



**HAL**  
open science

**Symbiose immunodépendante gamétocytogène.  
Prévention du paludisme à Plasmodium falciparum par  
une vaccination antipaludique symbiogène.**

Francis Parc, Didier Vitrac, Jean Pierre Cambus

► **To cite this version:**

Francis Parc, Didier Vitrac, Jean Pierre Cambus. Symbiose immunodépendante gamétocytogène. Prévention du paludisme à Plasmodium falciparum par une vaccination antipaludique symbiogène.. 2008. hal-01996483

**HAL Id: hal-01996483**

**<https://hal.science/hal-01996483>**

Preprint submitted on 28 Jan 2019

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**Symbiose immunodépendante gamétocytogène. Prévention du paludisme à Plasmodium falciparum par une vaccination antipaludique symbiogène.**

Gametocytogenous immunedependent symbiosis. Plasmodium falciparum malaria prevention by a symbiogenic antimalarial vaccination.

F. Parc (1) †, D. Vitrac (2), JP. Cambus(3)

(1) Dr en médecine, Biologiste du service de santé des armées, Anatomopathologiste.

(2)\* Pharmacien, Biologiste médical, Documentaliste médical. Service de Documentation Médicale. Groupe Hospitalier Sud Réunion. B.P. 350. 97448 Saint Pierre Cedex. Tel : 0692 09 32 59. fax : 0262 35 99 98. Email : vitracdi@yahoo.fr

(3) Dr en médecine, Hématologiste, Maître de conférence des universités. Laboratoire d'hématologie, Centre hospitalier universitaire de Rangueil, 31059 Toulouse Cedex

\*Auteur correspondant : D. Vitrac

Mots clés: Paludisme – Symbiose immunodépendante – Vaccin symbiogène– Vitamine A.  
Key words : Malaria – Immunedependent symbiosis – Symbiogenic vaccine – Vitamin A

Remerciements: nous remercions les Professeurs P Aubry, Y Buisson, M Le Bras et A Capron pour leur conseils et leur aide tout au long de ce travail.

## **Résumé**

L'objet de cet article est de présenter le phénomène biologique de la symbiose immunodépendante gamétocytogène de *Plasmodium falciparum* chez l'homme avec une approche expérimentale et une application médicale sous la forme d'une vaccination antipaludique symbiotique.

Notre hypothèse est basée sur la constatation d'une gamétocytémie constante chez le sujet naturellement immunisé par *Plasmodium falciparum* ; portage qui n'occasionne aucun dommage physiologique et clinique à l'organisme bien qu'il pérennise le cycle parasitaire. Notre approche expérimentale tend à confirmer que l'immunisation a un effet gamétocytogène.

Une première implication est la définition d'un nouveau mécanisme immunologique appelé antibody dependent cell mediated adherence (ADCA).

La deuxième implication est une application médicale sous forme d'une nouvelle vaccinologie intitulée vaccination antipaludique symbiotique calquée sur l'immunisation naturelle, ou intervient l'antigène exo-érythrocytaire PfEMP-1 (*Plasmodium falciparum* erythrocyte membrane protein – 1).

## **I. Introduction**

Le paludisme, fléau mondial, touche environ 600 million de sujets en 2008 dans le monde. Selon l'OMS, il tue 2 à 3 millions de personnes chaque année. 90% des victimes sont des enfants de moins de cinq ans vivant en Afrique sub-saharienne. Le paludisme reste un problème majeur de santé publique.

Les formes cliniques de primo-invasion à *Plasmodium falciparum* sont sévères. La parasitémie est massive, peut envahir 25 % des hématies et représenter 150 grammes de tissu étranger. L'atténuation clinique apparaît spontanément lors des accès de ré-infection qui deviennent progressivement des accès palustres simples avec une parasitémie inférieure à 5 %. La dernière étape est un contrôle progressif immunitaire gamétocytogène de la parasitémie. La gamétocytémie infra-biologique assure la pérennité du cycle (1).

