

50376
1978
5

50376
1978
5

Numéro d'ordre : 667

UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

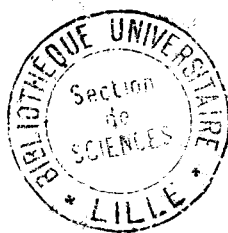
THÈSE

présentée à l'Université de Lille I
pour l'obtention du
DOCTORAT DE 3^{ème} CYCLE DE BIOCHIMIE

par

Elizabeth FISCHER-LE BOUBENNEC

**Altérations de la réponse immune
dans la schistosomiase expérimentale
de la souris à *S. mansoni***



Présentée le Janvier 1978 devant la commission d'examen

JURY : Président : M. J. MONTREUIL

Rapporteur : M. L. CHEDID

Examineurs : M. J. GUILLAUME

M. A. CAPRON

DOYENS HONORAIRES de l'Ancienne Faculté des Sciences

MM. R. DEFRETIN, H. LEFEBVRE, M. PARREAU.

PROFESSEURS HONORAIRES des Anciennes Facultés de Droit
et Sciences Economiques, des Sciences et des Lettres

M. ARNOULT, Mme BEAUJEU, MM. BROCHARD, CHAPPELON, CHAUDRON, CORDONNIER, CORSIN, DEHEUVELS, DEHORS, DION, FAUVEL, FLEURY, P. GERMAIN, HEIM DE BALSAC, HOCQUETTE, KAMPE DE FERIET, KOUGANOFF, LAMOTTE, LASSERRE, LELONG, Mme LELONG, MM. LHOMME, LIEBAERT, MARTINOT-LAGARDE, MAZET, MICHEL, NORMANT, PEREZ, ROIG, ROSEAU, ROUBINE, ROUELLE, SAVART, WATERLOT, WIEMAN, ZAMANSKI.

PRESIDENTS HONORAIRES DE L'UNIVERSITE
DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

MM. R. DEFRETIN, M. PARREAU.

PRESIDENT DE L'UNIVERSITE
DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

M. M. MIGEON.

PROFESSEURS TITULAIRES

M. BACCHUS Pierre	Astronomie
M. BEAUFILS Jean-Pierre	Chimie Physique
M. BECART Maurice	Physique Atomique et Moléculaire
M. BILLARD Jean	Physique du Solide
M. BIAYS Pierre	Géographie
M. BONNEMAN Pierre	Chimie Appliquée
M. BONNOT Ernest	Biologie Végétale
M. BONTE Antoine	Géologie Appliquée
M. BOUGHON Pierre	Algèbre
M. BOURIQUET Robert	Biologie Végétale
M. CELET Paul	Géologie Générale
M. COEURE Gérard	Analyse
M. CONSTANT Eugène	Electronique
M. DEBOURSE Jean-Pierre	Gestion des Entreprises
M. DELATTRE Charles	Géologie Générale
M. DELHAYE Michel	Chimie Physique
M. DERCOURT Jean	Géologie Générale
M. DURCHON Maurice	Biologie Expérimentale
M. FAURE Robert	Mécanique
M. FOURET René	Physique du Solide
M. GABILLARD Robert	Electronique
M. GONTIER Gérard	Mécanique
M. GRANELLE Jean-Jacques	Sciences Economiques
M. GRUSON Laurent	Algèbre
M. GUILLAUME Jean	Microbiologie
M. HEUBEL Joseph	Chimie Minérale
M. LABLACHE-COMBIER Alain	Chimie Organique
M. LACOSTE Louis	Biologie Végétale
M. LANSRAUX Guy	Physique Atomique et Moléculaire
M. LAVEINE Jean-Pierre	Paléontologie
M. LEBRUN André	Electronique
M. LEHMANN Daniel	Géométrie

Mme LENOBLE Jacqueline	Physique Atomique et Moléculaire
M. LINDER Robert	Biologie et Physiologie Végétales
M. LOMBARD Jacques	Sociologie
M. LOUCHEUX Claude	Chimie Physique
M. LUCQUIN Michel	Chimie Physique
M. MAILLET Pierre	Sciences Economiques
M. MONTARIOL Frédéric	Chimie Appliquée
M. MONTREUIL Jean	Biochimie
M. PARREAU Michel	Analyse
M. POUZET Pierre	Analyse numérique
M. PROUVOST Jean	Minéralogie
M. SALMER Georges	Electronique
M. SCHILTZ René	Physique Atomique et Moléculaire
Mme SCHWARTZ Marie-Hélène	Géométrie
M. SEGUIER Guy	Electrotechnique
M. TILLIEU Jacques	Physique Théorique
M. TRIDOT Gabriel	Chimie Appliquée
M. VIDAL Pierre	Automatique
M. VIVIER Emile	Biologie Cellulaire
M. WERTHEIMER Raymond	Physique Atomique et Moléculaire
M. ZEYTOUNIAN Radyadour	Mécanique

PROFESSEURS SANS CHAIRE

M. BELLET Jean	Physique Atomique et Moléculaire
M. BKOUCHE Rudolphe	Algèbre
M. BODARD Marcel	Biologie Végétale
M. BOILLET Pierre	Physique Atomique et Moléculaire
M. BOILLY Bénoni	Biologie Animale
M. BRIDOUX Michel	Chimie Physique
M. CAPURON Alfred	Biologie Animale
M. CORTOIS Jean	Physique Nucléaire et Corpusculaire
Mme DACHARRY Monique	Géographie
M. DEPREZ Gilbert	Physique Théorique
M. DEVRAINNE Pierre	Chimie Minérale
Mme EVRARD Micheline	Chimie Appliquée
M. GOSSELIN Gabriel	Sociologie
M. GOUDMAND Pierre	Chimie Physique
M. GUILBAULT Pierre	Physiologie Animale
M. HERMAN Maurice	Physique Spatiale
Mme LEHMANN Josiane	Analyse
M. LENTACKER Firmin	Géographie
M. LEROY Jean-Marie	Chimie Appliquée
M. LOUAGE Francis	Electronique
M. MAIZIERES Christian	Automatique
Mle MARQUET Simone	Probabilités
M. MIGEON Michel	Chimie Physique
M. MONTEL Marc	Physique du Solide
M. MONTUELLE Bernard	Biologie Appliquée
M. NICOLE Jacques	Chimie Appliquée
M. PAQUET Jacques	Géologie Générale
M. RACZY Ladislas	Electronique
M. ROUSSEAU Jean-Paul	Physiologie Animale
M. SLIWA Henri	Chimie Organique
M. WATERLOT Michel	Géologie Générale

MAITRES DE CONFERENCES (Et Chargés d'Enseignement)

M. ADAM Michel	Sciences Economiques
M. ANTOINE Philippe	Analyse
M. BART André	Biologie Animale
Mme BATTIAU Yvonne	Géographie

M. BEGUIN Paul	Mécanique
M. BONNELLE Jean-Pierre	Chimie
M. BOSCOQ Denis	Probabilités
M. BREZINSKI Claude	Analyse Numérique
M. BRUYELLE Pierre	Géographie
M. CARREZ Christian	Informatique
M. COQUERY Jean-Marie	Psycho-Physiologie
M. CORDONNIER Vincent	Informatique
M. COUTURIER Daniel	Chimie Organique
M. CRAMPON Norbert	Géologie
M. CROSNIER Yves	Electronique
M. DEBRABANT Pierre	Géologie Appliquée
M. DEGAUQUE Pierre	Electronique
M. DELORME Pierre	Physiologie Animale
M. DE PARIS Jean-Claude	Mathématiques
M. DHAINAUT André	Biologie Animale
M. DELAUNAY Jean-Claude	Sciences Economiques
M. DERIEUX Jean-Claude	Microbiologie
M. DOUKHAN Jean-Claude	Physique du Solide
M. DUBOIS Henri	Physique
M. DUEE Gérard	Géologie
M. DYMENT Arthur	Mécanique
M. ESCAIG Bertrand	Physique du Solide
M. FAKIR Sabah	Algèbre
M. FLAMME Jean-Marie	Technologie de Construction
M. FOCT Jacques	Génie Mécanique
M. FONTAINE Hubert	Physique
M. FONTAINE Jacques	Electronique
M. FOURNET Bernard	Biochimie
M. GAMBLIN André	Géographie
M. GERVAIS Michel	Gestion des Entreprises
M. GOBLOT Rémi	Algèbre
M. HECTOR Joseph	Géométrie
M. JACOB Gérard	Informatique
M. JOURNEL Gérard	Physique Atomique et Moléculaire
M. KREMBEL Jean	Biochimie
M. LAURENT François	Automatique
Mlle LEGRAND Denise	Algèbre
Mlle LEGRAND Solange	Algèbre
M. LEROY Yves	Electronique
M. LHENAFF René	Géographie
M. LOCQUENEUX Robert	Physique théorique
M. MACKE Bruno	Physique
M. MAHIEU Jean-Marie	Physique Atomique et Moléculaire
M. MESSELYN Jean	Physique Atomique et Moléculaire
M. MIGNOT Fulbert	Analyse Numérique
M. N'GUYEN VAN CHI Régine	Géographie
M. NOTELET Francis	Electrotechnique
M. NUSSEMBAUM Maurice	Sciences Economiques
M. PARSY Fernand	Mécanique
M. PAUPARDIN Colette	Biologie Physiologie Végétales
M. PECQUE Marcel	Chimie Physique
M. PERROT Pierre	Chimie Appliquée
M. PERTUZON Emile	Physiologie Animale
M. PETIT Francis	Chimie Organique
M. PONSOLLE Louis	Chimie Physique
M. POVY Lucien	Automatique
M. RICHARD Alain	Biologie
M. ROGALSKI Marc	Analyse
M. ROY Jean-Claude	Psycho-Physiologie
M. SIMON Michel	Sociologie
M. SOMME Jean	Géographie

Mle SPIK Geneviève
M. STANKIEWICZ François
M. STERBOUL François
M. TAILLEZ Roger
M. THERY Pierre
M. TOP Gérard
M. TOULOTTE Jean-Marc
M. TREANTON Jean-René
M. VANDORPE Bernard
M. VILLETTE Michel
M. WALLART Francis
M. WERNER Georges
Mme ZIN-JUSTIN Nicole

Biochimie
Sciences Economiques
Informatique
Biologie
Electronique
Sciences Economiques
Automatique
Sociologie
Chimie Minérale
Mécanique
Chimie
Informatique
Algèbre

Ce travail a été réalisé dans les laboratoires
du Service d'Immunologie et de Biologie Parasitaire de
Lille (Faculté de Médecine et Institut Pasteur) sous la
direction du Professeur André CAPRON.

Ce travail a contribué aux communications et publications suivantes :

- CAMUS, D., FISCHER, E., DESSAINT, J.P. and CAPRON, A., 1977.

Immunoregulatory substances produced by S. mansoni
GRIGNON, Immunity in parasitic diseases.

- CAMUS, D., DESSAINT, J.P., FISCHER, E. and CAPRON, A., 1977.

Immunoregulation by schistosome products.

Rhone Poulenc, Paris, Phénomènes d'immunorégulation
et leurs applications immunopharmacologiques.

CAPRON, A., CAMUS, D., DESSAINT, J.P. et le BOUBENNEC-FISCHER, E., 1977.

Altérations de la réponse immune au cours des infections parasitaires.

Ann. Immunol. (Inst. Pasteur), 128C, 541 - 556.

CAMUS, D., DESSAINT, J.P., FISCHER, E. and CAPRON, A., 1977.

Modulation of immune response by antagonistic factors of schistosome origin.

Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 71, 290.

DESSAINT, J.P., CAMUS, D., FISCHER, E. and CAPRON, A., 1977.

Inhibition of lymphocyte proliferation by factor(s) produced by Schistosoma mansoni.

Eur. J. Immunol., 7, 624 - 629.

FISCHER, E., DESSAINT, J.P., BOUT, D., CAMUS, D. and CAPRON, A.

B and T cells dysfunctions during mouse schistosomiasis.
Manuscrit en préparation.

RESUME

L'altération du système immunologique de l'hôte représente un des moyens de survie développés par le parasite pour se maintenir dans un organisme. Notre travail avait pour but l'étude des modifications de la réponse immunitaire induites par le schistosome au cours de l'infection expérimentale à S. mansoni de la souris.

Des auto-anticorps dirigés contre un extrait hépatique sont mis en évidence par une technique d'héماغlutination passive à partir de la sixième semaine d'infection. La réactivité non spécifique des lymphocytes T et B est mesurée, in vitro, par un test de transformation blastique induit par des mitogènes (PHA, LPS). La réponse des cellules T à la PHA est augmentée en début d'infection puis diminuée à partir de la 6ème semaine, tandis que la réactivité des cellules B au LPS reste constante pendant toute la période d'étude (9 semaines). Cependant, la mesure par une méthode radioimmunométrique, de la réponse anticorps à un antigène thymoindépendant (PVP) montre que les cellules B synthétisent des anticorps anti-PVP en quantité accrue après la 6ème semaine d'infection. Ces résultats incitent à penser que la schistosomiase induit chez la souris infectée depuis plus de 6 semaines, une dépression des fonctions T et une augmentation des fonctions B.

D'autre part, l'existence de substances parasitaires interférant, in vitro, dans la réponse de lymphocytes murins sains à des mitogènes, a été démontrée. Deux activités antagonistes sont renfermées dans un extrait de schistosomes recueilli in vitro, l'incubat. Une activité

déprimant la blastogénèse lymphocytaire est décelée dans la fraction dialysable de l'incubat, même après chauffage à 100°C. Par contre, la fraction non dialysable de l'incubat révèle des activités soit directement mitogène, soit favorisant la blastogénèse. Les propriétés de ces deux fractions se manifestent sur des splénocytes débarrassés des macrophages et des cellules T suppressives. Il semble donc que ces substances agissent directement au niveau des lymphocytes T et B recrutés par les mitogènes.

L'existence de composants d'origine parasitaire modulant la réponse des cellules lymphoïdes, suggère que le schistosome est capable d'interférer activement dans la réponse immune de l'hôte et pourrait être une cause du dysfonctionnement immunitaire observé chez la souris parasitée.

Table des matières

	Page
INTRODUCTION.....	1
BUT DU TRAVAIL.....	5
1. ALTERATIONS DE LA REPONSE IMMUNE DE L'HOTE PARASITE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE.....	7
1.1. <u>Parasitoses et phénomènes auto-immuns</u>	8
1.1.1. Auto-anticorps et parasitoses.....	8
1.1.1.1. Protozooses.....	9
1.1.1.1.1. Infections humaines.....	9
1.1.1.1.2. Infections expérimentales.....	10
1.1.1.2. Helminthiases : schistosomiase.....	11
1.1.1.2.1. Infections humaines.....	11
1.1.1.2.2. Infections expérimentales.....	12
1.1.2. Maladies auto-immunes et parasitoses.....	14
1.2. <u>Parasitoses et immunosuppression</u>	15
1.2.1. Paludisme et trypanosomiase.....	16
1.2.2. Trichinose et schistosomiase.....	20
1.3. <u>Conclusion</u>	25
2. MATERIEL ET METHODES.....	25
2.1. <u>Infection expérimentale de la souris</u>	26
2.1.1. Entretien du cycle expérimental de <u>S. mansoni</u>	26
2.1.2. Animaux d'expérience.....	26
2.1.3. Méthodes d'infection.....	27
2.1.3.1. Infection percaudale.....	27
2.1.3.2. Infection transabdominale.....	27
2.1.4. Prélèvements sanguins.....	28

2.2. <u>Préparation des antigènes et des produits</u>	
<u>d'incubation du schistosome</u>	28
2.2.1. Antigène hydrosoluble de <u>S. mansoni</u>	28
2.2.2. Antigène hydrosoluble de foie humain.....	29
2.2.3. Produits d'incubation du schistosome.....	29
2.3. <u>Technique d'héماغglutination passive</u>	29
2.3.1. Sensibilisation des hématies.....	29
2.3.2. Dosage des sérums.....	30
2.4. <u>Dosage des anticorps anti-polyvinylpyrrolidone (PVP)</u> ..	32
2.5. <u>Techniques de cultures cellulaires</u>	33
2.5.1. Test de transformation lymphoblastique (T.T.L.)	33
2.5.1.1. Milieu de culture.....	34
2.5.1.2. Mitogènes.....	34
2.5.1.3. Mise en culture des cellules lymphoïdes.....	35
2.5.2. Purification de différentes populations cellulaires.....	36
2.5.2.1. Elimination des cellules adhérentes..	36
2.5.2.2. Elimination des cellules T.....	37

3. RESULTATS ET DISCUSSION

3.1. <u>Modifications de la réactivité immunologique au cours</u> <u>de l'infection de la souris par S. mansoni</u>	40
3.1.1. Mise en évidence d'auto-anticorps.....	41
3.1.1.1. Cinétique d'apparition des anticorps anti-foie.....	41
3.1.1.2. Spécificité des anticorps anti-foie..	46
3.1.1.3. Discussion.....	48

3.1.2. Réponse des cellules spléniques aux mitogènes T et B.....	52
3.1.2.1. Etude de l'incorporation de base de thymidine tritiée par les cellules saines et infectées.....	54
3.1.2.2. Stimulation des cellules spléniques par la PHA au cours de l'infection...	54
3.1.2.3. Stimulation des cellules spléniques par le LPS au cours de l'infection...	61
3.1.3. Réponse anticorps au polyvinylpyrrolidone (PVP)	67
3.1.3.1. Réponse au PVP en fonction du temps d'infection.....	68
3.1.3.2. Discussion.....	72
3.1.4. Synthèse des résultats et commentaires généraux.....	75
 3.2. <u>Etude de substances libérées par S. mansoni,</u> <u>modulatrices de la blastogénèse in vitro</u>	 79
3.2.1. Facteurs inhibant la prolifération lymphocytaire <u>in vitro</u>	81
3.2.1.1. Mise en évidence et caractérisation préliminaire.....	81
3.2.1.2. Mode d'action.....	84
3.2.1.2.1. Influence de l'addition précoce ou retardée du dialysat dans les cultures, influence du lavage.....	85
3.2.1.2.2. Rôle des cellules adhérant à la laine de verre.....	88
3.2.1.2.3. Rôle des cellules suppressives.....	91
3.2.1.3. Discussion.....	94
3.2.2. Facteurs stimulant la prolifération lymphocytaire <u>in vitro</u>	98
3.2.2.1. Mise en évidence.....	98
3.2.2.2. Relations dose-effet.....	103
3.2.2.2.1. Influence de la dilution d'adialysat sur des lymphocytes stimulés par une dose constante de mitogène.....	103
3.2.2.2.2. Influence de la concentration de mitogène en présence d'une dilution constante d'adialysat.....	106

	Page
3.2.2.3. Mode d'action.....	109
3.2.2.3.1. Action de l'adialysat sur des cellules n'adhérant pas à la laine de verre.....	109
3.2.2.3.2. Action de l'adialysat sur des cellules spléniques traitées par un sérum anti- θ	111
3.2.2.4. Discussion.....	113
3.2.3. Synthèse des résultats et commentaires généraux.....	117
CONCLUSION.....	121
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	124

INTRODUCTION

La survie des parasites pendant des mois voire des années chez des hôtes immunologiquement compétents représente un paradoxe immunologique encore inexpliqué. L'hôte réagit à l'invasion parasitaire en développant une réponse immunologique composée de divers mécanismes effecteurs : ces mécanismes agissent par l'intermédiaire d'anticorps humoraux ou de cellules T sensibilisées et de nombreuses études montrent que l'interaction des anticorps avec différents types cellulaires comme les macrophages, les cellules K, les éosinophiles et les mastocytes, constitue également un aspect important de la réponse immune de l'hôte.

Malgré la diversité des phénomènes de défense mis en oeuvre par le système immunologique de l'hôte, le parasite se maintient dans l'organisme, même si dans certaines situations il est partiellement rejeté. Bien sûr, l'association hôte-parasite ne repose pas seulement sur des bases immunologiques et les facteurs génétiques, notamment, paraissent déterminer la susceptibilité de l'hôte au parasite et le type de réponse immune qu'il lui oppose. Cependant, depuis peu de temps, les auteurs s'intéressent aux modalités de survie du parasite chez l'hôte immun et il s'avère que le parasite dispose de plusieurs moyens lui permettant d'échapper à la réponse immune qu'il a lui-même suscitée.

Les mécanismes de survie du parasite chez l'hôte peuvent être actuellement classés en deux groupes, soit qu'ils permettent au parasite d'éviter la réponse immune de l'hôte, soit qu'ils interfèrent dans l'élaboration de cette réponse :

- la variation antigénique est un phénomène concernant surtout les protozoaires. Les Plasmodium, les Trypanosomes, les Babesia expriment à leur surface des spécificités antigéniques différentes au cours de leur évolution chez l'hôte et rendent ainsi périodiquement inefficace la réponse immune de l'organisme parasité ;
- l'acquisition d'antigènes d'hôte est un fait actuellement démontré chez les schistosomes. Ces parasites acquièrent des motifs antigéniques semblables à certaines structures de l'hôte. Les antigènes d'hôte sont constitués soit par des glycolipides portant des spécificités de groupe sanguin et incorporés sélectivement à la surface du parasite, soit par des glycoprotéines synthétisées par le parasite selon un mécanisme encore inconnu. Il existe, actuellement, de fortes évidences pour penser que les antigènes d'hôte induisent un masquage de la structure antigénique propre du parasite et lui permettent à la fois de diminuer son immunogénicité et de se soustraire à la réponse effectrice de l'hôte ;
- l'altération de la réponse immune de l'hôte : A côté des deux mécanismes précédents agissant à un niveau périphérique (diminution de l'immunogénicité ou masquage de la cible), des études récentes tendent à prouver que le parasite est capable d'interférer au niveau central de la réponse immune de l'hôte et de modifier la réponse des différentes populations de cellules immunocompétentes. Cette modification de la réponse immune de l'hôte se traduit par deux manifestations en apparence opposées, la synthèse anarchique d'immunoglobulines d'une part, et d'autre part le développement de phénomènes d'immunosuppression.

1) Plusieurs facteurs peuvent être à l'origine des altérations observées :

a) Les antigènes parasitaires

Il est actuellement établi qu'en plus des antigènes somatiques parasitaires, l'organisme de l'hôte est soumis à un déversement d'antigènes métaboliques excrétés par le parasite tout au long de l'infection. La masse et la diversité des antigènes parasitaires libres ou ayant formé des immuns complexes solubles peuvent conduire à l'induction d'un état de tolérance.

b) Les anticorps bloquants

Ces anticorps synthétisés en réponse à certains motifs antigéniques parasitaires sont susceptibles d'empêcher l'action toxique de cellules sensibilisées contre le parasite et facilitent ainsi son implantation dans l'organisme qui l'héberge.

c) Les substances immunomodulatrices d'origine parasitaire

Le parasite libère des facteurs capables de moduler la réponse immunitaire. Tout récemment, des substances à activité immunosuppressive d'une part, et à activité mitogène d'autre part, ont pu être mises en évidence dans divers extraits parasitaires. Il semble qu'une régulation importante de la réponse immune de l'hôte puisse s'exercer par l'intermédiaire de ces facteurs solubles.

2) Les mécanismes d'action de ces différents composants sont certainement très complexes mais, actuellement, les auteurs s'accordent à penser qu'ils peuvent agir sur différents types cellulaires participant à la réponse immune.

a) Le macrophage

La masse d'antigènes parasitaires circulants libres ou complexés, peut aboutir à des modifications de la fonction phagocytaire et de la présentation par le macrophage de l'antigène aux lymphocytes. Il semble que ces mécanismes soient à l'origine de l'immunosuppression observée dans certaines formes de paludisme.

b) Les lymphocytes T et B

Des modifications des fonctions lymphocytaires peuvent être provoquées aussi bien par les anticorps bloquants et les immuns complexes que par une forte concentration antigénique entraînant des phénomènes de compétition antigénique ou de tolérance. Le rôle des substances libérées par le parasite doit également être retenu, les facteurs mitogènes pouvant entraîner une prolifération polyclonale des lymphocytes B tandis que les facteurs immunodépresseurs paralysent certaines fonctions lymphocytaires.

c) Les cellules lymphoïdes régulatrices

Enfin, plusieurs évidences laissent penser que les immuns complexes, les antigènes et les substances libérées par le parasite sont susceptibles d'interférer dans les mécanismes régulateurs maintenant l'homéostasie de l'hôte.

BUT DU TRAVAIL

L'infection parasitaire modifie considérablement la réactivité immunologique de l'hôte et nous rappellerons dans un premier chapitre consacré à une étude bibliographique, certaines altérations de la réponse immune constatées au cours d'infections par Protozoaires ou par Helminthes.

Si des anomalies du comportement immunologique de l'hôte sont observées au cours de la schistosomiase, il convient de préciser quels types de cellules immunocompétentes sont altérés. Nous avons choisi de travailler chez la souris, hôte sensible à l'infection par S. mansoni, qui comme l'homme développe une infection chronique et tolère la présence de parasites adultes dans son organisme sans les rejeter.

Une première observation nous a permis de mettre en évidence des auto-anticorps dirigés contre un extrait d'organe qui, en l'absence d'auto-immunité à médiation cellulaire, n'évoquaient pas une rupture de tolérance des cellules T mais suggéraient plutôt un dysfonctionnement du système immunitaire de la souris parasitée. C'est pourquoi, l'exploration de la réactivité des lymphocytes T et B a été entreprise. Un test de transformation blastique induit par des mitogènes ayant des actions sélectives sur les lymphocytes T ou B a été pratiqué sur des cellules spléniques prélevées à différents moments de l'infection. D'autre part, l'immunisation de souris infectées, par un antigène thymoindépendant, le PVP, a permis d'apprécier la capacité de synthèse d'anticorps par les cellules B en l'absence de coopération cellulaire.

Les causes des modifications du système immunitaire observées in vivo chez la souris au cours de l'infection par S. mansoni peuvent être diverses : phénomènes de compétition antigénique, état de tolérance induit par certains antigènes parasitaires libres ou complexés, influence de facteurs d'origine parasitaire sur le système immunitaire de l'hôte. L'intervention des antigènes parasitaires et des immuns complexes est actuellement étudiée par des chercheurs de notre laboratoire et pour notre part, nous avons choisi d'approfondir l'étude des propriétés de substances parasitaires capables d'interférer dans la réponse des lymphocytes. Des expériences réalisées dans le laboratoire par CAPRON et Coll. (1976) ont permis de mettre en évidence une modulation de la transformation blastique des lymphocytes de rats par des extraits parasitaires. Il nous a paru intéressant d'étudier la sensibilité des lymphocytes de souris à ces substances et d'approfondir leur mode d'action sur des cellules spléniques cultivées in vitro

1. ALTERATIONS DE LA REPOSE IMMUNE DE L'HOTE PARASITE :

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Diverses enquêtes épidémiologiques déjà anciennes ont mis en évidence que les individus vivant en zone d'endémie parasitaire présentaient des anomalies immunologiques. Ces anomalies sont de deux types :

- un accroissement des immunoglobulines sériques
- une susceptibilité accrue aux processus tumoraux et infectieux.

1.1. PARASIToses ET PHENOMENES AUTO-IMMUNS

Le taux de différentes classes d'immunoglobulines est augmenté selon le type de parasitose envisagé. L'accroissement porte sur les IgM au cours de la trypanosomiase africaine, sur les IgG au cours des leishmanioses, sur les IgG et les IgM au cours de la malaria, sur les IgE au cours des helminthiases (COHEN, 1974). Si une partie de ces immunoglobulines est synthétisée en réponse aux antigènes parasitaires, une partie importante d'entre elles semble pourvue d'une spécificité différente et réagit en particulier avec certains antigènes autologues.

Mais nous verrons que le fait que l'on observe une très haute incidence d'auto-anticorps parmi les sujets vivants en zone d'endémie parasitaire ne signifie pas pour autant qu'une parasitose prédispose à l'installation de maladies auto-immunes.

1.1.1. Auto-anticorps et parasitoses

Quelques exemples parmi les protozooses et les helminthiases seront envisagés.

1.1.1.1. Protozooses

1.1.1.1.1. Infections humaines

Une association indirecte entre parasitose et auto-anticorps est née des observations de différents auteurs : les sérums des africains vivant dans les zones d'endémie parasitaire (malaria, trypanosomiase) renferment avec une fréquence très élevée, des anticorps dirigés contre des constituants normaux de l'organisme. CURTAIN et SIMONS (1972) mettent en évidence des anticorps fixant le complément avec des extraits de foie et de rein humains. Un syndrome immunologique associant un haut titre d'anticorps anti-Plasmodium et des auto-anticorps dirigés contre le coeur, la thyroïde, les cellules pariétales, est décrit par SHAPER et Coll. (1968). Des hémagglutinines froides de type IgM dirigées contre des déterminants érythrocytaires normaux (ADNER et Coll., 1968 ; LOOSE et DILUZIO, 1973 ; ROSENBERG et Coll., 1973) et des immunoconglutinines (WATSON, 1971) ont également été révélées dans les sérums de patients atteints de paludisme. HOUBA et ALLISON (1966) mettent en évidence des macroglobulines de type facteur rhumatoïde chez les sujets atteints de malaria, de trypanosomiase africaine et de leishmaniose viscérale chronique. Les expériences de GREENWOOD et Coll. (1971a) confirment ces résultats et montrent une corrélation positive entre les titres de facteurs rhumatoïdes et d'anticorps anti-Plasmodium. Des anticorps dirigés contre les acides nucléiques sont également décelés : GREENWOOD et Coll. (1970a) caractérisent un anticorps anti-noyau donnant un aspect moucheté en immunofluorescence au cours de la malaria, tandis que LINDSLEY et Coll. (1974) mettent en évidence un anticorps dirigé contre du DNA monocaténaire au cours de la trypanosomiase.

1.1.1.1.2. Infections expérimentales

Des évidences expérimentales confirment que les protozoaires sont responsables de la formation d'auto-anticorps chez les hôtes infectés.

MANSFIELD et KREIER (1972) observent des auto-anticorps anti-tissus chez le lapin infecté par T. congolense mais n'ont pu démontrer d'auto-immunisation cellulaire chez ces animaux. Chez le lapin sain, des auto-anticorps anti-foie et anti-fibrinogène existent à un taux très faible et l'infection par T. brucei semble avoir un effet adjuvant sur la synthèse de ces auto-anticorps (MACKENZIE et BOREHAM, 1974 ; MACKENZIE et FACER, 1974). L'existence de facteurs rhumatoïdes au cours de la trypanosomiase est également confirmée expérimentalement. HOUBA et Coll. (1969) montrent que les sérums de singes infectés par T. rhodesiense, T. gambiense, T. brucei, renferment des facteurs rhumatoïdes tandis que KLEIN et Coll. (1970) arrivent à induire avec une fréquence très élevée la formation de ces auto-anticorps chez les lapins infectés par T. equiperdum.

Chez le singe infecté par T. rhodesiense, LINDSLEY et Coll. (1974) pensent que les anticorps dirigés contre les acides nucléiques seraient synthétisés en réponse à la libération d'ADN parasitaire. La présence d'anticorps anti-ARN et anti-ADN dans le sérum de rats infectés par P. berghei traduirait l'élimination des débris cellulaires induits par la présence du parasite (KREIER et DILLEY, 1969). Dans la malaria aviaire induite par P. gallinaceum, SONI et COX (1975) ont mis en évidence une hémagglutinine froide de type IgM qui réagit avec des hématies autologues trypsinisées. Ces auteurs pensent que le Plasmodium rendrait antigénique des déterminants érythrocytaires normalement cachés.

1.1.1.2. Helminthiases : schistosomiase

Les travaux de recherche d'auto-anticorps au cours des helminthiases sont peu nombreux. Ils portent surtout sur l'étude de sérums de patients ou d'animaux infectés par différentes espèces de schistosomes.

1.1.1.2.1. Infections humaines

Dans le sérum de patients atteints de schistosomiase à S. haematobium, SHAMMA et Coll. (1965) mettent en évidence par un test de fixation du complément, des auto-anticorps dirigés contre des extraits de foie et de poumon. La fréquence de ces auto-anticorps est de 26 % et leur titre n'excède jamais le 1/128. En immunofluorescence, ces anticorps paraissent dirigés soit contre le tissu conjonctif et la paroi des vaisseaux sanguins, soit contre les membranes des hépatocytes et les parois des alvéoles pulmonaires (SHAMMA et Coll., 1966). Pour ces auteurs, les auto-anticorps dont la fréquence est beaucoup plus élevée lorsque les malades sont atteints de nécrose tissulaire, seraient produits en réponse à une dégradation des tissus provoquée par les vers et les oeufs. AAL et Coll. (1975) décrivent des anticorps agglutinant et immobilisant les spermatozoïdes chez les patients où la schistosomiase conduit à une obstruction du tractus urogénital. Là aussi, les auto-anticorps semblent être une conséquence des lésions produites par le parasite plutôt qu'une cause d'azoospermie.

Cependant, un second groupe d'observations ne peut être expliqué par un mécanisme d'élimination de débris tissulaires. En effet, comme au cours des infections par protozoaires, LEHMAN et Coll. (1972) démontrent la présence de facteurs rhumatoïdes chez un groupe d'Egyptiens atteints de bilharziose à S. haematobium et à S. mansoni. Ces anticorps sensibles au mercaptoéthanol sont dirigés contre des

Y globulines humaines et existent à un titre faible dans les sérums bilharziens. Cette étude confirme celle qui avait été faite par ABDIN et Coll. (1970) chez des enfants atteints de bilharziose urinaire. Il faut également signaler la présence d'anticorps anti-DNA dans les sérums de malades infectés par S. japonicum et moins fréquemment par S. mansoni (HILLYER, 1973).

1.1.1.2.2. Infections expérimentales

L'infection du lapin par S. japonicum détermine l'apparition d'auto-anticorps anti-colon et anti-foie (KURATA et NODA, 1965 ; KURATA, 1966 ; JONES C.E. et Coll., 1976). WISTAR et Coll. (1975) obtiennent la formation d'anti-immunoglobulines dirigées contre les IgA, IgM, IgG de lapin, en infectant de façon répétitive des singes Rhésus, par la souche formosane de S. japonicum. Enfin, des anticorps précipitants anti-ADN existent dans les sérums de hamsters infectés par S. japonicum et S. mansoni après 50 jours d'infection (LEWERT et Coll., 1970 ; HILLYER, 1971). Ces précipitines ne sont pas spécifiques de l'ADN de schistosome et sont dirigées aussi bien contre un ADN natif bicaténaire que contre un ADN dénaturé par la chaleur (HILLYER, 1973).

En conclusion, des auto-anticorps anti-tissus, anti-ADN, des facteurs rhumatoïdes sont retrouvés aussi bien lors d'infections parasitaires par des protozoaires que par des helminthes. Il faut souligner, cependant, que la fréquence des différents types d'auto-anticorps est beaucoup plus élevée dans les populations infectées par des protozoaires.

