte. De manière intéressante, dans les DCs infectées par les souches de type II, il a été

montré que la lyse partielle de la MVP permet le relargage d'antigènes dans le cytosol de la cellule hôte et ainsi facilite la présentation antigénique par le CMH-I. Plus précisément, suite à la stimulation par l'IFN $\gamma$ , le recrutement de Irgm1, Irgm3 et de GBPs induit le recrutement de l'ubiquitine et du séquestrosome p62 (ou SQSTM1) en association avec des protéines de l'autophagie (ATG3, ATG5, ATG7 et ATG16L1). L'accumulation de la protéine p62 à la MVP contribue à la libération cytosolique d'antigènes de *T. gondii* pouvant activer les LT CD8+ (Lee et al., 2015). Une étude récente a démontré que l'effecteur parasite GRA15 stimule ce processus en activant le recrutement des facteurs TRAF2 et TRAF6 (TNF receptor-associated factor) (Mukhopadhyay et al., 2020). Par conséquent, les mécanismes souche-spécifiques de rupture de la VP pourraient être impliqués non seulement dans l'élimination des parasites mais aussi dans la régulation de l'activité de présentation antigénique et ainsi réguler l'activation des LT.



**Figure 12: Mécanismes de résistance au parasite *T. gondii* régulés par l'IFN $\gamma$ .** L'activation des macrophages par l'IFN $\gamma$  induit l'expression des protéines IDO, iNOS, et des IRGs / GBPs. Les protéines IDO et iNOS induisent la diminution du taux de tryptophane et d'arginine inhibant ainsi la croissance du parasite. Le NO induit la mort du parasite par son effet toxique. Les IRGs et GBPs facilitent la lyse de la membrane de la vacuole parasitophore (Yarovinsky, 2014b).

## 2.3 Immunité adaptative

### 2.3.1 La réponse immunitaire adaptative à médiation cellulaire

L'immunité adaptative à médiation cellulaire repose sur l'action de cellules présentatrices d'antigènes parasitaires et des lymphocytes T essentielles pour la clairance rapide du parasite. En effet, des études *in vivo* sur des souris dépourvues de cellules LT montrent qu'elles succombent rapidement à la phase aiguë de l'infection (Hunter and Remington, 1994).

Après stimulation par le parasite, les DCs et les macrophages s'activent et présentent sur les molécules de CMH des antigènes spécifiques de *T. gondii* dont P30, GRA4, GRA6, GRA1, GRA7, ROP2 et ROP7 chez la souris (Duquesne et al., 1991; Frickel et al., 2008; Hunter and Remington, 1994; Jacobs et al., 1999; Kasper et al., 1992). Cette présentation antigénique a pour but d'activer les lymphocytes T CD4 + et les lymphocytes T CD8 + naïfs (Goldszmid et al., 2012) tout en induisant la différenciation des cellules T CD4+ en cellules Th1. Les cellules Th1 vont alors sécréter de l'IFN $\gamma$ , médiateur principal de la résistance au parasite (Suzuki et al., 2011, 1988).

Les lymphocytes T CD8+ contrôlent aussi l'infection par la production de l'IFN $\gamma$  mais aussi par la cytolyse des cellules infectées par la sécrétion de la perforine (Andrade et al., 2005). L'action des LT est nécessaire pour contrôler l'infection aiguë mais aussi la phase chronique puisque la déplétion des LT CD4+ et LT CD8+ (Gazzinelli et al., 1992) (Khan et al., 2019) durant la phase chronique de la maladie entraîne la réactivation de l'infection.

### 2.3.2 La réponse immunitaire adaptative à médiation humorale

La réponse immunitaire adaptative à médiation cellulaire est complétée par une réponse immunitaire à médiation humorale caractérisée par la production d'anticorps par les cellules B (Dupont et al., 2012). En effet, l'infection de souris  $\mu$ MT déficientes en cellule B est corrélée à une charge parasitaire élevée dans le SNC et leur mort après 3 à 4 semaines et ceci malgré l'établissement d'une réponse immunitaire précoce médiée par l'IFN $\gamma$  (Kang et al., 2000). De plus, le transfert passif d'anticorps spécifiquement dirigés contre le parasite confère une protection aux souris déficientes en cellules B (Johnson and Sayles, 2002).

Plusieurs isotypes d'anticorps, notamment les IgM, IgA, IgE et IgG spécifiques du parasite, ont été identifiés chez des patients humains infectés. La détection de ces différents isotypes d'anticorps est un outil de diagnostic efficace pour distinguer les individus nouvellement infectés de ceux présentant une infection de longue date (Dupont et al., 2012) (Figure 13).

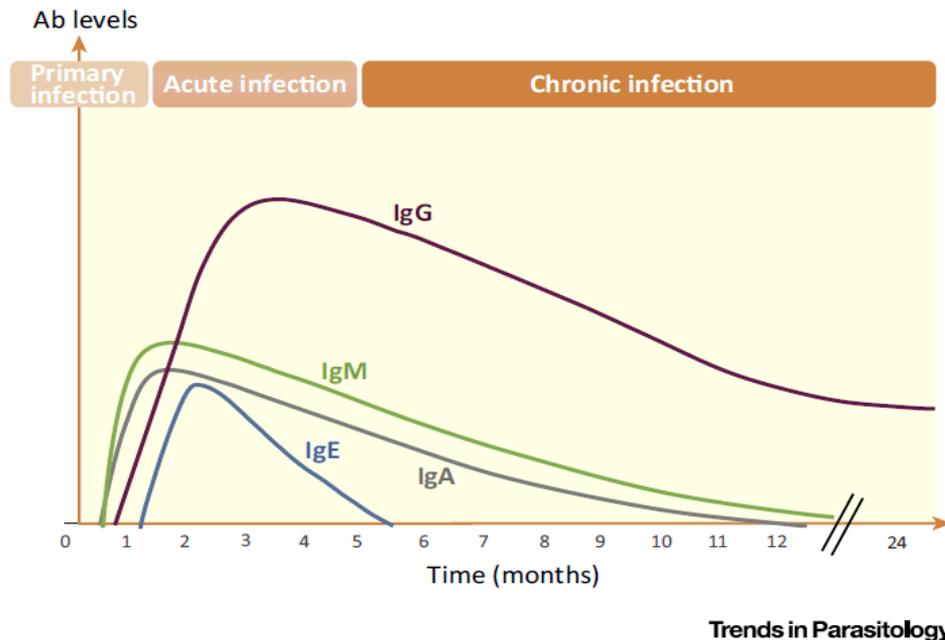


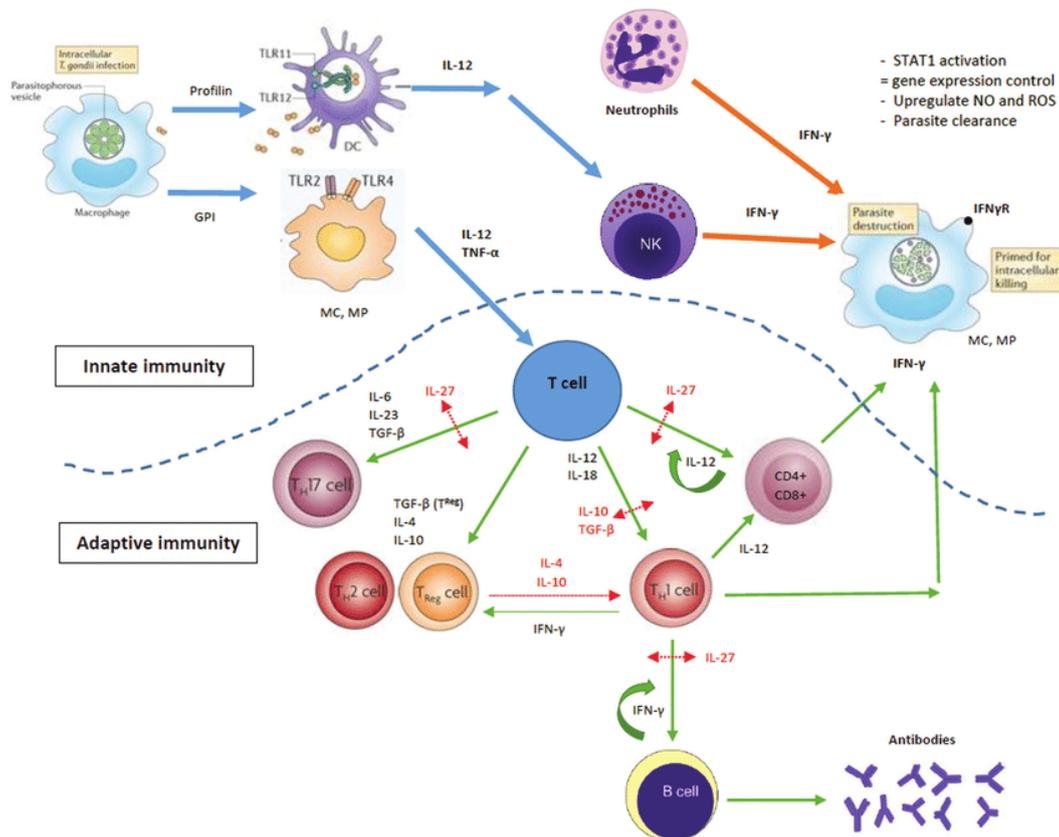
Figure 13 : **Représentation de la cinétique de production des anticorps anti-*T. gondii* après une primo-infection** (Dard et al., 2016). La primo-infection induit la production de différents isotypes d'anticorps. Les IgM et IgA apparaissent durant la première semaine et atteignent un pic à environ 1 mois post-infection avant de disparaître progressivement. Les IgE sont produites précocement et atteignent leur maximum 3 mois post-infection avant de disparaître rapidement. Les IgG sont produites tardivement mais persiste durant la vie de l'individu.

Les anticorps peuvent assurer leurs effets protecteurs contre l'infection grâce à une variété de mécanismes. Des études *in vitro* ont montré qu'ils peuvent opsoniser les parasites pour induire leur phagocytose, bloquer l'invasion et également activer la voie classique du complément (Dupont et al., 2012). La pertinence *in vivo* de l'activation du complément est illustrée par des études dans lesquelles le traitement de souris avec un anticorps qui se lie à la protéine du complément C3 entraîne une sensibilité aiguë à la toxoplasmose (Johnson et al., 1996).

Il est à noter que les fonctions des lymphocytes B sont aussi stimulés par les LT CD4+ (Gigley et al., 2009). En effet, les souris déficientes ou dépourvues de LT CD4+ présentent des taux réduits d'anticorps spécifiques du parasite (Johnson and Sayles, 2002). De plus, la sensibilité accrue des souris déficientes en LT CD4+ peut être

améliorée par le transfert passif d'anticorps, indiquant que le défaut de réponse anticorps contribue probablement à l'échec du contrôle de la réplication parasitaire (Johnson and Sayles, 2002).

Figure 14: Réponse immunitaire et mécanismes effecteurs anti-parasitaires lors d'une



**infection aiguë par *T. gondii*** (Molan et al., 2016). Au début de l'infection, les cellules dendritiques, les monocytes et les macrophages sont les premières cellules à répondre. La *Tg*Profiline est reconnue par les récepteurs Toll-like (TLR) 11 et TLR12 dans les cellules dendritiques induisant la production de l'interleukine (IL)-12. De plus, les macrophages induisent également le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF-α) en réponse à la détection par les TLR2 et TLR4 des protéines parasitaires ancrées au glycosylphosphatidylinositol (GPI). La réponse immunitaire innée entraîne la production d'interféron gamma (IFN-γ) à partir des cellules Natural Killer (NK) et des neutrophiles. La signalisation IFN-γ stimule les mécanismes effecteurs antiparasitaires, incluant la production des réactifs intermédiaires de l'oxygène et l'induction de l'expression de la p47 GTPase. La réponse immunitaire à médiation cellulaire qui en résulte limite la réplication du parasite. Par ailleurs, les médiateurs inflammatoires dirigent le système immunitaire adaptatif, entraînant l'expansion des cellules T-helper de type 1 (Th1) et des cellules T cytolytiques CD8 + qui sécrètent de l'IFN-γ. La différenciation des cellules Th1 est induite par la libération d'IL-12 et d'IL-18, tandis que la différenciation et l'expansion des cellules T-helper de type 17 (Th17) est favorisée par le facteur de croissance transformant bêta (TGF-β), l'IL-6 et l'IL- 23. Ceci est contre-régulé par les cellules T auxiliaires de type 2 (Th2) et les cellules T régulatrices (Treg) principalement par la production d'IL-4 et d'IL-10. L'IL-10 et l'IL-27 sont essentielles pour moduler ces voies et empêcher la surproduction de cytokines de type Th1. IFNγR : récepteur de l'interféron gamma; MC : mastocytes; MP : macrophages; ROS : espèces réactives de l'oxygène.

## 2.4 Immunité dans le système nerveux central

Les tachyzoïtes franchissent la barrière hémato-encéphalique pour pénétrer dans le SNC et établir une infection latente (Schlüter and Barragan, 2019). Cette barrière est composée d'un épithélium de cellules endothéliales à jonctions serrées qui tapisse les microvaisseaux du cerveau. La lame basale et les péricytes entourent les cellules endothéliales et les extrémités astrocytaires (Mendez and Koshy, 2017) (Figure 15). Afin de pénétrer dans le SNC, le parasite peut employer trois mécanismes distincts (Mendez and Koshy, 2017): un passage paracellulaire, un passage transcellulaire ou en se servant d'une cellule immunitaire comme cheval de Troie (Lachenmaier et al., 2011), notamment les monocytes et les DCs (Courret et al., 2006; Lambert et al., 2006) (Figure 17). Etant le plus vraisemblable, le passage transcellulaire consiste à la réplication du parasite dans les cellules endothéliales et la lyse de ces cellules avant l'invasion du SNC (Konradt et al., 2016).

La pénétration du parasite dans le cerveau induit la production rapide de cytokines (Wilson and Hunter, 2004) suite à l'activation précoce des astrocytes (Hunter et al., 1992), l'un des premiers signes d'une infection cérébrale par *T. gondii* (Wilson and Hunter, 2004).

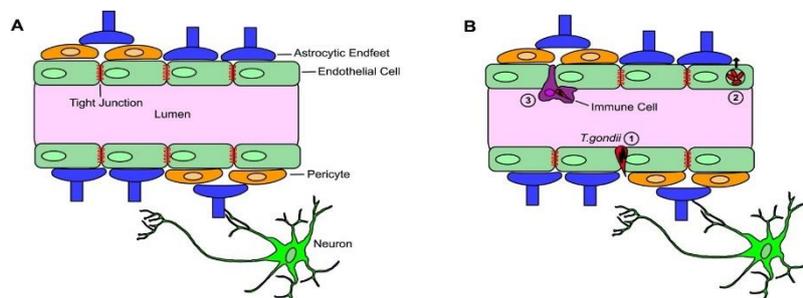


Figure 15 : **Schéma des interactions physiques et cellulaires qui composent la barrière hémato-encéphalique** (Mendez and Koshy, 2017) **A-** La barrière hémato-encéphalique (BBB) est composée de microvaisseaux entourés d'une couche de cellules endothéliales à jonctions serrées; les péricytes entourent les jonctions serrées, puis les processus astrocytaires ou les pieds d'extrémité fournissent la couche finale. **B-** *T. gondii* pourrait traverser la BBB par 3 mécanismes. (1) Entrée paracellulaire, par laquelle *T. gondii* migre directement à travers les jonctions serrées de la couche de cellules endothéliales, (2) Entrée transcellulaire, par laquelle des parasites libres dans le compartiment vasculaire infectent les cellules endothéliales, s'y répliquent au sein de la VP, puis sortent de la cellule endothéliale (lyse de la cellule hôte), (3) la méthode du «cheval de Troie», par laquelle une cellule immunitaire infectée s'infiltrer dans le SNC, après quoi le parasite sort de la cellule immunitaire et pénètre dans le parenchyme cérébral.

Une fois entrés dans le SNC, les tachyzoïtes infectent une multitude de cellules dont les microglies, les neurones (Blanchard et al., 2015) et les astrocytes (Hidano et al.,

---

2016) avec une infection plus efficace (Fagard et al., 1999; Lüder et al., 1999) et prédominante (Bjerkås, 1990; Halonen et al., 1996; Hulínská et al., 1990) des astrocytes par rapport aux neurones et aux microglies (Figure 16). Les microglies, sont un type de cellules gliales, qui représentent 10 à 15% des cellules du parenchyme cérébral (Orihuela et al., 2016), et qui jouent un rôle clé dans l'élimination des tachyzoïtes, notamment par la production de NO (Hwang et al., 2018). Les astrocytes quant à eux, sont la population cellulaire la plus abondante dans le cerveau, représentant jusqu'à 40% du total des cellules. Elles sont principalement impliquées dans l'homéostasie cérébrale, le maintien de l'intégrité de la BBB, l'immunité innée cérébrale notamment via la présentation antigénique, mais également dans la neuromodulation par la sécrétion de molécules neurotrophiques telles que le facteur de croissance nerveuse (NGF), le facteur de croissance dérivé glial (GDGF), et le facteur neurotrophique ciliaire (CNTF) (Minagar *et al.*, 2002 ; Farina *et al.*, 2007).

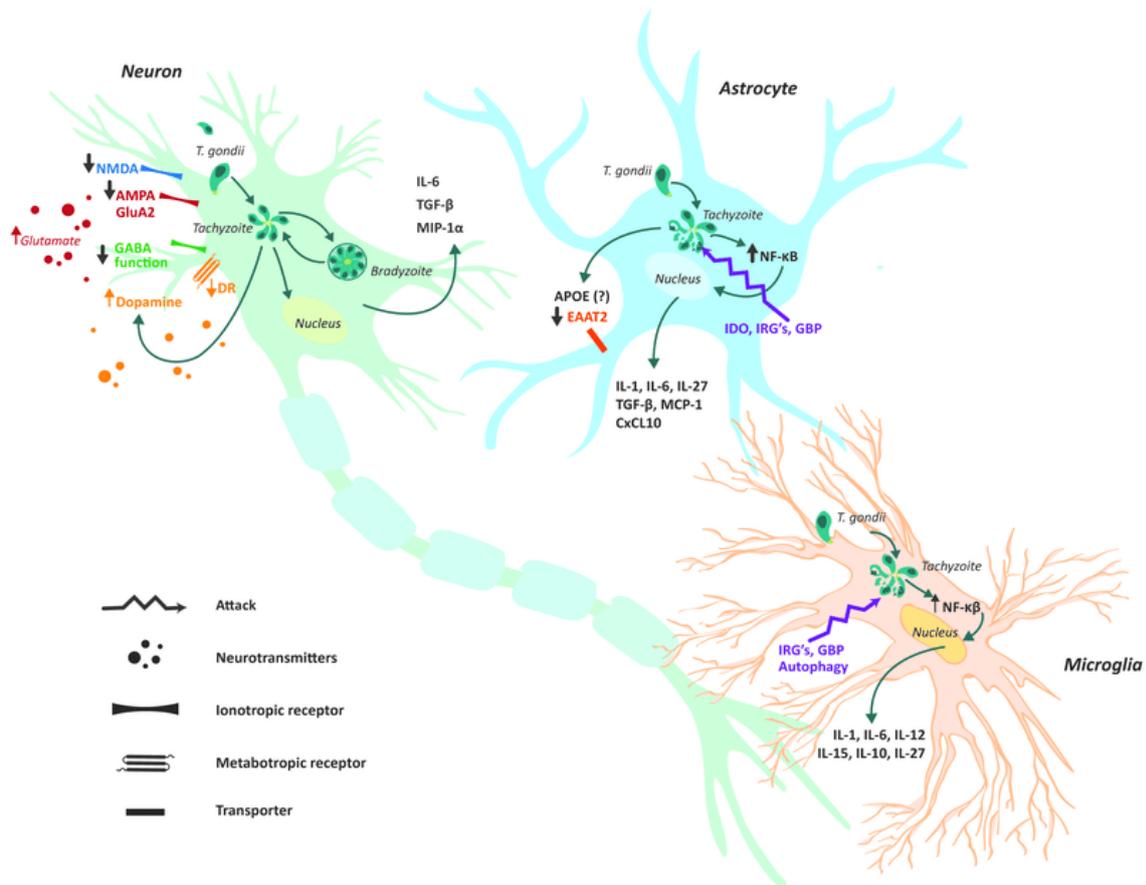


Figure 16 : **Cellules du système nerveux central et infection par *T. gondii*** (Ortiz-Guerrero et al., 2020). Les tachyzoïtes de *T. gondii* peuvent pénétrer dans les astrocytes, les microglies et les neurones. La présence de *T. gondii* induit des changements fonctionnels dans ces cellules qui favorisent la libération de cytokines anti- et pro-inflammatoires et altèrent la gliotransmission et la neurotransmission. Les neurones n'ont pas de système de défense efficace contre le parasite, par conséquent, facilitant la conversion des tachyzoïtes en bradyzoïtes et l'établissement de l'infection chronique. En revanche, les astrocytes et les microglies activés par l' $\text{IFN}\gamma$  induisent différents mécanismes de défense permettant l'élimination rapide des tachyzoïtes. Abréviations: récepteur d'acide alpha-amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionique (AMPA); Apolipoprotéine E (APOE); Chimioquinine 10 à motif C-X-C (CXCL10); transporteur d'acides aminés excitateur (EAAT); acide gamma -aminobutyrique (GABA); protéine de liaison au guanylate (GBP); les GTPases liées à l'immunité (IRG); indoléamine 2,3-dioxygénase (INO); Interleukine (IL); protéine chimioattractante monocyte 1 (MCP-1); Protéines inflammatoires des macrophages 1 alpha (MIP-1); facteur de transcription nucléaire kappa B (NF- $\kappa$ B); Facteur de croissance transformant bêta (TGF- $\beta$ ).

La stimulation des astrocytes et microglies par l' $\text{IFN}\gamma$  induit l'activation de l'enzyme IDO qui dégrade le tryptophane, un acide-aminé essentiel à la réplication du parasite (Blanchard et al., 2015; Däubener et al., 1996). De plus l'infection des astrocytes par *T. gondii* entraîne la phosphorylation de STAT1, phénomène renforcé par la présence d' $\text{IFN}\gamma$  (Hidano et al., 2016). La phosphorylation de STAT1 induit le recrutement des IRGs au niveau de la vacuole parasitophore afin d'éliminer le parasite (Hidano et al.,

2016), diminuant ainsi la charge parasitaire au niveau du cerveau (Hidano et al., 2016) et empêchant l'enkystement du parasite au sein de ces types cellulaires (Hidano et al., 2016).

Les astrocytes stimulés par l'IFN $\gamma$  sécrètent également CXCL10 (Hidano et al., 2016), MCP-1 et IP-10 (Strack et al., 2002b), des chimiokines impliquées dans l'attraction des monocytes et cellules T activées dans le cerveau. En effet, l'infection de souris qui n'expriment pas l'IFN $\gamma$  est corrélée à la réduction des niveaux de ces chimiokines et une baisse significative du nombre de cellules T intracérébrales (Strack et al., 2002a).

Activés par l'IFN $\gamma$ , les astrocytes augmentent également l'expression de la GFAP, un constituant des filaments intermédiaires, qui forment une barrière physique limitant les lésions tissulaires et permettant d'isoler les zones de réplication empêchant ainsi la propagation du parasite (Hidano et al., 2016). Par ailleurs, les astrocytes ainsi que les neurones produisent après stimulation de gp130, le récepteur à l'IL-6, le TGF- $\beta$ . Cette cytokine anti-inflammatoire réduit l'infiltration des leucocytes dans le cerveau réduisant ainsi la production des cytokines pro-inflammatoires et les lésions neuronales (Cekanaviciute et al., 2014; Drögemüller et al., 2008). Ainsi, la délétion du gène codant pour gp130 spécifiquement dans les astrocytes est corrélé à une apoptose des astrocytes et des neurones, et à une hyper-inflammation du SNC aboutissant à la mort rapide de hôte (Drögemüller et al., 2008).

Les parasites se convertissent en bradyzoïtes formant des kystes intraneuronaux (Blanchard et al., 2015). Cette préférence pour les neurones a été à l'origine identifiée par Ferguson et Hutchison (Ferguson and Hutchison, 1987) et confirmée par d'autres (Cabral et al., 2016; Haroon et al., 2012). Les mécanismes induisant la persistance du parasite dans les neurones restent encore peu élucidés (Schlüter and Barragan, 2019). Cependant l'un des facteurs favorisant cet enkystement spécifique aux neurones pourrait être lié à leur capacité limitée à présenter des antigènes parasitaires sur les molécules du CMH-I. En effet, les neurones hébergeant des kystes expriment des niveaux réduits de CMH-I (Schaeffer et al., 2009) échappant ainsi à leur élimination par les LT CD8+ à travers la sécrétion de la perforine (Suzuki et al., 2011). Relatif à cet aspect, il a été récemment montré que les kystes ne présentent pas d'antigènes parasitaires sur le CMH-I au contraire des tachyzoïtes (Salvioni et al., 2019). L'échappement précoce à l'élimination par les LT CD8+ combiné à certains paramètres intrinsèques spécifiques du neurone (cycle cellulaire, métabolisme du

glucose) favoriserait donc la conversion rapide des tachyzoïtes en bradyzoïtes et la persistance des kystes au sein des neurones. Un facteur qui pourrait également favoriser la persistance du parasite au sein du neurone serait la faible capacité des neurones à induire les défenses intrinsèques cellulaires (IRG, GBP, IDO) suite à leur stimulation par l'IFN $\gamma$  au contraire des microglies et astrocytes.

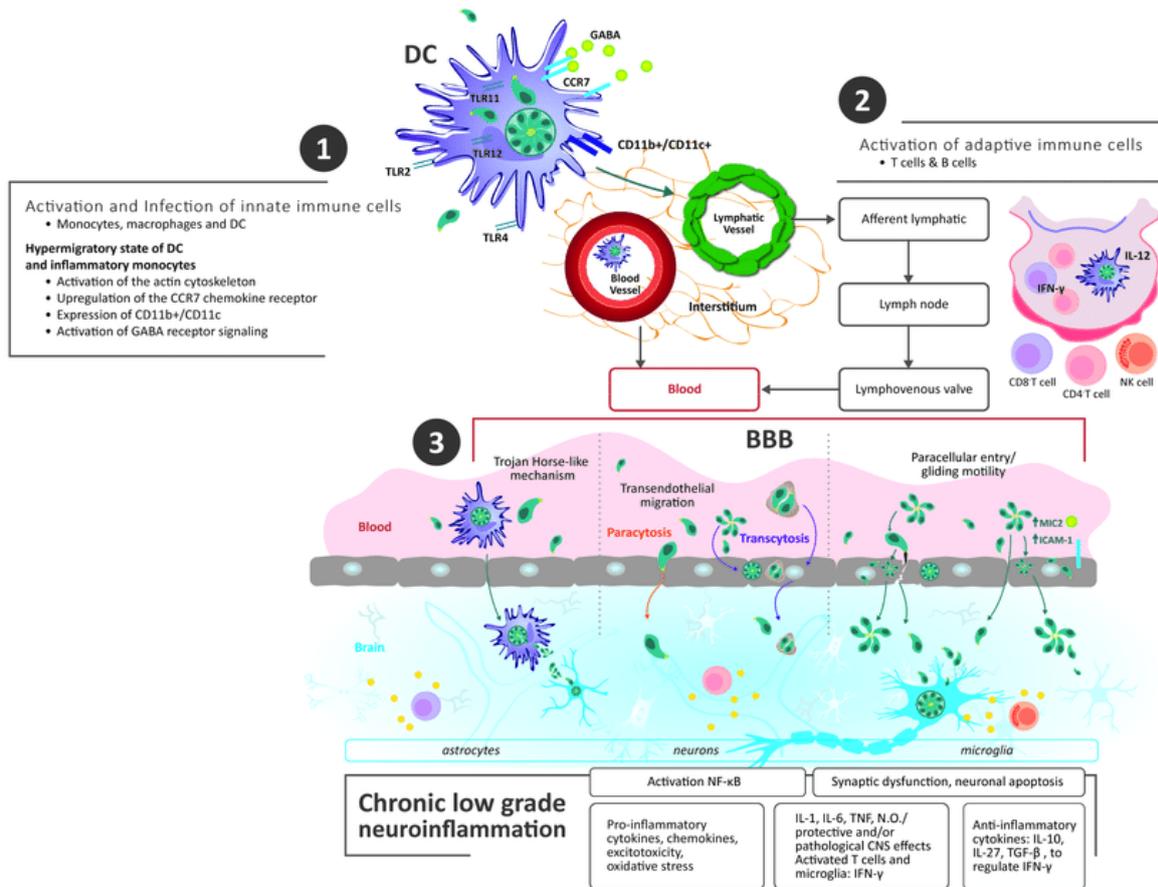


Figure 17: **Transmission et dissémination des parasites dans le cerveau** (Ortiz-Guerrero et al., 2020). (1) Après pénétration du parasite (ingestion de kystes ou oocystes) dans le tissu intestinal de l'hôte, les cellules immunitaires innées sont infectées et activées. Ces cellules migrent rapidement et se propagent de manière hématogène, atteignant les ganglions lymphatiques et les tissus périphériques, tels que le cerveau. (2) Les cellules immunitaires adaptatives (cellules T et B) sont stimulées par les cellules présentatrices d'antigènes (DC et macrophages) dans les ganglions lymphatiques. De la même manière, ces cellules migrent et se propagent dans le sang et pénètrent dans le cerveau. (3) Mécanismes de transfert du parasite du sang au cerveau: I - Par le biais de cellules immunitaires infectées: mécanisme de diapedèse / cheval de Troie. Les leucocytes et les DC infectées traversent la BBB après modification des jonctions serrées; II - Entrée directe des tachyzoïtes / pénétration de la BBB: (a) Paracytose (par les jonctions intercellulaires), (b) Transcytose (transport par vésicules), (c) Entrée paracellulaire (sécrétion de la protéine micronème 2 (MIC2) du parasite / interaction avec la molécule d'adhésion intercellulaire 1 de la cellule hôte (ICAM-1), motilité parasitaire par glissement et pénétration par formation de la VP. Abréviations: barrière hémato-encéphalique (BBB); Récepteur de chimiokine C-C de type 7 (CCR7); Cluster de différenciation (CD); Système nerveux central (SNC); Cellules dendritiques (DC); acide gamma-aminobutyrique (GABA); Molécule d'adhésion intercellulaire 1 (ICAM-1); Interleukine (IL); Interféron gamma (IFN $\gamma$ ); Protéine chimio-attractrice des monocytes-1 (MCP-1); Micronème protéine 2 (MIC2); Natural Killer (NK); Oxyde nitrique (N.O); facteur de transcription nucléaire kappa B (NF-κB); Facteur de croissance transformant bêta (TGF-β); Récepteur de type Toll (TLR); Facteur de nécrose tumorale (TNF).

## 3 La voie des kynurénines

### 3.1 Généralités

Le tryptophane (Trp) est un acide aminé indispensable étant notamment un substrat pour la synthèse de la mélatonine et de la sérotonine (Lovelace et al., 2016). La voie des kynurénines (Badawy, 2017) (KP : Kynurenine pathway) est également une des voies majeures du métabolisme du Trp à la fois dans le SNC et la périphérie (Lovelace et al., 2016). Elle assure ainsi la génération d'énergie (ATP) et limite le vieillissement cellulaire en dégradant environ 90% du Trp alimentaire en NAD<sup>+</sup>, un cofacteur anti-oxydant essentiel à la survie cellulaire (Badawy, 2017). La première étape de la voie KP (Figure 19) induit la conversion du Trp en N-formyl-L-kynurénine par les enzymes indoleamine 2,3-dioxygénase (IDO-1 / IDO-2) et tryptophane 2,3-dioxygénase 2 (TDO) (Lovelace et al., 2016). Cette dernière est fortement exprimée dans le foie; cependant, elle est également exprimée à des niveaux inférieurs dans les neurones, les astrocytes et les cellules endothéliales (Guillemin et al., 2007; Platten et al., 2014). IDO-1 est l'enzyme majoritairement exprimée dans de nombreux types cellulaires, en particulier les cellules immunitaires (monocytes, macrophages, microglies, astrocytes), et les neurones. IDO-2 pourrait avoir une fonction redondante à IDO-1 et est exprimée de manière basale dans une gamme étroite de types cellulaires (Ball et al., 2007). La N-formyl-L-kynurénine est ensuite métabolisée par la formamidase en L-kynurénine (KYN). Dans le CNS, le KYN est produit localement à hauteur de 40%, tandis que 60% proviennent de la périphérie (Vécsei et al., 2013; Zádor et al., 2019). Il constitue un métabolite central de la voie KP étant le substrat commun de trois voies distinctes générant différents métabolites neuro-actifs: l'acide kynurénique (KYNA), le 3 hydroxykynurénine (3-HK) pouvant induire une apoptose neuronale (Badawy, 2017; Kindler et al., 2019), et l'acide quinolinique (QUIN).

Le KYNA produit dans les astrocytes à partir de la kynurénine par les enzymes kynurenine aminotransférases (KATs) (Figure 18), est un antagoniste à large spectre des récepteurs du glutamate, inhibant les trois récepteurs ionotropes - N-méthyl-D-aspartate (NMDA), kainate et AMPA. Le maintien de niveaux physiologiques du KYNA assure un environnement neuroprotecteur basal dans le cerveau (Parrott and O'Connor, 2015) et évite ainsi des dommages neuronaux excitotoxiques. Cependant une élévation des niveaux de KYNA peut devenir pathologique et entraîner un

---

disfonctionnement neuronal, comme observé chez les patients schizophrènes (Kegel et al., 2014). En plus de son rôle sur les récepteurs NMDA, il a été démontré que le KYNA agit également comme un agoniste endogène du récepteur arylhydrocarboné (AhR) (Wirthgen et al., 2018) (Figure 18), suggérant un rôle potentiel dans la régulation des réponses inflammatoires. Notamment, la libération d'IL-6 par les astrocytes est augmentée par le KYNA suite à l'activation d'AhR (Hopper et al., 2012). Le KYNA pourrait également fonctionner comme un antagoniste des récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine (7nAChR) (Hilmas et al., 2001) en réduisant la libération présynaptiques du glutamate, cependant ce rôle est encore débattu (Dobelis et al., 2012). Le KYNA joue aussi un rôle protecteur en réduisant l'expression de gènes pro-apoptotiques de la famille Bcl2, protégeant ainsi contre la mort cellulaire (Lee et al., 2008). Le KYNA protège donc contre les effets excitotoxiques et apoptotiques.

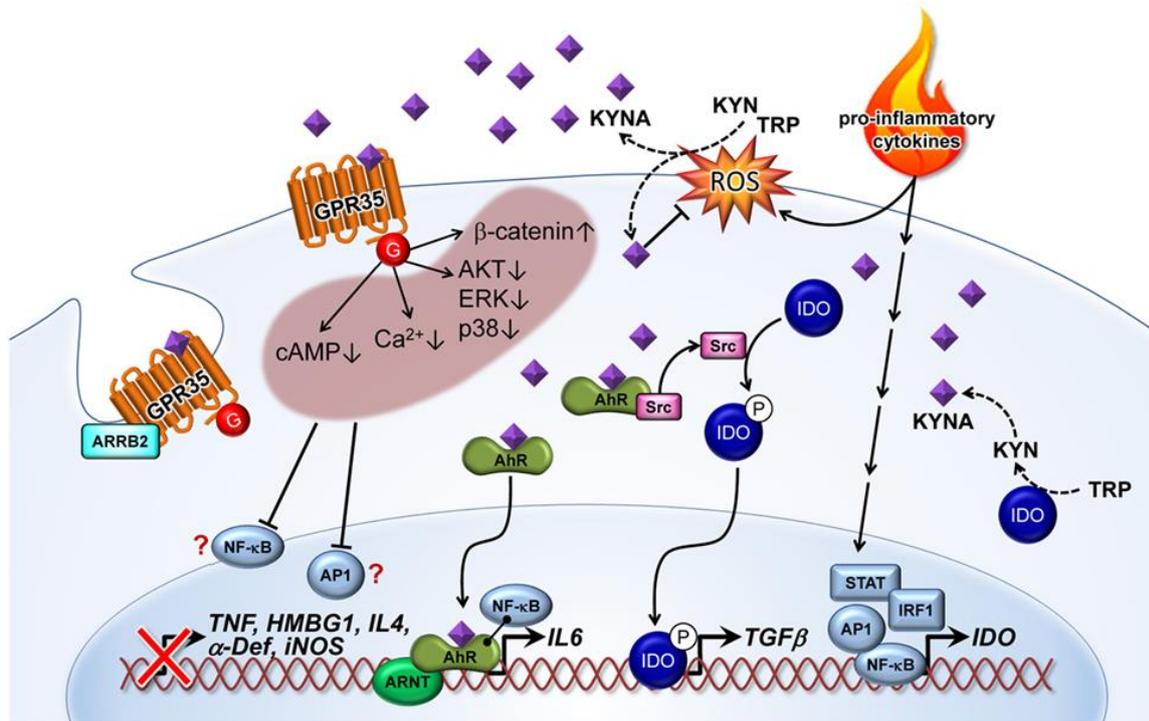


Figure 18: **Voies de signalisation induites par l'acide kynurénique (KYNA)** (Wirthgen et al., 2018). Les cytokines pro-inflammatoires induisent l'expression de l'enzyme indolamine (IDO) via l'activation des facteurs de transcription STAT, AP1, IRF1 et NF- $\kappa$ B. Le KYNA est formé par la voie canonique dépendante de l'IDO ou par une voie alternative par transformation directe de la kynurénine (KYN) après activation par des espèces réactives de l'oxygène (ROS). D'autre part, le KYNA en tant que piègeur de radicaux libres diminue le niveau de ROS. Le KYNA se lie et active le récepteur couplé aux protéines G 35 (GPR35) réduisant les taux d'AMPc et de calcium ( $Ca^{2+}$ ) dans les cellules. L'activation de GPR35 par le KYNA peut également inhiber la phosphorylation de la protéine kinase B (AKT), de la kinase extracellulaire (ERK) et de la protéine kinase activée par mitogène p38 (p38), ainsi que l'augmentation du niveau de  $\beta$ -caténine. Toutes ces réponses cellulaires diminuent probablement l'activation des facteurs de transcription inflammatoires, tels que NF- $\kappa$ B et AP1. Par conséquent, une induction réduite du facteur de nécrose tumorale  $\alpha$  (TNF), de la zone de groupe à haute mobilité 1 (HMBG1), de l'interleukine 4 (IL-4), de la défensine  $\alpha$  ( $\alpha$ -Def) et de la synthase inductible de l'oxyde nitrique (iNOS) a été observée comme réponse au traitement par le KYNA. Le recrutement de l'arrestine  $\beta$ 2 (ARRB2) par GPR35 est nécessaire pour l'internalisation et la désensibilisation du récepteur activé par le KYNA. La liaison de KYNA au récepteur d'hydrocarbure aryle (AhR) conduit au recrutement du translocateur nucléaire AHR (ARNT) et à l'induction de l'expression d'IL-6. L'interaction du complexe KYNA – AhR avec NF- $\kappa$ B peut également être impliquée dans l'induction d'IL-6. En outre, AhR activé par un ligand initie l'activation du proto-oncogène tyrosine-protéine kinase Src et, par conséquent, la phosphorylation (P) de IDO. IDO phosphorylée induit l'expression du facteur de croissance transformant  $\beta$ 1 (TGF $\beta$ ). NF- $\kappa$ B, facteur de transcription nucléaire kappa B; AP1, protéine activatrice 1; STAT, transducteur de signal et activateur de transcription; IRF, facteur de régulation de l'interféron; G, protéine G. (Wirthgen et al., 2018)

Contrairement au KYNA, le QUIN principalement produit par les cellules microgliales à partir de la kynurénine par l'enzyme régulatrice kynurénine 3-monooxygénase (KMO), est un puissant agoniste des NMDAR (Guillemin, 2012). KMO est une enzyme dépendante du FAD qui catalyse la 3-hydroxylation de la l-kynurénine en présence de NADPH et d'oxygène moléculaire. KMO se localise au niveau de la membrane externe des mitochondries et est fortement exprimée dans les tissus périphériques, y compris le foie et les reins, et dans les cellules phagocytaires tels que les macrophages et les monocytes (De Castro et al., 1957; Heyes et al., 1992). Dans le système nerveux central, KMO est exprimé principalement dans les cellules microgliales (Giorgini et al., 2008; Guillemin et al., 2001). Son activité est stimulée à la fois dans la périphérie et dans le cerveau par les cytokines pro-inflammatoires telles que l'IFN $\gamma$  et l'IL-1 $\beta$ , lorsque le système immunitaire est activé (Alberati-Giani et al., 1996; Connor et al., 2008).

Dans les conditions basales, le métabolisme de la kynurénine favorise la formation de KYNA dans le cerveau; cependant, les perturbations de l'homéostasie (par exemple lors d'une inflammation) peuvent déplacer l'équilibre vers une production accrue de QUIN. De par sa capacité à stimuler la signalisation glutamatergique excitatrice, des concentrations extra-physiologiques de QUIN peuvent entraîner une mort neuronale, des lésions tissulaires et des convulsions (Teixeira and Bauer, 2019). Il est à noter que certaines zones de l'hippocampe et du striatum semblent plus sensibles à l'excitotoxicité du QUIN (St'astný et al., 2000). Par ailleurs, la neurotoxicité du QUIN est également attribuée à la génération d'espèces réactives de l'oxygène et à la peroxydation lipidique (Santamaría et al., 2001). Comme KMO est positionnée à une jonction pivot dans la régulation de la production des métabolites KYNA *versus* QUIN, les changements d'expression ou d'activité de KMO peuvent contribuer au développement de neuropathologies (Giorgini et al., 2013). Au contraire des monocytes, macrophages et microglies, les astrocytes expriment à de faibles niveaux KMO et en cela sont les cellules qui produisent majoritairement le KYNA dans le CNS lors de l'activation de la voie KP.

Le QUIN peut également induire la libération du glutamate par les neurones, inhiber son absorption par les astrocytes et inhiber la glutamine synthétase entraînant des concentrations excessives de glutamate dans le microenvironnement et ainsi à une neurotoxicité (Guillemin, 2012). De plus, le QUIN peut entraîner une neurotoxicité par peroxydation lipidique. En effet, une étude a montré que le QUIN forme un complexe

---

avec le fer, et le transfert d'électrons de ce complexe vers l'oxygène entraîne la formation d'espèces réactives de l'oxygène qui induisent ensuite la peroxydation lipidique (Guillemin, 2012). Les complexes QUIN/Fe présentent donc des caractéristiques pro-oxydantes importantes qui pourraient avoir des implications pour la neurotoxicité (Guillemin, 2012). D'autre part, des études menées sur le cerveau de rats perfusés avec le bleu de trypan, ont montré que le QUIN est capable de perturber l'intégrité de la BBB (Reynolds and Morton, 1998). De plus, le QUIN peut augmenter la phosphorylation de certaines protéines structurales des astrocytes et des neurones conduisant à la déstabilisation du cytosquelette (Pierozan et al., 2010). En relation avec ce processus, il a été démontré que le QUIN, à des concentrations physiopathologiques, augmente la phosphorylation de la protéine Tau de manière dose-dépendante dans des cultures primaires de neurones humains et co-localise avec la protéine Tau hyperphosphorylée dans les neurones corticaux de cerveaux humains issus de patients atteints de la maladie d'Alzheimer (Guillemin, 2012). En outre, l'étude du rôle de QUIN sur l'autophagie dans les astrocytes et les neurones primaires humains a montré que l'augmentation du QUIN est corrélée à une augmentation de l'expression de la cathepsine D, une protéase aspartique lysosomale et diminue l'expression de la Beclin-1, une protéine suppresseur de tumeur (Braidy et al., 2014). Finalement, le QUIN est catabolisé par l'enzyme quinolinate phosphoribosyltransférase (QPRT) avec comme produit final le coenzyme NAD<sup>+</sup> (Badawy, 2017; Lovelace et al., 2016) qui joue un rôle critique dans de nombreux processus biologiques fondamentaux, incluant les réactions redox nécessaires à la fonction mitochondriale (Schwarcz et al., 2012)

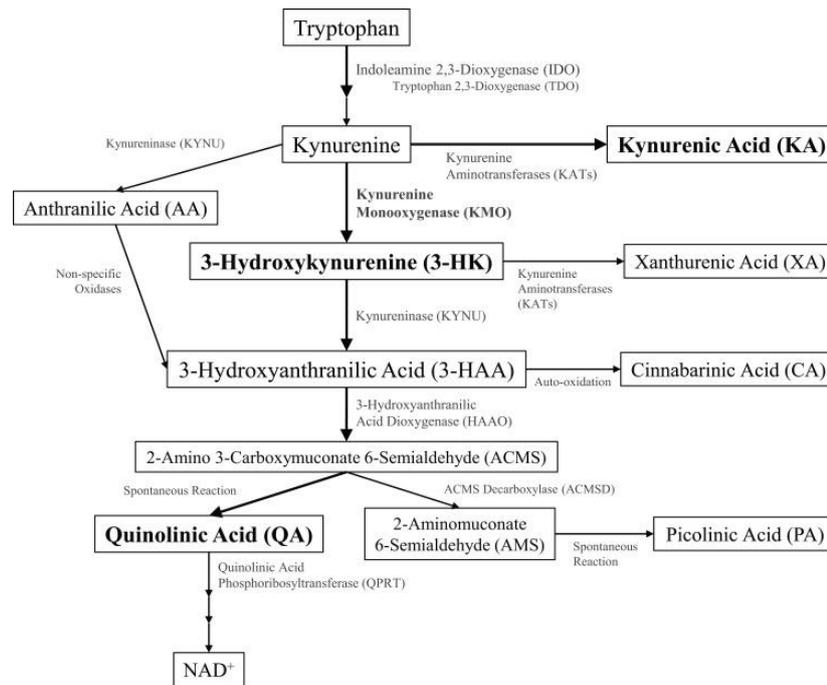


Figure 19: **Schéma du métabolisme de la voie de la kynurénine** (Parrott and O'Connor, 2015). Les métabolites de la kynurénine (à l'intérieur des boîtes) et les enzymes qui les métabolisent (le long des flèches) sont illustrés.

### 3.2 La voie des Kynurénines et l'inflammation

Dans des conditions physiologiques normales, une grande partie de la kynurénine qui est convertie en QUIN et KYNA dans le cerveau, provient de sources périphériques (Kita et al., 2002). À la suite d'une inflammation systémique, entraînant une augmentation de l'expression d'IDO (Macchiarulo et al., 2009; Moreau et al., 2008), la kynurénine augmentée au sein du SNC provient de la périphérie. Cependant, lors d'un processus neuro-inflammatoire direct, 98% de la kynurénine qui est métabolisé dans le cerveau, provient de la production locale par les astrocytes et microglies (Kita et al., 2002). En effet, l'inflammation liée à la dégénérescence du système nerveux central ou à une infection peut induire la voie des KP résultant en la production de métabolites neuro-actifs (Lovelace et al., 2016). En particulier, la cytokine pro-inflammatoire IFN $\gamma$  (Babcock and Carlin, 2000; Hassanain et al., 1993) (ainsi que les inducteurs de l'IFN $\gamma$  comme le LPS, l'IL-1 $\beta$  ou les infections virales) induit l'expression de IDO-1 (Figure 20) via l'activation du facteur de transcription STAT1 (Krause et al., 2006). Cette induction peut être également potentialisée via l'action synergique d'autres cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF- $\alpha$ , l'IL-6 et l'IL-1 $\beta$  (Lovelace et

al., 2016). Outre l'induction de IDO-1, l' $\text{IFN}\gamma$  augmente *in vitro* les niveaux de KMO notamment dans les macrophages et les microglies activés mais aussi dans les microglies du cortex cérébral des macaques, plus particulièrement ceux qui présentent une inflammation locale et une encéphalite (Heyes et al., 1998). De plus, il a été montré que le traitement par l'IL-1 $\beta$  augmente également les niveaux de transcription de KMO dans une ligné cellulaire multipotente (HPC03A / 07) de l'hippocampe humain (Zunzain et al., 2012). Ainsi, dans un contexte inflammatoire, l'augmentation des niveaux de 3-HK et QUIN dans le cerveau l'emporte sur l'élévation de KYNA. Cette augmentation des métabolites neurotoxiques suggère que la kynurénine produite localement est préférentiellement dégradée dans les cellules microgliales activées et les macrophages et est moins disponible pour la séquestration de KYNA dans les astrocytes. Ainsi, les troubles cognitifs liés à des conditions neuro-inflammatoires peuvent être partiellement liés à la modulation de la voie KP par les microglies et les astrocytes entraînant la libération de composés neuro-actifs. De manière intéressante, le vieillissement est également associé à une augmentation du rapport QUIN/KYNA (Tanaka et al., 2020), indiquant que la modulation du KP est essentielle pour maintenir l'homéostasie cérébrale.

Relatif à cet aspect, la voie KP est impliquée dans plusieurs maladies neurologiques, en particulier la schizophrénie (détaillée dans le chapitre 4.8) et la maladie d'Alzheimer. Ici sera détaillé le cas de la maladie d'Alzheimer comme exemple de l'impact de la voie KP sur les troubles cognitifs et comportementaux.