De manière expérimentale, les co-cultures de souches de *plasmodium* et de globules blancs périphériques, juxtaposent la phagocytose par les monocytes et un mécanisme cellulaire anticorps-dépendant d'adhérence des globules rouges porteurs de schizontes aux monocytes. Ce dernier phénomène est appelé nouvellement par les auteurs antibody dependent cell mediated adherence (ADCA) par analogie avec les mécanismes immunologiques déjà connus que sont l'antibody dependent cell mediated cytotoxicity (ADCC) et l'antibody dependent cell mediated inhibition (ADCI). L'ADCA se présente morphologiquement sous forme de monocytes autour

desquels adhèrent des globules rouges porteurs de trophozoïtes (Fig. 1). L'ADCA est d'intensité croissante avec la répétition des accès palustres. Elle accélère la gamétocytogénèse.

Nous pensons que l'anticorps impliqué dans cette ADCA est un anticorps cytophile de spécificité anti-Pf EMP-1.

Figure 1 :

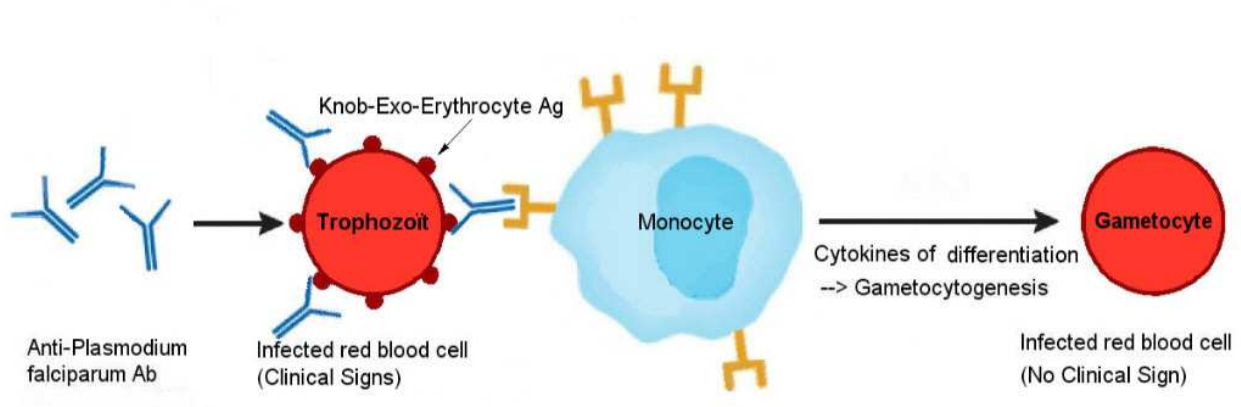


Fig 1. Mecanisme of Antibody dependent cell mediated adherence (ADCA)

Des facteurs de croissance et de différenciation sont libérés dans la maladie naturelle et le milieu réactionnel. Ces facteurs sont des interleukines. Ils inhibent en finalité la multiplication parasitaire, réduisent l'inflammation et assurent l'accélération de la gamétocytogénèse (2,3). Cette nouvelle approche immunologique permet d'entrevoir la conception d'un vaccin symbiogène dont le résultat est identique à celui du sujet naturellement immunisé par Plasmodium falciparum. La fraction vaccinante proposée est l'antigène exo-érythrocytaire PfEMP-1 (Plasmodium falciparum Erythrocyte Membrane Protein-1).

Dans la maladie naturelle, la réponse immune à cet antigène avec les anticorps anti-PfEMP-1 de type immunoglobulines G régule la gamétocytogénèse (4).

Cet antigène permet d'une part la synthèse des anticorps anti-PfEMP-1 chez le sujet immunisé avec l'apparition d'une ADCA in vivo régulant la gamétocytogénèse et d'autre part l'adhérence des schizontes aux cellules endothéliales vasculaires dès le premier accès par un phénomène « ligand » non immunologique.

Cet antigène très immunogène (4) et multi-fonctionnel sur le plan biologique est considérée comme l'un des candidats-vaccins actuel prometteur (5).

## **II. Formes clinico-biologiques du paludisme**

### **1. le paludisme de primo-invasion**

Les sujets neufs sont les enfants des zones d'endémie âgés de plus de six mois car la grande majorité des nouveau-nés bénéficient de la protection maternelle pendant les six premiers mois, ainsi que les expatriés des zones tempérées qui présentent une primo-invasion sévère. La capillarite par adhérence des schizontes aux cellules endothéliales conditionne la clinique. Elle est observée au niveau du foie, du cerveau, des poumons et de la rate. L'angiopathie est aggravée par des micro-agrégats plaquettaires. Une macrophagie des schizontes est visible dans les cellules de Küpffer et dans les cellules des cordons de Billroth. Les cytoplasmes histiocytaires sont très riches en dépôts d'hémozoïne.