Dans certains cas, les lésions cellulaires ou tissulaires créées par l'infection parasitaire ou les communautés antigéniques entre l'hôte et le parasite peuvent rendre compte de l'apparition des auto-anticorps, mais dans de nombreuses situations, cette explication ne peut

être invoquée et la présence d'auto-anticorps ainsi que la production accrue d'immunoglobulines à spécificité indéterminée paraissent être le reflet d'un dysfonctionnement du système immunitaire. MANSFIELD et KREIER(1972) pensent que le trypanosome altère le contrôle qu'exercent les cellules T sur la synthèse des auto-anticorps par les lymphocytes B.

Une autre théorie est proposée par GREENWOOD (1974) et MURRAY et Coll. (1974b) : ces auteurs pensent qu'une substance mitogène d'origine parasitaire stimulerait les clones de cellules B et induirait une différenciation plasmocytaire, ce qui conduirait non seulement à une synthèse désordonnée d'immunoglobulines mais encore à une expansion des cellules plasmocytaires empêchant toute stimulation antigénique ultérieure.

Plusieurs évidences expérimentales étayent cette hypothèse puisqu'une activité mitogène in vitro a été mise en évidence dans les surnageants de culture de globules rouges humains infectés par P. falciparum (GREENWOOD et VICK, 1975) et dans des extraits antigéniques de T. brucei et de T. congolense (ESURUOSO, 1976 ; MANSFIELD et Coll., 1976). Dans un extrait salin de schistosomes, des expériences préliminaires ont permis de déceler une activité qui favorise la stimulation de lymphocytes de rat par les mitogènes classiques (CAPRON et Coll., 1976).

Ces deux théories expliquant la synthèse polyclonale d'auto-anticorps au cours des parasitoses ne sont pas incompatibles et on peut fort bien concevoir qu'un mitogène parasitaire stimule les lymphocytes B alors que, par ailleurs, le contrôle homéostatique de l'auto-immunité par les cellules T est rompu.

Si la formation d'auto-anticorps semble un trait constant des parasitoses, leur caractère pathogène n'a été que rarement mis en évidence. Le Plasmodium, qui mène une vie intraglobulaire est certainement à l'origine de la formation d'hémagglutinines entraînant l'anémie hémolytique observée au cours du paludisme (ROSENBERG et Coll., 1973). D'autre part, une pathogénie secondaire, sous forme d'immuns complexes, a également été attribuée aux anticorps anti-ADN au cours de la schistosomiase : HILLYER et LEWERT (1974) ont pu mettre en évidence, par des techniques autoradiographiques, des quantités accrues d'ADN dans les glomérules rénaux d'hamsters infectés depuis 7 semaines par S. mansoni tandis que BRITO et Coll. (1970) et SILVA et Coll. (1970) identifiaient des IgG et des IgM au niveau des reins de patients présentant une forme hépastosplénique de schistosomiase. La fluorescence en "motte" observée au niveau de ces reins évoque une glomérulonéphrite provoquée par dépôts d'immuns complexes.

Exceptés ces deux cas, aucune corrélation ne peut être mise en évidence entre la présence d'auto-anticorps et la survenue de manifestations auto-immunes. Au contraire, il apparaît qu'à la fréquence élevée des auto-anticorps en zone d'endémie parasitaire, s'oppose la très grande rareté des maladies auto-immunes.

1.1.2. Maladies auto-immunes et parasitoses

GREENWOOD (1968) remarque que chez les Nigériens, les maladies auto-immunes comme le lupus érythémateux disséminé, la thyroïdite d'Hashimoto, le myxoedème, l'anémie pernicieuse, la maladie d'Addison, sont des causes extrêmement rares d'admission à l'hôpital. Cette constatation

amène à penser que le parasitisme interfère dans les processus immunologiques à l'origine des maladies auto-immunitaires (GREENWOOD et Coll., 1970c). Effectivement, les infections par *Plasmodium* préviennent l'induction d'arthrite expérimentale chez le rat (GREENWOOD et Coll., 1970d), tandis que la sévérité des neurites allergiques expérimentales est atténuée chez les lapins infectés par *T. brucei* (ALLT et Coll., 1971). Des travaux entrepris chez une souche de souris développant spontanément des maladies auto-immunes confirment encore cette hypothèse : l'infection par *P. berghei*, à l'âge d'un mois, retarde l'apparition de l'anémie hémolytique des souris NZB et diminue l'intensité de la glomérulonéphrite des hybrides NZB/NZW (GREENWOOD et VOLLER, 1970 ; GREENWOOD et Coll., 1970b).

En conclusion, alors que prolifèrent des clones d'auto-anticorps, il ne semble pas exister de manifestations d'auto-immunité cellulaire (MANSFIELD et KREIER, 1972) et l'infection parasitaire paraît entraîner une protection contre les maladies auto-immunitaires. Le fait qu'on puisse difficilement induire une maladie expérimentale de type auto-immun chez un animal parasité montre que le parasite interfère dans le mécanisme d'auto-immunisation des cellules T. Nous allons d'ailleurs voir que d'autres fonctions des lymphocytes T sont affectées au cours des parasitoses.

1.2. PARASIToses et IMMUNOSUPPRESSION

Depuis les observations de LOW et CASTELLANI (1903) qui remarquent une fréquence élevée des infections bactériennes chez les sujets atteints de maladie du sommeil, de nombreuses études faites chez l'homme et chez les animaux

d'expérience, tendent à montrer que les parasites induisent chez leurs hôtes un état d'immunosuppression.

D'une manière générale, aussi bien dans les affections à protozoaires que dans les affections à helminthes, la parasitose favorise l'implantation de tumeurs, l'installation d'infections bactériennes, virales ou parasitaires, la survie d'allogreffes cutanées. La réponse aux exoantigènes est également déprimée.

Nous nous limiterons volontairement aux modèles ayant donné lieu à des recherches expérimentales permettant d'analyser les mécanismes de l'immunosuppression déclenchée par les parasites et nous étudierons d'une part le paludisme et la trypanosomiase, d'autre part, la trichinose et la schistosomiase.

1.2.1. Paludisme et trypanosomiase

Des modifications immunologiques comme une très grande fréquence des tumeurs de Burkitt (DALDORFF et Coll., 1964), une faible réponse humorale à la toxine tétanique (MACGREGOR et BARR, 1962), une transformation lymphocytaire induite par la PHA diminuée (MOORE et Coll., 1974) sont observées dans les populations infectées par les Plasmodium.

Expérimentalement, les infections chroniques de la souris par Plasmodium yoeli entraînent les phénomènes suivants :

- augmentation de la sensibilité aux sarcomes (SALAMAN et Coll., 1969) et aux lymphomes (WEDDERBURN, 1970 ; BOMFORD et WEDDERBURN, 1973) ;
- virulence accrue des infections concomitantes à trypanosomes (COX, 1975 ; COX, 1976) ;

- diminution de la réponse anticorps aux globules rouges de mouton (BARKER, 1971) et aux Y globulines humaines (GREENWOOD et Coll., 1971b).

Cependant, la réponse aux exoantigènes n'est pas uniformément affectée puisque les souris développent normalement des anticorps contre l'hémocyanine (GREENWOOD et Coll., 1971b) et contre le phage ØX 174 (BARKER, 1971). D'autres paramètres de la réponse immunologique comme la sensibilisation de contact, le temps de rejet des allogreffes cutanées, sont normaux. Au cours de l'infection chronique de la souris par P. yoeli, le déficit majeur semble concerner l'activité macrophagique (GREENWOOD et Coll., 1971) et les fonctions T sont conservées.

Par contre, lors de l'infection par P. berghei qui est mortelle pour la souris, la sensibilisation de contact, la réactivité des lymphocytes à la PHA sont diminuées (JAYAWARDENA et Coll., 1975) et d'autre part, un retard dans le rejet des greffes cutanées (SENGERS et Coll., 1971) et une augmentation de l'incidence des lymphomes spontanés (JERUSALEM, 1968) sont observés. De plus, l'étude histologique de différents organes lymphoïdes montre une diminution du nombre des cellules T et B et une augmentation des cellules "nulles" (KRETTLI et NUSSENZWEIG, 1974).

Jusqu'à présent, au cours du paludisme humain et expérimental, les études visant à expliquer les mécanismes de l'immunosuppression ont surtout porté sur les fonctions macrophagiques. La clearance des particules de carbone et des globules rouges de mouton est augmentée mais des macrophages ayant phagocyté un antigène chez une souris atteinte de malaria sont incapables de provoquer une réponse antigénique lorsqu'ils sont transférés chez une souris saine (LOOSE et Coll., 1972). Les modifications de

concentration et de présentation de l'antigène entraînent une diminution du rôle "auxiliaire" du macrophage dans l'induction de la réponse immune (WARREN et WEIDANZ, 1976). Cependant, une dépression de la réactivité lymphocytaire existe également au cours des infections par P. berghei chez la souris (JAYAWARDENA et Coll., 1975) et le rat (SPIRA et Coll., 1976).

La situation immunologique observée au cours de la trypanosomiase africaine est du même ordre que celle décrite chez les individus atteints de paludisme (GREENWOOD et Coll., 1973).

L'immunodépression se manifeste dans les parasitoses expérimentales à T. brucei, T. congolense, T. rhodesiense, sous forme d'une réponse diminuée aux exoantigènes (GOODWIN et Coll., 1972 ; FREEMAN et Coll., 1973 ; MURRAY et Coll., 1973 ; LONGSTAFFE, 1974). Le rejet des nématodes chez un animal déjà parasité par le trypanosome est différé (URQUHART et Coll., 1972 ; KLOETZEL et Coll., 1973 ; PHILLIPS et Coll., 1974). L'implantation des tumeurs d'Erhlich est facilitée (ACKERMAN et SEED, 1976).

L'étude de la nature de l'immunosuppression dans les infections à T. brucei de la souris a permis de mettre en évidence des modifications de la fonction macrophagique. Le système réticulo-endothélial occupe une place importante dans les organes lymphoïdes et la fonction phagocytaire étudiée par mesure de la clearance de globules rouges radiomarqués est accrue. Par contre, le potentiel immunogénique du macrophage ayant phagocyté l'antigène semble diminué (MURRAY et Coll., 1974a).

Les mêmes auteurs constatent que, bien que des cellules plasmatiques envahissent la rate et les ganglions des souris parasitées, la réponse des lymphocytes B à une stimulation antigénique thymoindépendante est altérée

(MURRAY et Coll., 1974b). URQUHART et Coll. (1973) suggèrent la production par le trypanosome d'une substance stimulant la prolifération et la différenciation des lymphocytes B et empêchant leur participation ultérieure à une réponse immune.

Une déficience des fonctions T est également observée chez le lapin infecté par T. congolense : diminution de l'hypersensibilité retardée cutanée, de la réponse blastogénique des lymphocytes à la PHA, de la production de MIF (MANSFIELD et WALLACE, 1974). De plus, une altération de la coopération entre lymphocytes T et B est également évoquée (TERRY et Coll., 1973). Enfin, les travaux récents de JAYAWARDENA et WAKSMAN (1977) caractérisent une population de cellules suppressives adhérentes qui pourraient être responsables de la réactivité diminuée aux mitogènes, des lymphocytes de souris infectées par T. brucei.

En conclusion, l'immunosuppression est un caractère constant des affections par protozoaires. Le parasite a plusieurs niveaux d'action et affecte différents types cellulaires participant à la réponse immune, avec cependant des nuances propres à chaque animal d'expérience et à chaque espèce de parasite en cause. L'infection peut altérer numériquement ou fonctionnellement les macrophages, les lymphocytes T et B et perturber les mécanismes de régulation existant entre ces différentes cellules. Il faut souligner que les protozoaires ont un énorme potentiel de multiplication et chargent l'organisme d'une masse antigénique considérable qui peut aboutir à une paralysie immunitaire ou à un phénomène de compétition antigénique (GOODWIN, 1970). De plus, les antigènes parasitaires circulants libres ou complexés à des anticorps peuvent également interférer dans la réponse immune et en bloquer certains mécanismes (WILSON, 1974). Enfin, la production par ces

parasites de facteurs supprimeurs peut également être évoquée puisque une activité supprimant la transformation blastique des lymphocytes par la PHA, a été mise en évidence dans des cultures de leishmanies (FARAH et Coll., 1976). Cette dernière hypothèse sera développée dans le chapitre suivant car l'existence de facteurs parasitaires immunosupprimeurs est actuellement mieux précisée chez les helminthes.

1.2.2. Trichinose et schistosomiase

L'infection de la souris par Trichinella spiralis provoque des altérations anatomiques et fonctionnelles du système immunitaire. Une survie prolongée des greffes allogéniques cutanées (SVET-MOLDAVSKY et Coll., 1970 ; CHERNYAKHOVSKAYA et Coll., 1972), une dépression de la réponse anticorps au virus de l'encéphalite japonaise B (CYPESS et Coll., 1973) et aux globules rouges de mouton (FAUBERT et TANNER, 1971) ont également été mises en évidence.

La diminution des hémagglutinines et des cellules formant rosettes contre des globules rouges de mouton peut être reproduite en injectant à des souris saines soit du sérum de souris parasitées, soit un extrait salin des larves de T. spiralis (FAUBERT et TANNER, 1971 ; FAUBERT et TANNER, 1974a). De même, le transfert de sérum de souris parasitées à des souris saines permet d'obtenir une prolongation de la survie de greffes de peau allogéniques (FAUBERT et TANNER, 1975). L'extrait salin larvaire s'est révélé être cytotoxique et leucoagglutinant pour les lymphocytes ganglionnaires (FAUBERT et TANNER, 1975). En outre, l'origine parasitaire de ce facteur a pu être confirmée, puisque des larves vivantes de T. spiralis émettent une substance qui peut diffuser à travers un filtre millipore et inhiber la formation de

plages de lyse anti-globules rouges par des lymphocytes sensibilisés in vitro (FAUBERT, 1976). Par contre, des vers adultes sont incapables de libérer une telle substance, et FAUBERT et TANNER (1974b) pensent que la production de ce facteur toxique pourrait expliquer en partie l'immunosuppression observée au stade de la migration larvaire ainsi que la destruction de la corticale et des centres germinatifs des ganglions lymphatiques.

Un second mécanisme d'immunosuppression est proposé par plusieurs auteurs : la suppression induite par la trichine peut s'expliquer par un phénomène de compétition antigénique séquentielle (LUBINIECKI et CYPESS, 1975). La compétition antigénique ou suppression induite par antigène est la suppression d'une réponse immune à un antigène induit par l'administration préalable d'un autre antigène non relié. Les mécanismes de ce phénomène ne sont pas encore éclaircis mais il est induit par des lymphocytes T stimulés au cours de la première réponse immune (GERSHON et KONDO, 1971). L'infection par la trichine produit une stimulation antigénique intense et complexe et au moment où la suppression de réponse à un antigène exogène est détectée, le système immunologique de la souris infectée est en train de répondre activement aux antigènes parasitaires (CRANDALL et CRANDALL, 1972). Plusieurs arguments sont en faveur d'un phénomène de compétition antigénique induit par la trichinose :

- la voie d'introduction de l'antigène est importante et LUBINIECKI et CYPESS (1975) ont montré que la suppression de réponse aux globules rouges de mouton n'existe que lorsqu'ils sont injectés par voie intrapéritonéale ;
- la mise en évidence de cellules T suppressives capables d'empêcher le développement de plages de lyse anti-globules rouges de mouton par des splénocytes sensibilisés in vitro (JONES J.F. et Coll., 1976).

Si la suppression est clairement démontrée au cours de la trichinose, le site d'action cellulaire des facteurs parasitaires ou des cellules T suppressives n'a pas encore été éclairci. Seules, les expériences de BARRIGA (1975) tendent à montrer que les cellules T helper ont une fonction réduite puisque la réponse anticorps aux globules rouges est diminuée alors que la réponse à un antigène thymoindépendant est normale.

Les schistosomiasis s'accompagnent, elles aussi, d'une altération de réponse à d'autres agents infectieux : les infections à P. berghei (YOELI, 1956), à T. cruzi (KLOETZEL et Coll., 1973), à Listeria (COLLINS et Coll., 1972) sont favorisées chez les animaux atteints de schistosomiasis. D'autre part, CAPRON et Coll. (1972) ont pu montrer que des greffes tumorales sont facilitées chez des hamsters infectés par S. mansoni, à condition que l'infection soit antérieure à l'administration des cellules tumorales.

Chez la souris infectée par S. mansoni, la réponse anticorps à la toxine tétanique (BRITO et Coll., 1976), la réponse PFC aux globules rouges de mouton (MOTA-SANTOS et Coll., 1976), la réactivité des cellules T à des mitogènes non spécifiques (PELLEY et Coll., 1976) sont diminuées.

Chez les sujets fortement infectés par S. haematobium, WILKINS et BROWN (1977) ont étudié l'hypersensibilité retardée cutanée à différents antigènes et la transformation blastique des lymphocytes sous l'effet de la PHA. Ces deux paramètres sont fortement diminués et témoignent d'une atteinte de l'immunité cellulaire.

Plusieurs mécanismes sont suggérés pour expliquer cette immunosuppression : PELLEY et Coll. (1976) pensent que la ponte des oeufs qui coïncide avec le début de la période de suppression de la transformation blastique

aux mitogènes T, représenterait un fort stimulus antigénique capable d'induire la formation d'une population de cellules T suppressives. D'autre part, la mise en évidence dans les surnageants de culture et dans un extrait salin de schistosomes, d'une activité supprimant la blastogénèse induite par les mitogènes, permet de penser que le parasite libère in vitro des facteurs supprimeurs (DESSAINT et Coll. 1976). Ces extraits ne sont pas cytotoxiques et l'activité suppressive est retrouvée dans la fraction dialysable. Des expériences pratiquées chez le rat montrent qu'à partir de la 3ème semaine d'infection, l'hypersensibilité retardée est diminuée ainsi que la réactivité des splénocytes aux mitogènes T et B (CAPRON-DUPONT, 1974 ; CAPRON et Coll., 1976). L'existence in vivo de ces phénomènes de suppression a conduit à rechercher les facteurs d'origine parasitaire dans le sérum des animaux infectés. La fraction dialysable du sérum de rat infecté depuis plus de trois semaines contient effectivement une activité supprimant la blastogénèse de lymphocytes de rats sains stimulés par les mitogènes T et B (CAPRON et Coll., 1977). Il apparaît, par conséquent, que le schistosome libère in vivo et in vitro des facteurs capables de diminuer la réactivité lymphocytaire.

La trichine et le schistosome sont des métazoaires à localisation sanguine ou tissulaire, sans pouvoir de multiplication endogène, mais qui constituent de par leur taille et leur activité métabolique, une source importante d'antigènes et de produits de sécrétion. La pluralité des antigènes parasitaires peut créer un état d'immunosuppression chez l'hôte infecté, en stimulant fortement le système immunologique et en l'empêchant d'être disponible pour une réponse ultérieure : c'est le phénomène de compétition antigénique (LUBINIECKI et CYPESS, 1975 ; PELLEY et Coll., 1976). Le rôle immunosuppresseur que peuvent jouer les antigènes libres ou complexés (WILSON, 1974) et les

anticorps (ARAUJO et REMINGTON, 1972 ; RAMALHO-PINTO et Coll., 1976b) doit également être pris en considération. Mais de plus, les parasites sont capables d'intervenir activement dans la régulation de la réponse immune de l'hôte, grâce à la libération de facteurs solubles. Ces facteurs peuvent être cytotoxiques comme dans la trichinose et paralyser temporairement certains clones cellulaires, ou bien, ils peuvent diminuer la réactivité fonctionnelle des lymphocytes comme dans la schistosomiase. Le mode d'action de ces substances reste à préciser car elles peuvent affecter directement les lymphocytes réactifs ou indirectement altérer la fonction de populations régulatrices de la réponse immune.

1.3. CONCLUSION

Au terme de cette revue, il apparait que le parasite perturbe l'équilibre immunologique de l'hôte et crée ainsi une situation favorable à sa survie. Les infections par protozoaires aussi bien que par helminthes mettent en lumière deux notions importantes :

- une stimulation anormale des lymphocytes B avec production anarchique d'immunoglobulines dont certaines ont des spécificités auto-anticorpales ;
- une suppression de certaines fonctions immunologiques des cellules T.

Ceci traduirait un désordre de la régulation du système immunitaire et la découverte récente d'une part de facteurs parasitaires stimulants les cellules lymphoïdes au cours de la malaria, la trypanosomiase, la schistosomiase, d'autre part de facteurs parasitaires inhibant ces mêmes cellules au cours de la trichinose et de la schistosomiase, incite à penser qu'au cours des différents stades d'évolution, le parasite est capable de moduler la réponse immunitaire de l'hôte afin d'y échapper.

2. MATERIEL et METHODES

2.1. INFECTION EXPERIMENTALE DE LA SOURIS

2.1.1. Entretien du cycle expérimental de *Schistosoma mansoni*

La souche de *S. mansoni* utilisée au laboratoire a été isolée en Guyane Hollandaise.

L'hôte intermédiaire est un mollusque, *Biomphalaria glabrata*, variété albinos.

L'hôte définitif utilisé pour maintenir le cycle au laboratoire est le hamster doré (*Mesocricetus auratus*).

Schématiquement, chaque mollusque est infecté par 10 miracidiums obtenus après éclosion des oeufs prélevés par grattage de l'intestin grêle de hamsters infectés. Après environ 21 jours, les mollusques exposés à la lumière et à une température de 30°C libèrent les furcocercaires, forme infectante pour l'hôte définitif vertébré. Chaque hamster est infecté par baignade dans de l'eau désionisée contenant environ 900 furcocercaires. Les furcocercaires après pénétration transcutanée se transforment en schistosomules qui atteignent le stade adulte en 35 à 40 jours. La ponte débute alors et les oeufs se logent dans le foie et les intestins du hamster infecté. Les vers adultes sont collectés par perfusion du foie et des veines mésentériques après 45 jours d'infection.

2.1.2. Animaux d'expériences

Les animaux utilisés pour l'étude de différents paramètres en fonction du temps d'infection sont des souris syngéniques C57 Black/6, femelles, pesant de 18 à 22 grammes (IFFA CREDO).

Des souris syngéniques CBA femelles (CNRS, La Source Orléans) sont également utilisées pour l'étude des substances parasitaires.

Les animaux sont conservés à l'animalerie et la survie moyenne des animaux sains est de 90 % après 3 mois. L'atmosphère de l'animalerie n'est pas contrôlée et ce fait peut expliquer la différence de réactivité des splénocytes prélevés chez différents animaux sains.

2.1.3. Méthodes d'infection

Les furcocercaires émises par les mollusques sont numérotées et mises en suspension. Cette suspension est destinée à infecter les souris.

Deux méthodes ont été utilisées :

2.1.3.1. Infection per caudale

Les souris sont immobilisées dans une petite cage en bois et leur queue est immergée pendant 30 minutes dans un tube de verre contenant 5 ml d'une suspension de furcocercaires dont le nombre varie de 10 à 30 par ml en fonction des expériences.

Cette technique a été utilisée lors des expériences de mise en évidence des auto-anticorps.

2.1.3.2. Infection transabdominale

Les souris sont anesthésiées par injection intrapéritonéale de pentobarbital sodique, à raison de 55 µg/gramme de poids. L'abdomen des animaux est rasé, mouillé à l'eau désionisée et on y place un anneau métallique d'un cm de diamètre. Une suspension de furcocercaires à 200 furcocercaires/ml est déposée dans cet anneau sous un volume de 0,3 ml et le contact est maintenu 30 minutes avec la peau de l'abdomen.

Cette technique, d'introduction plus récente au laboratoire, permet des infections plus homogènes que la technique d'infection per caudale ; elle est actuellement la seule utilisée au laboratoire et elle nous a permis d'étudier la réponse cellulaire aux mitogènes et la réponse anticorps au polyvinylpyrrolidone.

2.1.4. Prélèvements sanguins

Ils sont réalisés par ponction au niveau du sinus veineux rétro-orbital ou bien, lorsque les animaux sont sacrifiés, par ponction cardiaque après anesthésie au chloroforme.

2.2. PREPARATION DES ANTIGENES ET DES PRODUITS D'INCUBATION DU SCHISTOSOME

2.2.1. Antigène hydrosoluble de *S. mansoni*

Les vers adultes, récoltés par perfusion de hamsters infectés depuis 45 jours, sont lavés plusieurs fois en eau physiologique.

Ils sont ensuite broyés au Virtis, 3 fois 5 mn, à 4°C dans une solution de chlorure de sodium 1 g pour 1000 à raison de 15 ml par gramme de poids humide.

Le broyat est congelé à - 20°C puis décongelé par broyage au mortier. Cette opération est répétée 4 fois.

L'homogénat de vers est centrifugé 1 heure à 40 000 g à 4°C. Le surnageant est dialysé contre 100 volumes d'eau désionisée pendant 24 heures puis lyophilisé.

Cet extrait de schistosomes constitue l'antigène hydrosoluble.

2.2.2. Antigène hydrosoluble de foie humain

Le protocole d'extraction envisagé précédemment (2.2.1.) est réalisé sur un morceau de foie humain congelé à - 70°C immédiatement après le prélèvement.

2.2.3. Produits d'incubation du schistosome

Cinq à dix milles vers adultes, obtenus immédiatement après perfusion des hamsters infectés depuis 45 jours, sont lavés en eau physiologique, rincés 2 fois en eau bidistillée et mis immédiatement à incuber dans un petit volume d'eau bidistillée (1 ml/1000 vers) à 30°C pendant 3 heures.

Après décantation des vers, le surnageant est recueilli et constitue l'INCUBAT.

L'incubat est centrifugé 10 minutes à 1000 g pour éliminer les débris particulaires, filtré sur filtre Millipore stérile de 0,45 µm et mis en dialyse 24 h à 4°C contre 30 ml d'eau bidistillée apyrogène.

Le liquide de dialyse est lyophilisé et constitue le DIALYSAT de l'incubat (schéma 1).

L'incubat est remis en dialyse contre un litre d'eau bidistillée pendant 24 heures, puis est congelé à -20°C ou directement lyophilisé par aliquot de 1 ml ; cet extrait constitue l'ADIALYSAT de l'incubat (schéma 1).

2.3. TECHNIQUE D'HEMAGGLUTINATION PASSIVE

2.3.1. Sensibilisation des hématies

Réactifs

- Eau physiologique tamponnée (PBS) :

0,15 M chlorure de sodium

0,01 M tampon phosphate pH 7,2

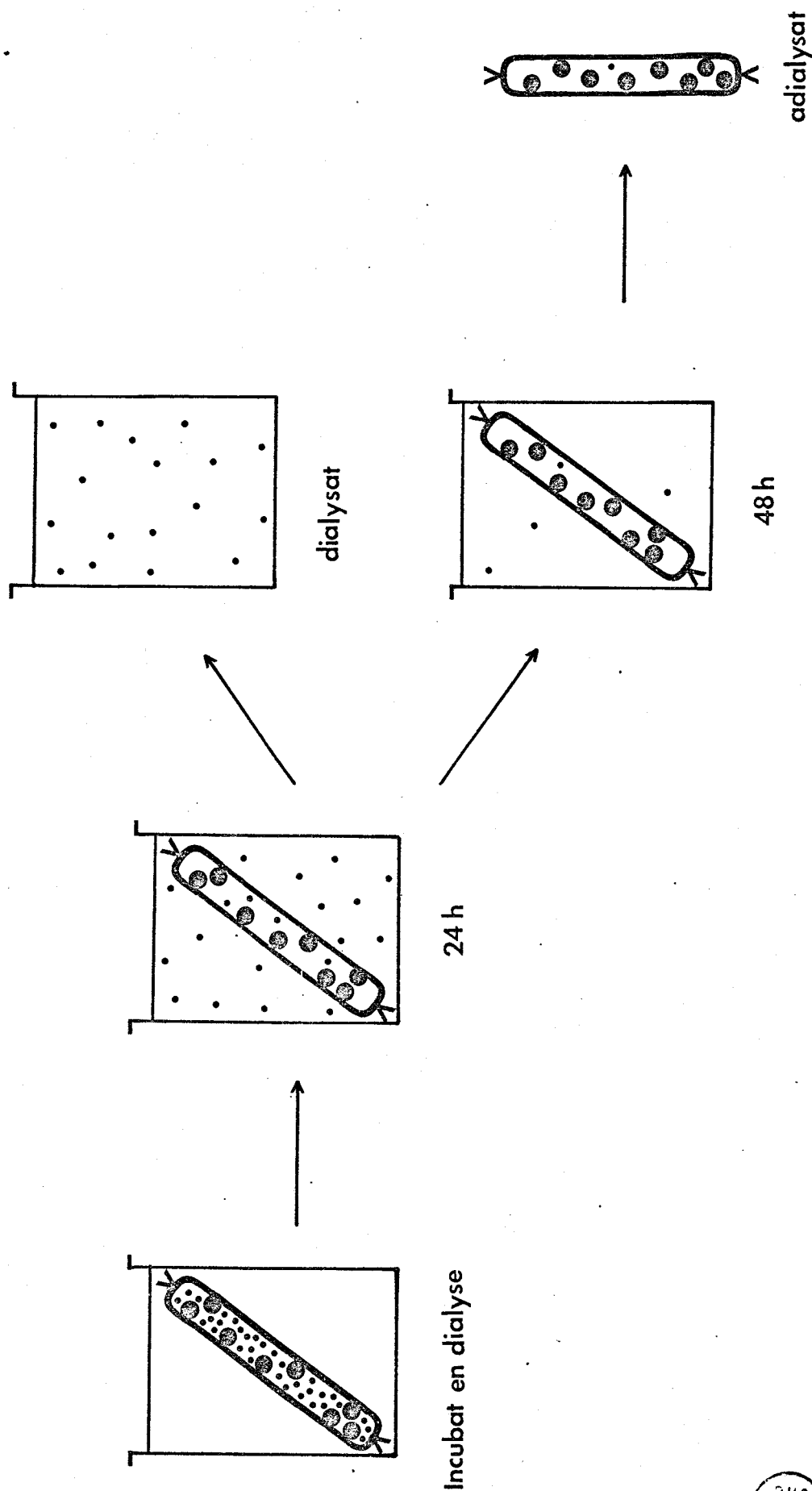


Schéma 1 : Préparation du dialysat et de l'adialysat à partir de l'incubat de schistosomes .

- Glutaraldéhyde à 1 pour 100 en PBS
- Solution d'antigène à coupler :
 - Antigène foie humain 40 mg/ml
 - Antigène S. mansoni 20 mg/ml
- Hématies de mouton formolées.

Après cinq lavages en PBS, les hématies de mouton (Institut Pasteur Production) sont diluées à 8 pour 100 en PBS et mélangées volume à volume à une solution de formol à 3 pour 100. Le mélange est agité pendant 18 heures à 37°C. Les hématies sont centrifugées à 1500 g pendant 10 minutes et lavées 5 fois en PBS.

Une partie du culot globulaire est ajustée à 50 % avec du PBS. Cette suspension servira à saturer les sérums. L'autre partie est ajustée à 10 % pour être couplée à l'antigène.

Les hématies formolées sont stockées à 4°C après avoir été réparties en aliquots de 1 ml.

Mode opératoire

A 0,1 ml de culot globulaire sont ajoutés :

- 1 ml de solution antigénique, puis
- 1 ml de glutaraldéhyde à 1 pour 100

Le contact est maintenu 15 minutes à température ambiante sous agitation. Les hématies sensibilisées sont ensuite lavées trois fois en PBS et resuspendues dans 5 ml de PBS contenant 0,1 g pour 1000 de sérumalbumine humaine.

2.3.2. Dosage des sérums

Les sérums sont décomplémentés par chauffage au bain-marie 30 minutes à 56°C. Pour éliminer les agglutinines

naturelles, ils sont ensuite saturés par un volume égal d'hématies de mouton formolées diluées à 50 %. L'absorption est réalisée par un contact de 30 mn à température ambiante. Les hématies sont centrifugées 10 mn à 1000 g.

Les sérums saturés sont dilués de 1/2 en 1/2 sous un volume de 50 μ l, à l'aide de PBS contenant 0,1 g pour 1000 de sérumalbumine humaine, dans des plaques de microtitration (alvéoles à fond plat, forme U). Les hématies sensibilisées sont ajoutées à raison de 25 μ l par alvéole. La lecture de l'agglutination s'effectue au bout de 3 heures.

Un sérum de lapin positif sert de sérum de référence. D'autre part, chaque sérum à tester reçoit une goutte d'hématies non sensibilisées pour vérifier l'absence d'agglutination spontanée.

2.4. DOSAGE DES ANTICORPS ANTI-POLYVINYLPYRROLIDONE (PVP)

Le dosage quantitatif des anticorps anti-PVP est effectué selon la technique de FARR (1958) modifiée par MAHIEU et Coll. (1974).

Réactifs

- Le milieu réactionnel est constitué par du tampon borate, pH 8,3

Acide borique 6,184 g

Tetraborate de sodium ($10H_2O$) 9,536 g

Chlorure de sodium 4,384 g

qsp 1000 ml H_2O désionisée

- PVP marqué à 1, 125 Iode (^{125}I -PVP, Radio-chemical Center AMERSHAM, PM = 30 000, activité spécifique 20 μ Ci/mg)

- Polyéthylène glycol (PEG Fluka, PM = 6 000) en solution à 20 pour 100 en tampon borate
- Les sérums à tester sont décomplémentés par chauffage au bain-marie pendant 30 minutes à 56°C.

Mode opératoire

Les sérums sont dilués de 1/2 en 1/2 sous un volume final de 50 μ l en tampon borate, dans des tubes à hémolyse de polystyrène. Chaque dosage est réalisé en double.

L' 125 I-PVP dilué extemporanément à 0,2 μ g/ml en tampon borate est ajouté dans chaque tube sous un volume de 50 μ l.

Après agitation, les tubes sont incubés 1 heure à 37°C. Puis 2 ml de PEG 20 pour 100 sont ajoutés pour précipiter les immunoglobulines libres et liées au 125 I-PVP. Les tubes sont laissés 18 heures à 4°C puis centrifugés à 1000 g pendant 30 mn. Le précipité obtenu est lavé une fois par un ml de PEG 20 pour 100. Le surnageant est éliminé par aspiration sous vide.

La radioactivité de chaque culot est mesurée dans un spectromètre à scintillation (CGR Gammatic) et est comparée à la radioactivité introduite initialement dans les tubes.

L'expression des résultats sera précisée dans le chapitre 3.1.3.

2.5. TECHNIQUES DE CULTURES CELLULAIRES

2.5.1. Test de Transformation lymphoblastique (T.T.L.)

Des cellules lymphoïdes ont été mises en culture pour pratiquer des tests de transformation blastique et pour produire des surnageants de culture. D'autre part,

plusieurs techniques ont été employées pour fractionner différentes populations cellulaires.