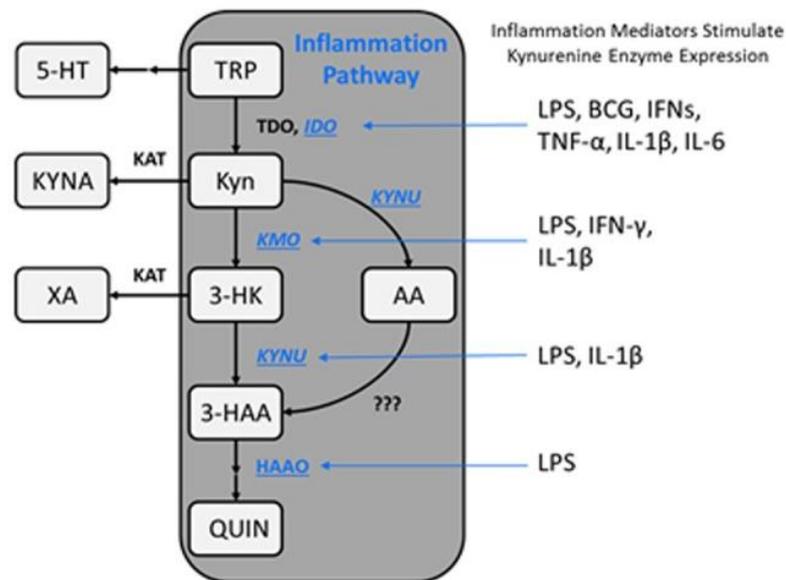


Figure 20 : **Activation de la voie KP dans un contexte inflammatoire** (Campbell et al., 2014). La voie KP est régulée par une variété de médiateurs pro-inflammatoires qui ont un impact sur les niveaux d'expression d'enzymes clés, modifiant ainsi la disponibilité du substrat et la formation de certains métabolites. Notamment, les enzymes IDO et KMO sont activées sous conditions pathologiques liées à une inflammation locale. TRP, tryptophane; 5-HT, sérotonine; Kyn, kynurénine; KYNA, acide kynurénique; 3-HK, 3-hydroxykynurénine; AA, acide anthranilique; XA, acide xanthurénique; Acide 3-HAA, 3-hydroxyanthranilique; QUIN, acide quinolinique; IDO, indoléamine-2,3-dioxygénase; KAT, kynurénine aminotransférase; KMO, kynurénine 3-monooxygénase; KYNU, kynuréninase; HAAO, acide 3-hydroxyanthranilic oxydase; LPS, lipopolysaccharide; BCG, bacille de Calmette-Guérin; IFN, interférons; TNF, facteur de nécrose tumorale; IL, interleukine.

### 3.3 La voie des kynurénines et la maladie d'Alzheimer

La maladie d'Alzheimer (MA) est un trouble neurodégénératif complexe et évolutif qui représente un problème majeur de santé publique dans le monde (Cornutiu, 2015). Elle touche plus de 50 millions de personnes dans le monde (Hodson, 2018) avec une prévalence augmentant considérablement entre 65 et 85 ans (Raji et al., 2009). Les principales caractéristiques physiopathologiques de la MA sont l'accumulation dans le cerveau de peptides amyloïde- $\beta$  ( $A\beta$ ) formant des plaques neuritiques extracellulaires, et de la protéine tau hyperphosphorylée formant des enchevêtrements neurofibrillaires intracellulaires, ces derniers étant corrélés à la neuro-dégénérescence et à la progression des troubles cognitifs (González-Sánchez et al., 2020). De plus, la neuro-inflammation semble contribuer de manière prépondérante à la physiopathologie de

la MA et au développement de symptômes cliniques (Heneka et al., 2015). Ce phénomène neuro-inflammatoire est corrélé à l'activation des astrocytes et cellules microgliales (Querfurth and LaFerla, 2010), à l'augmentation de la migration des cellules immunitaires périphériques vers le CNS (notamment les lymphocytes T CD8+) et à des niveaux accrus de certaines chimiokines et cytokines pro-inflammatoires (Heneka et al., 2015; Sokolowski and Mandell, 2011). L'activation des astrocytes et microglies est corrélée à l'induction de la voie KP. En effet, dans le sérum des patients atteints de la MA, les niveaux de Trp sont réduits tandis que le ratio kynurénine / tryptophane (K / T) est élevé (Widner et al., 1999). De plus, il a été démontré que l'immunoréactivité du QUIN est augmentée dans les cellules gliales à proximité immédiate des plaques amyloïdes et marque également les enchevêtrements neurofibrillaires dans les neurones (G. J. Guillemin et al., 2005). Conformément à ce dernier, le QUIN a été montré comme favorisant la phosphorylation de Tau dans les neurones humains primaires en culture (Rahman et al., 2009) et pourrait ainsi favoriser une boucle pro-inflammatoire délétère puisque les protéines Tau hyperphosphorylées induisent l'inflammasome dans les cellules microgliales (Stancu et al., 2019). Une autre étude a démontré que les niveaux de KYNA sont réduits dans le sérum et le liquide céphalo-rachidien des patients atteints de la MA alors que les niveaux de QUIN sont élevés (Gulaj et al., 2010), ceci étant corrélé à une augmentation de l'expression des enzymes IDO et KMO dans le cerveau des patients atteints de la MA. Plus important encore, l'inactivation de KMO par l'inhibiteur spécifique JM6 réduit la perte synaptique et l'altération de la mémoire spatiale dans les modèles animaux de la MA (Zwilling et al., 2011). En corrélation avec l'activation de la voie KP dans la MA, il a été démontré que l'expression d'IDO-1 est augmentée dans les hippocampes des patients AD (G. J. Guillemin et al., 2005; Wu et al., 2013). De manière similaire au QUIN, une immunoréactivité pour IDO-1 a été observée et associée aux agrégats de la protéine Tau et aux peptides A $\beta$  (Bonda et al., 2010), avec une localisation spécifique de IDO-1 en conjonction avec des enchevêtrements neurofibrillaires (Bonda et al., 2010).

En conclusion, l'activation de la voie KP pourrait favoriser la neuroinflammation, l'hyperphosphorylation de la protéine Tau et la production de métabolites neurotoxiques facilitant l'apparition ou le développement des troubles cognitifs.

### 3.4 La voie des kynurénines lors des infections

L'activation de la voie KP a été observée non seulement dans les troubles neurologiques mais également lors de maladies infectieuses. La maladie la mieux étudiée dans ce contexte est probablement l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH).

En effet, il a été démontré par plusieurs groupes que les patients VIH présentent des taux sériques de Trp inférieurs à ceux des témoins sains, accompagnés d'une augmentation des niveaux de KYN dans le sérum, le liquide céphalorachidien (LCR) et le tissu cérébral (Chen and Guillemin, 2009). De manière intéressante, une étude a révélé que le rapport KYN / TRP élevé pouvait prédire l'apparition des troubles pathologiques chez les patients infectés par le VIH, en distinguant les stades asymptomatiques et symptomatiques de la maladie (Huengsborg et al., 1998). De plus, les niveaux de QUIN élevés dans le sérum des patients infectés par le VIH semblent corrélés avec la progression de la maladie, comme en témoigne le fait que les niveaux de QUIN sont considérablement réduits pendant le traitement antirétroviral (Look et al., 2000). Des dérégulations de la voie KP ont également été observées chez des personnes souffrant d'autres infections virales chroniques. Par exemple, il a été observé que IDO-1 est exprimée dans le foie des patients infectés par le virus de l'hépatite B ou le virus de l'hépatite C, corrélé à une augmentation du ratio KYN / TRP et à une inflammation et une fibrose hépatique avancées (Larrea et al., 2007). Plus récemment, une augmentation de la dégradation du Trp a été observée chez des patients atteints du coronavirus SARS-COV-2 (Thomas et al., 2020). La voie des KP est également fortement induite lors d'infections bactériennes majeures telles que la tuberculose ou la septicémie bactérienne chez l'homme (Huttunen et al., 2010; Suzuki et al., 2012). Toutes les analyses ont révélé que l'ampleur de l'induction d'IDO, telle que déterminée par le rapport KYN / TRP dans le sérum, était corrélée à la gravité des symptômes pathologiques de la maladie. Par conséquent, l'induction de IDO et les changements qui l'accompagnent comme le rapport KYN / TRP et la production de QUIN ont été proposés comme marqueur de diagnostic, par ex. pour le traitement de la tuberculose (Huttunen et al., 2010; Suzuki et al., 2012).

### 3.5 La voie des kynurénines et la toxoplasmose chronique cérébrale

Chez les hôtes immunocompétents, l'infection latente cérébrale par *T. gondii* conduit à la production chronique d'IFN $\gamma$  dans le CNS. L'IFN $\gamma$  induit l'expression de IDO-1 notamment par les astrocytes, les microglies et les neurones (Gilles J. Guillemin et al., 2005) entraînant la conversion du Trp en KYN, inhibant ainsi la croissance du parasite (Dai et al., 1994; Däubener and MacKenzie, 1999; Silva et al., 2002). En accord avec un rôle de l'IFN $\gamma$  dans l'induction de la voie KP lors de l'infection par *T. gondii*, une augmentation de l'expression d'IDO-1 et du taux de KYN a été observée dans le cerveau de souris chroniquement infectées, qui est abolie dans les souris IFN- $\gamma^{-/-}$  et IRF-1 $^{-/-}$  (Fujigaki et al., 2002; Silva et al., 2002). En outre, l'infection chronique cérébrale par des souches de type II de *T. gondii* a été corrélée à une augmentation prononcée du nombre d'astrocytes et de microglies, et du taux des métabolites KP (KYN, 3-HK, QUIN et KYNA) (Notarangelo et al., 2014), suggérant que l'activation des microglies et des astrocytes suite à l'infection pourraient être responsable de la production des métabolites KP dans le cerveau, mais ceci reste à être formellement démontré. En accord avec cette hypothèse, l'administration de pyriméthamine/sulfadiazine aux souris infectées (28 jours post infection et ce durant 4 semaines) qui réduit significativement la charge parasitaire, a été corrélée à une baisse de l'inflammation dans le cerveau, de l'activation des cellules gliales et du taux des métabolites KP, par rapport aux contrôles infectés non traités (Notarangelo et al., 2014).

## 4 Schizophrénie

### 4.1 Définition

Dérivée du grec ``schizo '' (division) et ``phren '' (esprit), le terme schizophrénie a été inventé et introduit pour la première fois le 24 avril 1908 par le psychiatre suisse Eugen Bleuler (Ashok et al., 2012). Il désigne un syndrome psychiatrique caractérisé d'un côté par des symptômes psychotiques positifs tels que les hallucinations, les délires, un comportement et des paroles désorganisés, mais aussi par des symptômes négatifs tels que le manque de motivation, l'aviolition et l'alogia (Nasrallah et al., 2011) avec notamment des changements progressifs dans la pensée, l'humeur et le fonctionnement social apparaissant généralement au milieu de l'adolescence avant le premier épisode de psychose ("NIMH » Schizophrenia," n.d.). Cette dernière se manifeste généralement de la fin de l'adolescence au début de la trentaine et a tendance à apparaître plus tôt chez les hommes (fin de l'adolescence - début de la vingtaine) que chez les femmes (début de la vingtaine - début de la trentaine) ("NIMH »

Schizophrenia,” n.d.). La schizophrénie peut aussi survenir chez les jeunes enfants, néanmoins il est rare qu'elle survienne avant la fin de l'adolescence («NIMH » Schizophrenia,” n.d.).

## 4.2 Epidémiologie

Selon l’OMS, à ce jour, la schizophrénie touche plus de 23 millions de personnes dans le monde. Aussi les estimations de la prévalence des pays considérés comme les moins avancés sont significativement inférieures à celles des pays classés comme émergents ou développés (Ayano, 2016). De plus, les immigrants vers les pays développés présentent un risque plus élevé de développer la maladie et cela peut s’étendre jusqu’à leur deuxième descendance (Ayano, 2016).

Alors que les hommes et les femmes ont une prévalence similaire pour la schizophrénie, les hommes ont un seul pic d’âge de son apparition qui se situe entre 21 et 25 ans et les femmes ont deux pics d’âge d’apparition, l’un entre 25 et 30 ans et un autre après 45 ans (Li et al., 2016). Un polymorphisme génétique affectant le TGF- $\beta$  pourrait être lié à ces différences d’âge entre les patients schizophrènes masculins et féminins (Frydecka et al., 2015). En outre, les hommes atteints de schizophrénie semblent présenter plus de symptômes négatifs et des manifestations cliniques plus sévères que les femmes (Li et al., 2016), cela pouvant être dû à l’influence anti-dopaminergique des œstrogènes (Ayano, 2016). L’âge d’apparition est également associé au type de symptômes. En effet, les femmes présentant une schizophrénie tardive peuvent présenter des symptômes négatifs moins sévères et présentent plus de symptômes positifs, en particulier des hallucinations sensorielles et des délires persécuteurs (Lindamer et al., 1999).

## 4.3 Sémiologie

L’un des comportements anormaux (schizoïdes) qui précède le premier épisode psychotique est généralement le retrait social, cependant, certaines personnes peuvent ne présenter aucun symptôme («Schizophrenia | Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach, 10e | AccessPharmacy | McGraw-Hill Medical,” n.d.). Cet épisode psychotique est caractérisé par des signes et symptômes qui reflètent la «fausse réalité» créée dans l’esprit du patient («NIMH » Schizophrenia,” n.d.).

Les symptômes de la schizophrénie sont classés comme positifs, négatifs ou cognitifs. Les symptômes positifs sont les plus faciles à identifier et peuvent être classés simplement comme «des comportements psychotiques que l'on ne voit pas chez les personnes en bonne santé», ils incluent les délires, les hallucinations et les troubles de la pensée («NIMH » Schizophrenia,” n.d.).

Les symptômes négatifs comprennent la perte de motivation, le désintérêt ou le manque de plaisir dans les activités quotidiennes (anhédonie), la difficulté à planifier, commencer et maintenir une activité (avolition), le retrait social, la difficulté à montrer et à exprimer ses émotions et la difficulté à fonctionner normalement («NIMH » Schizophrenia,” n.d.).

Les symptômes cognitifs incluent des problèmes d'attention, de concentration et de mémoire. Ces symptômes sont subtils pour certaines personnes, mais pour d'autres, ils sont plus importants et interfèrent avec des activités comme le suivi des conversations, apprendre de nouvelles choses ou se souvenir de rendez-vous. Plus précisément, les individus connaissent généralement des difficultés à traiter les informations pour prendre des décisions, des problèmes d'utilisation des informations immédiatement après les avoir apprises, des difficultés à se concentrer («NIMH » Schizophrenia,” n.d.)

Les psychiatres classent souvent la schizophrénie en sous-types en fonction de l'équilibre des symptômes que manifeste un patient (Picchioni and Murray, 2007) :

- Paranoïaque :
  - Les délires ou les hallucinations sont importants
- Hébéphrénique :
  - Effet aplati ou incongru soutenu
  - Manque de comportement dirigé vers un objectif
  - Trouble de la pensée important
- Catatonique :
  - Preuve durable sur au moins deux semaines de comportement catatonique, y compris la stupeur, l'excitation, la posture et la rigidité
- Facile :

- Perte considérable de motivation personnelle
- Approfondissement progressif des symptômes négatifs
- Baisse prononcée des performances sociales, académiques ou professionnelles

## 4.4 Diagnostic de la Schizophrénie

Il existe de légères variations dans les critères diagnostiques de la schizophrénie selon le système de classification utilisé.

### ❖ Manuel Diagnostique et Statistique des Troubles Mentaux 5 (DSM-5)

(Manus, 2019):

Deux ou plusieurs des symptômes suivants doivent être présents de manière régulière au cours d'une période d'un mois :

- Délires
- Hallucinations
- Discours désorganisé
- Comportement grossièrement désorganisé ou catatonique
- Symptômes négatifs.

Il doit également y avoir un dysfonctionnement social / professionnel tandis que les signes de perturbation doivent persister pendant au moins six mois, dont au moins un mois de symptômes.

### ❖ International Classification of Diseases (ICD-10):

Le patient doit présenter au moins l'un des éléments suivants, pendant une période supérieure ou égale à un mois :

- Écho de la pensée, pensées imposées ou vol de la pensée, divulgation de la pensée.
- Idées délirantes de contrôle, d'influence ou de passivité, se rapportant clairement à des mouvements corporels ou à des pensées, actions ou sensations spécifiques, ou perception délirante.
- Hallucinations auditives dans lesquelles une ou plusieurs voix commentent en permanence le comportement du patient, ou parlent de lui ou autres

types d'hallucinations auditives dans lesquelles une ou plusieurs voix émanent d'une partie du corps.

- Autres idées délirantes persistantes, culturellement inadéquates ou invraisemblables, concernant p. ex. l'identité religieuse ou politique ou des pouvoirs surhumains (être capable de contrôler le temps, ou de communiquer avec des extraterrestres...).

Également, le patient doit présenter au moins deux des symptômes suivants pendant une période supérieure ou égale à un mois :

- Hallucinations persistantes de n'importe quel type, accompagnées soit d'idées délirantes fugaces ou à peine ébauchées, sans contenu affectif évident, soit d'idées surinvesties persistantes, ou hallucinations survenant quotidiennement pendant des semaines ou des mois d'affilée.
- Interruptions ou altération par interpolations du cours de la pensée. Rendant le discours incohérent et hors de propos, ou néologismes.
- Comportement catatonique : excitation, posture catatonique, flexibilité cireuse, négativisme, mutisme ou stupeur.
- Symptômes "négatifs": apathie importante, pauvreté du discours, émoussement affectif ou réponses affectives inadéquates (ces symptômes sont généralement responsables d'un retrait social et d'une altération des performances sociales). Il doit être clairement établi que ces symptômes ne sont pas dus à une dépression ou à un traitement neuroleptique.

De plus il est important de rechercher/connaitre les informations suivantes (Hany et al., 2020):

- Antécédents médicaux et familiaux
- Histoire sociale, y compris la consommation de drogues et d'alcool
- Toute déficience neurologique récente telle qu'une altération de la conscience ou des problèmes de mémoire, un traumatisme crânien, un accident vasculaire cérébral, des convulsions, des évanouissements, des vertiges, une déficience visuelle, des tremblements marqués ou une raideur musculaire.

- Causes organiques potentielles de psychose telles que la maladie de Parkinson, la sclérose en plaques, la syphilis, le sida, les lésions cérébrales, la toxicité des métaux lourds, le délire, les troubles métaboliques / endocriniens et les démences, notamment la maladie d'Alzheimer.

## 4.5 Etiopathogénie

L'étiologie de la schizophrénie a permis de comprendre que plusieurs facteurs sont responsables de l'établissement et du développement de la maladie notamment des facteurs génétiques (Gejman et al., 2010), neurochimiques (Carlsson, 2006) et périnatales (Jenkins, 2013). De plus, des facteurs psychologiques et socio-environnementaux peuvent augmenter le risque de schizophrénie notamment chez les migrants internationaux ou les populations urbaines des minorités ethniques (Kirkbride et al., 2010). L'augmentation de l'âge paternel est aussi associée à un risque accru de schizophrénie (Brown et al., 2002).

### 4.5.1 Facteurs génétiques

On estime que l'influence des facteurs génétiques dans la schizophrénie est de 80% (Gejman et al., 2010). En effet, une fréquence environ 10 fois plus élevée de schizophrénie est rapportée chez les parents dont les membres de la famille sont affectés par rapport aux parents des témoins normaux (Kendler and Diehl, 1993). Aussi, les études sur les jumeaux schizophrènes rapportent que 85% de ces jumeaux sont monozygotes et seulement 25% sont dizygotes (Franzek and Beckmann, 1998). De plus, la prévalence de la schizophrénie dans une étude portant sur plus de deux millions de familles suédoises a montré une fréquence et un risque de schizophrénie considérablement accrus chez les enfants adoptés issus de parents biologiques atteints de schizophrénie par rapport aux enfants adoptés issus de parents non schizophrènes (Lichtenstein et al., 2009).

Les progrès technologiques ont permis de renforcer l'importance des facteurs génétiques dans l'étiologie de la schizophrénie. Les études menées ont conduit à l'identification de plusieurs sites de liaison associés à la maladie (1q, 5q, 6p, 6q, 8p, 10p, 13q, 15q, et 22q) ainsi que des gènes d'intérêt, notamment, le récepteur nicotinique alpha-7, GRM 3, COMT, et G72 mais aussi les gènes impliqués dans le

neurodéveloppement, notamment DISC 1, NRG1 et RGS4 (Semple and Smyth, 2019). S'ajoute à cela les mutations dans les gènes DTNBP1 et NRG1 qui se sont avérées être associées à la schizophrénie (Ayano, 2016).

De manière plus récente, 108 nouveaux locus ont été identifiés dont 83 qui n'avaient pas été signalés auparavant, incluant notamment, une région codante pour le CMH (Ripke et al., 2014) et d'autres gènes impliqués dans l'immunité acquise, appuyant la théorie selon laquelle la réponse immunitaire pourrait contribuer à l'établissement de la schizophrénie (Ripke et al., 2014). De plus, au sein de ces 108 locus, des associations avec la schizophrénie ont pu être mises en évidence pour des gènes déjà connus pour leur implication dans la maladie, notamment le récepteur de la dopamine D2 (DRD2), qui est ciblé par les médicaments antipsychotiques actuels utilisés dans la pratique clinique. D'autres gènes candidats, impliqués dans la neurotransmission glutaminergique et la plasticité synaptique (tels que GRM3, GRIN2A, SRR, GRIA1), ont également été identifiés ainsi que des gènes codant pour des sous-unités de canaux calciques (CACN A1C, CACNB2 et CACNA11) (Ripke et al., 2014).

#### 4.5.2 Facteurs neurochimiques

Plusieurs neurotransmetteurs pourraient contribuer à la pathogénèse de la schizophrénie notamment la dopamine (Howes et al., 2015), le GABA (de Jonge et al., 2017), le glutamate (Howes et al., 2015) et la sérotonine (Selvaraj et al., 2014). Ces études sont basées sur la réponse des patients aux médicaments psychotropes (Howes et al., 2015). En effet, les phénothiazines qui bloquent la fonction dopaminergique, réduisent les symptômes psychotiques (Chokhawala and Stevens, 2020) contrairement aux amphétamines, qui ont tendance à augmenter la libération de la dopamine, et qui induisent des symptômes psychotiques similaires à la schizophrénie (Howes et al., 2015). De plus des études post-mortem sur des patients atteints de schizophrénie, ainsi que la mesure chez des patients schizophrènes par spectroscopie à résonance magnétique des taux de l'acide G-aminobutyrique (GABA), un régulateur de l'activité de la dopamine, ont montré des altérations des niveaux de ce neurotransmetteur, ce qui pourrait lier la voie GABAergique aux symptômes cliniques observés chez les patients schizophrènes (de Jonge et al., 2017). En effet, le dysfonctionnement de ce neurotransmetteur entraîne l'hyperactivité des neurones dopaminergiques au niveau de l'hippocampe (Perez and Lodge, 2013). En ce qui

concerne le glutamate, la physiopathologie de la schizophrénie a pu être corrélée à une faible expression des récepteur NMDA dans le cerveau post-mortem de personnes ayant reçu un diagnostic de schizophrénie (Howes et al., 2015). De plus, l'ingestion de phéncyclidine et de kétamine, des antagonistes du glutamate, entraîne un syndrome aigu similaire à la schizophrénie, en particulier des troubles cognitifs similaires (Javitt, 2007).

Par ailleurs, l'excès de sérotonine est à l'origine des symptômes négatifs chez les patients atteints de schizophrénie (Eggers, 2013; O'Connor, 1998). En effet, les antipsychotiques atypiques comme la clozapine, le risperidone et l'olanzapine bloquent à la fois les récepteurs de la dopamine et de la sérotonine et réduisent ainsi les symptômes positifs et négatifs de la schizophrénie, contrairement aux antipsychotiques typiques qui ne réduisent que les symptômes positifs de la maladie (O'Connor, 1998).

#### 4.5.3 Facteurs périnatals

Des complications obstétricales ont pu être associées à une incidence plus élevée de la survenue de la schizophrénie (Clarke et al., 2006). En effet, les complications de grossesse et de l'accouchement montrent une nette corrélation avec la schizophrénie (M. Cannon et al., 2002; Clarke et al., 2006), en particulier, des problèmes d'hypoxie à la naissance (Dalman et al., 2001; Geddes et al., 1999; Zornberg et al., 2000). De plus, l'hypoxie foétale est associée à de plus grandes anomalies structurelles cérébrales chez les patients schizophrènes, à savoir une réduction de la matière grise et de l'élargissement ventriculaire (T. D. Cannon et al., 2002), par rapport à leurs frères et sœurs non schizophrènes. Ces anomalies anatomiques, notamment la réduction du volume de l'hippocampe, pourraient agir en synergie avec des susceptibilités génétiques liées à la schizophrénie (Van Erp et al., 2002).

Un rôle de la malnutrition prénatale a été également démontré à travers des données écologiques collectées en période de famine. Les enquêteurs du Dutch Hunger Winter ont démontré une relation entre la privation nutritionnelle et la schizophrénie (Susser et al., 1996). D'autres études menées en Chine ont confirmé ces résultats (St Clair et al., 2005; Xu et al., 2009). Il existe des preuves que certaines carences en micronutriments, y compris un faible apport en homocystéine (Brown et al., 2007) et en vitamine D (McGrath, 1999) augmentent l'incidence de la schizophrénie. Une conséquence reconnue de la malnutrition est le retard de croissance du fœtus. Or, un

faible poids à la naissance et un tour de tête plus petit sont aussi des prédicteurs de la schizophrénie (M. Cannon et al., 2002).

Finalement, la schizophrénie a été corrélée à la présence de problèmes psychologiques dans la famille (Babinkostova and Stefanovski, 2011; Nuhu et al., 2016) et à des périodes de stress aigu, incluant l'exposition de la mère enceinte à la perte de son mari (Huttunen and Niskanen, 1978), à une grossesse non désirée (Myhrman et al., 1996), ou encore à la menace et à la survenue d'une guerre (Meijer, 1985; van Os and Selten, 1998). Des taux élevés d'atteinte de la schizophrénie sont également liés à la survenue d'une dépression maternelle pendant la grossesse (Jones et al., 1998).

## 4.6 Traitements

La pharmacothérapie pour la schizophrénie a changé au cours de la dernière décennie, en partie en raison de l'apparition d'une nouvelle classe de médicaments, généralement appelés atypiques, ou antipsychotiques de deuxième génération. Les antipsychotiques atypiques sont apparus dans les années 1990 (Shen, 1999) et ont montré une efficacité similaire avec moins d'effets extra-pyramidaux (Meltzer, 2013). Ces nouveaux médicaments de deuxième génération sont généralement préférés et constituent la première ligne de traitement de la schizophrénie, car ils présentent un risque plus faible d'effets secondaires graves par rapport aux médicaments conventionnels (Meltzer, 2013). Ils comprennent: l'aripiprazole, la clozapine, l'olanzapine, la quétiapine, la rispéridone, la rispéridone. La clozapine est le médicament préféré pour la prise en charge des patients schizophrènes gravement malades qui ne répondent pas adéquatement au traitement médicamenteux standard pour la schizophrénie. Cette classe de médicaments réduit aussi le risque de comportement suicidaire récurrent chez les patients schizophrènes ou de troubles schizo-affectifs (Meltzer, 2013) .

Les antipsychotiques conventionnels ou typiques sont des médicaments de première génération qui possèdent des effets secondaires neurologiques fréquents et potentiellement importants, y compris la possibilité de développer des troubles du mouvement (dyskinésie tardive) qui peuvent être réversibles ou non (Meltzer, 2013). Ce groupe de médicaments comprend: la chlorpromazine, la fluphénazine,

l'halopéridol et la thioiridazine (John M. Eisenberg Center for Clinical Decisions and Communications Science, 2005). Ces antipsychotiques sont souvent moins chers que leurs homologues plus récents, en particulier les versions génériques, ce qui peut être une considération importante lorsqu'un traitement à long terme est nécessaire. L'utilisation de cette classe de médicament a diminué au cours des dernières années, principalement en raison d'une augmentation des prescriptions d'agents de deuxième génération (Meltzer, 2013).

Les approches thérapeutiques pour traiter les symptômes positifs de la schizophrénie visent à réduire l'hyperactivité du système dopaminergique en bloquant les récepteurs de la dopamine D1 / D2 à l'aide d'agents antagonistes de première génération (typiques), la chlorpromazine et l'halopéridol (Karakuła-Juchnowicz et al., 2014; Taly, 2013; Uno and Coyle, 2019). Les antipsychotiques atypiques de deuxième génération (clozapine, quétiapine, rispéridone, olanzapine, sertindole) ciblent un spectre plus large de récepteurs (agonistes 5-HT<sub>1A</sub>, antagonistes D1 / D2, D4 et 5-HT<sub>2A / C</sub>) (Taly, 2013). Cependant, ils ont des effets négligeables sur les symptômes négatifs et cognitifs à l'exception possible de la clozapine qui rétablit l'hypofonction du récepteur N-méthyl-d-aspartate (NMDA-R) (Uno and Coyle, 2019).

Enfin, pour les patients schizophrènes non adhérents (refusant le traitement), des antipsychotiques à action prolongée sont alors utilisés (Brissos et al., 2014).

## 4.7 Schizophrénie et inflammation

La perturbation de la neurotransmission dopaminergique et glutaminergique a longtemps été au centre des recherches sur la neurobiologie de la schizophrénie. Cependant, les mécanismes moléculaires reliant cette perturbation et la maladie n'ont pas encore été élucidés, jusqu'aux 20 dernières années où plusieurs études ont noté des interactions complexes entre le système immunitaire, l'inflammation systémique et le cerveau, ouvrant ainsi des perspectives sur le lien entre l'inflammation et la schizophrénie.

Plusieurs études ont mis en évidence divers effets de l'inflammation sur la neurotransmission dopaminergique. Dans un modèle murin d'infection virale de mères gestantes, une augmentation de l'activité dopaminergique et des troubles cognitifs similaires à ceux observés chez des patients schizophrènes ont été constatés chez la

progéniture adultes suggérant que l'inflammation en période de gestation serait en lien avec la schizophrénie chez l'adulte (Ozawa et al., 2006). En outre, l'administration chronique d'IFN- $\alpha$  chez les animaux est associée à une réduction de la libération de dopamine striatale et à une anhédonie (Felger et al., 2013), un symptôme négatif caractéristique de la schizophrénie chronique (Müller and Ackenheil, 1995). Par ailleurs, des études menées dans les souris ont montré que des niveaux élevés d'IL-6 in utero provoquent des symptômes schizophréniques chez la progéniture et que ces symptômes peuvent être inversés par des anticorps anti-IL-6 (Smith et al., 2007). Encore plus intéressant, une exposition avant la naissance à des niveaux élevés de la cytokine pro-inflammatoire IL-8, augmenterait également le risque de développer ces symptômes chez cette progéniture (Brown et al., 2004). De plus, les personnes atteintes de schizophrénie présentent une diminution du volume de leur cerveau (volumes inférieurs du cingulum postérieur droit et du cortex entorhinal gauche) après une exposition prénatale à des niveaux maternels d'IL-8 plus élevés (mesurés par des dosages à partir de sérums prénataux archivés) (Ellman et al., 2010).

Par ailleurs, un profil inflammatoire élevé a été observé chez des patients schizophrènes non traités (Müller and Schwarz, 2006). En effet, des études postmortem sur le cerveau de patients schizophrènes montrent la présence de fibrine, une protéine qui est augmentée dans les processus inflammatoires (Körschenhausen et al., 1996; Wildenauer et al., 1991). De plus, deux méta-analyses ont révélé des niveaux élevés de cytokines pro-inflammatoires dans le sang périphérique et le LCR des patients atteints de schizophrénie de premier épisode et les patients en rechute par rapport aux témoins (Goldsmith et al., 2016) (Wang and Miller, 2018).

De plus, des niveaux élevés des cytokines pro-inflammatoires IFN $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 TNF- $\alpha$ , IL-12 dans le sang périphérique ont été observés chez les patients schizophrènes de premières épisodes psychotiques et sous traitement psychotique après dosage protéique des cytokines (Lesh et al., 2018; Momtazmanesh et al., 2019).

En outre, des taux plus élevés de TNF- $\alpha$  ont également été rapportés chez des patients chroniques sous antipsychotiques atypiques n'ayant pas d'inflammation majeure (Al-Hakeim et al., 2015)

Le processus inflammatoire proposé dans la physiopathologie de la schizophrénie, notamment dans la perturbation de la neurotransmission cérébrale, pourrait impliquer la voie des kynurénines, qui est induite suite à une inflammation dans le SNC.

## 4.8 La voie des kynurénines et la schizophrénie

Le lien entre la voie KP et la schizophrénie repose essentiellement sur l'observation de l'accumulation du KYNA dans le cerveau décrite dans plusieurs études (Erhardt et al., 2017, 2007; Schwarcz et al., 2012; Wu et al., 2014). En effet, des données cliniques montrent que les patients schizophrènes présentent des niveaux élevés de KYNA dans le cortex préfrontal (Schwarcz et al., 2001) et dans le liquide céphalo-rachidien (Erhardt et al., 2001). En outre, les données précliniques indiquent que cette élévation peut entraîner des changements de comportement et de neurotransmission associés à la schizophrénie, tels que des perturbations glutaminergiques, Gabaergique, cholinergiques et dopaminergiques (Zádor et al., 2019). En accord avec ces données, l'administration du PF-04859989, un inhibiteur du KAT II qui présente la capacité de franchir la BBB, réduit les taux du KYNA dans le cerveau et améliore les déficiences cognitives chez des rats mais aussi les macaques rhésus (Kozak et al., 2014). De plus, l'utilisation d'antagonistes exogènes des récepteurs NMDA tels que la phéncyclidine et la kétamine chez des volontaires sains a montré l'apparition de symptômes similaires à ceux observés chez les patients schizophrènes, qui pouvaient être reproduits par l'injection de KYNA (Erhardt et al., 2007; Myint, 2012; Myint and Kim, 2014; Olsson et al., 2012; Wonodi and Schwarcz, 2010). Le KYNA agirait par blocage excessif des récepteurs NMDA, provoquant des symptômes psychotiques positifs et des déficits cognitifs (Erhardt et al., 2017; Javitt et al., 2012; Schwarcz and Hunter, 2007).

L'augmentation des niveaux de KYNA chez les patients schizophrènes pourrait être en premier lieu le résultat de l'activation des astrocytes (Rothermundt et al., 2009), résultant de la composante inflammatoire de la schizophrénie (Plitman et al., 2017). Les niveaux de KYN dans le CSF et les régions cérébrales corticales sont également augmentés chez les patients atteints de schizophrénie (Linderholm et al., 2012; Miller et al., 2006). L'augmentation des taux du KYN pourrait aussi être liée à une inflammation (Plitman et al., 2017) qui remonte à la période prénatal du

développement neurologique, notamment l'hypertension induite par la grossesse, le diabète gestationnel maternel et l'asphyxie néonatale à la naissance. Des études menées sur des animaux notamment des souris et des rats suggèrent que cette inflammation prénatale peut modifier de façon permanente le système immunitaire chez la progéniture en entraînant une augmentation de l'inflammation à l'âge adulte (Kirkpatrick and Miller, 2013). De plus, une faible expression du gène KMO, observé dans des études postmortem de patients schizophrènes (Wonodi et al., 2011) contribuerait à détourner la voie des KP vers la production du KYNA et non pas du QUIN ou 3-HK (Kegel et al., 2014; Sathyaikumar et al., 2011; Schwarcz et al., 2001).

En accord avec un lien fonctionnel entre l'induction de la voie des KP par l'inflammation et l'établissement de la schizophrénie, une étude a suggéré que l'IL-6 qui est élevée chez les patients schizophrènes (Lee et al., 2017) activerait la voie KP aboutissant à une augmentation de la production de KYNA (Schwieler et al., 2015). De plus, comme mentionné précédemment, d'autres cytokines pro-inflammatoires, telles que l'IFN $\gamma$ , l'IL-1 $\beta$  et le TNF- $\alpha$  peuvent induire la voie KP et pourraient donc contribuer à l'augmentation de la concentration en KYN et la production de KYNA par les astrocytes.

Ainsi, outre les facteurs génétiques de prédisposition à la schizophrénie (voir chapitre 4.5.1), une inflammation du CNS pourrait induire la voie KP et contribuer à l'augmentation délétère de KYNA aboutissant aux troubles comportementaux et cognitifs associés à la schizophrénie.

## 4.9 Schizophrénie et Toxoplasmose

La diversité étiologique de la schizophrénie n'est pas limitée aux facteurs génétiques et environnementaux. En effet, ces deux dernières décennies, la recherche s'est tournée vers la composante infectieuse, notamment la toxoplasmose chronique, remettant ainsi en question son aspect asymptomatique chez les personnes immunocompétentes.

### 4.9.1 Etudes épidémiologiques

De nombreux rapports basés sur des analyses sérologiques témoignent d'une association significative entre la toxoplasmose et la schizophrénie. Notamment, une

première méta-analyse concernant cet aspect a été publiée en 2007 par l'équipe de Torrey (Torrey et al., 2007) et mise à jour par les mêmes auteurs en 2012 (Torrey et al., 2012). La première méta-analyse (Torrey et al., 2007) comprenait des rapports publiés et non publiés d'études basées sur le dosage d'anticorps anti-*T. gondii* chez des patients diagnostiqués de schizophrénie. Quarante-deux études réalisées dans 17 pays en cinq décennies ont été sélectionnées; 23 d'entre-elles (6 non publiés) répondaient aux critères de sélection. L'Odd Ratio (OR) combiné était de 2,73 (IC à 95%: 2,10 à 3,60). L'Odds Ratio est une mesure statistique qui aide à identifier la probabilité qu'une exposition conduise à un événement spécifique. En effet, plus le rapport de cotes est élevé, plus il y a de chances que l'événement se produise avec l'exposition (Tenny and Hoffman, 2020). Dans la dernière étude (Torrey et al., 2012), 15 études supplémentaires ont été ajoutées à la précédente et un OR très similaire de 2,71 (IC à 95%: 1,93-3,80) a été obtenu. De plus dans une récente enquête cas-témoins, le dosage des anticorps IgG et IgM contre *T. gondii* a été effectué chez 798 patients d'un hôpital psychiatrique public en Chine et chez 681 témoins de la population vivant au sein de la même région. Des taux significativement plus élevés d'IgG et d'IgM anti-*T. gondii* ont été trouvés chez les patients atteints de schizophrénie par rapport aux sujets sains (Chen et al., 2019). De plus, dans une étude récente en Tunisie, l'équipe de JRAD ont une séropositivité pour *T. gondii* accrue chez les patients schizophrènes (74,8%) que chez les témoins (53,8%) (Esshili et al., 2016). Dans une large étude menée au Danemark incluant 2591 patients diagnostiqués de troubles psychologiques, notamment de schizophrénie, le dosage du taux d'IgG anti-*T.gondii* a également mis en évidence une association entre la schizophrénie et la toxoplasmose avec un OR plus faible de 1,47 (IC 95%: 1,03–2,09) (Burgdorf et al., 2019). De manière intéressante, en limitant cette étude aux individus présentant une séropositivité pour *T. gondii* avant le déclenchement du premier épisode psychotique, une plus forte association est obtenue avec un risque relatif plus important (RR: 2,78; IC à 95%: 1,27–6,09) (Burgdorf et al., 2019), renforçant l'hypothèse que l'infection par *T. gondii* pourrait favoriser l'apparition de la maladie.

#### 4.9.2 Perturbation de la dopamine et du glutamate lors de l'infection

La dérégulation du niveau de certains neurotransmetteurs, notamment la dopamine, la sérotonine, le GABA et le glutamate, constitue un facteur clé dans la pathogenèse

des troubles psychiatriques de différentes maladies neurologiques (Henriquez et al., 2009). En effet, l'augmentation de la dopamine dans le cerveau est responsable des symptômes positifs dans les troubles bipolaires et la schizophrénie (Flegr, 2015; Prandovszky et al., 2011). De plus, presque tous les antipsychotiques modernes visent à diminuer la transmission dopaminergique dans le cerveau (Gardner et al., 2005), démontrant ainsi que les symptômes psychotiques sont liés aux voies dopaminergiques.

Il est à noter que le génome de *T. gondii* contient deux gènes (AAH1 et AAH2) codant pour la phénylalanine hydroxylases et la tyrosine hydroxylase. Ces enzymes métabolisent la phénylalanine en tyrosine puis la tyrosine en L-DOPA précurseur de la dopamine (Gaskell et al., 2009). Une étude a montré que le parasite exprime ces gènes au stade bradyzoïte lors de l'établissement de l'infection chronique cérébrale et l'hypothèse a été amenée que ces enzymes seraient responsables de la surproduction par les kystes neuronaux de dopamine dans le cerveau des individus infectés (Prandovszky et al., 2011). Cependant, l'infection par des parasites de type II délétés pour le gène AAH2 (ou le surexpressant) est corrélée à une concentration élevée en dopamine similaire à celle observée dans le cerveau des souris infectées par une souche sauvage, remettant donc en doute cette hypothèse (Wang et al., 2015). Par ailleurs, une diminution de l'expression des récepteurs dopaminergiques de type D1 et de l'enzyme monoamine oxydase A, qui métabolise la dopamine, a été observée lors de l'infection des souris par une souche de type I (GT1) (Xiao et al., 2014). Ainsi, il se pourrait que l'augmentation de la concentration en dopamine, responsable des symptômes positifs chez les patients atteints de schizophrénie, soit amplifiée durant une infection chronique à *T. gondii* de par la dérégulation des voies impliquées dans le métabolisme de cette molécule par le parasite.

Outre la dopamine, la concentration du glutamate dans le cerveau est également altérée lors d'une infection latente par *T. gondii*. En effet, une étude a mis en évidence une augmentation du glutamate extracellulaire lors de l'infection causée par une réduction de l'expression du transporteur au glutamate dans les cellules gliales (David et al., 2016). Un niveau élevé de glutamate dans les espaces extracellulaires pourrait causer une neuro-excitotoxicité et l'apparition des troubles cognitifs et comportementaux. De plus, la mesure par électroencéphalogramme de la connectivité cérébrale, a montré une réduction considérable de cette dernière chez

des souris infectées par la souche ME49 de type II, phénomène observé notamment chez des patients atteints de schizophrénie (David et al., 2016). Aussi, l'infection chronique cérébrale par *T. gondii* pourrait être un facteur de risque facilitant l'apparition et le développement de la schizophrénie par la modulation de la concentration en certains neuro-transmetteurs affectant l'activité neuronale.

#### 4.9.3 Neuroinflammation / voie des kynurénines induites lors de l'infection et risques pour la schizophrénie

L'infection chronique par *T. gondii* est caractérisée par une neuroinflammation chronique de bas grade au sein du CNS (voir chapitre 2.4) (Mahmoudvand et al., 2016) incluant notamment l'augmentation de l'expression de cytokines pro-inflammatoires telles que le facteur de nécrose tumorale- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), l'IL-6, l'IL-1 $\beta$  et l'IFN $\gamma$  (Gazzinelli et al., 1994; Mahmoudvand et al., 2016; Scanga et al., 2002). Cette inflammation chronique du CNS pourrait donc exacerber le développement de la schizophrénie ou participer à son apparition chez les sujets susceptibles (voir chapitre 4.7). En particulier, l'IFN $\gamma$  stimule la voie KP lors d'une infection chronique à *T. gondii* (voir chapitre 3.5), augmentant les taux des métabolites neuro-actifs KYNA et QUIN, ayant un rôle clé dans le fonctionnement neuronal.

En conclusion, l'augmentation de la concentration en certains neuro-transmetteurs, la neuro-inflammation et l'activation de la voie KP dans le cerveau des hôtes infectés de manière latente par *T. gondii* pourraient altérer le fonctionnement neuronal et exacerber les troubles cognitifs et psychiatriques chez les individus schizophréniques.

#### 4.9.4 Schizophrénie et pharmacothérapie de la toxoplasmose

De manière intéressante, une étude de l'équipe de Jones-Brando (Jones-Brando et al., 2003) portant sur la capacité de huit antipsychotiques et de quatre médicaments stabilisateurs de l'humeur à inhiber la réplication de *T. gondii* et/ou l'invasion dans des fibroblastes humains a démontré une activité inhibitrice de l'halopéridol, l'acide valproïque et le valproate de sodium suivi de la rispéridone et de la fluphénazine. De plus, dans une autre étude, l'examen du taux d'anticorps IgG anti-*T.gondii* chez des patients récemment atteints de schizophrénie et non traités a montré un taux d'IgG plus élevé dans le sérum et le liquide céphalo-rachidien comparé aux patients traités

---

(Leweke et al., 2004) suggérant ainsi que les médicaments antipsychotiques peuvent affecter la réplication de *T. gondii*. Cependant, l'évaluation de l'efficacité thérapeutique d'antiparasitaires chez des patients schizophrènes, n'a pas démontré de changement dans la psychopathologie de la maladie (Chorlton, 2017). Les raisons possibles de l'échec du traitement sur les symptômes schizophréniques pourraient inclure l'utilisation de drogues sans preuve d'efficacité contre la forme kystique à réplication lente du parasite ou à des doses trop faibles ne permettant pas une concentration suffisante au sein du SNC après passage de la barrière hémato-encéphalique. Il n'est donc pas possible pour le moment de conclure à un effet direct de la présence de kystes cérébraux intraneuronaux sur le développement ou l'exacerbation des troubles cognitifs et comportementaux chez les patients schizophrènes. Il serait intéressant d'évaluer l'effet de drogues nouvellement développées qui sont efficaces in vitro et chez la souris contre la forme kystique du parasite (Cerutti et al., 2020).

# Objectifs de la thèse

# Objectifs de la thèse

---

La toxoplasmose est une zoonose très répandue causée par le protozoaire *T. gondii*, un parasite capable de traverser la BBB et d'infecter plusieurs types cellulaires dans le SNC, notamment les astrocytes, les microglies et les neurones, ne persistant que dans les neurones sous forme de kystes intracellulaires et ceci durant toute la vie de l'hôte. Cette infection est accompagnée par l'établissement dans le SNC, d'une augmentation de la concentration en dopamine et glutamate et d'une inflammation chronique de bas grade, notamment liée à l'activation des microglies et des astrocytes.

Les astrocytes constituent la principale source du KYNA dans le cerveau, un composé neuroactif synthétisé via l'activation de la voie KP et fortement corrélé à la schizophrénie. En effet, l'un des principaux signes physiopathologiques identifiés au sein du cerveau des patients schizophrènes est un taux systématiquement élevé de KYNA. A des concentrations légèrement supérieures aux concentrations cérébrales endogènes, ce métabolite inhibe les récepteurs NMDA et les récepteurs de l'acétylcholine nicotinique et pourrait donc contribuer aux déficiences cognitives des patients schizophrènes. Par ailleurs, des taux élevés de cytokines pro-inflammatoires, notamment l'IFN $\gamma$  et l'IL-6 ainsi qu'une activation accrue des astrocytes ont été observés chez les patients schizophrènes. Aussi, l'infection chronique par *T. gondii* pourrait représenter un facteur de risque pour l'apparition de la schizophrénie chez les sujets susceptibles ou exacerber les troubles cognitifs et psychiatriques chez les patients schizophrènes par l'activation des astrocytes et de la voie KP, aboutissant à la production de métabolites neuroactifs tels que le KYNA.

Jusqu'à présent, une étude unique a examiné la modulation de la voie KP dans le SNC durant la toxoplasmose cérébrale (Notarangelo et al., 2014). De plus, les mesures de la voie KP ont été effectuées dans le cerveau de souris infectées pendant 28 jours, représentant un stade très précoce de l'infection chronique pendant lequel la neuroinflammation est encore élevée alors qu'elle diminue considérablement à un stade plus tardif de l'infection chronique, typiquement retrouvé chez les individus possédant une séropositivité pour *T. gondii*.

Mon projet de thèse s'est effectué en co-tutelle entre l'Institut Pasteur de Lille (France) et l'Université de Sétif (Algérie). D'une part, nous avons cherché à déterminer si une association existe entre la séropositivité pour *T. gondii* et la schizophrénie dans un

échantillon de la population algérienne, une étude jamais menée dans ce pays. D'autre part, nous avons étudié à l'Institut Pasteur de Lille, si l'infection par *T. gondii* active la voie KP 1) *in vivo* lors d'une infection chronique à long terme (6 mois) 2) *in vitro* dans des cultures primaires d'astrocytes.

# Matériels et Méthodes

# Matériels Et Méthodes

---

## 1 Etude épidémiologique

### 1.2 Caractéristiques de la cohorte

Cette étude prospective a été réalisée au sein d'un établissement spécialisé dans les troubles psychiatriques (Etablissement Hospitalier spécialisé en psychiatrie « Kraria Slimen ») à Ain Abessa Sétif, Algérie. Cette étude incluait un total de 70 volontaires sains et 70 patients hospitalisés atteints de schizophrénie et sous traitement avec des médicaments antipsychotiques, y compris des antipsychotiques typiques : halopéridol (HALDOL), fluphénazine (MODECATE) ou chlorpromazine (LARGACTIL) et atypiques: rispéridone (RISPERDAL), olanzapine (ZYP), Amisulpride (SOLIAN). Le diagnostic clinique des patients atteints de schizophrénie a été confirmé selon les critères du DSM-5 (The Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders 5) par l'utilisation du SCID-5-RV (Structured Clinical Interview for DSM-5, Research Version). Les patients ayant des antécédents d'alcoolisme, de tabagisme, de toxicomanie, d'épilepsie, de retard mental, de traumatisme crânien, de chirurgie cérébrale, de méningite et d'encéphalite ont été exclus de l'étude. Le groupe témoin était composé de 70 volontaires sains recrutés au sein du personnel hospitalier. Ils n'avaient aucun antécédent de schizophrénie ou de troubles psychiatriques. Ces volontaires ont été choisis parce qu'ils partageaient le même environnement (y compris les repas) que les patients atteints de schizophrénie. Un questionnaire a été dûment rempli par tous les participants à l'étude, y compris des informations sur leur âge, leur sexe, la consanguinité de leurs parents, leurs conditions socioéconomiques, les antécédents familiaux en maladie psychiatriques, les antécédents médicaux, le niveau d'éducation, l'état matrimonial, le statut professionnel, les habitudes alimentaires (en particulier, la consommation de viande crue ou insuffisamment cuite), et un possible environnement partagé avec les animaux domestiques, notamment les chats pour leur rôle dans la transmission de la toxoplasmose. Tous les participants étaient âgés d'au moins 18 ans et ont fourni un consentement éclairé écrit après que les procédures de l'étude leur

aient été expliquées. L'étude a été approuvée par le Conseil scientifique de l'Université de Sétif et le Comité d'éthique (Réf. CED/03/2020).