Le frottis sanguin montre la présence exclusive de trophozoïtes dans les hématies. Le taux de globules rouges parasités, réticulocytes essentiellement, peut atteindre 30 %. Les schizontes sont rares sauf chez les sujets splénectomisés. Le pluri-parasitisme dans une même hématie (2 ou 3 trophozoïtes) est alors fréquent. Le poids approximatif de ce matériel parasitaire dans le sang d'un adulte de 90 kilos peut atteindre le chiffre considérable de 150 grammes. Les gamétocytes ne sont pas représentés dans cette parasitémie. Ils sont présents dans une circonstance exceptionnelle : la défervescence de l'accès obtenue par traitement à la Nivaquine où la gamétocythémie est massive.

### **2. le paludisme de ré-infection**

Lors d'une ré-infection, le caractère suraigu s'atténue. La létalité disparaît. Les manifestations neurologiques, pulmonaires et hépatiques s'estompent les premières. On assiste à l'accès palustre simple. On retrouve la triade frissons-fièvre-sueur. La splénomégalie va durer jusqu'à 6-7 ans en zone d'hyper-endémie, et jusqu'à 15 ans en zone sahélienne où la transmission est saisonnière. Le frottis sanguin montre une parasitémie d'intensité moindre, de règle inférieure à 5 %. Le taux de gamétocytes augmente parallèlement à l'atténuation clinique. L'adhérence des schizontes à l'endothélium vasculaire disparaît du foie, du cerveau puis des poumons. Elle va persister au niveau de la rate au cours de la splénomégalie. La macrophagie histiocytaire des schizontes est limitée aux cordons de Billroth. La parasitémie est exclusivement gamétocytaire : le plasmodium infectant est alors inoffensif. Ces sujets sont le réservoir de parasite et assurent la pérennité du cycle parasitaire. Des résurgences cliniques peuvent être conditionnées par la levée partielle ou totale du système de contrôle de la parasitémie. Les facteurs déclenchant ou favorisant sont le stress, l'absence de ré-infection et l'exposition à une nouvelle souche parasitaire ou une pathologie associée entraînant une immunodépression.

### **III. Patients et méthode**

L'Objectif de notre l'étude est d'étudier la capacité des anticorps protecteurs à initier un mécanisme d'inhibition de la croissance parasitaire monocytédépendant. Les travaux ont été menés successivement aux Instituts Pasteur de Dakar et de Côte d'Ivoire, dans le cadre de l'étude d'un vaccin antipaludique.

#### **1. Provenance du matériel biologique :**

Les globules rouges parasités représentent 43 souches différentes :

10 sont des cultures de Palo-Alto de l'Institut Pasteur de Dakar et 33 sont des souches sauvages dont 3 proviennent d'adolescents sénégalais atteints d'accès palustre simple et 30 proviennent de jeunes enfants soignés dans un dispensaire périphérique d'Abidjan. Le sang est prélevé avant tout traitement.

Les globules blancs périphériques proviennent de sujets neufs et de sujets vivants en zone d'endémie, aux différents stades de la prémunition anti-palustre (sujets jeunes et adultes).

Une série de test est réalisée en substituant à ces globules blancs périphériques des monocytes de lignée continue.

Les sérums sont ceux de sujets neufs et prémunis.

#### **2. Co-cultures de globules blancs périphériques et de souches de Plasmodium falciparum :**

Les tests sont réalisés en plaque Falcon pour culture cellulaire à raison de 200  $\mu$ L par cupule à fond en V. Les globules blancs périphériques préparés sur gradient de Ficoll sont introduits à raison de cinq cent mille dans le milieu de culture pour plasmodium. Les globules rouges parasités sont ajoutés dans la même cupule. La parasitémie initiale de cet inoculum est ramené à 1%. Le sérum à tester est introduit sous un volume de 10  $\mu$ L. Les antécédents palustres du sujet sont vérifiés par anamnèse et immunofluorescence indirecte sur les globules rouges parasités. La compatibilité ABO est respectée. L'incubation est réalisée en étuve à CO<sub>2</sub>. Le milieu de culture est renouvelé chaque 24 heures. Chaque jour un culot de 5  $\mu$ L est prélevé, étalé sur lame et coloré au Giemsa. L'observation est de 6 jours pour les souches sénégalaises. Elle est de 48 heures seulement à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire en raison de problèmes techniques.