2.5.1.1. Milieu de culture

Le milieu de culture utilisé est du RPMI 1640 (DIFCO) contenant du bicarbonate de sodium et de la L-glutamine. Ce milieu est additionné d'antibiotiques (penicilline G 100 unités/ml, streptomycine sulfate 50 µg/ml). Extemporaneément, 29 µg/ml de L glutamine sont ajoutés dans ce milieu et le pH est ajusté à 7,3 à l'aide de gaz carbonique.

Le RPMI était initialement additionné de 10 % de sérum de veau foetal (SORGA) décomplémenté par chauffage 30 minutes à 56°C.

L'emploi du tripeptide synthétique Glycyl-Histidyl Lysine (CALBIOCHEM) décrit par PICKART et Coll. (1973) a permis d'obtenir une meilleure reproductibilité des cultures cellulaires, la variabilité introduite par les changements de lots de sérum de veau étant ainsi éliminée. Après avoir testé différentes doses, la concentration optimale de tripeptide a été fixée à 20 ng/ml de RPMI.

2.5.1.2. Mitogènes

La stimulation aspécifique des cellules spléniques est provoquée par trois types de mitogènes. Pour chaque lot de mitogène utilisé, une gamme dose-effet est réalisée.

Le lipopolysaccharide (LPS) est extrait d'E. coli 0111 : B4 (DIFCO)

La phytohémagglutinine (PHA) est extraite de Phaseolus vulgaris (WELLCOME).

La concanavaline A (Con A) est extraite de Concanavalia ensiformis (INDUSTRIE BIOLOGIQUE FRANCAISE).

2.5.1.3. Mise en culture des cellules lymphoïdes

Les cellules spléniques cultivées in vitro sont issues de souris femelles de souche syngénique C57 Black (IFFA CREDO) ou CBA (CNRS, La Source, Orléans) selon le type d'expérience effectuée.

La souris est tuée par dislocation cervicale. La rate, prélevée stérilement, est placée dans une boîte de Pétri contenant 5 ml de milieu puis dilacérée à l'aide de deux pinces courbes. Les cellules sont ensuite dissociées par aspiration dans une aiguille de 1,10 mm de diamètre montée sur une seringue de 5 ml. La suspension cellulaire reprise par 10 ml de milieu est centrifugée à 500 g pendant 10 minutes.

Le culot cellulaire est remis en suspension dans 1 ml de milieu et une numération des lymphocytes viables est pratiquée à l'aide d'une cellule de THOMA par un test d'exclusion du Bleu Trypan en solution à 0,02 % (en tampon véronal, pH 8,7). La suspension cellulaire est ajustée à 10×10^6 lymphocytes viables/ml.

Les cultures cellulaires sont réalisées dans des plaques de microculture stériles à fond plat (NUNCCLON) selon le protocole suivant :

- 5×10^5 lymphocytes viables sont distribués sous un volume de 50 μ l
- les mitogènes et éventuellement les substances parasitaires à tester sont distribués de façon à ce que chaque alvéole reçoive un volume de 200 μ l. Le volume réactionnel des alvéoles témoins est ajusté à 200 μ l par du milieu de culture. Chaque test est reproduit en trois exemplaires.

Les cellules sont cultivées pendant 72 heures à 37°C dans une étuve humidifiée dont l'atmosphère contient, 5 % de CO₂. Pendant les 16 dernières heures de culture, 10 µl de milieu contenant 0,5 µCi de thymidine méthylée marquée au tritium (³H-THY, activité spécifique 5 Ci/mM, CEA) sont ajoutés dans chaque alvéole.

Les cellules de chaque alvéole sont récupérées et lavées à l'aide d'une solution d'eau physiologique par filtration sur membranes d'acétate de cellulose 0,22 µm (SARTORIUS). Récemment, la récolte et le lavage des cellules ont été faits sur des membranes en fibre de verre à l'aide d'un appareil de filtration automatique (Titertek Cell Harvester, Scatron). Les membranes sont séchées et introduites dans des flacons de comptage en polyéthylène (BLOCK). Dix millilitres d'un mélange toluène-butyl PBD 0,7 % sont ajoutés dans chaque flacon et la radioactivité est mesurée par un compteur à scintillation liquide (ISOCAP 300, Nuclear Chicago).

2.5.2. Purification de différentes populations cellulaires

2.5.2.1. Elimination des cellules adhérentes

Les cellules spléniques non adhérentes sont obtenues selon la méthode décrite par BASH et WAKSMAN (1975). Cette technique permet d'éliminer les cellules adhérant à la laine de verre.

Un gramme de laine de verre stérilisée est tassé dans une seringue de plastique de 10 ml. Cette seringue est imbibée de milieu de culture RPMI et préchauffée pendant 1 heure à 37°C. Trois millilitres d'une suspension de splénocytes à 10×10^6 cellules/ml sont incubés sur la colonne de laine de verre pendant 30 mn à 37°C. Les cellules non adhérentes sont éluées à l'aide de 30 ml de milieu de culture préchauffé à 37°C. Elles sont ensuite lavées deux fois, numérées et resuspendues à 10×10^6 cellules/ml.

2.5.2.2. Elimination des cellules T

Les cellules T spléniques sont éliminées par action d'un sérum anti- θ en présence de complément.

Réactifs

- Le sérum anti- θ (SEARLE) a été préparé par immunisation de souris de souche AKR par des thymocytes de souris CBA. La cytotoxicité de ce sérum a été appréciée par un test de cytotoxicité en présence de complément de cobaye sur des thymocytes de souris CBA, préalablement marqués au ^{51}Cr . Le titre cytotoxique de ce sérum est de 1/1400.

- Le complément utilisé est du sérum de cobaye Hartley (LESSIEUX) prélevé par ponction cardiaque. Le sang est laissé une heure à température ambiante puis 2 heures à 4°C. Le sérum est alors recueilli et congelé immédiatement à -70°C par aliquots de 0,5 ml.

Afin d'éliminer le pouvoir cytotoxique spontané de certains lots, le complément de cobaye dilué au 1/3 en sérum physiologique est absorbé sur agar (DIFCO) à raison de 80 mg/ml de sérum pur suivant la technique de COHEN et SCHLESINGER (1970). L'absorption est pratiquée à 4°C pendant 1 heure puis le sérum est centrifugé 10 mn à 1000g. Le surnageant est filtré sur filtre 0,22 μm stérile avant d'être utilisé dans le test de cytotoxicité.

- Les cellules spléniques issues de souris CBA sont préparées suivant le protocole décrit au chapitre 2.5.1.3.

Mode opératoire

Trente millions de cellules spléniques sont mises en contact sous un volume de 300 μl avec 300 μl de sérum anti- θ et 300 μl de complément de cobaye préalablement

dilué au 1/3, pendant 1 heure à 37°C. La suspension cellulaire est agitée périodiquement toutes les 10 minutes puis elle est centrifugée à 500 g pendant 10 minutes et lavée avec 5 ml de milieu RPMI. Le culot cellulaire est repris par 1 ml de RPMI et une numération des cellules lymphoïdes viables est pratiquée.

Un témoin permettant de contrôler l'absence de cytotoxicité du complément est réalisé parallèlement. Dans un tube témoin, le sérum anti- θ est remplacé par du RPMI.

3 - RESULTATS et DISCUSSION

3.1. MODIFICATIONS DE LA REACTIVITE IMMUNOLOGIQUE

AU COURS DE L'INFECTION DE LA SOURIS

PAR S. MANSONI

3.1.1. MISE EN EVIDENCE D'AUTO-ANTICORPS

Des anticorps anti-organes sont mis en évidence au cours de l'infection expérimentale de la souris et leur spécificité est étudiée.

3.1.1.1. Cinétique d'apparition des anticorps anti-foie

Des souris syngéniques C57 Black femelles, pesant 18 à 22 grammes sont infectées par 150 furcocercaires de S. mansoni selon la méthode d'immersion de la queue (Chapitre 2.1.3.1.). Quarante souris sont ainsi infectées et réparties en 4 groupes saignés alternativement tous les 5 jours selon un schéma expérimental randomisé. Les sérums sont stockés individuellement à - 20°C. Vingt souris saines conservées dans les mêmes conditions d'élevage sont également réparties en 4 groupes et saignées tous les 5 jours. Un pool de sérum sain est constitué à chaque saignée et sert de témoin.

Les anticorps dirigés contre un extrait antigénique de foie sont recherchés dans ces sérums par la technique d'hémagglutination passive décrite précédemment (Chapitre 2.3.). Il est logique de rechercher les auto-anticorps à l'aide d'extrait d'organe homologue mais différentes méthodes de couplage aux hématies d'extrait antigénique de foie de souris C57 Black ont aboutit à une hémagglutination non spécifique. Un extrait antigénique hétérologue préparé à partir de foie humain a donc été utilisé.

La reproductibilité de la technique est estimée, au cours de chaque série de tests, par le titrage d'un immunsérum de lapin présentant un titre de 1/512.

Les anticorps anti-foie humain commencent à apparaître aux jours 40 - 45 d'infection et persistent pendant toute la durée de l'expérience (85 jours). Le titre maximal observé est de 1/256. Les pools de sérums de souris témoins prélevés tout au long de l'expérience ont toujours un titre inférieur ou égal au 1/4 (tableau 1).

L'évolution comparative des anticorps hémagglutinants dirigés d'une part contre un extrait de foie humain (●—●), d'autre part contre un extrait de vers adultes de S. mansoni (*—*) est représentée sur la figure 1.

L'activité anti-foie des sérums débute après 45 jours d'infection, atteint un pic à 55 jours, persiste à un niveau élevé jusqu'à 70 jours puis commence à décroître. Cependant, le titre des sérums infectés reste nettement supérieur à celui des sérums témoins à partir du 45ème jour d'infection.

Les anticorps anti-S. mansoni apparaissent à 50 - 55 jours et atteignent un titre maximum à 70 jours.

La courbe représentant l'évolution des anticorps anti-foie a donc la même allure que celle des anticorps dirigés contre S. mansoni avec cependant un décalage dans le temps d'environ 5 jours.

Une seconde expérience a été pratiquée sur des souris CBA infectées avec une dose plus faible de furcocercaires (50). Pour éviter les variations individuelles, des pools de sérums ont été constitués.

La figure 1 bis montre :

- la même évolution globale des titres hémagglutinants des sérums ;
- le même délai entre la survenue des anticorps anti-foie et celle des anticorps anti-S. mansoni.

jours après l'infection	effectif	Médiane de l'inverse du titre hémagglutinant	étendue
5	5	2 nég	
10	5	2 nég	
15	5	2 nég	
20	5	2 nég	
25	5	2 nég	
30	5	2 nég	
35	4	2 nég	2 nég - 8
40	10	2	2 - 8
45	7	16	2 - 64
50	8	16 à 32	4 - 128
55	5	64	32 - 256
60	3	16	16 - 64
65	4	16 à 32	8 - 128
70	4	32 à 64	16 - 256
75	4	32	16 - 64
80	3	16	8 - 64
85	3	8	4 - 64
Pools de sérum sains	17	2	2 - 4

TABEAU 1 : ANTICORPS HEMAGGLUTINANTS ANTI-FOIE HUMAIN AU
COURS DE L'INFECTION DE LA SOURIS PAR S. MANSONI.



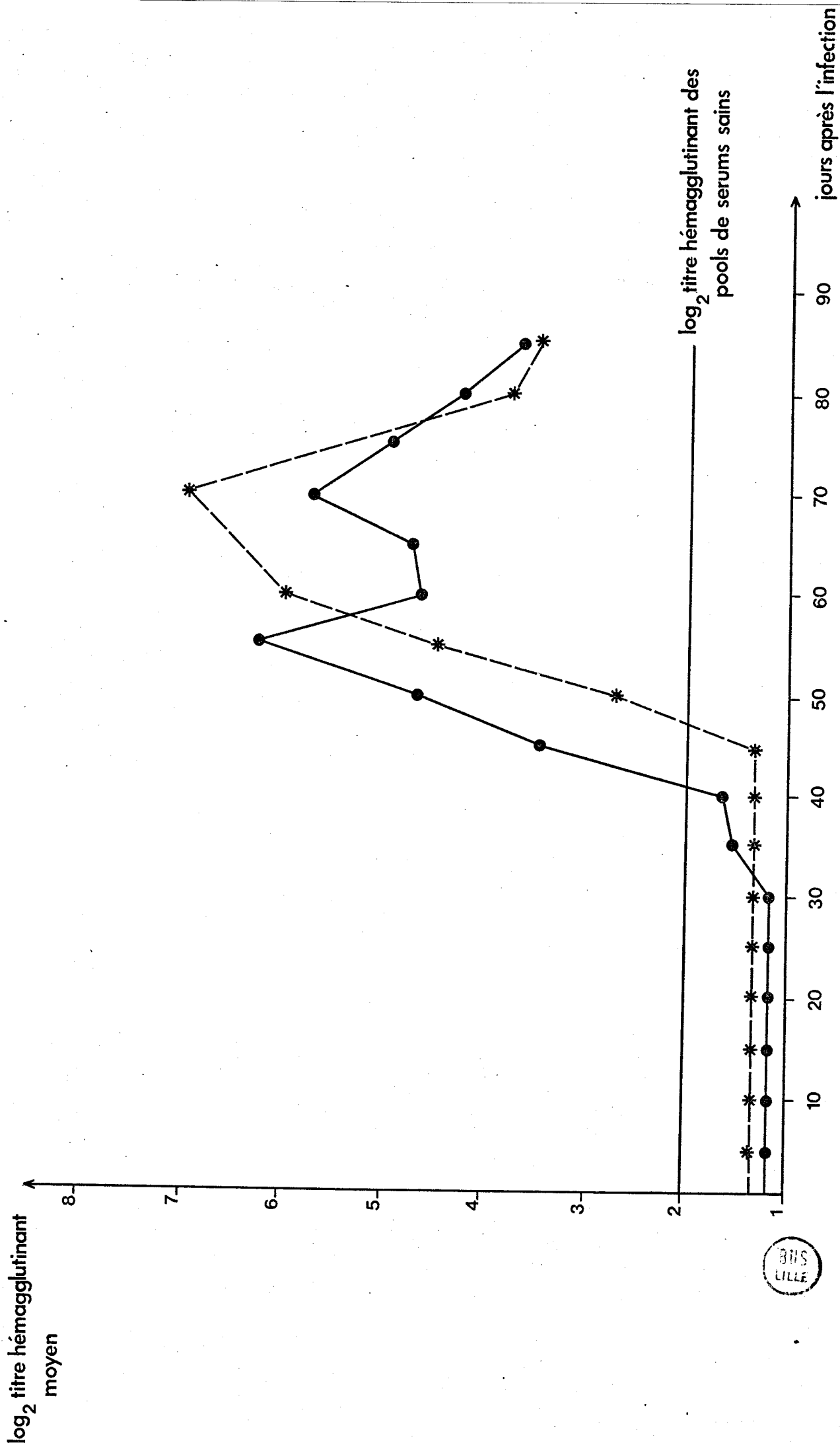


Figure 1 : Activité anti foie ● et anti *S. mansoni* * des sérums de souris en fonction du temps d'infection.

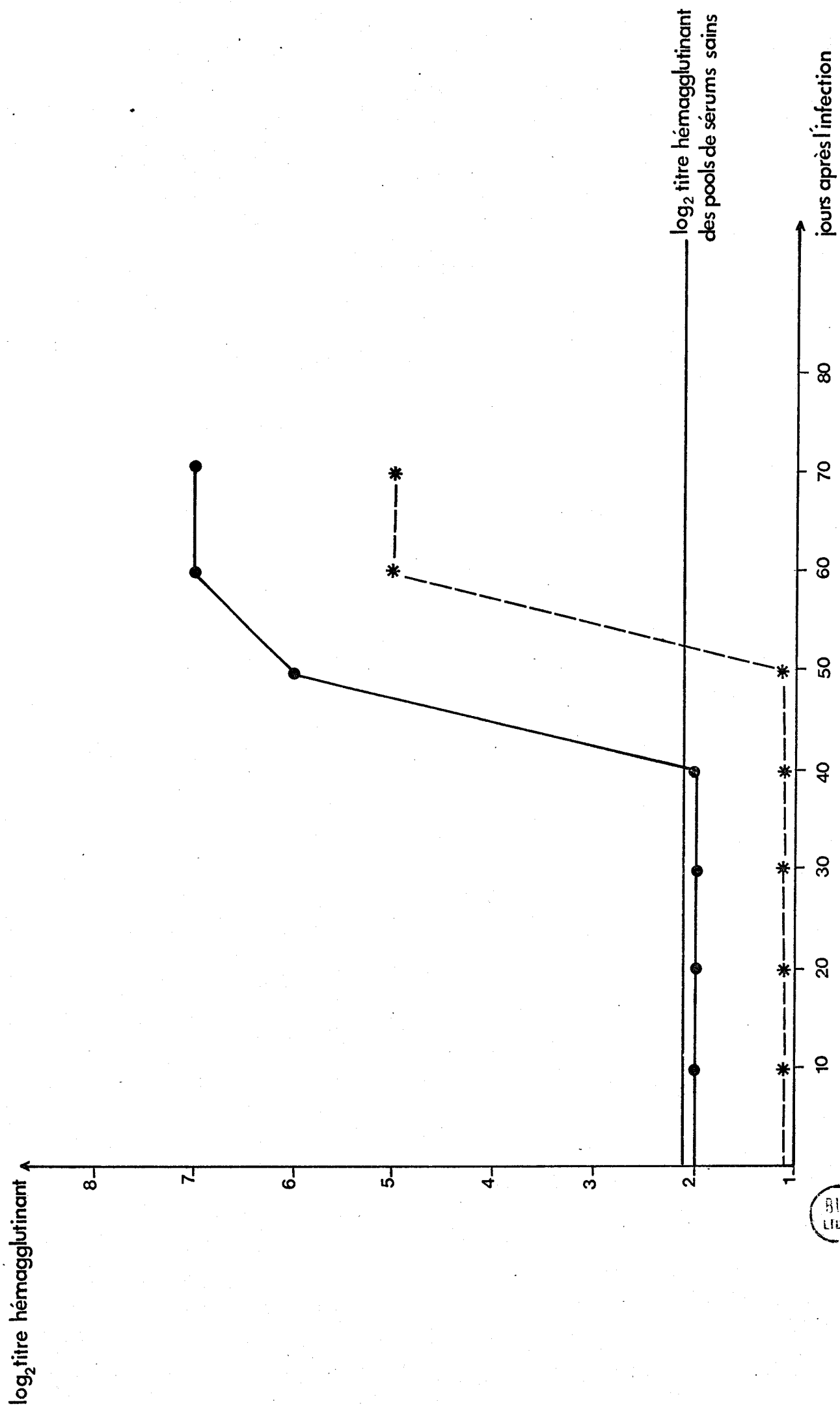


Figure 1bis : Activité anti foie ●—● et anti S. mansoni *—* des pools de sérums de souris CBA en fonction du temps d'infection.

La production conjointe d'anticorps anti-foie et anti-S. mansoni a donc été observée chez deux souches de souris infectées par deux doses différentes de furcocercaires à la 7ème semaine d'infection environ, période correspondant biologiquement à la maturation des schistosomes.

3.1.1.2. Spécificité des anticorps anti-foie

Des anticorps dirigés contre un extrait d'organe hétérologue, le foie humain, ayant été mis en évidence dans le sérum des souris parasitées par S. mansoni, il nous est apparu nécessaire d'étudier leur spécificité. Dans ce but, un pool de sérums de souris prélevé au maximum des anticorps anti-foie (55 jours) est absorbé en phase liquide par :

- un extrait de foie de souris syngénique afin de préciser s'il s'agit d'auto-anticorps ;
- un extrait de S. mansoni pour envisager l'éventuel rôle, dans cette réponse humorale auto-immune, des composants antigéniques communs au parasite et à son hôte.

Le titre en anticorps anti-foie humain du pool de sérum utilisé est initialement de 1/128. Après absorption par un extrait lyophilisé de foie de souris C57black (20 mg/ml), ce titre chute à 1/16 (tableau 2).

La seconde épreuve d'absorption réalisée à l'aide d'antigène soluble de S. mansoni (20 mg/ml) montre que les anticorps anti-foie ne sont pas absorbés de façon significative par l'extrait de schistosome. Les contrôles d'absorption sont également portés dans le tableau 2.

Ainsi, malgré les communautés antigéniques existant entre le parasite et son hôte, les anticorps anti-foie

Sérum	Inverse du titre hémagglutinant	
	anti-foie humain	anti- <u>S. mansoni</u>
Pool de sérum J.55	128	64
Pool de sérum J.55 absorbé par l'antigène foie de souris	16	32
Pool de sérum J.55 absorbé par l'antigène <u>S. mansoni</u>	64 à 128	4

TABLEAU 2 : SPECIFICITE DES ANTICORPS ANTI-FOIE MIS
EN EVIDENCE DANS LES SERUMS DE SOURIS
INFECTEES PAR S. MANSONI.



ne semblent pas représenter une réponse à des déterminants antigéniques parasitaires. D'autre part, l'absorption par un extrait de foie de souris C57 permet de leur attribuer le nom d'auto-anticorps (les auto-anticorps anti-foie ne sont pas spécifiques d'espèce).

3.1.1.3. Discussion

Les auto-anticorps dirigés contre différents extraits d'organes ont été recherchés dans les sérums de souris infectées par différentes techniques.

La technique de double diffusion en gel (OUCHTERLONY, 1958) s'est révélée trop peu sensible pour révéler la présence d'auto-anticorps dirigés contre des extraits antigéniques d'organes.

Une technique d'hémagglutination passive plus sensible a donc été utilisée. Des extraits d'organes syngéniques (foie, rein, poumon, coeur, intestin) ont entraîné une agglutination spontanée des hématies. Ce phénomène a été décrit par plusieurs auteurs (DANIEL et Coll., 1963 ; EIDINGER, 1964). Par contre, nous avons pu mettre en évidence des anticorps dirigés contre un extrait de foie humain. Ces anticorps anti-foie apparaissent 45 jours après l'infection et se maintiennent à un taux supérieur à celui des témoins pendant 85 jours. Il serait intéressant de préciser s'ils persistent dans le sérum des animaux au cours d'infections chroniques mais en raison de l'importante mortalité des souris infectées, l'expérience n'a pu être prolongée au delà de 85 jours.

En ce qui concerne la spécificité des anticorps anti-foie, nous avons pu montrer qu'ils réagissaient contre un déterminant antigénique commun au foie humain et au foie de souris. L'absorption par un extrait de foie de souris syngénique permet de les considérer comme des auto-anticorps non spécifiques d'espèce.

Aucun auto-anticorps n'a été décrit jusqu'à maintenant au cours de la schistosomiase de la souris. Chez le lapin et chez l'homme infectés par S. japonicum, des auto-anticorps anti-foie et anti-poumon ont été mis en évidence (SHAMMA et Coll., 1965 ; KURATA et NODA, 1965 ; KURATA, 1966 ; JONES C.E. et Coll., 1976). Des auto-anticorps de spécificité différente, anti-DNA chez le hamster (HILLYER, 1971), facteurs rhumatoïdes chez le singe (WISTAR et Coll., 1975) ont également été retrouvés lors d'infections par le schistosome. Des essais préliminaires ne nous ont pas permis de retrouver ce type d'auto-anticorps dans les sérums de souris infectées.

Quelque soit l'hôte expérimental étudié, les auto-anticorps apparaissent au moment où se développe la réponse humorale dirigée spécifiquement contre le parasite. Chez la souris infectée, les auto-anticorps anti-foie apparaissent vers 45 - 50 jours, légèrement plus tôt que les anticorps dirigés contre un extrait de schistosomes adultes. C'est à cette période que les vers deviennent matures, libèrent des oeufs et des produits d'excrétion qui représentent des stimuli antigéniques importants. Plusieurs auteurs ont retrouvé des anticorps spécifiques de divers extraits parasitaires (TRIBOULEY, 1969 ; COLLEY, 1975 ; BOROS et Coll., 1975). Parallèlement, EVANS et STIREWALT (1957) et HILLYER et FRICK (1967) observent une modification de la composition des protéines sériques et notamment une augmentation du taux des Y globulines à partir de 6 semaines d'infection. FREEMAN et Coll. (1970) ont pu montrer que, chez le singe, les anticorps anti-S. mansoni ne représentent que 5 % des IgG sériques. Les auto-anticorps anti-foie pourraient donc également contribuer à l'élévation du taux global des immunoglobulines sériques.

Les mécanismes déterminant l'apparition de ces auto-anticorps sont encore inconnus et de nombreuses hypothèses peuvent être formulées :

- La présence de communautés antigéniques entre le schistosome et divers extraits hépatiques a été démontrée par DAMIAN (1964), CAPRON et Coll. (1965 - 1968). DAMIAN (1967) montre que le sérum d'un lapin immunisé par un extrait de schistosomes donne plusieurs arcs de précipitation lorsqu'il est testé contre du sérum de souris. Les auto-anticorps anti-foie pourraient être synthétisés en réponse à des déterminants antigéniques portés par le schistosome adulte et présentant des similitudes avec un antigène autologue de la souris. Le fait que les auto-anticorps anti-foie ne puissent pas être absorbés même partiellement par un extrait antigénique de vers adultes ne semble pas en faveur de cette hypothèse. Cependant, il n'est pas exclu que des antigènes présentant des déterminants communs avec le foie soient faiblement représentés dans un broyat de schistosomes adultes mais soient excrétés par les vers en grande quantité dans l'organisme où ils pourraient représenter un stimulus antigénique important.
- Les auto-anticorps anti-foie apparaissent au moment où les schistosomes sont matures et où les femelles commencent à pondre. Les oeufs se logent alors dans différents organes mais spécialement dans le foie où ils provoquent des lésions granulomateuses (WARREN et Coll., 1967). L'altération des antigènes hépatiques provoquée par la présence des oeufs et des vers peut conduire à une rupture de tolérance envers les antigènes autologues et à l'apparition d'anticorps dirigés contre les déterminants modifiés et réagissant avec les déterminants intacts (ALLISON, 1973).

Il faut souligner qu'aucune rupture de tolérance envers les antigènes du foie de souris au niveau des cellules T n'a pu être observée : nous avons, en effet, pratiqué un test de transformation blastique en mettant en présence des cellules spléniques de souris infectées depuis 25, 41, 48, 55, 62, 69 jours et de l'antigène extrait de foie de souris (à des doses de 15, 30, 60 µg/ml). Aucune stimulation des cellules cultivées en présence d'antigène de foie n'a été observée. CARLIER et Coll. (1976) ont mis en évidence, chez certains patients atteints de forme hépatosplénique de schistosomiase, une réaction d'hypersensibilité cutanée à un extrait de foie. Aucune corrélation n'a pu être faite avec la présence d'auto-anticorps. Chez la souris, et dans la limite de nos conditions expérimentales, il ne semble donc pas exister d'hypersensibilité cellulaire dirigée contre un extrait hépatique.

Les souris infectées par S. mansoni développent donc des auto-anticorps circulants anti-foie alors que l'existence de cellules sensibilisées à un extrait de foie n'a pu être mise en évidence.

- La troisième hypothèse invoquée pour expliquer la présence d'auto-anticorps au cours de l'infection de la souris par S. mansoni est celle d'un dérèglement du contrôle des cellules B. La schistosomiase s'accompagne comme bien d'autres parasitoses, d'une augmentation globale des immunoglobulines sériques. Chez la souris, on observe que les taux des IgG1, IgG2 et des IgM sont augmentés (HILLYER et FRICK, 1967). Certaines de ces immunoglobulines sont synthétisées en réponse à des stimuli antigéniques parasitaires mais la majeure partie a une spécificité encore inconnue. On peut envisager que des immunoglobulines synthétisées de façon anarchique aient des spécificités auto-anticorpales (ALLISON et Coll., 1971).

Le mécanisme selon lequel le contrôle des cellules immunocompétentes pourrait être altéré au cours de l'infection sera discuté ultérieurement.

En conclusion, nous avons pu mettre en évidence au cours de la schistosomiase de la souris, un auto-anticorps dont le rôle pathogène n'a pas été envisagé. Cet auto-anticorps n'est pas spécifique d'espèce et apparaît au moment où les immunoglobulines totales et spécifiques du parasite augmentent dans le sérum des animaux infectés.

La présence d'auto-anticorps anti-foie ne pouvant être absorbés par un extrait antigénique de schistosomes, nous a conduit à penser que les communautés antigéniques hôte-parasite ne semblaient pas être à l'origine de la production d'auto-anticorps. De plus, nos observations qui mettent en évidence des auto-anticorps en l'absence de phénomènes d'auto-immunité à médiation cellulaire ainsi que l'accroissement des immunoglobulines sériques totales observé par d'autres auteurs (HILLYER et FRICK, 1967), évoquaient un dysfonctionnement du système immunitaire aboutissant à une synthèse incontrôlée d'immunoglobulines et d'auto-anticorps par les cellules B. D'autre part, plusieurs observations soulignaient que le parasitisme à S. mansoni facilitait les infections secondaires par des bactéries et d'autre parasites (YOELI, 1956 ; KLOETZEL et Coll., 1973 ; COLLINS et Coll., 1972) ainsi que la prise de greffes tumorales (CAPRON et Coll., 1972). Ces résultats incitaient à penser que l'immunité cellulaire de la souris était perturbée par le parasite.

Une étude de la réactivité des lymphocytes T et B au cours de l'infection a donc été entreprise : des cellules spléniques prélevées à différents moments de l'infection ont été cultivées en présence de mitogènes T (PHA) ou B (LPS) afin d'apprécier la réponse proliférative des lymphocytes.

3.1.2. REPOSE DES CELLULES SPLENIQUES AUX MITOGENES T et B

Les splénocytes de souris ont été cultivés en présence de lipopolysaccharide (LPS) mitogène B et de phyto-hémagglutinine (PHA) mitogène T (ANDERSSON et Coll., 1972 ;

GREAVES et JANOSSY, 1972) à différents moments de l'infection. Nous avons apprécié l'incorporation de thymidine méthylée marquée au tritium (^3H -THY) au bout de 72 heures de culture.

Deux lots de 45 souris C57 Black femelles pesant 18 à 22 grammes ont été utilisés. Un lot a été infecté par 70 furcocercaires de Schistosoma mansoni selon la méthode transabdominale (Chapitre 2.1.3.2.). Le second lot, conservé dans les mêmes conditions d'élevage à l'animalerie, sert de contrôle.

Chaque semaine, 5 souris infectées et 5 souris contrôles sont prélevées au hasard, dans chacun des lots. Après exanguination par ponction cardiaque, les rates sont prélevées et les cellules spléniques de chaque souris sont mises en culture dans des plaques de microtitration suivant la technique décrite précédemment (Chapitre 2.5.1.). Les cellules de chaque animal sont cultivées en présence de milieu de culture seul pour déterminer l'incorporation de base de thymidine tritiée par des cellules non stimulées, et en présence de mitogènes : LPS à raison de 25 μg par puits de culture, PHA à raison de 0,5 μl de solution stock par puits de culture. Chaque test est pratiqué en triple. Les cellules de chaque souris occupent donc une ligne de la plaque de microtitration et sur une même plaque alternent une ligne de cellules saines et une ligne de cellules infectées afin d'homogénéiser les conditions de culture.

Au cours de l'expérience qui a duré 9 semaines, nous avons essayé de garder constant le plus grand nombre possible de paramètres mais de nombreux facteurs (lot du milieu de culture, atmosphère de l'étuve, etc...) peuvent faire varier les conditions de culture d'une semaine à l'autre. C'est pourquoi, nous analyserons les résultats en comparant à l'intérieur d'une même expérience le lot infecté et le lot témoin. Les moyennes de l'incorporation de thymidine tritiée

par les cellules de souris saines et infectées sont comparées à l'aide d'un test t de Student. Ce test également est utilisé pour la comparaison des indices de transformation moyens.

3.1.2.1. Etude de l'incorporation de base de thymidine tritiée par les cellules saines et infectées

Au cours de l'infection, la thymidine tritiée incorporée par 5×10^5 cellules de souris infectées a été comparée à celle incorporée par 5×10^5 cellules de souris saines. Pour chaque expérience, la moyenne des impulsions par minute (ipm) incorporées par les cellules de 5 souris infectées d'une part et de 5 souris saines d'autre part, a été calculée et le rapport de ces moyennes est porté en ordonnée sur la figure 2.

L'incorporation de thymidine par les cellules d'animaux infectés depuis une semaine est augmentée, puis elle avoisine celle des cellules témoins pendant 4 semaines et réaugmente à partir de 6 semaines pour atteindre plus de trois fois celle des témoins à 9 semaines d'infection. Il faut noter qu'en fin d'expérience, le recueil des cellules a été fait à l'aide d'un appareil de filtration automatique sur des filtres en fibre de verre qui semblent diminuer l'efficacité de comptage de la radioactivité par rapport aux filtres en acétate de cellulose utilisés auparavant. Néanmoins, si en valeur absolue la quantité de thymidine tritiée incorporée par les cellules infectées à la 9ème semaine semble diminuée par rapport aux valeurs observées les semaines précédentes, elle doit être comparée à celle des cellules saines cultivées et filtrées dans les mêmes conditions (tableau 3).