### 1.3 Analyse sérologique

Les échantillons de sang ont été prélevés par ponction veineuse dans des conditions stériles auprès de tous les participants. Le sérum a ensuite été séparé directement après collecte par centrifugation pendant 15 min à 30 000 tr / min. Le kit ELISA MAGLUMI Toxo IgG CLIA (Snibe diagnostic, Shenzhen, CHINE) a été utilisé pour mesurer quantitativement les niveaux d'anticorps IgG anti-Toxoplasma en utilisant le système d'immunoanalyse par chimiluminescence (CLIA) (MAGLUMI 1000, Shenzhen, CHINE) en suivant les instructions du fabricant. L'interprétation des résultats (selon les critères du fabricant) était la suivante:  $\leq 2$  AU / ml était considéré comme négatif et  $\geq 2$  AU / ml était considéré comme positif. La sensibilité du test est inférieure à 0,25 AU / ml. Aucune réaction croisée avec les anticorps IgG ou IgM du virus de l'hépatite A, du virus de l'hépatite B, du virus de l'hépatite C, du virus de l'immunodéficience humaine, de la syphilis, du virus d'Epstein-Barr n'a été détectée.

### 1.4 Analyse statistique

Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel R version 3.6.1. Les tests statistiques sont bilatéraux et le niveau de significativité a été fixé à 5%. Les moyennes entre les patients atteints de schizophrénie et les participants sains ont été comparées avec le test t (fonction t.test) en prenant compte de l'égalité ou non des variances.

Nous avons effectué une analyse ROC (fonction roc) pour définir l'âge seuil qui discrimine l'état « schizophrène » ou « sain ». Ainsi, différents seuils d'âge ont été utilisés pour classer les individus selon ce critère. Les individus plus jeunes que le seuil d'âge ont été classés comme non affectés tandis que les plus âgés ont été définis comme affectés. La classification obtenue a été comparée à celle observée et la sensibilité ainsi que la spécificité ont alors été calculées. Nous avons donc obtenu autant de valeurs de sensibilité et de spécificité que d'âges testés. Ces valeurs ont été utilisées pour tracer la courbe ROC et pour calculer l'indice de Youden comme étant la somme de la sensibilité et de la spécificité calculées pour chaque seuil testé. L'âge

associé à l'indice de Youden le plus élevé a la meilleure capacité de distinguer les personnes affectées ou sains.

Le test  $\chi^2$  a été utilisé pour comparer les échantillons dans les tableaux de contingence (fonction `chisq.test`). Lorsqu'au moins un échantillon attendu est inclus dans l'intervalle de taille [5-10], la correction Yates a été appliquée. Le test exact de Fisher a été préféré au test  $\chi^2$  lorsque tout échantillon attendu présente une taille inférieure à 5 (fonction de test de Fisher).

La puissance du test  $\chi^2$  permettant de tester l'association entre la schizophrénie et la toxoplasmose, ainsi que l'échantillon requis pour atteindre une puissance de 80%, ont été estimés avec la fonction `pwr.chisq.test`.

Le rapport de cotes (OR) et son intervalle de confiance à 95% ont été estimés avec la fonction `oddsratio`.

Les proportions d'individus testés positifs pour la toxoplasmose chez les patients atteints de schizophrénie et les participants sains âgés de 20 à 30 ans sont comparées par le test de fonction `prop.test` avec correction de Yates afin de considérer la petite taille de l'échantillon. Bien qu'il y ait 2,6 fois plus d'individus séropositifs chez les patients schizophrènes par rapport aux témoins, cette différence n'est pas statistiquement significative (valeur  $p = 0,171$  avec correction de continuité). Cela pourrait s'expliquer par une faible puissance (45%) obtenue pour détecter toute différence avec ces petits groupes d'échantillons. Comme prévu, aucune différence statistique significative pour les autres groupes n'est également observée (dans [30-40] ans,  $p$ value = 0,396; dans [40-50] ans,  $p$ value = 0,875; pendant 50 ans et plus,  $p$ value = 1;  $p$ values donnée avec correction de continuité).

## 2 Expérimentation in vitro

### 2.1 Culture cellulaire

#### 2.1.1 Fibroblastes humains

La lignée primaire de fibroblastes humains (Human Foreskin Fibroblast HFF) (CCD-1112Sk (ATCC®CRL-2429™)) est cultivée dans des flasques contenant du milieu complet composé de DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) high glucose (4.5g/L D-glucose) GlutaMAX™ (Gibco™ by LifeTechnologies) complété avec 10% de sérum de veau foetal (Gibco™ by LifeTechnologies, 42G9181K) et 1% de Pénicilline-Streptomycine (Gibco™ by LifeTechnologies) et maintenue sous atmosphère humide à 5% de CO<sub>2</sub> et 37°C dans des incubateurs CO<sub>2</sub> (Thermo Scientific Heraeus® BB 15). Une éventuelle contamination par les mycoplasmes est contrôlée à l'aide du kit MycoAlert™ mycoplasma detection kit (Lonza). L'entretien de la lignée est assuré par passages successifs du tapis cellulaire confluant décollé avec une solution à 0.25% de trypsine EDTA (Gibco™ by LifeTechnologies) pendant 3 min à 37°C.

#### 2.1.2 Astrocytes primaires

Les astrocytes primaires utilisés dans notre étude ont été générés par le laboratoire de Sylviane Pied (CIIL, Institut Pasteur de Lille) par une technique définie dans leurs travaux (Shrivastava et al., 2017). Brièvement, des cultures de cellules gliales primaires comprenant des astrocytes et des microglies ont été établies à partir du cerveau de souris C57BL/6 nouveau-nées (1 à 2 jours). Les cerveaux ont été récupérés dans des conditions stériles; les méninges ont été décollées et ont été conservées pour l'isolement cellulaire. Des suspensions unicellulaires ont été obtenues en dissociant doucement les tissus cérébraux dans du milieu de dissection. Les cellules ont étéensemencées dans des flacons de culture cellulaire préenduits pendant 2 h de bromhydrate de poly-L-ornithine (Sigma, France) dans du milieu de culture cellulaire [DMEM supplémenté avec 10% de FCS, 1g/L de D- glucose, 0,1% de pénicilline/streptomycine] et incubé à 37°C dans un incubateur humidifié avec 5% de CO<sub>2</sub>. Pour assurer l'élimination des microglies, les cultures d'astrocytes ont été traitées avec 1mM d'ester méthylique de L-leucine (Sigma, France).

Les astrocytes obtenus sont cultivés dans des flasques contenant du milieu complet composé de DMEM-1g/L de D-glucose (Gibco™ by LifeTechnologies) complété avec 10% de sérum de veau foetal SVF (Gibco™ by LifeTechnologies) et 0.1% de Pénicilline-Streptomycine (Gibco™ by LifeTechnologies) et maintenues sous atmosphère humide à 5% de CO<sub>2</sub> et 37°C. Si nécessaire, 72h avant l'expérience, les astrocytes sont décollés avec une solution à 0.25% de trypsine-EDTA pendant 3 min à 37°C, lavés dans du milieu complet puis ensemencées dans les plaques de culture.

### 2.1.3 Souches parasitaires

Les deux souches parasitaires utilisées dans nos travaux sont de type II : la souche Pru-Luc-GFP (donnée par le laboratoire de J. Boothroyd) ainsi que la souche Pru-GFP GRA6-OVA (donné par le laboratoire de Nicolas Blanchard et décrite dans Salvioni et al., 2019). La souche Pru-Luc-GFP a été génétiquement modifiée pour exprimer la luciférase et la protéine fluorescente GFP. La souche Pru-GFP GRA6-OVA a été génétiquement modifiée afin d'exprimer puis de sécréter la protéine GRA6-OVA au sein des granules denses avant d'être insérée dans la membrane de la VP en exposant l'épitope immunogène SKL8 (OVA) dans le cytosol de la cellule hôte (Salvioni et al., 2019).

Les parasites sont cultivés par infection de cellules HFF confluentes dans du DMEM complet et maintenues sous atmosphère humide à 37°C et 5% CO<sub>2</sub>. Les tachyzoïtes sont récoltés après qu'ils aient lysé le tapis cellulaire des HFF ou par lyse mécanique en grattant le tapis infecté suivi d'un passage dans des seringues à aiguille 18G puis 27G permettant la lyse des HFF et la rupture de la membrane de la vacuole parasitophore. Les parasites ainsi libérés sont purifiés après filtration sur une membrane en polycarbonate de 3µm de porosité (GE Healthcare) et sont comptés sur la cellule de Malassez pour réaliser les infections *in vitro* ou *in vivo*. Ces cultures sont aussi contrôlées avec le kit MycoAlert™ (Lonza).

Les parasites « Heat-Killed » correspondent aux parasites tués par la chaleur après incubation à 56°C pendant 20min.

## 2.2 Infection et stimulation des astrocytes primaires

Les astrocytes sont déposés dans un puits d'une plaque 6-puits (extraction d'ARN) ou 24-puits (Immunofluorescence) 72h avant l'expérience. Quand indiqué, les astrocytes sont incubés avec de l'IFN $\gamma$  (Miltenyi Biotec) à une concentration finale de 50ng/ml pendant 6h avant l'infection. Après 6h de pré-traitement, les parasites sont ajoutés à différentes MOI (Multiplicity of Infection : nombre de parasites/cellule) pendant 16h. Pour les astrocytes pré-stimulés à l'IFN $\gamma$ , ce dernier est ajouté dans le milieu contenant les parasites afin de maintenir la stimulation des astrocytes pendant l'infection.

## 2.3 Cytométrie en flux

Après 16h d'infection/stimulation, les astrocytes (en boîte de pétri de 10cm de diamètre) sont lavés avec du PBS stérile et détachés par incubation avec de la trypsine-EDTA 0,25% pendant 3min à 37°C. Les astrocytes sont ensuite lavés dans du PBS froid et transférés dans des plaques 96-puits à fond en V (5  $10^5$  astrocytes /puits dans 200 $\mu$ l de PBS 1X / BSA 1% (Bovine Serum Albumin SIGMA-ALDRICH®) froid). Les cellules sont ensuite incubées dans 50 $\mu$ l de PBS 1X/ BSA 1% complété par 1% de Fc Block (Purified Rat Anti-Mouse CD16/CD32, BD Pharmingen™) puis dans 50 $\mu$ l de PBS 1X froid complété par le marqueur de viabilité cellulaire (Aqua LIVE/DEAD, Molecular Probes® by life technologies™) au 1/100<sup>e</sup>, et les anticorps primaires suivants : anti-GLAST-APC (1/50<sup>e</sup>, Miltenyi Biotec), anti-H2kb-PE (Biolegend, 1/500<sup>e</sup>). Après 30min d'incubation dans la glace, les astrocytes sont lavés 2 fois avec du PBS 1X/ BSA 0.1% et fixés dans 50  $\mu$ l de solution fixatrice (BD Cytotfix) pendant 20min. Après lavage, les cellules sont conservées à 4°C jusqu'à analyse par le cytomètre Attune NxT™ (ThermoFisher SCIENTIFIC) et le logiciel FlowJo10. Pour les marquages intracellulaires, les anticorps anti-GFAP-PE (Dako) et anti-PhosphoSTAT1-PE (Biolegend, Ref: 686403, 1/50<sup>e</sup>) sont dilués dans la solution de fixation/perméabilisation (BD Cytotfix/Cytopem).

## 2.4 Analyse de l'expression de gènes d'intérêt par RTqPCR

### 2.4.1 Extraction de l'ARN d'astrocytes et rétrotranscription

Après 16h d'infection/stimulation, les astrocytes en culture ( $2 \times 10^6$ ) sont lavés avec du PBS stérile et détachés par incubation avec de la trypsine-EDTA pendant 2min à 37°C. Les astrocytes sont ensuite transférés dans des tubes puis lavés avec du PBS froid. Le kit d'extraction RNA NucleoSpin (Macherey Nagel) est alors utilisé en suivant les recommandations du fabricant. L'ARN extrait est dosé au Spectrophotomètre NanoDrop™ 2000 (Thermo Scientific™) puis incubé en présence de DNase I pendant 5min (SIGMA-ALDRICH®) afin d'éliminer toute trace d'ADN. 1.5µg d'ARN DNAsé est utilisé pour synthétiser l'ADN complémentaire (ADNc) en utilisant le kit SuperScript™ VILO™ cDNA Synthesis kit (Invitrogen by Thermo Fischer Scientific) selon le protocole fourni par le fabricant. Les échantillons sont ensuite stockés à -80°C.

### 2.4.2 Analyse des transcrits par PCR en temps réel (qPCR)

Une approche par RTqPCR réalisée en duplicat technique pour chaque gène avec un minimum de trois expériences biologiques indépendantes a été utilisée afin d'estimer la quantité de transcrits des gènes d'intérêt dans les astrocytes infectés ou ayant subi différents traitements. 30ng d'ADNc est utilisé pour chaque réaction qPCR contenant les primers sens et antisens des gènes d'intérêt (listés dans le tableau ci-dessous) à la concentration finale de 1µM. Les primers ont été générés grâce au logiciel Primer3Plus (<https://primer3plus.com/>) ou tirés de la littérature. Leur spécificité est vérifiée par alignement de séquences sur NCBI Primer-BLAST (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>). La réaction qPCR est réalisée en présence de SYBR™ Select Master Mix (Applied Biosystems™ by life technologies) en utilisant le QuantStudio 12K Flex (Applied Biosystems™ by life technologies) avec le programme PCR suivant : 50°C 2min, 95°C 10min, [95°C 30sec, 60°C 30sec] x40, 95°C 1min, 55°C 30sec, 95°C 30sec.

Tableau 1 : Liste des primers utilisés pour la RTqPCR

<b>REF NCBI</b>	<b>PRIMER</b>	<b>SEQUENCE 5' - 3'</b>
<b>NM_001289726.1</b>	GAPDH Fwd	ACAAAATGGTGAAGGTCGGTG
	GAPDH Rev	TGGCAACAATCTCCACTTTGC
<b>NM_001303244.1</b>	IL-12p40 Fwd	ACCAAATTACTCCGGACGGT
	IL-12p40 Rev	TGGTCCAGTGTGACCTTCTC
<b>NM_031168.2</b>	IL-6 Fwd	ACCACGGCCTTCCCTACTTC
	IL-6 Rev	TCCACGATTTCCAGAGAACA
<b>NM_010548</b>	IL-10 Fwd	AAGGCAGTGGAGCAGGTGAA
	IL-10 Rev	CCAGCAGACTCAATACACAC
<b>NM_011577</b>	TGF- $\beta$ Fwd	CTCAGAGCAAGAGAAAGCACTG
	TGF- $\beta$ Rev	CGTTGATGAACCAGTTACAGACC
<b>NM_008324</b>	IDO-1 Fwd	CCCACACTGAGCACGGACGG
	IDO-1 Rev	TTGCGGGGCA GCACCTTTTCG
<b>NM_145949</b>	IDO-2 Fwd	GCCCAGAG CTCCGTGCTTCAT
	IDO-2 Rev	TGGGAAGGCGG CATGTAGTCC
<b>XM_006509397</b>	KATII Fwd	ATGAATTACTCACGGTTCCTCAC
	KATII Rev	AACATGCTCGGGTTTGGAGAT

## 2.5 ELISA sur surnageant d'astrocytes primaires

Les interleukines IL-12p40 et l'IL-6 sécrétés par les astrocytes infectés ou non par la souche Pru-Luc-GFP et traités ou non par l'IFN $\gamma$ , ont été quantifiés dans le surnageant en utilisant les kits ELISA IL-12p40 (Total) Mouse Uncoated ELISA kit (Invitrogen by Thermo Fischer Scientific) et IL-6 Mouse Uncoated ELISA kit (Invitrogen by Thermo Fischer Scientific) suivant le protocole du fabricant et analysés avec le Spark® 10M (TECAN).

## 2.6 Immunofluorescence indirecte sur astrocytes primaires

1,5 10<sup>4</sup> astrocytes sont déposées sur une lamelle en verre placée dans un puits d'une plaque 24-puits précédemment recouverte avec de la Poly-L-Ornithine (SIGMA Aldrich®) diluée au 1/1000 durant 2h à 37°C. Quand indiqué, une pré-stimulation des astrocytes avec de l'IFN $\gamma$  à une concentration de 50ng/ml est effectuée pendant 6h à 37°C. Les astrocytes sont ensuite infectés par la souche Pru-Luc-GFP à une MOI de 2 ou incubés avec des parasites Heat-Killed à une MOI de 2 pendant 16h, puis fixés avec PBS 1X / 1% de paraformaldéhyde (PAF) (EUROMEDEX) pendant 15min suivi de trois lavages au PBS 1X. Le PAF est ensuite inactivé par incubation avec du PBS 1X/NH<sub>4</sub>Cl à 50mM pendant 15min à température ambiante. Les astrocytes sont ensuite perméabilisés avec du PBS/Triton 0.1% pendant 3 min, lavés au PBS 1X et saturés avec du PBS 1X/BSA 1% pendant 45 min. Les astrocytes sont alors mis en contact avec les anticorps primaires à 4°C pendant une nuit : anti-GFAP (1/500<sup>e</sup>, Polyclonal Rabbit Anti-Glial Fibrillary Acidic Protein, ref#Z0334, DAKO) dilués dans du PBS 1X/BSA 0.1%. Les anticorps secondaires couplés à l'Alexa 594 (abcam), la phalloïdine couplée à l'Alexa 647 (1/300<sup>e</sup>, Molecular Probes) et du DAPI (4',6-Diamidino-2-phenylindole dihydrochloride) (1/1000<sup>e</sup>, Eurogentec), sont ensuite ajoutés pendant 45min à température ambiante dans une chambre humide. Les lamelles sont

alors montées au Mowiol et conservées dans l'obscurité à 4°C avant d'être observées au microscope confocal LSM 880 (Zeiss).

## 3 Expérimentation in vivo

### 3.1 Animaux

Les souris sauvages C57BL/6 utilisées sont âgées de 6 semaines et issues de l'élevage de Janvier Labs®. Elles sont infectées par injection intrapéritonéale de 500 parasites et sacrifiées 6 mois post-infection.

### 3.2 Détection des kystes parasitaires dans le cerveau

Après sacrifice de la souris par dislocation cervicale, un demi-cerveau est broyé dans du PBS 1X à l'aide d'un potter (15 Aller-Retours), centrifugés à 4°C durant 5min puis repris dans une solution 100% isotonique de Percoll (Sigma Aldrich) (90% de Percoll + 10% NaCl 1,5M). Après une seconde centrifugation, le surnageant contenant les débris de cerveau est aspiré et éliminé et le culot contenant les kystes est lavé et repris dans du PBS 1X. 1/2 du volume total est incubé durant 2h à 4°C dans l'obscurité avec la lectine fluorescente Dolichos Biflorus Agglutinin FITC (by VECTOR Lab) diluée au 1/400e dans du PBS 1X. Cette lectine se lie à la paroi kystique. Le culot est lavé et repris dans 25ul de PBS 1X puis la solution est placée entre lames et lamelles (en duplicat : 12,5uL/lamelle) et les kystes comptés par microscopie à fluorescence dans le canal 488 (FITC) en utilisant le microscope (Axiophot2 by ZEISS)

### 3.3 Quantification des parasites dans le cerveau par qPCR

Après prélèvement, un demi-cerveau est conservé dans une solution de RNA later™ stabilization (Invitrogen by Thermo Fischer Scientific) à -20°C. Le cerveau est lavé avec du PBS 1X puis placé dans un tube stérile à billes (Precellys, bertin INSTRUMENTS) contenant 1mL de tampon de lyse RA1 (MACHEREY NAGEL) et 10µl de β-mercaptoéthanol (SIGMA-ALDRICH®) avant d'être broyé à l'aide de l'agitateur Precellys Evolution (bertin INSTRUMENTS) à 5000rpm 2x 15 sec. 1/5<sup>ème</sup> du lysat est utilisé pour extraire l'ADN génomique total du cerveau à l'aide du kit NucleoSpin DNA Tissue (MACHEREY NAGEL) puis dosé au spectrophotomètre NanoDrop™ 2000 (Thermo Scientific™). La quantification des parasites se fait alors

par qPCR réalisée en duplicats techniques avec le SYBR™ Select Master Mix (Applied Biosystems™ by life technologies), 1µM de primers sens et antisens TOXO B1 (voir séquences ci-dessous) et 30ng d'ADNg de cerveau en utilisant le QuantStudio 12K Flex Real-Time PCR system (Applied Biosystems™ by life technologies) avec le programme PCR suivant : 50°C 2min, 95°C 10min, [95°C 30sec, 60°C 30sec] x40, 95°C 1min, 55°C 30s, 95°C 30sec. Le nombre de parasites par cerveau est estimé à l'aide de l'équation obtenue par une courbe d'étalonnage exprimant la relation entre le nombre de cycles qPCR (Ct) et le log d'un nombre connu de parasites. Le nombre de parasites est exprimé en nombre de génome parasite/µg d'ADN de cerveau.

Toxo B1 Fwd : 5'- AGAGACACCGGAATGCGATCT -3'

Toxo B1 Rev : 5'- TTCGTCCAAGCCTCCGACT -3'

### **3.4 Mesure de l'expression de gènes d'intérêt par RTqPCR**

Afin de quantifier l'expression de gènes d'intérêt, l'ARN total est extrait à partir de 1/5<sup>ème</sup> d'homogénat d'un demi-cerveau en utilisant le kit NucleoSpin RNA (MACHEREY NAGEL). L'ARN obtenu est dosé au NanoDrop™ 2000 (Thermo Scientific™) puis 2µg sont utilisés pour la synthèse d'ADNc à l'aide du kit SuperScript™ VILO™ cDNA Synthesis kit (Invitrogen by Thermo Fischer Scientific) en suivant les instructions du fabricant. Les réactions de qPCR sont réalisées en duplicats techniques en présence de SYBR™ Select Master Mix (Applied Biosystems™ by life technologies) ou du PrimeTime® Gene Expression Master Mix (by Integrated DNA Technologies IDT) avec 1µM de primers Sens et anti-Sens et 30ng d'ADNc en utilisant le QuantStudio 12K Flex Real-Time PCR system (Applied Biosystems™ by life technologies) avec le programme PCR suivant pour l'utilisation du SYBR: 50°C 2min, 95°C 10min, [95°C 30sec, 60°C 30sec] x40, 95°C 1min, 55°C 30s, 95°C 30sec, et le programme suivant pour les qPCR « PrimeTime » : 95°C 3min, [95°C 5sec, 60°C 30sec] x45. Les résultats sont normalisés au gène de ménage GAPDH ou Cyclophiline A.

Tableau 2 : Liste des primers utilisés en qPCR in vivo

<b>Réf NCBI</b>	<b>Primer</b>	<b>Séquence 5' - 3'</b>
<b>NM_008907.1</b>	Cyclophiline A Fwd Cyclophiline A Rev	AGCATACAGGTCCTGGCATC TTCACCTTCCCAAAGACCAC
<b>NM_008337.4</b>	IFNg Fwd IFNg Rev	CAGCAACAGCAAGGCGAAA TTCCTGAGGCTGGATTCCG
<b>NM_031168.2</b>	IL-6 Fwd IL-6 Rev	ACCACGGCCTTCCCTACTTC TCCACGATTTCCAGAGAACA
<b>NM_001303244.1</b>	IL-12p40 Fwd IL-12p40 Rev	ACCAAATTACTCCGGACGGT TGGTCCAGTGTGACCTTCTC
<b>NM_011577</b>	TGF- $\beta$ Fwd TGF- $\beta$ Rev	CTCAGAGCAAGAGAAAGCACTG CGTTGATGAACCAGTTACAGACC
<b>XM_006498795</b>	IL-1 $\beta$ Fwd IL-1 $\beta$ Rev	ATCTTTTGGGGTCCGTCAACT GCAACTGTTCTGAACTCAACT
<b>NM_010548</b>	IL-10 Fwd IL-10 Rev	AAGGCAGTGGAGCAGGTGAA CCAGCAGACTCAATACACAC
<b>NM_001131020.1</b>	GFAP Fwd GFAP Rev	CGCGAACAGGAAGAGCGCCA GTGGCGGGCCATCTCCTCCT
<b>NM_008324</b>	IDO-1 PrimeTime Fwd IDO-1 PrimeTime Rev	GTAGAGCGTCAAGACCTGAAAG GATATATGCGGAGAACGTGGAA
<b>XM_006509397</b>	KATII PrimeTime Fwd KATII PrimeTime Rev	GTTCTCCACACACAAGTCTCA AAACCCTCTTCTCCCCATTG
<b>NM_133809</b>	KMO PrimeTime Fwd KMO PrimeTime Rev	TTCCACCTGAAGTCACACTG ACCAAGCAGTCTTCAAAGCC

### **3.5 Dosage des métabolites de la voie KP dans le cerveau de souris**

Une fois prélevé, un demi-cerveau est placé dans un tube stérile à billes (Precellys, bertin INSTRUMENTS) contenant 1mL de PBS 1X froid stérile et broyé à l'aide de l'agitateur Precellys Evolution (bertin INSTRUMENTS) à 5000rpm 2x 15 sec et 15 sec de pause. Le lysat est centrifugé à 14000 rpm pendant 10 min à 4°C et le surnageant est stocké à -80°C jusqu'à dosage des métabolites par le service de toxicologie au CHU de Lille dirigé par le Pr Delphine ALLORGE. Brièvement, le dosage est réalisé par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (UPLC-MS/MS). La précipitation des protéines (prise d'essai de 50 µL) est réalisée avec 50µL d'acétonitrile, contenant du tryptophane-D5 (50µM, isotopes CDN, Pointe-Claire, Canada) utilisé comme étalon interne, puis, après centrifugation (10 min – 14000 g), 50 µL de surnageant sont dilués dans 600 µL d'eau avant injection sur un système UPLC-MS / MS (Acquity TQ-XS, Waters, Milford, MA) équipé d'une colonne C18-XB 1.7µm 100 Å 150 x 2.1 mm (Phenomenex). Les ions de chaque composé analysé ont été détectés par mode ESI+ et suivi des transitions MRM Les concentrations obtenues sont normalisées par le poids de chaque demi-cerveau mesuré avant broyage.

### **3.6 Immunofluorescence indirecte sur coupes fines de cerveau en paraffine**

Les coupes fines de cerveaux issues de souris chroniquement infectées ou non infectées ont été générées et déposées sur lames par la société Oncovet Clinical Research. La première étape consiste à déparaffiner les coupes par 3 bains successifs de 10 min dans le xylène puis 5 min dans l'éthanol 100%, 96%, 70% et 30%. Les coupes sont ensuite lavées au PBS 1X durant 15min avant de procéder au démasquage antigénique par 3 bains successifs de 5min dans du tampon citrate chauffé à 90°C aux micro-ondes. La zone à marquer est délimitée au traceur hydrophobe puis du PBS 1X est déposé sur cette zone durant 5 min. Le PBS 1X est remplacé par du PBS 1X contenant 1.2% de gélatine de poisson durant 2h pour l'étape de blocage. Le PBS-G est ensuite aspiré et les anticorps primaires : anti-GFAP (1/100e, Polyclonal Rabbit Anti-Glial Fibrillary Acidic Protein, Unconjugated Z0334,

---

DAKO) dilués dans du PBS-G Triton 0.1% sont déposés dans la zone délimitée et incubés pendant la nuit dans une chambre humide à 4°C. Les lames sont alors lavées 3 fois au PBS-G puis la solution d'anticorps secondaires (couplés à l'Alexa-594 : 1/500) ainsi que le DAPI (1µg/mL) dilués dans du PBS-G est déposée sur la zone d'intérêt pendant 3h dans une chambre humide à température ambiante puis rincées au PBS-G. Les lames sont ensuite montées avec du Mowiol puis observées au microscope confocal LSM 880 (Zeiss).

# Résultats

# Résultats

## 1 Etude épidémiologique sur le lien entre la schizophrénie et la toxoplasmose chronique

Nous avons évalué la séroprévalence de l'infection à *T. gondii* chez 140 sujets dont 70 patients schizophrènes (56 hommes et 14 femmes) avec un âge moyen de 40,76 ± 9,3 et 70 témoins sains (56 hommes et 14 femmes) avec un âge moyen de 37,97 ± 9,3 (Tableau 1). L'âge moyen ( $p = 0,078$ ) et la composition par sexe ( $p = 1$ ) des deux groupes ne diffèrent pas significativement (Tableau 1).

**Tableau 1:** Caractéristique démographique des patients schizophrènes et les sujets témoins.

		Healthy controls n (%)	Patients with Schizophrenia n (%)	<i>P</i>	OR	CI95
Number of participants		70	70			
Age (mean ± SD)		37.97 ± 9.326	40.76 ± 9.3	0.078 <sup>1</sup>	NA	NA
Sex	Female	14 (20)	14 (20)	1 <sup>2</sup>	1	0.437-2.289
	Male	56 (80)	56 (80)			
Job status	No	0 (0)	60 (85.7)	< 2.2e-16 <sup>2</sup>	0	0-0.012
	Yes	70 (100)	10 (14.3)			
Marital Status	Single	21 (30)	48 (68.6)	1.012e-08 <sup>3</sup>	NA	NA
	Married	47 (67.1)	13 (18.6)			
	Divorced	2 (2.9)	9 (12.9)			
Psychological problem in family	No	65 (92.9)	27 (39)	2.162e-11 <sup>2</sup>	20.222	7.219-56.650
	Yes	5 (7.1)	42 (60)			
	Unspecified	0 (0)	1 (1)			
Inbreeding of parents	No	59 (84.3)	45 (64.3)	0.019 <sup>2</sup>	2.622	1.154- 5.961
	Yes	11 (15.7)	22 (31.4)			
	Unspecified	0 (0)	3 (4.3)			
Socio-economic status	Average	70 (100)	62 (88.6)	0.006 <sup>3</sup>	>1	1.826-ND
	Precarious	0 (0)	8 (11.4)			
Contact with cats	No	35 (50)	28 (40)	0.579 <sup>2</sup>	1.214	0.612-2.410
	Yes	35 (50)	34 (48.6)			
	Unspecified	0 (0)	8 (11.4)			
Underlying disease AH/DIAB	No	66 (94.3)	66 (94.3)	1 <sup>3</sup>	1	0.178-5.608
	Yes	4 (5.7)	4 (5.7)			

SD = standard deviation; CI = confidence interval; OR = odds ratio; NA = not applicable; ND = not determined; AH = arterial hypertension; DIAB = diabetes. 1 T test; 2 Chi<sup>2</sup> test; 3 Fisher exact test

## 1.1 Association entre la schizophrénie et l'infection par *T. gondii*

Une séropositivité pour *T. gondii* a été détectée chez 49/70 (70%) patients schizophrènes et 37/70 (52,9%) témoins (Tableau 2). La différence de ces séroprévalences est statistiquement significative ( $p= 0,037$ ) avec un Odd Ratio (OR) calculé de 2,081 (intervalle de confiance (IC) à 95%: [1,040-4,165]) (Tableau 3). Ces résultats montrent que les patients atteints de schizophrénie ont 2,715 fois plus de chances d'avoir une sérologie positive pour *T. gondii* que les témoins.

**Tableau 2:** Séroprévalence de la toxoplasmose dans la population étudiée

		Patients with schizophrenia		Healthy controls	
		IgG positive n (%)	IgG negative n (%)	IgG positive n (%)	IgG negative n (%)
Overall		49 (70)	21 (30)	37 (52.9)	33 (47.1)
Sex	Male	41 (73.2)	15 (26.8)	30 (53.6)	26 (46.4)
	Female	8 (57.1)	6 (42.9)	7 (50)	7 (50)
Age group	<30	6 (60)	4 (40)	3 (23.1)	10 (76.9)
	30-39	14 (70)	6 (30)	15 (53.6)	13 (46.4)
	40-49	20 (71.4)	8 (28.6)	13 (65)	7 (35)
	≥50	9 (75)	3 (25)	6 (66.7)	3 (33.3)

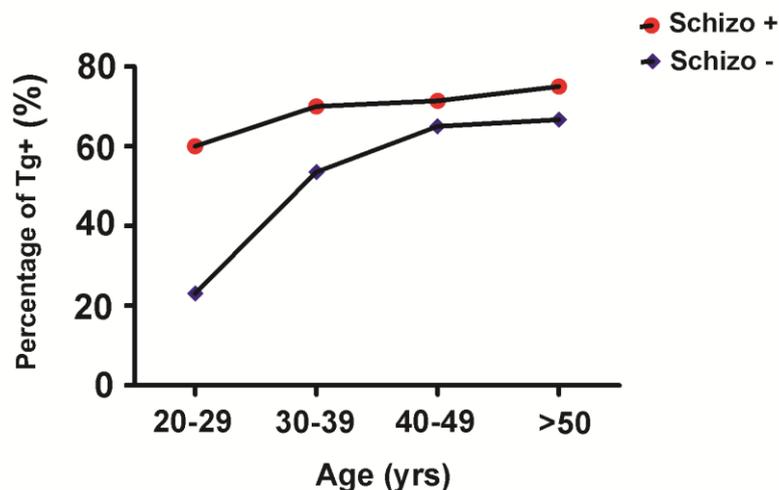
IgG = immunoglobuline G

**Tableau 3:** Séroprévalence de la toxoplasmose dans la population étudiée avec analyses statistiques

		Patients with schizophrenia		Healthy controls		<i>p-value</i> $\chi^2$	OR	CI95
		IgG positive n (%)	IgG negative n (%)	IgG positive n (%)	IgG negative n (%)			
Overall		49 (70)	21 (30)	37 (52.9)	33 (47.1)	0.037	2.081	1.040-4.165
Age group	< 38	17 (65.4)	9 (34.6)	16 (41)	23 (59)	0.054	2.715	0.970-7.602
	≥ 38	32 (72.7)	12 (27.3)	21 (67.7)	10 (32.3)	0.834 <sup>1</sup>	1.270	0.465-3.464

<sup>1</sup> With Yates correction

Par ailleurs, nos analyses montrent que les patients schizophrènes de moins de 40 ans présentent un pourcentage plus élevé d'individus séropositifs pour *T. gondii* par rapport aux témoins sains de la même tranche d'âge (tableau 2 et Figure 21). Après avoir construit la courbe de la fonction d'efficacité du récepteur (ROC) (Figure 22 A), qui utilise l'âge comme seuil pour désigner un individu comme étant non atteint de schizophrénie (âge < seuil) ou schizophrène (âge > seuil), la valeur maximale de l'indice de Youden a été observée avec l'âge de 38 ans. Nous avons donc défini 38 comme l'âge discriminant et divisé la cohorte en deux groupes homogènes (<38 ans, n= 65 et > 38 ans, n= 75) pour une analyse plus approfondie.



**Figure 21:** Pourcentage d'individus séropositifs pour *T. gondii* (Tg +) chez les patients atteints de schizophrénie (schizo +) et les témoins sains (schizo-) subdivisés en groupes d'âge indiqués.

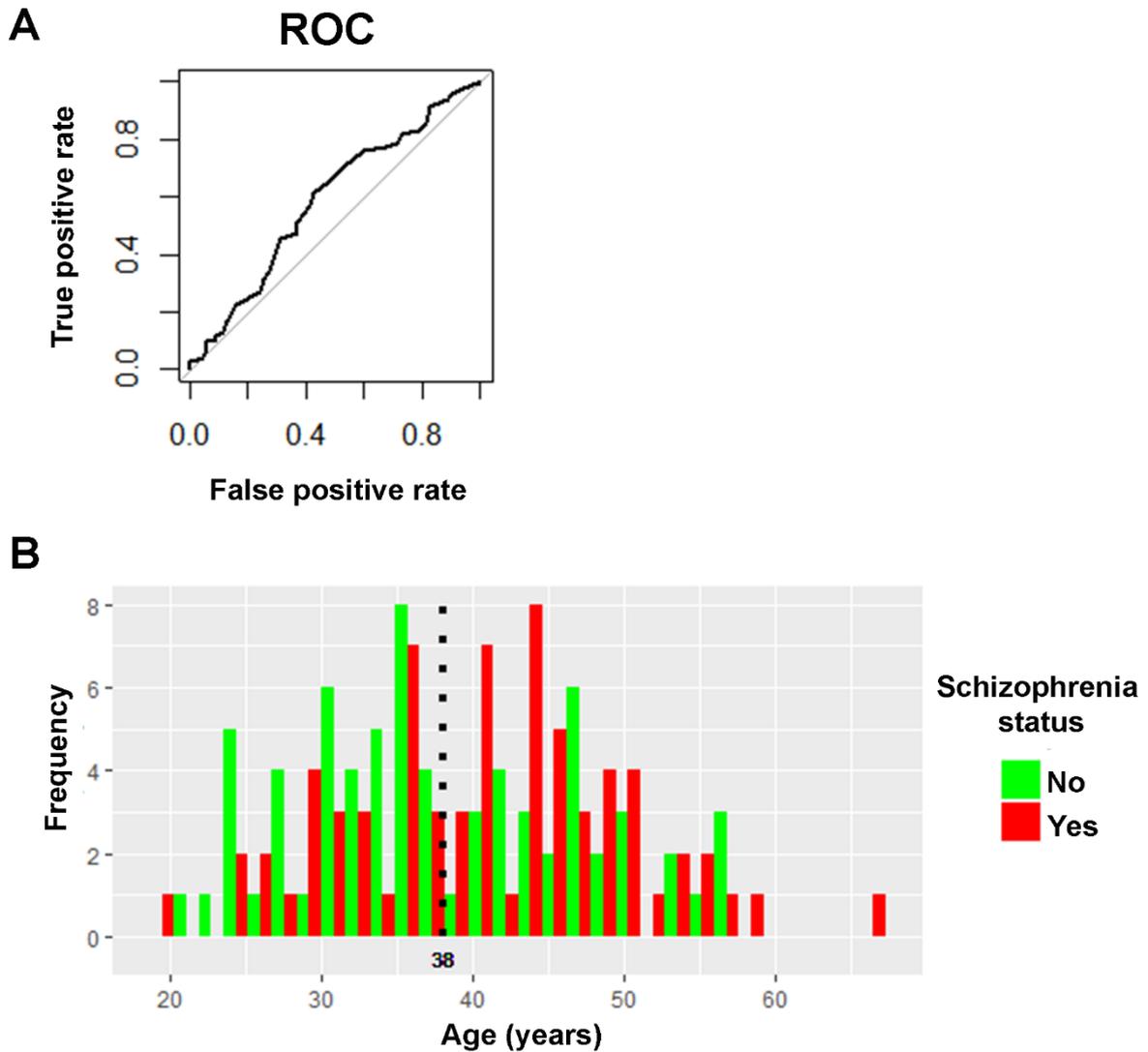
Nous avons effectivement constaté que les personnes de moins de 38 ans atteintes de schizophrénie sont 2,715 fois plus susceptibles d'avoir une sérologie positive pour *T. gondii* que les témoins de la même tranche d'âge (OR = 2,715, IC à 95%: [0,970-7,602]) (Tableau 3). Nos résultats ont tendance à être statistiquement significatifs ( $p= 0,054$ ) mais montrent seulement une puissance de 48,6% pour atteindre le seuil de significativité de 0,05. Nous avons calculé qu'un plus grand échantillon de 138 sujets aurait été nécessaire pour atteindre une puissance de 80%. En revanche, les personnes de plus de 38 ans atteintes de schizophrénie sont seulement 1,270 fois plus

susceptibles d'avoir une sérologie positive anti-*T. gondii* que les témoins (OR= 1,270,  $p= 0,834$ , IC à 95%: [0,465 à 3,464]) (Tableau 3).

Nos résultats mettent donc en évidence une association significative entre une sérologie positive à *T. gondii* et la schizophrénie avec une association prononcée pour les individus jeunes, suggérant que la toxoplasmose pourrait être un facteur de risque dans la survenue de la maladie.

Par ailleurs, l'âge moyen des sujets séropositifs pour *T. gondii* (y compris les patients atteints de schizophrénie et les témoins sains) est de 41, 267 ± 9, 720. Notre analyse indique que les individus de plus de 41 ans sont 3,1 fois plus susceptibles d'être séropositifs pour *T. gondii* que les individus de moins de 41 ans ( $p= 0,002$ , OR= 3,133, IC à 95% = [1,508-6,511]), en accord avec l'hypothèse que la fréquence d'exposition au parasite augmente avec le temps. Cependant, lorsqu'une analyse similaire a été effectuée chez les patients atteints de schizophrénie indépendamment des témoins sains, aucune association n'a été trouvée entre la séropositivité pour *T. gondii* et le groupe d'âge ( $p= 0,23$ , OR= 2,167, IC à 95%: [0,761-6,172]). Ceci s'explique par le pourcentage élevé de patients séropositifs pour *T. gondii* âgés de moins de 41 ans dans ce groupe (Figure 21).

En revanche, nos résultats n'ont pas montré de relation significative entre le statut d'infection à *T. gondii* et le sexe ( $p= 0,340$ , OR= 1,501, IC à 95%: [0,650-3,464]), le statut socio-économique ( $p= 0,152$ , OR= 4,657, IC à 95%: [0,571-215,367]), le contact avec les chats ( $p= 0,961$ , OR= 1,018, IC à 95%: [0,503-2,058]) et le statut professionnel ( $p = 0,270$ , OR = 0,676, IC à 95%: [0,337-1,357]).



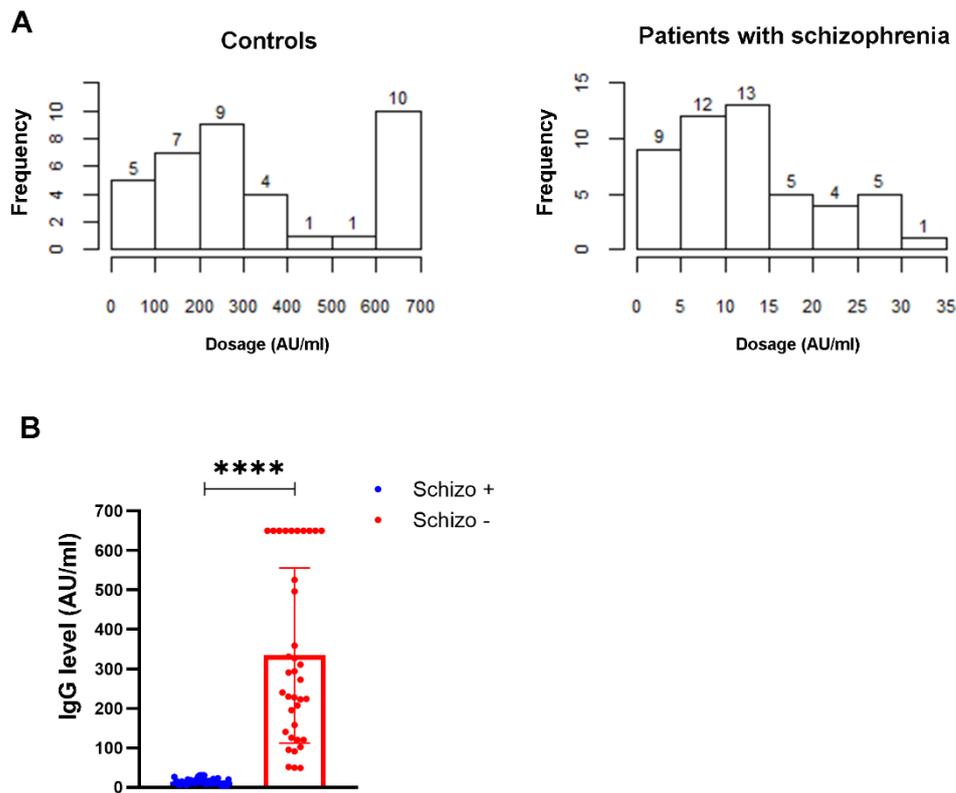
**Figure 22 : A- Courbe de la fonction d'efficacité du récepteur (ROC: Receiver operating characteristic).** Âge utilisé comme seuil discriminant pour définir le statut de schizophrénie. Un individu dont l'âge est inférieur au seuil est déclaré « schizophrène négatif » sinon il est déclaré « schizophrène positif ». B- Barplot montrant la distribution (exprimée en fréquence) de la population étudiée en fonction de l'âge (individus sains en vert, patients schizophrènes en rouge) . L'indice de Youden (somme maximale de sensibilité et de spécificité) identifie l'âge de 38 ans comme le meilleur seuil discriminant.

## 1.2 Comparaison des taux d'IgG anti-*T. gondii* chez les patients atteints de schizophrénie et les sujets témoins

Notre étude a révélé qu'au sein des participants séropositifs pour *T. gondii*, les patients atteints de schizophrénie ont des niveaux significativement inférieurs ( $p < 0,0001$ ) (12,892 AU / ml) d'anticorps IgG sériques anti- *T. gondii* par rapport aux témoins sains (334,212 AU / ml) (Figure 23). En effet, lors de l'examen de la distribution des niveaux d'IgG anti-*T. gondii* chez les sujets séropositifs inscrits à l'étude, nous avons observé que la majorité ( $n = 54/86$ ) avait des niveaux inférieurs à 100 UA/ml (Figure 23). Alors que 100% des patients atteints de schizophrénie affichent des niveaux inférieurs à la concentration de 100 AU/ml, 86,48% des individus sains ont des taux d'IgG supérieurs à 100 UA/ml ( $p = 5,548e-15$ , OR = 0, IC 95%: [ 0-0,022]) (Tableau 4). Il convient de noter que le groupe témoin présente une variabilité plus élevée en termes de titres d'anticorps (Figure 23).

**Tableau 4** : Niveau dichotomisé des IgG anti-*T.gondii* chez les patients schizophrènes et les sujets témoins.

IgG rate	Healthy controls	Patients with schizophrenia	<i>p-value</i> $\chi^2$	OR	CI <sub>95</sub>
[2-100] AU/ml	13.52%	100%	5.548e-15	0	0-0.022
> 100 AU/ml	86.48%	0%			



Figure

**23: Distribution des taux d'IgG dans la population étudiée** A- Histogrammes indiquant le nombre d'individus (axe y) possédant la plage indiquée de taux d'IgG (axe x) chez les sujets séropositifs à *T. gondii* pour les patients schizophrènes (histogramme de droite) et les témoins sains (histogramme de gauche). B- Graphique indiquant la concentration en IgG anti-*T. gondii* (AU / ml) chez les patients séropositifs atteints de schizophrénie (schizo+, n= 49) et les témoins sains séropositifs (schizo-, n= 37). Student T test, \*\*\*\* p <0,0001.

### 1.3 Association entre la schizophrénie et les antécédents de problèmes psychologiques dans la famille

Aucune association significative n'a été trouvée entre le statut de schizophrénie et l'âge ( $p= 0,078$ ) et le sexe ( $p= 1$ , OR = 1, IC à 95%: [0,437-2,289]) (Tableau 1). Cependant, la schizophrénie est fortement associée aux antécédents familiaux de problèmes psychologiques ( $p= 2,162e-11$ , OR = 20,222; IC à 95%: [7.219-56.650]) et dans une moindre mesure, à la consanguinité parentale ( $p= 0,019$ , OR = 2,622, IC à 95%: [1,154-5,961]). De plus, les patients atteints de schizophrénie sont principalement des personnes célibataires ( $p= 1,012e-08$ ) et sans emploi ( $p < 2,2e-16$ ) probablement une conséquence des conditions invalidantes de leur maladie. En revanche, nous n'avons trouvé aucune relation statistiquement significative entre la schizophrénie et les

contacts avec les chats ( $p = 0,579$ , OR = 1,214, IC à 95%: [0,612-2,410]). De plus, un nombre trop faible de patients présentant des troubles comorbides (ex. hypertension artérielle (AH) et diabète (DIAB)) sont présents dans notre étude. Nous n'avons donc pu tirer de conclusions sur une association putative entre la comorbidité et la schizophrénie.

## **2 Réponse cytokinique et activation de la voie KP dans le CNS lors d'une infection chronique par *T. gondii***

Les résultats obtenus lors de l'étude épidémiologique menée dans un échantillon de la population algérienne localisée à l'EHS Ain Abessa, montre une association significative entre la schizophrénie et une séropositivité pour *T. gondii*, plus particulièrement chez les sujets jeunes de moins de 38 ans, suggérant que la toxoplasmose pourrait représenter un risque pour la survenue de la schizophrénie chez les individus susceptibles.

Ces constatations nous ont poussés à explorer un des mécanismes hypothétiques par lequel l'infection à *T. gondii* pourrait favoriser l'apparition de la maladie ou le développement des troubles cognitifs chez les individus atteints de schizophrénie. Nous nous sommes intéressés au lien possible entre l'inflammation chronique induite par une infection latente cérébrale et l'activation de la voie des kynurénines. En effet, les métabolites produits par la voie KP, en particulier le KYNA et le QUIN, sont des molécules neuro-actives à fort impact sur le fonctionnement neuronal. Le KYNA est de plus fortement augmenté chez les sujets atteints de schizophrénie suggérant une activation de la voie KP dans les astrocytes.

Lors de l'établissement d'une infection cérébrale par *T. gondii*, une réponse Th1 se met rapidement en place, caractérisée par la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires, en particulier l'IFN $\gamma$ , qui joue un rôle essentiel dans l'activation des fonctions effectrices anti-parasitaires des monocytes recrutés ainsi que des astrocytes et microglies résidents. Ainsi, une réponse pro-inflammatoire de bas grade s'établit sur le long terme permettant de contrôler la réactivation des kystes intraneuronaux.

Nous avons donc dans un premier temps examiné la réponse cytokinique qui s'établit dans le cerveau de souris infectées chroniquement (6 mois) par deux souches de *T. gondii*. La souche Pru-Luc-GFP est reconnue pour induire une toxoplasmose encéphalique à court terme (28 jours) au sein de la lignée de souris C57/BL6, caractérisée par une forte réponse inflammatoire (cytokines, recrutement des monocytes et LTs) et la présence d'un nombre important de kystes parasitaires. La souche Pru-GRA6-OVA récemment construite par nos collaborateurs (N. Blanchard, Univ Toulouse (Salvioni et al., 2019), est rapidement contrôlée par le système immunitaire de l'hôte résultant en l'établissement d'une faible réponse inflammatoire au sein du SNC corrélée à un taux faible de kystes intracellulaires. L'infection par cette souche de *T. gondii* récapitule ce qui est observé dans la lignée de souris Balb/C plus résistante à l'infection, qui est considérée comme un modèle plus proche de l'infection humaine. Nous avons utilisé ces deux souches de *T. gondii* afin d'étudier si l'activation de la voie de KP est proportionnelle à l'induction de la réponse pro-inflammatoire dans le SNC.