Un étalement du culot de cupule réactionnelle est pratiqué sur lame chaque 24 heures et lu en microscopie optique.

#### IV. Résultats

Les résultats des appréciations morphologiques sont résumés dans le tableau 1.

Tableau 1

Présence et intensité de la formation de rosettes ou antibody dependent cell mediated adherence (ADCA) sur l'étalement. Croissance du Plasmodium. Précocité de la gamétocytogenèse. Phagocytose de schizontes.

Presence and intensity of rosetting called antibody dependent cell mediated adherence (ADCA) on the slide. Growth of the Plasmodium. Precocity of the gametocytogenesis. Phagocytosis of the schizonts.

CO-CULTURES	Rosettes ou ADCA + à +++	Croissance (effet feeder) + à +++	Gamétocytogenèse (2 à 4 jours) 0 à +++++	Phagocytose des schizontes par les monocytes +++ à +++++
1 - Sérum de sujet neuf + Cellules de sujet neuf	-	+	-	+++
2 -Sérum immun + Cellules immunes	+++	+++	++++ (moins de 2 jours)	++++
3 – Sérum de sujet neuf + Cellules immunes	++	++	+++ (moins de 4 jours)	++++
4 -Sérum immun + Cellules de sujet neuf	+++	++	+++ (moins de 4 jours)	++++
TEMOIN NEGATIF (culture acellulaire de Plasmodium)	-	+ ou -	+ (en 10 à 12 jours en sérum neuf) *	-

\*La vitesse d'apparition de la gamétocytogenèse in vitro varie selon l'état immunitaire du donneur. Elle est d'environ de 12 jours en milieu acellulaire avec une souche de donneur neuf. Elle est proportionnelle à la richesse des antécédents palustres du donneur.

**Colonne 1:** des schizontes de 4 à 16 noyaux, adhèrent à des cellules mononuclées. La membrane cytoplasmique des monocytes effleure le globule rouge parasité. Cet accolement est strictement tangentiel, et aucune déformation, ni dépression de la membrane cellulaire n'est observée.

A proximité du globule blanc, les hématies parasitées sont anatomiquement reliées à la membrane de celui-ci. Plus à distance, les relations se traduisent par une augmentation du nombre de schizontes sur le fond de la préparation. Leur taux est très largement supérieur à celui de la parasitémie du reste de la préparation. Ce phénomène traduit le cytotropisme réciproque entre les schizontes et la cellule. Il est la phase initiale et périphérique de l'adhérence immune.

Cette rosette est fragile. Les essais de visualisation pratiqués en phase liquide, en cellule de Malassez ou entre lames et lamelles sont des échecs. Les rosettes sont plus nettes dans les systèmes conjuguant cellules et sérum immuns. Elles sont également présentes dans le système sérum immun-cellules de sujet neuf, ainsi que sérum de sujet neuf-cellules immunes. Plus les composantes réactionnelles sont immunes, plus la cohésion des éléments de la rosette est accentuée.

**Colonne 2:** le phénomène eutrophique (« feeder ») est patent mais non évalué par marquage. Il se traduit par un aspect floride des cultures. Les trophozoïtes et les schizontes sont turgescents. Leur cytoplasme a une basophilie plus accentuée que dans les cultures standard. Ce phénomène apparaît évident dans les cultures spontanément altérées de Palo-Alto. On assiste à une véritable résurrection de ces cultures. Des parasites eutrophiques coexistent avec des formes nécrosées. Aucune mesure précise de la durée du cycle schizogonique n'est effectuée, et sa modification n'est pas évidente. Les phénomènes cytotoxiques ne sont pas décelés. La recherche de lyse globulaire utilisant le radiomarquage au chrome 51 est négative.

**Colonne 3:** des gamétocytes apparaissent en 2 à 4 jours en système immun si le donneur de souche parasitaire a un passé palustre important. Ils se forment en 10 à 12 jours si le donneur de souche est au stade de primo-invasion et le milieu de culture acellulaire. Ce phénomène par son mécanisme est comparable à l'antibody dependant cell mediated cytotoxicity (ADCC).