3.1.2.2. Stimulation des cellules spléniques par la PHA au cours de l'infection

La synthèse de DNA des cellules infectées cultivées en présence de PHA, a été étudiée au cours de l'infection. Deux modes de présentation des résultats ont été utilisés :

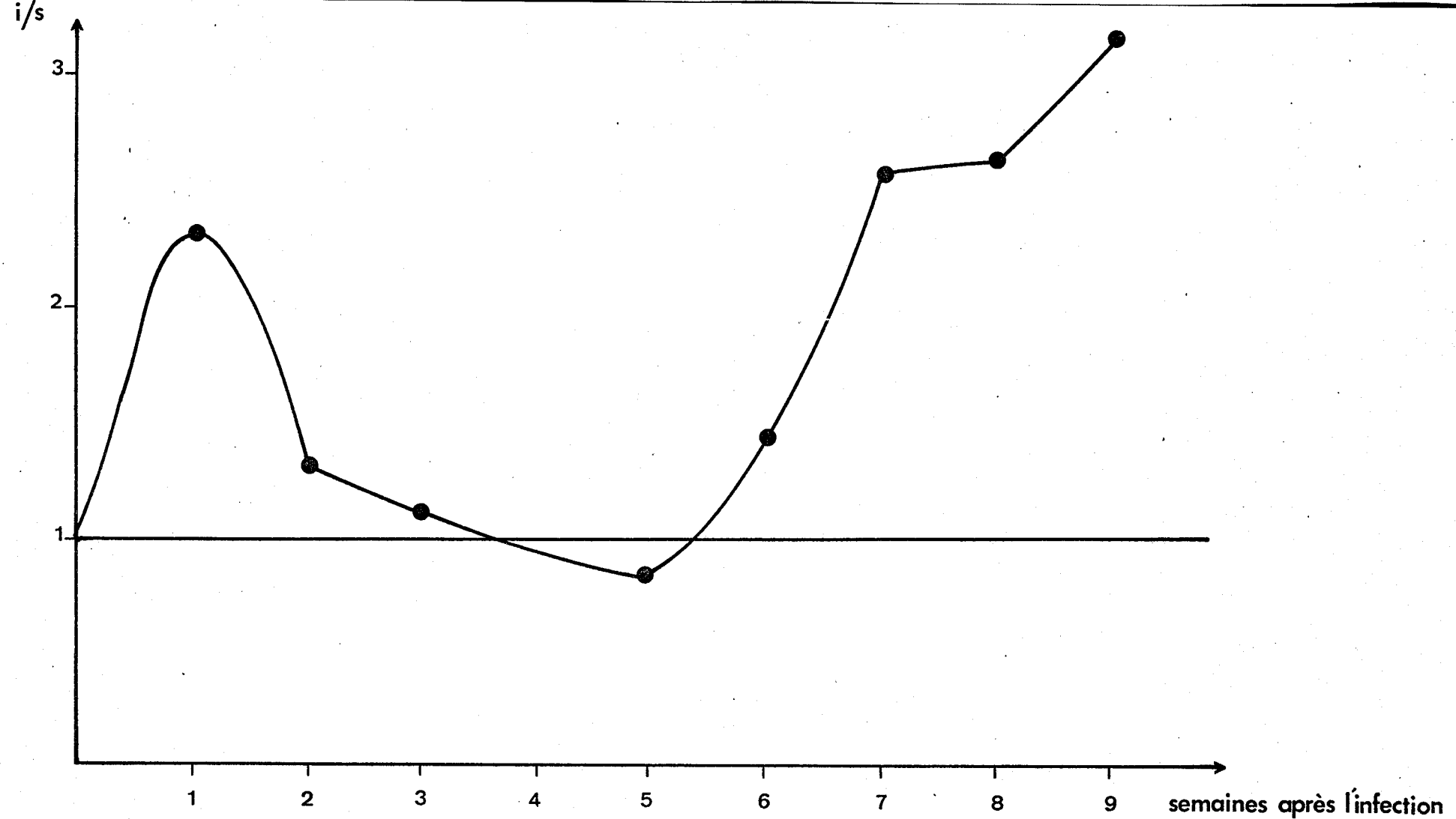


Figure 2 : Evolution de l'incorporation basale de thymidine tritiée par les splénocytes au cours de l'infection de la souris par S. mansoni.

Le i/s représente : $\frac{{}^3\text{H thymidine incorporée par } 5 \times 10^5 \text{ cellules de souris infectées}}{{}^3\text{H thymidine incorporée par } 5 \times 10^5 \text{ cellules de souris saines}}$,

l'incorporation de thymidine étant exprimée en impulsions par minute (ipm).



Semaines après l'infection	Nombre d'animaux par groupe	Incorporation d' ³ H-THY par les lymphocytes de souris		P
		saines ipm $\pm$ et	infectées ipm $\pm$ et	
1	5	2166 $\pm$ 668	5037 $\pm$ 1395	< 0,0025
2	5	1213 $\pm$ 133	1578 $\pm$ 948	> 0,05NS
3	4	1764 $\pm$ 466	1958 $\pm$ 756	> 0,05NS
4	5	NI	NI	
5	5	1137 $\pm$ 701	953 $\pm$ 441	> 0,05NS
6	5	2349 $\pm$ 1559	3327 $\pm$ 1633	> 0,05NS
7	4	758 $\pm$ 150	1994 $\pm$ 1432	< 0,05
8	5	1062 $\pm$ 530	2821 $\pm$ 1475	< 0,025
9	4	265 $\pm$ 85	847 $\pm$ 269	< 0,005

TABLEAU 3 : COMPARAISON DE L'INCORPORATION BASALE DE THYMIDINE TRITIÉE PAR DES LYMPHOCYTES DE SOURIS SAINES ET INFECTÉES PAR S. MANSONI.

L'incorporation de thymidine tritiée (³H-THY) est exprimée en impulsions par minutes (ipm) $\pm$ écart type (et) ; les moyennes d'incorporation des cellules de souris saines et infectées sont comparées à l'aide d'un test t de Student.

NS : différence non significative

NI : résultats non interprétables



- L'augmentation du nombre des mitoses cellulaires en présence de mitogène est appréciée par la différence entre l'incorporation de ^3H -THY par les cellules cultivées en présence de mitogène et l'incorporation de ^3H -THY par les cellules cultivées en absence de mitogène. Les moyennes de ces taux bruts de synthèse de DNA ont été calculées pour chaque groupe de souris infectées et chaque groupe de souris témoins correspondant. Les résultats sont indiqués dans le tableau 4.

L'incorporation de thymidine tritiée est significativement augmentée à la première semaine d'infection puis elle décroît progressivement. A partir de la sixième semaine, elle est nettement inférieure à celle des cellules témoins. Le maximum de suppression est observé à 7 semaines. La courbe tracée sur la figure 3 (*—*) représente l'évolution, au cours de l'infection, du rapport :

$$\frac{\text{accroissement } ^3\text{H-THY incorporée par les cellules de souris infectées}}{\text{accroissement } ^3\text{H-THY incorporée par les cellules de souris saines en présence de PHA.}}$$

- L'indice de transformation moyen a également été calculé pour chaque groupe d'animaux. C'est le rapport :

$$\frac{^3\text{H-THY incorporée en présence de mitogène}}{^3\text{H-THY incorporée en absence de mitogène}}$$

qui représente l'augmentation relative d'incorporation de thymidine tritiée en présence de mitogène. Les indices moyens de transformation des cellules saines et infectées sont rapportés dans le tableau 5. En début d'infection, l'indice de transformation des cellules infectées est légèrement augmenté puis à 7 semaines d'infection, on observe une diminution importante qui se poursuit jusqu'à la fin de l'expérience.

Semaines après l'infection	Nombre d'animaux par groupe	Incorporation d' ³ H-THY par les lymphocytes de souris		P
		saines ipm $\pm$ et	infectées ipm $\pm$ et	
1	5	7577 $\pm$ 6760	23533 $\pm$ 6163	< 0,005
2	5	16478 $\pm$ 6074	30370 $\pm$ 23981	> 0,05NS
3	4	19233 $\pm$ 4329	32044 $\pm$ 13921	> 0,05NS
4	5	NI	NI	
5	5	18836 $\pm$ 11626	21092 $\pm$ 11805	> 0,05NS
6	5	24565 $\pm$ 12095	11172 $\pm$ 9924	> 0,05NS
7	4	40931 $\pm$ 14998	3782 $\pm$ 4715	< 0,01
8	5	20616 $\pm$ 12233	5922 $\pm$ 1689	< 0,05
9	4	7096 $\pm$ 2104	2983 $\pm$ 2480	< 0,05

TABEAU 4 : COMPARAISON DE LA STIMULATION PAR LA PHA DE LYMPHOCYTES DE SOURIS SAINES ET INFECTÉES PAR S. MANSONI.

L'incorporation de thymidine tritiée (³H-THY) est exprimée en impulsions par minute (ipm) $\pm$ écart type (et) ; les moyennes d'incorporation des cellules de souris saines et infectées sont comparées à l'aide d'un test t de Student.

NS : différence non significative
NI : résultats non interprétables

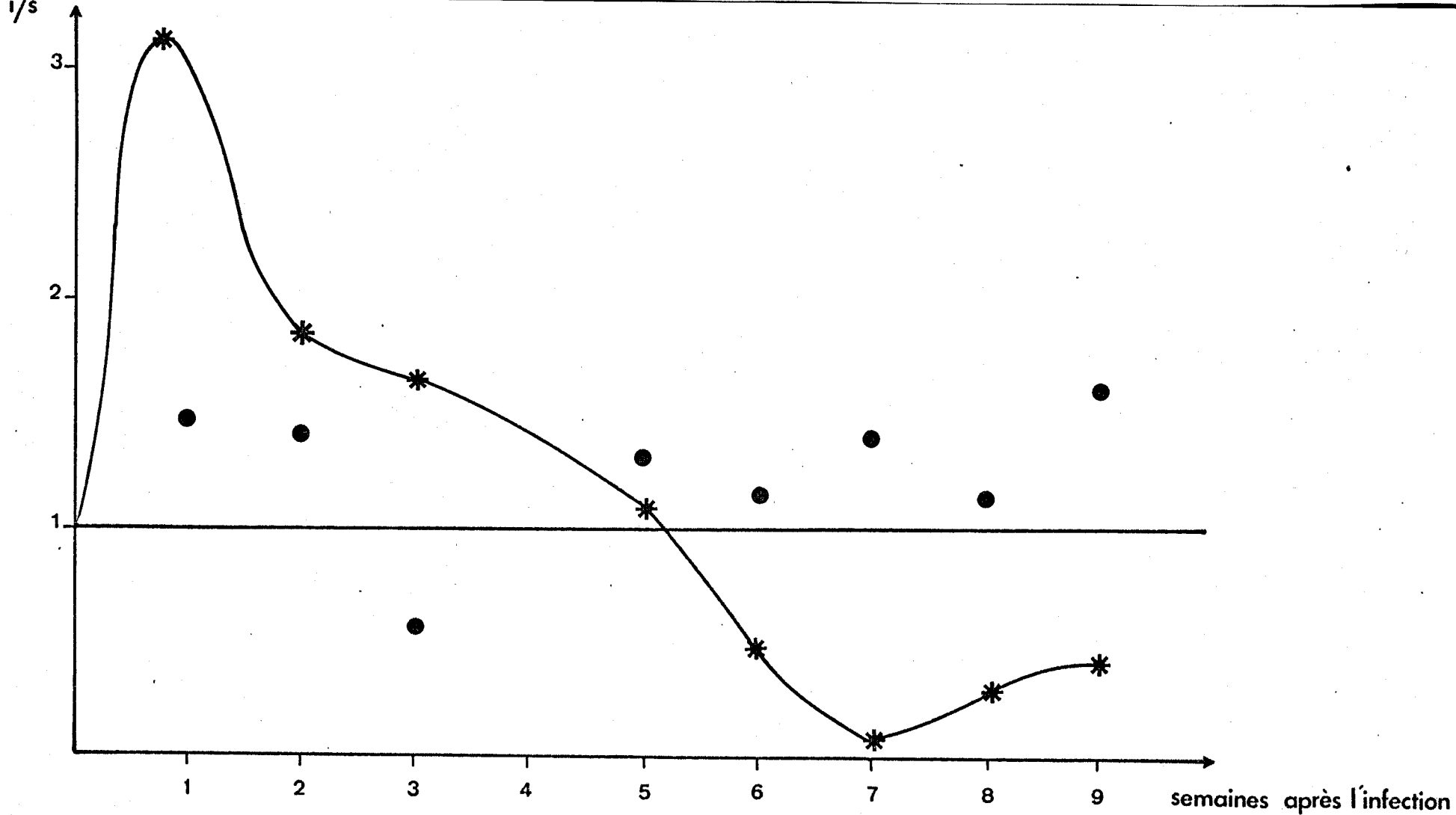


Figure 3 : Stimulation par la PHA *—* et le LPS ●—● de splénocytes de souris infectées par S. mansoni

Le rapport i/s représente : $\frac{\text{accroissement de } ^3\text{H-thymidine incorporée par } 5 \times 10^5 \text{ cellules de souris infectées}}{\text{accroissement de } ^3\text{H-thymidine incorporée par } 5 \times 10^5 \text{ cellules de souris saines}}$,
en présence de PHA ou de LPS.

Semaines après l'infection	Nombre d'animaux par groupe	Indice moyen de stimulation par la PHA $\pm$ et			Indice moyen de stimulation par le LPS $\pm$ et		
		Lc de souris saines	Lc de souris infectées	P	Lc de souris saines	Lc de souris infectées	P
1	5	4,36 $\pm$ 2,01	5,95 $\pm$ 1,75	$>0,05$ NS	10,25 $\pm$ 2,32	6,82 $\pm$ 2,98	$>0,05$ NS
2	5	14,82 $\pm$ 6,10	23,24 $\pm$ 21,29	$>0,05$ NS	23,93 $\pm$ 4,81	31,03 $\pm$ 13,59	$>0,05$ NS
3	4	11,99 $\pm$ 0,99	16,68 $\pm$ 13,20	$>0,05$ NS	21,95 $\pm$ 9,66	9,70 $\pm$ 6,81	$>0,05$ NS
4	5	NI	NI		NI	NI	
5	5	14,91 $\pm$ 6,32	19,70 $\pm$ 6,62	$>0,05$ NS	24,07 $\pm$ 24,92	24,34 $\pm$ 16,40	$>0,05$ NS
6	5	6,60 $\pm$ 5,17	5,15 $\pm$ 6,44	$>0,05$ NS	6,40 $\pm$ 0,79	6,98 $\pm$ 2,78	$>0,05$ NS
7	4	54,13 $\pm$ 9,78	1,99 $\pm$ 1,03	$<0,001$	20,57 $\pm$ 10,37	11,89 $\pm$ 0,88	$>0,05$ NS
8	5	18,85 $\pm$ 8,20	3,76 $\pm$ 1,66	$<0,01$	14,12 $\pm$ 9,03	6,08 $\pm$ 1,84	$>0,05$ NS
9	4	24,27 $\pm$ 6,17	7,06 $\pm$ 4,64	$<0,001$	40,50 $\pm$ 6,52	19,61 $\pm$ 4,28	$<0,001$

TABEAU 5 : COMPARAISON DES INDICES DE TRANSFORMATION EN PRESENCE DE PHA et DE LPS, DE LYMPHOCYTES DE SOURIS SAINES ET INFECTÉES PAR S. MANSONI.

L'indice de transformation représente le rapport $\frac{\text{thymidine tritiée } (^3\text{H-THY}) \text{ incorporée en présence de mitogène}}{\text{thymidine tritiée } (^3\text{H-THY}) \text{ incorporée en absence de mitogène}}$

Les indices de transformation moyens des cellules de souris saines et infectées sont comparés à l'aide, d'un test t de Student.

Lc : lymphocytes

NS : différence non significative

NI : résultats non interprétables

Il ressort de cette étude que la réponse des cellules spléniques à la PHA varie au cours de l'infection et passe par deux phases :

- au cours des trois premières semaines, les cellules de souris infectées répondent plus fortement à la PHA que les cellules saines ;
- à partir de 6 - 7 semaines s'installe au contraire une phase de dépression de la réponse à la PHA comme le montrent à la fois la mesure du taux brut de synthèse de DNA et l'indice de transformation.

3.1.2.3. Stimulation des cellules spléniques par le LPS au cours de l'infection

Parallèlement à l'expérience précédente, nous avons étudié la réponse des cellules infectées à un mitogène spécifique des cellules B, le LPS.

Le tableau 6 représente l'augmentation d'incorporation de thymidine tritiée par les cellules de souris infectées et par les cellules témoins cultivées en présence de LPS. Le LPS provoque une stimulation à peu près constante au cours des 9 semaines d'infection et on observe que le rapport :

$$\frac{\text{accroissement } ^3\text{H-THY incorporée par les cellules de souris infectées}}{\text{accroissement } ^3\text{H-THY incorporée par les cellules de souris saines}}$$

est toujours voisin de 1 (figure 3 : ●).

Par contre, la comparaison des indices de transformation met en évidence une diminution apparente de la réponse des cellules infectées au LPS à la fin de l'infection. Alors que la radioactivité incorporée en présence de LPS par les cellules saines et infectées est à peu près identique en valeur

Semaines après l'infection	Nombre d'animaux par groupe	Incorporation d' ³ H-THY par les lymphocytes de souris		P
		saines ipm $\pm$ et	infectées ipm $\pm$ et	
1	5	19743 $\pm$ 7855	28811 $\pm$ 16075	>0,05NS
2	5	28083 $\pm$ 7657	39252 $\pm$ 11574	>0,05NS
3	4	34593 $\pm$ 12738	18897 $\pm$ 9003	>0,05NS
4	5	NI	NI	
5	5	15006 $\pm$ 4225	19251 $\pm$ 10289	>0,05NS
6	5	14656 $\pm$ 7857	16817 $\pm$ 5284	>0,05NS
7	4	14354 $\pm$ 5187	20421 $\pm$ 3869	>0,05NS
8	5	11147 $\pm$ 5084	12900 $\pm$ 3892	>0,05NS
9	4	10535 $\pm$ 4407	17003 $\pm$ 16946	>0,05NS

TABEAU 6 : COMPARAISON DE LA STIMULATION PAR LE LPS DE LYMPHOCYTES DE SOURIS SAINES ET INFECTÉES PAR S. MANSONI.

L'incorporation de thymidine (³H-THY) est exprimée en impulsions par minutes (ipm) $\pm$ écart type (et) ; les moyennes d'incorporation des cellules de souris saines et infectées sont comparées à l'aide d'un test t de Student.

NS : différence non significative

NI : résultats non interprétables

absolue, l'incorporation de base des cellules infectées est nettement supérieure à celle des cellules saines à la 9ème semaine d'infection. Le mode de calcul utilisé entraîne donc une diminution de l'indice de transformation.

3.1.2.4. Discussion

L'étude de la réponse des cellules spléniques de souris infectées aux stimuli non spécifiques que sont les mitogènes, nous a permis d'apprécier la réactivité lymphocytaire B et T au cours des 9 premières semaines d'infection par S. mansoni. En analysant les figures 2 et 3, nous pouvons mettre en évidence deux périodes au cours desquelles la réactivité lymphocytaire est modifiée :

- Phase précoce de l'infection

Au tout début de l'infection et surtout au cours de la première semaine, la synthèse accrue de DNA par les cellules spléniques cultivées en l'absence de toute stimulation reflète une hyperréactivité cellulaire. Le système immunologique de la souris est en effet soumis à une première invasion par les antigènes issus des schistosomules. Bien que nous n'ayons aucun élément permettant d'affirmer la nature B ou T des lymphocytes responsables de cette augmentation de synthèse, il faut noter que la courbe de réponse des lymphocytes à la PHA est parallèle à celle de l'incorporation de base à cette époque de l'infection. Aucune splénomégalie n'est encore décrite à trois semaines d'infection, mais la pénétration du parasite dans l'organisme peut entraîner des modifications de la répartition, dans les organes lymphoïdes, de la sous-population de lymphocytes susceptibles d'être activés par la PHA. L'augmentation de la réactivité lymphocytaire T aspécifique, coïncide avec l'augmentation de l'effet helper

dirigé contre des schistosomules couplés au DNP décrit par RAMALHO-PINTO et Coll. (1976a). Les observations de GERSHON et Coll. (1974) sur la réponse in vitro à la PHA de lymphocytes préalablement stimulés in vivo par un antigène, montrent que la réactivité à la PHA est augmentée pendant les deux premiers jours suivant l'immunisation. Cette situation expérimentale pourrait être envisagée dans la première phase de l'infection qui correspond à la transformation rapide de la cercaire en schistosomule puis en ver adulte et à la libération dans l'organisme de divers antigènes spécifiques de stade.

- Phase tardive de l'infection

A partir de la 6ème semaine, les courbes d'incorporation de base, et de stimulation par la PHA des cellules infectées ont une allure opposée.

Après avoir rejoint le niveau d'incorporation de base des cellules saines pendant les 3ème, 4ème, 5ème semaines d'infection, les cellules infectées sont de nouveau le siège d'une augmentation de synthèse basale de DNA. Chez la souris, la 6ème semaine d'infection correspond au moment où les vers devenus adultes commencent à pondre des oeufs qui se logent dans différents organes mais principalement dans le foie. DEWITT et WARREN (1959) observent une hypertrophie splénique mais aucune étude histologique des cellules lymphoïdes présentes dans la rate à ce moment n'a été faite. La synthèse d'immunoglobulines spécifiques ou non des antigènes de schistosome débute activement. L'augmentation de l'incorporation de base des cellules de souris infectées pourrait donc être due aux cellules B, qui, in vivo, s'engagent dans une activation et une multiplication aboutissant à la formation de plasmocytes qui synthétisent les anticorps.

La réactivité au LPS des cellules de souris infectées reste constante et à peu près identique à celle des cellules témoins tout au long de l'infection. Si la synthèse d'immunoglobulines est très active in vivo à partir de 6 semaines, la réponse des cellules B au LPS in vitro reste inchangée. Il faut signaler que nous avons testé la réactivité des cellules spléniques B à une seule dose de LPS qui nous paraissait être optimale pour des cellules de souris non infectées. Si les cellules B sont déjà le siège d'une activation in vivo, la concentration de LPS utilisée in vitro n'est peut être pas optimale pour mettre en évidence une augmentation de la réactivité des cellules B. En effet, MOLLER (1970) a montré que l'action simultanée de deux mitogènes à des doses optimales pouvait résulter en une absence de stimulation.

La réponse des cellules T à la PHA est nettement déprimée pendant la phase tardive de l'infection. Les résultats sont en accord avec ceux de PELLELY et Coll. (1976) qui montrent une dépression de la réponse à la Con A et à la PHA des lymphocytes de souris subissant une infection chronique. D'après ces auteurs, cette phase se poursuit jusqu'à 20 semaines d'infection. La fonction helper des cellules T est également diminuée comme l'ont montré RAMALHO-PINTO et Coll. (1976a). La diminution de la réponse des cellules spléniques à la PHA peut être causée par une diminution du nombre des petits lymphocytes susceptibles d'être recrutés par la PHA, ou bien par une hyporéactivité de ces cellules. Au cours de la trichinose expérimentale de la souris, JONES J.F. et Coll. (1976) montrent un accroissement de la proportion des grands lymphocytes et des cellules blastoïdes alors que le nombre des petits lymphocytes est diminué ; une diminution concomitante de la réactivité des lymphocytes spléniques à la PHA est observée tandis que la réponse au LPS n'est pas affectée.

Divers mécanismes peuvent être proposés pour expliquer la diminution de réactivité des cellules T au cours de l'infection.

Le schistosome peut agir directement sur la réponse immunitaire de l'hôte en libérant des facteurs modulateurs de la réponse immune. Ainsi, il a été montré au laboratoire qu'un extrait dialysable des produits d'incubation du schistosome adulte, empêchait la réponse de lymphocytes normaux à une stimulation aspécifique par des mitogènes (DESSAINT et Coll., 1976).

L'infection peut, d'autre part, entraîner des modifications de l'équilibre de la réponse immunitaire de l'hôte. On assiste en effet à partir de la 6ème semaine d'infection à une dépression de l'immunité cellulaire T mais parallèlement l'organisme de l'hôte commence à synthétiser activement des anticorps spécifiques ou non du parasite. Cette situation peut faire penser à un phénomène de déviation immune (ASHERSON, 1967), le parasite étant capable de favoriser la synthèse d'anticorps aux dépens de la réponse cellulaire. Différents instruments de la réponse immune peuvent bloquer la réactivité des cellules T : les anticorps libres ou complexés à des antigènes sont capables de paralyser les fonctions T au niveau de l'induction de la réponse immune (HELLSTROM et HELLSTROM, 1974). Il faut noter que les immuns complexes circulants sont détectés dans le sérum des souris infectées à partir de 6 à 7 semaines (SANTORO et Coll., 1976) et peuvent donc jouer un rôle régulateur de la réponse immune de l'hôte. La 6ème semaine est d'autre part la période de la ponte des oeufs, et le système immunologique de l'hôte est capable de répondre à une invasion massive d'antigènes nouveaux par la production d'une population de cellules T suppressives. Ces cellules induites par un stimulus antigénique spécifique agissent en supprimant non spécifiquement les fonctions des cellules T par l'intermédiaire de médiateurs solubles (WAKSMAN, 1977).

En conclusion, nous avons pu mettre en évidence des modifications de la réactivité des cellules lymphoïdes aux mitogènes au cours de l'infection. Tandis que la stimulation des cellules par le LPS semble rester constante pendant la période d'infection étudiée, les cellules T ont une réponse augmentée à la PHA en début d'infection puis on observe une phase de dépression à partir de la 6ème semaine.

La réactivité diminuée à la PHA des splénocytes de souris infectées depuis plus de 6 semaines, ainsi que l'apparition d'auto-anticorps au même moment évoquaient la situation immunologique observée chez la souris NZB qui présente un défaut des cellules T (MONIER et SEPETJIAN, 1974). Chez ces souris, la réponse anticorps à un antigène thymoindépendant qui stimule directement les cellules B en l'absence de toute fonction T helper a permis de mettre en évidence une hypersécrétion d'anticorps par les cellules B (BACH et NIAUDET, 1976). Les auteurs pensent que ce fait a pour cause une altération des fonctions T suppressives qui n'exercent plus leur rôle régulateur sur la réponse immune. Il nous a donc semblé intéressant d'étudier au cours de l'infection de la souris par S. mansoni, la réponse anticorps à un antigène thymoindépendant, le polyvinylpyrrolidone (PVP), afin d'apprécier la capacité des cellules B à synthétiser des anticorps.

3.1.3. REPOSE ANTICORPS AU POLYVINYLPYRROLIDONE (PVP)

Nous avons étudié la fonction de synthèse d'anticorps des cellules B au cours de l'infection par S. mansoni en immunisant des souris par un antigène thymoindépendant, le polyvinylpyrrolidone, à différents temps d'infection.

3.1.3.1. Réponse au PVP en fonction du temps d'infection

Deux lots de souris C57 Black, femelles, pesant 18 à 22 grammes ont été utilisés. Un lot a été infecté par 70 furcocercaires de S. mansoni par la méthode transabdominale. Le second lot, conservé dans les mêmes conditions d'animalerie n'a pas été infecté. A différents temps après l'infection, 5 souris infectées et 5 souris saines sont prélevées au hasard dans chacun des lots et reçoivent 0,25 µg de polyvinylpyrrolidone (PVP K₉₀ - FLUKA ; Poids moléculaire : 360 000) par injection intraveineuse dans une veine caudale. Une semaine après l'immunisation, les animaux sont saignés à blanc par ponction cardiaque. Les sérums sont stockés à -20°C.

Une méthode radioimmunométrique décrite précédemment (Chapitre 2.4.) permet de doser les anticorps anti-PVP dans les différents sérums.

Trois dilutions (1/2 ; 1/4 ; 1/8) sont pratiquées sur chaque sérum et le pourcentage de ¹²⁵I-PVP précipité est déterminé pour chaque dilution de sérum. Un ordinateur (WANG) calcule l'équation de la droite de régression :
 $\% \text{ } ^{125}\text{I-PVP lié} = f(\text{dilution})$ par la méthode des moindres carrés, ce qui permet d'estimer la dilution de chaque sérum liant 33 % de ¹²⁵I-PVP. L' "antigen binding capacity" (ABC) qui représente la quantité d'¹²⁵I-PVP liée par un millilitre de sérum pur est ensuite calculée. L'ABC est exprimée en ng/ml.

Chaque sérum est testé deux fois au cours d'une même série de dosage, ce qui permet de vérifier la reproductibilité intrasérie du dosage, sauf dans les cas où la quantité de sérum recueillie est insuffisante. Dans chaque série de dosage, un sérum dosé dans une série précédente est dosé une nouvelle fois pour vérifier la reproductibilité intersérie. Le coefficient de variation entre deux dosages d'un même sérum effectués dans une même série ou entre deux dosages d'un même sérum effectués au cours de deux séries différentes n'excède jamais 7 %.

Un sérum de souris saine, non immunisée, est testé au cours de chaque série de dosage. L'ABC de ce sérum n'excède jamais 5 ng/ml. Cette valeur qui représente la quantité d' ^{125}I -PVP précipitée non spécifiquement en présence de sérum de souris saines, est considérée comme négligeable et n'est pas retranchée des ABC des sérums immuns.

Dans le tableau 7, sont portés les moyennes et les écarts types des ABC de chaque groupe de sérums immuns infectés et de chaque groupe de sérums immuns sains correspondants.

On observe que la réponse anticorps des différents groupes de souris saines immunisées par du PVP est assez dispersée (valeurs extrêmes : 149 ng - 380 ng). Il faut noter que la solution de PVP K₉₀ immunisante est préparée extemporanément lors de chaque immunisation à partir d'une solution stock à 5 mg/ml. L'erreur de dilution commise peut avoir une grosse influence sur la quantité d'anticorps produite. Cependant, à un jour donné, souris infectées et souris saines sont immunisées avec la même solution de PVP. Nous avons donc comparé à chaque immunisation, l'ABC moyenne des sérums de souris infectées et de souris saines à l'aide d'un test t de Student.

La réponse anticorps produite sept jours après l'injection de PVP est significativement augmentée chez les souris immunisées à 44, 49, 56 jours d'infection. La réponse des souris infectées depuis 15 jours est également significativement augmentée mais à ce jour la réponse des souris saines est particulièrement faible. La courbe représentant les réponses anticorps anti-PVP des souris immunisées à différents temps d'infection (●—●) suit la courbe de réponse des souris témoins (*—*) jusqu'à J39 (Figure 4). Puis la production d'anticorps anti-PVP est augmentée chez les souris infectées et atteint un pic lorsque l'injection de PVP est faite à 49 jours d'infection. A 56 jours, la réponse anti-PVP est moins forte qu'à 49 jours mais reste encore très significativement différente de la réponse des souris témoins.

jour d'infection auquel est injecté le PVP	Sérums de souris saines		Sérums de souris infectées		P
	effectif	ABC ng/ml et	effectif	ABC ng/ml et	
1	9	380 $\pm$ 117	10	315 $\pm$ 89	$>0,05$ NS
4	10	345 150	9	286 58	$>0,05$ NS
9	8	198 83	7	214 90	$>0,05$ NS
15	5	149 75	7	297 73	$<0,005$
22	10	232 66	10	209 59	$>0,05$ NS
30	10	219 86	10	266 110	$>0,05$ NS
39	4	316 45	4	265 88	$>0,05$ NS
44	8	209 71	8	492 200	$<0,005$
49	9	254 176	10	635 264	$<0,0025$
56	6	198 87	10	417 182	$<0,01$

**TABEAU 7 : REPOSE ANTICORPS ANTI-PVP, 7 JOURS APRES L'IMMUNISATION PAR LE PVP,
DE SOURIS SAINES OU INFECTÉES PAR S. MANSONI.**

ABC : "antigen binding capacity" représente la quantité de PVP radiomarké lié par un ml de sérum pur.

L'ABC moyenne de chaque groupe de sérums est exprimée en ng/ml $\pm$ écart type (et) ; les ABC moyennes des sérums de souris saines ou infectées sont comparées à l'aide d'un test t de Student.

NS : différence non significative.



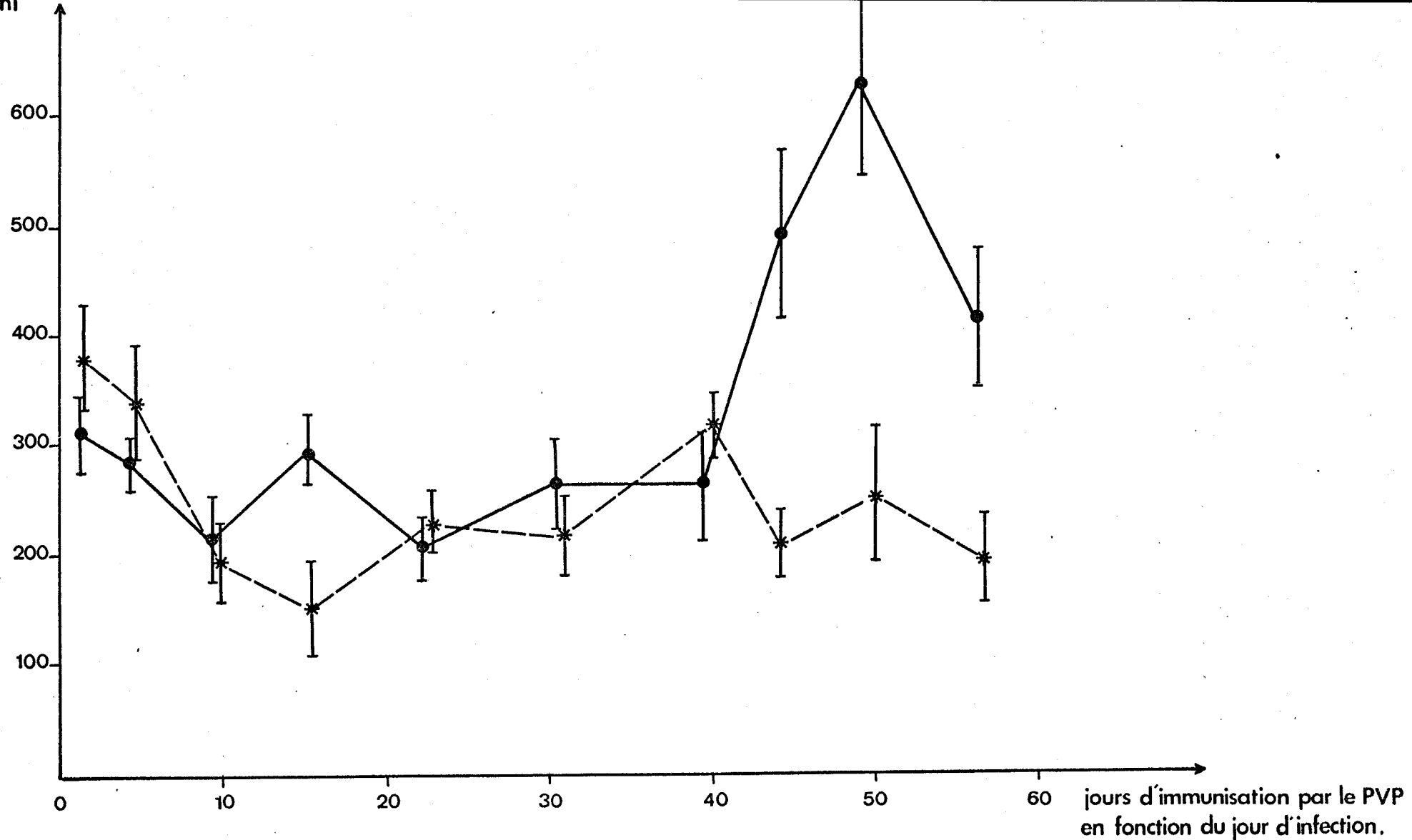


Figure 4 : Evolution de "l'antigen binding capacity" (ABC) des sérums de souris saines *—* ou infectées par *S. mansoni* ●—● et immunisées par le PVP.

l'ABC moyenne de chaque groupe de sérum au jour 7 après l'immunisation par le PVP est exprimée en ng/ml $\pm$ écart type à la moyenne.

3.1.3.2. Discussion

L'immunisation par du PVP, de souris infectées par S. mansoni, à différents moments de l'infection, a permis l'étude de la réponse anticorps à un antigène thymoindépendant. Plusieurs auteurs ont montré que certains polymères de haut poids moléculaire naturels comme le polysaccharide de pneumocoque SIII, ou synthétiques comme le PVP, stimulent la production d'anticorps chez des souris thymectomisées, irradiées et reconstituées par des cellules de moëlle osseuse (HOWARD et Coll., 1971 ; ANDERSSON et BLOMGREN, 1971). Ces antigènes sont appelés thymoindépendants car ils induisent la production d'anticorps en l'absence de cellules T.