## 2.1 Réponse cytokinique dans le SNC lors d'une infection chronique

Afin de caractériser le profil inflammatoire induit dans le cerveau de souris présentant une infection chronique à long terme (6mois) par *T. gondii*, nous avons quantifié par RTqPCR l'expression de plusieurs cytokines pro-inflammatoires : l'IFN $\gamma$ , l'IL-12, l'IL-6 et l'IL-1 $\beta$  ainsi que deux cytokines anti-inflammatoires (TGF- $\beta$  et IL-10), ces dernières jouant un rôle clé pour contrebalancer la neuroinflammation induite lors de l'infection (Chapitre 2).

Nos résultats montrent l'établissement d'un environnement inflammatoire caractérisé par une augmentation importante de l'expression des cytokines pro-inflammatoires étudiées (Figure 24) mais aussi des cytokines anti-inflammatoires TGF- $\beta$  et l'IL-10. De manière intéressante, nos résultats indiquent que l'infection chronique par la souche Pru-Luc-GFP induit une réponse cytokinique 10 fois plus élevée que l'infection par la souche Pru-GRA6-OVA pour l'IL-12 et l'IL-1 $\beta$ , et 5 fois plus élevée pour l'IL-6. Cependant les niveaux de l'IFN $\gamma$  restent élevés pour les deux types d'infection, avec un taux plus important pour la souche Pru-GRA6-OVA.

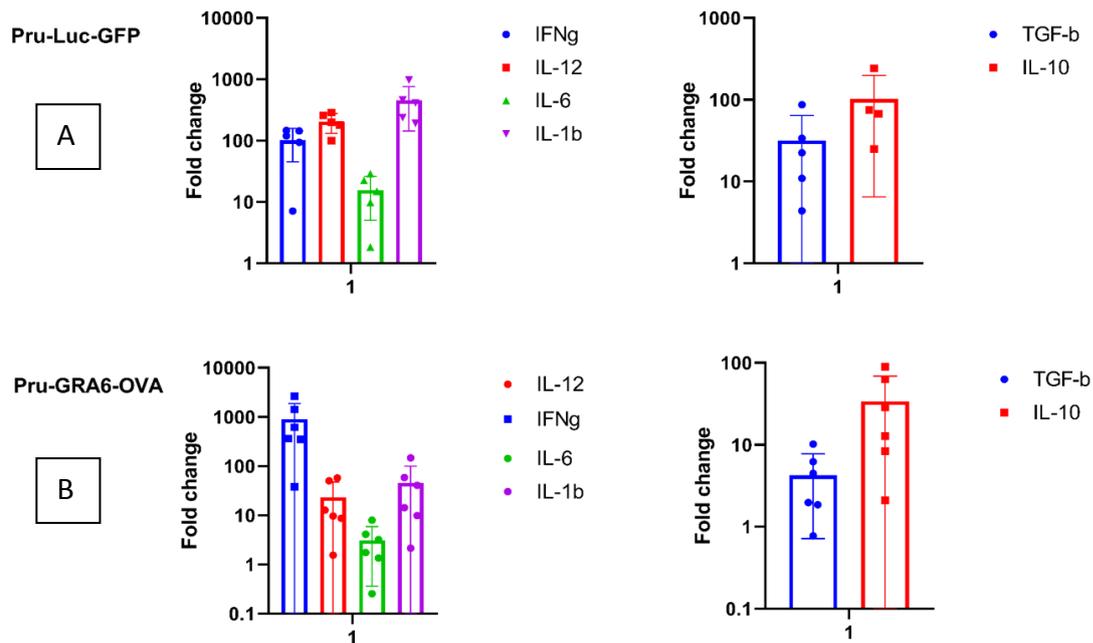
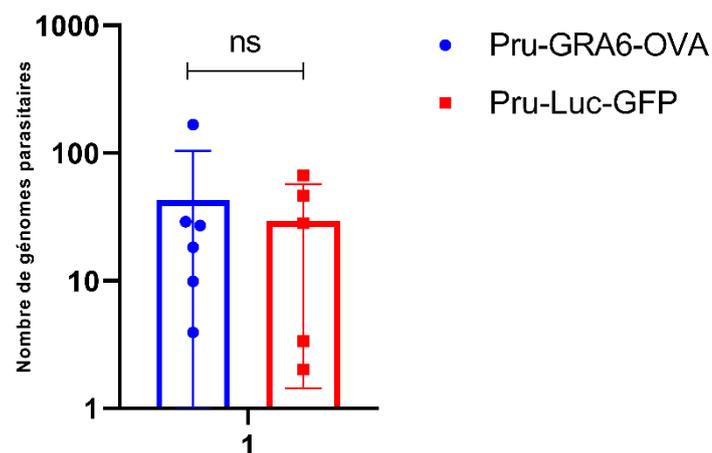


Figure 24 : **Modulation de l'expression des cytokines pro-inflammatoires et anti-inflammatoires lors d'une infection chronique.** Analyse par RT-qPCR de l'expression de cytokines pro-inflammatoires (IFN $\gamma$ , IL-12, IL-6, IL-1b) ainsi que des cytokines anti-inflammatoires (TGF- $\beta$ , IL-10) dans le cerveau de souris infectées pendant 6 mois par la souche Pru-Luc-GFP (A) (n= 5 souris) ou Pru-GRA6-OVA (B) (n=6 souris). Les résultats sont exprimés en Fold change (échelle Log) par rapport aux souris non infectées.

De plus, la quantification de la quantité de parasites présents dans le cerveau des souris infectées chroniquement pendant 6 mois montre que les deux souches Pru-Luc-GFP et Pru-GRA6-OVA ne présentent pas de différence significative dans le nombre de génomes parasites détectés par  $\mu\text{g}$  d'ADN de cerveau (Figure 25). Il est à noter que sur les 8 souris infectées par la souche Pru-GRA6-OVA, le parasite n'a été détecté dans le cerveau que de 6 souris. Seules, ces 6 souris ont été considérées dans notre analyse. Toutes les souris infectées par la souche Pru-Luc-GFP présentaient des parasites dans le cerveau après 6 mois d'infection. Nous pouvons également remarquer que la charge parasitaire persistante après 6 mois d'infection est très hétérogène entre les souris infectées et ceci pour les deux types de souches. Cette hétérogénéité de charge parasitaire devrait être corrélée à une hétérogénéité dans la réponse inflammatoire et/ou l'activation de la voie KP.

Par ailleurs, la quantification du nombre de parasites par amplification d'une séquence génomique retrouvée chez les tachyzoïtes et les bradyzoïtes ne reflète donc pas le

nombre de kystes présents dans le cerveau. De ce fait, il serait intéressant de mesurer la charge kystique dans le cerveau après 6 mois d'infection. Dans une expérience préliminaire d'infection chronique à 6 mois avec la souche Pru-Luc-GFP, nous avons détecté une faible quantité de kystes (de l'ordre de 50 kystes /cerveau) dans 2/5 souris étudiées. Ceci suggère que l'infection est très bien contrôlée sur le long terme aboutissant à une faible quantité de kystes dans le cerveau difficile à détecter par notre méthode de purification (voir chapitre 3.3 M&M). L'utilisation d'autres souches de type II de *T. gondii* qui sont plus kystogènes (Me49 ou 76K) sera tentée pour étudier plus en détails ce processus et améliorer notre méthode de détection. Par ailleurs, nous mesurerons l'expression de gènes spécifiquement exprimés au stade bradyzoïte (BAG1, Eno1) et tachyzoïte (SAG1) par RTqPCR sur ARN total de cerveau infecté.



**Figure 25 : Charge parasitaire dans le cerveau des souris infectées.** Nombre de génomes parasites par  $\mu\text{g}$  d'ADN génomique de cerveau dans les souris infectées pendant 6 mois avec les souches Pru-Luc-GFP (n= 5) et Pru-GRA6-OVA (n=6) déterminé par qPCR. Student T-test \*  $p < 0,05$ .

## 2.2 Modulation de la voie des kynurénines lors de l'infection chronique par *T. gondii*

La mise en place d'une réponse pro-inflammatoire persistante dans le cerveau des souris C57BL/6 après 6 mois d'infection, notamment la production d'IFN $\gamma$ , pourrait être corrélée à une activation de la voie des kynurénines. Nous nous sommes intéressés à trois enzymes clés de cette voie : IDO-1, KAT-II et KMO dont l'expression est induite par l'IFN $\gamma$  (pour IDO-1 et KMO, voir chapitre 3 Introduction) et contrôle les ratios KYN/TRP (IDO-1) et la production de KYNA (KATII) et QUIN (KMO). L'activation de la voie KP devrait donc aboutir à une augmentation du ratio KYN/TRP ainsi que des niveaux de 3-HK, KYNA et QUIN, métabolites neuroactifs qui pourraient impacter les fonctions neuronales.

Nous avons donc examiné l'expression d'IDO-1, KAT-II et KMO par RTqPCR sur l'ARN total extrait d'un lysat de cerveau de souris C57BL/6 infectées pendant 6 mois par la souche Pru-luc-GFP ou par la souche Pru-GRA6-OVA comparé aux souris non-infectées de même âge.

Nos résultats indiquent que l'infection chronique par les souches Pru-Luc-GFP et Pru-GRA6-OVA est corrélée à une forte augmentation de l'expression d'IDO-1, KAT-II et KMO dans le cerveau des souris infectées par rapport aux souris non-infectées, indiquant une activation de la voie KP (Figure 26). Cette activation semble légèrement plus importante pour la souche Pru-GRA6-OVA (peut-être liée à des niveaux plus fort d'IFN $\gamma$  produit dans le cerveau de ces souris) mais ne démontre pas de différence significative entre les deux souches étudiées (Figure 27). Cependant, il est important de remarquer que les valeurs d'expression de IDO-1, KATII et KMO après infection par la souche Pru-GRA6-OVA sont très dispersées, reflétant très probablement une charge parasitaire très hétérogène entre les souris après 6 mois d'infection (Figure 25).

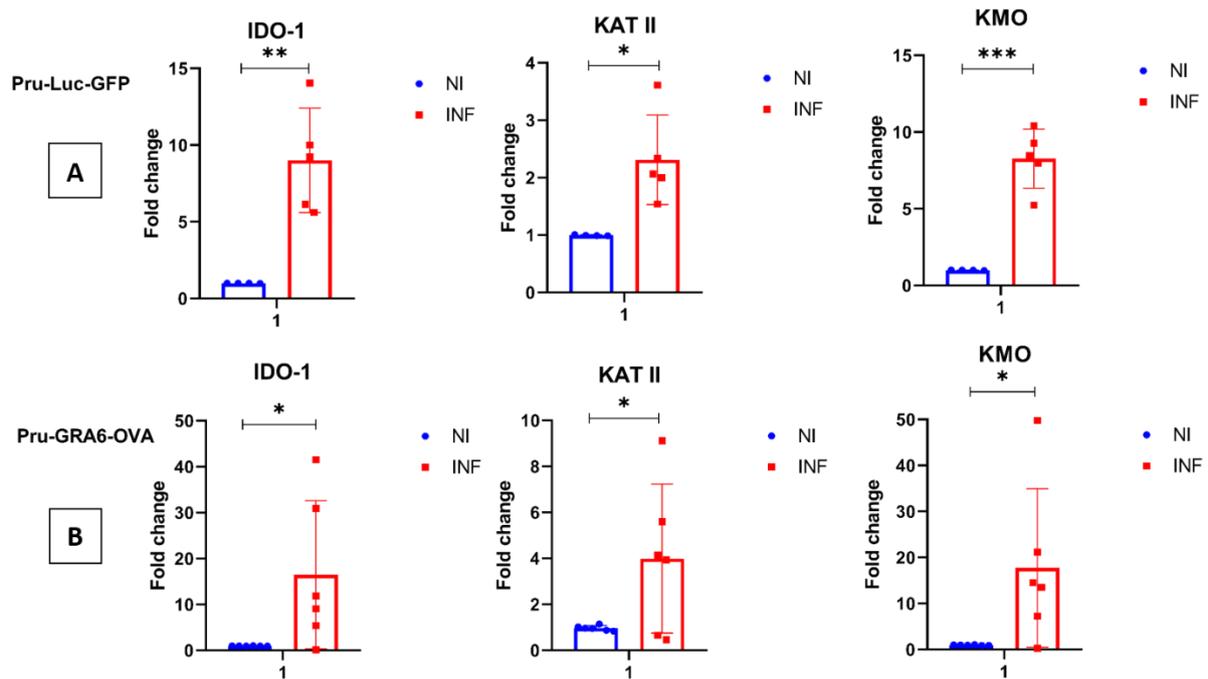


Figure 26 : **Modulation de la voie des kynurénines durant l'infection chronique**, Analyse par RT-qPCR de l'expression de IDO-1, KATII et KMO dans le cerveau de souris infectées pendant 6 mois par la souche Pru-Luc-GFP (A) (n= 5 souris) ou Pru-GRA6-OVA (B) (n=6 souris). Les résultats sont exprimés en Fold change (échelle linéaire) par rapport aux souris non infectées. Student T-test \* p<0,05; \*\* p<0,01; \*\*\* p<0,001.

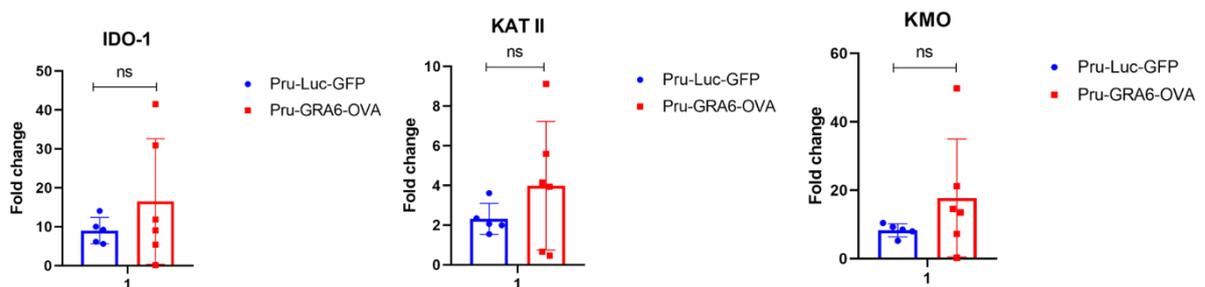


Figure 27 : **Comparaison de la modulation de la voie des kynurénines par les deux souches parasitaires**. Student T-test, ns : p>0,05 ; \* p<0,05.

Afin de confirmer l'activation de la voie KP mesurée par l'expression de certaines enzymes clés de cette voie, le dosage des métabolites de la voie KP dans le cerveau des souris infectées a été effectué par LC-MS/MS (collaboration avec B. Hennart et D. Allorge, laboratoire de toxicologie, CHRU Lille, FRANCE).

---

Nos résultats montrent une augmentation significative du ratio KYN/TRP (K/T) dans le cerveau des souris C57BL/6 infectées par la souche Pru-luc-GFP par rapport aux souris non-infectées, suggérant une augmentation de la dégradation du Trp en KYN, en accord avec une augmentation de l'expression de IDO-1. De plus une augmentation significative des taux du métabolite 3-HK a été observée dans les souris infectées (Figure 28A) en accord avec une augmentation de l'expression de l'enzyme KMO suggérant une l'activation des microglies (Figure 26).

Le KYNA et le QUIN n'ont pas pu être détectés au sein des cerveaux de souris infectées. Cette absence de détection pourrait s'expliquer soit, par une concentration de ces métabolites en dessous du seuil de détection, soit à une limitation dans la détection de ces métabolites par les techniques utilisées. En particulier, la détection du QUIN pourrait nécessiter l'utilisation d'une chromatographie en phase gazeuse et non liquide.

Ces résultats ont été comparés avec l'infection par la souche Pru-GRA6-OVA. Les résultats obtenus avec la souche Pru-GRA6-OVA sont similaires à ceux obtenus pour la souche Pru-Luc-GFP (Figure 28B), de manière corrélée à l'induction de l'expression des enzymes IDO-1, KATII et KMO qui n'est pas significativement différente entre ces deux souches (Figure 26). En conclusion, nous n'avons pas pu mettre en évidence une corrélation entre le niveau d'inflammation locale dans le cerveau induit par l'infection et l'induction de la voie KP, qui reste similaire entre les deux souches.

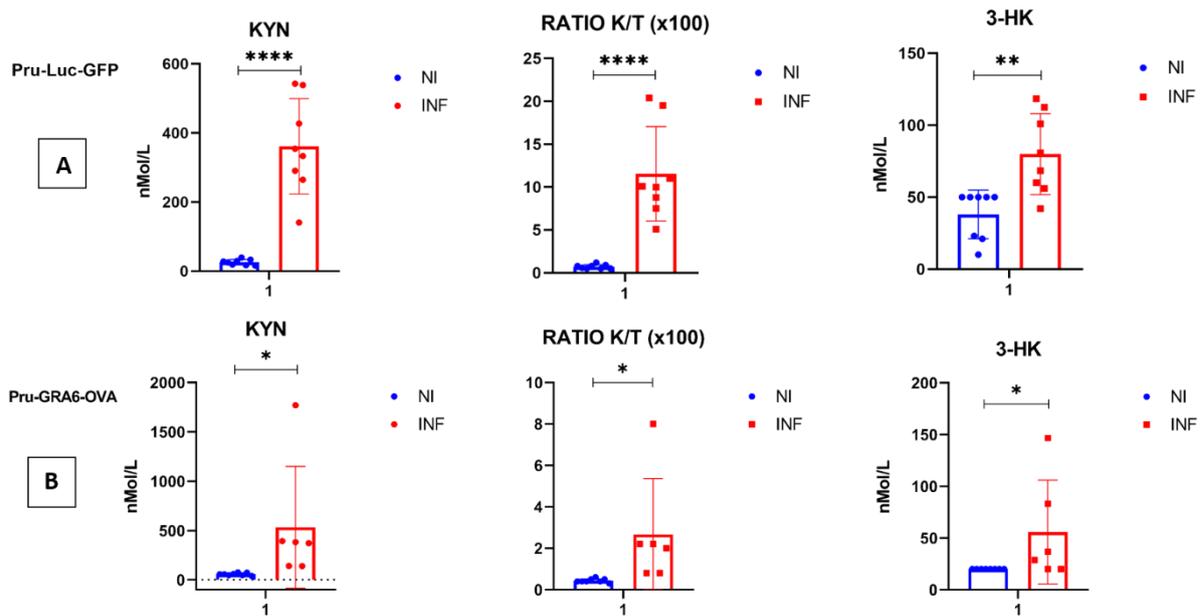
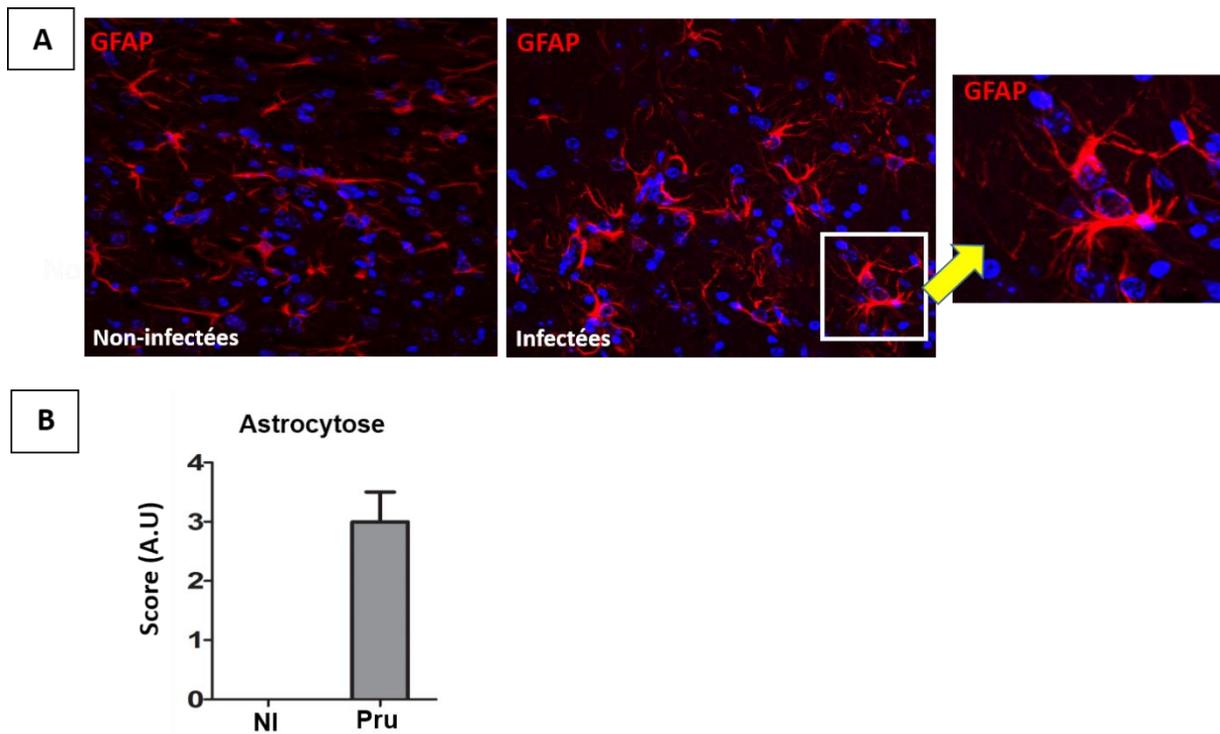


Figure 28: **Dosage des métabolites de la voie des kynurénines.** Dosage du KYN et 3-HK et mesure du ratio KYN/TRP dans le cerveau des souris non infectées (bleu) ou infectées (rouge) pendant 6 mois avec la souche Pru-Luc-GFP (n=7) (A) et Pru-GRA6-OVA (n=6) (B). Résultat exprimé en nMol/L. Student T test ns p>0,05; \* p<0,05; \*\* p<0,01; \*\*\* p<0,001; \*\*\*\*p<0,0001.

### 2.3 Activation des astrocytes dans le cerveau

Le marquage par immunohistochimie de la protéine GFAP (Figure 29) sur coupes de cerveaux de souris C57BL/6 infectées par la souche de type II Pru-luc-GFP pendant 6 mois indique une activation des astrocytes qui est révélée par des changements morphologiques importants, notamment une augmentation du nombre et de la taille des dendrites (Figure 29). Une analyse quantitative sur plusieurs sections montre une augmentation de l'astrocytose (exprimée ici par un score de lésions) qui reflète l'activation des astrocytes (Kunkler and Kraig, 1997). Cette analyse sera plus détaillée dans un futur proche par la quantification du marquage GFAP par microscopie confocale sur coupes de souris infectées et non infectées, incluant la souche Pru-GRA6-OVA.



**Figure 29: A Changements morphologiques des astrocytes.** Le marquage GFAP dans les coupes de cerveaux issus de souris infectées durant 6 mois par la souche Pru-Luc-GFP montre des changements morphologiques importants des astrocytes avec augmentation du nombre et de la taille des dendrites astrocytaires par rapport aux souris non infectées. **B Astrocytose.** Graphe montrant le score de lésion (de 0 à 4) calculé sur les coupes de cerveau de souris infectées 6 mois par la souche Pru-Luc-GFP (n=3 souris) par rapport aux souris non infectées (n=3 souris) après coloration des coupes au Giemsa et HE (Hématoxyline/Eosine). Résultat exprimé en unité arbitraire AU.

Pour résumer cette partie menée *in vivo*, nos résultats indiquent que l'infection chronique de souris C57BL/6 par les souches Pru-luc-GFP et Pru-GRA6-OVA durant 6 mois induit l'établissement d'un environnement inflammatoire caractérisé par une augmentation de l'expression de cytokines pro-inflammatoires notamment l'IFN $\gamma$ , l'IL-12, l'IL-6 et l'IL-1 $\beta$ , qui semble plus fort pour la souche Pru-Luc-GFP comme attendu. Nos résultats indiquent également que l'infection est corrélée à une forte augmentation de l'expression d'IDO-1, KAT-II et KMO dans le cerveau des souris infectées par rapport aux souris non-infectées, suggérant donc une activation de la voie KP. Ces résultats ont été confirmés par le dosage des métabolites de la voie KP dans le cerveau de souris infectées. Nous avons en effet détecté une augmentation du

kynurénine (KYN), 3-hydroxykynurénine (3-HK) ainsi que du ratio K/T. L'activation de la voie KP semble similaire entre les deux souches et n'a donc pas pu être corrélée au niveau d'inflammation induit.

### 3 Influence du parasite *T. gondii* sur l'activité des astrocytes

Les résultats obtenus in vivo sur des souris C57BL/6 indiquent que *T. gondii* induit une réponse immunitaire pro-inflammatoire et anti-inflammatoire dans le cerveau ainsi que l'activation de la voie des kynurénines, possiblement dans les astrocytes (voie du KYNA par les KATs) et les microglies (voie du QUIN par KMO).

Afin d'explorer cette hypothèse, nous nous sommes intéressés dans cette partie du projet aux astrocytes, cellules immunitaires les plus abondantes du système nerveux central et impliquées notamment dans la régulation de la réponse inflammatoire dans le cerveau. Ils constituent aussi la principale source du KYNA. De ce fait, nous avons évalué la réponse astrocytaire suite à l'infection par *T. gondii*, en particulier la modulation de la voie KP.

#### 3.1 Analyse phénotypique des astrocytes primaires infectées par *T. gondii*

Nous avons dans un premier temps caractérisé les réponses astrocytaires lors de l'infection. Cette étude a été menée uniquement avec la souche Pru-Luc-GFP. Par ailleurs, cherchant à mimer l'environnement cytokinique initié lors de la pénétration des parasites dans le cerveau, notamment la sécrétion précoce de l'IFN $\gamma$  par les LTs, nous avons également étudié ces réponses lors de l'infection d'astrocytes pré-activés par l'IFN $\gamma$  qui joue un rôle clé dans l'activation des défenses anti-parasitaires (voir introduction chapitre 2.3 et 2.4).

Les cultures d'astrocytes primaires ont été préparées par le laboratoire de S. Pied (CIIL, Institut Pasteur de Lille) dans le cadre d'une collaboration sur un projet portant sur les co-infections *T. gondii* / *Plasmodium*. Avant chaque expérience d'infection, nous avons analysé par cytométrie en flux la pureté de la culture en astrocytes après

---

marquage par le marqueur astrocytaire GLAST (Figure 30). Seules les cultures montrant un minimum de 90 % de cellules positives pour le marqueur GLAST ont été considérées pour les expériences d'infection. Les cultures d'astrocytes ont été infectées à différentes MOI par les parasites de la souche Pru-Luc-GFP et le pourcentage d'infection déterminé par cytométrie en flux à l'aide du signal GFP (Figure 30). Typiquement, une MOI de 4 aboutit à un pourcentage d'infection de l'ordre de 80% (Figure 30) qui a été celle choisie pour mesurer la réponse cytokinique (voir Résultats chapitre 3.2).

Par ailleurs, l'activation des astrocytes par l'IFN $\gamma$  a été vérifiée par l'induction de la phosphorylation du facteur de transcription STAT1. L'analyse par cytométrie en flux (marquage intracellulaire par des anticorps anti-phospho-STAT1) a confirmé une augmentation de la phosphorylation de STAT1 après incubation des astrocytes par l'IFN $\gamma$  (Figure 30). L'infection par la souche Pru-Luc-GFP n'induit pas la phosphorylation de STAT1 et ne module pas le niveau de phosphorylation induit par la pré-activation à l'IFN $\gamma$ . Ceci confirme les données de la littérature démontrant que les parasites n'activent pas la voie STAT1 mais au contraire bloque l'expression des gènes STAT1-dépendant en bloquant l'activité du complexe de transcription lié à l'ADN sans moduler la phosphorylation de la protéine (Bando et al., 2018; Gay et al., 2016) (voir introduction chapitre 2.2).

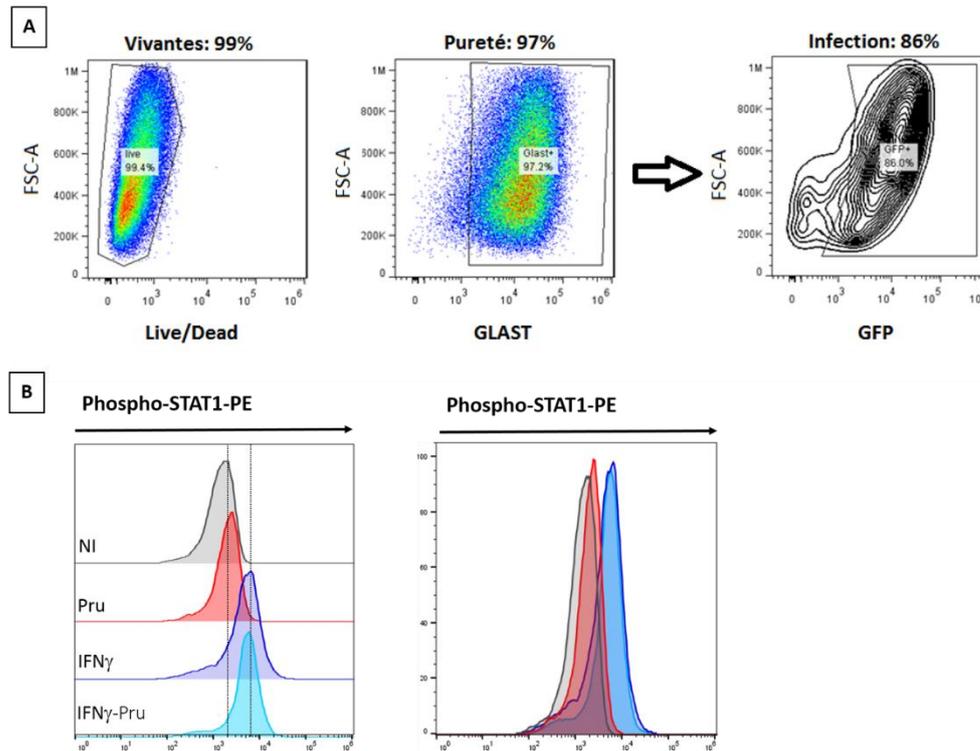


Figure 30 : **A- Caractérisation des astrocytes infectés.** L'analyse par cytométrie en flux se fait sur les astrocytes vivants identifiés par le marqueur Live/Dead. Les résultats montrés ici en exemple indiquent une pureté de 97% de la culture (marqueur GLAST). Afin de vérifier le pourcentage d'infection, le gating se fait sur les cellules GFP+. Dans l'exemple montré, nos résultats indiquent un pourcentage d'infection de 86% pour une MOI de 4. **B- Vérification de l'activation astrocytaire par l'IFN $\gamma$  par la mesure de la phosphorylation de STAT1.** L'utilisation d'anticorps anti-phospho-STAT1-PE en cytométrie en flux montre que l'infection par la souche Pru-luc-GFP n'induit pas la phosphorylation de STAT1 à l'inverse du traitement par l'IFN $\gamma$ . Ici est montré une expérience représentative sur n=3-4.

### 3.2 Réponses astrocytaires induites par l'infection

Afin d'évaluer les réponses des astrocytes suite à l'infection, deux paramètres ont été évalués, l'induction de marqueurs d'activation (GFAP et CMH-I) et les réponses cytokiniques pro- et anti-inflammatoires.

L'analyse par cytométrie en flux de l'expression des molécules du CMH-I en surface des astrocytes indique que l'infection n'induit pas l'expression des molécules de CMH-I au contraire de l'IFN $\gamma$  (Figure 31). Le rôle de l'IFN $\gamma$  ainsi que l'IFN- $\alpha$  et l'IFN- $\beta$  dans la stimulation de l'expression des molécules de CMH a été précédemment montré dans d'autres types cellulaires (Keskinen et al., 1997; Raval et al., 1998). De manière intéressante, nos résultats préliminaires suggèrent que la présence du parasite réduit de manière dose-dépendante l'expression des molécules du CMH-I

induite par l'IFN $\gamma$ . En effet, l'augmentation du taux d'infection de 35% à 80% corrèle avec une diminution (exprimée en MFI, Median) du signal CMH-I à la surface des astrocytes infectés (Figure 31). De plus, cette diminution est observée principalement dans les astrocytes GFP<sup>+</sup> infectés par rapport aux astrocytes non-infectés GFP<sup>-</sup> (Figure 31). Ces résultats restent à être confirmés.

Ce résultat est en corrélation avec d'autres études ayant montré un rôle de l'effecteur parasite *TglST* dans le blocage de l'expression des gènes induits par la voie IFN $\gamma$  (Bando et al., 2018) ( Introduction chapitre 2.2).

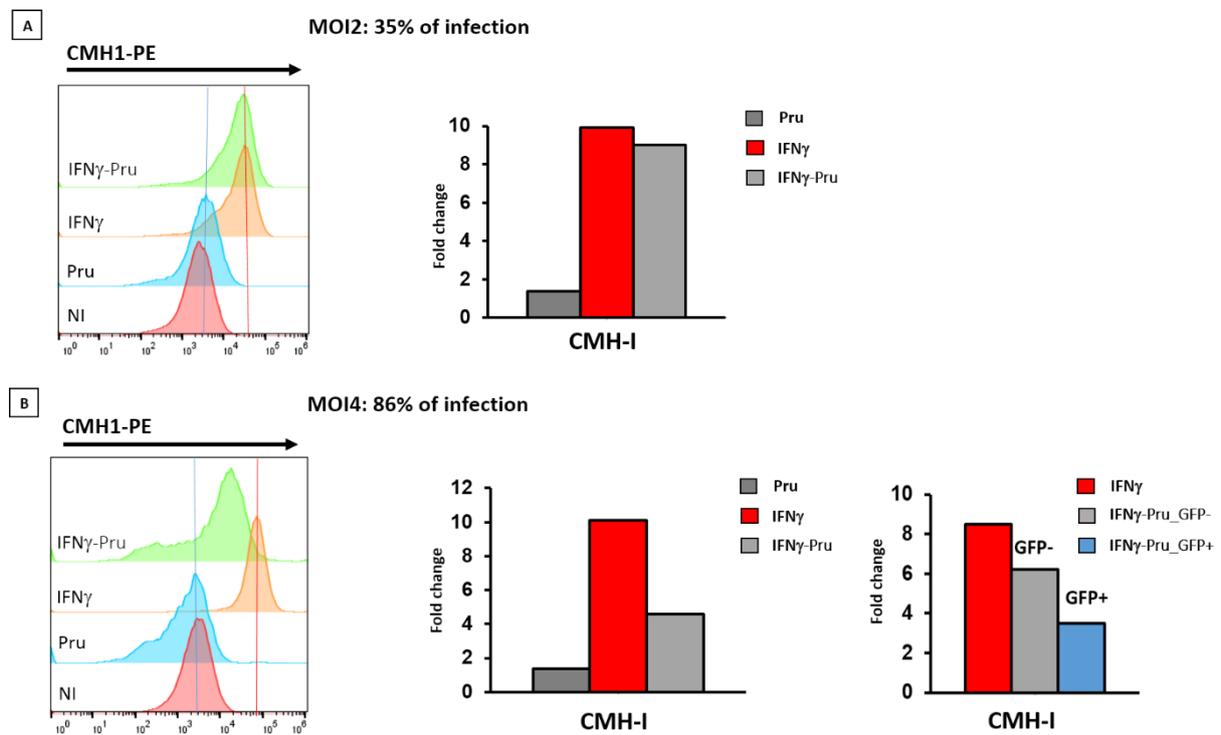


Figure 31: **Modulation de l'expression des molécules du CMH-I par *T. gondii*.** **A-** Analyse de l'expression des molécules du CMH-I par cytométrie en flux dans les astrocytes non-infectés (NI), infectés par les parasites Pru-Luc-GFP (Pru) à une MOI 2 aboutissant à 35% d'infection, stimulés à l'IFN $\gamma$  (IFN $\gamma$ ), ou stimulés à l'IFN $\gamma$  puis infectés (IFN $\gamma$ -Pru). Le graphe à droite montre la quantification de la MFI (Mean Fluorescence Intensity, Median) mesurée pour le signal MHC-I-PE dans les conditions indiquées. **B-** Analyse de l'expression des molécules du CMH-I par cytométrie en flux dans les astrocytes non-infectés (NI), infectées par les parasites Pru-Luc-GFP (Pru) à une MOI 4 aboutissant à 86% d'infection, stimulés à l'IFN $\gamma$  (IFN $\gamma$ ), ou stimulés à l'IFN $\gamma$  puis infectés (IFN $\gamma$ -Pru). Le graphe du milieu montre la quantification de la MFI (Mean Fluorescence Intensity, Median) mesurée pour le signal CMH-I-PE dans les conditions indiquées. Le graphe à droite montre la MFI mesurée dans les astrocytes activés par l'IFN $\gamma$  infectées (GFP<sup>+</sup>) et les non-infectés (GFP<sup>-</sup>) par comparaison aux astrocytes stimulés à l'IFN $\gamma$ . Une MOI de 4 a été utilisée dans cette expérience qui montre une inhibition de l'expression prépondérante dans les parasites infectés.

La protéine GFAP est un composant des filaments intermédiaires des astrocytes surexprimée durant leur activation et pendant l'astrocytose (Brahmachari et al., 2006) et qui a été montrée comme impliquée dans la restriction de la dissémination parasitaire (Stenzel et al., 2004). L'étude de l'expression par cytométrie en flux de la molécule GFAP n'a pas montré d'augmentation de cette protéine lors de l'infection, ni après activation par l'IFN $\gamma$  (Figure 32). Cependant, l'étude de sa localisation par immunofluorescence au sein des astrocytes infectés montre un recrutement spécifique des filaments intermédiaires GFAP-positifs autour de la vacuole parasitophore (Figure 33) et ceci en l'absence ou en présence d'IFN $\gamma$ , montrant donc que ce recrutement n'est pas dépendant de l'activation des astrocytes (Figure 33). De plus l'utilisation de parasites tués par la chaleur (Heat-Killed) montre aussi un recrutement de la GFAP autour des phagosomes (Figure 33) suggérant ainsi que ce recrutement est une réponse de l'hôte et non un phénomène induit par la sécrétion d'effecteurs parasitaires à la membrane de la VP.

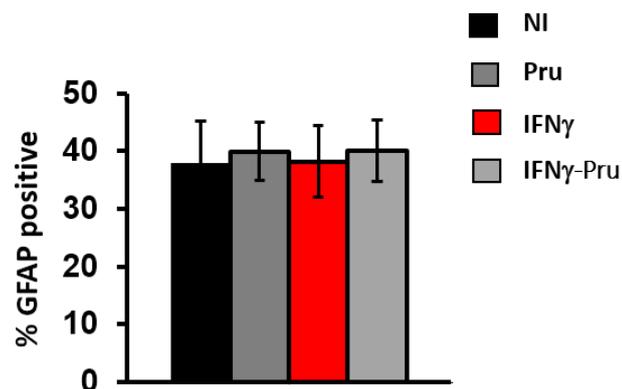


Figure 32 : **Pourcentage d'astrocytes positifs pour la protéine GFAP.** Analyse par cytométrie en flux du pourcentage d'astrocytes positifs pour le marqueur GFAP, non infectés (NI), infectés par la souche Pru-Luc-GFP (Pru) à une MOI de 4, stimulés avec de l'IFN $\gamma$  et stimulés par l'IFN $\gamma$  et infectés (IFN $\gamma$ -Pru).

Par ailleurs, l'activation des astrocytes par l'IFN $\gamma$  est corrélée avec une perte du signal GFP des parasites, associée à une modification de leur morphologie, caractérisant typiquement l'induction de leur mort (Figure 33). Cette observation est en accord avec les données de la littérature qui ont montré que l'IFN $\gamma$  induit les défenses intrinsèques des astrocytes infectés (voir introduction chapitre 2.4), notamment l'expression des IRG/GBP (IGTP) et la dégradation du tryptophane par l'induction IDO-1.

En conclusion, l'infection des astrocytes pré-activés par l'IFN $\gamma$  semble conduire (par la sécrétion d'effecteurs parasites) à une inhibition de certaines fonctions impliquées dans la clairance du parasite, notamment la présentation antigénique par le CMH-I et certaines voies de défenses intracellulaires induites par la voie IFN $\gamma$ /STAT1, comme l'induction d'IDO-1 (Voir chapitre 3.4).

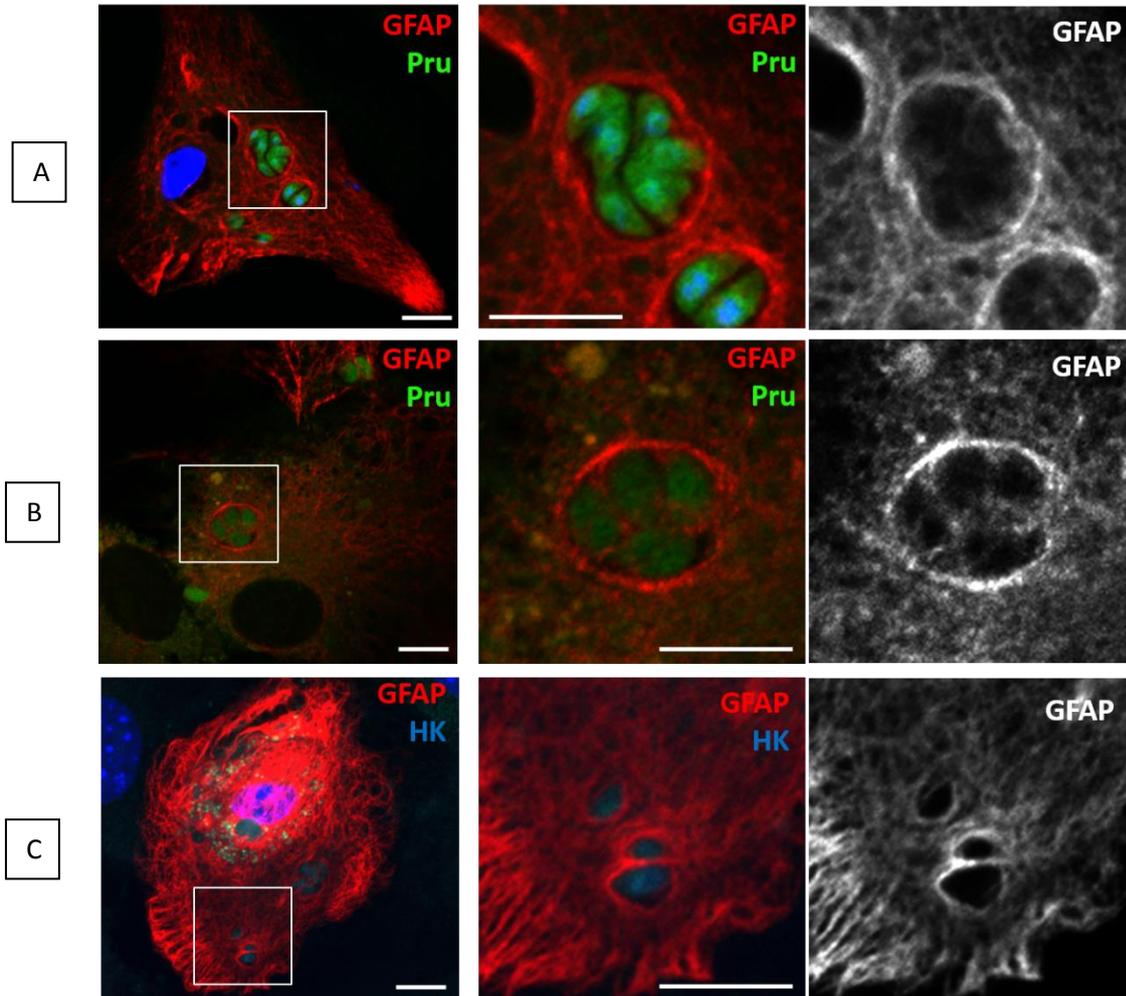


Figure 33 : **Immunofluorescence des astrocytes infectés par le parasite *T.gondii***. Les marquages par immunofluorescence sur astrocytes infectés par les parasites Pru-luc-GFP (vert) pendant 16h montrent une localisation de la protéine GFAP autour de la vacuole parasitophore, **A-** en absence de l'IFN $\gamma$  et **B-** en présence d'IFN $\gamma$ . En présence d'IFN $\gamma$  le signal GFP des parasites s'atténue et leur morphologie est altérée caractérisant typiquement l'induction de leur mort. **C-** L'utilisation de parasite Heat/Killed (HK) montre un recrutement de la GFAP autour du phagosome. Rouge : GFAP ; Bleu : DAPI, noyaux cellulaires et parasites; Vert (GFP) parasites. Barre= 5 $\mu$ m.

### 3.3 Réponse cytokinique des astrocytes infectés

Afin de caractériser la réponse cytokinique des astrocytes induite par l'infection, nous avons quantifié l'expression des cytokines pro- and anti-inflammatoires par RTqPCR. Nos résultats montrent que l'infection par la souche Pru-Luc-GFP (MOI4) induit fortement l'expression des cytokines pro-inflammatoires IL-6 et IL-12p40. La cytokine anti-inflammatoire TGF- $\beta$  est également induite suite à l'infection, au contraire de l'IL-10 dont l'expression augmente uniquement après stimulation des astrocytes par l'IFN $\gamma$ . De plus, la pré-stimulation des astrocytes par l'IFN $\gamma$  n'a pas d'impact sur la production des cytokines pro-inflammatoires induites par l'infection (Figure 34). La production et sécrétion des cytokines pro--inflammatoires IL-12p40 et IL-6 a pu être également confirmée par test Elisa sur le surnageant de culture des astrocytes infectés en absence ou présence d'IFN $\gamma$  (Figure 34).

En conclusion, l'infection des astrocytes *in vitro* induit une réponse pro- et anti-inflammatoire comme précédemment décrit dans le cerveau des souris infectées chroniquement par *T. gondii*. Nos résultats suggèrent également que l'IFN $\gamma$  pourrait être important non seulement pour activer les défenses intrinsèques des astrocytes contre le parasite mais aussi pour induire une réponse anti-inflammatoire, cruciale pour contrebalancer l'effet délétère d'une hyper-inflammation sur les tissus cérébraux.

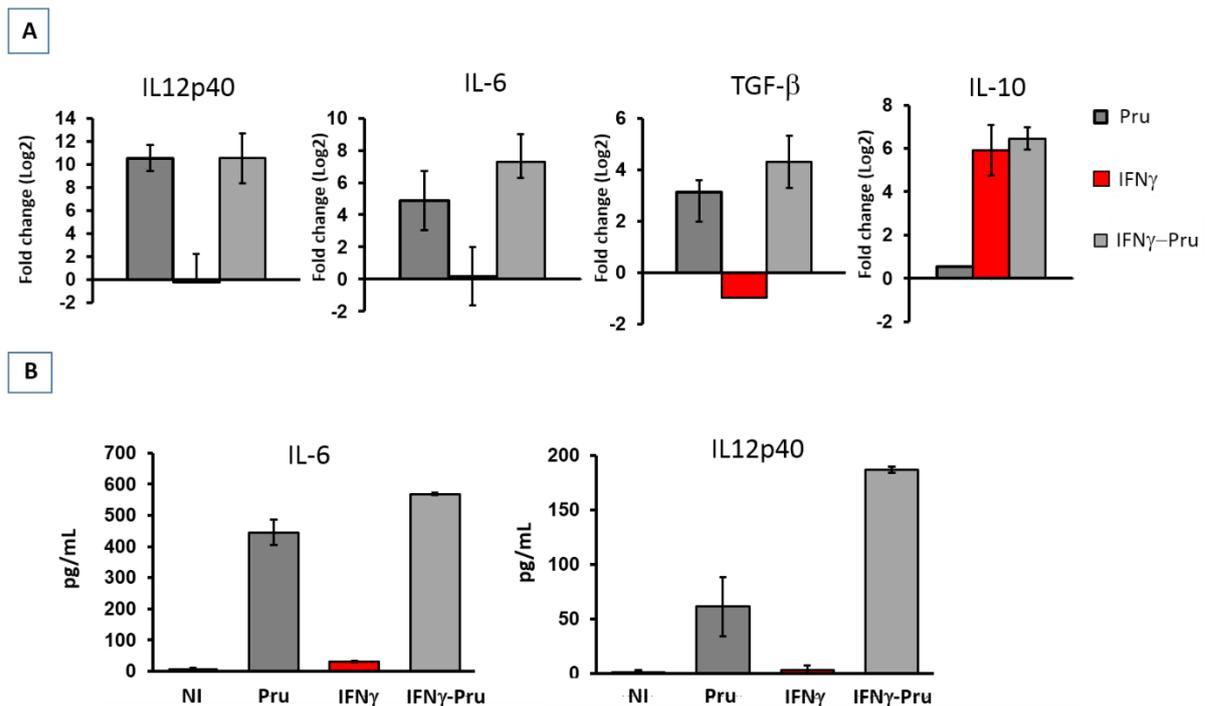


Figure 34 : **Modulation de la réponse cytokinique des astrocytes par l'infection.** **A** - Analyse par RTqPCR de l'expression de cytokines pro-inflammatoires (IL-12p40, IL-6) ainsi que de cytokines anti-inflammatoires (TGF- $\beta$ , IL-10) dans les astrocytes infectés par la souche Pru-Luc-GFP pendant 16h (Pru), stimulés avec de l'IFN $\gamma$  ou stimulés par l'IFN $\gamma$  et infectés pendant 16h (IFN $\gamma$ -Pru). (n= 3 cultures indépendantes d'astrocytes en duplicats d'infection/stimulation). Les résultats sont exprimés en Fold change (Log 2) par rapport aux astrocytes non infectées. **B**- **Dosage par méthode ELISA des cytokines pro-inflammatoires** l'IL-6 (gauche) et l'IL-12p40 (droite) dans le surnageant de cultures des astrocytes non infectés (NI), infectés par la souche Pru-Luc-GFP pendant 16h (Pru), stimulés avec de l'IFN $\gamma$  et stimulés par l'IFN $\gamma$  et infectés pendant 16h (IFN $\gamma$ -Pru).