L'ABC des sérums de souris infectées, immunisées par le PVP est significativement augmentée lorsque l'injection de PVP est pratiquée après la 6ème semaine d'infection. L'expérience nécessitant le sacrifice des animaux après l'immunisation par le PVP, il n'a pas été possible dans un premier temps, de la poursuivre au delà de 56 jours d'infection. Néanmoins, il paraît intéressant d'étudier si l'augmentation de réponse au PVP est réversible ou se poursuit plus longtemps au cours de l'infection.

L'augmentation de l'ABC des sérums de souris infectées est due à un accroissement de la quantité ou de l'affinité des anticorps anti-PVP produits. La synthèse des anticorps anti-PVP ne nécessitant pas l'intervention de cellules T helper, la réponse accrue des souris infectées depuis plus de 6 semaines, provient donc d'une hyperréactivité des cellules B.

Jusqu'à présent, au cours de la schistosomiase expérimentale, seule la réponse à des antigènes exogènes thymodépendants avait été envisagée. Ainsi, BRITO et Coll. (1976) ont mis en évidence une dépression de la réponse

anticorps envers la toxine tétanique après 6 semaines d'infection. MOTA-SANTOS et Coll. (1976) observent une diminution du nombre des cellules formant des plages (PFC) chez des souris infectées immunisées par des globules rouges de mouton, après environ 35 jours d'infection. Lors d'une immunisation par un antigène thymodépendant, la synthèse d'anticorps appréciée aussi bien au niveau cellulaire par la méthode des PFC, que par un dosage d'anticorps circulants, met en cause deux types de lymphocytes : un lymphocyte T helper et un lymphocyte B. La dépression de la réponse anticorps peut donc résulter d'une déficience de la cellule T helper ou de la cellule B. L'augmentation de la réponse anticorps au PVP au moment où la réponse aux antigènes thymodépendants est réduite ne plaide pas en faveur d'un déficit fonctionnel des cellules B. Il semble donc que lors d'une stimulation par un antigène thymodépendant, la fonction T helper soit altérée. Il faut noter qu'au cours de la schistosomiase, d'autres fonctions des cellules T sont déprimées : WILKINS et BROWN (1977) ont observé une diminution non spécifique de l'hypersensibilité retardée cutanée et nous avons mis en évidence une réactivité diminuée des lymphocytes T aux mitogènes (Chapitre 3.1.2.2.).

A partir de la 6ème semaine d'infection, la réponse humorale à un stimulus antigénique exogène est donc très différente selon que l'antigène est thymodépendant ou thymoindépendant : les réponses anticorps nécessitant une coopération avec les cellules T sont diminuées alors qu'au contraire, la réponse au PVP qui ne met en jeu que les cellules B est augmentée.

Si la réponse à un antigène thymoindépendant ne fait pas appel à des cellules T pour synthétiser les anticorps, il faut signaler cependant, que cette synthèse est contrôlée par les cellules T (BAKER, 1975) : les cellules T "amplificatrices" peuvent exercer une régulation positive et augmenter la synthèse des anticorps, tandis que les cellules T suppressives, au contraire, sont capables d'en

limiter la production (BAKER et Coll., 1973 ; KERBEL et EIDINGER, 1972). Chez des souris infectées depuis plus de 6 semaines, l'augmentation d'activité des cellules B responsable de la production accrue des anticorps anti-PVP, peut donc avoir deux causes :

- les cellules B sont stimulées directement par un immunostimulant libéré par le parasite ;
- l'infection entraîne une modification du contrôle de la synthèse des anticorps en agissant au niveau des cellules T régulatrices.

Divers extraits parasitaires se sont révélés mitogéniques pour des cellules lymphoïdes cultivées in vitro. ESURUOSO (1976) et MANSFIELD et Coll. (1976) montrent que des extraits de Trypanosoma brucei et de Trypanosoma congolense, augmentent l'activité de synthèse de DNA de cellules lymphoïdes de souris ou de lapin. La réponse des cellules spléniques de souris "nude", dépourvues de thymus, à un extrait de T. brucei permet de penser que le trypanosome contiendrait un mitogène B. GREENWOOD et VICK (1975) démontrent l'existence d'un facteur mitogène au cours de la malaria humaine. Enfin, un extrait de vers adultes de S. mansoni potentialise la réponse aux mitogènes de lymphocytes spléniques de rat cultivés in vitro (CAPRON et Coll., 1976). Bien que nous n'ayons jusqu'à maintenant aucune évidence expérimentale, il est possible que ces substances libérées in vivo stimulent la synthèse des immunoglobulines par les cellules B. COUTHINO et MOLLER (1975) ont montré, en effet, que certaines substances comme le LPS pouvaient stimuler directement les cellules B. La libération par les schistosomes d'une substance activant directement les lymphocytes B pourrait expliquer la production accrue d'anticorps anti-PVP après 6 semaines d'infection.

La deuxième hypothèse est que le parasite interfère au niveau du contrôle de la synthèse des anticorps. Plusieurs travaux font état d'une augmentation de la production des anticorps anti-PVP dans des circonstances où les fonctions thymiques sont altérées. ROTTER et TRAININ (1974) observent une augmentation des PFC dirigées contre des globules rouges couplés au PVP chez des souris thymectomisées à l'âge adulte. L'injection de cellules thymiques ou la greffe d'un thymus restaure une réponse normale. BACH et NIAUDET (1976) montrent également une réponse élevée en anticorps anti-PVP chez les souris NZB et parviennent à diminuer partiellement cette réponse par injection de "facteur thymique". La réponse accrue au PVP, dans ces diverses situations expérimentales, provient d'une diminution de fonction des cellules T suppressives régulant la réponse à cet antigène thymoindépendant (ROTTER et TRAININ, 1974). L'atteinte de la fonction T suppressive régulant la synthèse des anticorps anti-PVP, au cours de la schistosomiase est une hypothèse qui mériterait d'être confirmée par des expériences de transfert de populations thymiques à des souris infectées.

En conclusion, l'étude de la réponse anticorps au PVP, antigène thymoindépendant, a permis la mise en évidence d'une activité accrue de la synthèse d'anticorps par les cellules B après 6 semaines d'infection. Cette observation contraste avec celle d'autres auteurs qui constatent que la réponse aux antigènes thymodépendants est déprimée au cours de la même période d'infection.

3.1.4. SYNTHESE DES RESULTATS ET COMMENTAIRES GENERAUX

L'invasion d'un organisme par un parasite est caractérisée par une stimulation du système immunitaire de l'hôte dont les conséquences peuvent paraître contradic-

toires. D'une part, l'hôte se sensibilise spécifiquement contre le parasite et élabore des instruments immuns qui tendent à l'éliminer. D'autre part, le parasite induit des modifications dans le système immunologique de l'hôte, ce qui tend à faciliter sa survie dans l'organisme. C'est ce second aspect que nous avons exploré au cours de la schistosomiase expérimentale de la souris.

Schématiquement, il ressort des expériences réalisées que la réactivité immunologique de la souris infectée par S. mansoni peut être divisée en deux périodes qui se superposent à l'évolution physiologique du ver dans l'organisme.

La première phase, débutant au moment de l'infection et se prolongeant jusqu'à la sixième semaine correspond biologiquement à l'évolution de la furcocercaire vers l'état de schistosome adulte. Au tout début de l'infection, les splénocytes de souris cultivés in vitro, se divisent très activement. De même, la réactivité des splénocytes T cultivés en présence de PHA est accrue. Aucune modification de l'activité des lymphocytes B n'est mise en évidence par culture des splénocytes en présence de LPS ni par immunisation des souris infectées par un antigène thymoindépendant, le PVP.

Cette première phase a été peu étudiée par les auteurs qui se sont surtout intéressés à la période où le ver ayant atteint sa maturité, était capable de pondre des oeufs, créant ainsi des lésions immunopathologiques dans divers organes. Il faut signaler qu'au cours des premières semaines, la réponse immunitaire de l'hôte spécifiquement dirigée contre le parasite est difficile à apprécier car le schistosome modifie considérablement sa structure antigénique au cours de son évolution vers le stade adulte (CAPRON et Coll., 1965). RAMALHO-PINTO et Coll. (1976a) ont cependant

pu mettre en évidence, au cours des deux premières semaines d'infection, une augmentation de l'effet helper des cellules T, spécifique du stade schistosomule. L'hyperréactivité des cellules spléniques, et plus particulièrement des lymphocytes T stimulés par la PHA, que nous avons observée au début de l'infection semble donc correspondre à une activation du système lymphoïde en réponse à l'invasion parasitaire.

La seconde phase, débutant vers la sixième semaine de l'infection, coïncide avec le début de la ponte des oeufs par les schistosomes adultes. De plus la libération de produits d'excrétion par les schistosomes, si elle existait déjà pendant les stades précédents, s'accroît. Nous avons observé, au cours de cette période, deux types de phénomènes :

- sur le plan humoral, les souris infectées produisent des auto-anticorps dirigés contre un extrait de foie alors que se développe la réponse humorale spécifique d'un extrait de vers adultes ;
- sur le plan cellulaire, une hyporéactivité des cellules T stimulées par la PHA est observée. Tandis que la transformation blastique non spécifique des lymphocytes T est déprimée, la réactivité des lymphocytes B au LPS n'est pas modifiée mais par contre, la réponse anticorps à un antigène thymoindépendant, le PVP, permet de mettre en évidence une synthèse accrue d'anticorps par les cellules B. MOTA-SANTOS et Coll. (1976) et BRITO et Coll. (1977) mettant en évidence, à la même période, une dépression de la réponse à deux antigènes thymodépendants, il semble que la souris infectée depuis six semaines, soit le siège d'un défaut de fonction des cellules T.

L'altération de certaines fonctions T est retrouvée chez le rat infecté par S. mansoni et également chez l'homme infecté par S. haematobium (CAPRON et Coll., 1976 ; WILKINS et BROWN, 1977). Outre la diminution de l'hypersensibilité retardée cutanée et de la blastogénèse induite par les mitogènes T, certains arguments sont en faveur d'une altération des fonctions T suppressives.

L'incidence élevée des tumeurs lymphoprolifératives chez les sujets atteints de schistosomiase (EDINGTON et Coll., 1970 ; SMITH et Coll., 1974) peut être liée à une altération des fonctions T. En effet, GERSHWIN et STEINBERG (1973) pensent qu'un défaut de contrôle du système immunitaire par les cellules T suppressives est à l'origine de nombreux cas de néoplasie lymphoïde.

D'autre part, la schistosomiase s'accompagne d'une augmentation du taux des IgE (DESSAINT, 1974 ; ROUSSEAUX-PREVOST et Coll., 1977). Il faut noter que dans d'autres situations, un taux élevé d'IgE est associé à une altération de l'immunité cellulaire (WALDMANN et Coll., 1972 ; KIKKAWA et Coll., 1973 ; WALDMANN et Coll., 1974). La synthèse des IgE est contrôlée par des cellules T suppressives (OKUMURA et TADA, 1971) et si le phénomène de potentialisation de la réponse réaginique au cours des helminthiases n'est pas encore totalement expliqué, on peut actuellement affirmer que ce phénomène est dépendant des cellules T (JARRETT et FERGUSON, 1974 ; KOJIMA et OVARY, 1975).

Enfin, l'augmentation du taux global des immunoglobulines et la présence d'auto-anticorps, au cours de la schistosomiase peuvent également être attribuées à un dysfonctionnement des cellules T suppressives permettant la prolifération incontrôlée de différents clones de cellules B. Cependant, la mise en évidence récente de substances mitogènes contenues dans des extraits parasitaires constitue une seconde hypothèse permettant d'expliquer l'accroissement de synthèse des immunoglobulines.

Si nous avons pu constater des anomalies du comportement immunologique de la souris parasitée par S. mansoni, les mécanismes à l'origine de ces altérations restent à déterminer. Une voie d'approche de ce problème nous a semblé résider dans l'étude des substances libérées par le parasite et pouvant avoir une action sur les cellules lymphoïdes de l'hôte. C'est donc une étude préliminaire in vitro des propriétés immunomodulatrices d'un extrait de schistosomes adultes que nous avons réalisée dans la deuxième partie de notre travail.

3.2. ETUDE DES SUBSTANCES LIBEREES PAR S. MANSONI,

MODULATRICES DE LA BLASTOGENESE IN VITRO

L'action de différents extraits de schistosomes est étudiée au cours d'un test de transformation blastique décrit précédemment (Chapitre 2.5.1.) et pratiqué sur des cellules spléniques de souris syngéniques CBA.

Au cours de chaque expérience, les cellules spléniques sont cultivées en absence ou en présence de mitogènes (LPS, PHA, Con A) et la transformation blastique des lymphocytes sous l'effet des mitogènes est appréciée par incorporation de thymidine tritiée (^3H -THY). Les différents extraits parasitaires sont ajoutés d'une part aux lymphocytes cultivés en milieu RPMI, d'autre part aux lymphocytes stimulés par les mitogènes.

Expression des résultats

Chaque situation expérimentale est reproduite en triple. L'incorporation de thymidine tritiée par les lymphocytes est exprimée en impulsions par minute (ipm) et représente la moyenne de trois puits de culture. L'incorporation de thymidine tritiée des lymphocytes non stimulés est comparée à celle des lymphocytes non stimulés cultivés en présence de l'extrait parasitaire, à l'aide d'un test t de Student. De même, l'incorporation de thymidine tritiée des lymphocytes stimulés par chaque type de mitogène est comparée à celle des lymphocytes stimulés de la même façon et cultivés en présence de l'extrait parasitaire.

Certains résultats sont exprimés en indices de transformation. L'indice de transformation représente le rapport de thymidine tritiée incorporée par les lymphocytes stimulés par les mitogènes à la thymidine tritiée incorporée par les lymphocytes cultivés en RPMI. Lorsque les lymphocytes sont cultivés simultanément en présence de mitogène et d'extrait parasitaire, l'incorporation de thymidine tritiée est rapportée à celle des lymphocytes cultivés en milieu RPMI.

3.2.1. FACTEURS INHIBANT LA PROLIFERATION LYMPHOCYTAIRE IN VITRO

Une activité supprimant la transformation blastique de lymphocytes cultivés en présence de mitogènes a été mise en évidence dans les produits d'incubation de schistosomes et son mode d'action a été étudié.

3.2.1.1. Mise en évidence et caractérisation préliminaire

L'incubat de schistosomes adultes préparé dans les conditions décrites précédemment (Chapitre 2.2.3.) est centrifugé 10 minutes à 1000 g, filtré sur membrane stérile 0,22 μ m (SARTORIUS) et ajouté sous un volume de 50 μ l à des lymphocytes cultivés seuls ou en présence de mitogènes spécifiques des lymphocytes B et T.

Le LPS est utilisé à une dose de 10 μ g par puits de culture, la Con A à une dose de 0,5 μ g, la PHA à une dose de 0,5 μ l de solution stock. Les différents mitogènes dilués en RPMI sont ajoutés dans les puits de culture sous un volume de 100 μ l.

L'incorporation basale de thymidine tritiée des lymphocytes non stimulés n'est pas significativement affectée par la présence d'incubat. La viabilité cellulaire, estimée par un test d'exclusion du bleu trypan (Chapitre 2.5.1.3.) est la même (80 à 85 %) que les lymphocytes soient cultivés en présence ou en absence d'incubat. Par contre, la prolifération cellulaire induite par les mitogènes T (PHA et Con A) ou B (LPS) est fortement inhibée en présence de 50 μ l d'incubat (tableau 8 ; figure 5).

A la dose utilisée, l'incubat de schistosomes n'exerce pas d'action cytotoxique ni cytostatique sur des lymphocytes quiescents, mais il interfère dans le processus de stimulation lymphocytaire non spécifique induit par les mitogènes.

Expérience	Milieu RPMI	LPS 10 µg	Con A 0,5 µg	PHA 0,5 µl
Milieu RPMI	4212 ± 367	80125 ± 12423	65212 ± 10897	112012 ± 8306
Incubat	3918 ± 832	5985 ± 1401*	4330 ± 1017*	5001 ± 823*
Dialysat	4880 ± 855	6082 ± 834*	3112 ± 1028*	4981 ± 1041*
Dialysat chauffé à 100°C 1 heure	4120 ± 204	4247 ± 1130*	5434 ± 296*	5942 ± 769*

TABEAU 8 : MISE EN EVIDENCE, DANS L'INCUBAT DE SCHISTOSOMES, D'UNE ACTIVITE INHIBANT LA TRANSFORMATION BLASTIQUE INDUITE PAR LES MITOGENES.

- Les résultats sont exprimés en impulsions par minute (ipm) de thymidine tritiée incorporée
- Chaque résultat représente la moyenne de 3 puits de culture ± écart type

* $P < 0,005$; une comparaison de moyennes est effectuée selon un test t de Student par rapport à la culture témoin faite en présence du mitogène correspondant.



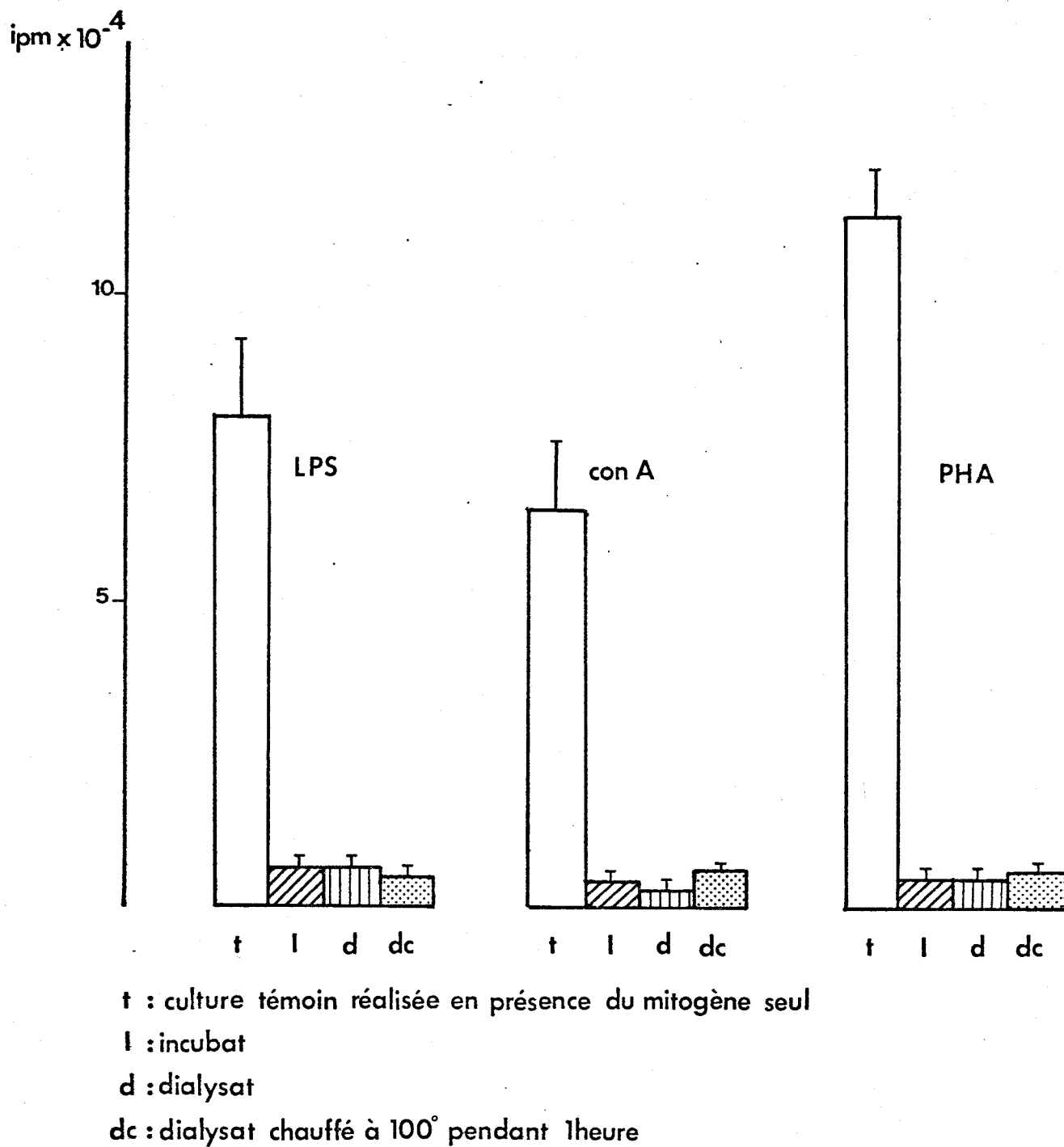


Figure 5: Mise en évidence dans l'incubat de schistosomes, d'une activité inhibant la transformation blastique induite par les mitogènes.

BIS
LILLE

Dans une seconde expérience, l'incubat de 10000 vers est dialysé pendant 24 heures contre 30 ml d'eau bidistillée. Le liquide de dialyse est lyophilisé, repris par 5 ml de milieu de culture, filtré stérilement et ajouté sous un volume de 50 μ l à des lymphocytes stimulés ou non par des mitogènes. L'inhibition de la stimulation induite par les mitogènes est retrouvée dans la fraction dialysable de l'incubat. Le chauffage à 100°C pendant 1 heure ne fait pas disparaître l'activité inhibitrice de la fraction dialysable (tableau 8 ; figure 5).

Les propriétés de la fraction non dialysable de l'incubat (adialysat) seront étudiées ultérieurement (Chapitre 3.2.2.).

En conclusion, une activité inhibant la prolifération in vitro de cellules stimulées non spécifiquement a été mise en évidence dans les produits d'incubation du schistosome adulte.

Des expériences préliminaires de caractérisation physicochimique montrent que cette activité est supportée par une ou plusieurs substances de faible poids moléculaire et thermostables.

Les expériences concernant le mode d'action de ces substances seront dorénavant pratiquées à l'aide de la fraction dialysable de l'incubat (dialysat).

3.2.1.2. Mode d'action

Dans un premier temps, une série d'expériences faisant varier le moment d'introduction du dialysat dans les cultures cellulaires a été entreprise. L'influence du lavage après préincubation des cellules lymphoïdes avec le dialysat a également été étudiée.

Dans un deuxième temps, le site d'action cellulaire du dialysat a été étudié : l'inhibition de la prolifération cellulaire induite par le dialysat peut en effet s'exercer

directement sur les lymphocytes T et B répondant aux mitogènes ou être médiée soit par les cellules adhérentes, soit par les cellules suppressives qui font également partie des splénocytes.

3.2.1.2.1. Influence de l'addition précoce ou retardée du dialysat dans les cultures, influence du lavage

Au cours d'un test de transformation blastique induit par la Con A (0,5 µg) ou le LPS (10 µg) sur des cellules spléniques CBA, le dialysat est ajouté à raison de 50 µl par puits de culture soit :

- 2 heures avant les mitogènes
- en même temps que les mitogènes
- 2 heures après les mitogènes
- 24 heures après les mitogènes.

Le tableau 9 et la figure 6 montrent que le dialysat inhibe la prolifération des lymphocytes en présence de mitogènes, qu'il soit ajouté 2 heures avant, en même temps ou deux heures après les mitogènes. Par contre, il n'a plus d'action lorsqu'il est introduit 24 heures après les mitogènes. Dans ce cas, l'incorporation de thymidine n'est pas significativement différente de celle des lymphocytes stimulés par les mitogènes.

D'autre part, les lymphocytes sont préincubés 2 heures avec le dialysat, puis lavés 3 fois par du RPMI et mis en culture en présence de Con A ou de LPS. La stimulation observée dans ces conditions n'est pas significativement différente de celle des lymphocytes non préincubés avec le dialysat et cultivés en la seule présence des mitogènes.

Ces expériences permettent de penser que la fraction dialysable de l'incubat de schistosomes interfère dans un évènement précoce de la transformation blastique. D'autre part, il apparaît que la liaison unissant les lymphocytes

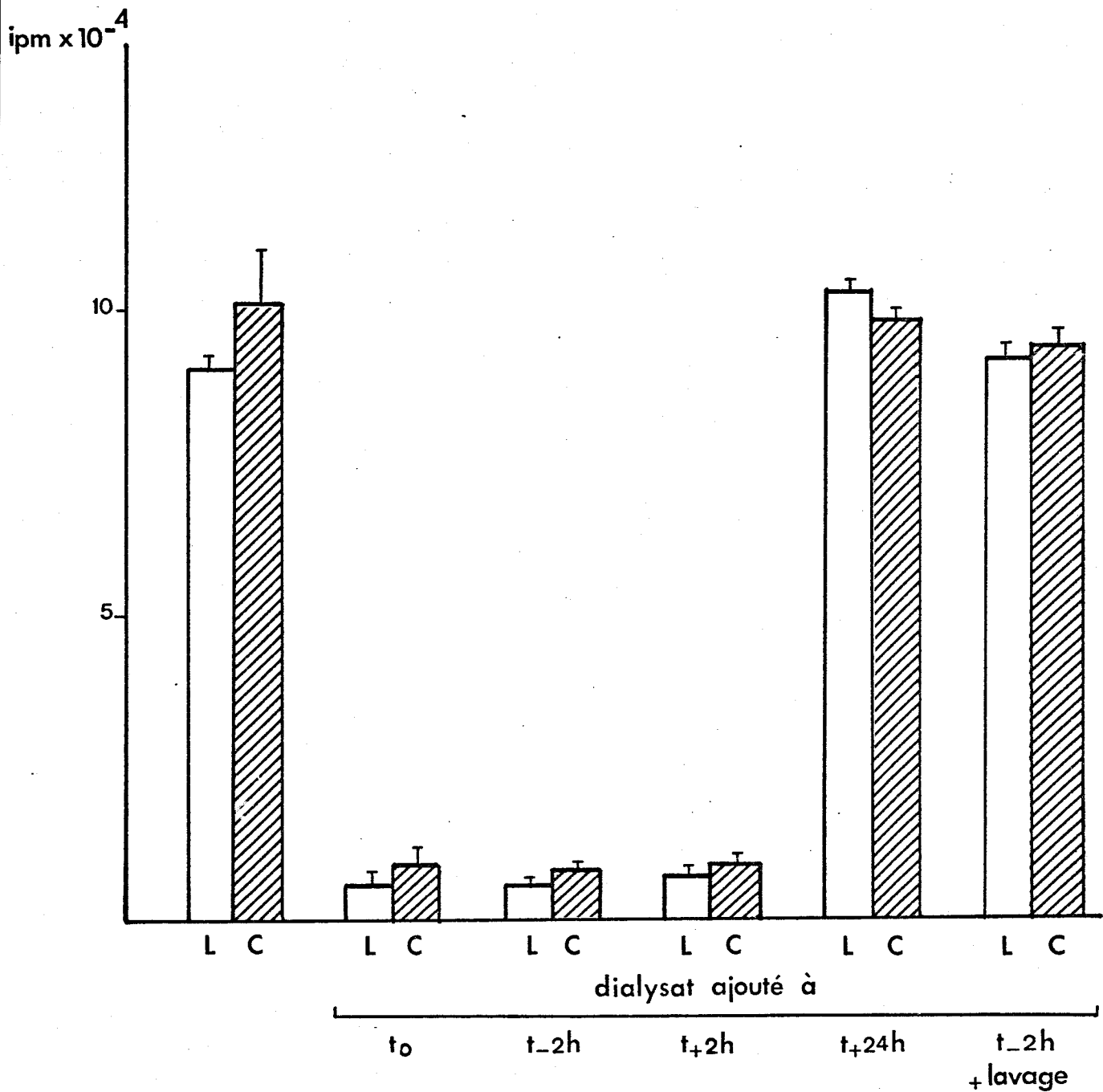
Expérience	Milieu RPMI	LPS 10µg	ConA 0,5 µg
Milieu RPMI	6795 ± 501	90412 ± 1209	101231 ± 8900
t ₀	5798 ± 392	5747 ± 1650*	9464 ± 2474*
t-2h	5927 ± 440	5929 ± 497*	6721 ± 710*
t+2h	6276 ± 492	7259 ± 512*	8991 ± 615*
t+24h	7029 ± 497	103391 ± 1512	98596 ± 1825
Dialysat ajouté t-2h puis lavage	7149 ± 617	91953 ± 1711	73219 ± 2103

TABEAU 9 : INFLUENCE DU MOMENT DE L'ADDITION DU DIALYSAT DANS LES CULTURES,
INFLUENCE DU LAVAGE.

- Les résultats sont exprimés en impulsions par minute (ipm) de thymidine tritiée incorporée ;
- Chaque résultat représente la moyenne de 3 puits de culture ± écart type.

* $P < 0,005$; une comparaison de moyennes est effectuée selon un test t de Student par rapport à la culture témoin faite en présence du mitogène correspondant.





L : LPS

C : con A

t₀ : moment d'introduction des mitogènes dans les cultures

Figure 6 : Influence du moment de l'addition du dialysat dans les cultures, influence du lavage



aux substances inhibitrices du dialysat est labile, et que le dialysat n'induit pas d'évènement cytologique irréversible empêchant une stimulation ultérieure des lymphocytes par les mitogènes.

3.2.1.2.2. Rôle des cellules adhérant à la laine de verre

Les macrophages et certaines populations de cellules T (T suppressives) jouent un rôle régulateur important lors de l'induction de réponses immunes in vitro (LEMKE et Coll., 1975 ; GERSHON, 1974). Les propriétés d'adhérence de ces populations cellulaires (EISEN et Coll., 1972 ; FOLCH et WAKSMAN, 1974a) ont permis de les éliminer et d'étudier si l'activité inhibitrice du dialysat était médiée par les cellules adhérentes.

Les populations cellulaires spléniques qui adhèrent à la laine de verre sont éliminées suivant la méthode décrite précédemment (Chapitre 2.5.2.1.). La fraction dialysable de l'incubat est ajoutée d'une part aux cellules spléniques totales, d'autre part aux cellules non adhérentes cultivées en milieu de culture seul ou en présence de mitogènes (LPS 10 µg ; Con A 0,5 µg ; PHA 0,5 µl par puits). L'absence de macrophages au sein des cellules non adhérentes est contrôlée par une coloration au rouge neutre (COHN et WIENER, 1963). Moins de 1 % des cellules incorporent le rouge neutre.

Les cellules non adhérentes sont stimulées par les mitogènes à un taux statistiquement significatif mais moins élevé que les cellules spléniques totales. Ce résultat est en accord avec les travaux de CHEN et HIRSCH (1972) qui montrent que le macrophage a un rôle trophique dans les cultures de lymphocytes in vitro. En présence de dialysat, la prolifération des cellules non adhérentes induite par les mitogènes est significativement déprimée (tableau 10 ; figure 7).

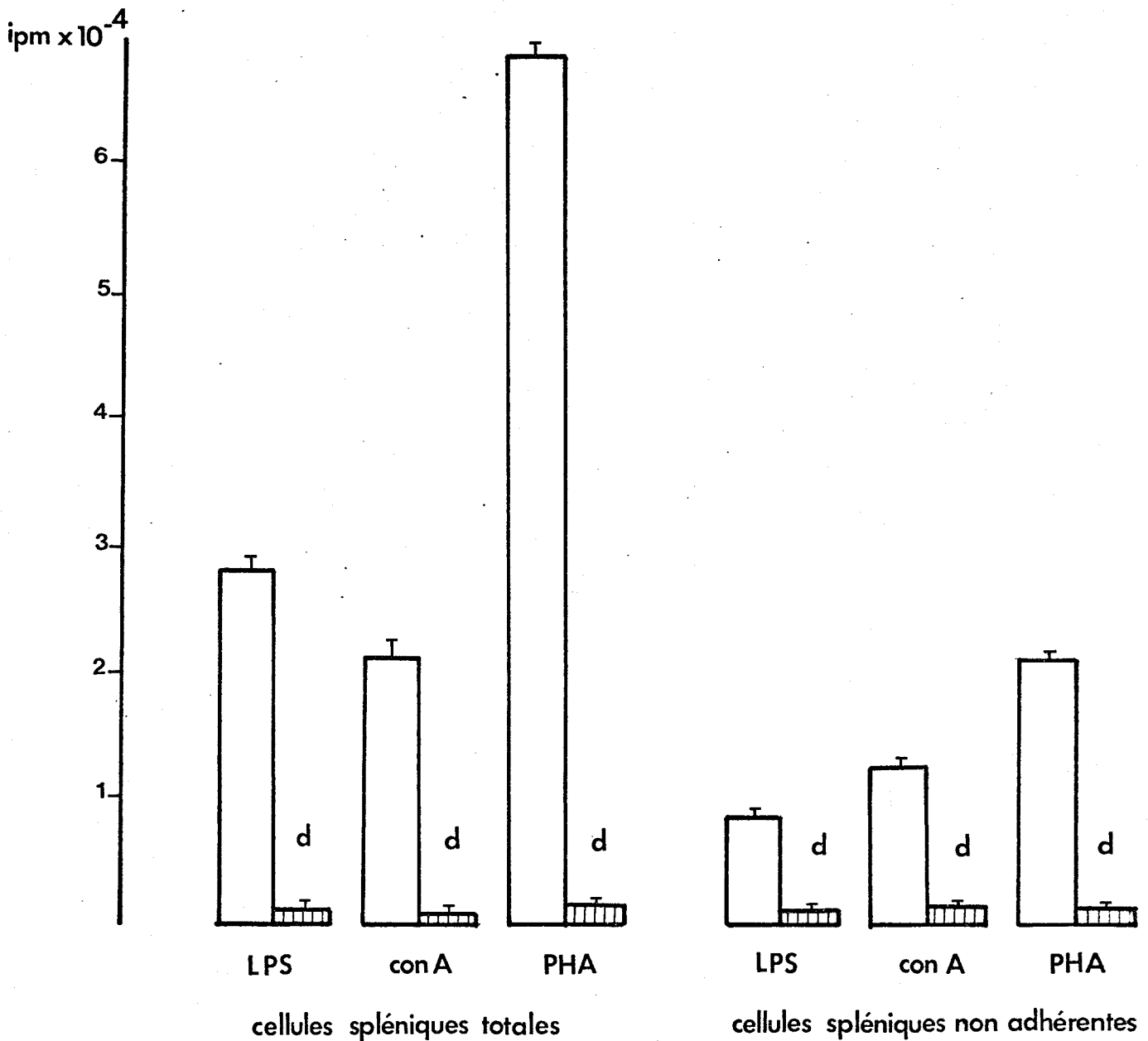
Expérience		Milieu RPMI	LPS 10 µg	Con A 0,5 µg	PHA 0,5 µl
Cellules spléniques totales	RPMI	1444 ± 118	28320 ± 2247	21999 ± 2353	68834 ± 1247
	Dialysat	1648 ± 131	1233 ± 277*	874 ± 142*	2676 ± 1082*
Cellules spléniques non adhérentes	RPMI	1517 ± 22	8429 ± 697	17732 ± 435	20777 ± 622
	Dialysat	1096 ± 44	213 ± 10*	450 ± 131*	507 ± 106*

TABEAU 10 : ACTION COMPARATIVE DU DIALYSAT SUR DES CELLULES SPLENIQUES TOTALES ET SUR DES CELLULES SPLENIQUES N'ADHERANT PAS A LA LAINE DE VERRE.

- Les résultats sont exprimés en impulsions par minute (ipm) de thymidine tritiée incorporée
- Chaque résultat représente la moyenne de 3 puits de culture ± écart type

* $P < 0,005$; une comparaison de moyenne est effectuée selon un test t de Student par rapport à la culture témoin faite en présence du mitogène correspondant.





d: dialysat



Figure 7 : Action comparative du dialysat sur des cellules spléniques totales et sur des cellules spléniques n'adhérant pas à la laine de verre.

L'activité suppressive du dialysat ne nécessite pas la présence de cellules adhérentes pour s'exercer sur les lymphocytes stimulés in vitro.

3.2.1.2.3. Rôle des cellules suppressives

L'inhibition de la prolifération lymphocytaire peut être expliquée par la stimulation de cellules suppressives : les cellules suppressives libèrent dans certaines conditions des médiateurs solubles qui empêchent les lymphocytes de répondre à une stimulation par les mitogènes. Ainsi, NAMBA et WAKSMAN (1975) ont caractérisé un facteur supprimant la synthèse de DNA de lymphocytes de rat stimulés par la PHA.

Cette hypothèse est vérifiée de la façon suivante : des cellules spléniques de souris CBA sont cultivées dans des tubes stériles (FALCON) à raison de 10×10^6 lymphocytes/ml de milieu RPMI en présence de dialysat ($100 \mu\text{l}/10^6$ lymphocytes) pendant 24 heures. Après élimination des cellules par centrifugation pendant 10 minutes, à 500 g, les surnageants de culture sont rassemblés et dialysés contre du PBS pendant 48 heures. La dialyse a pour but d'éliminer les substances de faible poids moléculaire d'origine parasitaire ; par contre, les facteurs inhibiteurs non spécifiques libérés par les cellules suppressives ont un poids moléculaire supérieur à 40 000 et ne sont pas dialysables (NAMBA et WAKSMAN, 1975). Le surnageant de culture est alors ajouté à raison de $100 \mu\text{l}$ par puits, à 5×10^5 lymphocytes spléniques cultivés avec ou sans PHA ($0,5 \mu\text{l}/\text{puits}$).

Un surnageant de lymphocytes spléniques cultivés seulement en présence de RPMI est récolté, dialysé, testé de façon identique, et sert de surnageant témoin.

Le surnageant de lymphocytes cultivés en présence de dialysat se comporte comme le surnageant témoin et n'inhibe pas l'incorporation de thymidine tritiée des lymphocytes stimulés par la PHA (tableau 11 ; figure 8).

Expérience	RPMI	PHA 0,5 μ l
RPMI	1875 $\pm$ 101	87613 $\pm$ 2112
Dialysat	1434 $\pm$ 252	3256 $\pm$ 445*
Surnageant témoin	1258 $\pm$ 189	76898 $\pm$ 4260
Surnageant "dialysat"	1285 $\pm$ 208	70501 $\pm$ 339

TABLEAU 11 : ACTION DU SURNAGEANT DE CELLULES
SPLENIQUES CULTIVEES EN PRESENCE DE
DIALYSAT SUR LA BLASTOGENESE INDUITE
PAR LA PHA.

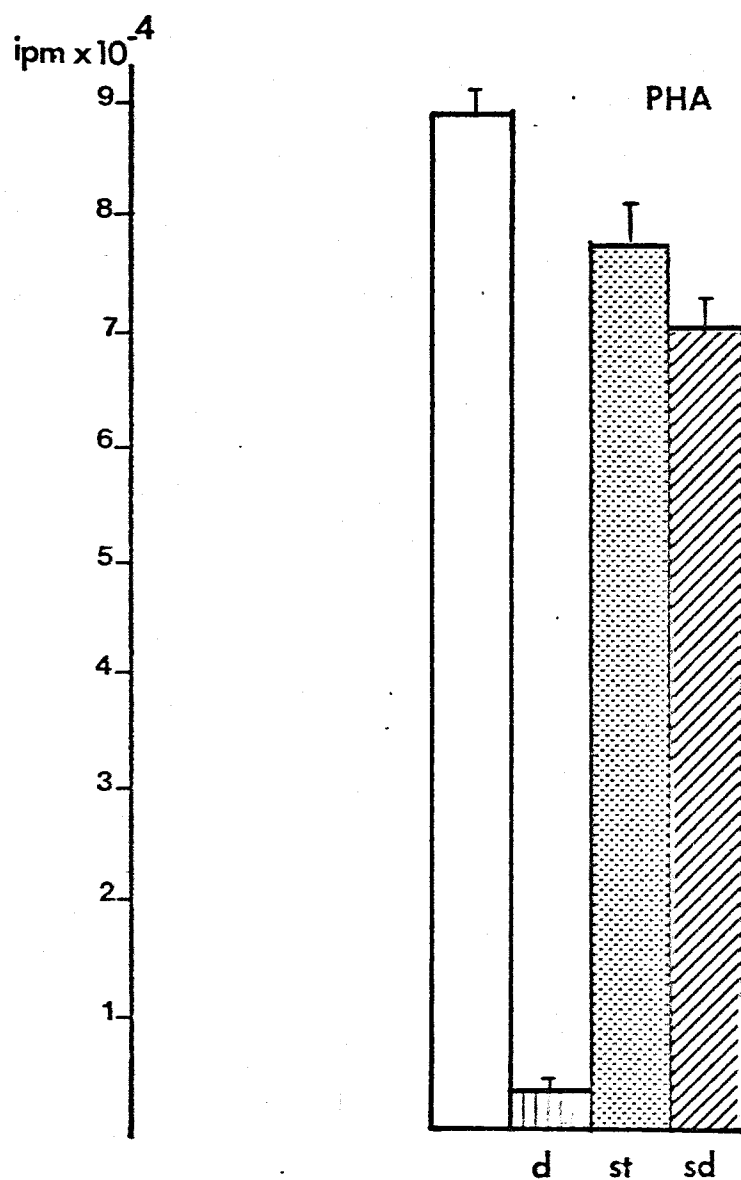
- Les résultats sont exprimés en impulsions par minute (ipm) de thymidine tritiée incorporée
- Chaque résultat représente la moyenne de 3 puits de culture $\pm$ écart-type

* $P < 0,005$; une comparaison de moyennes est effectuée selon un test t de Student par rapport à la culture témoin faite en présence de PHA

Surnageant témoin : surnageant de cellules spléniques cultivées en RPMI

Surnageant "dialysat" : surnageant de cellules spléniques cultivées en présence de dialysat





d : dialysat

st : surnageant de cellules cultivées en RPMI

sd : surnageant de cellules cultivées en présence de dialysat.

Figure 8 : Action du surnageant de cellules spléniques cultivées en présence de dialysat sur la blastogénèse induite par la PHA.



Les conditions de culture utilisées ne permettent donc pas de mettre en évidence un médiateur soluble libéré par les cellules suppressives sous l'influence du dialysat de schistosomes, et capable d'inhiber la réponse de lymphocytes T à la PHA.

3.2.1.3. Discussion

Les produits d'incubation libérés in vitro dans un milieu hypotonique par les schistosomes se sont révélés capables d'empêcher la stimulation de splénocytes de souris CBA par les mitogènes T et B. Cette activité inhibitrice est supportée par un ou plusieurs composants thermostables de faible poids moléculaire puisque dialysables.

Cette dépression de la prolifération lymphocytaire en présence de mitogènes n'est pas spécifique des lymphocytes de souris CBA. Le dialysat exerce également son activité sur des lymphocytes de souris C57 Black, des lymphocytes de rat et des lymphocytes humains (DESSAINT et Coll., 1977b).

La spécificité parasitaire de l'activité suppressive de la fraction dialysable de l'incubat a été étudiée : en effet, des fonctions suppressives sont attribuées à divers constituants sériques de faible poids moléculaire par plusieurs auteurs (SCHEURLLEN et Coll., 1971 ; GIRMANN et Coll., 1976) et le schistosome réalisant son cycle chez le hamster peut donc avoir adsorbé à sa surface ou ingéré certains composants sériques de son hôte vertébré. Lors du recueil de l'incubat ces composants peuvent être relâchés et être responsables de l'activité suppressive observée dans le dialysat. C'est pourquoi, la fraction dialysable d'un sérum de hamster sain a été ajoutée à des splénocytes stimulés par des mitogènes. Aucune diminution de la prolifération lymphocytaire n'a été constatée. Cependant, il n'est

pas exclu que l'activité suppressive du dialysat soit due à des composants provenant du sérum de hamster et modifiés de façon particulière par le schistosome.

L'inhibition de l'incorporation de thymidine tritiée par les lymphocytes peut, d'autre part, être provoquée par la présence de thymidine d'origine parasitaire dans le dialysat. Un excès de thymidine peut inhiber la synthèse de DNA par les lymphocytes (COOPER et Coll., 1966) ou bien diluer la thymidine radio-active ajoutée aux cultures cellulaires. Plusieurs auteurs ont décrit des facteurs suppresseurs d'origine macrophagique (WALDMAN et GOTTLIEB, 1973 ; OPITZ et Coll., 1975a et b) ou d'origine lymphocytaire (KASAHARA et SHIOIRI-NAKANO, 1976). Ces facteurs contenus dans les surnageants de culture de macrophages ou de lymphocytes se sont révélés être de la thymidine libérée par des cellules mortes.

Un test de transformation blastique en présence de dialysat au cours duquel la thymidine tritiée a été remplacée par de la leucine tritiée, a été réalisé. Une inhibition de l'incorporation de leucine tritiée a été observée lorsque les lymphocytes sont cultivés en présence de mitogènes et de dialysat (DESSAINT et Coll., 1977b). De plus, si l'inhibition était due à la thymidine froide, elle se manifesterait aussi bien lorsque le dialysat est ajouté en même temps que 24 heures après les mitogènes.

L'activité inhibitrice ne semble donc pas due à la présence de thymidine froide dans le dialysat.

Des expériences, cherchant à préciser le mode d'action des substances suppressives au niveau cellulaire, permettent de penser qu'elles n'agissent pas par un phénomène d'inhibition compétitive en empêchant la fixation des mitogènes à la surface des lymphocytes. En effet,

le dialysat exerce toujours une action lorsqu'il est ajouté à la culture de lymphocytes, 2 heures après les mitogènes. A ce moment, les mitogènes sont déjà fixés à la surface lymphocytaire (STOBO et Coll., 1972). De plus, une expérience préliminaire a pu montrer que le dialysat n'empêchait pas la fixation ultérieure de Con A fluorescente aux lymphocytes. Le dialysat agit cependant à une étape précoce de la transformation blastique puisqu'il n'exerce plus d'effet lorsqu'il est ajouté 24 heures après la mise en culture des lymphocytes. D'autre part, la liaison qui unit les composants inhibiteurs aux lymphocytes, semble faible puisqu'elle est détruite par lavage et la préincubation des cellules et du dialysat, suivie de lavage ne rend pas les lymphocytes insensibles à un stimulus mitogénique ultérieur.

Les tests de transformation lymphoblastique étant pratiqués à l'aide de populations spléniques totales et non de lymphocytes purifiés, deux modes d'action des substances suppressives du dialysat peuvent être envisagés :

- la stimulation des lymphocytes répondant aux mitogènes peut être directement bloquée par une substance inhibitrice ;
- le dialysat peut activer une population cellulaire qui exerce une fonction de régulation sur les lymphocytes T et B répondant aux mitogènes.

Le rôle du macrophage au cours de l'induction d'une blastogénèse par des mitogènes a été largement étudié. Ainsi, l'addition de macrophages exogènes à une culture de cellules lymphoïdes saines peut augmenter (SEEGER et OPPENHEIM, 1970 ; HERSH et HARRIS, 1968) ou diminuer (LEMKE et Coll., 1975 ; PARKHOUSE et DUTTON, 1966) la prolifération

lymphocytaire in vitro. De plus, les macrophages de souris porteuses de tumeurs (KIRCHNER et Coll., 1974 ; KIRCHNER et Coll., 1975) ou traitées par un immunomodulateur (SCOTT, 1972 ; BAIRD et KAPLAN, 1977) dépriment la réponse de lymphocytes normaux in vitro. Les substances parasitaires présentes dans le dialysat pourraient donc modifier les fonctions des macrophages présents dans les cultures de splénocytes et entraîner ainsi une diminution de la prolifération lymphocytaire.

Une première expérience a permis de montrer que le dialysat supprime la réponse aux mitogènes T et B des cellules qui n'adhèrent pas à la laine de verre. L'absence de macrophages dans la population cellulaire non adhérente a été contrôlée et l'inhibition de prolifération lymphocytaire induite par le dialysat ne semble donc pas médiée par les macrophages.

Une seconde sous-population de cellules spléniques, les cellules T suppressives, s'est révélée exercer un contrôle sur la prolifération lymphocytaire induite par les mitogènes. FOLCH et WAKSMAN (1974a et b) ont démontré que ces cellules étaient différentes des macrophages, adhéraient à la laine de verre, et dépendaient du thymus. De plus, ces cellules T suppressives libèrent des médiateurs solubles qui agissent sur les populations lymphocytaires recrutées par les mitogènes. Un de ces médiateurs a été caractérisé et nommé "inhibiteur de la synthèse de DNA" (IDS) par NAMBA et WAKSMAN (1977).

Deux types d'expériences nous permettent de penser que le dialysat n'agit pas en stimulant l'activité des cellules T suppressives :

- l'inhibition par le dialysat des cellules qui n'adhèrent pas à la laine de verre semble être un premier argument en faveur de la non intervention des cellules suppressives dans le mécanisme de suppression de la prolifération lymphocytaire induit par le dialysat ;

- d'autre part, dans nos conditions expérimentales, la libération d'un médiateur soluble inhibant non spécifiquement la prolifération des cellules T cultivées en présence de PHA, n'a pas été mise en évidence.

En conclusion, une activité supprimant la blastogénèse des cellules T et B in vitro a été mise en évidence dans les produits d'incubation du schistosome. Cette activité est supportée par un ou plusieurs composants de petit poids moléculaire, résistants à la chaleur. Ces substances semblent agir directement au niveau des lymphocytes recrutés par les mitogènes. La caractérisation physicochimique de ces substances est actuellement envisagée.

3.2.2. FACTEURS STIMULANT LA PROLIFERATION LYMPHOCYTAIRE IN VITRO

Une activité inhibitrice de la prolifération lymphocytaire in vitro a été décelée dans la fraction dialysable de l'incubât de schistosomes. L'étude des propriétés de la fraction non dialysable (adialysat) a été entreprise.

3.2.2.1. Mise en évidence

Avant d'analyser les résultats, il faut préciser que nous adopterons la nomenclature suivante :

- l'adialysat est doué d'un effet "mitogène" lorsqu'il augmente l'incorporation de thymidine tritiée des lymphocytes spléniques cultivés en milieu de culture seul (RPMI) ;
- l'adialysat est doué d'un effet "potentialisateur" lorsqu'il augmente l'incorporation de thymidine tritiée des lymphocytes spléniques stimulés par un mitogène classique (LPS ou PHA).

La fraction non dialysable de l'incubats de schistosomes (adialysat) préparée dans les conditions décrites précédemment (Chapitre 2.2.3.) est reconstituée dans un volume de RPMI égal au volume initial et stérilisée par passage sur un filtre SARTORIUS 0,22 μ m. L'adialysat est dilué au 1/4 avant d'être ajouté sous un volume de 50 μ l à des lymphocytes spléniques de souris CBA cultivés seuls ou en présence de mitogènes (LPS : 10 μ g par puits, PHA 0,5 μ l de solution stock par puits).

Différents lots d'adialysat ont été testés dans ces conditions expérimentales et les résultats de trois expériences type sont exprimés dans le tableau 12 et la figure 9.

L'expérience 1 met en évidence un effet "mitogène" de l'adialysat sur les lymphocytes cultivés en milieu de culture seul. La stimulation induite par l'adialysat ne s'ajoute pas à celle induite par les mitogènes, lorsque les lymphocytes sont cultivés à la fois avec l'adialysat et le LPS ou la PHA. En présence d'adialysat seul, l'incorporation de thymidine tritiée est nettement supérieure à celle des lymphocytes stimulés par la PHA ou le LPS. Le recrutement lymphocytaire induit par l'adialysat semble donc atteindre un seuil maximal et ne peut être augmenté significativement par l'addition d'un autre mitogène.

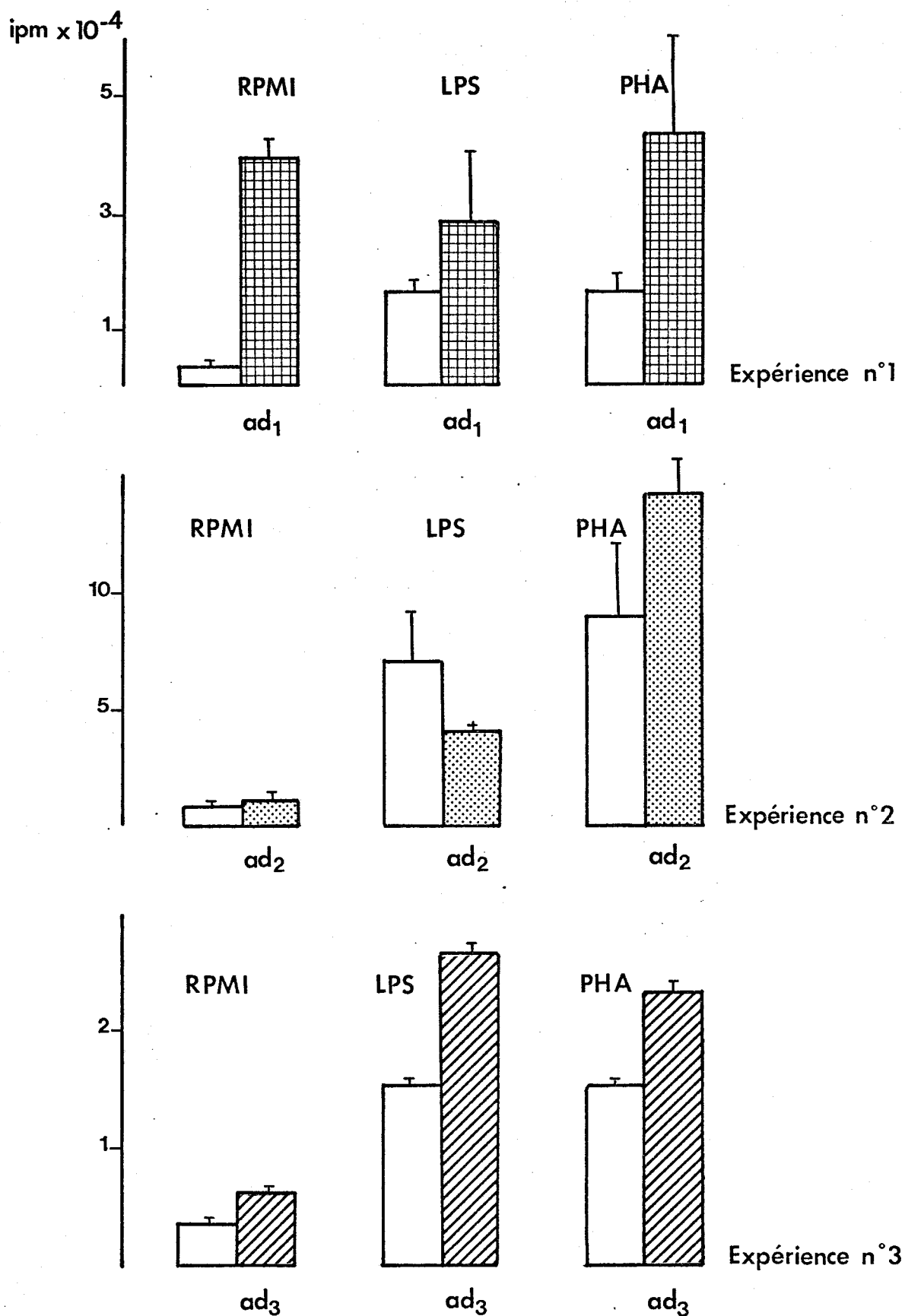
Le lot d'adialysat testé dans l'expérience 2 ne révèle pas d'activité "mitogène" sur les lymphocytes non stimulés par le LPS ou la PHA. Par contre, une augmentation de l'incorporation de thymidine tritiée est observée lorsque des lymphocytes sont cultivés à la fois en présence de PHA et d'adialysat. Dans les mêmes conditions expérimentales, l'effet mitogène du LPS est fortement diminué. L'adialysat exerce donc simultanément une "potentialisation" de l'effet mitogène de la PHA et une inhibition de l'effet du LPS.

Expérience	RPMI	LPS 10 µg	PHA 0,5 µl
RPMI	2970 ± 310	16089 ± 1883	16098 ± 2361
Expérience n°1			
Adialysat 1 dilué au 1/4	39752 ± 2304*	28102 ± 11821	42955 ± 17148*
RPMI	6646 ± 973	70163 ± 20065	92010 ± 28315
Expérience n°2			
Adialysat 2 dilué au 1/4	7809 ± 770	40011 ± 1906*	141752 ± 12428*
RPMI	2970 ± 310	16089 ± 1883	16098 ± 2361
Expérience n°3			
Adialysat 3 dilué au 1/4	5618 ± 383*	27263 ± 2180*	24155 ± 1601*

TABLEAU 12 : MISE EN EVIDENCE, DANS DIFFERENTS LOTS D'ADIALYSAT, D'UNE ACTIVITE MITOGENE OU "POTENTIALISATRICE" DE LA BLASTOGENESE.

- Les résultats sont exprimés en impulsions par minute (ipm) de thymidine tritiée incorporée
- Chaque résultat représente la moyenne de 3 puits de culture ± écart type.
- * $P < 0,05$; une comparaison de moyennes est effectuée selon un test t de Student par rapport à la culture témoin faite soit en présence de RPMI, soit en présence du mitogène correspondant.





ad₁, ad₂, ad₃, représentent 3 lots d'adialysat différents

Figure 9: Mise en évidence, dans différents lots d'adialysat, d'une activité mitogène ou "potentialisatrice" de la blastogénèse.

Enfin, le lot d'adialysat étudié dans l'expérience 3 exerce une activité légèrement "mitogène" sur les lymphocytes non stimulés et "potentialise" à la fois l'action du LPS et de la PHA.

Ces trois expériences montrent que la fraction non dialysable des produits d'incubation du schistosome peut exercer une action stimulante sur des lymphocytes spléniques de souris saines, cultivés in vitro. Cette activité due à une ou plusieurs substances semble pouvoir s'exercer sur des lymphocytes quiescents ou stimulés simultanément par des mitogènes classiques (PHA et LPS), suivant les lots d'adialysat testés.

Bien que les conditions d'obtention des produits d'incubation aient été standardisées au maximum, les variations biologiques dues à leur origine, ne peuvent être éliminées, et peuvent expliquer que les différents lots d'adialysat exercent leur activité stimulante selon des modalités différentes. Les schistosomes, récoltés après la perfusion des hamsters, sont dans un état physiologique qui varie selon le moment de la perfusion, selon la qualité de l'infection, conditionnée elle-même par celle des cercaires infectantes. Les composants des produits d'incubation peuvent donc être excrétés en quantité différente selon les lots, et la proportion de chacun de ces composants peut donc également varier.

Au cours des expériences de mise en évidence d'une activité stimulante, les différents lots d'adialysat étaient arbitrairement dilués au 1/4 et testés en présence d'une seule dose de mitogène. Des tests de transformation lymphoblastique réalisés à dose constante de mitogène en présence de dilutions variables d'adialysat d'une part, et à dilution constante d'adialysat en présence de concentrations variables de mitogène ont permis d'étudier si les phénomènes de stimulation observés étaient dose-dépendants.

3.2.2.2. Relations dose-effet

3.2.2.2.1. Influence de la dilution d'adialysat sur des lymphocytes stimulés par une dose constante de mitogène

Un lot d'adialysat a été dilué en RPMI de façon à réaliser une gamme s'étendant du pur (1/1) au 1/32. Les différentes dilutions ont été testées sur des lymphocytes non stimulés ou stimulés soit par le LPS (10 µg par puits), soit par la PHA (0,5 µl par puits). Les résultats sont exprimés dans le tableau 13 et la figure 10.

L'adialysat non dilué (1/1) a un effet inhibiteur sur l'incorporation de thymidine tritiée par les lymphocytes quiescents. Une inhibition de la stimulation induite par le LPS est également observée. Bien qu'aucun test de viabilité n'ait été pratiqué, il ne semble pas que l'adialysat soit cytotoxique pour les lymphocytes, puisque la stimulation induite par la PHA n'est pas affectée en présence d'adialysat non dilué. L'hypothèse de l'existence d'une activité cyto-statique pour les lymphocytes B mériterait d'être étudiée.

Aux dilutions plus élevées, l'inhibition de la stimulation par le LPS disparaît, tandis que se développent un léger effet "mitogène" statistiquement significatif cependant et une potentialisation de l'action de la PHA.

La stimulation induite par le LPS et la PHA en présence d'adialysat dilué au 1/32 rejoint celle des lymphocytes cultivés seulement en présence de LPS ou de PHA et seul l'effet "mitogène" de l'adialysat persiste.

Suivant la dose à laquelle il est utilisé, un même lot d'adialysat peut donc se comporter comme un inhibiteur (en présence de LPS) ou comme un stimulant (en présence de PHA ou en l'absence de mitogène) de la prolifération lymphocytaire.

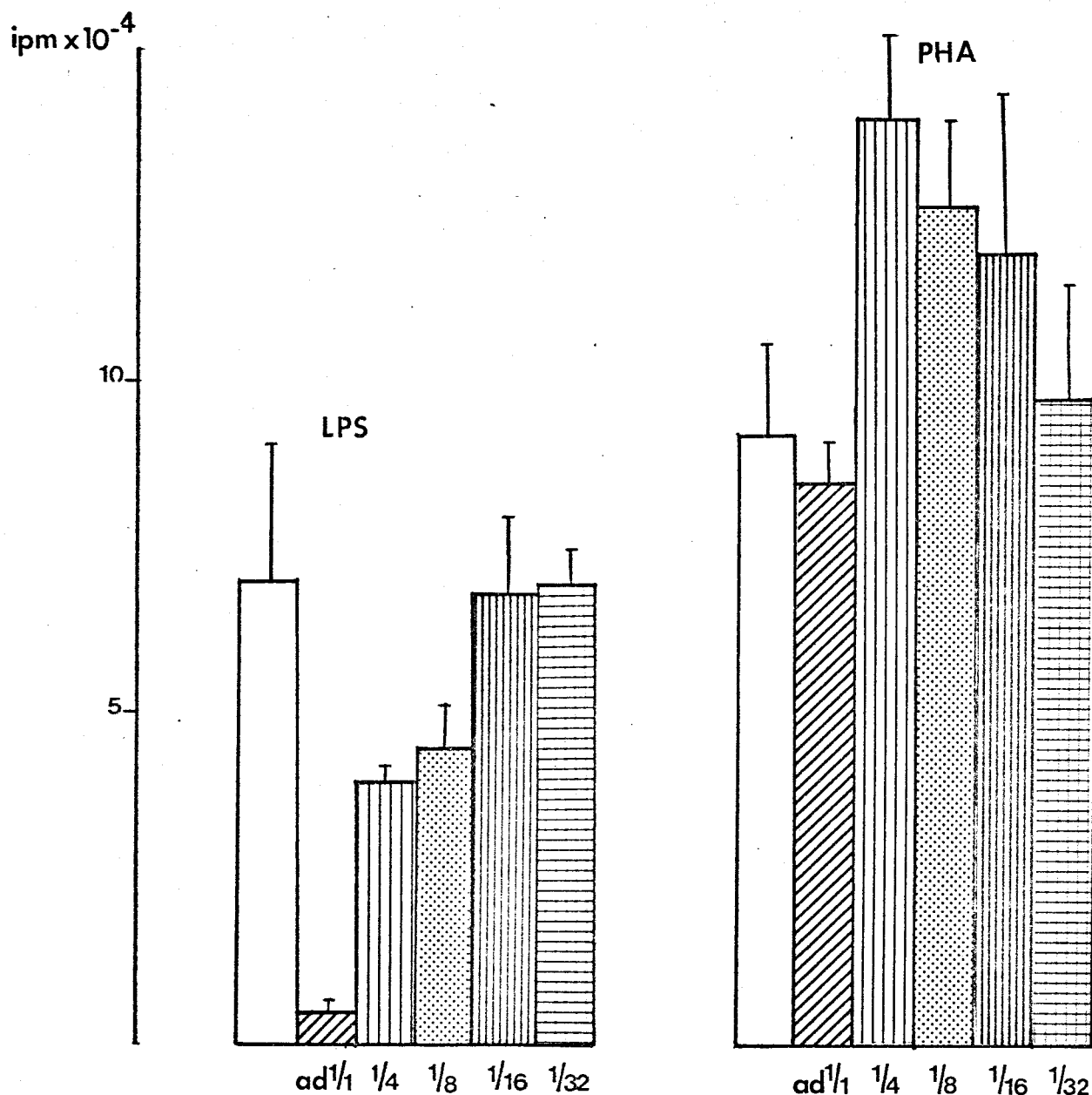
Expérience	RPMI	LPS 10 µg	PHA 0,5 µl
RPMI	6646 ± 973	70163 ± 20065	92011 ± 13815
Adialysat 1/1	3866 ± 794*	5191 ± 1828*	85586 ± 6151
Adialysat 1/4	7809 ± 769	40011 ± 1905*	141752 ± 12427*
Adialysat 1/8	15254 ± 3956*	44881 ± 5972*	127896 ± 12540*
Adialysat 1/16	15150 ± 2041*	68197 ± 12027	120442 ± 23942
Adialysat 1/32	16005 ± 3249*	69942 ± 3962	98179 ± 17258

TABLEAU 13 : INFLUENCE DE LA DILUTION D'ADIALYSAT SUR DES LYMPHOCYTES
STIMULES PAR UNE CONCENTRATION CONSTANTE DE MITOGENE.

- Les résultats sont exprimés en impulsions par minute (ipm) de thymidine tritiée incorporée
- Chaque résultat représente la moyenne de 3 puits de culture ± écart type

* $P < 0,05$; une comparaison de moyennes est effectuée selon un test t de Student par rapport à la culture témoin faite soit en présence de RPMI soit en présence du mitogène correspondant.





ad : adialysat dilué

LPS : 10 µg /puits

PHA : 0,5 µl /puits



Figure 10 : Influence de la dilution d'adialysat sur des lymphocytes stimulés par une concentration constante de mitogène.

Cette expérience permet de concevoir que des activités stimulantes s'exprimant différemment puissent être retrouvées dans des lots d'adialysat testés à une seule dilution puisqu'actuellement aucun dosage de la ou des substances supportant l'activité stimulante ne peut être effectué.

3.2.2.2.2. Influence de la concentration de mitogène en présence d'une dilution constante d'adialysat

Un lot d'adialysat dilué au 1/4 (⊕---⊕) ou au 1/8 (●---●) a été ajouté à des lymphocytes cultivés en présence de doses variables de PHA. Les résultats de cette expérience sont exprimés dans le tableau 14 et la figure 11.

La prolifération des lymphocytes cultivés en présence de PHA est maximale lorsque la PHA est utilisée à la dose de 0,5 µl de solution stock par puits. En présence d'adialysat, l'incorporation de thymidine des lymphocytes stimulés par la dose optimale de PHA est significativement augmentée.

Aux doses supraoptimales de PHA, l'adialysat augmente également de façon très significative l'incorporation de thymidine par les lymphocytes.

Par contre, aux doses suboptimales (0,125 µl de solution stock), la stimulation des lymphocytes par la PHA peut être diminuée en présence d'adialysat.

L'adialysat testé dans cette expérience se comporte comme un agent potentialisant l'action de la PHA. Ce phénomène d'amplification de la réponse des lymphocytes dépend de la dose de PHA utilisée : il se manifeste à la concentration de PHA donnant une stimulation optimale des lymphocytes et est plus marqué encore aux concentrations supraoptimales de PHA.

Expérience	RPMI	Adialysat 1/4	Adialysat 1/8
RPMI	2587 $\pm$ 455	2999 $\pm$ 739	3956 $\pm$ 869
PHA 0,125 μ l	109096 $\pm$ 6082	41989 $\pm$ 7494	77876 $\pm$ 5227
PHA 0,25 μ l	127586 $\pm$ 3363	118508 $\pm$ 15593	152448 $\pm$ 8044*
PHA 0,50 μ l	133521 $\pm$ 3465	149898 $\pm$ 4030*	153575 $\pm$ 3621*
PHA 0,67 μ l	115690 $\pm$ 5133	145910 $\pm$ 11286*	142520 $\pm$ 8749*
PHA 1 μ l	86329 $\pm$ 8004	125820 $\pm$ 8630*	128907 $\pm$ 11479*
PHA 2 μ l	14168 $\pm$ 1548	39033 $\pm$ 8951*	30454 $\pm$ 6349*

TABLEAU 14 : INFLUENCE DE LA CONCENTRATION DE PHA SUR DES LYMPHOCYTES CULTIVES
EN PRESENCE D'UNE DOSE CONSTANTE D'ADIALYSAT.

- Les résultats sont exprimés en impulsions par minute (ipm) de thymidine tritiée incorporée
- Chaque résultat représente la moyenne de 3 puits de culture $\pm$ écart type

* $P < 0,01$; une comparaison de moyennes est effectuée selon un test t de Student
L'incorporation de thymidine tritiée des lymphocytes cultivés en présence d'adialysat et de PHA est comparée à celle des lymphocytes cultivés en présence de la dose de PHA correspondante.