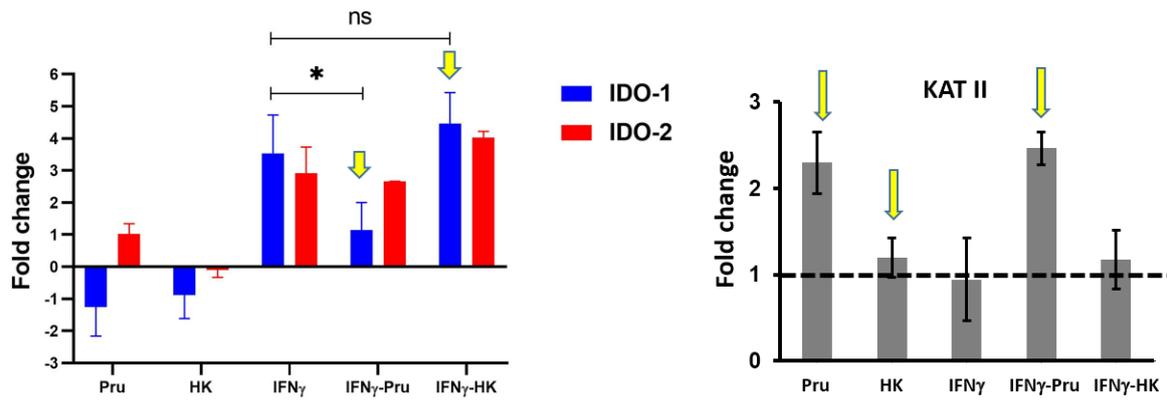
### 3.4 Modulation de la voie des kynurénines dans les astrocytes infectés

Nos résultats obtenus *in vivo* dans les souris infectées chroniquement par la souche Pru-Luc-GFP ont montré une induction de la voie KP (voir Résultats chapitre 2.2). La voie KP est préférentiellement induite au sein des astrocytes (voie du KYNA par les KATs) et des microglies (voie du QUIN par KMO). De plus, une des réponses effectrices antiparasitaires stimulée par l'IFN $\gamma$  et dépendante de STAT1 est l'induction de l'expression de l'enzyme IDO1 qui induit à son tour la dégradation du tryptophane. Le parasite étant auxotrophe pour cet acide aminé, la croissance parasitaire est altérée. Cette réponse n'a pas été étudiée dans les astrocytes et microglies infectés.

L'approche par RTqPCR sur astrocytes infectés ou non par la souche Pru-luc-GFP, traités ou non par l'IFN $\gamma$  a confirmé une induction de l'expression des gènes codant pour IDO-1 et IDO-2 dans les astrocytes non infectés et stimulés par l'IFN $\gamma$  (Figure 35). L'infection n'induit pas l'expression de ces gènes. Au contraire, l'infection diminue l'expression d'IDO-1 mais pas d'IDO-2 induites par l'IFN $\gamma$  (Figure 35). Un rôle potentiel de facteurs parasitaires sécrétés dans cette inhibition a été conforté par l'utilisation des parasites tués par la chaleur (Heat-Killed) pour lesquels aucune réduction d'expression du gène IDO-1 n'a été observée. Ce phénomène d'inhibition est similaire à celui observé pour l'expression des molécules du CMH-I stimulée par l'IFN $\gamma$ . Comme mentionné précédemment, la sécrétion du facteur *TgIST* pourrait activement réprimer l'expression des gènes STAT1-dépendants dont IDO1 et les molécules du CMH-I.

Contrairement à IDO-1 et IDO-2, l'IFN $\gamma$  n'induit pas l'expression de l'enzyme KATII, cependant l'infection entraîne une augmentation de l'expression de KATII qui semble être dépendante de l'invasion par des parasites vivants. En effet, l'incubation avec des parasites tués par la chaleur (Heat-Killed) n'est pas corrélée avec une augmentation de l'expression de KATII. L'augmentation de KATII par les parasites vivants pourrait être liée à la libération de facteurs parasitaires sécrétés stimulant la synthèse de KYNA, un métabolite anti-inflammatoire. Cependant, cette augmentation pourrait être une conséquence de l'activation des astrocytes suite à l'infection, notamment la production du ROS, connu pour activer l'expression de KATII afin d'induire une réponse anti-inflammatoire (Voir intro chapitre 3.1, Figure 18).

Il est à noter que l'expression de KATI, III, IV et KMO n'a pas été détectée par RTqPCR au sein des astrocytes infectés ou traités à l'IFN $\gamma$ . Mais ces résultats devront être confirmés, notamment par l'utilisation d'autres stimuli inflammatoires.



**Figure 35: Induction de la voie KP dans les astrocytes.** Niveau d'expression des gènes IDO-1, IDO-2 (à gauche) et KATII (à droite) mesurée par RTqPCR dans les astrocytes infectés par les parasites Pru-Luc-GFP (Pru), en présence de parasites morts Heat/Killed (HK), stimulés à l'IFN $\gamma$  (IFN $\gamma$ ), stimulés à l'IFN $\gamma$  puis infectés (IFN $\gamma$ -Pru) ou stimulés à l'IFN $\gamma$  en présence de parasites morts Heat/Killed (IFN $\gamma$ -HK). Résultats exprimés en Fold change par rapport à la condition non infectée. Student T test, ns p>0,05; \* p<0,05.

# Discussion et perspectives

# Discussion et perspectives

---

## Etude épidémiologique

Le but de l'étude épidémiologique que nous avons menée était d'examiner l'association possible entre une sérologie positive à *T. gondii* et la schizophrénie dans un échantillon de patients algériens hospitalisés en psychiatrie. Une séropositivité pour *T. gondii* a été diagnostiquée chez 52,9% des témoins sains en accord avec une précédente étude menée en 1977 faisant état d'une séroprévalence de 53% dans la population algérienne (Schneider et al., 1977). Le taux d'individus séropositifs pour *T. gondii* chez les patients souffrant de schizophrénie (70%) était statistiquement plus élevé que chez les témoins ( $p = 0,03789$ ) avec un OR calculé de 2,081. Ainsi, nos résultats suggèrent que l'infection à *T. gondii* augmente de 2 fois le risque de développer une schizophrénie, ce qui est cohérent avec des études antérieures réalisées en Tunisie et en Égypte (El-Sahn et al., 2005; Eshili et al., 2016) et avec l'OR identifié de 1.46 et 2.71 dans deux méta-analyses (Sutterland et al., 2015; Torrey et al., 2012). Notre étude a révélé que cette association était principalement le résultat de l'incidence plus élevée de *T. gondii* chez les patients schizophrènes de moins de 38 ans (OR = 2,715) par rapport aux patients de plus de 38 ans (OR = 1,270). En outre, chez les témoins sains, nous avons trouvé une augmentation significative de la séropositivité à *T. gondii* chez les sujets de plus de 41 ans ( $p = 0,002$ ) en accord avec une fréquence accrue attendue d'exposition au parasite avec le temps. En revanche, aucune association n'a été trouvée entre la séropositivité à *T. gondii* et le statut d'âge chez les patients atteints de schizophrénie ( $p = 0,23$ ) en raison du pourcentage élevé de sujets positifs à *T. gondii* de moins de 41 ans dans ce groupe. Ce résultat suggère que l'infection pourrait favoriser l'apparition de la schizophrénie chez les personnes jeunes susceptibles. Conformément à cette hypothèse, une récente étude à grande échelle menée au Danemark a révélé que la séropositivité à *T. gondii* est associée à la schizophrénie (OR = 1,47) mais une association encore plus forte (OR = 2,78) a été observée après exclusion des participants dont le diagnostic de schizophrénie a précédé la détection de la séropositivité pour *T. gondii*, renforçant l'hypothèse que l'infection pourrait être un facteur causal de l'apparition de la maladie (Burgdorf et al., 2019).

Les souches de *T. gondii* de type II établissent des infections persistantes dans le cerveau de leur hôte, formant des kystes intracellulaires dans les neurones. Il a été émis l'hypothèse que l'inflammation chronique de bas grade induite lors de la toxoplasmose cérébrale est associée à des altérations fonctionnelles neuronales, causées notamment par un déséquilibre des niveaux de neurotransmetteurs. Cette inflammation pourrait donc être un facteur augmentant le risque de développer une schizophrénie (Sorlozano-Puerto and Gutierrez-Fernandez, 2016). Cependant, notre étude repose sur la mesure des anticorps anti-*T. gondii* dans le sérum des patients, un marqueur d'une exposition antérieure au parasite mais pas de la présence de kystes dans le SNC, donc d'une infection chronique. L'équipe de RH Yolken a développé une méthode de détection de la présence de kystes tissulaires chez les souris et individus séropositifs à *T. gondii* consistant à mesurer les anticorps contre MAG1, une protéine parasitaire abondamment exprimée dans le kyste et la paroi du kyste (Ferguson and Parmley, 2002; Xiao et al., 2016). Il est important de noter que chez les humains, seule une fraction des individus ayant des preuves sérologiques d'une exposition antérieure à *T. gondii* présentaient une réponse positive aux anticorps MAG1 et donc, vraisemblablement, des kystes dans le SNC (Xiao et al., 2013). Ainsi, il pourrait être pertinent dans les études futures d'examiner l'association entre la schizophrénie et les niveaux d'IgG anti-MAG1 dans le but de déterminer le pourcentage de porteurs de kystes chez les patients séropositifs atteints de schizophrénie par rapport aux témoins séropositifs.

L'association établie entre la schizophrénie et la séroprévalence de *T. gondii* a motivé des essais cliniques visant à évaluer l'efficacité thérapeutique d'agents antiparasitaires (azithromycine, triméthoprime, artémisinine et artéméthér) chez les patients atteints de schizophrénie (Chorlton, 2017). Aucun de ces médicaments ne s'est avéré efficace pour atténuer les symptômes psychopathologiques. Cependant, aucun de ces médicaments anti-*T.gondii* couramment administrés n'a montré une efficacité pour éradiquer les kystes intraneuronaux chez les souris infectées de manière chronique, probablement en raison de la réduction du métabolisme des bradyzoïtes à croissance lente et du passage limité des drogues vers le SNC (Cerutti et al., 2020). Par conséquent, il pourrait être important de réévaluer l'efficacité de nouvelles drogues récemment développées qui sont efficaces pour réduire la viabilité des kystes in vitro

ou chez la souris (Cerutti et al., 2020; Martynowicz et al., 2019; Rutaganira et al., 2017) dans le traitement de la schizophrénie.

Fait intéressant, nous avons constaté que les niveaux d'IgG anti-*T. gondii* chez les patients atteints de schizophrénie établie sont significativement réduits par rapport aux témoins sains (Figure 2). Il est possible que certains des médicaments utilisés pour traiter la schizophrénie aient un impact sur les niveaux d'anticorps comme proposé dans une autre étude (Leweke et al., 2004) ou sur la persistance des parasites dans le cerveau. La baisse des taux d'anticorps pourrait être notamment causé par l'effet immunosuppresseur de certains traitements antipsychotiques (May et al., 2019). Soutenant un effet direct sur la viabilité des parasites, il a été démontré que l'antipsychotique halopéridol et le stabilisateur d'humeur, l'acide valproïque, inhibent la croissance de *T. gondii* in vitro (Jones-Brando et al., 2003). En outre, les traitements antipsychotiques pourraient également avoir un impact sur la charge kystique en modulant indirectement l'homéostasie cérébrale. En effet, il a été rapporté que la persistance de *T. gondii* dans le SNC est corrélée à une augmentation des niveaux de dopamine, de glutamate et de KYNA, modifiant ainsi les fonctions neuronales (Parlog et al., 2015). Il n'est pas encore élucidé si certains de ces changements métaboliques sont induits par le parasite via des effecteurs sécrétés, mais en ciblant des voies similaires les médicaments antipsychotiques pourraient influencer la persistance de *T. gondii* dans le SNC. Des preuves supplémentaires d'une interférence possible entre *T. gondii* et les médicaments antipsychotiques sont étayées par l'observation d'une augmentation de la séroprévalence de *T. gondii* chez les personnes atteintes de formes de schizophrénie résistantes aux traitements antipsychotiques (Vlatkovic et al., 2018) par rapport aux patients répondant aux traitements.

Ainsi, une meilleure compréhension de la relation entre l'infection à *T. gondii* et la physiopathologie de la schizophrénie pourrait aider à prévenir cette maladie dévastatrice en développant de nouvelles approches de traitement pharmacologique.

## Réponse inflammatoire induite lors de la toxoplasmose chronique

Cette partie du projet nous a permis dans un premier temps de caractériser le profil inflammatoire dans le cerveau de souris C57BL/6 induit par le parasite *T. gondii* après

6 mois d'infection chronique. Nous avons choisi de mener cette étude préliminaire à un temps long de 6 mois parce qu'une des perspectives majeures de ce travail sera d'explorer le rôle de l'induction de la voie des kynurénines par l'infection dans l'établissement de mécanismes de neuro-dégénérescence pouvant aboutir à des troubles cognitifs. En effet, il a été préalablement montré par d'autres équipes que l'infection chronique par des souches de type II de *T. gondii* entraîne une perte neuronale par des mécanismes qui restent partiellement élucidés (Parlog et al., 2015; Torres et al., 2018) et qui pourraient être liés à l'établissement d'une neuroinflammation chronique (Boillat et al., 2020; David et al., 2016; Martynowicz et al., 2019) et à la dérégulation des taux de certains neurotransmetteurs tels que le glutamate et la dopamine (David et al., 2016; Henriquez et al., 2009). Ce mécanisme de neuro-dégénérescence a pu être corrélé à des changements comportementaux des souris infectées (Boillat et al., 2020; Martynowicz et al., 2019; Parlog et al., 2015; Torres et al., 2018).

Nos résultats indiquent que l'infection chronique par les souches de type II Pru-Luc-GFP and Pru-GRA6-OVA aboutit à l'établissement d'une réponse pro-inflammatoire chronique au sein du SNC caractérisée par la production de plusieurs cytokines pro-inflammatoires incluant l'IFN $\gamma$ , l'IL-12, l'IL-6 et l'IL-1 $\beta$ , probablement par différents types de cellules immunitaires, notamment les monocytes, les lymphocytes, les astrocytes et les microglies. Cette réponse permet de protéger l'hôte en contrôlant la réactivation fatale des kystes présents dans le cerveau. Cette réponse pro-inflammatoire est contrebalancée par une réponse anti-inflammatoire caractérisée par la sécrétion de l'IL-10 dont le rôle est d'inhiber la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires, dont l'IFN $\gamma$ , par les lymphocytes (Filice et al., 1999). Outre l'IL-10, nos résultats indiquent une induction du TGF- $\beta$ , une cytokine qui antagonise l'IL-12 et ainsi inhibe la production d'IFN $\gamma$  par les LTs (Hunter et al., 1995). L'étude menée par le laboratoire de Buckwalter a d'ailleurs démontré le rôle prépondérant des astrocytes activés dans la production du TGF $\beta$  et ainsi leur rôle protecteur contre l'établissement d'une neuroinflammation aiguë et délétère induite par l'infection (Cekanaviciute et al., 2014). Nos résultats sont en concordance avec deux études récentes qui ont étudié une chronicité de l'infection par *T. gondii* autre que 28 jours, durée communément utilisée dans la littérature pour une infection dite « latente » par les souches de type II. En effet, une infection chronique de souris C57BL/6 de deux ou de trois mois induit la

sécrétion de l'IFN $\gamma$ , l'IL-12 et l'IL-6 mais aussi des cytokines anti-inflammatoires IL-10 et TGF $\beta$  (Boillat et al., 2020; Hwang et al., 2018). Cependant, ces études s'intéressent à un stade plus précoce de l'infection chronique que celui que nous avons étudié ici.

Il est à noter que la Pru-GRA6-OVA induit une réponse cytokinique moins importante que la souche Pru-Luc-GFP pour les cytokines IL-12, IL-6, IL-1 $\beta$  ainsi que les cytokines anti-inflammatoires IL-10 et TGF- $\beta$ . Cependant, l'infection chronique par la souche Pru-GRA6-OVA induit une expression de l'IFN $\gamma$  plus importante que la souche Pru-Luc-GRA6 dans le cerveau. Ces résultats devront être reproduits et confirmés dans le futur. Néanmoins, la baisse d'une réponse inflammatoire avec la souche Pru-GRA6-OVA est en accord avec les résultats de notre collaborateur N. Blanchard (Université de Toulouse) qui a démontré que l'infection à 21 jours de souris C57/BL6 par la souche Pru-GRA6-OVA aboutit à une charge parasitaire moins élevée due à un meilleur contrôle de l'infection par le système immunitaire, de part notamment une meilleure élimination des neurones infectés par les tachyzoïtes.

La quantification de la charge parasitaire dans nos expériences n'a cependant pas démontré de différences significatives après infection par les souches Pru-Luc-GFP et Pru-GRA6-OVA au bout de 6 mois d'infection. Ceci est largement lié à une grande hétérogénéité dans la charge parasitaire chez les souris infectées chroniquement à 6 mois d'infection. Une hypothèse pouvant être proposée est que les souris présentaient un taux d'infection similaire à des temps plus précoces de l'infection et que le contrôle à plus long terme s'est fait de manière plus hétérogène selon les souris. Il sera donc important dans une prochaine expérience de contrôler la charge parasitaire et la réponse inflammatoire à 28 jours, 3 mois et 6 mois d'infection afin de suivre l'évolution du contrôle de l'infection et de la réponse immunitaire au cours du temps. Notre étude de la réponse inflammatoire (ici production de cytokines) pourra être complétée par une étude plus approfondie de la réponse cellulaire, par détection/quantification de l'infiltration et de l'état d'activation des lymphocytes, ainsi que l'activation des astrocytes (GFAP+) et microglies (Iba1+/CD68+). De manière intéressante, en séparant les souris Pru-GRA6-OVA présentant une forte charge parasitaire de celles présentant une charge parasitaire faible, nous pouvons observer une corrélation entre la charge parasitaire et les taux des cytokines pro-inflammatoires : IFN $\gamma$ , IL-12 et IL-6 (Figure 36). Il sera donc important de répéter ces expériences avec des groupes de

souris plus importants de telle manière à analyser les souris par groupes distincts selon le taux d'infection persistant après 6 mois d'infection.

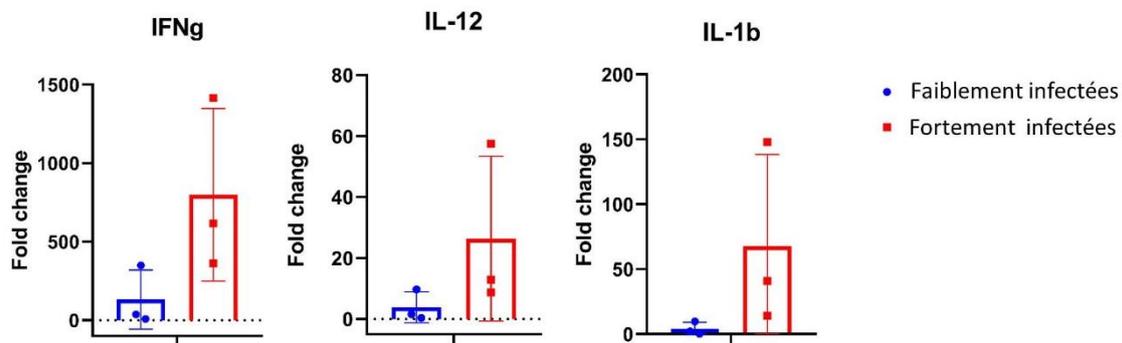


Figure 36 : **Comparaison de l'expression de cytokines proinflammatoires selon la charge parasitaire** chez les souris infectées par la souche Pru-GRA6-OVA pendant 6 mois et séparées en deux groupes faiblement infectées (bleu) et fortement infectées (rouge).

Il est important de noter que la quantification du nombre de parasites par amplification de séquences génomiques retrouvées chez les tachyzoïtes et les bradyzoïtes ne reflète donc pas le nombre de kystes présents dans le cerveau. De ce fait, il serait intéressant de mesurer la charge kystique dans le cerveau après 6 mois d'infection en quantifiant l'expression de gènes spécifiquement exprimés au stade bradyzoïte (BAG1) ou tachyzoïte (SAG1) par RTqPCR sur ARN total de cerveau infecté. De plus, une quantification du nombre de kystes pourra se faire sur coupes de cerveaux par immunohistochimie.

## Induction de la voie des kynurénines lors de la toxoplasmose chronique

La voie des kynurénines représente la voie principale de synthèse du KYNA ainsi que du QUIN dans le SNC, deux métabolites impliqués dans plusieurs maladies psychologiques et neurodégénératives, notamment la Schizophrénie et Alzheimer. L'activation de la voie KP constitue également l'un des mécanismes qui pourrait lier l'inflammation chronique induite par une infection latente au parasite *T. gondii* et les mécanismes d'altérations des fonctions neuronales.

Cependant cette voie métabolique est parmi les moins étudiées dans le contexte d'une infection chronique par *T. gondii*. En effet, une seule étude menée par l'équipe de

Schwarcz a montré une diminution des niveaux de Trp dans le cerveau de souris après 8 jours d'infection et l'augmentation du KYN, KYNA, 3HK et QUIN. Dans cette étude, un retour à la normale des niveaux de Trp a été observé après 28 jours d'infection, cependant les niveaux des autres métabolites restaient élevés (Notarangelo et al., 2014).

En corrélation avec l'étude de Schwarcz, les résultats de notre étude menée à 6 mois d'infection chronique par les souches Pru-Luc-GFP et Pru-GRA6-OVA montrent une augmentation de l'expression des enzymes de la voie KP, notamment IDO-1, KATII, KMO, responsables de la dégradation du Trp et de la synthèse des métabolites KYN, KYNA et 3-HK, respectivement. De plus, le dosage de ces métabolites dans le cerveau des souris montre une augmentation de ces trois métabolites induits par l'infection, confirmant que la voie KP reste activée lors d'infections longues à 6 mois.

L'activation de la voie des KP durant la phase chronique de l'infection pourrait être induite par les niveaux élevés d'IFN $\gamma$  observés durant cette phase. En effet, l'IFN $\gamma$  induit l'expression de IDO-1, qui entraîne la dégradation du Trp en KYN pouvant ainsi induire l'augmentation du ratio KYN/TRP que nous observons. De même, l'IFN $\gamma$  et l'IL-1 $\beta$  peuvent activer KMO, induisant le métabolisme du KYN en 3-HK, que nous observons augmenté. Cependant, nous n'avons pas réussi à détecter le KYNA et le QUIN dans le cerveau. Il sera donc nécessaire d'optimiser notre méthode de détection de ces métabolites afin de déterminer si l'infection induit la production de ces deux métabolites neuroactifs qui jouent un rôle clé dans les mécanismes de neuro-dégénérescence. Il serait également intéressant de détecter et de quantifier le KYNA et le QUIN par immunofluorescences à l'aide d'anticorps spécifiques sur cryocoupes de cerveaux de souris infectées. Ce marquage pourra être couplé à la détection des astrocytes (GFAP+) et des microglies (Iba1+) afin de confirmer leur production locale par ces types cellulaires au sein du CNS.

L'infection comparative de la souche Pru-Luc-GFP et Pru-GRA6-OVA avait pour but d'étudier si le niveau d'inflammation dans le SNC pouvait être corrélée avec l'activation de la voie KP. Cependant, même si les souris infectées par la souche Pru-GRA6-OVA présentaient des niveaux de certaines cytokines pro-inflammatoires (IL-6, IL-1 $\beta$  et IL-12 mais pas IFN $\gamma$ ) diminués par rapport à la souche Pru-Luc-GFP, nous n'avons pas observé de différences significatives dans l'induction de la voie KP. Cependant,

nos expériences demandent à être répétées (aussi à des temps plus précoces de l'infection) afin de consolider et de confirmer ces résultats préliminaires et de conclure de manière claire sur une éventuelle corrélation entre la neuro-inflammation, qu'il faudra également étudier de manière plus approfondie, et l'activation de la voie KP.

De plus, comme précédemment mentionné, une des perspectives majeures de ce projet est d'explorer le rôle de la voie KP induite par l'infection chronique à *T. gondii* dans la neuro-dégénérescence pouvant induire des troubles cognitifs importants. L'utilisation de souris déficientes pour les enzymes KATII et KMO ou traitées avec des inhibiteurs spécifiques de ces enzymes (PF-04859989 pour KAT2 et JM6 pour KMO) pourrait nous permettre d'adresser cette question. En particulier, il serait intéressant d'étudier le niveau de neuro-dégénérescence (perte synaptique et atrophie de l'hippocampe) en quantifiant sur cryo-coupes de cerveaux infectés les protéines synaptiques Homer et synaptophysine. De plus, une quantification en Western blot des niveaux d'expression de marqueurs pré-synaptiques (munc18, SNAP25, SYP) et post-synaptiques (NR1, NR2B, pY1472NR2B, PSD95) pourra être effectuée. L'utilisation d'une série de tests comportementaux complémentaires (Hand investigation, Elevated plus-maze, Open field) nous permettra d'évaluer les troubles de cognition et de comportement chez les souris infectées WT ou déficientes pour les enzymes KATII et KMO.

### **Activation astrocytaire et modulation parasitaire**

En accord avec une étude préalablement publiée par l'équipe de C. Hunter (Hidano et al., 2016), nos expériences d'infection/stimulation de cultures d'astrocytes primaires montrent que contrairement au parasite, l'IFN $\gamma$  induit la phosphorylation de STAT1. L'induction des réponses astrocytaires anti-parasitaires et notamment l'induction de l'expression et du recrutement à la vacuole des IRGs via l'activation du facteur de transcription STAT1, a préalablement été démontrée dans cette étude (Hidano et al., 2016). Nos résultats indiquent également que l'IFN $\gamma$  augmente l'expression des molécules du CMH-I à la surface des astrocytes, une caractéristique des astrocytes activés *in vivo*, aussi lors d'infections. De manière intéressante, nos résultats suggèrent un nouveau mécanisme de défense établi par le parasite qui consisterait à réduire l'expression des molécules du CMH-I essentielles dans la mise en place d'une

réponse LT CD8+ efficace. Cependant, ces résultats préliminaires devront être confirmés par une quantification basée sur un plus grand nombre d'expériences.

Ce processus d'échappement pourrait promouvoir la persistance du parasite en diminuant l'élimination des astrocytes infectés par les LT CD8+ cytotoxiques (libération de perforine et granzyme B) à des temps précoces de l'infection. Ce phénomène d'échappement est probablement effectif dans d'autres types cellulaires, en particulier les neurones. Le parasite pourrait inhiber l'effet de l'IFN $\gamma$  en bloquant l'activité transcriptionnelle de Phospho-STAT1 par la sécrétion de l'effecteur parasitaire *TgIST* (Gay et al., 2016), comme précédemment observé dans les macrophages infectés. Afin de confirmer cette hypothèse, Il serait donc intéressant d'utiliser des astrocytes surexprimant la protéine parasitaire *TgIST* (transfection d'un vecteur d'expression) ou d'infecter les cultures d'astrocytes avec des parasites *TgIST*-KO (Gay et al., 2016). Dans ces conditions, nous évaluerons en présence et en absence d'IFN $\gamma$ , l'expression des molécules du CMH-I et du CMH-II, le recrutement des IRGs au niveau de la vacuole parasitophore, ainsi que la mort parasitaire.

Outre l'induction du CMH-I, l'activation des astrocytes est aussi caractérisée par une augmentation de l'expression de la protéine GFAP, un composant des filaments intermédiaires. L'augmentation de l'expression de GFAP par les astrocytes a été préalablement observée lors de l'infection chronique à *T. gondii* et semblerait limiter les lésions inflammatoires induites par le parasite (Stenzel et al., 2004). En effet, les astrocytes déficients en GFAP ont une capacité réduite à restreindre localement la réplication parasitaire, ce qui entraîne une augmentation de la dissémination parasitaire intracérébral et par conséquent une inflammation plus forte et étendue (Stenzel et al., 2004). Nous avons pu observer pour la première fois un recrutement de la GFAP autour de la vacuole parasitophore, de manière indépendante de la stimulation par l'IFN $\gamma$ . Ce recrutement semble dépendre de l'hôte et non induit par le parasite puisqu'il est également observé au niveau des phagosomes contenant des parasites morts (tués par la chaleur).

### **Réponse inflammatoire induite par les astrocytes lors de l'infection par le parasite *T. gondii***

Nos résultats obtenus *in vitro* confirment le rôle immunitaire joué par les astrocytes dans le contexte d'une infection par le parasite *T. gondii* et ce, en corrélation avec

notre étude *in vivo*. En effet, l'infection des astrocytes par *T. gondii* induit une forte réponse inflammatoire caractérisée par la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires l'IL-12 et l'IL-6. L'IL-6, par l'activation de son récepteur gp130, a préalablement été montré comme jouant un rôle clé dans l'activation des réponses astrocytaires lors de l'infection chronique à *T. gondii*, par conséquent, dans la modulation de la réponse anti-inflammatoire et le contrôle parasitaire (Drögemüller et al., 2008). En accord avec ces résultats, des études antérieures ont montré que le contrôle de *T. gondii* est altéré chez les souris déficientes en IL-6 et que ces souris succombent suite à une encéphalite (Jebbari et al., 1998; Suzuki et al., 1997) ou développent une toxoplasmose oculaire plus sévère (Lyons et al., 2001).

Par ailleurs, les astrocytes infectés induisent l'expression du TGF- $\beta$ , un phénomène qui semble potentialisé par l'IFN $\gamma$ . Indépendamment de l'infection, l'IFN $\gamma$  induit l'expression de l'IL-10. L'IL-10 inhibe la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires par les LTs mais aussi bloque la maturation des macrophages et des cellules dendritiques limitant ainsi la co-stimulation, la présentation des antigènes parasitaires et la capacité de sécrétion de chimiokines par l'hôte (Iyer and Cheng, 2012). L'IFN $\gamma$  pourrait donc avoir un rôle primordial dans la résistance au parasite en induisant les défenses intrinsèques anti-parasitaires (cell autonomous immunity) mais aussi dans la préservation du SNC en facilitant la réponse anti-inflammatoire.

### **Modulation de la voie des kynurénines dans les astrocytes infectés par *T. gondii***

Nos expériences *in vitro* sur astrocytes primaires ont exploré pour la première fois la modulation de la voie des kynurénines durant l'infection par *T. gondii*. Nos résultats indiquent, comme attendu, une induction des enzymes IDO-1 et IDO-2 par l'IFN $\gamma$ . De manière intéressante, le parasite semble inhiber l'expression de IDO-1 (mais pas d'IDO-2) induite par l'IFN $\gamma$ . Il a été préalablement montré que bien que les cellules humaines expriment les deux isoenzymes IDO-1 et IDO-2, elles nécessitent IDO-1 mais pas IDO2 pour induire l'immunité cellulaire autonome induite par l'IFN $\gamma$  contre *T. gondii* (Bando et al., 2018). Chez les souris, l'immunité cellulaire autonome induite par l'IFN $\gamma$  repose principalement sur le recrutement des IRGs au niveau de la vacuole parasitophore qui vont lyser la membrane de la vacuole. Or la plupart des IRGs

murines sont inactives ou non exprimées chez l'homme. L'activation de la voie KP dans les astrocytes humains pourrait donc constituer un mécanisme de défense de première ligne contre le parasite par la dégradation du tryptophane essentiel à la réplication parasitaire. Un autre mécanisme de défense mis en place pourrait faire intervenir l'activation de l'autophagie induisant la lyse partielle de la vacuole, comme précédemment observé dans les DCs infectées. Nos résultats préliminaires indiquent effectivement que le marqueur d'autophagie LC3B-II est recruté à la membrane de la vacuole parasitophore après stimulation des astrocytes par l' $\text{IFN}\gamma$  (Figure 37). Cependant ce processus reste à être exploré plus en détails.

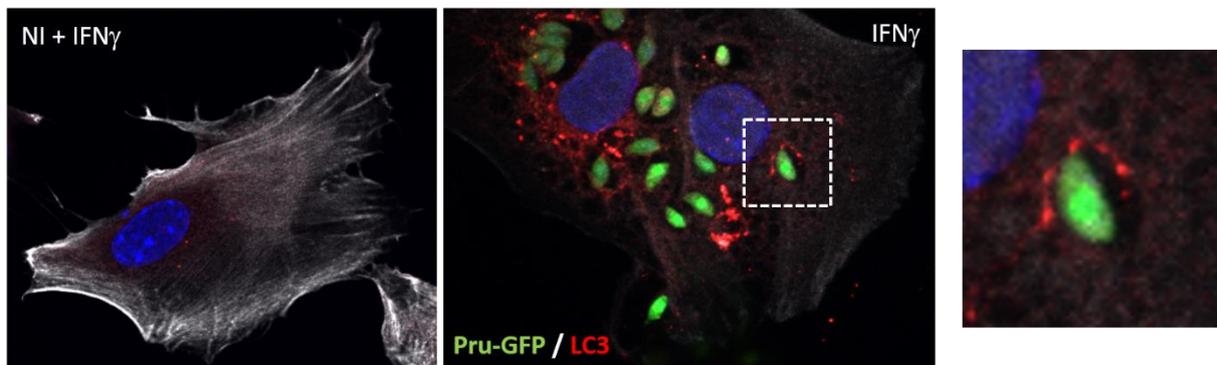


Figure 37 : **Recrutement de LC3B à la membrane de la VP.** Les marquages en immunofluorescence sur astrocytes stimulés par l' $\text{IFN}\gamma$  et infectés ou non (NI) par les parasites Pru-luc-GFP (vert) montrent une localisation du marqueur d'autophagie LC3B au niveau de la membrane de la VP (zoom image de droite). Rouge : LC3 ; Bleu : DAPI, noyaux cellulaires et parasitaires; Vert (GFP) parasites.

Après internalisation de parasites morts, l'inhibition d'IDO-1 n'est pas observée suggérant un potentiel rôle de facteurs parasitaires sécrétés. La modulation de l'expression d'IDO-1 pourrait s'effectuer via le facteur *TglST* comme démontré dans l'étude menée par l'équipe de Yamamoto sur des lignées cellulaires humaines (Bando et al., 2018). Ainsi, en bloquant la voie  $\text{IFN}\gamma/\text{STAT1}$  par *TglST*, le parasite diminue l'expression de IDO-1 et des molécules du CMH-I dans les astrocytes, préservant ainsi le tryptophane essentiel à son développement et diminuant la reconnaissance/élimination de la cellule infectée par les LT CD8+ cytotoxiques. De ce fait, l'utilisation de parasite *TglST-KO* sur cultures d'astrocytes confirmera cette hypothèse.

Finalement, nos résultats suggèrent que au contraire de IDO-1/2, l'IFN $\gamma$  n'induit pas l'expression de KATII qui pourtant est située en aval de ces deux enzymes et qui induit la dégradation du KYN produit par IDO1/2 en KYNA. Il est possible que le parasite inhibe IDO1 par la sécrétion de *TglST* dans les astrocytes mais que la voie non-canonique d'activation de KATII via les ROS soit responsable de son induction (voir Figure 18, introduction). En effet, l'induction de KATII semble dépendante de l'invasion des astrocytes par des parasites vivants. Le KYNA possède une action anti-inflammatoire, le parasite pourrait aussi chercher (par la sécrétion de facteurs parasitaires) à augmenter les niveaux de KYNA sécrétés par les astrocytes afin d'atténuer l'inflammation et ainsi établir un environnement adéquat pour persister dans un hôte préservé.

### **Lien entre la schizophrénie et les voie des kynurénines induite par *T. gondii***

Une infection par le parasite *T. gondii* durant l'adolescence pourrait induire une forte inflammation dans le SNC suivie de l'activation de la voie des kynurénines qui en combinaison avec d'autres facteurs, notamment des susceptibilités génétiques, provoqueraient l'établissement d'une schizophrénie avec des troubles cognitifs qui s'aggravent dans le temps.

L'infection chronique qui semble être corrélée avec un maintien de l'inflammation et de l'activation de la voie KP pourrait également exacerber les processus de neurodégénérescence et le développement des troubles cognitifs et psychiatriques.

Cette hypothèse pourrait être explorée par l'utilisation d'un modèle animal de développement de la schizophrénie. Dans ce modèle, les souris sont traitées à la Dizocilpine (MK-801), un antagoniste non compétitifs du récepteur NMDA, induisant des troubles cognitifs similaires à ceux observés chez les patients schizophrènes (Wang et al., 2013). L'infection chronique de ces souris devrait permettre d'évaluer l'impact de *T. gondii* sur l'exacerbation des altérations neuronales et cognitives.

L'activation de la voie KP induite par l'infection chronique à *T. gondii* pourrait aboutir à une augmentation du KYNA. En effet, un polymorphisme génétique au sein du gène codant pour KMO a été identifié dans une étude postmortem chez des patients schizophrènes (Wonodi et al., 2011). Ainsi, un déficit de KMO présents chez des personnes prédisposées à la schizophrénie corrélée à une plus forte expression de KATII dans les astrocytes induite par l'activation de la voie KP suite à l'infection à *T. gondii* pourrait être à l'origine du déséquilibre vers l'augmentation des taux de KYNA, favorisant ainsi le développement des troubles cognitifs chez les patients schizophrènes.

# Annexe



## Association between schizophrenia and *Toxoplasma gondii* infection in Algeria

Amir Med Kezai<sup>a,b</sup>, Cécile Lecoer<sup>a,c</sup>, David Hot<sup>c</sup>, Mustapha Bounechada<sup>b</sup>, Med Lamine Alouani<sup>d</sup>, Sabrina Marion<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, U1019-UMR9017-CIIL-Centre d'Infection et d'Immunité de Lille, Lille, France

<sup>b</sup> Laboratoire d'Amélioration et Développement de la Production Végétale et Animale, Université Ferhat Abbas, Sétif, Algeria

<sup>c</sup> Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, UMR2014 – US41 – PLBS-Plateformes Lilloises de Biologie & Santé, F-59000 Lille, France

<sup>d</sup> Centre hospitalier universitaire de Sétif, Etablissement Hospitalier spécialisé en psychiatrie «Kraria Slimen», Université Ferhat Abbas, Sétif, Algeria



### ARTICLE INFO

#### Keywords:

Toxoplasmosis

Schizophrenia

Algerian population

IgG antibody levels

### ABSTRACT

Toxoplasmosis has been previously associated with an increased risk of having schizophrenia in several epidemiological studies. The aim of this prospective study was to examine for the first time a possible association between positive serology to *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) and schizophrenia in the Algerian population. Seventy patients affected by schizophrenia according to DSM-5 criteria and seventy healthy controls were enrolled in the study. We found a significant association between schizophrenia and the infection status with a seroprevalence of 70% in patients with schizophrenia compared to 52.9% in controls and a calculated odds ratio of 2.081. In addition, while *T. gondii* seroprevalence increases significantly with age in controls, this association was not observed in patients with schizophrenia, which display a high percentage of seropositive subjects under 38 years of age, suggesting that *T. gondii* infection may promote the onset of schizophrenia. Moreover, our analysis also revealed that patients with schizophrenia had significantly lower levels of serum immunoglobulins G (IgG) to *T. gondii* compared to controls. Thus, this study adds to previous research questioning the asymptomatic aspect of chronic toxoplasmosis and the etiology of schizophrenia.

### 1. Introduction

Schizophrenia is a chronic mental illness with a world prevalence of 1% (Marder and Cannon, 2019). Patients with schizophrenia demonstrated psychotic disorders including hallucinations, delusions and disorganized speech, negative symptoms such as reduced motivation and expressiveness as well as cognitive deficits including memory impairment and reduced cognitive processing speed (Marder and Cannon, 2019). First symptoms are generally observed in the late adolescence. Interactions between environmental factors including obstetric complications, early social adversity, residence in urban areas during childhood, consumption of psychotropic drugs, as well as genetic predispositions impacting signaling pathways associated with the immune system and synaptic functioning were shown to be linked to the etiology of the disease (Brown, 2011; Marder and Cannon, 2019). Failure in the identification of genes with major role in schizophrenia establishment has refocused attention on non-genetic factors, including infectious agents such as influenza virus and herpes simplex virus type 1 and 2 (Kim, 2007; Hamdani et al., 2017; Burgdorf et al., 2019).

Notably, several studies revealed an association between schizophrenia and the protozoan parasite *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) responsible for toxoplasmosis (Torrey et al., 2007). This wild-spread anthrozoosis affects approximately one-third of the world's population. *T. gondii* is an obligatory intracellular protozoan parasite belonging to the phylum apicomplexa. Humans are contaminated by ingestion of tissue cysts present in undercooked meat, ingestion of oocysts present in water and soil contaminated with cats feces or by vertical transmission from a pregnant woman to her fetus (Carruthers and Suzuki, 2007). *T. gondii* is considered as an opportunistic parasite as severe symptoms developed in immuno-suppressed patients. However, infection of immuno-competent individuals with type II strains, which cause most infections in humans, is characterized by cyst development in the brain, leading to life-long chronic infection. In the central nervous system (CNS), the parasite infects astrocytes, microglia and neurons but only persists in neurons (Carruthers and Suzuki, 2007). Until recently, parasite persistence was considered clinically asymptomatic. However, latent cerebral toxoplasmosis is now considered as a risk factor to develop behavioral and mental disorders such as schizophrenia (Torrey et al., 2012) and

\* Corresponding author.

E-mail address: [sabrina.marion@pasteur-lille.fr](mailto:sabrina.marion@pasteur-lille.fr) (S. Marion).

<https://doi.org/10.1016/j.psychres.2020.113293>

Received 7 May 2020; Received in revised form 7 July 2020; Accepted 9 July 2020

Available online 12 July 2020

0165-1781/ © 2020 Elsevier B.V. All rights reserved.

bipolar disorder (Del Grande et al., 2017).

Schizophrenia has been correlated with alterations in the levels of several neurotransmitters including dopamine, serotonin, glutamate and GABA (Fuglewicz et al., 2017) as well as increased kynurenic acid (KYNA) in the cerebrospinal fluid (Erhardt et al., 2001) and the CNS (Plitman et al., 2017). Current therapeutic approaches to treat positive schizophrenia symptoms aim to reduce the hyperactivity of the dopaminergic system by blocking the dopamine D1/D2 receptors using the first generation (typical) antagonist agents chlorpromazine and haloperidol (Taly, 2013; Karakula-Juchnowicz et al., 2014; Uno and Coyle, 2019). Second generation atypical antipsychotic agents (clozapine, quetiapine, risperidone, olanzapine, sertindole) target a broader spectra of receptors (5-HT1A agonists, D1/D2, D4 and 5-HT2A/C antagonists) (Taly, 2013). However, they have negligible effects on negative and cognitive symptoms with the possible exception of clozapine that restores the N-methyl-D-aspartate receptor (NMDA-R) hypofunction (Uno and Coyle, 2019). The NMDA-R hypofunction observed in patients with schizophrenia has been proposed to be the result of KYNA abnormal accumulation (Zádor et al., 2019). Accordingly, inhibition of KYNA formation improves neurotransmitter signaling and cognitive impairments (Zádor et al., 2019).

Interestingly, increased levels of KYNA, 3-Hydroxykynurenine (3-HK) and quinolinic acid (QUIN) have been observed in the brain of mice chronically infected with *T. gondii* (Notarangelo et al., 2014). Treatment with anti-parasitic drugs restored normal levels of these metabolites demonstrating the direct effect of brain infection on the activation of the kynurenine pathway (KP) (Notarangelo et al., 2014). Activation of the KP during latent toxoplasmosis is presumably triggered by the establishment of a low-grade chronic neuroinflammation characterized by the up-regulation of pro-inflammatory cytokines such as tumor necrosis factor, Interleukin-12, Interleukin-1 $\beta$  and Interferon gamma (IFN $\gamma$ ) (Tedford and McConkey, 2017). Notably, IFN $\gamma$  stimulates the expression of the rate-limiting enzyme indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) in astrocytes and microglia, leading to degradation of tryptophan, an amino acid essential for the development of the parasite (Ellen Tedford and Glenn McConkey, 2017). KP activation also results in down-stream release of the neuroactive compounds KYNA and QUIN, which affect neuronal functions (Braidly and Grant, 2017). Brain dopamine level is also up-regulated by *T. gondii* infection in mice (Henriquez et al., 2009). Consistent with this result, increase in dopamine release has been monitored in neuronal cultures containing parasite cysts (Prandovszky et al., 2011). Finally, chronic toxoplasmosis has been correlated with decreased levels of the glutamate transporter GLT-1 in astrocytes and increased concentrations of extracellular glutamate (David et al., 2016). Elevated levels of glutamate (Chang et al., 2007) and decreased hippocampal volume (Kraguljac et al., 2013) are also observed in patients with schizophrenia. Therefore, latent cerebral *T. gondii* infection by inducing a chronic inflammatory response in the brain and modulating neuronal functions may lead to increased risks of developing schizophrenia.

In 2007, Torrey et al. conducted a meta-analysis of twenty-three studies led over 50 years in 17 countries that covered a total of 3873 patients with schizophrenia and 7046 healthy controls, most of them from China where Chinese 1 is the most predominant atypical *T. gondii* genotype, and where the highest odds ratio (OR) of 14.22 was found. The combined OR obtained was 2.73 (95 CI: 2.10–3.60;  $p < 0.00001$ ) (Torrey et al., 2007). This meta-analysis was updated in 2012 by the same team and fifteen additional studies were included however comprising only two African countries (Egypt and Ethiopia). The OR obtained was very similar (OR = 2.71, 95% CI: 1.93–380) (Torrey et al., 2012). More recent studies led in Tunisia (Esshili et al., 2016), France (Hamdani et al., 2017) and Denmark (Burgdorf et al., 2019) confirmed an association between toxoplasmosis and schizophrenia. The obtained OR values exceed other environmental and genetic factors previously investigated for their link with schizophrenia (Fuglewicz et al., 2017), reinforcing the assumption that *T. gondii* exposure represents a risk

factor to develop schizophrenia (Xiao et al., 2018). In line, in a low prevalence population, *T. gondii* seropositivity was associated with schizophrenia only in individuals with a recent onset of psychosis but not in patients with established schizophrenia (Yolken et al., 2017).

Here, we explore for the first time a possible link between positive serology for *T. gondii* and schizophrenia in the Algerian population characterized by a high prevalence of *T. gondii* type II strains (Bachi et al., 2018), which was previously estimated to be 53.2% (Schneider et al., 1977) in the whole population and more recently to be 47.8% in pregnant women (Messerer et al., 2014).

## 2. Methods

### 2.1. Characteristics of the cohort

This prospective study was carried out at the specialized establishment for psychiatric disorders (Etablissement Hospitalier spécialisé en psychiatrie «Kraria Slimen») in Ain Abessa Sétif, Algeria. A total of 70 healthy volunteers and 70 inpatients with diagnosed schizophrenia and under treatment with antipsychotic drugs including typical antipsychotics: Haloperidol (HALDOL), Fluphenazine (MODECATE) or Chlorpromazine (LARGACTIL) and atypical antipsychotics: Risperidone (RISPERDAL), Olanzapine (ZYPREXA), Amisulpride (SOLIAN) were enrolled in the study. The clinical diagnosis of the patients with schizophrenia has been confirmed by the DSM-5 (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition) criteria by the use of the SCID-5-RV (Structured Clinical Interview for DSM-5, Research Version) (First, 2015). Patients with a history of alcoholism, smoking, substance abuse, epilepsy, mental retardation, head trauma, brain surgery, meningitis, and encephalitis were excluded from the study. The control group consisted of 70 healthy volunteers recruited within the hospital staff. They had no history of schizophrenia or any psychiatric disorders. These volunteers were chosen because they shared the same environment (including meals) as the patients with schizophrenia. A questionnaire was duly filled by all participants of the study, including information about their age, gender, inbreeding of their parents, socioeconomic conditions, family history, medical history, education level, marital status, professional status, eating habits (in particular regarding the consumption of uncooked or undercooked meat), and shared environment with domestic animals, notably cats for their role in parasite transmission, in particular during their childhood. All participants were at least 18 years of age and provided written informed consent after explaining the study procedures. The study was approved by the Scientific Council of Sétif University and the Ethics Committee (Ref. CED/03/2020).

### 2.2. Serological analysis

Blood samples dry tubes were taken by venipuncture under sterile conditions from all participants. The serum was then separated directly after collection by centrifuging for 15 min at 30,000 rpm. The commercial enzyme-linked immune-sorbent assay (ELISA) kits MAGLUMI Toxo IgG CLIA (Snibe diagnostic, Shenzhen, CHINA) was used to quantitatively measure anti-Toxoplasma IgG antibody levels using the chemiluminescence immunoassay system (CLIA) (MAGLUMI 1000, Shenzhen, CHINA) following the manufacturer's instructions. The interpretation of the results (according to the manufacturer's criteria) was as follows:  $\leq 2$  AU / ml was considered negative and  $\geq 2$  AU / ml was considered positive. The sensitivity of the test is less than 0,25 AU / ml. No cross reaction with IgG or IgM antibodies of Hepatitis A virus, Hepatitis B virus, Hepatitis C virus, Human Immunodeficiency virus, syphilis, Epstein-Barr virus is detected.

### 2.3. Statistical analysis

Statistical analyses were performed with the software R version

3.6.1. The statistical tests are two-sided and the level of statistical significance was set at 5%.

Means between patients with schizophrenia and healthy participants were compared with a *t*-test (*t*.test function) considering whether variances were equal or not.

We performed a ROC analysis (*roc* function) to define the threshold age that discriminates the most the schizophrenia status. Thus, different thresholds of age were used to classify individuals according to schizophrenia. Individuals younger than the age threshold were classified non-affected while the older ones were set as affected. The obtained classification was compared to the observed one and sensitivity and specificity were computed. So we got as many sensitivity and specificity values as tested ages. These values were used to plot the ROC curve and to compute the Youden index as the sum of sensitivity and specificity computed for each tested threshold. The age associated with the highest Youden index has the best ability to identify true affected and healthy people.