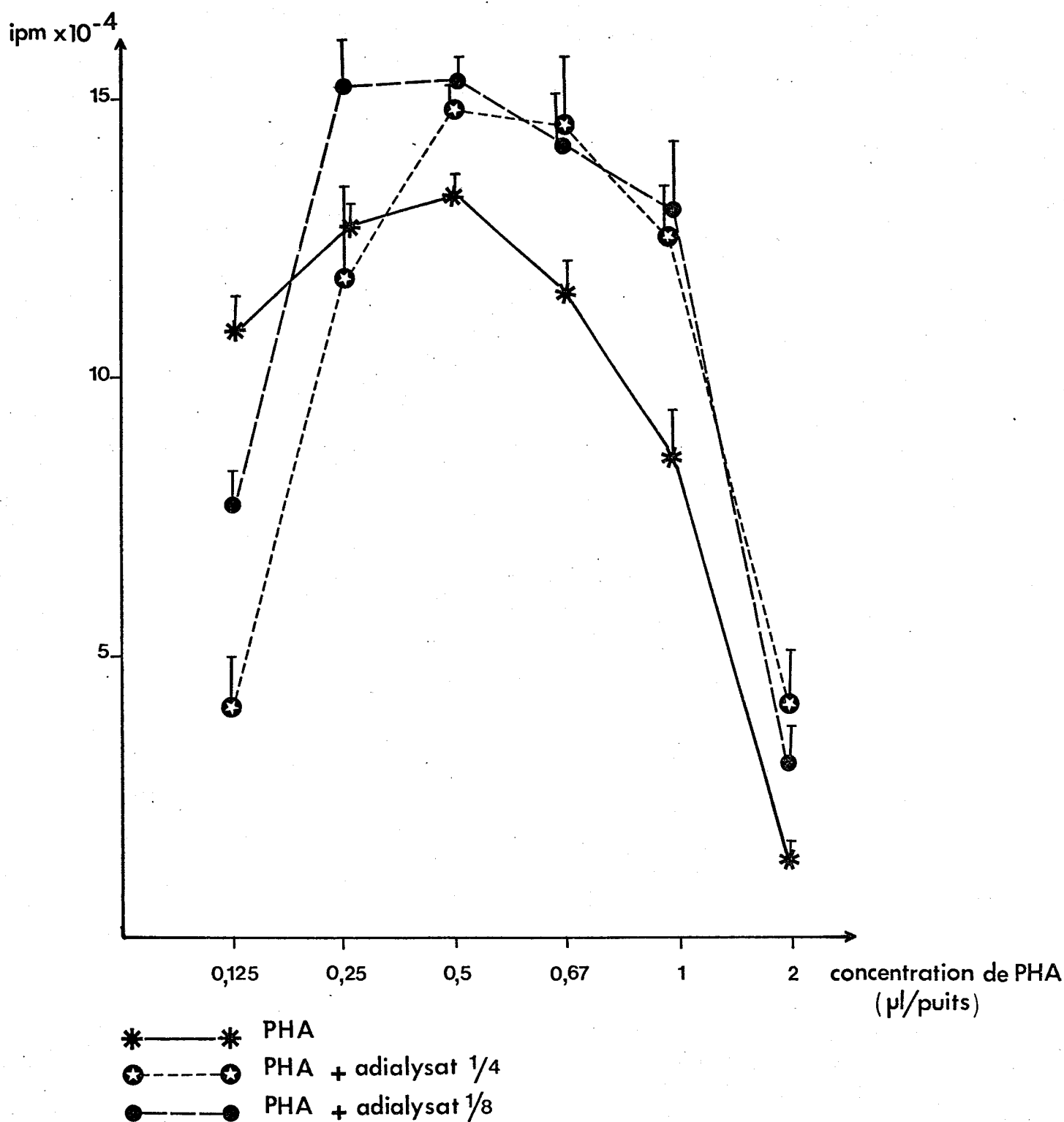


Figure 11 : Influence de la concentration de PHA sur des lymphocytes cultivés en présence d'une dose constante d'adialysat.

3.2.2.3. Mode d'action

Des expériences préliminaires de fractionnement des différentes populations cellulaires spléniques ont été entreprises afin d'étudier le mode d'action des facteurs contenus dans l'adialysat stimulant la prolifération lymphocytaire in vitro.

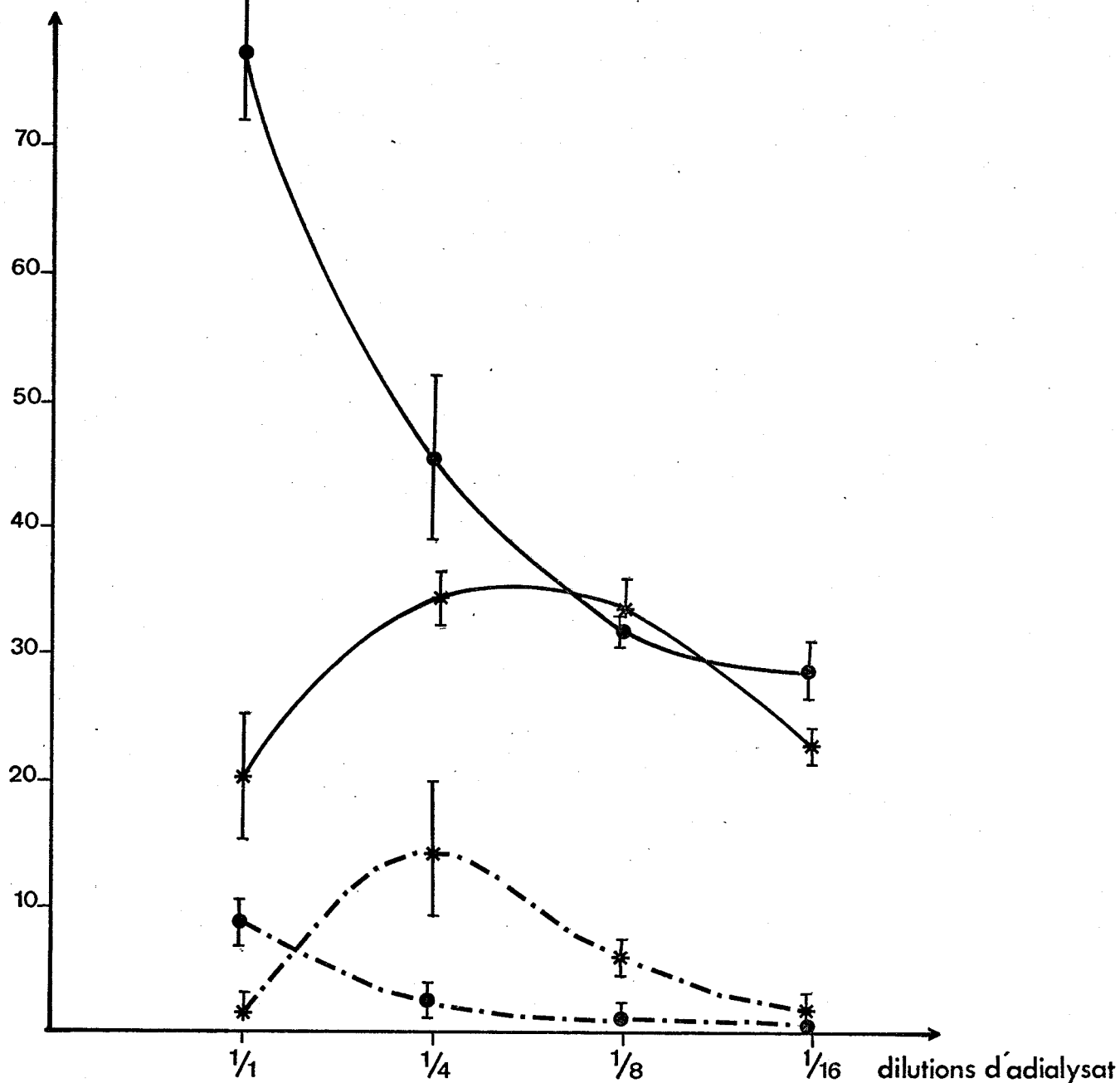
Aux doses étudiées, les lots d'adialysat testés au cours de ces expériences ne présentent pas d'activité "mitogène" directe sur les lymphocytes mais ils "potentialisent" à la fois l'action du LPS et de la PHA.

3.2.2.3.1. Action de l'adialysat sur des cellules n'adhérant pas à la laine de verre

Les populations cellulaires qui adhèrent à la laine de verre sont éliminées suivant la méthode décrite précédemment (Chapitre 2.5.2.1.). Un lot d'adialysat utilisé pur ou dilué au 1/4, 1/8, 1/16 a été testé d'une part sur les lymphocytes spléniques totaux et d'autre part sur des lymphocytes spléniques déplétés en cellules adhérentes. L'absence de macrophages dans les cellules non adhérentes a été contrôlée par un test de coloration au rouge neutre (COHN et WIENER, 1963).

Les indices de stimulation des cellules totales ou non adhérentes cultivées en présence de mitogènes (PHA 0,5 µl, LPS 10 µg par puits) et d'adialysat ont été calculés (figure 12). Aux fortes doses d'adialysat (1/1 ; 1/4) l'indice de transformation obtenu en présence de PHA est fortement augmenté lorsque les cellules adhérentes ont été éliminées. Par contre, l'adialysat dilué au 1/8 ou au 1/16 potentialise l'action de la PHA de la même façon, qu'il soit ajouté à une population splénique totale ou déplétée en cellules adhérentes.

indice de stimulation



- *—* cellules spléniques totales en présence de PHA
- cellules spléniques non adhérentes en présence de PHA
- *-.-* cellules spléniques totales en présence de LPS
- .-● cellules spléniques non adhérentes en présence de LPS



Figure 12 : Action de l'adialysat sur des cellules spléniques n'adhérant pas à la laine de verre et stimulées par la PHA ou le LPS.

Au cours de cette expérience, le LPS pourtant utilisé à la même concentration (10 µg/puits) que dans les expériences précédentes n'a pas induit la stimulation des cellules spléniques totales. Cependant, l'addition d'adialysat dilué au 1/4 ou au 1/8 entraîne une prolifération des cellules cultivées en présence de LPS, alors qu'il ne manifeste pas d'activité "mitogène" directe lorsqu'il est ajouté seul aux lymphocytes. C'est non dilué (1/1) que l'adialysat est le plus actif sur les cellules non adhérentes cultivées en présence de LPS. Les cellules B recrutées par le LPS ont des propriétés d'adhérence (LOWY et BUSSARD, 1974) et le passage sur laine de verre a vraisemblablement modifié les proportions de lymphocytes B et T.

L'élimination des cellules adhérentes par passage sur laine de verre permet à l'adialysat utilisé à des fortes concentrations, d'exprimer plus fortement sa fonction de "potentialisation" de l'action de la PHA.

3.2.2.3.2. Action de l'adialysat sur des cellules spléniques traitées par un sérum anti- θ

Au cours d'une expérience préliminaire, un lot d'adialysat a été testé sur des cellules spléniques traitées par un sérum anti- θ en présence de complément selon la technique décrite précédemment (Chapitre 2.5.2.2.).

Le tableau 15 permet de comparer l'activité de l'adialysat sur des cellules spléniques totales et sur des cellules spléniques débarrassées des cellules T.

L'adialysat dilué au 1/4 et au 1/8 potentialise l'action stimulante de la PHA et du LPS sur des lymphocytes spléniques totaux.

Le traitement des splénocytes par un sérum anti- θ et du complément, permet d'éliminer les cellules T portant l'antigène θ . La PHA n'induit plus de stimulation sur les cellules traitées par le sérum anti- θ . Par contre, les cellules B ont conservé leur aptitude à être stimulées par le LPS.

Expérience		RPMI	LPS 10 µg	PHA 0,5 µl
Cellules spléniques totales	RPMI	2814 ± 109	64357 ± 1008	35039 ± 4666
	Adialysat 1/4	3382 ± 2108	80878 ± 2596*	45394 ± 3178*
	Adialysat 1/8	3799 ± 1050	80901 ± 2434*	50068 ± 2998*
Cellules spléniques traitées par un sérum anti-θ	RPMI	2749 ± 130	1565 ± 73	44266 ± 7217
	Adialysat 1/4	1857 ± 171	NR	19004 ± 6660*
	Adialysat 1/8	2771 ± 309	NR	38675 ± 4148*

**TABEAU 15 : ACTION DE L'ADIALYSAT SUR DES CELLULES TRAITEES PAR UN SERUM ANTI-θ
EN PRESENCE DE COMPLEMENT.**

- Les résultats sont exprimés en impulsions par minute (imp) de thymidine tritiée incorporée
- Chaque résultat représente la moyenne de 3 puits de culture ± écart-type

* $P < 0,01$; une comparaison de moyennes est effectuée selon un test t de Student par rapport à la culture témoin faite en présence du mitogène correspondant.

NR : Expérience non réalisée



L'adialysat dilué au 1/4 et au 1/8 ne montre pas d'action "mitogène" directe ou d'activité potentialisatrice du LPS lorsqu'il est ajouté à des cellules spléniques traitées par le sérum anti- θ . Une activité inhibant la stimulation des cellules B par le LPS est même mise en évidence lorsque l'adialysat est dilué au 1/4. Cette activité semble dose-dépendante puisqu'en présence d'adialysat dilué au 1/8, les cellules ne présentent pas une stimulation significativement différente de celle des cellules stimulées par le LPS seul.

L'adialysat ne semble donc pas capable de stimuler directement les lymphocytes B. La présence de lymphocytes T paraît nécessaire pour médier les effets de potentialisation de l'action du LPS.

3.2.2.4. Discussion

La fraction non dialysable des produits d'incubation du schistosome a révélé une activité stimulant la prolifération de lymphocytes spléniques de souris CBA in vitro.

Cette activité peut s'exercer sur des lymphocytes cultivés seulement en présence de milieu de culture et s'expliquer par un effet "mitogène" direct de certains lots d'adialysat. Cette propriété de l'adialysat ne semble pas spécifique de l'espèce CBA puisqu'elle a été retrouvée lors de cultures de splénocytes C57 Bl et C3H/He (CHEDID, comm. personnelle). Au cours d'autres expériences, la présence d'adialysat amplifie la stimulation des lymphocytes cultivés en présence de mitogènes T (PHA) ou B (LPS) provoquant une "potentialisation" de l'effet des mitogènes.

La réalisation de gammes de dilutions a permis de montrer que l'activité stimulante était étroitement dépendante de la dose d'adialysat et présentait des optima différents suivant l'activité étudiée ("mitogène" ou "potentialisatrice"). D'autre part, l'activité potentialisatrice de l'adialysat dépend également de la concentration de mitogène employée.

Ainsi, testé sur des lymphocytes stimulés par une dose constante de mitogène, un adialysat peut présenter une activité "mitogène", une activité de potentialisation de la PHA et une activité inhibant l'action du LPS suivant la dilution à laquelle il est employé.

D'autre part, la potentialisation de l'action de la PHA ne s'exerce qu'à certaines concentrations de PHA. Les concentrations optimales et supraoptimales de PHA permettent à l'adialysat d'exprimer sa fonction de potentialisation. Aux doses suboptimales de PHA, au contraire, l'adialysat peut se révéler inhibiteur de la transformation blastique induite par le mitogène.

FOLCH et Coll. (1973) ont mis en évidence dans les splénocytes de rat, une sous-population cellulaire qui est capable d'inhiber la synthèse de DNA des lymphocytes stimulés par des fortes concentrations de PHA. Cette sous-population a la propriété d'adhérer à la laine de verre et est thymo-dépendante (FOLCH et WAKSMAN, 1974a et b). Ces cellules suppressives existent également chez la souris et sont activées lors de la stimulation des splénocytes par des doses infra- ou supra-optimales de PHA (WEBB et JAMIESON, 1976). L'effet potentialisateur induit par l'adialysat sur des lymphocytes cultivés en présence de PHA peut donc s'exercer de deux façons :

- l'adialysat inhibe l'action des cellules suppressives spléniques ;
- l'adialysat stimule directement les lymphocytes répondant aux mitogènes.

Peu d'arguments expérimentaux sont en faveur de la première hypothèse. Les cellules suppressives étant activées par les faibles ou les fortes doses de PHA, il est difficile de concevoir que l'adialysat puisse se comporter comme un inhibiteur des cellules suppressives aux fortes doses de PHA et comme un activateur aux faibles doses de PHA. De plus, à la concentration optimale de PHA, où l'activité des cellules suppressives est minimale, la prolifération cellulaire est tout de même sensiblement augmentée en présence d'adialysat.

La déplétion des splénocytes en cellules qui adhèrent à la laine de verre, permet d'éliminer les macrophages (EISEN et Coll., 1972) et au moins une fraction des cellules suppressives (FOLCH et WAKSMAN, 1973). La potentialisation de l'action de la PHA en présence d'adialysat est retrouvée lorsque les cellules non adhérentes sont mises en culture. Ce phénomène est même largement amplifié aux doses importantes d'adialysat : on peut penser que lorsque l'adialysat est ajouté à une population totale de splénocytes, une partie de l'adialysat est phagocytée par les macrophages.

L'adialysat ne requiert donc pas la présence de macrophages ni de cellules T suppressives pour exercer son effet de potentialisation en présence de PHA. Les lymphocytes B sont également faiblement adhérents (LOWY et BUSSARD, 1974) et en ce qui concerne l'effet de potentialisation de l'adialysat en présence de LPS, aucune conclusion ne peut être tirée de cette expérience, une partie des lymphocytes B ayant été vraisemblablement retenue sur la colonne de laine de verre.

Ces expériences plaident en faveur d'une action de l'adialysat directement au niveau des cellules répondant aux mitogènes.

Au cours d'une expérience préliminaire, un lot d'adialysat a été testé sur des lymphocytes spléniques traités par un sérum anti- θ en présence de complément. Les lymphocytes spléniques récupérés après ce traitement sont en majorité des lymphocytes B (ANDERSSON et Coll., 1972) : ils répondent à une stimulation par le LPS mais ne réagissent plus à un mitogène T (PHA). Aux dilutions testées, l'adialysat ne peut exprimer sa fonction de "potentialisation" du LPS sur les splénocytes traités par le sérum anti- θ . Certains auteurs ont montré que l'activation des cellules B par le LPS pouvait nécessiter la présence de cellules T et que des interactions entre différents types cellulaires étaient nécessaires pour déclencher l'initiation de la prolifération lymphocytaire induite par ce mitogène (KAGNOFF et Coll., 1974 ; SMITH, 1972). Bien que l'adialysat ne déclenche aucune stimulation des lymphocytes traités par un sérum anti- θ , l'existence d'une substance activant les lymphocytes B en présence d'une certaine proportion de lymphocytes T, ne peut être écartée. D'autre part, les activateurs des cellules B agissent selon une courbe dose-réponse très précise (ANDERSSON et Coll., 1972 ; COUTINHO et MOLLER, 1973) et la réalisation d'expériences testant une gamme de dilutions plus importante est indispensable.

Les produits d'incubation du schistosome renferment une masse de composants susceptibles d'interférer dans la réponse lymphocytaire in vitro. Un effet global de stimulation de la prolifération des lymphocytes a pu être mis en évidence dans la fraction non dialysable de l'incubat : cet effet peut résulter de l'action antagoniste ou synergique de plusieurs composants. Jusqu'à présent, la nature physico-chimique de la ou des substances supportant cette activité est totalement inconnue et il

est impossible de les doser dans les différents lots d'adialysat utilisés au cours des expériences. Une étape de fractionnement de l'adialysat et de caractérisation physico-chimique de la fraction stimulante doit être envisagée avant de poursuivre l'étude du mode d'action in vitro.

En conclusion, une activité stimulant la blastogénèse de lymphocytes de souris cultivés in vitro a été mise en évidence dans les composants non dialysables excrétés par les vers adultes de S. mansoni. Un effet "mitogène" ou un effet de "potentialisation" de l'action des mitogènes, tous deux dose-dépendants sont observés selon les lots d'adialysat testés. L'effet de potentialisation dépend également de la dose de mitogène utilisée ; il ne nécessite pas la présence de cellules adhérentes et semble s'exercer directement sur les lymphocytes répondeurs.

3.2.3. SYNTHESE DES RESULTATS ET COMMENTAIRES GENERAUX

L'existence de substances d'origine parasitaire ayant une action sur des cellules lymphoïdes murines cultivées in vitro, a été mise en évidence. Le test que nous avons utilisé, la transformation blastique de splénocytes de souris sous l'influence de mitogènes T et B, nous a permis de constater que les produits d'incubation des schistosomes adultes contenaient des composants doués d'activités antagonistes. D'une part, des constituants de petit poids moléculaire empêchent les lymphocytes T et B de répondre à une stimulation par les mitogènes. D'autre part, des constituants de taille plus importante et non dialysables peuvent exercer une stimulation sur des splénocytes quiescents ou accentuer la prolifération induite par les mitogènes. Des expériences préliminaires cherchant à déterminer le type cellulaire affecté par les substances

parasitaires, permettent de penser que les composants aussi bien inhibiteurs que stimulants n'agissent pas par l'intermédiaire des macrophages ni des cellules suppressives contenues dans les splénocytes. L'action inhibitrice du dialysat ainsi que l'action de potentialisation de l'adialysat s'exercent, en effet, sur des populations débarrassées des cellules adhérentes. Ces données expérimentales plaident donc en faveur d'une intervention directe des substances libérées par le parasite au niveau des lymphocytes répondant aux mitogènes ; toutefois, le test de ces substances sur des populations lymphocytaires purifiées paraît indispensable pour confirmer cette hypothèse.

L'intervention de ces substances biologiques au niveau des cellules lymphoïdes a été démontrée dans un test réalisé in vitro, mais des arguments expérimentaux montrent qu'elles sont capables d'interférer dans certaines stimulations du système immunitaire in vivo :

- L'injection de la fraction non dialysable des produits d'incubation des schistosomes entraîne un retard et une diminution de la mortalité des souris infectées par une forte dose de bactéries (Klebsiella). Cette protection est du même ordre que celle induite par injection de LPS (CHEDID, communication personnelle) ;
- Une diminution des cellules formant des plages (PFC) anti-globules rouges est observée chez la souris si on injecte la fraction dialysable de l'incubat en même temps que les globules rouges de mouton immunisants. Par contre, l'injection de la fraction non dialysable augmente le nombre de PFC dirigés contre le TNP, lorsque les souris sont immunisées par des globules rouges couplés à un haptène, le TNP (DELEFORTRIE, communication personnelle). Ces expériences préliminaires sont actuellement poursuivies afin d'éclaircir le mécanisme d'action de ces substances in vivo.

Mais le problème fondamental est de déterminer si ces constituants parasitaires sont libérés in vivo et d'analyser le rôle qu'ils jouent dans la réponse immune de l'hôte, au cours de l'infection.

- Les expériences de CAPRON et Coll. (1977) montrent que la réactivité aux mitogènes des lymphocytes de rats est augmentée au cours des deux premières semaines de l'infection puis est considérablement déprimée. L'activité des fractions dialysables et non dialysables de sérums de rats infectés a été comparée à celle de sérums de rats sains. Une activité inhibitrice a été mise en évidence dans les fractions dialysables de sérums de plus de deux semaines d'infection. A l'inverse, les fractions non dialysables témoignent d'une activité potentialisatrice, dès la première semaine, sur la transformation lymphoblastique induite par les mitogènes. Il apparaît donc que les schistosomes libèrent également in vivo, des facteurs antagonistes capables d'interférer avec la réponse immune de l'hôte.

- Un autre fait expérimental permet de penser que la sécrétion de facteurs parasitaires a bien lieu chez l'hôte infecté. Le phénomène de potentialisation de la réponse IgE à l'ovalbumine qui jusqu'alors avait été uniquement provoqué lors de l'infection par des vers vivants, peut être partiellement reproduit par injection de la fraction non dialysable de l'incubat (ROUSSEAUX-PREVOST, 1977).

On peut donc raisonnablement admettre que les substances que nous avons caractérisées in vitro, sont libérées dans l'organisme de l'hôte au cours de l'infection et que, par ce moyen, le parasite est capable de moduler la réponse immune qu'il a déclenchée. Si dans les conditions artificielles de recueil de l'incubat, le schistosome adulte produit conjointement des substances à activités antagonistes dont la résultante in vitro, est une immunodépression, il

semble qu'on assiste, in vivo, à une production différentielle de ces composants en fonction des différentes phases du cycle biologique du parasite. Pendant le début de l'infection, l'effet stimulant prédomine tandis que lors de l'implantation des vers adultes, se manifestent à la fois une dépression des fonctions T et une stimulation anormale des lymphocytes B. Le parasite induirait donc une stimulation du système immunologique pendant les stades précoces de son évolution, peut être pour ne pas charger l'organisme d'une masse parasitaire qui lui serait fatale, puis dans un second temps, assurerait sa survie en diminuant la réponse immune à médiation cellulaire et en détournant la production d'anticorps vers la synthèse anarchique d'immunoglobulines non spécifiques et d'auto-anticorps. La mise en évidence de substances parasitaires capables d'interférer de manière active dans les mécanismes de la réponse immune de l'hôte apporte donc un nouvel élément de compréhension de la relation hôte-parasite qui reste, cependant très complexe.

CONCLUSION

Le travail que nous avons effectué s'insère dans le vaste cadre de l'étude des relations hôte-parasite. Nous avons choisi d'aborder ce sujet sous l'angle immunologique puisqu'il pose le problème fondamental de la tolérance de l'organisme vis-à-vis du parasite qui représente pourtant une masse antigénique considérable.

Notre but était de rechercher si le système immunologique d'un hôte sensible à l'infection comme la souris était affecté par la présence du parasite. L'étude de différents paramètres immunologiques nous a conduit à penser qu'un dysfonctionnement du système immunitaire de la souris était induit par le parasite.

En effet, à partir de 6 semaines d'infection alors que les schistosomes ont atteint le stade adulte, nous avons observé la présence d'auto-anticorps en l'absence d'auto-immunité à médiation cellulaire ainsi qu'une augmentation de la synthèse d'anticorps lors de l'immunisation par un antigène thymoindépendant. Ces observations suggèrent que les cellules B synthétisent des anticorps de façon incontrôlée et des expériences doivent être poursuivies afin de préciser si les cellules T suppressives n'assurent plus leur contrôle, ou si l'hyperactivité des cellules B est provoquée simplement par la présence d'un mitogène parasitaire.

De plus, la réactivité des cellules T à la PHA est diminuée et d'autres auteurs ont mis en évidence diverses altérations des fonctions T.

Des expériences visant à préciser ce dysfonctionnement, qui associe comme chez les souris auto-immunes NZB,

une diminution des fonctions T et une hyperactivité des cellules B, pourraient aboutir à mieux comprendre les mécanismes de maintien de l'homéostasie.

Sur un plan parasitologique, la stimulation des cellules T par des substances adjuvantes injectées à des souris infectées semble une voie d'étude intéressante. Peut-on par ce moyen restituer à la souris parasitée la possibilité de se comporter comme un hôte résistant et induire ainsi un rejet des vers ?

L'étude de l'origine des altérations de la réponse immune provoquées par une infection parasitaire fait actuellement l'objet de nombreuses recherches et porte sur le rôle des antigènes circulants, des complexes immuns et des anticorps bloquants. Il faut, actuellement, prendre également en considération le rôle des facteurs libérés par le parasite et capables d'interférer dans la réponse de cellules lymphoïdes. En effet, nous avons pu mettre en évidence dans un même extrait parasitaire, des substances à activité antagoniste capables de déprimer ou au contraire de stimuler la réactivité lymphocytaire in vitro.

Le problème fondamental reste de déterminer la responsabilité de ces substances dans l'induction des modifications de la réponse immunologique constatées chez la souris infectée. Avant d'entamer cette étude, il semble qu'une étape de fractionnement et de caractérisation physicochimique des substances supportant les activités stimulante et inhibitrice soit indispensable afin d'être capable de les doser et de les identifier in vivo.

Cependant, l'étude de ces substances peut conduire à des applications qui débordent l'immunologie parasitaire. Si leur origine est parasitaire, nous avons montré que ces substances peuvent affecter la transformation blastique non spécifique de lymphocytes stimulés par des mitogènes.

Leur action s'exerce sur des lymphocytes de souris, de rat, d'homme, et des expériences préliminaires montrent qu'elles peuvent diminuer ou au contraire augmenter le nombre de PFC antiglobules rouges de mouton. Les facteurs libérés par le schistosome ont donc une action biologique générale. Si, actuellement, il est peu concevable d'utiliser le schistosome comme source de substances immunomodulatrices, la purification et l'analyse physicochimique de la substance à activité immunodépressive qui a un faible poids moléculaire, pourrait déboucher sur la synthèse chimique d'un immunodépresseur.

En immunologie parasitaire, ce travail semble apporter une nouvelle conception de la relation hôte-parasite. La production par le parasite de substances interférant dans la réactivité de cellules lymphoïdes incite à penser que le parasite n'est pas simplement toléré par son hôte mais qu'il joue un rôle actif dans l'établissement d'un état immunologique favorable à sa survie.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

AAL, H.A., EL ATRIBI, A., HAFIZ, A.A. & AIDAROS, M., 1975.
Azoospermia in bilharziasis and the presence of sperm
antibodies.

J. Reprod. Fert., 42, 403 - 406.

ABDIN, Z.H., ABUL FALD, M.A.M. & EL FIL, S., 1970.
Rheumatoid factor in cases of rheumatic fever and parasitic
infestation in children.

Ann. Rheum. Dis., 29, 660 - 662.

ACKERMAN, S.B. & SEED, J.R., 1976.

Effects of Trypanosoma brucei gambiense infections in
Microtus montanus on susceptibility to Ehrlich's tumours.
Infect. Immun., 13, 388 - 391.

ADNER, M.M., ALTSTATT, L.B. & CONRAD, M.E., 1968.

Coomb's positive hemolytic disease in malaria.

Annals of Internal Medicine, 68, 33 - 38.

ALLISON, A.C., 1973.

Mechanisms of tolerance and auto-immunity.

Ann. Rheum. Dis., 32, 283 - 293.

ALLISON, A.C., DENMAN, A.M. & BARNES, R.D., 1971.

Cooperating and controlling functions of thymus-derived
lymphocytes in relation to auto-immunity.

Lancet, 2, 135 - 140.

ALLT, G., EVANS, E.M.E., EVANS, D.H.L. & TARGETT, G.A.T.,
1971.

Effect of infection with trypanosomes on the development
of experimental allergic neuritis in rabbits.

Nature (London), 233, 197 - 199.

ANDERSSON, B. & BLOMGREN, H., 1971.

Evidence for thymus-independent humoral antibody production in mice against polyvinylpyrrolidone and E. coli lipopolysaccharide.

Cell. Immunol., 2, 411 - 424.

ANDERSSON, J., MOLLER, G. & SJÖBERG, O., 1972.

Selective induction of DNA synthesis in T and B lymphocytes.

Cell. Immunol., 4, 381 - 393.

ARAUJO, F.G. & REMINGTON, J.S., 1972.

Immune response to intra-cellular parasites : suppression by antibody.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 139, 254 - 258.

ASHERSON, G.L., 1967.

Antigen mediated depression of delayed hypersensitivity.

Br. Med. Bull., 23, 24 - 29.

BACH, M.A. & NIAUDET, P., 1976.

Thymic function in NZB mice. II - Regulatory influence of a circulating thymic factor on antibody production against polyvinylpyrrolidone in NZB mice.

J. Immunol., 117, 760 - 764.

BAIRD, L.G. & KAPLAN, A.M., 1977.

Macrophage regulation of mitogen-induced blastogenesis.

II - Mechanism of inhibitor.

Cell. Immunol., 28, 36 - 50.

BAKER, P.J., 1975.

Homeostatic control of antibody responses : a model based on the recognition of cell associated antibody by regulatory T cells.

Transplant. Rev., 26, 3 - 20.

BAKER, P.J., REED, N.D., STASHAK, P.W., AMSBAUGH, D.F. & PRESCOTT, B., 1973.

Regulation of the antibody response to type III pneumococcal polysaccharide. Nature of regulatory cells.

J. Exp. Med., 137, 1431 - 1441.

BARKER, L.R., 1971.

Experimental malaria : effects upon the immune response to different antigens.

J. Infect. Dis., 123 : 99 - 101.

BARRIGA, O.O., 1975.

Selective immunodepression in mice by Trichinella spiralis extracts and infections.

Cell. Immunol., 17, 306 - 309.

BASH, J.A. and WAKSMAN, B.H., 1975.

The suppressive effect of immunization on the proliferative responses of rat T cells in vitro.

J. Immunol., 114, 782 - 787.

BOMFORD, R. & WEDDERBURN, N., 1973.

Depression of immune response to Moloney leukemia virus by malarial infection.

Nature, 242, 471 - 473.

BOROS, D.L., PELLE, R.P. & WARREN, K.S., 1975.

Spontaneous modulation of granulomatous hypersensitivity in Schistosomiasis mansoni.

J. Immunol., 114, 1437 - 1441.

BRITO, T., GUNJI, J., CAMARGO, M.E., PENNA, D.O. & SILVA, L.C., 1970.

Advanced kidney disease in patients with hepatosplenic Manson's schistosomiasis.

Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo, 12, 225 - 235.

BRITO, I.V., PEEL, M.M. & REE, G.H., 1976.

Immunological response to tetanus toxoid during a schistosomal infection in mice.

J. Trop. Med. Hyg., 79, 161 - 163.

CAPRON, A., BIGUET, J., ROSE, F. & VERNES, A., 1965.

Les antigènes de S. mansoni. II - Etude immunoélectrophorétique comparée de divers stades larvaires et des adultes des deux sexes : Aspects immunologiques des relations hôte-parasite de la cercaire et de l'adulte de S. mansoni.

Ann. Inst. Pasteur, 109, 798.

CAPRON, A., BIGUET, J., VERNES, A. & AFCHAIN, D., 1968.

Structure antigénique des Helminthes. Aspects immunologiques des relations hôte-parasite.

Path. Biol., 16, 121 - 138.

CAPRON, A., CAMUS, D., DESSAINT, J.P. & LE BOUBENNEC-FISCHER, E., 1977.

Altération de la réponse immune au cours des infections parasitaires.

Ann. Immunol. (Institut Pasteur), 128C, 541 - 555.

CAPRON, A., DESSAINT, J.P., CAMUS, D. & CAPRON, M., 1976.

Some immune mechanisms in host-parasite relationship.

in "The biochemistry of parasites and host-parasite relationships". 2nd International Symposium (p. 263 - 282). Janssen Pharmaceutica, Beerse, Belgium.

CAPRON-DUPONT, M., 1974.

Les mécanismes de cytotoxicité dans la bilharziose humaine et expérimentale. Rapport avec l'immunité.

Thèse de Doctorat en Pharmacie, LILLE.

CAPRON, A., WATTRE, P., CAPRON, M. & LEFEBVRE, M.N., 1972.
Influence du parasitisme à Dipetalonema viteae et à
Schistosoma mansoni sur la croissance de tumeurs.
C.R. Acad. Sc. Paris, 275, 719 - 722.

CARLIER, Y., CAMUS, D., PRATA, A. & CAPRON, A., 1976.
Skin tests and serological investigations for autoimmune
reactivity to DNA, liver and kidney antigens in human
Schistosoma mansoni infections.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 70, 530 - 531.

CHEN, C. & HIRSCH, J.G., 1972.
The effects of mercaptoethanol and of peritoneal macrophages
on the antibody-forming capacity of non adherent mouse spleen
cells in vitro.
J. Exp. Med., 136, 604 - 617.

CHERNYAKHOVSKAYA, I.Y., SHAGHISJAN, H.S., SLAVINA, E.G. &
SVET-MOLDAVSKY, G.J., 1972.
Helminths and allotransplantation.
Rev. Europ. Etudes Clin. et Biol., 17, 395 - 399.

COHEN, S., 1974.
The immune response to parasites.
in "Parasite in the immunized host : mechanisms of survival".
Associated Scientific Publishers; Amsterdam, p. 3 - 20.

COHEN, A. & SCHLESINGER, M., 1970.
Absorption of guinea pig serum with agar. A method for
elimination of its cytotoxicity for murine thymus cells.
Transplantation, 10, 130 - 132.

COHN, Z.A. & WIENER, E., 1963.
The particulate hydrolases of macrophages. I - Comparative
enzymology, isolation and properties.
J. Exp. Med., 118, 991 - 1008.

COLLEY, D.G., 1975.

Immune responses to a soluble schistosomal egg antigen preparation during chronic primary infection with Schistosoma mansoni.

J. Immunol., 115, 150 - 156.

COLLINS, F.M., BOROS, D.L. & WARREN, K.S., 1972.

The effect of Schistosoma mansoni infection on the response of mice to Salmonella entericus and Listeria monocytogenes.

J. Inf. Diseases, 125, 249 - 256.

COOPER, R.C., PERRY, S. & BREITMAN, T.R., 1966.

Pyrimidine metabolism in human leukocytes. I - Contribution of exogenous thymidine to DNA-Thymine and its effect on thymine nucleotide synthesis in leukemia leukocytes.

Cancer Res., 26, 2267 - 2275.

COUTINHO, A. & MOLLER, G., 1973.

Mitogenic properties of the thymus-independent antigen pneumococcal polysaccharide SIII.

Eur. J. Immunol., 3, 608 - 612.

COUTINHO, A. & MOLLER, G., 1975.

Thymus-independent B-cell induction and paralysis.

Adv. Immun., 21, 113 - 236.

COX, F.E.G., 1975.

Enhanced Trypanosoma musculi infections in mice with concomitant malaria.

Nature, 258, 148 - 149.

COX, F.E.G., 1976.

Increased virulence of trypanosome infections in mice with malaria or piroplasmiasis : immunological considerations. in "The Biochemistry of Parasites and host-parasite relationships". 2nd international symposium. Janssen Pharmaceutica, Beerse, Belgium, p. 54 - 55.

CRANDALL, R.B. & CRANDALL, C.A., 1972.

Trichinella spiralis : Immunologic response to infection in mice.

Exp. Parasitol., 31, 378 - 398.

CURTAIN, C.C. & SIMONS, M.J., 1972.

Tissue binding antibodies in tropical populations.

Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 66, 292 - 295.

CYPESS, R.H., LUBINIECKI, A.S. & HAMMON, W.M., 1973.

Immunosuppression and increased susceptibility to japanese B encephalitis virus in Trichinella spiralis infected mice.

Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.), 143, 469 - 473.

DALLDORF, G., LINSELL, C.A., BARHART, F.E. & MARTYN, R., 1964.

An epidemiological approach to the lymphomas of African children and Burkitt's sarcoma of the jaws.

Perspect. Biol. Med., 7, 435 - 449.

DAMIAN, R.T., 1964.

Molecular mimicry : antigen sharing by parasite and host and its consequences.

Amer. Naturalist, 98, 129 - 149.

DAMIAN, R.T., 1967.

Common antigens between adult S. mansoni and the laboratory mouse.

J. Parasit., 53, 60 - 64.

DANIEL, T.M., WEYAND, J.G.M. & STAVITSKY, A.B., 1963.

Micromethods for the study of proteins and antibodies.

IV - Factors involved in the preparation and use of a stable preparation of formalinized, tannic acid treated, protein sensitized erythrocytes for detection of antigen and antibody.

J. Immunol., 90, 741 - 750.

DESSAINT, J.P., 1974.

Les anticorps IgE spécifiques dans les affections parasitaires.
Thèse de Doctorat en Médecine, LILLE.

DESSAINT, J.P., CAMUS, D. & CAPRON, A., 1976.

Suppression de l'activité lymphocytaire in vitro par des
facteurs produits par Schistosoma mansoni.

Ann. Immunol. (Institut Pasteur), 127C, 104.

DESSAINT, J.P., CAMUS, D. & CAPRON, A., 1977a.

Dépression de la prolifération lymphocytaire par un facteur
libéré par Schistosoma mansoni.

Ann. Immunol. (Institut Pasteur), 128C, 57 - 58.

DESSAINT, J.P., CAMUS, D., FISCHER, E. & CAPRON, A., 1977b.

Inhibition of lymphocyte proliferation by factor(s) produced
by Schistosoma mansoni.

Eur. J. Immunol., 7, 624 - 629.

DEWITT, W.B. & WARREN, K.S., 1959.

Hepato-splenic schistosomiasis in mice.

Amer. J. Trop. Med. Hyg., 8, 440 - 446.

EDINGTON, G.M., von LICHTENBERG, F., NWABUEA, I., TAYLOR, J.R.
& SMITH, J.H., 1970.

Pathological effects of schistosomiasis in Ibadan, Western
State of Nigeria. I - Incidence and intensity of infection
distribution and severity of lesions.

Am. J. Trop. Med. Hyg., 19, 982 - 995.

EIDINGER, D., 1964.

A modified tanned cell haemagglutination procedure for the
study of organ antigen-antibody systems.

Nature, 201, 1046 - 1047.

EISEN, S.A., WEDNER, H.J. & PARKER, C.W., 1972).

Isolation of pure human peripheral blood T lymphocytes using nylon wool columns.

Immunol. Commun., 1, 571 - 573.

ESURUOSO, G.O., 1976

The demonstration in vitro of the mitogenic effects of trypanosomal antigen on the spleen cells of normal, athymic and cyclophosphamide-treated mice.

Clin. Exp. Immunol., 23, 314 - 317.

EVANS, A.S. & STIREWALT, M.A., 1957.

Serologic reactions in Schistosoma mansoni infections.

III - Ionographic fractionation of sera of mice with progressive disease.

Exp. Parasit., 6, 8 - 17.

FARAH, F.S., LAZARY, S. & DE WECK, A., 1976.

The effect of Leishmania tropica on stimulation of lymphocytes with phytohaemagglutinin.

Immunology, 30, 629 - 634.

FARR, R.S., 1958.

A quantitative immunochemical measure of the primary interaction between.* I - BSA and antibody.

J. Infect. Dis., 103, 239 - 262.

FAUBERT, G.M., 1976.

Depression of the plaque forming cells to sheep red blood cells by the new-born larvae of Trichinella spiralis.

Immunology, 30, 485 - 489.

FAUBERT, G.M. & TANNER, C.E., 1971.

Trichinella spiralis : Inhibition of sheep hemagglutinins in mice.

Exp. Parasitol., 30, 120 - 123.

FAUBERT, G.M. & TANNER, C.E., 1974a.

The suppression of sheep rosette forming cells and the inability of mouse bone marrow cells to reconstitute competence after infection with the nematode Trichinella spiralis. Immunology, 27, 501 - 505.

FAUBERT, G.M. & TANNER, C.E., 1974b.

Enlargement of lymph nodes during infection, a preliminary histological study of this phenomenon in Trichinellosis. Proceedings of the Third International Conference on Trichinella. Ed. Kim C.W. In text Educational Publishers New York, p. 353.

FAUBERT, G.M. & TANNER, C.E., 1975.

Leucoagglutination and cytotoxicity of the serum of infected mice and of extracts of Trichinella spiralis larvae and the capacity of infected mouse sera to prolong skin allografts. Immunology, 28, 1041 - 1050.

FOLCH, H. & WAKSMAN, B.H., 1973.

Regulation of lymphocyte responses in vitro. V - Suppressor activity of adherent and nonadherent rat lymphoid cells. Cell. Immunol., 9, 12 - 24.

FOLCH, H. & WAKSMAN, B.H., 1974a.

The splenic suppressor cell. I - Activity of thymo-dependent adherent cells : changes with age and stress. J. Immunol., 113, 127 - 139.

FOLCH, H. & WAKSMAN, B.H., 1974b.

The splenic suppressor cell. II - Suppression of the mixed lymphocyte reaction by thymus-dependent adherent cells.

J. Immunol., 113, 140 - 144.

FOLCH, H., YOSHINAGA, M. & WAKSMAN, B.H., 1973.

Regulation of lymphocyte responses in vitro. III - Inhibition by adherent cells of the T-lymphocyte response to phytohemagglutinin.

J. Immunol., 110, 835 - 839.

FREEMAN, J., HUDSON, K.M., LONGSTAFFE, J.A. & TERRY, R.J., 1973
Immunodepression in Trypanosoma infections.

Parasitology, 67 : XXIII.

FREEMAN, T., SMITHERS, S.R., TARGETT, G.A.T., WALKER, P.J., 1970.

Specificity of immunoglobulin G in rhesus monkeys infected with Schistosoma mansoni, Plasmodium knowlesi and Trypanosoma brucei.

J. Infect. Dis., 121, 401 - 406.

GERSHON, R.K., 1974.

T cell control of antibody production.

Contemp. Top. Immunobiol., 3, 1 - 40.

GERSHON, R.K., GERY, I. & WAKSMAN, B.H., 1974.

Suppressive effects of in vivo immunization on PHA responses in vitro.

J. Immunol., 112, 215 - 221.

GERSHON, R.K. & KONDO, K., 1971.

Antigenic competition between heterologous erythrocytes.

I - Thymic dependency.

J. Immunol., 106, 1524 - 1531.

GERSHWIN, M.E. & STEINBERG, A.D., 1973.

Loss of suppressor function as a cause of lymphoid malignancy.
Lancet, 2, 1174 - 1176.

GIRMANN, G., PEES, H., SCHWARZE, G. & SCHEURLLEN, P.G., 1976.

Immunosuppression by micromolecular fibrinogen degradation products in cancer.

Nature, 259, 399 - 401.

GREAVES, M.F. & JANOSSY, G., 1972.

Elicitation of selective T and B lymphocyte responses by cell surface binding ligands.

Transplant. Rev., 11, 87 - 130.

GOODWIN, I.G., GREEN, D.G., GUY, M.W. & VOLLER, A., 1972.

Immunosuppression during trypanosomiasis.

Br. J. Exp. Path., 53, 40 - 43.

GOODWIN, L.G., 1970.

Pathology of African trypanosomiasis.

Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 64, 797.

GREENWOOD, B.M., 1968.

Autoimmune disease and parasitic infections in Nigerians.

Lancet, 17, 380 - 382.

GREENWOOD, B.M., 1974.

Possible role of a B-cell mitogen in hypergammaglobulinemia in malaria and trypanosomiasis.

Lancet, 16, 435 - 436.

GREENWOOD, B.M., HERRICK, E.M. & HOLBOROW, E.J., 1970a.

Speckled antinuclear factor in african sera.

Clin. Exp. Immunol., 7, 75 - 83.

GREENWOOD, B.M., HERRICK, E.M. & VOLLER, A., 1970b.
Suppression of autoimmune disease in NZB and (NZBxNZW)F1
hybrid mice by infection with malaria.
Nature, 226, 266 - 267.

GREENWOOD, B.M., HERRICK, E.M. & VOLLER, A., 1970c.
Can parasitic infection suppress autoimmune disease.
Proc. R. Soc. Med., 63, 19 - 20.

GREENWOOD, B.M., PLAYFAIR, J.M. & TORRIGIANI, G., 1970d.
Suppression of adjuvant arthritis by infection with a strain
rodent malaria parasite, Plasmodium berghei.
Ann. Rheum. Dis., 29, 321 - 323.

GREENWOOD, B.M., MULLER, A.S. & VALKENBURG, H.A., 1971a.
Rheumatoid factor in nigerian sera.
Clin. Exp. Immunol., 8, 161 - 173.

GREENWOOD, B.M., PLAYFAIR, J.H. & TORRIGIANI, G., 1971b.
Immunosuppression in murine malaria. I - General characte-
ristics.
Clin. Exp. Immunol., 8, 467 - 478.

GREENWOOD, B.M. & VICK, R.M., 1975.
Evidence for a malaria mitogen in human malaria.
Nature, 257, 592 - 594.

GREENWOOD, B.M. & VOLLER, A., 1970.
Suppression of autoimmune disease in New Zealand mice
associated with infection with malaria. I - (NZBxNZW)F1
hybrid mice.
Clin. Exp. Immunol., 7, 793 - 803.

GREENWOOD, B.M., WHITTLE, H.C. & MOLYNEUX, D.H., 1973.
Immunosuppression in gambian trypanosomiasis.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 67, 846 - 850.

HELLSTROM, K.E. & HELLSTROM, I., 1974.
Lymphocyte-mediated cytotoxicity and blocking serum activity
to tumor antigens.
Adv. Immunol., 18, 209 - 277.

HERSH, E.M. & HARRIS, J.E., 1968.
Macrophage-lymphocyte interaction in the antigen-induced
blastogenic response of human peripheral blood leukocytes.
J. Immunol., 100, 1184 - 1194.

HILLYER, G.V., 1971.
DNA and antibodies to DNA in the serum of hamsters and man
infected with schistosomes.
Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.), 136, 880 - 883.

HILLYER, G.V., 1973.
Schistosome deoxyribonucleic acid (DNA) antibodies to DNA
in schistosome infections and their possible role in renal
pathology.
Bol. Asoc. Med. Puerto Rico, 65 (6), Suppl 1 - 20.

HILLYER, G.V. & FRICK, L.P., 1967.
Immunoprecipitins in Schistosoma mansoni infections. I -
Mouse infections.
Exper. Parasit., 20, 321 - 325.

HILLYER, G.V. & LEWERT, R.M., 1974.
Studies on renal pathology in hamsters infected with
S. mansoni and S. japonicum.
Amer. J. Trop. Med. Hyg., 23, 404 - 411.

HOUBA, V. & ALLISON, A.C., 1966.

M antiglobulins (rheumatoid factor like globulins) and other Y globulins in relation to tropical parasitic infections.

Lancet, 16, 848 - 852.

HOUBA, V., BROWN, K.N. & ALLISON, A.C., 1969.

Heterophile antibodies, M-antiglobulins and immunoglobulins in experimental trypanosomiasis.

Clin. Exp. Immunol., 4, 113 - 123.

HOWARD, J.G., CHRISTIE, G.H., COURTNEY, B.M., LEUCHARS, E. & DAVIES, A.J.S., 1971.

Studies on immunological paralysis. VI - Thymic independence of tolerance and immunity to type III pneumococcal polysaccharide.

Cell. Immunol., 2, 614 - 626.

JARRETT, E.E. & FERGUSON, A., 1974.

Effect of T cell depletion on the potentiated reagin response.

Nature, 250, 420 - 422.

JAYAWARDENA, A.N., TARGETT, G.A.T., LEUCHARS, E., CARTER, R.L., DOENHOFF, M.J. & DAVIES, A.J.S., 1975.

T cell activation in murine malaria.

Nature, 258, 149 - 151.

JAYAWARDENA, A.N. & WAKSMAN, B.H., 1977.

Suppressor cells in experimental trypanosomiasis.

Nature, 265, 539 - 541.

JERUSALEN, C., 1968.

Relationship between malaria infection (Plasmodium berghei) and malignant lymphoma in mice.

Z. Tropenmed. Parasit., 19, 94.

JONES, J.F., CRANDALL, C.A. & CRANDALL, R.B., 1976.

T-dependant suppression of the primary antibody response to sheep erythrocytes in mice infected with Trichinella spiralis.

Cell. Immunol., 27, 102 - 110.

JONES, C.E., LEWERT, R.M. & ALI OZCEL, M., 1976.

Anti-liver antibody in rabbits infected with Schistosoma japonicum.

Amer. J. Trop. Med. Hyg., 25, 613 - 616.

KAGNOFF, M.F., BILLINGS, P. & COHN, M., 1974.

Functional characteristics of Peyer's patch lymphoid cells.

II - Lipopolysaccharide is thymus dependent.

J. Exp. Med., 139, 407 - 413.

KASAHARA & SHIOIRI-NAKANO, 1976.

Splenic suppressing factor : purification and characterization of a factor suppressing thymidine incorporation into activated lymphocytes.

J. Immunol., 116, 1251 - 1256.

KERBEL, R.S. & EIDINGER, D., 1972.

Enhanced immune responsiveness to a thymus-independant antigen early after adult thymectomy : evidence for short-lived inhibitory thymus derived cells.

Eur. J. Immunol., 2, 114 - 118.

KIKKAWA, Y., KAMIMURA, K., HAMAJIMA, T., SEKGUCHI, T.,

KAWAI, T., TAKENAKA, M. & TADA, T., 1973.

Thymic alymphoplasia with hyper-IgE-globulinemia.

Paediatrics, 51, 690 - 696.

KIRCHNER, H., HEBERMAN, R.B., GLASER, M. & LAVRIN, D.H., 1974.
Suppression of in vitro lymphocyte stimulation in mice
bearing primary moloney sarcoma virus induced tumors.
Cell. Immunol., 13, 32 - 40.

KIRCHNER, H., MUCHMORE, A.V., CHUSED, T.M., HOLDEN, H.V.
& HEBERMAN, R.B., 1975.
Inhibition of proliferation of lymphoma cells and T lympho-
cytes by suppressor cells from spleens of tumor bearing mice.
J. Immunol., 114, 206 - 210.

KLEIN, F., MATTERN, P., KORNMANBOSCH, H.J., 1970.
Experimental induction of rheumatoid factor-like substances
in animal trypanosomiasis.
Clin. Exp. Immunol., 7, 851 - 863.

KLOETZEL, K., FALEIROS, J.J., MENDES, S.R., STANLEY, C.T. &
ARIAS, H.S., 1973.
Concomitant infection of albino mice by Trypanosoma cruzi
and Schistosoma mansoni : parasitological parameters.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 67, 652 - 658.

KOJIMA, S. & OVARY, Z., 1975.
Effect of Nippostrongylus brasiliensis infection on anti-hapten
IgG antibody response in the mouse. II - Mechanism of poten-
tiation of the IgE antibody response to heterologous hapten-
carrier conjugate.
Cell. Immunol., 17, 383 - 391.

KREIER, J.P. & DILLEY, D.A., 1969.
Plasmodium berghei : Nucleic acid agglutinating antibodies
in rats.
Exp. Parasitol., 26, 175 - 180.

KRETTLI, A.U. & NUSSENZWEIG, R., 1974.

Depletion of T and B lymphocytes during malarial infection.
Cell. Immunol., 13, 440 - 446.

KURATA, M., 1966.

Auto-immunity in schistosomiasis japonica.
Kurume med. J., 13, 177 - 192.

KURATA, M. & NODA, R., 1965.

Detection of circulating autoantibodies in experimental schistosomiasis japonica.
Kurume med. J., 12, 1 - 6.

LEHMAN, J.S., HIGASHI, G.I., BASSILY, S. & FARID, Z., 1972.

Rheumatoid factors in Salmonella and Schistosoma infections.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 66, 125 - 129.

LEMKE, H., COUTINHO, A., OPITZ, H.G. & GRONOWICZ, E., 1975.

Macrophages suppress direct B-cell activation by lipopolysaccharide.
Scand. J. Immunol., 4, 707 - 720.

LEWERT, R.M., YOGORE, M.G.Jr & HILLYER, G.V., 1970.

Autoimmune serologic reactions in schistosomiasis.
J. Parasit., 56, 441.

LINDSLEY, H.B., KYSELA, S. & STEINBERG, A.D., 1974.

Nucleic acid antibodies in African trypanosomiasis : Studies in Rhesus monkeys and man.
J. Immunol., 113, 1921 - 1927.

LONGSTAFFE, J.A., 1974.

Immunodepression in trypanosomiasis : attempts to characterize the response of thymus dependant lymphocytes in infected guinea pigs.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 68, 150.

LOOSE, L.D., COOK, J.A. & DI LUZIO, N.R., 1972.

Malarial immunosuppression, a macrophage mediated defect.
Proc. Helminthol. Soc. Washington, 39, 484 - 491.

LOOSE, L.D. & DI LUZIO, N.R., 1973.

Auto-immunity in Plasmodium berghei malaria.
Microbios, 8, 111 - 115.

LOW, G.C. & CASTELLANI, A., 1903.

Reports of the Sleeping Sickness Commission of the Royal Society, 2, 14.

LOWY, I. & BUSSARD, A.E., 1974.

A simple method for the removal of antibody forming cells from whole spleen cells populations.
J. Immunol. Methods, 5, 107 - 110.

LUBINIECKI, A.S. & CYPESS, R.H., 1975.

Immunological sequelae of Trichinella spiralis infection in mice : effect on the antibody responses to sheep erythrocytes and japanese B encephalitis virus.
Infect. Immun., 11, 1306 - 1311.

MAC GREGOR, I.A. & BARR, M., 1962.

Antibody response to tetanus toxoid inoculation in malarious and non malarious Gambian children.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 36, 364 - 367.

MAC KENZIE, A.R. & BOREHAM, P.F.L., 1974.

Auto-immunity in Trypanosome infections. I - Tissue autoantibodies in Trypanosoma brucei infections of the rabbit.
Immunology, 26, 1225 - 1238.

MACKENZIE, A.R. & FACER, C.A., 1974.

Autoimmunity in trypanosome infections. II - Anti-fibrin/fibrinogen (anti-F) autoantibody in Trypanosoma brucei infections of the rabbit.

Int. J. Parasitol., 4, 601 - 607.

MAHIEU, P., LAMBERT, P. & MIESCHER, P.A., 1974.

Detection of antiglomerular basement membrane antibodies by a radioimmunological technique. Clinical applications in human nephropathies.

J. Clin. Invest., 54, 128 - 137.

MANSFIELD, J.M., CRAIG, S.A. & STELZER, G.T., 1976.

Lymphocyte function in experimental african trypanosomiasis : Mitogenic effects of trypanosome extracts in vitro.

Infect. Immun., 14, 976 - 981.

MANSFIELD, J.M. & KREIER, J.P., 1972.

Auto-immunity in experimental Trypanosoma congolense infections of rabbits.

Infect. Immun., 5, 648 - 656.

MANSFIELD, J.M. & WALLACE, J.H., 1974.

Suppression of cell-mediated immunity in experimental african trypanosomiasis.

Infect. Immun., 10, 335 - 339.

MOLLER, G., 1970.

Induction of DNA synthesis in human lymphocytes interaction between non-specific mitogens and antigens.

Immunology, 19, 583 - 598.

MONIER, J.C. & SEPTJIAN, M., 1974.

Auto-immunité. Les faits, les mécanismes, les hypothèses.
Lyon Médical, 231, 99 - 121.

MOORE, D.L., HEYWORTH, B. & BROWN, J., 1974.

PHA-induced lymphocyte transformations in leucocyte cultures from malarious, malnourished and control gambian children.
Clin. Exp. Immunol., 17, 647 - 656.

MOTA-SANTOS, T.A., GAZZINELLI, G., RAMALHO-PINTO, F.J.,
PELLEGRINO, J. & da SILVA, W.D., 1976.

Immunodepression in mice following S. mansoni infection.
Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo, 18, 246 - 250.

MURRAY, P.K., JENNINGS, F.W., MURRAY, M. & URQUHART, G.M.,
1974a.

The nature of immunosuppression in Trypanosoma brucei infections in mice. I - The role of the macrophage.
Immunology, 27, 815 - 824.

MURRAY, P.K., JENNINGS, F.W., MURRAY, M. & URQUHART, G.M.,
1974b.

The nature of immunosuppression in Trypanosoma brucei infections in mice. II - The role of the T and B lymphocytes.
Immunology, 27, 825 - 840.

MURRAY, P.K., URQUHART, G.M., MURRAY, M. & JENNINGS, F.W.,
1973.

The response of mice infected with T. brucei to the administration of sheep erythrocytes.

Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 67, 267.

NAMBA, Y. & WAKSMAN, B.H., 1975.

Regulatory substances produced by lymphocytes. II - Lympho-
toxin in the rat.

J. Immunol., 115, 1018 - 1022.

NAMBA, Y. & WAKSMAN, B.H., 1977.

Regulatory substances produced by lymphocytes. IV - Further
characterization of the inhibitor of DNA synthesis (IDS).

Immunochemistry, 14, 143 - 147.

OKUMURA, K. & TADA, T., 1971.

Regulation of homocytotropic antibody formation in the rat.
IV - Inhibitory effect of thymocytes on the homocytotropic
antibody response.

J. Immunol., 107, 1682 - 1689.

OPITZ, H.G., NIETHAMMER, D., JACKSON, R.C., LEMKE, H.,

HUGET, R. & FLAD, H.D., 1975a.

Biochemical characterization of a factor released by macro-
phages.

Cell. Immunol., 18, 70 - 75.

OPITZ, H.G., NIETHAMMER, D., LEMKE, H., FLAD, H.D. &

HUGET, R., 1975b.

Inhibition of ³H-Thymidine incorporation of lymphocytes by
a soluble factor from macrophages.

Cell. Immunol., 16, 379 - 388.

OUCHTERLONY, O., 1958.

Diffusion in gel methods for immunological analysis.

Progr. Allergy, 5, 1 - 78.

PARKHOUSE, R.M.E. & DUTTON, R.W., 1966.

Inhibition of spleen cell DNA synthesis by autologous
macrophages.

J. Immunol., 97, 663 - 669.

PELLEY, R.P., RUFFIER, J.J. & WARREN, K.S., 1976.

Suppressive effect of a chronic helminth infection schistosomiasis mansoni, on the in vitro responses of spleen and lymph node cells to the T cell mitogens phytohemagglutinin and concanavalin A.

Infect. Immun., 13, 1176 - 1183.

PHILLIPS, R.S., GWENDOLINE, R., SELBY, G.R. & WAKELIN, D., 1974.

The effect of Plasmodium berghei and Trypanosoma brucei infections on the immune expulsion of the nematode Trichuris muris from mice.

Int. J. Parasitol., 4, 409 - 415.

PICKART, L., THALER, L. & THALER, M.M., 1973.

A synthetic tripeptide which increases survival of normal liver cells, and stimulates growth in hepatoma cells.

Biochem. Biophys. Res. Comp., 54, 562 - 566.

RAMALHO-PINTO, F.J., DE SOUZA, J.B. & PLAYFAIR, J.H.L., 1976a. Stimulation and suppression of response of mouse T cells to the schistosomules of S. mansoni during infection.

Nature, 259, 603 - 604.

RAMALHO-PINTO, F.J., GOLDRING, O.L., PLAYFAIR, J.H.L. & SMITHERS, S.R., 1976b.

T cell response to surface components of Schistosoma mansoni, in the Biochemistry of Parasites and host-parasite relationship. 2nd international symposium. Janssen pharmaceutica, Beerse, Belgium, p. 102.

ROSENBERG, E.B., STRICKLAND, G.T., YANG, S.L. & WHALEN, G.E., 1973.

IgM antibodies to red cells and auto-immune anemia in patients with malaria.

Am. J. Trop. Med. Hyg., 22, 146 - 152.

ROTTER, V. & TRAININ, N., 1974.

Thymus cell population exerting a regulatory function in the immune response of mice to polyvinyl pyrrolidone.

Cell. Immunol., 13, 76 - 86.

ROUSSEAU-PREVOST, R., 1977

Etude de la réponse IgE dans la schistosomiase expérimentale du rat.

Thèse de Doctorat 3ème cycle, LILLE.

ROUSSEAU-PREVOST, R., BAZIN, H. & CAPRON, A., 1977.

IgE in experimental schistosomiasis. I - Serum IgE levels after infection by Schistosoma mansoni in various strains of rats.

Immunology, 33, 501 - 505.

SALAMAN, M.H., WEDDERBURN, N. & BRUCECHWATT, L.J., 1969.

The immunodepressive effect of murine Plasmodium and interaction with murine oncogenic viruses.

J. Gen. Microbiol., 59, 383 - 391.

SANTORO, S., BOUT, D., WATTRE, P. & CAPRON, A., 1976.

Imuno-complexos na esquistossomose. I - Utilização da fixação do complemento para sua detecção.

Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo, 18, 152 - 156.

SCHEURLLEN, P.G., SCHNEIDER, W., PAPPAS, A., 1971.

Inhibition of transformation of normal lymphocytes by plasma factor from patients with Hodgkin's disease and cancer.

Lancet, 4, 1265.

SCOTT, M.T., 1972.

Biological effects of the adjuvant Corynebacterium parvum.

II - Evidence for macrophage T cell interaction.

Cell. Immunol., 5, 469 - 479.

SEEGER, R.C. & OPPENHEIM, J.J., 1970.

Synergistic interaction of macrophages and lymphocytes in antigen-induced transformation of lymphocytes.

J. Exp. Med., 132, 44 - 65.

SENGERS, R.C.A., JERUSALEM, C.R. & DOESBURG, W.H., 1971.

Murine malaria. IV - Disturbed immunological responsiveness during Plasmodium berghei infection.

Exp. Parasitol., 30, 41 - 53.

SHAMMA, A.H., THEWAINI ALI, A.J. & EL-SHAWI, N.N., 1965.

Auto-antibodies in Schistosoma haematobium infections.

J. Path. Bact., 90, 659 - 661.

SHAMMA, A.H., THEWAINI ALI, A.J. & RASSAM, A., 1966.

Demonstration of auto-antibodies in Schistosoma haematobium infections by the fluorescent antibody technique.

J. Path. Bact., 92, 589 - 591.

SHAPER, A.G., KAPLAN, M.H., MODY, N.J. & Mc INTYRE, P.A., 1968.

Malarial antibodies and auto-antibodies to heart and other tissues in the immigrant and indigenous peoples of Uganda.

Lancet, i, 1342 - 1346.

SILVA, L.C., BRITO, T., CAMARGO, M.E., BENI, D.R. de, LOPEZ, J.D. & GUNJI, J., 1970.

Kidney biopsy in the hepatosplenic form of infection with Schistosoma mansoni in man.

Bull. W.H.O., 42, 907 - 910.

SMITH, R.T., 1972.

Specific recognition reactions at the cellular level in mouse lymphoreticular cell subpopulations.

Transplant. Rev., 11, 178 - 216.

SMITH, J.H., KASSEL, I.A., ELWI, A. & von LICHTENBERG, F., 1974
A quantitative postmortem analysis on urinary schistosomiasis
in Egypt. I - Pathology and pathogenesis.

Amer. J. Trop. Med. Hyg., 23, 1054 - 1071.

SONI, J.L. & COX, H.W., 1975.

Pathogenesis of acute avian malaria. II - Anemia mediated
by a cold active auto-hemagglutinine from the blood of
chickens with acute Plasmodium gallinaceum infection.

Amer. J. Trop. Med. Hyg., 24, 206 - 213.

SPIRA, D.T., GOLENSER, J. & GERY, I., 1976.

The reactivity of spleen cells from malarious rats to non
specific mitogens.

Clin. Exp. Immunol., 24, 139 - 145.

STOBO, J., ROSENTHAL, A.S. & PAUL, W.E., 1972.

Functional heterogeneity of murine lymphoid cells. I - Respon-
siveness to and surface binding of con A and PHA.

J. Immunol., 108, 1 - 17.

SVET-MOLDAVSKY, G.J., SHAGHIJAN, H.S., CHERNYAKHOVSKAYA, I.Y.,
MKEIDZE, D.M., LITOVCHENKO, T.A., OZERETSKOSKAYA, N.N. &
KADAGHIDZE, Z.G., 1970.

Inhibition of skin allograft rejection in trichinella infected
mice.

Transplantation, 9, 69 - 70.

TERRY, R.J., FREEMAN, J., HUDSON, K.M. & LONGSTAFFE, J.A.,
1973.

IgM production and immunosuppression in trypanosomiasis :
a linking hypothesis.

Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 67, 263.

TRIBOULEY, J., 1969.

Contribution à l'étude des relations hôte-parasite au cours du parasitisme par Schistosoma mansoni.

Thèse de Doctorat es Sciences, BORDEAUX.

URQUHART, G.M., MURRAY, M. & JENNINGS, F.W., 1972.

The immune response to helminth infection in trypanosome infected animals.

Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 66, 342 - 343.

URQUHART, G.M., MURRAY, M., MURRAY, P.K., JENNINGS, F.W. & BATE, E., 1973.

Immunosuppression in Trypanosoma brucei infections in rats and mice.

Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 67, 528 - 535.

WAKSMAN, B.H., 1977.

Les divers types de cellules suppressives.

Ann. Immunol. (Institut Pasteur), 128C, 427 - 429.

WALDMAN, S.R. & GOTTLIEB, A.A., 1973.

Macrophage regulation of DNA synthesis in lymphoid cells : effects of a soluble factor from macrophages.

Cell. Immunol., 9, 142 - 156.

WALDMANN, T.A., POLMAR, S.H., BALESTRA, S.T., JOST, M.C. & TERRY, W.D., 1972.

Immunoglobulin E in immunologic deficiency diseases.

J. Immunol., 109, 304 - 310.

WALDMANN, T.A., BULL, J.A., BRUCE, R.M., BRODER, S., JOST, M.C. BALESTRA, S.T. & SUER, M.E., 1974.

Serum immunoglobulin E levels in patients with neoplastic disease.

J. Immunol., 113, 379 - 386.

WARREN, K.S., DOMINGO, E.O. & COWAN, R.B.T., 1967.

Granuloma formation around schistosome eggs as a manifestation of delayed hypersensitivity.

Am. J. Path., 51, 735.

WARREN, H.S. & WEIDANZ, W.P., 1976.

Malarial immunodepression in vitro : adherent spleen cells are functionally defective as accessory cells in the response to horse erythrocytes.

Eur. J. Immunol., 6, 816 - 819.

WATSON, K.C., 1971.

Immunoconglutinin levels in normal and diseased population groups in Southern Africa.

Clin. Exp. Immunol., 8, 871 - 880.

WEBB, D.R. & JAMIESON, A.T., 1976.

Control of mitogen-induced transformation : characterization of a splenic suppressor cell and its mode of action.

Cell. Immunol., 24, 45 - 57.

WEDDERBURN, N., 1970.

Effect of concurrent malarial infection on development of virus-induced lymphoma in Balb/c mice.

Lancet, ii, 1114 - 1116.

WILKINS, H.A. & BROWN, J., 1977.

Schistosoma haematobium in a gambian community. II - Impaired cell-mediated immunity and other immunological abnormalities.

Ann. Trop. Med. Parasit., 71, 59 - 66.

WILSON, R.J.M., 1974.

Soluble antigens as blocking antigens.

in Parasites in the immunized host : mechanisms of survival.

Associated Scientific Publishers. Amsterdam, p. 185 - 204.

WISTAR, R. Jr, MURRELL, R.D., LEWERT, R.M., YOGORE, M.C.,
COLE, C. & CLUTTER, W.G., 1975.

The developpment of anti-immunoglobulin antibodies in Rhesus
monkeys repeatedly exposed to Schistosoma japonicum.

Amer. J. Trop. Med. Hyg., 24, 632 - 637.

YOELI, M., 1956.

Some aspects of concomitant infections of plasmodia and
schistosomes. I.- The effect of Schistosoma mansoni on the
course of infection of Plasmodium berghei in the field vole
(Microtus guentheri).

Amer. J. Trop. Med. Hyg., 5, 988 - 999.