The Chi<sup>2</sup> test was used to compare samples in contingency tables (*chisq*.test function). When at least one expected sample is included in the interval [5–10], the Yates correction was applied. The Fisher exact test was preferred over the Chi<sup>2</sup> test when any expected sample was below 5 (*fisher*.test function). The odds ratio (OR) and its 95% confidence interval were estimated with the function *oddsratio*.

The power of the Chi<sup>2</sup> test to compare schizophrenia and toxoplasmosis in individuals younger than 38 years, as well as the required sample to achieve a power of 80%, was estimated with the function *pwr.chisq.test*. The proportions of individuals tested positive for toxoplasmosis in patients with schizophrenia and healthy participants aged between 20 and 30 years are compared with the function *prop.test* with Yates correction to adjust for small sample size. Although there are 2.6 times more seropositive individuals in patients compared to controls, this difference is not statistically significant ( $p = 0.171$  with continuity correction). This could be explained by a low power (45%) achieved to detect any difference with these small sample groups. As expected, no statistical significant differences for the other groups are also observed (in [30–40] years,  $p = 0.396$ ; in [40–50] years,  $p = 0.875$ ; for 50 years and more,  $p = 1$ ; *p* values given with continuity correction).

### 3. Results

We evaluated the seroprevalence of anti-*T. gondii* IgG antibodies in 140 subjects including 70 patients with schizophrenia (56 men and 14 women) with an average age of  $40.76 \pm 9.3$  and 70 healthy controls (56 men and 14 women) with an average age of  $37.97 \pm 9.3$  (Table 1). The mean age ( $p = 0.078$ ) and gender composition ( $p = 1$ ) of the two groups did not differ significantly (Table 1).

#### 3.1. Association between schizophrenia and infection by *T. gondii*

Toxoplasmosis was diagnosed in 49/70 (70%) patients and 37/70 (52.9%) controls (Table 2). The difference in these seroprevalences was statistically significant ( $p = 0.037$ ) with a calculated OR of 2.081 (95% confidence interval (CI): [1.040–4.165]) (Table 3). Interestingly, we noticed that the subjects under 40 years of age display a higher percentage of positive serology for *T. gondii* compared to healthy controls of the same range of age (Table 2 and Fig. 1). Accordingly, after constructing the receiver operating characteristic (ROC) curve (Suppl. Fig 1), which uses the age as a threshold to rule an individual as schizophrenia negative (age < threshold) or schizophrenia positive (age > threshold), the maximum value of the Youden index was observed with the age 38. We therefore defined 38 as the discriminant age and divided the cohort into two homogenous groups (<38 yr,  $n = 65$  and >38 yr,  $n = 75$ ) for further analysis. We found that individuals under 38 years of age affected by schizophrenia are 2.715 times more likely to have an anti-*T. gondii* positive serology than those without schizophrenia (OR = 2.715, 95% CI: [0.970–7.602]) (Table 3). Our

results tend to be statistically significant ( $p = 0.054$ ) but show only a power of 48.6% to reach the significance threshold of 0.05. We calculated that a larger sample size of 138 subjects would have been necessary to reach 80% power. By contrast, individuals over 38 years of age affected by schizophrenia are only 1.270 times more likely to have an anti-*T. gondii* positive serology than the controls (OR = 1.270,  $p = 0.834$ , 95% CI: [0.465–3.464]) (Table 3).

Reflecting these findings, a significant association was found between *T. gondii* seropositive and the age status. The mean age of the seropositive subjects (including patients with schizophrenia and healthy controls) was  $41.267 \pm 9.720$ . Our analysis indicates that individuals over 41 years of age are 3.1 more likely to be seropositive for *T. gondii* compared to individuals under 41 years of age ( $p = 0.002$ , OR = 3.133, 95% CI = [1.508–6.511]), reflecting the higher frequency of exposure to the parasite with time. However, when considering patients with schizophrenia independently of healthy controls, no association was found between the *T. gondii* infectious status and the age group ( $p = 0.23$ , OR = 2.167, 95% CI: [0.761–6.172]) consistent with the high percentage of *T. gondii* seropositive patients under 41 years of age in this group (Fig. 1 and Table 2).

By contrast, our results did not show a significant relation between the *T. gondii* infection status and gender ( $p = 0.340$ , OR = 1.501, 95% CI: [0.650–3.464]), the socioeconomic status ( $p = 0.152$ , OR = 4.657, 95% CI: [0.571–215.367]), contacts with cats ( $p = 0.961$ , OR = 1.018, 95% CI: [0.503–2.058]) and the job status ( $p = 0.270$ , OR = 0.676, 95% CI: [0.337–1.357]).

#### 3.2. Comparison of anti-*T. gondii* IgG levels in patients with schizophrenia and control subjects

Interestingly, in seropositive participants, patients with schizophrenia have significant ( $p < 0.0001$ ) lower levels (12.892 AU/ml) of serum IgG antibodies to *T. gondii* compared with healthy controls (334.212 AU/ml) (Fig. 2). When examining the anti-*T. gondii* IgG level distribution in seropositive subjects enrolled in the study, we observed that the majority ( $n = 54/86$ ) has levels under 100 AU/ml (Fig. 2). However, while 100% of patients with schizophrenia display levels under the concentration of 100 IU/ml, 86.48% of healthy individuals have IgG levels over 100 AU/ml ( $p = 5.548e-15$ , OR = 0, 95% CI: [0–0.022]) (Table 4). Noteworthy, the control group shows a higher variability in terms of antibody titers (Fig. 2).

#### 3.3. Association between schizophrenia and history of psychological problems in the family

No significant association was found between the schizophrenia status and age ( $p = 0.078$ ) or gender ( $p = 1$ , OR = 1, 95% CI: [0.437–2.289]) (Table 1).

However, schizophrenia was strongly associated with family history of psychological problems ( $p = 2.162e-11$ , OR = 20.222; 95% CI: [7.219–56.650]) and at a lesser extend to parent inbreeding ( $p = 0.019$ , OR = 2.622, 95% CI: [1.154–5.961]). In addition, patients with schizophrenia are predominantly single ( $p = 1.012e-08$ ) and jobless individuals ( $p < 2.2e-16$ ) presumably due to invalidating conditions of their disorder. By contrast, we did not find any statistically significant relation between schizophrenia and contacts with cats ( $p = 0.579$ , OR = 1.214, 95% CI: [0.612–2.410]). In addition, a too low number of patients displaying comorbid disorders (e.g. arterial hypertension (AH) and diabetes (DIAB)) were included in our study to draw any conclusion on a putative association between comorbidity and schizophrenia.

### 4. Discussion

The aim of this study was to examine the association between positive serology to *T. gondii* and schizophrenia in a sample of Algerian psychiatric inpatients. Toxoplasmosis was diagnosed in 52.9% of

**Table 1**  
Demographic characteristics of patients with schizophrenia and healthy controls.

Number of participants		Healthy controls n (%) 70	Patients with Schizophrenia n (%) 70	p	OR	CI95
Age (mean ± SD)		37.97 ± 9.326	40.76 ± 9.3	0.078 <sup>1</sup>	NA	NA
Sex	Female	14 (20)	14 (20)	1 <sup>2</sup>	1	0.437–2.289
	Male	56 (80)	56 (80)			
Job status	No	0 (0)	60 (85.7)	< 2.2e-16 <sup>2</sup>	0	0–0.012
	Yes	70 (100)	10 (14.3)			
Marital Status	Single	21 (30)	48 (68.6)	1.012e-08 <sup>3</sup>	NA	NA
	Married	47 (67.1)	13 (18.6)			
	Divorced	2 (2.9)	9 (12.9)			
Psychological problem in family	No	65 (92.9)	27 (39)	2.162e-11 <sup>2</sup>	20.222	7.219–56.650
	Yes	5 (7.1)	42 (60)			
	Unspecified	0 (0)	1 (1)			
Inbreeding of parents	No	59 (84.3)	45 (64.3)	0.019 <sup>2</sup>	2.622	1.154–5.961
	Yes	11 (15.7)	22 (31.4)			
	unspecified	0 (0)	3 (4.3)			
socioeconomic status	average	70 (100)	62 (88.6)	0.006 <sup>3</sup>	>1	1.826-nd
	Precarious	0 (0)	8 (11.4)			
Contact with cats	No	35 (50)	28 (40)	0.579 <sup>2</sup>	1.214	0.612–2.410
	Yes	35 (50)	34 (48.6)			
	Unspecified	0 (0)	8 (11.4)			
Underlying disease AH/DIAB	No	66 (94.3)	66 (94.3)	1 <sup>3</sup>	1	0.178–5.608
	Yes	4 (5.7)	4 (5.7)			

SD = standard deviation; CI = confidence interval; OR = odds ratio; NA = not applicable; ND = not determined; AH = arterial hypertension; DIAB = diabetes.

<sup>1</sup> T test.

<sup>2</sup> Chi<sup>2</sup> test.

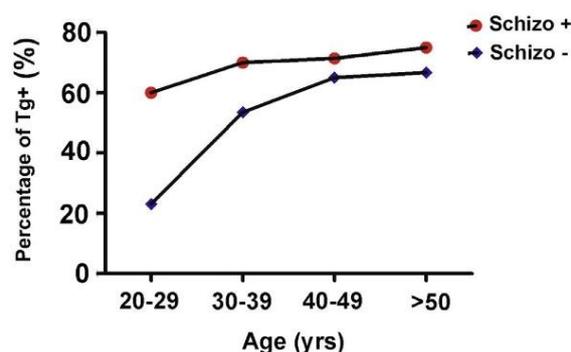
<sup>3</sup> Fisher exact test.

**Table 2**  
Seroprevalence of *T. gondii* in the studied populations.

	Patients with schizophrenia		Healthy controls	
	IgG positive n (%)	IgG negative n (%)	IgG positive n (%)	IgG negative n (%)
Overall	49 (70)	21 (30)	37 (52.9)	33 (47.1)
Sex	Male	41 (73.2)	15 (26.8)	30 (53.6)
	Female	8 (57.1)	6 (42.9)	7 (50)
Age group	<30	6 (60)	4 (40)	3 (23.1)
	30–39	14 (70)	6 (30)	15 (53.6)
	40–49	20 (71.4)	8 (28.6)	13 (65)
	≥50	9 (75)	3 (25)	6 (66.7)

IgG = immunoglobulin G.

healthy controls in agreement with a previous study reporting a seroprevalence of 53% in the Algerian population (Schneider et al., 1977). The rate of infection by *T. gondii* in patients with schizophrenia (70%) was statistically higher than in controls ( $p = 0.03789$ ) with a calculated OR of 2.081. Thus, our result suggests that *T. gondii* infection increases by 2-fold the risk of developing schizophrenia, which is consistent with previous studies performed in Tunisia and Egypt (El-Sahn et al., 2005; Eshhili et al., 2016) and with the OR found in two meta-analyses (Sutterland et al., 2015; Torrey et al., 2012). Our study revealed that this association was mainly the result of the higher incidence of *T. gondii* in patients with schizophrenia under 38 years of age (OR = 2.715) compared to patients over 38 years of age (OR = 1.270). In line,



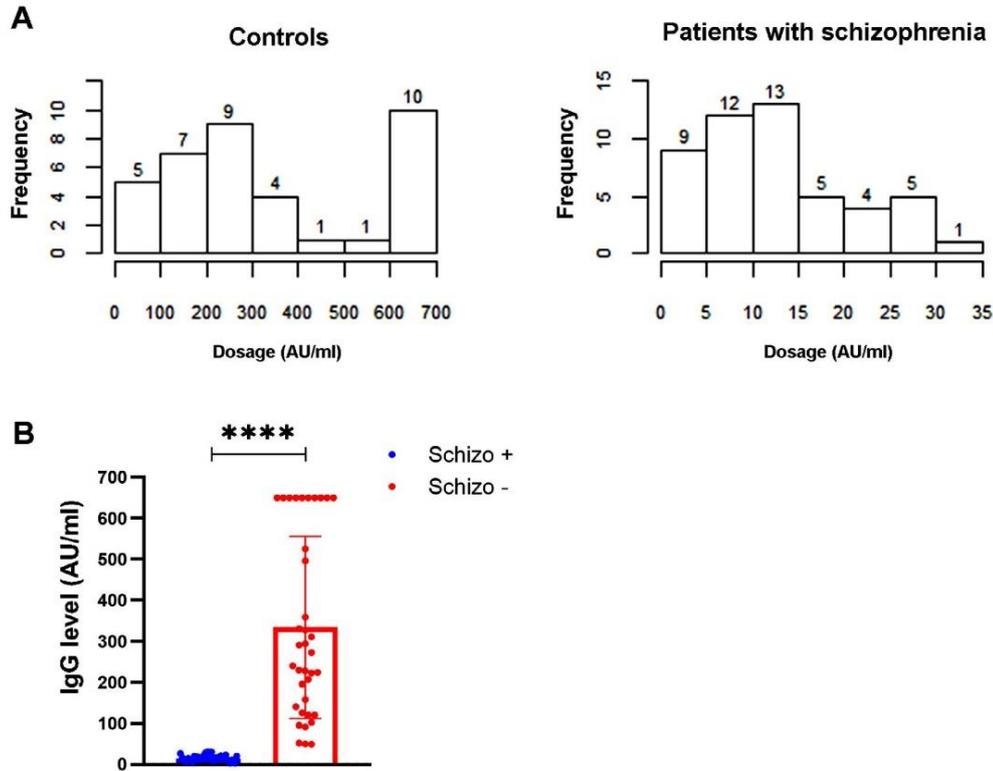
**Fig. 1.** Percentage of seropositive individuals for *T. gondii* (Tg+) in patients with schizophrenia (schizo+) and healthy controls (Schizo-) subdivided into the indicated age groups.

in healthy controls, we found a significant increase of *T. gondii* seropositivity for subjects over 41 years of age ( $p = 0.002$ ) consistent with an expected increased frequency of exposure to the parasite with time. By sharp contrast, no association was found between *T. gondii* seropositivity and the age status in patients with schizophrenia ( $p = 0.23$ ) due to the high percentage of *T. gondii* positive subjects under 41 years of age in this group, suggesting that infection may promote the onset of schizophrenia in susceptible individuals. Consistent with this

**Table 3**  
Seroprevalence of *T. gondii* in the studied populations with statistical analyses.

	Patients with schizophrenia		Healthy controls		p-value $\chi^2$	OR	CI95
	IgG positive n (%)	IgG negative n (%)	IgG positive n (%)	IgG negative n (%)			
Overall	49 (70)	21 (30)	37 (52.9)	33 (47.1)	0.037	2.081	1.040–4.165
Age group	< 38	17 (65.4)	9 (34.6)	16 (41)	0.054	2.715	0.970–7.602
	≥ 38	32 (72.7)	12 (27.3)	21 (67.7)	10 (32.3)	0.834 <sup>1</sup>	1.270

<sup>1</sup> With Yates correction.



**Fig. 2.** A- Histograms indicating the number of individuals (y axis) displaying the indicated range (x axis) of IgG levels in *T. gondii* seropositive subjects for patients with schizophrenia (right histogram) and healthy controls (left histogram). B- Anti-*T. gondii* IgG levels (AU/ml) in seropositive patients with schizophrenia (schizo+, n = 49) and seropositive healthy controls (schizo-, n = 37). Student t- Test, \*\*\*\*p<0.0001.

hypothesis, a recent large-scale study led in Denmark revealed that *T. gondii* seropositivity is associated with schizophrenia (OR = 1,47) but an even stronger association (OR = 2,78) was observed after excluding participants whose diagnosis preceded blood sample collection, suggesting that *T. gondii* infection might be a causal factor for schizophrenia (Burgdorf et al., 2019). Moreover, our study indicates a strong association between the schizophrenia status and previous history of psychological problems in the family (OR = 20.222, p = 2.162e-11) and at a lesser extend to inbreeding of parents (OR = 2.622, p = 0.019).

*T. gondii* type II strains establish lifelong persisting infections in the brain of their host forming intracellular cysts in neurons. It has been hypothesized that the low-grade chronic inflammation monitored during cerebral toxoplasmosis combined with neuronal functional alterations notably due to imbalance in neurotransmitter levels may increase the risk of developing schizophrenia (Sorlozano-Puerto and Gutierrez-Fernandez, 2016). However, our study relies on the measurement of anti-*T. gondii* antibodies in the serum of patients, which provide a marker of past exposure to the parasite but not of the presence of cysts in the CNS, thus of undergoing chronic infection. RH Yolken's team has developed a method for detecting the presence of tissue cysts in *T. gondii* seropositive mice and individuals consisting in measuring antibodies against MAG1, a parasite protein abundantly expressed within the cyst and the cyst wall (Ferguson and

Parmley, 2002; Xiao et al., 2016). Importantly, in humans, only a fraction of individuals with serological evidence for past exposure to *T. gondii* displayed a positive response for MAG1 antibodies and thus, presumably had cysts in the CNS (Xiao et al., 2013). Thus, it may be of relevance in future studies to examine the association between schizophrenia and anti-MAG1 IgG levels in an attempt to determine the percentage of cysts carriers in seropositive patients with schizophrenia compared to seropositive controls.

The established association between schizophrenia and *T. gondii* seroprevalence motivated clinical trials aiming to evaluate the therapeutic efficacy of antiparasitic agents (azithromycin, trimethoprim, artemisinin, and artemether) in patients with schizophrenia (Chorlton, 2017). None of these drugs were found to be effective to ameliorate psychopathological symptoms. However, none of these commonly administrated anti-*T. gondii* drugs showed efficacy to eradicate intraneuronal cysts in chronically infected mice, presumably due to reduced metabolism of the slow-growing bradyzoites, and limited passage of the drugs to the CNS (Cerutti et al., 2020). Therefore, it might be important to re-evaluate the efficacy of new developed drugs effective in reducing cyst viability *in vitro* or in mice (Cerutti et al., 2020; Martynowicz et al., 2019; Rutaganira et al., 2017) for the treatment of schizophrenia.

Interestingly, we found that the levels of anti-*T. gondii* IgG in

**Table 4**  
Dichotomized anti-*T. gondii* IgG levels in patients with schizophrenia and control subjects. .

IgG rate	Healthy controls	Patients with schizophrenia	p-value $\chi^2$	OR	CI95
[2-100] AU/ml	13.52%	100%	5.548e-15	0	0-0.022
> 100 AU/ml	86.48%	0%			

patients with established schizophrenia are significantly reduced compared to healthy controls (Fig. 2). It is possible that some of the medications used to treat schizophrenia impact on antibody levels as previously observed (Leweke et al., 2004) or on parasite persistence in the brain. Lowered antibody levels may be a consequence of the global immune-suppressive effect of antipsychotic treatments (May et al., 2019). Supporting a direct effect on parasites, the antipsychotic haloperidol and the mood stabilizer valproic acid were demonstrated to inhibit *T. gondii* growth *in vitro* (Jones-Brando et al., 2003). Besides, antipsychotic treatments may also have an impact on cyst burden by indirectly modulating brain homeostasis. Indeed, *T. gondii* persistence in the CNS has been reported to correlate with increased dopamine, glutamate and KYNA levels, thereby altering neuronal functions (Parlog et al., 2015). It is not yet elucidated whether some of these metabolic changes are induced by the parasite via secreted effectors but antipsychotic medications by targeting similar pathways may influence *T. gondii* persistence in the CNS. Additional evidence of a possible interference between *T. gondii* and antipsychotic medications is supported by the observation of increased *T. gondii* seroprevalence in individuals with treatment-resistant forms of schizophrenia (Vlatkovic et al., 2018) compared to treatment-responsive patients.

Thus, an improved understanding of the relationship between *T. gondii* infection and the pathophysiology of schizophrenia could help in preventing this devastating disease by developing new pharmacological treatment approaches.

#### CRedit authorship contribution statement

**Amir Med Kezai:** Conceptualization, Methodology, Investigation, Visualization. **Cécile Lecoœur:** Formal analysis, Writing - original draft, Writing - review & editing, Visualization. **David Hot:** Resources, Supervision, Writing - review & editing. **Mustapha Bounechada:** Conceptualization, Supervision. **Med Lamine Alouani:** Conceptualization, Methodology, Investigation, Supervision, Resources. **Sabrina Marion:** Conceptualization, Validation, Writing - original draft, Writing - review & editing, Visualization, Supervision, Project administration, Funding acquisition.

#### Declaration of Competing Interests

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

#### Acknowledgement

We would like to thank the staff of the Ain Abessa hospital for their collaboration, in particular Dr Izma TOBEL, Dr Bilal YAHIAOUI and Dr Halim KHENCHOUCHE for their support and constructive discussions. AK is supported by a grant from Campus France (PROFAS B+, N°956893 K).

#### Supplementary materials

Supplementary material associated with this article can be found, in the online version, at doi:10.1016/j.psychres.2020.113293.

#### References

Bachi, F., Yebbo-Bensaid, S.A., Gourbdji, E., Dardé, M.L., 2018. Première caractérisation moléculaire de deux souches algériennes de *Toxoplasma gondii* isolées de deux cas de toxoplasmose congénitale. *Méd. Mal. Infect* 48, 78–80. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2017.09.019>.

Braidy, N., Grant, R., 2017. Kynurenine pathway metabolism and neuroinflammatory disease. *Neural Regen. Res.* 12, 39–42. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.198971>.

Brown, A.S., 2011. Exposure to prenatal infection and risk of schizophrenia. *Front. Psychiatry.* 2, 63. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2011.00063>.

Burgdorf, K.S., Trabjerg, B.B., Pedersen, M.G., Nissen, J., Banasik, K., Pedersen, O.B., Sørensen, E., Nielsen, K.R., Larsen, M.H., Erikstrup, C., Bruun-Rasmussen, P., Westergaard, D., Thørner, L.W., Hjalgrim, H., Paarup, H.M., Brunak, S., Pedersen, C.B., Torrey, E.F., Werge, T., Mortensen, P.B., Yolken, R.H., Ullum, H., 2019. Large-scale study of *Toxoplasma* and Cytomegalovirus shows an association between infection and serious psychiatric disorders. *Brain. Behav. Immun.* 79, 152–158. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2019.01.026>.

Carruthers, V.B., Suzuki, Y., 2007. Effects of *Toxoplasma gondii* infection on the brain. *Schizophr. Bull.* 33, 745–751. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbm008>.

Cerutti, A., Blanchard, N., Besteiro, S., 2020. The Bradyzoite: a key developmental stage for the persistence and pathogenesis of toxoplasmosis. *Pathogens* 9, 234. <https://doi.org/10.3390/pathogens9030234>.

Chang, L., Friedman, J., Ernst, T., Zhong, K., Tsopelas, N.D., Davis, K., 2007. Brain metabolites abnormalities in the white matter of elderly schizophrenic subjects: implication for glial dysfunction. *Biol. Psychiatry.* 62, 1396–1404. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2007.05.025>.

Chorlton, S.D., 2017. *Toxoplasma gondii* and schizophrenia: a review of published RCTs. *Parasitol. Res.* 116, 1793–1799. <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5478-y>.

David, C.N., Frias, E.S., Szu, J.I., Vieira, P.A., Hubbard, J.A., Lovelace, J., Michael, M., Worth, D., McGovern, K.E., Ethell, I.M., Stanley, B.G., Korzus, E., Fiocco, T.A., Binder, D.K., Wilson, E.H., 2016. GLT-1-dependent disruption of CNS glutamate homeostasis and neuronal function by the protozoan parasite *Toxoplasma gondii*. *PLOS Pathog.* 12, e1005643. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005643>.

Del Grande, C., Galli, L., Schiavi, E., Dell'Osso, L., Bruschi, F., 2017. Is *Toxoplasma gondii* a trigger of bipolar disorder? *Pathogens* 6, 3. <https://doi.org/10.3390/pathogens6010003>.

El-Sahn, A.A., Shatat, H.Z., Ghitany, E.M., 2005. Seropositivity of toxoplasmosis in patients with schizophrenia. *J. Egypt. Public Health Assoc.* 80, 509–524.

Erhardt, S., Blennow, K., Nordin, C., Skogh, E., Lindström, L.H., Engberg, G., 2001. Kynurenine acid levels are elevated in the cerebrospinal fluid of patients with schizophrenia. *Neurosci. Lett.* 313, 96–98. [https://doi.org/10.1016/s0304-3940\(01\)02242-x](https://doi.org/10.1016/s0304-3940(01)02242-x).

Esshili, A., Thabet, S., Jemli, A., Trifa, F., Mechri, A., Zaafrane, F., Gaha, L., Juckel, G., Babba, H., Bel Hadj Jrad, B., 2016. *Toxoplasma gondii* infection in schizophrenia and associated clinical features. *Psychiatry Res.* 245, 327–332. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2016.08.056>.

Ferguson, D.J.P., Parmley, S.F., 2002. *Toxoplasma gondii* MAG1 protein expression. *Trends Parasitol.* 18, 482. [https://doi.org/10.1016/s1471-4922\(02\)02349-8](https://doi.org/10.1016/s1471-4922(02)02349-8).

First, M.B., 2015. Structured clinical interview for the DSM (SCID). In: Cautin, R.L., Lilienfeld, S.O. (Eds.), *The Encyclopedia of Clinical Psychology*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA, pp. 1–6. <https://doi.org/10.1002/9781118625392.wbecp351>.

Fuglewicz, A.J., Piotrowski, P., Stodolak, A., 2017. Relationship between toxoplasmosis and schizophrenia: a review. *Adv. Clin. Exp. Med. Off.* 26, 1031–1036. <https://doi.org/10.17219/acem/61435>.

Hamdani, N., Daban-Huard, C., Godin, O., Laouamri, H., Jamain, S., Attiba, D., Delavest, M., Lépine, J.-P., Le Corvoisier, P., Houenou, J., Richard, J.-R., Yolken, R.H., Krishnamoorthy, R., Tamouza, R., Leboyer, M., Dickerson, F.B., 2017. Effects of cumulative Herpesviridae and *Toxoplasma gondii* infections on cognitive function in healthy, bipolar, and schizophrenia subjects. *J. Clin. Psychiatry.* 78, e18–e27. <https://doi.org/10.4088/JCP.15m10133>.

Jones-Brando, L., Torrey, E.F., Yolken, R., 2003. Drugs used in the treatment of schizophrenia and bipolar disorder inhibit the replication of *Toxoplasma gondii*. *Schizophr. Res.* 62, 237–244. [https://doi.org/10.1016/s0920-9964\(02\)00357-2](https://doi.org/10.1016/s0920-9964(02)00357-2).

Karakula-Juchnowicz, H., Flis, M., Szymona, K., Kuczyńska, M., Stelmach, E., Kowal-Popczak, A., 2014. New prospects for antipsychotic treatment - the role of the kynurenine pathway. *Psychiatr. Pol.* 48, 1167–1177. <https://doi.org/10.12740/PP/25520>.

Kim, J.J., 2007. Viral Infections as Etiological Factors of Schizophrenia. *Psychiatry Investig.* 4, 61–65.

Kraguljac, N.V., White, D.M., Reid, M.A., Lahti, A.C., 2013. Increased hippocampal glutamate and volumetric deficits in unmedicated patients with schizophrenia. *JAMA Psychiatry* 70, 1294. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2013.2437>.

Leweke, F.M., Gerth, C.W., Koethe, D., Klosterkötter, J., Ruslanova, I., Krivogorsky, B., Torrey, E.F., Yolken, R.H., 2004. Antibodies to infectious agents in individuals with recent onset schizophrenia. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* 254, 4–8. <https://doi.org/10.1007/s00406-004-0481-6>.

Marder, S.R., Cannon, T.D., 2019. Schizophrenia. *N. Engl. J. Med.* 381, 1753–1761. <https://doi.org/10.1056/NEJMr1808803>.

Martynowicz, J., Augusto, L., Wek, R.C., Boehm, S.L., Sullivan, W.J., 2019. Guanabenz reverses a key behavioral change caused by latent toxoplasmosis in mice by reducing neuroinflammation. *mBio* doi:10.1128/mBio.00381-19.

May, M., Beauchemin, M., Vary, C., Barlow, D., Houseknecht, K.L., 2019. The antipsychotic medication, risperidone, causes global immunosuppression in healthy mice. *PLoS ONE* 14, e0218937. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218937>.

Messerer, L., Bouzbid, S., Gourbdji, E., Mansouri, R., Bachi, F., 2014. Seroprevalence of *Toxoplasmosis* in pregnant women in Annaba. *Rev. Epidemiol. Sante Publique* 62. <https://doi.org/10.1016/j.respe.2013.11.072>. 160–5.

Notarangelo, F.M., Wilson, E.H., Horning, K.J., Thomas, M.A.R., Harris, T.H., Fang, Q., Hunter, C.A., Schwarcz, R., 2014. Evaluation of kynurenine pathway metabolism in *Toxoplasma gondii*-infected mice: implications for schizophrenia. *Schizophr. Res.* 152, 261–267. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2013.11.011>.

Parlog, A., Schlüter, D., Dunay, I.R., 2015. *Toxoplasma gondii*-induced neuronal alterations. *Parasite Immunol.* 37, 159–170. <https://doi.org/10.1111/pim.12157>.

Plitman, E., Iwata, Y., Caravaggio, F., Nakajima, S., Chung, J.K., Gerretsen, P., Kim, J., Takeuchi, H., Chakravarty, M.M., Remington, G., Graff-Guerrero, A., 2017.

- Kynurenic acid in schizophrenia: a systematic review and meta-analysis. *Schizophr. Bull.* 43, 764–777. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbw221>.
- Prandovszky, E., Gaskell, E., Martin, H., Dubey, J.P., Webster, J.P., McConkey, G.A., 2011. The neurotropic parasite *Toxoplasma gondii* increases dopamine metabolism. *PLoS ONE* 6, e23866. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023866>.
- Rutaganira, F.U., Barks, J., Dhason, M.S., Wang, Q., Lopez, M.S., Long, S., Radke, J.B., Jones, N.G., Maddirala, A.R., Janetka, J.W., Bakkouri, El, M., Hui, R., Shokat, K.M., Sibley, L.D., 2017. Inhibition of calcium dependent protein kinase 1 (CDPK1) by pyrazolopyrimidine analogs decreases establishment and reoccurrence of central nervous system disease by *Toxoplasma gondii*. *J. Med. Chem.* 60, 9976–9989. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.7b01192>.
- Schneider, R., Tabet-Derraz, O., Dedet, J.P., Belkaid, M., Lamri, L., 1977. [Serodiagnosis of 2,438 cases of toxoplasmosis by immunofluorescence at the Pasteur institute of Algeria. epidemiological and clinical corollaries]. *Arch. Inst. Pasteur Algerie.* 52, 95–104.
- Sorlozano-Puerto, A., Gutierrez-Fernandez, J., 2016. *Toxoplasma gondii* and Schizophrenia: a Relationship That Is Not Ruled Out. *Schizophrenia Spectrum Disorders and Their Treatments*, Chapter: 4. Publisher: InTech, Rijeka, Croatia. <https://doi.org/10.5772/66018>.
- Sutterland, A.L., Fond, G., Kuin, A., Koeter, M.W.J., Lutter, R., van Gool, T., Yolken, R., Szoke, A., Leboyer, M., de Haan, L., 2015. Beyond the association. *Toxoplasma gondii* in schizophrenia, bipolar disorder, and addiction: systematic review and meta-analysis. *Acta Psychiatr. Scand* 132, 161–179. <https://doi.org/10.1111/acps.12423>.
- Taly, A., 2013. Novel approaches to drug design for the treatment of schizophrenia. *Expert Opin. Drug Discov.* 8, 1285–1296. <https://doi.org/10.1517/17460441.2013.821108>.
- Tedford, E., McConkey, G., 2017. Neurophysiological changes induced by chronic *Toxoplasma gondii* infection. *Pathogens* 6, 19. <https://doi.org/10.3390/pathogens6020019>.
- Torrey, E.F., Bartko, J.J., Lun, Z.-R., Yolken, R.H., 2007. Antibodies to *Toxoplasma gondii* in patients with schizophrenia: a meta-analysis. *Schizophr. Bull.* 33, 729–736. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbl050>.
- Torrey, E.F., Bartko, J.J., Yolken, R.H., 2012. *Toxoplasma gondii* and other risk factors for schizophrenia: an update. *Schizophr. Bull.* 38, 642–647. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbs043>.
- Uno, Y., Coyle, J.T., 2019. Glutamate hypothesis in schizophrenia. *Psychiatry Clin. Neurosci.* 73, 204–215. <https://doi.org/10.1111/pcn.12823>.
- Vlatkovic, S., Sagud, M., Svob Strac, D., Sviben, M., Zivkovic, M., Vilibic, M., Vuksan-Cusa, B., Mihaljevic-Peles, A., Pivac, N., 2018. Increased prevalence of *Toxoplasma gondii* seropositivity in patients with treatment-resistant schizophrenia. *Schizophr. Res* 193, 480–481. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2017.08.006>.
- Xiao, J., Li, Y., Prandovszky, E., Kannan, G., Viscidi, R.P., Pletnikov, M.V., Yolken, R.H., 2016. Behavioral abnormalities in a mouse model of chronic toxoplasmosis are associated with MAG1 antibody levels and cyst burden. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 10. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004674>.
- Xiao, J., Prandovszky, E., Kannan, G., Pletnikov, M.V., Dickerson, F., Severance, E.G., Yolken, R.H., 2018. *Toxoplasma gondii*: biological parameters of the connection to schizophrenia. *Schizophr. Bull.* 44, 983–992. <https://doi.org/10.1093/schbul/sby082>.
- Xiao, J., Viscidi, R.P., Kannan, G., Pletnikov, M.V., Li, Y., Severance, E.G., Yolken, R.H., Delhaes, L., 2013. The *Toxoplasma* MAG1 peptides induce sex-based humoral immune response in mice and distinguish active from chronic human infection. *Microbes Infect.* 15, 74–83. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2012.10.016>.
- Yolken, R., Torrey, E.F., Dickerson, F., 2017. Evidence of increased exposure to *Toxoplasma gondii* in individuals with recent onset psychosis but not with established schizophrenia. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 11, e0006040. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006040>.
- Zádor, F., Nagy-Grócz, G., Kekesi, G., Dvorácskó, S., Szűcs, E., Tömböly, C., Horvath, G., Benyhe, S., Vécsei, L., 2019. Kynurenines and the endocannabinoid system in schizophrenia: common points and potential interactions. *Molecules* 24, 3709. <https://doi.org/10.3390/molecules24203709>.

## Questionnaire

### Association entre la toxoplasmose chronique et la schizophrénie

**Nom et Prénom :**

**Age :**

**Sexe :**

**Etat matrimonial :** Célibataire  Marié(e)  Veuf (ve)

**Statut de travail :** Avec  Sans

**Niveau scolaire :** Primaire  Moyen  Secondaire  Universitaire

**Conditions socio-économiques :** Précaires  Moyennes  Excellentes

**Antécédents de troubles psychiatriques dans la famille :** Oui  Non

**Consanguinité des parents :** Oui  Non

**Consommation d'aliments crus (Lait, viandes ...) :** Oui  Non

**Contact étroit avec les chats :** Non  Durant l'enfance  Actuellement

**Maladies sous-jacentes :**

# Références bibliographiques

# Références bibliographiques

---

- Adl, S.M., Simpson, A.G.B., Lane, C.E., Lukeš, J., Bass, D., Bowser, S.S., Brown, M.W., Burki, F., Dunthorn, M., Hampl, V., Heiss, A., Hoppenrath, M., Lara, E., le Gall, L., Lynn, D.H., McManus, H., Mitchell, E.A.D., Mozley-Stanridge, S.E., Parfrey, L.W., Pawlowski, J., Rueckert, S., Shadwick, L., Schoch, C.L., Smirnov, A., Spiegel, F.W., 2012. The Revised Classification of Eukaryotes. *J. Eukaryot. Microbiol.* 59, 429–514. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.2012.00644.x>
- Alberati-Giani, D., Ricciardi-Castagnoli, P., Köhler, C., Cesura, A.M., 1996. Regulation of the Kynurenine Pathway by IFN- $\gamma$  in Murine Cloned Macrophages and Microglial Cells, in: Filippini, G.A., Costa, C.V.L., Bertazzo, A. (Eds.), *Recent Advances in Tryptophan Research: Tryptophan and Serotonin Pathways*, *Advances in Experimental Medicine and Biology*. Springer US, Boston, MA, pp. 171–175. [https://doi.org/10.1007/978-1-4613-0381-7\\_28](https://doi.org/10.1007/978-1-4613-0381-7_28)
- Aldebert, D., Durand, F., Mercier, C., Brenier-Pinchart, M.-P., Cesbron-Delauw, M.-F., Pelloux, H., 2007. *Toxoplasma gondii* triggers secretion of interleukin-12 but low level of interleukin-10 from the THP-1 human monocytic cell line. *Cytokine* 37, 206–211. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2007.03.012>
- Al-Hakeim, H.K., Al-Rammahi, D.A., Al-Dujaili, A.H., 2015. IL-6, IL-18, sIL-2R, and TNF $\alpha$  proinflammatory markers in depression and schizophrenia patients who are free of overt inflammation. *J. Affect. Disord.* 182, 106–114. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2015.04.044>
- Andrade, R.M., Portillo, J.-A.C., Wessendarp, M., Subauste, C.S., 2005. CD40 signaling in macrophages induces activity against an intracellular pathogen independently of gamma interferon and reactive nitrogen intermediates. *Infect. Immun.* 73, 3115–3123. <https://doi.org/10.1128/IAI.73.5.3115-3123.2005>
- Ashok, A.H., Baugh, J., Yeragani, V.K., 2012. Paul Eugen Bleuler and the origin of the term schizophrenia (SCHIZOPRENIEGRUPPE). *Indian J. Psychiatry* 54, 95–96. <https://doi.org/10.4103/0019-5545.94660>
- Ayano, G., 2016. Schizophrenia: A Concise Overview of Etiology, Epidemiology Diagnosis and Management: Review of literatures. *J Schizophrenia Res* 3, 7.
- Babcock, T.A., Carlin, J.M., 2000. Transcriptional activation of indoleamine dioxygenase by interleukin 1 and tumor necrosis factor alpha in interferon-treated epithelial cells. *Cytokine* 12, 588–594. <https://doi.org/10.1006/cyto.1999.0661>
- Babinkostova, Z., Stefanovski, B., 2011. Family history in patients with schizophrenia and depressive symptoms. *Prilozi* 32, 219–228.
- Badawy, A.A.-B., 2017. Kynurenine Pathway of Tryptophan Metabolism: Regulatory and Functional Aspects. *Int. J. Tryptophan Res. IJTR* 10, 1178646917691938. <https://doi.org/10.1177/1178646917691938>
- Ball, H.J., Sanchez-Perez, A., Weiser, S., Austin, C.J.D., Astelbauer, F., Miu, J., McQuillan, J.A., Stocker, R., Jermini, L.S., Hunt, N.H., 2007. Characterization of an indoleamine 2,3-dioxygenase-like protein found in humans and mice. *Gene* 396, 203–213. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2007.04.010>
- Bando, H., Sakaguchi, N., Lee, Y., Pradipta, A., Ma, J.S., Tanaka, S., Lai, D.-H., Liu, J., Lun, Z.-R., Nishikawa, Y., Sasai, M., Yamamoto, M., 2018. *Toxoplasma* Effector TgIST Targets Host IDO1 to Antagonize the IFN- $\gamma$ -Induced Anti-parasitic Response in Human Cells. *Front. Immunol.* 9. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02073>
- Baum, J., Papenfuss, A.T., Baum, B., Speed, T.P., Cowman, A.F., 2006. Regulation of apicomplexan actin-based motility. *Nat. Rev. Microbiol.* 4, 621–628. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1465>
- Bishop, J.R., Crawford, B.E., Esko, J.D., 2005. Cell surface heparan sulfate promotes replication of *Toxoplasma gondii*. *Infect. Immun.* 73, 5395–5401. <https://doi.org/10.1128/IAI.73.9.5395-5401.2005>

- Biswas, A., French, T., Düsedau, H.P., Mueller, N., Riek-Burchardt, M., Dudeck, A., Bank, U., Schüler, T., Dunay, I.R., 2017. Behavior of Neutrophil Granulocytes during *Toxoplasma gondii* Infection in the Central Nervous System. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 7, 259. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00259>
- Bjerkås, I., 1990. Neuropathology and host-parasite relationship of acute experimental toxoplasmosis of the blue fox (*Alopex lagopus*). *Vet. Pathol.* 27, 381–390. <https://doi.org/10.1177/030098589902700601>
- Blader, I.J., Coleman, B.I., Chen, C.-T., Gubbels, M.-J., 2015. Lytic Cycle of *Toxoplasma gondii*: 15 Years Later. *Annu. Rev. Microbiol.* 69, 463–485. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-091014-104100>
- Blanchard, N., Dunay, I.R., Schlüter, D., 2015. Persistence of *Toxoplasma gondii* in the central nervous system: a fine-tuned balance between the parasite, the brain and the immune system. *Parasite Immunol.* 37, 150–158. <https://doi.org/10.1111/pim.12173>
- Bliss, S.K., Marshall, A.J., Zhang, Y., Denkers, E.Y., 1999. Human polymorphonuclear leukocytes produce IL-12, TNF-alpha, and the chemokines macrophage-inflammatory protein-1 alpha and -1 beta in response to *Toxoplasma gondii* antigens. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 162, 7369–7375.
- Boillat, M., Hammoudi, P.-M., Dogga, S.K., Pagès, S., Goubran, M., Rodriguez, I., Soldati-Favre, D., 2020. Neuroinflammation-Associated Aspecific Manipulation of Mouse Predator Fear by *Toxoplasma gondii*. *Cell Rep.* 30, 320-334.e6. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.12.019>
- Bonda, D.J., Mailankot, M., Stone, J.G., Garrett, M.R., Staniszewska, M., Castellani, R.J., Siedlak, S.L., Zhu, X., Lee, H., Perry, G., Nagaraj, R.H., Smith, M.A., 2010. Indoleamine 2,3-dioxygenase and 3-hydroxykynurenine modifications are found in the neuropathology of Alzheimer's disease. *Redox Rep. Commun. Free Radic. Res.* 15, 161–168. <https://doi.org/10.1179/174329210X12650506623645>
- Boothroyd, J.C., Grigg, M.E., 2002. Population biology of *Toxoplasma gondii* and its relevance to human infection: do different strains cause different disease? 5.
- Bougdour, A., Durandau, E., Brenier-Pinchart, M.-P., Ortet, P., Barakat, M., Kieffer, S., Curt-Varesano, A., Curt-Bertini, R.-L., Bastien, O., Coute, Y., Pelloux, H., Hakimi, M.-A., 2013. Host cell subversion by *Toxoplasma* GRA16, an exported dense granule protein that targets the host cell nucleus and alters gene expression. *Cell Host Microbe* 13, 489–500. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2013.03.002>
- Brahmachari, S., Fung, Y.K., Pahan, K., 2006. Induction of Glial Fibrillary Acidic Protein Expression in Astrocytes by Nitric Oxide. *J. Neurosci.* 26, 4930–4939. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5480-05.2006>
- Braidy, N., Brew, B.J., Inestrosa, N.C., Chung, R., Sachdev, P., Guillemin, G.J., 2014. Changes in Cathepsin D and Beclin-1 mRNA and protein expression by the excitotoxin quinolinic acid in human astrocytes and neurons. *Metab. Brain Dis.* 29, 873–883. <https://doi.org/10.1007/s11011-014-9557-9>
- Braun, L., Brenier-Pinchart, M.-P., Yogavel, M., Curt-Varesano, A., Curt-Bertini, R.-L., Hussain, T., Kieffer-Jaquinod, S., Coute, Y., Pelloux, H., Tardieux, I., Sharma, A., Belrhali, H., Bougdour, A., Hakimi, M.-A., 2013. A *Toxoplasma* dense granule protein, GRA24, modulates the early immune response to infection by promoting a direct and sustained host p38 MAPK activation. *J. Exp. Med.* 210, 2071–2086. <https://doi.org/10.1084/jem.20130103>
- Brissos, S., Veguilla, M.R., Taylor, D., Balanzá-Martinez, V., 2014. The role of long-acting injectable antipsychotics in schizophrenia: a critical appraisal. *Ther. Adv. Psychopharmacol.* 4, 198–219. <https://doi.org/10.1177/2045125314540297>
- Brown, A.S., Bottiglieri, T., Schaefer, C.A., Quesenberry, C.P., Liu, L., Bresnahan, M., Susser, E.S., 2007. Elevated prenatal homocysteine levels as a risk factor for schizophrenia. *Arch. Gen. Psychiatry* 64, 31–39. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.64.1.31>
- Brown, A.S., Hooton, J., Schaefer, C.A., Zhang, H., Petkova, E., Babulas, V., Perrin, M., Gorman, J.M., Susser, E.S., 2004. Elevated maternal interleukin-8 levels and risk of schizophrenia in adult offspring. *Am. J. Psychiatry* 161, 889–895. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.161.5.889>

- Brown, A.S., Schaefer, C.A., Wyatt, R.J., Begg, M.D., Goetz, R., Bresnahan, M.A., Harkavy-Friedman, J., Gorman, J.M., Malaspina, D., Susser, E.S., 2002. Paternal Age and Risk of Schizophrenia in Adult Offspring. *Am. J. Psychiatry* 159, 1528–1533.
- Burgdorf, K.S., Trabjerg, B.B., Pedersen, M.G., Nissen, J., Banasik, K., Pedersen, O.B., Sørensen, E., Nielsen, K.R., Larsen, M.H., Erikstrup, C., Bruun-Rasmussen, P., Westergaard, D., Thørner, L.W., Hjalgrim, H., Paarup, H.M., Brunak, S., Pedersen, C.B., Torrey, E.F., Werge, T., Mortensen, P.B., Yolken, R.H., Ullum, H., 2019. Large-scale study of Toxoplasma and Cytomegalovirus shows an association between infection and serious psychiatric disorders. *Brain. Behav. Immun.* 79, 152–158. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2019.01.026>
- Butcher, B.A., Fox, B.A., Rommereim, L.M., Kim, S.G., Maurer, K.J., Yarovinsky, F., Herbert, D.R., Bzik, D.J., Denkers, E.Y., 2011. Toxoplasma gondii RhoGTPase Kinase ROP16 Activates STAT3 and STAT6 Resulting in Cytokine Inhibition and Arginase-1-Dependent Growth Control. *PLoS Pathog.* 7. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002236>
- Butcher, B.A., Greene, R.I., Henry, S.C., Annecharico, K.L., Weinberg, J.B., Denkers, E.Y., Sher, A., Taylor, G.A., 2005. p47 GTPases regulate Toxoplasma gondii survival in activated macrophages. *Infect. Immun.* 73, 3278–3286. <https://doi.org/10.1128/IAI.73.6.3278-3286.2005>
- Buzoni-Gatel, D., Werts, C., 2006. Toxoplasma gondii and subversion of the immune system. *Trends Parasitol.* 22, 448–452. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2006.08.002>
- Cabral, C.M., Tuladhar, S., Dietrich, H.K., Nguyen, E., MacDonald, W.R., Trivedi, T., Devineni, A., Koshy, A.A., 2016. Neurons are the Primary Target Cell for the Brain-Tropic Intracellular Parasite Toxoplasma gondii. *PLoS Pathog.* 12, e1005447. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005447>
- Campbell, B.M., Charych, E., Lee, A.W., Möller, T., 2014. Kynurenines in CNS disease: regulation by inflammatory cytokines. *Front. Neurosci.* 8. <https://doi.org/10.3389/fnins.2014.00012>
- Cannon, M., Jones, P.B., Murray, R.M., 2002. Obstetric complications and schizophrenia: historical and meta-analytic review. *Am. J. Psychiatry* 159, 1080–1092. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.159.7.1080>
- Cannon, T.D., van Erp, T.G.M., Rosso, I.M., Huttunen, M., Lönqvist, J., Pirkola, T., Salonen, O., Valanne, L., Poutanen, V.-P., Standertskjöld-Nordenstam, C.-G., 2002. Fetal Hypoxia and Structural Brain Abnormalities in Schizophrenic Patients, Their Siblings, and Controls. *Arch. Gen. Psychiatry* 59, 35. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.59.1.35>
- Carlsson, A., 2006. The neurochemical circuitry of schizophrenia. *Pharmacopsychiatry* 39 Suppl 1, S10-14. <https://doi.org/10.1055/s-2006-931483>
- Carruthers, V., Boothroyd, J.C., 2007. Pulling together: an integrated model of Toxoplasma cell invasion. *Curr. Opin. Microbiol.* 10, 83–89. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2006.06.017>
- Cekanaviciute, E., Dietrich, H.K., Axtell, R.C., Williams, A.M., Egusquiza, R., Wai, K.M., Koshy, A.A., Buckwalter, M.S., 2014. Astrocytic TGFβ signaling limits inflammation and reduces neuronal damage during CNS Toxoplasma infection. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 193, 139–149. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1303284>
- Cerutti, A., Blanchard, N., Besteiro, S., 2020. The Bradyzoite: A Key Developmental Stage for the Persistence and Pathogenesis of Toxoplasmosis. *Pathog. Basel Switz.* 9. <https://doi.org/10.3390/pathogens9030234>
- Chen, X., Chen, B., Hou, X., Zheng, C., Yang, X., Ke, J., Hu, X., Tan, F., 2019. Association between Toxoplasma gondii infection and psychiatric disorders in Zhejiang, Southeastern China. *Acta Trop.* 192, 82–86. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.02.001>
- Chen, Y., Guillemin, G.J., 2009. Kynurenine Pathway Metabolites in Humans: Disease and Healthy States. *Int. J. Tryptophan Res. IJTR* 2, 1–19.
- Chokhawala, K., Stevens, L., 2020. Antipsychotic Medications, in: *StatPearls*. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).
- Chorlton, S.D., 2017. Toxoplasma gondii and schizophrenia: a review of published RCTs. *Parasitol. Res.* 116, 1793–1799. <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5478-y>

- Clarke, M.C., Harley, M., Cannon, M., 2006. The Role of Obstetric Events in Schizophrenia. *Schizophr. Bull.* 32, 3–8. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbj028>
- Connor, T.J., Starr, N., O'Sullivan, J.B., Harkin, A., 2008. Induction of indoleamine 2,3-dioxygenase and kynurenine 3-monooxygenase in rat brain following a systemic inflammatory challenge: a role for IFN-gamma? *Neurosci. Lett.* 441, 29–34. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2008.06.007>
- Cornutiu, G., 2015. The Epidemiological Scale of Alzheimer's Disease. *J. Clin. Med. Res.* 7, 657–666. <https://doi.org/10.14740/jocmr2106w>
- Courret, N., Darche, S., Sonigo, P., Milon, G., Buzoni-Gâtel, D., Tardieux, I., 2006. CD11c- and CD11b-expressing mouse leukocytes transport single *Toxoplasma gondii* tachyzoites to the brain. *Blood* 107, 309–316. <https://doi.org/10.1182/blood-2005-02-0666>
- Dai, W., Pan, H., Kwok, O., Dubey, J.P., 1994. Human indoleamine 2,3-dioxygenase inhibits *Toxoplasma gondii* growth in fibroblast cells. *J. Interferon Res.* 14, 313–317. <https://doi.org/10.1089/jir.1994.14.313>
- Dalman, C., Thomas, H.V., David, A.S., Gentz, J., Lewis, G., Allebeck, P., 2001. Signs of asphyxia at birth and risk of schizophrenia. Population-based case-control study. *Br. J. Psychiatry J. Ment. Sci.* 179, 403–408. <https://doi.org/10.1192/bjpp.179.5.403>
- Dard, C., Fricker-Hidalgo, H., Brenier-Pinchart, M.-P., Pelloux, H., 2016. Relevance of and New Developments in Serology for Toxoplasmosis. *Trends Parasitol.* 32, 492–506. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2016.04.001>
- Dardé, M.L., 2008. *Toxoplasma gondii*, “new” genotypes and virulence. *Parasite* 15, 366–371. <https://doi.org/10.1051/parasite/2008153366>
- Däubener, W., MacKenzie, C.R., 1999. IFN-gamma activated indoleamine 2,3-dioxygenase activity in human cells is an antiparasitic and an antibacterial effector mechanism. *Adv. Exp. Med. Biol.* 467, 517–524. [https://doi.org/10.1007/978-1-4615-4709-9\\_64](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-4709-9_64)
- Däubener, W., Remscheid, C., Nockemann, S., Pilz, K., Seghrouchni, S., Mackenzie, C., Hadding, U., 1996. Anti-parasitic effector mechanisms in human brain tumor cells: role of interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha. *Eur. J. Immunol.* 26, 487–492. <https://doi.org/10.1002/eji.1830260231>
- David, C.N., Frias, E.S., Szu, J.I., Vieira, P.A., Hubbard, J.A., Lovelace, J., Michael, M., Worth, D., McGovern, K.E., Ethell, I.M., Stanley, B.G., Korzus, E., Fiacco, T.A., Binder, D.K., Wilson, E.H., 2016. GLT-1-Dependent Disruption of CNS Glutamate Homeostasis and Neuronal Function by the Protozoan Parasite *Toxoplasma gondii*. *PLOS Pathog.* 12, e1005643. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005643>
- De Castro, F.T., Brown, R.R., Price, J.M., 1957. The intermediary metabolism of tryptophan by cat and rat tissue preparations. *J. Biol. Chem.* 228, 777–784.
- de Jonge, J.C., Vinkers, C.H., Hulshoff Pol, H.E., Marsman, A., 2017. GABAergic Mechanisms in Schizophrenia: Linking Postmortem and In Vivo Studies. *Front. Psychiatry* 8. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2017.00118>
- Del Grande, C., Galli, L., Schiavi, E., Dell'Osso, L., Bruschi, F., 2017. Is *Toxoplasma gondii* a Trigger of Bipolar Disorder? *Pathogens* 6, 3. <https://doi.org/10.3390/pathogens6010003>
- Dimier, I.H., Bout, D.T., 1998. Interferon-gamma-activated primary enterocytes inhibit *Toxoplasma gondii* replication: a role for intracellular iron. *Immunology* 94, 488–495. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2567.1998.00553.x>
- Dobelis, P., Staley, K.J., Cooper, D.C., 2012. Lack of Modulation of Nicotinic Acetylcholine Alpha-7 Receptor Currents by Kynurenic Acid in Adult Hippocampal Interneurons. *PLoS ONE* 7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0041108>
- Dobrowolski, J., Sibley, L.D., 1997. The role of the cytoskeleton in host cell invasion by *Toxoplasma gondii*. *Behring Inst. Mitt.* 90–96.
- Drögemüller, K., Helmuth, U., Brunn, A., Sakowicz-Burkiewicz, M., Gutmann, D.H., Mueller, W., Deckert, M., Schlüter, D., 2008. Astrocyte gp130 Expression Is Critical for the Control of *Toxoplasma* Encephalitis. *J. Immunol.* 181, 2683–2693. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.181.4.2683>

- Dubey, J.P., 2010. Toxoplasmosis of Animals and Humans [WWW Document]. CRC Press. URL <https://www.crcpress.com/Toxoplasmosis-of-Animals-and-Humans/Dubey/p/book/9781420092363> (accessed 2.20.20).
- Dubey, J.P., Dubey, J.P., 2010. Toxoplasmosis of animals and humans, 2nd ed. ed. CRC Press, Boca Raton.
- Dubey, J.P., Lindsay, D.S., Speer, C.A., 1998. Structures of *Toxoplasma gondii* Tachyzoites, Bradyzoites, and Sporozoites and Biology and Development of Tissue Cysts. *Clin. Microbiol. Rev.* 11, 267–299. <https://doi.org/10.1128/CMR.11.2.267>
- Dunay, I.R., Fuchs, A., Sibley, L.D., 2010. Inflammatory Monocytes but Not Neutrophils Are Necessary To Control Infection with *Toxoplasma gondii* in Mice. *Infect. Immun.* 78, 1564–1570. <https://doi.org/10.1128/IAI.00472-09>
- Dunay, I.R., Gajurel, K., Dhakal, R., Liesenfeld, O., Montoya, J.G., 2018. Treatment of Toxoplasmosis: Historical Perspective, Animal Models, and Current Clinical Practice. *Clin. Microbiol. Rev.* 31, e00057-17, /cmr/31/4/e00057-17.atom. <https://doi.org/10.1128/CMR.00057-17>
- Dupont, C.D., Christian, D.A., Hunter, C.A., 2012. Immune response and immunopathology during toxoplasmosis. *Semin. Immunopathol.* 34, 793–813. <https://doi.org/10.1007/s00281-012-0339-3>
- Duquesne, V., Auriault, C., Gras-Masse, H., Boutillon, C., Darcy, F., Cesbron-Delauw, M.F., Tartar, A., Capron, A., 1991. Identification of T cell epitopes within a 23-kD antigen (P24) of *Toxoplasma gondii*. *Clin. Exp. Immunol.* 84, 527–534.
- Eggers, A.E., 2013. A serotonin hypothesis of schizophrenia. *Med. Hypotheses* 80, 791–794. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2013.03.013>
- Ek, S., Xq, Z., D, M., Hf, P., Sm, G., Jp, D., C, S., 2014. Geographical patterns of *Toxoplasma gondii* genetic diversity revealed by multilocus PCR-RFLP genotyping [WWW Document]. *Parasitology*. <https://doi.org/10.1017/S0031182013001844>
- Ellman, L.M., Deicken, R.F., Vinogradov, S., Kremen, W.S., Poole, J.H., Kern, D.M., Tsai, W.Y., Schaefer, C.A., Brown, A.S., 2010. Structural brain alterations in schizophrenia following fetal exposure to the inflammatory cytokine interleukin-8. *Schizophr. Res.* 121, 46–54. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2010.05.014>
- El-Sahn, A.A., Shatat, H.Z., Ghitany, E.M., 2005. Seropositivity of toxoplasmosis in patients with schizophrenia. *J. Egypt. Public Health Assoc.* 80, 509–524.
- Erhardt, S., Blennow, K., Nordin, C., Skogh, E., Lindström, L.H., Engberg, G., 2001. Kynurenic acid levels are elevated in the cerebrospinal fluid of patients with schizophrenia. *Neurosci. Lett.* 313, 96–98. [https://doi.org/10.1016/s0304-3940\(01\)02242-x](https://doi.org/10.1016/s0304-3940(01)02242-x)
- Erhardt, S., Schwieler, L., Imbeault, S., Engberg, G., 2017. The kynurenine pathway in schizophrenia and bipolar disorder. *Neuropharmacology* 112, 297–306. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2016.05.020>
- Erhardt, S., Schwieler, L., Nilsson, L., Linderholm, K., Engberg, G., 2007. The kynurenic acid hypothesis of schizophrenia. *Physiol. Behav.* 92, 203–209. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2007.05.025>
- Esshili, A., Thabet, S., Jemli, A., Trifa, F., Mechri, A., Zaafrane, F., Gaha, L., Juckel, G., Babba, H., Bel Hadj Jrad, B., 2016. *Toxoplasma gondii* infection in schizophrenia and associated clinical features. *Psychiatry Res.* 245, 327–332. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2016.08.056>
- Etheridge, R.D., Alaganan, A., Tang, K., Lou, H.J., Turk, B.E., Sibley, L.D., 2014. The *Toxoplasma* pseudokinase ROP5 forms complexes with ROP18 and ROP17 kinases that synergize to control acute virulence in mice. *Cell Host Microbe* 15, 537–550. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2014.04.002>
- Fagard, R., Van Tan, H., Creuzet, C., Pelloux, H., 1999. Differential development of *Toxoplasma gondii* in neural cells. *Parasitol. Today Pers. Ed* 15, 504–507. [https://doi.org/10.1016/s0169-4758\(99\)01568-9](https://doi.org/10.1016/s0169-4758(99)01568-9)
- Felger, J.C., Mun, J., Kimmel, H.L., Nye, J.A., Drake, D.F., Hernandez, C.R., Freeman, A.A., Rye, D.B., Goodman, M.M., Howell, L.L., Miller, A.H., 2013. Chronic Interferon- $\alpha$  Decreases Dopamine 2 Receptor Binding and Striatal Dopamine Release in Association with Anhedonia-Like Behavior

- in Nonhuman Primates. *Neuropsychopharmacology* 38, 2179–2187.  
<https://doi.org/10.1038/npp.2013.115>
- Ferguson, D.J.P., 2009. *Toxoplasma gondii*: 1908-2008, homage to Nicolle, Manceaux and Splendore. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 104, 133–148. <https://doi.org/10.1590/s0074-02762009000200003>
- Ferguson, D.J.P., 2004. Use of molecular and ultrastructural markers to evaluate stage conversion of *Toxoplasma gondii* in both the intermediate and definitive host. *Int. J. Parasitol.* 34, 347–360. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2003.11.024>
- Ferguson, D.J.P., Hutchison, W.M., 1987. An ultrastructural study of the early development and tissue cyst formation of *Toxoplasma gondii* in the brains of mice. *Parasitol. Res.* 73, 483–491. <https://doi.org/10.1007/BF00535321>
- Ferguson, D.J.P., Parmley, S.F., 2002. *Toxoplasma gondii* MAG1 protein expression. *Trends Parasitol.* 18, 482. [https://doi.org/10.1016/s1471-4922\(02\)02349-8](https://doi.org/10.1016/s1471-4922(02)02349-8)
- Filice, G.A., Clabots, C.R., Riciputi, P.E., Goñi-Laguardia, O., Pomeroy, C., 1999. Changes in Cytokine Levels during Reactivation of *Toxoplasma gondii* Infection in Lungs. *Infect. Immun.* 67, 2082–2089. <https://doi.org/10.1128/IAI.67.5.2082-2089.1999>
- Flegr, J., 2015. Schizophrenia and *Toxoplasma gondii*: an undervalued association? *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 13, 817–820. <https://doi.org/10.1586/14787210.2015.1051033>
- Franzek, E., Beckmann, H., 1998. Different genetic background of schizophrenia spectrum psychoses: a twin study. *Am. J. Psychiatry* 155, 76–83. <https://doi.org/10.1176/ajp.155.1.76>
- Frickel, E.-M., Sahoo, N., Hopp, J., Gubbels, M.-J., Craver, M.P.J., Knoll, L.J., Ploegh, H.L., Grotenbreg, G.M., 2008. Parasite stage-specific recognition of endogenous *Toxoplasma gondii*-derived CD8+ T cell epitopes. *J. Infect. Dis.* 198, 1625–1633. <https://doi.org/10.1086/593019>
- Frydecka, D., Misiak, B., Pawlak-Adamska, E., Karabon, L., Tomkiewicz, A., Sedlaczek, P., Kiejna, A., Beszlej, J.A., 2015. Sex differences in TGFβ signaling with respect to age of onset and cognitive functioning in schizophrenia. *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* 11, 575–584. <https://doi.org/10.2147/NDT.S74672>
- Fujigaki, S., Saito, K., Takemura, M., Maekawa, N., Yamada, Y., Wada, H., Seishima, M., 2002. L-tryptophan-L-kynurenine pathway metabolism accelerated by *Toxoplasma gondii* infection is abolished in gamma interferon-gene-deficient mice: cross-regulation between inducible nitric oxide synthase and indoleamine-2,3-dioxygenase. *Infect. Immun.* 70, 779–786. <https://doi.org/10.1128/iai.70.2.779-786.2002>
- Galal, L., Hamidović, A., Dardé, M.L., Mercier, M., 2019. Diversity of *Toxoplasma gondii* strains at the global level and its determinants. *Food Waterborne Parasitol.* 15, e00052. <https://doi.org/10.1016/j.fawpar.2019.e00052>
- Gardner, D.M., Baldessarini, R.J., Waraich, P., 2005. Modern antipsychotic drugs: a critical overview. *CMAJ Can. Med. Assoc. J.* 172, 1703–1711. <https://doi.org/10.1503/cmaj.1041064>
- Gaskell, E.A., Smith, J.E., Pinney, J.W., Westhead, D.R., McConkey, G.A., 2009. A Unique Dual Activity Amino Acid Hydroxylase in *Toxoplasma gondii*. *PLoS ONE* 4, e4801. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004801>
- Gay, G., Braun, L., Brenier-Pinchart, M.-P., Vollaire, J., Josserand, V., Bertini, R.-L., Varesano, A., Touquet, B., De Bock, P.-J., Coute, Y., Tardieux, I., Bougdour, A., Hakimi, M.-A., 2016. *Toxoplasma gondii* TgIST co-opts host chromatin repressors dampening STAT1-dependent gene regulation and IFN-γ-mediated host defenses. *J. Exp. Med.* 213, 1779–1798. <https://doi.org/10.1084/jem.20160340>
- Gazzinelli, R., Xu, Y., Hieny, S., Cheever, A., Sher, A., 1992. Simultaneous depletion of CD4+ and CD8+ T lymphocytes is required to reactivate chronic infection with *Toxoplasma gondii*. *J. Immunol. Baltim. Md* 150, 175–180.
- Gazzinelli, R.T., Wysocka, M., Hayashi, S., Denkers, E.Y., Hieny, S., Caspar, P., Trinchieri, G., Sher, A., 1994. Parasite-induced IL-12 stimulates early IFN-γ synthesis and resistance during acute infection with *Toxoplasma gondii*. *J. Immunol. Baltim. Md* 153, 2533–2543.
- Geddes, J.R., Verdoux, H., Takei, N., Lawrie, S.M., Bovet, P., Eagles, J.M., Heun, R., McCreadie, R.G., McNeil, T.F., O'Callaghan, E., Stöber, G., Willinger, U., Murray, R.M., 1999. Schizophrenia and

- Complications of Pregnancy and Labor: An Individual Patient Data Meta-analysis. *Schizophr. Bull.* 25, 413–423. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.schbul.a033389>
- Gejman, P.V., Sanders, A.R., Duan, J., 2010. The role of genetics in the etiology of schizophrenia. *Psychiatr. Clin. North Am.* 33, 35–66. <https://doi.org/10.1016/j.psc.2009.12.003>
- Gigley, J.P., 2016. The Diverse Role of NK Cells in Immunity to *Toxoplasma gondii* Infection. *PLoS Pathog.* 12. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005396>
- Gigley, J.P., Fox, B.A., Bzik, D.J., 2009. Long-term immunity to lethal acute or chronic type II *Toxoplasma gondii* infection is effectively induced in genetically susceptible C57BL/6 mice by immunization with an attenuated type I vaccine strain. *Infect. Immun.* 77, 5380–5388. <https://doi.org/10.1128/IAI.00649-09>
- Giorgini, F., Huang, S.-Y., Sathyasaikumar, K.V., Notarangelo, F.M., Thomas, M.A.R., Tararina, M., Wu, H.-Q., Schwarcz, R., Muchowski, P.J., 2013. Targeted Deletion of Kynurenine 3-Monooxygenase in Mice. *J. Biol. Chem.* 288, 36554–36566. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.503813>
- Giorgini, F., Möller, T., Kwan, W., Zwilling, D., Wacker, J.L., Hong, S., Tsai, L.-C.L., Cheah, C.S., Schwarcz, R., Guidetti, P., Muchowski, P.J., 2008. Histone deacetylase inhibition modulates kynurenine pathway activation in yeast, microglia, and mice expressing a mutant huntingtin fragment. *J. Biol. Chem.* 283, 7390–7400. <https://doi.org/10.1074/jbc.M708192200>
- Goldsmith, D.R., Rapaport, M.H., Miller, B.J., 2016. A meta-analysis of blood cytokine network alterations in psychiatric patients: comparisons between schizophrenia, bipolar disorder and depression. *Mol. Psychiatry* 21, 1696–1709. <https://doi.org/10.1038/mp.2016.3>
- Goldszmid, R.S., Caspar, P., Rivollier, A., White, S., Dzutsev, A., Hieny, S., Kelsall, B., Trinchieri, G., Sher, A., 2012. NK cell-derived interferon- $\gamma$  orchestrates cellular dynamics and the differentiation of monocytes into dendritic cells at the site of infection. *Immunity* 36, 1047–1059. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2012.03.026>
- González-Sánchez, M., Jiménez, J., Narváez, A., Antequera, D., Llamas-Velasco, S., Martín, A.H.-S., Arjona, J.A.M., Munain, A.L. de, Bisa, A.L., Marco, M.-P., Rodríguez-Núñez, M., Pérez-Martínez, D.A., Villarejo-Galende, A., Bartolome, F., Domínguez, E., Carro, E., 2020. Kynurenic Acid Levels are Increased in the CSF of Alzheimer's Disease Patients. *Biomolecules* 10. <https://doi.org/10.3390/biom10040571>
- Guevara, R.B., Fox, B.A., Falla, A., Bzik, D.J., 2019. *Toxoplasma gondii* Intravacuolar-Network-Associated Dense Granule Proteins Regulate Maturation of the Cyst Matrix and Cyst Wall. *mSphere* 4. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00487-19>
- Guillemin, G.J., 2012. Quinolinic acid, the inescapable neurotoxin. *FEBS J.* 279, 1356–1365. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2012.08485.x>
- Guillemin, G. J., Brew, B.J., Noonan, C.E., Takikawa, O., Cullen, K.M., 2005. Indoleamine 2,3-dioxygenase and quinolinic acid immunoreactivity in Alzheimer's disease hippocampus. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 31, 395–404. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2990.2005.00655.x>
- Guillemin, G.J., Cullen, K.M., Lim, C.K., Smythe, G.A., Garner, B., Kapoor, V., Takikawa, O., Brew, B.J., 2007. Characterization of the kynurenine pathway in human neurons. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 27, 12884–12892. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4101-07.2007>
- Guillemin, G.J., Kerr, S.J., Smythe, G.A., Smith, D.G., Kapoor, V., Armati, P.J., Croitoru, J., Brew, B.J., 2001. Kynurenine pathway metabolism in human astrocytes: a paradox for neuronal protection. *J. Neurochem.* 78, 842–853. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2001.00498.x>
- Guillemin, Gilles J., Smythe, G., Takikawa, O., Brew, B.J., 2005. Expression of indoleamine 2,3-dioxygenase and production of quinolinic acid by human microglia, astrocytes, and neurons. *Glia* 49, 15–23. <https://doi.org/10.1002/glia.20090>
- Gulaj, E., Pawlak, K., Bien, B., Pawlak, D., 2010. Kynurenine and its metabolites in Alzheimer's disease patients. *Adv. Med. Sci.* 55, 204–211. <https://doi.org/10.2478/v10039-010-0023-6>
- Halonen, S.K., Lyman, W.D., Chiu, F.C., 1996. Growth and development of *Toxoplasma gondii* in human neurons and astrocytes. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 55, 1150–1156. <https://doi.org/10.1097/00005072-199611000-00006>

- Hammoudi, P.-M., Jacot, D., Mueller, C., Cristina, M.D., Dogga, S.K., Marq, J.-B., Romano, J., Tosetti, N., Dubrot, J., Emre, Y., Lunghi, M., Coppens, I., Yamamoto, M., Sojka, D., Pino, P., Soldati-Favre, D., 2015. Fundamental Roles of the Golgi-Associated Toxoplasma Aspartyl Protease, ASP5, at the Host-Parasite Interface. *PLOS Pathog.* 11, e1005211.  
<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005211>
- Hany, M., Rehman, B., Azhar, Y., Chapman, J., 2020. Schizophrenia, in: *StatPearls*. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).
- Haroon, F., Händel, U., Angenstein, F., Goldschmidt, J., Kreutzmann, P., Lison, H., Fischer, K.-D., Scheich, H., Wetzels, W., Schlüter, D., Budinger, E., 2012. *Toxoplasma gondii* actively inhibits neuronal function in chronically infected mice. *PLoS One* 7, e35516.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035516>
- Hassan, M.A., Olijnik, A.-A., Frickel, E.-M., Saeij, J.P., 2019. Clonal and atypical *Toxoplasma* strain differences in virulence vary with mouse sub-species. *Int. J. Parasitol.* 49, 63–70.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2018.08.007>
- Hassanain, H.H., Chon, S.Y., Gupta, S.L., 1993. Differential regulation of human indoleamine 2,3-dioxygenase gene expression by interferons-gamma and -alpha. Analysis of the regulatory region of the gene and identification of an interferon-gamma-inducible DNA-binding factor. *J. Biol. Chem.* 268, 5077–5084.
- He, H., Brenier-Pinchart, M.-P., Braun, L., Kraut, A., Touquet, B., Couté, Y., Tardieux, I., Hakimi, M.-A., Bougdour, A., 2018. Characterization of a *Toxoplasma* effector uncovers an alternative GSK3/β-catenin-regulatory pathway of inflammation. *eLife* 7.  
<https://doi.org/10.7554/eLife.39887>
- He, X., Grigg, M.E., Boothroyd, J.C., Garcia, K.C., 2002. Structure of the immunodominant surface antigen from the *Toxoplasma gondii* SRS superfamily. *Nat. Struct. Biol.* 9, 606–611.  
<https://doi.org/10.1038/nsb819>
- Heneka, M.T., Carson, M.J., El Khoury, J., Landreth, G.E., Brosseron, F., Feinstein, D.L., Jacobs, A.H., Wyss-Coray, T., Vitorica, J., Ransohoff, R.M., Herrup, K., Frautschy, S.A., Finsen, B., Brown, G.C., Verkhratsky, A., Yamanaka, K., Koistinaho, J., Latz, E., Halle, A., Petzold, G.C., Town, T., Morgan, D., Shinohara, M.L., Perry, V.H., Holmes, C., Bazan, N.G., Brooks, D.J., Hunot, S., Joseph, B., Deigendesch, N., Garaschuk, O., Boddeke, E., Dinarello, C.A., Breitner, J.C., Cole, G.M., Golenbock, D.T., Kummer, M.P., 2015. Neuroinflammation in Alzheimer's disease. *Lancet Neurol.* 14, 388–405. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(15\)70016-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(15)70016-5)
- Henriquez, S.A., Brett, R., Alexander, J., Pratt, J., Roberts, C.W., 2009. Neuropsychiatric disease and *Toxoplasma gondii* infection. *Neuroimmunomodulation* 16, 122–133.  
<https://doi.org/10.1159/000180267>
- Heyes, M.P., Saito, K., Lackner, A., Wiley, C.A., Achim, C.L., Markey, S.P., 1998. Sources of the neurotoxin quinolinic acid in the brain of HIV-1-infected patients and retrovirus-infected macaques. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 12, 881–896.  
<https://doi.org/10.1096/fasebj.12.10.881>
- Heyes, M.P., Saito, K., Markey, S.P., 1992. Human macrophages convert L-tryptophan into the neurotoxin quinolinic acid. *Biochem. J.* 283 ( Pt 3), 633–635.  
<https://doi.org/10.1042/bj2830633>
- Hidano, S., Randall, L.M., Dawson, L., Dietrich, H.K., Konradt, C., Klover, P.J., John, B., Harris, T.H., Fang, Q., Turek, B., Kobayashi, T., Hennighausen, L., Beiting, D.P., Koshy, A.A., Hunter, C.A., 2016. STAT1 Signaling in Astrocytes Is Essential for Control of Infection in the Central Nervous System. *mBio* 7, e01881-16, /mbio/7/6/e01881-16.atom.  
<https://doi.org/10.1128/mBio.01881-16>
- Hilmas, C., Pereira, E.F., Alkondon, M., Rassoulpour, A., Schwarcz, R., Albuquerque, E.X., 2001. The brain metabolite kynurenic acid inhibits alpha7 nicotinic receptor activity and increases non-alpha7 nicotinic receptor expression: physiopathological implications. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 21, 7463–7473.
- Hodson, R., 2018. Alzheimer's disease. *Nature* 559, S1. <https://doi.org/10.1038/d41586-018-05717-6>

- Hong, D.-P., Radke, J.B., White, M.W., 2017. Opposing Transcriptional Mechanisms Regulate Toxoplasma Development. *mSphere* 2. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00347-16>
- Hopper, A.T., Campbell, B.M., Kao, H., Pintchovski, S.A., Staal, R.G.W., 2012. Chapter Four - Recent Developments in Targeting Neuroinflammation in Disease, in: Desai, M.C. (Ed.), *Annual Reports in Medicinal Chemistry*, Annual Reports in Medicinal Chemistry. Academic Press, pp. 37–53. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-396492-2.00004-7>
- Howes, O., McCutcheon, R., Stone, J., 2015. Glutamate and dopamine in schizophrenia: an update for the 21st century. *J. Psychopharmacol. Oxf. Engl.* 29, 97–115. <https://doi.org/10.1177/0269881114563634>
- Huengsborg, M., Winer, J.B., Gompels, M., Round, R., Ross, J., Shahmanesh, M., 1998. Serum kynurenine-to-tryptophan ratio increases with progressive disease in HIV-infected patients. *Clin. Chem.* 44, 858–862. <https://doi.org/10.1093/clinchem/44.4.858>
- Hulínská, D., Sýkora, J., Zástěra, M., 1990. Effect of cortisone on *Toxoplasma gondii* infection studied by electron microscopy. *Folia Parasitol. (Praha)* 37, 207–212.
- Hunter, C.A., Bermudez, L., Beernink, H., Waegell, W., Remington, J.S., 1995. Transforming growth factor- $\beta$  inhibits interleukin-12-induced production of interferon- $\gamma$  by natural killer cells: A role for transforming growth factor- $\beta$  in the regulation of T cell-independent resistance to *Toxoplasma gondii*. *Eur. J. Immunol.* 25, 994–1000. <https://doi.org/10.1002/eji.1830250420>
- Hunter, C.A., Remington, J.S., 1994. Immunopathogenesis of toxoplasmic encephalitis. *J. Infect. Dis.* 170, 1057–1067. <https://doi.org/10.1093/infdis/170.5.1057>
- Hunter, C.A., Roberts, C.W., Alexander, J., 1992. Kinetics of cytokine mRNA production in the brains of mice with progressive toxoplasmic encephalitis. *Eur. J. Immunol.* 22, 2317–2322. <https://doi.org/10.1002/eji.1830220921>
- Huttunen, M.O., Niskanen, P., 1978. Prenatal loss of father and psychiatric disorders. *Arch. Gen. Psychiatry* 35, 429–431. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.1978.01770280039004>
- Huttunen, R., Syrjänen, J., Aittoniemi, J., Oja, S.S., Raitala, A., Laine, J., Pertovaara, M., Vuento, R., Huhtala, H., Hurme, M., 2010. High activity of indoleamine 2,3 dioxygenase enzyme predicts disease severity and case fatality in bacteremic patients. *Shock Augusta Ga* 33, 149–154. <https://doi.org/10.1097/SHK.0b013e3181ad3195>
- Huynh, M.-H., Rabenau, K.E., Harper, J.M., Beatty, W.L., Sibley, L.D., Carruthers, V.B., 2003. Rapid invasion of host cells by *Toxoplasma* requires secretion of the MIC2–M2AP adhesive protein complex. *EMBO J.* 22, 2082–2090. <https://doi.org/10.1093/emboj/cdg217>
- Hwang, Y.S., Shin, J.-H., Yang, J.-P., Jung, B.-K., Lee, S.H., Shin, E.-H., 2018. Characteristics of Infection Immunity Regulated by *Toxoplasma gondii* to Maintain Chronic Infection in the Brain. *Front. Immunol.* 9. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00158>
- Iyer, S.S., Cheng, G., 2012. Role of Interleukin 10 Transcriptional Regulation in Inflammation and Autoimmune Disease. *Crit. Rev. Immunol.* 32, 23–63.
- Jacobs, D., Vercammen, M., Saman, E., 1999. Evaluation of recombinant dense granule antigen 7 (GRA7) of *Toxoplasma gondii* for detection of immunoglobulin G antibodies and analysis of a major antigenic domain. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 6, 24–29.
- Jacot, D., Daher, W., Soldati-Favre, D., 2013. *Toxoplasma gondii* myosin F, an essential motor for centrosomes positioning and apicoplast inheritance. *EMBO J.* 32, 1702–1716. <https://doi.org/10.1038/emboj.2013.113>
- Javitt, D.C., 2007. Glutamate and schizophrenia: phencyclidine, N-methyl-D-aspartate receptors, and dopamine-glutamate interactions. *Int. Rev. Neurobiol.* 78, 69–108. [https://doi.org/10.1016/S0074-7742\(06\)78003-5](https://doi.org/10.1016/S0074-7742(06)78003-5)
- Javitt, D.C., Zukin, S.R., Heresco-Levy, U., Umbricht, D., 2012. Has an angel shown the way? Etiological and therapeutic implications of the PCP/NMDA model of schizophrenia. *Schizophr. Bull.* 38, 958–966. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbs069>
- Jebbari, H., Roberts, C.W., Ferguson, D.J., Bluethmann, H., Alexander, J., 1998. A protective role for IL-6 during early infection with *Toxoplasma gondii*. *Parasite Immunol.* 20, 231–239. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3024.1998.00152.x>

- Jenkins, T.A., 2013. Perinatal complications and schizophrenia: involvement of the immune system. *Front. Neurosci.* 7. <https://doi.org/10.3389/fnins.2013.00110>
- John M. Eisenberg Center for Clinical Decisions and Communications Science, 2005. Antipsychotic Medicines for Treating Schizophrenia and Bipolar Disorder: A Review of the Research for Adults and Caregivers, in: Comparative Effectiveness Review Summary Guides for Consumers, AHRQ Comparative Effectiveness Reviews. Agency for Healthcare Research and Quality (US), Rockville (MD).
- Johnson, L.L., Gibson, G.W., Sayles, P.C., 1996. CR3-dependent resistance to acute *Toxoplasma gondii* infection in mice. *Infect. Immun.* 64, 1998–2003.
- Johnson, L.L., Sayles, P.C., 2002. Deficient Humoral Responses Underlie Susceptibility to *Toxoplasma gondii* in CD4-Deficient Mice. *Infect. Immun.* 70, 185–191. <https://doi.org/10.1128/IAI.70.1.185-191.2002>
- Jones, P.B., Rantakallio, P., Hartikainen, A.L., Isohanni, M., Sipila, P., 1998. Schizophrenia as a long-term outcome of pregnancy, delivery, and perinatal complications: a 28-year follow-up of the 1966 north Finland general population birth cohort. *Am. J. Psychiatry* 155, 355–364. <https://doi.org/10.1176/ajp.155.3.355>
- Jones-Brando, L., Torrey, E.F., Yolken, R., 2003. Drugs used in the treatment of schizophrenia and bipolar disorder inhibit the replication of *Toxoplasma gondii*. *Schizophr. Res.* 62, 237–244. [https://doi.org/10.1016/s0920-9964\(02\)00357-2](https://doi.org/10.1016/s0920-9964(02)00357-2)
- Kang, H., Remington, J.S., Suzuki, Y., 2000. Decreased resistance of B cell-deficient mice to infection with *Toxoplasma gondii* despite unimpaired expression of IFN-gamma, TNF-alpha, and inducible nitric oxide synthase. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 164, 2629–2634. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.164.5.2629>
- Karakuła-Juchnowicz, H., Flis, M., Szymona, K., Kuczyńska, M., Stelmach, E., Kowal-Popczak, A., 2014. New prospects for antipsychotic treatment - the role of the kynurenine pathway. *Psychiatr. Pol.* 48, 1167–1177. <https://doi.org/10.12740/PP/25520>
- Kasper, L.H., Khan, I.A., Ely, K.H., Buelow, R., Boothroyd, J.C., 1992. Antigen-specific (p30) mouse CD8+ T cells are cytotoxic against *Toxoplasma gondii*-infected peritoneal macrophages. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 148, 1493–1498.
- Kegel, M.E., Bhat, M., Skogh, E., Samuelsson, M., Lundberg, K., Dahl, M.-L., Sellgren, C., Schwieler, L., Engberg, G., Schuppe-Koistinen, I., Erhardt, S., 2014. Imbalanced Kynurenine Pathway in Schizophrenia. *Int. J. Tryptophan Res. IJTR* 7, 15–22. <https://doi.org/10.4137/IJTR.S16800>
- Kendler, K.S., Diehl, S.R., 1993. The genetics of schizophrenia: a current, genetic-epidemiologic perspective. *Schizophr. Bull.* 19, 261–285. <https://doi.org/10.1093/schbul/19.2.261>
- Keskinen, P., Ronni, T., Matikainen, S., Lehtonen, A., Julkunen, I., 1997. Regulation of HLA class I and II expression by interferons and influenza A virus in human peripheral blood mononuclear cells. *Immunology* 91, 421–429.
- Khan, I.A., Hwang, S., Moretto, M., 2019. *Toxoplasma gondii*: CD8 T Cells Cry for CD4 Help. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 9. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00136>
- Kindler, J., Lim, C.K., Weickert, C.S., Boerrigter, D., Galletly, C., Liu, D., Jacobs, K.R., Balzan, R., Bruggemann, J., O'Donnell, M., Lenroot, R., Guillemin, G.J., Weickert, T.W., 2019. Dysregulation of kynurenine metabolism is related to proinflammatory cytokines, attention, and prefrontal cortex volume in schizophrenia. *Mol. Psychiatry* 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41380-019-0401-9>
- Kirkbride, J., Coid, J.W., Morgan, C., Fearon, P., Dazzan, P., Yang, M., Lloyd, T., Harrison, G.L., Murray, R.M., Jones, P.B., 2010. Translating the epidemiology of psychosis into public mental health: evidence, challenges and future prospects. *J. Public Ment. Health* 9, 4–14. <https://doi.org/10.5042/jpmh.2010.0324>
- Kirkpatrick, B., Miller, B.J., 2013. Inflammation and Schizophrenia. *Schizophr. Bull.* 39, 1174–1179. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbt141>
- Kita, T., Morrison, P.F., Heyes, M.P., Markey, S.P., 2002. Effects of systemic and central nervous system localized inflammation on the contributions of metabolic precursors to the L-

- kynurenine and quinolinic acid pools in brain. *J. Neurochem.* 82, 258–268.  
<https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2002.00955.x>
- Koblansky, A.A., Jankovic, D., Oh, H., Hieny, S., Sungnak, W., Mathur, R., Hayden, M.S., Akira, S., Sher, A., Ghosh, S., 2013. Recognition of profilin by Toll-like receptor 12 is critical for host resistance to *Toxoplasma gondii*. *Immunity* 38, 119–130.  
<https://doi.org/10.1016/j.immuni.2012.09.016>
- Konradt, C., Ueno, N., Christian, D.A., DeLong, J.H., Pritchard, G.H., Herz, J., Bzik, D.J., Koshy, A.A., McGavern, D.B., Lodoen, M.B., Hunter, C.A., 2016. Endothelial cells are a replicative niche for entry of *Toxoplasma gondii* to the central nervous system. *Nat. Microbiol.* 1, 16001.  
<https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2016.1>
- Körschenhausen, D.A., Hampel, H.J., Ackenheil, M., Penning, R., Müller, N., 1996. Fibrin degradation products in post mortem brain tissue of schizophrenics: a possible marker for underlying inflammatory processes. *Schizophr. Res.* 19, 103–109. [https://doi.org/10.1016/0920-9964\(95\)00073-9](https://doi.org/10.1016/0920-9964(95)00073-9)
- Kota, A.S., Shabbir, N., 2020. Congenital Toxoplasmosis, in: StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).
- Koutsoumanis, K., Allende, A., Alvarez-Ordóñez, A., Bolton, D., Bover-Cid, S., Chemaly, M., Davies, R., Cesare, A.D., Herman, L., Hilbert, F., Lindqvist, R., Nauta, M., Peixe, L., Ru, G., Simmons, M., Skandamis, P., Suffredini, E., Cacciò, S., Chalmers, R., Deplazes, P., Devleeschauwer, B., Innes, E., Romig, T., Giessen, J. van der, Hempen, M., Stede, Y.V. der, Robertson, L., 2018. Public health risks associated with food-borne parasites. *EFSA J.* 16, e05495.  
<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5495>
- Kozak, R., Campbell, B.M., Strick, C.A., Horner, W., Hoffmann, W.E., Kiss, T., Chapin, D.S., McGinnis, D., Abbott, A.L., Roberts, B.M., Fonseca, K., Guanowsky, V., Young, D.A., Seymour, P.A., Dounay, A., Hajos, M., Williams, G.V., Castner, S.A., 2014. Reduction of brain kynurenic acid improves cognitive function. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 34, 10592–10602.  
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1107-14.2014>
- Krause, C.D., He, W., Kotenko, S., Pestka, S., 2006. Modulation of the activation of Stat1 by the interferon- $\gamma$  receptor complex. *Cell Res.* 16, 113–123. <https://doi.org/10.1038/sj.cr.7310015>
- Kunkler, P.E., Kraig, R.P., 1997. Reactive Astrocytosis from Excitotoxic Injury in Hippocampal Organ Culture Parallels That Seen In Vivo. *J. Cereb. Blood Flow Metab. Off. J. Int. Soc. Cereb. Blood Flow Metab.* 17, 26–43. <https://doi.org/10.1097/00004647-199701000-00005>
- Kusbeci, O.Y., Miman, O., Yaman, M., Aktepe, O.C., Yazar, S., 2011. Could *Toxoplasma gondii* have any role in Alzheimer disease? *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.* 25, 1–3.  
<https://doi.org/10.1097/WAD.0b013e3181f73bc2>
- Lachenmaier, S.M., Deli, M.A., Meissner, M., Liesenfeld, O., 2011. Intracellular transport of *Toxoplasma gondii* through the blood–brain barrier. *J. Neuroimmunol.* 232, 119–130.  
<https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2010.10.029>
- Lambert, H., Hitziger, N., Dellacasa, I., Svensson, M., Barragan, A., 2006. Induction of dendritic cell migration upon *Toxoplasma gondii* infection potentiates parasite dissemination. *Cell. Microbiol.* 8, 1611–1623. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2006.00735.x>
- Larrea, E., Riezu-Boj, J.I., Gil-Guerrero, L., Casares, N., Aldabe, R., Sarobe, P., Civeira, M.P., Heeney, J.L., Rollier, C., Verstrepen, B., Wakita, T., Borrás-Cuesta, F., Lasarte, J.J., Prieto, J., 2007. Upregulation of Indoleamine 2,3-Dioxygenase in Hepatitis C Virus Infection. *J. Virol.* 81, 3662–3666. <https://doi.org/10.1128/JVI.02248-06>
- Lee, D.Y., Lee, K.-S., Lee, H.J., Noh, Y.H., Kim, D.H., Lee, J.Y., Cho, S.H., Yoon, O.J., Lee, W.B., Kim, K.Y., Chung, Y.H., Kim, S.S., 2008. Kynurenic acid attenuates MPP(+)-induced dopaminergic neuronal cell death via a Bax-mediated mitochondrial pathway. *Eur. J. Cell Biol.* 87, 389–397.  
<https://doi.org/10.1016/j.ejcb.2008.03.003>
- Lee, E.E., Hong, S., Martin, A.S., Eyler, L.T., Jeste, D.V., 2017. Inflammation in Schizophrenia: Cytokine Levels and Their Relationships to Demographic and Clinical Variables. *Am. J. Geriatr. Psychiatry Off. J. Am. Assoc. Geriatr. Psychiatry* 25, 50–61.  
<https://doi.org/10.1016/j.jagp.2016.09.009>

- Lee, Y., Sasai, M., Ma, J.S., Sakaguchi, N., Ohshima, J., Bando, H., Saitoh, T., Akira, S., Yamamoto, M., 2015. p62 Plays a Specific Role in Interferon- $\gamma$ -Induced Presentation of a Toxoplasma Vacuolar Antigen. *Cell Rep.* 13, 223–233. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.09.005>
- Lesh, T.A., Careaga, M., Rose, D.R., McAllister, A.K., Van de Water, J., Carter, C.S., Ashwood, P., 2018. Cytokine alterations in first-episode schizophrenia and bipolar disorder: relationships to brain structure and symptoms. *J. Neuroinflammation* 15, 165. <https://doi.org/10.1186/s12974-018-1197-2>
- Leweke, F.M., Gerth, C.W., Koethe, D., Klosterkötter, J., Ruslanova, I., Krivogorsky, B., Torrey, E.F., Yolken, R.H., 2004. Antibodies to infectious agents in individuals with recent onset schizophrenia. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* 254, 4–8. <https://doi.org/10.1007/s00406-004-0481-6>
- Li, R., Ma, X., Wang, G., Yang, J., Wang, C., 2016. Why sex differences in schizophrenia? *J. Transl. Neurosci.* 1, 37–42.
- Lichtenstein, P., Yip, B.H., Björk, C., Pawitan, Y., Cannon, T.D., Sullivan, P.F., Hultman, C.M., 2009. Common genetic determinants of schizophrenia and bipolar disorder in Swedish families: a population-based study. *Lancet Lond. Engl.* 373, 234–239. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)60072-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)60072-6)
- Lima, T.S., Lodoen, M.B., 2019. Mechanisms of Human Innate Immune Evasion by Toxoplasma gondii. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 9, 103. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00103>
- Lindamer, L.A., Lohr, J.B., Harris, M.J., McAdams, L.A., Jeste, D.V., 1999. Gender-related clinical differences in older patients with schizophrenia. *J. Clin. Psychiatry* 60, 61–67; quiz 68–69. <https://doi.org/10.4088/jcp.v60n0114>
- Linderholm, K.R., Skogh, E., Olsson, S.K., Dahl, M.-L., Holtze, M., Engberg, G., Samuelsson, M., Erhardt, S., 2012. Increased levels of kynurenine and kynurenic acid in the CSF of patients with schizophrenia. *Schizophr. Bull.* 38, 426–432. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbq086>
- Ling, V.J., Lester, D., Mortensen, P.B., Langenberg, P.W., Postolache, T.T., 2011. Toxoplasma gondii Seropositivity and Suicide rates in Women. *J. Nerv. Ment. Dis.* 199, 440–444. <https://doi.org/10.1097/NMD.0b013e318221416e>
- Ling, Y.M., Shaw, M.H., Ayala, C., Coppens, I., Taylor, G.A., Ferguson, D.J.P., Yap, G.S., 2006. Vacuolar and plasma membrane stripping and autophagic elimination of Toxoplasma gondii in primed effector macrophages. *J. Exp. Med.* 203, 2063–2071. <https://doi.org/10.1084/jem.20061318>
- Liu, Q., Wang, Z.-D., Huang, S.-Y., Zhu, X.-Q., 2015. Diagnosis of toxoplasmosis and typing of Toxoplasma gondii. *Parasit. Vectors* 8, 292. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0902-6>
- Long, P.L., 2019. Coccidiosis of Man and Domestic Animals. CRC Press.
- Look, M.P., Altfeld, M., Kreuzer, K.A., Riezler, R., Stabler, S.P., Allen, R.H., Sauerbruch, T., Rockstroh, J.K., 2000. Parallel decrease in neurotoxin quinolinic acid and soluble tumor necrosis factor receptor p75 in serum during highly active antiretroviral therapy of HIV type 1 disease. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 16, 1215–1221. <https://doi.org/10.1089/08892220050116989>
- Lovelace, M.D., Varney, B., Sundaram, G., Franco, N.F., Ng, M.L., Pai, S., Lim, C.K., Guillemain, G.J., Brew, B.J., 2016. Current Evidence for a Role of the Kynurenine Pathway of Tryptophan Metabolism in Multiple Sclerosis. *Front. Immunol.* 7, 246. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00246>
- Lüder, C.G., Giraldo-Velásquez, M., Sendtner, M., Gross, U., 1999. Toxoplasma gondii in primary rat CNS cells: differential contribution of neurons, astrocytes, and microglial cells for the intracerebral development and stage differentiation. *Exp. Parasitol.* 93, 23–32. <https://doi.org/10.1006/expr.1999.4421>
- Lüder, C.G.K., Rahman, T., 2017. Impact of the host on Toxoplasma stage differentiation. *Microb. Cell Graz Austria* 4, 203–211. <https://doi.org/10.15698/mic2017.07.579>
- Lyons, R.E., Anthony, J.P., Ferguson, D.J.P., Byrne, N., Alexander, J., Roberts, F., Roberts, C.W., 2001. Immunological Studies of Chronic Ocular Toxoplasmosis: Up-Regulation of Major Histocompatibility Complex Class I and Transforming Growth Factor  $\beta$  and a Protective Role for Interleukin-6. *Infect. Immun.* 69, 2589–2595. <https://doi.org/10.1128/IAI.69.4.2589-2595.2001>

- Lyons, R.E., McLeod, R., Roberts, C.W., 2002. *Toxoplasma gondii* tachyzoite-bradyzoite interconversion. *Trends Parasitol.* 18, 198–201. [https://doi.org/10.1016/s1471-4922\(02\)02248-1](https://doi.org/10.1016/s1471-4922(02)02248-1)
- Ma, J.S., Sasai, M., Ohshima, J., Lee, Y., Bando, H., Takeda, K., Yamamoto, M., 2014. Selective and strain-specific NFAT4 activation by the *Toxoplasma gondii* polymorphic dense granule protein GRA6. *J. Exp. Med.* 211, 2013–2032. <https://doi.org/10.1084/jem.20131272>
- Macchiarulo, A., Camaioni, E., Nuti, R., Pellicciari, R., 2009. Highlights at the gate of tryptophan catabolism: a review on the mechanisms of activation and regulation of indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO), a novel target in cancer disease. *Amino Acids* 37, 219–229. <https://doi.org/10.1007/s00726-008-0137-3>
- Mahami-Oskouei, M., Hamidi, F., Talebi, M., Farhoudi, M., Taheraghdam, A.A., Kazemi, T., Sadeghi-Bazargani, H., Fallah, E., 2016. Toxoplasmosis and Alzheimer: can *Toxoplasma gondii* really be introduced as a risk factor in etiology of Alzheimer? *Parasitol. Res.* 115, 3169–3174. <https://doi.org/10.1007/s00436-016-5075-5>
- Mahmoudvand, H., Ziaali, N., Ghazvini, H., Shojaee, S., Keshavarz, H., Esmaeilpour, K., Sheibani, V., 2016. *Toxoplasma gondii* Infection Promotes Neuroinflammation Through Cytokine Networks and Induced Hyperalgesia in BALB/c Mice. *Inflammation* 39, 405–412. <https://doi.org/10.1007/s10753-015-0262-6>
- Mantovani, A., Cassatella, M.A., Costantini, C., Jaillon, S., 2011. Neutrophils in the activation and regulation of innate and adaptive immunity. *Nat. Rev. Immunol.* 11, 519–531. <https://doi.org/10.1038/nri3024>
- Manus, J.-M., 2019. DSM-5 - Manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux. *Rev. Francoph. Lab.* 2019, 14. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(19\)30277-1](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(19)30277-1)
- Martynowicz, J., Augusto, L., Wek, R.C., Boehm, S.L., Sullivan, W.J., 2019. Guanabenz Reverses a Key Behavioral Change Caused by Latent Toxoplasmosis in Mice by Reducing Neuroinflammation. *mBio* 10. <https://doi.org/10.1128/mBio.00381-19>
- Mashayekhi, M., Sandau, M.M., Dunay, I.R., Frickel, E.M., Khan, A., Goldszmid, R.S., Sher, A., Ploegh, H.L., Murphy, T.L., Sibley, L.D., Murphy, K.M., 2011. CD8 $\alpha$ + dendritic cells are the critical source of interleukin-12 that controls acute infection by *Toxoplasma gondii* tachyzoites. *Immunity* 35, 249–259. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2011.08.008>
- May, M., Beauchemin, M., Vary, C., Barlow, D., Houseknecht, K.L., 2019. The antipsychotic medication, risperidone, causes global immunosuppression in healthy mice. *PLOS ONE* 14, e0218937. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218937>
- Mayoral, J., Cristina, M.D., Carruthers, V.B., Weiss, L.M., 2020. *Toxoplasma gondii*: Bradyzoite Differentiation In Vitro and In Vivo. *Methods Mol. Biol.* 269–282. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9857-9\\_15](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9857-9_15)
- McGrath, J., 1999. Hypothesis: is low prenatal vitamin D a risk-modifying factor for schizophrenia? *Schizophr. Res.* 40, 173–177. [https://doi.org/10.1016/s0920-9964\(99\)00052-3](https://doi.org/10.1016/s0920-9964(99)00052-3)
- Meijer, A., 1985. Child psychiatric sequelae of maternal war stress. *Acta Psychiatr. Scand.* 72, 505–511. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0447.1985.tb02647.x>
- Meltzer, H.Y., 2013. Update on Typical and Atypical Antipsychotic Drugs. *Annu. Rev. Med.* 64, 393–406. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-050911-161504>
- Mendez, O.A., Koshy, A.A., 2017. *Toxoplasma gondii*: Entry, association, and physiological influence on the central nervous system. *PLoS Pathog.* 13, e1006351. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006351>
- Miller, C.L., Llenos, I.C., Dulay, J.R., Weis, S., 2006. Upregulation of the initiating step of the kynurenine pathway in postmortem anterior cingulate cortex from individuals with schizophrenia and bipolar disorder. *Brain Res.* 1073–1074, 25–37. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2005.12.056>
- Molan, A., Nosaka, K., Hunter, M., Wang, W., 2016. The role of *Toxoplasma gondii* as a possible inflammatory agent in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus in humans. *Fam. Med. Community Health* 4. <https://doi.org/10.15212/FMCH.2016.0128>

- Momtazmanesh, S., Zare-Shahabadi, A., Rezaei, N., 2019. Cytokine Alterations in Schizophrenia: An Updated Review. *Front. Psychiatry* 10. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2019.00892>
- Mordue, D.G., Håkansson, S., Niesman, I., Sibley, L.D., 1999. *Toxoplasma gondii* resides in a vacuole that avoids fusion with host cell endocytic and exocytic vesicular trafficking pathways. *Exp. Parasitol.* 92, 87–99. <https://doi.org/10.1006/expr.1999.4412>
- Moreau, M., André, C., O'Connor, J.C., Dumich, S.A., Woods, J.A., Kelley, K.W., Dantzer, R., Lestage, J., Castanon, N., 2008. Inoculation of *Bacillus Calmette-Guerin* to mice induces an acute episode of sickness behavior followed by chronic depressive-like behavior. *Brain. Behav. Immun.* 22, 1087–1095. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2008.04.001>
- Moudy, R., Manning, T.J., Beckers, C.J., 2001. The Loss of Cytoplasmic Potassium upon Host Cell Breakdown Triggers Egress of *Toxoplasma gondii*. *J. Biol. Chem.* 276, 41492–41501. <https://doi.org/10.1074/jbc.M106154200>
- Mukhopadhyay, D., Sangaré, L.O., Braun, L., Hakimi, M.-A., Saeij, J.P., 2020. *Toxoplasma* GRA15 limits parasite growth in IFN $\gamma$ -activated fibroblasts through TRAF ubiquitin ligases. *EMBO J.* 39, e103758. <https://doi.org/10.15252/embj.2019103758>
- Müller, N., Ackenheil, M., 1995. Immunoglobulin and albumin content of cerebrospinal fluid in schizophrenic patients: relationship to negative symptomatology. *Schizophr. Res.* 14, 223–228. [https://doi.org/10.1016/0920-9964\(94\)00045-a](https://doi.org/10.1016/0920-9964(94)00045-a)
- Müller, N., Schwarz, M.J., 2006. Neuroimmune-endocrine crosstalk in schizophrenia and mood disorders. *Expert Rev. Neurother.* 6, 1017–1038. <https://doi.org/10.1586/14737175.6.7.1017>
- Murillo-León, M., Müller, U.B., Zimmermann, I., Singh, S., Widdershooven, P., Campos, C., Alvarez, C., Könen-Waisman, S., Lukes, N., Ruzsics, Z., Howard, J.C., Schwemmler, M., Steinfeldt, T., 2019. Molecular mechanism for the control of virulent *Toxoplasma gondii* infections in wild-derived mice. *Nat. Commun.* 10, 1233. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09200-2>
- Myhrman, A., Rantakallio, P., Isohanni, M., Jones, P., Partanen, U., 1996. Unwantedness of a pregnancy and schizophrenia in the child. *Br. J. Psychiatry J. Ment. Sci.* 169, 637–640. <https://doi.org/10.1192/bjp.169.5.637>
- Myint, A.M., 2012. Kynurenines: from the perspective of major psychiatric disorders. *FEBS J.* 279, 1375–1385. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2012.08551.x>
- Myint, A.-M., Kim, Y.-K., 2014. Network beyond IDO in psychiatric disorders: revisiting neurodegeneration hypothesis. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 48, 304–313. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2013.08.008>
- Nagamune, K., Hicks, L.M., Fux, B., Brossier, F., Chini, E.N., Sibley, L.D., 2008. Abscisic acid controls calcium-dependent egress and development in *Toxoplasma gondii*. *Nature* 451, 207–210. <https://doi.org/10.1038/nature06478>
- Nasrallah, H., Tandon, R., Keshavan, M., 2011. Beyond the facts in schizophrenia: closing the gaps in diagnosis, pathophysiology, and treatment. *Epidemiol. Psychiatr. Sci.* 20, 317–327. <https://doi.org/10.1017/S204579601100062X>
- NIMH » Schizophrenia [WWW Document], n.d. URL <https://www.nimh.nih.gov/health/topics/schizophrenia/index.shtml> (accessed 5.18.20).
- Notarangelo, F.M., Wilson, E.H., Horning, K.J., Thomas, M. a. R., Harris, T.H., Fang, Q., Hunter, C.A., Schwarcz, R., 2014. Evaluation of kynurenine pathway metabolism in *Toxoplasma gondii*-infected mice: implications for schizophrenia. *Schizophr. Res.* 152, 261–267. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2013.11.011>
- Nuhu, F.T., Eseigbe, E.E., Issa, B.A., Gomina, M.O., 2016. Strong family history and early onset of schizophrenia: about 2 families in Northern Nigeria. *Pan Afr. Med. J.* 24. <https://doi.org/10.11604/pamj.2016.24.282.7568>
- O'Brien, K., Fitzgerald, D.C., Naiken, K., Alugupalli, K.R., Rostami, A.M., Gran, B., 2008. Role of the innate immune system in autoimmune inflammatory demyelination. *Curr. Med. Chem.* 15, 1105–1115. <https://doi.org/10.2174/092986708784221458>
- O'Connor, F.L., 1998. The role of serotonin and dopamine in schizophrenia. *J. Am. Psychiatr. Nurses Assoc.* 4, S30–S34. [https://doi.org/10.1016/S1078-3903\(98\)90006-4](https://doi.org/10.1016/S1078-3903(98)90006-4)

- Olias, P., Etheridge, R.D., Zhang, Y., Holtzman, M.J., Sibley, L.D., 2016. Toxoplasma Effector Recruits the Mi-2/NuRD Complex to Repress STAT1 Transcription and Block IFN- $\gamma$ -Dependent Gene Expression. *Cell Host Microbe* 20, 72–82. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2016.06.006>
- Olsson, S.K., Sellgren, C., Engberg, G., Landén, M., Erhardt, S., 2012. Cerebrospinal fluid kynurenic acid is associated with manic and psychotic features in patients with bipolar I disorder. *Bipolar Disord.* 14, 719–726. <https://doi.org/10.1111/bdi.12009>
- Ong, Y.-C., Reese, M.L., Boothroyd, J.C., 2010. Toxoplasma rhoptry protein 16 (ROP16) subverts host function by direct tyrosine phosphorylation of STAT6. *J. Biol. Chem.* 285, 28731–28740. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.112359>
- Orihuela, R., McPherson, C.A., Harry, G.J., 2016. Microglial M1/M2 polarization and metabolic states. *Br. J. Pharmacol.* 173, 649–665. <https://doi.org/10.1111/bph.13139>
- Ortiz-Guerrero, G., Gonzalez-Reyes, R.E., de-la-Torre, A., Medina-Rincón, G., Nava-Mesa, M.O., 2020. Pathophysiological Mechanisms of Cognitive Impairment and Neurodegeneration by Toxoplasma gondii Infection. *Brain Sci.* 10, 369. <https://doi.org/10.3390/brainsci10060369>
- Ozawa, K., Hashimoto, K., Kishimoto, T., Shimizu, E., Ishikura, H., Iyo, M., 2006. Immune activation during pregnancy in mice leads to dopaminergic hyperfunction and cognitive impairment in the offspring: a neurodevelopmental animal model of schizophrenia. *Biol. Psychiatry* 59, 546–554. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2005.07.031>
- Park, Y.-H., Nam, H.-W., 2013. Clinical Features and Treatment of Ocular Toxoplasmosis. *Korean J. Parasitol.* 51, 393–399. <https://doi.org/10.3347/kjp.2013.51.4.393>
- Parlog, A., Schlüter, D., Dunay, I.R., 2015. Toxoplasma gondii-induced neuronal alterations. *Parasite Immunol.* 37, 159–170. <https://doi.org/10.1111/pim.12157>
- Parrott, J.M., O'Connor, J.C., 2015. Kynurenine 3-Monooxygenase: An Influential Mediator of Neuropathology. *Front. Psychiatry* 6. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2015.00116>
- Pedersen, M.G., Mortensen, P.B., Norgaard-Pedersen, B., Postolache, T.T., 2012. Toxoplasma gondii infection and self-directed violence in mothers. *Arch. Gen. Psychiatry* 69, 1123–1130. <https://doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2012.668>
- Peng, H., Tan, F., Lindsay, D.S., 2015. Pathogenesis of Toxoplasma gondii in Humans, in: Singh, S.K. (Ed.), *Human Emerging and Re-emerging Infections*. Wiley, pp. 303–317. <https://doi.org/10.1002/9781118644843.ch16>
- Perez, S.M., Lodge, D.J., 2013. Hippocampal interneuron transplants reverse aberrant dopamine system function and behavior in a rodent model of schizophrenia. *Mol. Psychiatry* 18, 1193–1198. <https://doi.org/10.1038/mp.2013.111>
- Persson, E.K., Agnarson, A.M., Lambert, H., Hitziger, N., Yagita, H., Chambers, B.J., Barragan, A., Grandien, A., 2007. Death Receptor Ligation or Exposure to Perforin Trigger Rapid Egress of the Intracellular Parasite Toxoplasma gondii. *J. Immunol.* 179, 8357–8365. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.179.12.8357>
- Pfefferkorn, E.R., Eckel, M., Rebhun, S., 1986. Interferon-gamma suppresses the growth of Toxoplasma gondii in human fibroblasts through starvation for tryptophan. *Mol. Biochem. Parasitol.* 20, 215–224. [https://doi.org/10.1016/0166-6851\(86\)90101-5](https://doi.org/10.1016/0166-6851(86)90101-5)
- Picchioni, M.M., Murray, R.M., 2007. Schizophrenia. *BMJ* 335, 91–95. <https://doi.org/10.1136/bmj.39227.616447.BE>
- Pierozan, P., Zamoner, A., Soska, A.K., Silvestrin, R.B., Loureiro, S.O., Heimfarth, L., Mello e Souza, T., Wajner, M., Pessoa-Pureur, R., 2010. Acute intrastriatal administration of quinolinic acid provokes hyperphosphorylation of cytoskeletal intermediate filament proteins in astrocytes and neurons of rats. *Exp. Neurol.* 224, 188–196. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2010.03.009>
- Platten, M., von Knebel Doeberitz, N., Oezen, I., Wick, W., Ochs, K., 2014. Cancer Immunotherapy by Targeting IDO1/TDO and Their Downstream Effectors. *Front. Immunol.* 5, 673. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00673>
- Plattner, F., Yarovinsky, F., Romero, S., Didry, D., Carlier, M.-F., Sher, A., Soldati-Favre, D., 2008. Toxoplasma profilin is essential for host cell invasion and TLR11-dependent induction of an

- interleukin-12 response. *Cell Host Microbe* 3, 77–87.  
<https://doi.org/10.1016/j.chom.2008.01.001>
- Plitman, E., Iwata, Y., Caravaggio, F., Nakajima, S., Chung, J.K., Gerretsen, P., Kim, J., Takeuchi, H., Chakravarty, M.M., Remington, G., Graff-Guerrero, A., 2017. Kynurenic Acid in Schizophrenia: A Systematic Review and Meta-analysis. *Schizophr. Bull.* 43, 764–777.  
<https://doi.org/10.1093/schbul/sbw221>
- Portilho, M.B.F., Carvalho, A.V. de, 2019. A toxoplasmose em felinos: parasitologia, imunologia e diagnóstico animal. *Agrar. Liber* 1, 1–11. <https://doi.org/10.6008/CBPC2674-6476.2019.001.0001>
- Prandovszky, E., Gaskell, E., Martin, H., Dubey, J.P., Webster, J.P., McConkey, G.A., 2011. The neurotropic parasite *Toxoplasma gondii* increases dopamine metabolism. *PLoS One* 6, e23866. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023866>
- Querfurth, H.W., LaFerla, F.M., 2010. Alzheimer's disease. *N. Engl. J. Med.* 362, 329–344.  
<https://doi.org/10.1056/NEJMra0909142>
- Radke, J., 2001. Defining the cell cycle for the tachyzoite stage of *Toxoplasma gondii*. *Mol. Biochem. Parasitol.* 115, 165–175. [https://doi.org/10.1016/S0166-6851\(01\)00284-5](https://doi.org/10.1016/S0166-6851(01)00284-5)
- Rahman, A., Ting, K., Cullen, K.M., Braidy, N., Brew, B.J., Guillemin, G.J., 2009. The Excitotoxin Quinolinic Acid Induces Tau Phosphorylation in Human Neurons. *PLOS ONE* 4, e6344.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006344>
- Rajapakse, S., Chrisan Shivanthan, M., Samaranayake, N., Rodrigo, C., Deepika Fernando, S., 2013. Antibiotics for human toxoplasmosis: a systematic review of randomized trials. *Pathog. Glob. Health* 107, 162–169. <https://doi.org/10.1179/2047773213Y.0000000094>
- Raji, C.A., Lopez, O.L., Kuller, L.H., Carmichael, O.T., Becker, J.T., 2009. Age, Alzheimer disease, and brain structure. *Neurology* 73, 1899–1905. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3181c3f293>
- Rastogi, S., Cygan, A.M., Boothroyd, J.C., 2019. Translocation of effector proteins into host cells by *Toxoplasma gondii*. *Curr. Opin. Microbiol., Host Microbe Interactions: Fungi • Host-Microbe Interactions: Parasitology* 52, 130–138. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2019.07.002>
- Raval, A., Puri, N., Rath, P.C., Saxena, R.K., 1998. Cytokine regulation of expression of class I MHC antigens. *Exp. Mol. Med.* 30, 1–13. <https://doi.org/10.1038/emm.1998.1>
- Reynolds, D.S., Morton, A.J., 1998. Changes in blood-brain barrier permeability following neurotoxic lesions of rat brain can be visualised with trypan blue. *J. Neurosci. Methods* 79, 115–121.  
[https://doi.org/10.1016/s0165-0270\(97\)00168-4](https://doi.org/10.1016/s0165-0270(97)00168-4)
- Ripke, S., Neale, B.M., Corvin, A., Walters, J.T., Farh, K.-H., Holmans, P.A., Lee, P., Bulik-Sullivan, B., Collier, D.A., Huang, H., Pers, T.H., Agartz, I., Agerbo, E., Albus, M., Alexander, M., Amin, F., Bacanu, S.A., Begemann, M., Belliveau, R.A., Bene, J., Bergen, S.E., Bevilacqua, E., Bigdeli, T.B., Black, D.W., Bruggeman, R., Buccola, N.G., Buckner, R.L., Byerley, W., Cahn, W., Cai, G., Champion, D., Cantor, R.M., Carr, V.J., Carrera, N., Catts, S.V., Chambert, K.D., Chan, R.C., Chan, R.Y., Chen, E.Y., Cheng, W., Cheung, E.F., Chong, S.A., Cloninger, C.R., Cohen, D., Cohen, N., Cormican, P., Craddock, N., Crowley, J.J., Curtis, D., Davidson, M., Davis, K.L., Degenhardt, F., Del Favero, J., Demontis, D., Dikeos, D., Dinan, T., Djurovic, S., Donohoe, G., Drapeau, E., Duan, J., Dudbridge, F., Durmishi, N., Eichhammer, P., Eriksson, J., Escott-Price, V., Essioux, L., Fanous, A.H., Farrell, M.S., Frank, J., Franke, L., Freedman, R., Freimer, N.B., Friedl, M., Friedman, J.I., Fromer, M., Genovese, G., Georgieva, L., Giegling, I., Giusti-Rodríguez, P., Godard, S., Goldstein, J.I., Golimbet, V., Gopal, S., Gratten, J., de Haan, L., Hammer, C., Hamshere, M.L., Hansen, M., Hansen, T., Haroutunian, V., Hartmann, A.M., Henskens, F.A., Herms, S., Hirschhorn, J.N., Hoffmann, P., Hofman, A., Hollegaard, M.V., Hougaard, D.M., Ikeda, M., Joa, I., Julià, A., Kahn, R.S., Kalaydjieva, L., Karachanak-Yankova, S., Karjalainen, J., Kavanagh, D., Keller, M.C., Kennedy, J.L., Khrunin, A., Kim, Y., Klovins, J., Knowles, J.A., Konte, B., Kucinskis, V., Kucinskiene, Z.A., Kuzelova-Ptackova, H., Kähler, A.K., Laurent, C., Lee, J., Lee, S.H., Legge, S.E., Lerer, B., Li, M., Li, T., Liang, K.-Y., Lieberman, J., Limborska, S., Loughland, C.M., Lubinski, J., Lönngqvist, J., Macek, M., Magnusson, P.K., Maher, B.S., Maier, W., Mallet, J., Marsal, S., Mattheisen, M., Mattingsdal, M., McCarley, R.W., McDonald, C., McIntosh, A.M., Meier, S., Meijer, C.J., Meleghe, B., Melle, I., Meshulam-

- Gately, R.I., Metspalu, A., Michie, P.T., Milani, L., Milanova, V., Mokrab, Y., Morris, D.W., Mors, O., Murphy, K.C., Murray, R.M., Myin-Germeys, I., Müller-Myhsok, B., Nelis, M., Nenadic, I., Nertney, D.A., Nestadt, G., Nicodemus, K.K., Nikitina-Zake, L., Nisenbaum, L., Nordin, A., O'Callaghan, E., O'Dushlaine, C., O'Neill, F.A., Oh, S.-Y., Olincy, A., Olsen, L., Van Os, J., Pantelis, C., Papadimitriou, G.N., Papiol, S., Parkhomenko, E., Pato, M.T., Paunio, T., Pejovic-Milovancevic, M., Perkins, D.O., Pietiläinen, O., Pimm, J., Pocklington, A.J., Powell, J., Price, A., Pulver, A.E., Purcell, S.M., Quedsted, D., Rasmussen, H.B., Reichenberg, A., Reimers, M.A., Richards, A.L., Roffman, J.L., Roussos, P., Ruderfer, D.M., Salomaa, V., Sanders, A.R., Schall, U., Schubert, C.R., Schulze, T.G., Schwab, S.G., Scolnick, E.M., Scott, R.J., Seidman, L.J., Shi, J., Sigurdsson, E., Silagadze, T., Silverman, J.M., Sim, K., Slominsky, P., Smoller, J.W., So, H.-C., Spencer, C.C.A., Stahl, E.A., Stefansson, H., Steinberg, S., Stogmann, E., Straub, R.E., Strengman, E., Strohmaier, J., Stroup, T.S., Subramaniam, M., Suvisaari, J., Svrakic, D.M., Szatkiewicz, J.P., Söderman, E., Thirumalai, S., Toncheva, D., Tosato, S., Veijola, J., Waddington, J., Walsh, D., Wang, D., Wang, Q., Webb, B.T., Weiser, M., Wildenauer, D.B., Williams, N.M., Williams, S., Witt, S.H., Wolen, A.R., Wong, E.H., Wormley, B.K., Xi, H.S., Zai, C.C., Zheng, X., Zimprich, F., Wray, N.R., Stefansson, K., Visscher, P.M., Adolfsson, R., Andreassen, O.A., Blackwood, D.H., Bramon, E., Buxbaum, J.D., Børglum, A.D., Cichon, S., Darvasi, A., Domenici, E., Ehrenreich, H., Esko, T., Gejman, P.V., Gill, M., Gurling, H., Hultman, C.M., Iwata, N., Jablensky, A.V., Jönsson, E.G., Kendler, K.S., Kirov, G., Knight, J., Lencz, T., Levinson, D.F., Li, Q.S., Liu, J., Malhotra, A.K., McCarroll, S.A., McQuillin, A., Moran, J.L., Mortensen, P.B., Mowry, B.J., Nöthen, M.M., Ophoff, R.A., Owen, M.J., Palotie, A., Pato, C.N., Petryshen, T.L., Posthuma, D., Rietschel, M., Riley, B.P., Rujescu, D., Sham, P.C., Sklar, P., St Clair, D., Weinberger, D.R., Wendland, J.R., Werge, T., Daly, M.J., Sullivan, P.F., O'Donovan, M.C., 2014. Biological Insights From 108 Schizophrenia-Associated Genetic Loci. *Nature* 511, 421–427. <https://doi.org/10.1038/nature13595>
- Robert-Gangneux, F., Darde, M.-L., 2012. Epidemiology of and Diagnostic Strategies for Toxoplasmosis. *Clin. Microbiol. Rev.* 25, 264–296. <https://doi.org/10.1128/CMR.05013-11>
- Roiko, M.S., Svezhova, N., Carruthers, V.B., 2014. Acidification Activates *Toxoplasma gondii* Motility and Egress by Enhancing Protein Secretion and Cytolytic Activity. *PLOS Pathog.* 10, e1004488. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004488>
- Rosowski, E.E., Lu, D., Julien, L., Rodda, L., Gaiser, R.A., Jensen, K.D.C., Saeij, J.P.J., 2011. Strain-specific activation of the NF- $\kappa$ B pathway by GRA15, a novel *Toxoplasma gondii* dense granule protein. *J. Exp. Med.* 208, 195–212. <https://doi.org/10.1084/jem.20100717>
- Rosowski, E.E., Saeij, J.P.J., 2012. *Toxoplasma gondii* Clonal Strains All Inhibit STAT1 Transcriptional Activity but Polymorphic Effectors Differentially Modulate IFN $\gamma$  Induced Gene Expression and STAT1 Phosphorylation. *PLOS ONE* 7, e51448. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051448>
- Rothermundt, M., Ahn, J.N., Jörgens, S., 2009. S100B in schizophrenia: an update. *Gen. Physiol. Biophys.* 28 Spec No Focus, F76-81.
- Rutaganira, F.U., Barks, J., Dhasan, M.S., Wang, Q., Lopez, M.S., Long, S., Radke, J.B., Jones, N.G., Maddirala, A.R., Janetka, J.W., El Bakkouri, M., Hui, R., Shokat, K.M., Sibley, L.D., 2017. Inhibition of Calcium Dependent Protein Kinase 1 (CDPK1) by Pyrazolopyrimidine Analogs Decreases Establishment and Reoccurrence of Central Nervous System Disease by *Toxoplasma gondii*. *J. Med. Chem.* 60, 9976–9989. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.7b01192>
- Saeij, J.P., Frickel, E.-M., 2017. Exposing *Toxoplasma gondii* hiding inside the vacuole: a role for GBPs, autophagy and host cell death. *Curr. Opin. Microbiol.* 40, 72–80. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2017.10.021>
- Saeij, J.P.J., Boyle, J.P., Grigg, M.E., Arrizabalaga, G., Boothroyd, J.C., 2005. Bioluminescence Imaging of *Toxoplasma gondii* Infection in Living Mice Reveals Dramatic Differences between Strains. *Infect. Immun.* 73, 695–702. <https://doi.org/10.1128/IAI.73.2.695-702.2005>
- Salvioni, A., Belloy, M., Lebourg, A., Bassot, E., Cantaloube-Ferrieu, V., Vasseur, V., Blanié, S., Liblau, R.S., Suberbielle, E., Robey, E.A., Blanchard, N., 2019. Robust Control of a Brain-Persisting

- Parasite through MHC I Presentation by Infected Neurons. *Cell Rep.* 27, 3254–3268.e8. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.05.051>
- Santamaría, A., Galván-Arzate, S., Lisý, V., Ali, S.F., Duhart, H.M., Osorio-Rico, L., Ríos, C., St'astný, F., 2001. Quinolinic acid induces oxidative stress in rat brain synaptosomes. *Neuroreport* 12, 871–874. <https://doi.org/10.1097/00001756-200103260-00049>
- Sasai, M., Pradipta, A., Yamamoto, M., 2018. Host immune responses to *Toxoplasma gondii*. *Int. Immunol.* 30, 113–119. <https://doi.org/10.1093/intimm/dxy004>
- Sathyasaikumar, K.V., Stachowski, E.K., Wonodi, I., Roberts, R.C., Rassoulpour, A., McMahon, R.P., Schwarcz, R., 2011. Impaired kynurenine pathway metabolism in the prefrontal cortex of individuals with schizophrenia. *Schizophr. Bull.* 37, 1147–1156. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbq112>
- Scanga, C.A., Aliberti, J., Jankovic, D., Tilloy, F., Bennouna, S., Denkers, E.Y., Medzhitov, R., Sher, A., 2002. Cutting Edge: MyD88 Is Required for Resistance to *Toxoplasma gondii* Infection and Regulates Parasite-Induced IL-12 Production by Dendritic Cells. *J. Immunol.* 168, 5997–6001. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.168.12.5997>
- Schaeffer, M., Han, S.-J., Chtanova, T., van Dooren, G.G., Herzmark, P., Chen, Y., Roysam, B., Striepen, B., Robey, E.A., 2009. Dynamic imaging of T cell-parasite interactions in the brains of mice chronically infected with *Toxoplasma gondii*. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 182, 6379–6393. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0804307>
- Schizophrenia | Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach, 10e | AccessPharmacy | McGraw-Hill Medical [WWW Document], n.d. URL <https://accesspharmacy.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1861&sectionid=146064659> (accessed 5.18.20).
- Schlee, M., Hartmann, G., 2016. Discriminating self from non-self in nucleic acid sensing. *Nat. Rev. Immunol.* 16, 566–580. <https://doi.org/10.1038/nri.2016.78>
- Schlüter, D., Barragan, A., 2019. Advances and Challenges in Understanding Cerebral Toxoplasmosis. *Front. Immunol.* 10. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00242>
- Schneider, R., Tabet-Derraz, O., Dedet, J.P., Belkaid, M., Lamri, I., 1977. [Serodiagnosis of 2,438 cases of toxoplasmosis by immunofluorescence at the Pasteur Institute of Algeria. Epidemiological and clinical corollaries]. *Arch. Inst. Pasteur Algerie Inst. Pasteur Algerie* 52, 95–104.
- Schwarcz, R., Bruno, J.P., Muchowski, P.J., Wu, H.-Q., 2012. Kynurenines in the mammalian brain: when physiology meets pathology. *Nat. Rev. Neurosci.* 13, 465–477. <https://doi.org/10.1038/nrn3257>
- Schwarcz, R., Hunter, C.A., 2007. *Toxoplasma gondii* and Schizophrenia: Linkage Through Astrocyte-Derived Kynurenic Acid? *Schizophr. Bull.* 33, 652–653. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbm030>
- Schwarcz, R., Rassoulpour, A., Wu, H.Q., Medoff, D., Tamminga, C.A., Roberts, R.C., 2001. Increased cortical kynurenate content in schizophrenia. *Biol. Psychiatry* 50, 521–530. [https://doi.org/10.1016/s0006-3223\(01\)01078-2](https://doi.org/10.1016/s0006-3223(01)01078-2)
- Schwieler, L., Larsson, M.K., Skogh, E., Kegel, M.E., Orhan, F., Abdelmoaty, S., Finn, A., Bhat, M., Samuelsson, M., Lundberg, K., Dahl, M.-L., Sellgren, C., Schuppe-Koistinen, I., Svensson, C., Erhardt, S., Engberg, G., 2015. Increased levels of IL-6 in the cerebrospinal fluid of patients with chronic schizophrenia--significance for activation of the kynurenine pathway. *J. Psychiatry Neurosci. JPN* 40, 126–133. <https://doi.org/10.1503/jpn.140126>
- Selvaraj, S., Arnone, D., Cappai, A., Howes, O., 2014. Alterations in the serotonin system in schizophrenia: a systematic review and meta-analysis of postmortem and molecular imaging studies. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 45, 233–245. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.06.005>
- Semple, D., Smyth, R., 2019. *Oxford Handbook of Psychiatry*. Oxford University Press.
- Shen, W.W., 1999. A history of antipsychotic drug development. *Compr. Psychiatry* 40, 407–414. [https://doi.org/10.1016/s0010-440x\(99\)90082-2](https://doi.org/10.1016/s0010-440x(99)90082-2)

- Sher, A., Tosh, K., Jankovic, D., 2017. Innate recognition of *Toxoplasma gondii* in humans involves a mechanism distinct from that utilized by rodents. *Cell. Mol. Immunol.* 14, 36–42. <https://doi.org/10.1038/cmi.2016.12>
- Shrivastava, S.K., Dalko, E., Delcroix-Genete, D., Herbert, F., Cazenave, P.-A., Pied, S., 2017. Uptake of parasite-derived vesicles by astrocytes and microglial phagocytosis of infected erythrocytes may drive neuroinflammation in cerebral malaria. *Glia* 65, 75–92. <https://doi.org/10.1002/glia.23075>
- Silva, N.M., Rodrigues, C.V., Santoro, M.M., Reis, L.F.L., Alvarez-Leite, J.I., Gazzinelli, R.T., 2002. Expression of indoleamine 2,3-dioxygenase, tryptophan degradation, and kynurenine formation during in vivo infection with *Toxoplasma gondii*: induction by endogenous gamma interferon and requirement of interferon regulatory factor 1. *Infect. Immun.* 70, 859–868. <https://doi.org/10.1128/iai.70.2.859-868.2002>
- Simon, S., de Thoisy, B., Mercier, A., Nacher, M., Demar, M., 2019. Virulence of atypical *Toxoplasma gondii* strains isolated in French Guiana in a murine model. *Parasite* 26, 60. <https://doi.org/10.1051/parasite/2019048>
- Singh, S.K., 2015. Human emerging and re-emerging infections: viral and parasitic infections.
- Skariah, S., McIntyre, M.K., Mordue, D.G., 2010. *Toxoplasma gondii*: determinants of tachyzoite to bradyzoite conversion. *Parasitol. Res.* 107, 253–260. <https://doi.org/10.1007/s00436-010-1899-6>
- Smith, S.E.P., Li, J., Garbett, K., Mirnics, K., Patterson, P.H., 2007. Maternal Immune Activation Alters Fetal Brain Development through Interleukin-6. *J. Neurosci.* 27, 10695–10702. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2178-07.2007>
- Sokolowski, J.D., Mandell, J.W., 2011. Phagocytic Clearance in Neurodegeneration. *Am. J. Pathol.* 178, 1416–1428. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2010.12.051>
- Sorlozano-Puerto, A., Gutierrez-Fernandez, J., 2016. *Toxoplasma gondii* and Schizophrenia: A Relationship That Is Not Ruled Out. *Schizophr. Treat. - New Facets.* <https://doi.org/10.5772/66018>
- St Clair, D., Xu, M., Wang, P., Yu, Y., Fang, Y., Zhang, F., Zheng, X., Gu, N., Feng, G., Sham, P., He, L., 2005. Rates of adult schizophrenia following prenatal exposure to the Chinese famine of 1959-1961. *JAMA* 294, 557–562. <https://doi.org/10.1001/jama.294.5.557>
- Stancu, I.-C., Cremers, N., Vanrusselt, H., Couturier, J., Vanoosthuysse, A., Kessels, S., Lodder, C., Brône, B., Huaux, F., Octave, J.-N., Terwel, D., Dewachter, I., 2019. Aggregated Tau activates NLRP3–ASC inflammasome exacerbating exogenously seeded and non-exogenously seeded Tau pathology in vivo. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 137, 599–617. <https://doi.org/10.1007/s00401-018-01957-y>
- St'astný, F., Skultéyová, I., Pliss, L., Jezová, D., 2000. Quinolinic acid enhances permeability of rat brain microvessels to plasma albumin. *Brain Res. Bull.* 53, 415–420. [https://doi.org/10.1016/s0361-9230\(00\)00368-3](https://doi.org/10.1016/s0361-9230(00)00368-3)
- Stenzel, W., Soltek, S., Schlüter, D., Deckert, M., 2004. The intermediate filament GFAP is important for the control of experimental murine *Staphylococcus aureus*-induced brain abscess and *Toxoplasma encephalitis*. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 63, 631–640. <https://doi.org/10.1093/jnen/63.6.631>
- Strack, A., Asensio, V.C., Campbell, I.L., Schlüter, D., Deckert, M., 2002a. Chemokines are differentially expressed by astrocytes, microglia and inflammatory leukocytes in *Toxoplasma encephalitis* and critically regulated by interferon-gamma. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 103, 458–468. <https://doi.org/10.1007/s00401-001-0491-7>
- Strack, A., Schlüter, D., Asensio, V.C., Campbell, I.L., Deckert, M., 2002b. Regulation of the kinetics of intracerebral chemokine gene expression in murine *Toxoplasma encephalitis*: impact of host genetic factors. *Glia* 40, 372–377. <https://doi.org/10.1002/glia.10104>
- Susser, E., Neugebauer, R., Hoek, H.W., Brown, A.S., Lin, S., Labovitz, D., Gorman, J.M., 1996. Schizophrenia after prenatal famine. Further evidence. *Arch. Gen. Psychiatry* 53, 25–31. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.1996.01830010027005>

- Sutterland, A.L., Fond, G., Kuin, A., Koeter, M.W.J., Lutter, R., van Gool, T., Yolken, R., Szoke, A., Leboyer, M., de Haan, L., 2015. Beyond the association. *Toxoplasma gondii* in schizophrenia, bipolar disorder, and addiction: systematic review and meta-analysis. *Acta Psychiatr. Scand.* 132, 161–179. <https://doi.org/10.1111/acps.12423>
- Suzuki, Y., Orellana, M.A., Schreiber, R.D., Remington, J.S., 1988. Interferon-gamma: the major mediator of resistance against *Toxoplasma gondii*. *Science* 240, 516–518. <https://doi.org/10.1126/science.3128869>
- Suzuki, Y., Rani, S., Liesenfeld, O., Kojima, T., Lim, S., Nguyen, T.A., Dalrymple, S.A., Murray, R., Remington, J.S., 1997. Impaired resistance to the development of toxoplasmic encephalitis in interleukin-6-deficient mice. *Infect. Immun.* 65, 2339–2345.
- Suzuki, Y., Sa, Q., Gehman, M., Ochiai, E., 2011. Interferon-gamma- and perforin-mediated immune responses for resistance against *Toxoplasma gondii* in the brain. *Expert Rev. Mol. Med.* 13, e31. <https://doi.org/10.1017/S1462399411002018>
- Suzuki, Y., Suda, T., Asada, K., Miwa, S., Suzuki, M., Fujie, M., Furuhashi, K., Nakamura, Y., Inui, N., Shirai, T., Hayakawa, H., Nakamura, H., Chida, K., 2012. Serum indoleamine 2,3-dioxygenase activity predicts prognosis of pulmonary tuberculosis. *Clin. Vaccine Immunol.* CVI 19, 436–442. <https://doi.org/10.1128/CVI.05402-11>
- Sweeney, K.R., Morrissette, N.S., LaChapelle, S., Blader, I.J., 2010. Host Cell Invasion by *Toxoplasma gondii* Is Temporally Regulated by the Host Microtubule Cytoskeleton. *Eukaryot. Cell* 9, 1680–1689. <https://doi.org/10.1128/EC.00079-10>
- Swierzy, I.J., Händel, U., Kaefer, A., Jarek, M., Scharfe, M., Schlüter, D., Lüder, C.G.K., 2017. Divergent co-transcriptomes of different host cells infected with *Toxoplasma gondii* reveal cell type-specific host-parasite interactions. *Sci. Rep.* 7. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-07838-w>
- Swierzy, I.J., Lüder, C.G.K., 2015. Withdrawal of skeletal muscle cells from cell cycle progression triggers differentiation of *Toxoplasma gondii* towards the bradyzoite stage. *Cell. Microbiol.* 17, 2–17. <https://doi.org/10.1111/cmi.12342>
- Taly, A., 2013. Novel approaches to drug design for the treatment of schizophrenia. *Expert Opin. Drug Discov.* 8, 1285–1296. <https://doi.org/10.1517/17460441.2013.821108>
- Tanaka, M., Bohár, Z., Vécsei, L., 2020. Are Kynurenines Accomplices or Principal Villains in Dementia? Maintenance of Kynurenine Metabolism. *Molecules* 25, 564. <https://doi.org/10.3390/molecules25030564>
- Taylor, G.A., Feng, C.G., Sher, A., 2007. Control of IFN-gamma-mediated host resistance to intracellular pathogens by immunity-related GTPases (p47 GTPases). *Microbes Infect.* 9, 1644–1651. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2007.09.004>
- Teixeira, A.L., Bauer, M.E., 2019. *Immunopsychiatry: A Clinician's Introduction to the Immune Basis of Mental Disorders*. Oxford University Press.
- Tenny, S., Hoffman, M.R., 2020. Odds Ratio (OR), in: *StatPearls*. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).
- Tenter, A.M., Heckeroth, A.R., Weiss, L.M., 2000. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *Int. J. Parasitol.* 30, 1217–1258.
- Thomas, T., Stefanoni, D., Reisz, J.A., Nemkov, T., Bertolone, L., Francis, R.O., Hudson, K.E., Zimring, J.C., Hansen, K.C., Hod, E.A., Spitalnik, S.L., D'Alessandro, A., 2020. COVID-19 infection results in alterations of the kynurenine pathway and fatty acid metabolism that correlate with IL-6 levels and renal status. *medRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2020.05.14.20102491>
- Torres, L., Robinson, S.-A., Kim, D.-G., Yan, A., Cleland, T.A., Bynoe, M.S., 2018. *Toxoplasma gondii* alters NMDAR signaling and induces signs of Alzheimer's disease in wild-type, C57BL/6 mice. *J. Neuroinflammation* 15, 57. <https://doi.org/10.1186/s12974-018-1086-8>
- Torrey, E.F., Bartko, J.J., Lun, Z.-R., Yolken, R.H., 2007. Antibodies to *Toxoplasma gondii* in patients with schizophrenia: a meta-analysis. *Schizophr. Bull.* 33, 729–736. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbl050>
- Torrey, E.F., Bartko, J.J., Yolken, R.H., 2012. *Toxoplasma gondii* and Other Risk Factors for Schizophrenia: An Update. *Schizophr. Bull.* 38, 642–647. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbs043>

- Tu, V., Mayoral, J., Sugi, T., Tomita, T., Han, B., Ma, Y.F., Weiss, L.M., 2019. Enrichment and Proteomic Characterization of the Cyst Wall from In Vitro *Toxoplasma gondii* Cysts. *mBio* 10. <https://doi.org/10.1128/mBio.00469-19>
- Tu, V., Tomita, T., Sugi, T., Mayoral, J., Han, B., Yakubu, R.R., Williams, T., Horta, A., Ma, Y., Weiss, L.M., 2020. The *Toxoplasma gondii* Cyst Wall Interactome. *mBio* 11. <https://doi.org/10.1128/mBio.02699-19>
- Tu, V., Yakubu, R., Weiss, L.M., 2018. Observations on bradyzoite biology. *Microbes Infect.* 20, 466–476. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2017.12.003>
- Uno, Y., Coyle, J.T., 2019. Glutamate hypothesis in schizophrenia. *Psychiatry Clin. Neurosci.* 73, 204–215. <https://doi.org/10.1111/pcn.12823>
- Van Erp, T.G.M., Saleh, P.A., Rosso, I.M., Huttunen, M., Lönnqvist, J., Pirkola, T., Salonen, O., Valanne, L., Poutanen, V.-P., Standertskjöld-Nordenstam, C.-G., Cannon, T.D., 2002. Contributions of genetic risk and fetal hypoxia to hippocampal volume in patients with schizophrenia or schizoaffective disorder, their unaffected siblings, and healthy unrelated volunteers. *Am. J. Psychiatry* 159, 1514–1520. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.159.9.1514>
- van Os, J., Seltén, J.P., 1998. Prenatal exposure to maternal stress and subsequent schizophrenia. The May 1940 invasion of The Netherlands. *Br. J. Psychiatry J. Ment. Sci.* 172, 324–326. <https://doi.org/10.1192/bjp.172.4.324>
- Vécsei, L., Szalárdy, L., Fülöp, F., Toldi, J., 2013. Kynurenines in the CNS: recent advances and new questions. *Nat. Rev. Drug Discov.* 12, 64–82. <https://doi.org/10.1038/nrd3793>
- Velásquez, J.N., Ledesma, B.A., Nigro, M.G., Vittar, N., Rueda, N., De Carolis, L., Figueiras, O., Carnevale, S., Corti, M., 2016. Pulmonary toxoplasmosis in human immunodeficiency virus-infected patients in the era of antiretroviral therapy. *Lung India Off. Organ Indian Chest Soc.* 33, 88–91. <https://doi.org/10.4103/0970-2113.173063>
- Vlatkovic, S., Sagud, M., Svob Strac, D., Sviben, M., Zivkovic, M., Vilbic, M., Vuksan-Cusa, B., Mihaljevic-Peles, A., Pivac, N., 2018. Increased prevalence of *Toxoplasma gondii* seropositivity in patients with treatment-resistant schizophrenia. *Schizophr. Res.* 193, 480–481. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2017.08.006>
- Waldman, B.S., Schwarz, D., Wadsworth, M.H., Saeij, J.P., Shalek, A.K., Lourido, S., 2020. Identification of a Master Regulator of Differentiation in *Toxoplasma*. *Cell* 180, 359–372.e16. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.12.013>
- Walochnik, J., Duchêne, M., 2016. *Molecular Parasitology: Protozoan Parasites and their Molecules*. Springer.
- Wang, A.K., Miller, B.J., 2018. Meta-analysis of Cerebrospinal Fluid Cytokine and Tryptophan Catabolite Alterations in Psychiatric Patients: Comparisons Between Schizophrenia, Bipolar Disorder, and Depression. *Schizophr. Bull.* 44, 75–83. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbx035>
- Wang, T., Tang, Z., Li, J., Li, X., Wang, X., Zhao, Z., 2013. A potential association between *Toxoplasma gondii* infection and schizophrenia in mouse models. *Exp. Parasitol.* 135, 497–502. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2013.08.012>
- Wang, Z.T., Harmon, S., O'Malley, K.L., Sibley, L.D., 2015. Reassessment of the Role of Aromatic Amino Acid Hydroxylases and the Effect of Infection by *Toxoplasma gondii* on Host Dopamine. *Infect. Immun.* 83, 1039–1047. <https://doi.org/10.1128/IAI.02465-14>
- Weiss, L.M., 2013. *Toxoplasma Gondii: The Model Apicomplexan - Perspectives and Methods*, 2nd ed. Academic Press.
- Widner, B., Leblhuber, F., Walli, J., Tilz, G.P., Demel, U., Fuchs, D., 1999. Degradation of tryptophan in neurodegenerative disorders. *Adv. Exp. Med. Biol.* 467, 133–138. [https://doi.org/10.1007/978-1-4615-4709-9\\_19](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-4709-9_19)
- Wildenauer, D.B., Körschenhausen, D., Hoechtlen, W., Ackenheil, M., Kehl, M., Lottspeich, F., 1991. Analysis of cerebrospinal fluid from patients with psychiatric and neurological disorders by two-dimensional electrophoresis: Identification of disease-associated polypeptides as fibrin fragments. *ELECTROPHORESIS* 12, 487–492. <https://doi.org/10.1002/elps.1150120706>
- Wilson, E.H., Hunter, C.A., 2004. The role of astrocytes in the immunopathogenesis of toxoplasmic encephalitis. *Int. J. Parasitol.* 34, 543–548. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2003.12.010>

- Wirthgen, E., Hoeflich, A., Rebl, A., Günther, J., 2018. Kynurenic Acid: The Janus-Faced Role of an Immunomodulatory Tryptophan Metabolite and Its Link to Pathological Conditions. *Front. Immunol.* 8. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01957>
- Wonodi, I., Schwarcz, R., 2010. Cortical kynurenine pathway metabolism: a novel target for cognitive enhancement in Schizophrenia. *Schizophr. Bull.* 36, 211–218. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbq002>
- Wonodi, I., Stine, O.C., Sathyaikumar, K.V., Roberts, R.C., Mitchell, B.D., Hong, L.E., Kajii, Y., Thaker, G.K., Schwarcz, R., 2011. Downregulated kynurenine 3-monooxygenase gene expression and enzyme activity in schizophrenia and genetic association with schizophrenia endophenotypes. *Arch. Gen. Psychiatry* 68, 665–674. <https://doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2011.71>
- Wu, H.-Q., Okuyama, M., Kajii, Y., Pocivavsek, A., Bruno, J.P., Schwarcz, R., 2014. Targeting kynurenine aminotransferase II in psychiatric diseases: promising effects of an orally active enzyme inhibitor. *Schizophr. Bull.* 40 Suppl 2, S152-158. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbt157>
- Wu, W., Nicolazzo, J.A., Wen, L., Chung, R., Stankovic, R., Bao, S.S., Lim, C.K., Brew, B.J., Cullen, K.M., Guillemin, G.J., 2013. Expression of tryptophan 2,3-dioxygenase and production of kynurenine pathway metabolites in triple transgenic mice and human Alzheimer's disease brain. *PLoS One* 8, e59749. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059749>
- Xiao, J., Li, Y., Prandovszky, E., Kannan, G., Viscidi, R.P., Pletnikov, M.V., Yolken, R.H., 2016. Behavioral Abnormalities in a Mouse Model of Chronic Toxoplasmosis Are Associated with MAG1 Antibody Levels and Cyst Burden. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 10. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004674>
- Xiao, J., Li, Y., Prandovszky, E., Karuppagounder, S.S., Talbot, C.C., Dawson, V.L., Dawson, T.M., Yolken, R.H., 2014. MicroRNA-132 dysregulation in *Toxoplasma gondii* infection has implications for dopamine signaling pathway. *Neuroscience* 268, 128–138. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.03.015>
- Xiao, J., Viscidi, R.P., Kannan, G., Pletnikov, M.V., Li, Y., Severance, E.G., Yolken, R.H., Delhaes, L., 2013. The *Toxoplasma* MAG1 peptides induce sex-based humoral immune response in mice and distinguish active from chronic human infection. *Microbes Infect.* 15, 74–83. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2012.10.016>
- Xu, M.-Q., Sun, W.-S., Liu, B.-X., Feng, G.-Y., Yu, L., Yang, L., He, G., Sham, P., Susser, E., St Clair, D., He, L., 2009. Prenatal malnutrition and adult schizophrenia: further evidence from the 1959–1961 Chinese famine. *Schizophr. Bull.* 35, 568–576. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbn168>
- Yamamoto, M., Standley, D.M., Takashima, S., Saiga, H., Okuyama, M., Kayama, H., Kubo, E., Ito, H., Takaura, M., Matsuda, T., Soldati-Favre, D., Takeda, K., 2009. A single polymorphic amino acid on *Toxoplasma gondii* kinase ROP16 determines the direct and strain-specific activation of Stat3. *J. Exp. Med.* 206, 2747–2760. <https://doi.org/10.1084/jem.20091703>
- Yarovinsky, F., 2014a. Innate immunity to *Toxoplasma gondii* infection. *Nat. Rev. Immunol.* 14, 109–121. <https://doi.org/10.1038/nri3598>
- Yarovinsky, F., 2014b. Innate immunity to *Toxoplasma gondii* infection. *Nat. Rev. Immunol.* 14, 109–121. <https://doi.org/10.1038/nri3598>
- Yarovinsky, F., Zhang, D., Andersen, J.F., Bannenberg, G.L., Serhan, C.N., Hayden, M.S., Hieny, S., Sutterwala, F.S., Flavell, R.A., Ghosh, S., Sher, A., 2005. TLR11 activation of dendritic cells by a protozoan profilin-like protein. *Science* 308, 1626–1629. <https://doi.org/10.1126/science.1109893>
- Zádor, F., Nagy-Grócz, G., Kekesi, G., Dvorácskó, S., Szűcs, E., Tömböly, C., Horvath, G., Benyhe, S., Vécsei, L., 2019. Kynurenines and the Endocannabinoid System in Schizophrenia: Common Points and Potential Interactions. *Molecules* 24, 3709. <https://doi.org/10.3390/molecules24203709>
- Zhang, Y., Träskman-Bendz, L., Janelidze, S., Langenberg, P., Saleh, A., Constantine, N., Okusaga, O., Bay-Richter, C., Brundin, L., Postolache, T.T., 2012. *Toxoplasma gondii* immunoglobulin G

- antibodies and nonfatal suicidal self-directed violence. *J. Clin. Psychiatry* 73, 1069–1076.  
<https://doi.org/10.4088/JCP.11m07532>
- Zornberg, G.L., Buka, S.L., Tsuang, M.T., 2000. Hypoxic-ischemia-related fetal/neonatal complications and risk of schizophrenia and other nonaffective psychoses: a 19-year longitudinal study. *Am. J. Psychiatry* 157, 196–202. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.157.2.196>
- Zunszain, P.A., Anacker, C., Cattaneo, A., Choudhury, S., Musaelyan, K., Myint, A.M., Thuret, S., Price, J., Pariante, C.M., 2012. Interleukin-1 $\beta$ : a new regulator of the kynurenine pathway affecting human hippocampal neurogenesis. *Neuropsychopharmacol. Off. Publ. Am. Coll. Neuropsychopharmacol.* 37, 939–949. <https://doi.org/10.1038/npp.2011.277>
- Zwilling, D., Huang, S.-Y., Sathyaikumar, K.V., Notarangelo, F.M., Guidetti, P., Wu, H.-Q., Lee, J., Truong, J., Andrews-Zwilling, Y., Hsieh, E.W., Louie, J.Y., Wu, T., Scearce-Levie, K., Patrick, C., Adame, A., Giorgini, F., Moussaoui, S., Laue, G., Rassoulpour, A., Flik, G., Huang, Y., Muchowski, J.M., Masliah, E., Schwarcz, R., Muchowski, P.J., 2011. Kynurenine 3-monooxygenase inhibition in blood ameliorates neurodegeneration. *Cell* 145, 863–874.  
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.05.020>