**Colonne 4:** dans tous les cas, une phagocytose est visualisée par la présence d'amas d'hémozoinés et de débris parasitaires (« ghosts ») dans le cytoplasme des monocytes. Elle est présente dans toutes les co-cultures. Ces monocytes sont gonflés, atteignant 40 à 50 µm de diamètre. Leur cytoplasme est occupé par des vacuoles optiquement vides ou renfermant quelques débris de phagocytose.

## V. Discussion

Notons que pour nous, le terme « rosette » est utilisé pour décrire une adhésion de globules rouges parasités autour d'une leucocyte, ce qui diffère de la définition habituelle en paludologie, d'une agglutination de globules rouges non parasités autour d'une hématie parasitée.

Comme tout phénomène de type ADCC, l'ADCA comprend la triade antigène-anticorp(s)-cellule(s) :

### 1. L'antigène

L'adhérence des schizontes aux capillaires cérébraux, pulmonaires, spléniques et placentaires a fait l'objet de nombreuses études (33, 54). Le ligand fixé à la cellule endothéliale est l'antigène exo-erythrocytaire PfEMP-1 (Plasmodium falciparum erythrocyte membrane protein – 1) (14, 29). Il est présent dans les expansions polypoïdes sessiles puis pédiculées à la surface du globule



rouge parasité appelées « knobs » par les anglo-saxons (51). Il est physiquement présent dans l'ADCA en tant que molécule d'adhésion (51). Cet antigène, de nature protéique est d'origine parasitaire (51). Il est une des composantes dans un remaniement cytoplasmique et membranaire dans le cadre d'une interaction entre antigènes malariens et hôte érythrocytaire, conduisant en particulier à son transport au niveau des « knobs » (6, 20, 30, 46). On peut parler dans ce cas de symbiose phénotypique, associant des composants parasitaires et des composants de l'hôte dans le cadre d'une nouvelle architecture de la cellule érythrocytaire.

Cette protéine présente une fraction relativement conservée transmembranaire et intracellulaire codée par l'exon II du génome plasmodial et un repertoire très vaste d'épitopes variables dans sa partie extracellulaire (21), codés par la famille des genes *var* qui comporte autour de 60 gènes par génome haploïde (31), dont un seul est exprimé à la fois à la surface des globules rouges parasités. La partie extracellulaire de l'antigène est codée par l'exon I (31). Sa variabilité est généralement interprétée comme un mécanisme d'échappement immunitaire (19). Cette variabilité apparaît en fonction des souches, lors des réinfections et au cours des accès cliniques eux-mêmes (8).

Cette fixation à l'endothélium vasculaire n'a pas de caractère immun (61). Elle fait intervenir différents domaines de l'antigène dans sa partie extracellulaire comme DBL (Duffy Binding Like) et CIRDC (Cystein Inter Domain Rich), domaines qui sont aussi impliqués dans l'adhésion à différents récepteurs des cellules du sang circulant (CD36, ICAM1, PECAM, Heparane sulfate...)(15, 52). La disparition progressive de la cytoadhérence à l'endothélium vasculaire dans le cerveau, les poumons, puis la rate, accompagne l'évolution favorable de la maladie.

Cet antigène stimule les cellules dendritiques (40). Cette stimulation est considérée comme primordiale dans l'apparition des mécanismes de contrôle de la parasitémie (9). Elle se traduit par une réduction de la stimulation des lymphocytes T (47). Dans une seconde phase, l'antigène se fixe aux récepteurs CD36 des monocytes et initie l'ADCA (58). De nombreux antigènes sont actuellement étudiés comme candidats-vaccin (7, 18, 23, 5, 53). L'antigène PfEMP-1 peut être considéré comme l'un des meilleurs candidats-vaccin (12, 18, 27, 5).

## **2. Les anticorps**

Les anticorps anti-PfEMP-1 sont témoins de l'immunité anti-palustre (12). Ils apparaissent dès la phase asexuée érythrocytaire (22). Leur présence est directement liée à la maturation des gamétocytes (55). Ils sont également ceux de l'ADCA. Ils sont cytophiles (41). En effet, le sérum d'un sujet immun mobilise les cellules du sujet neuf (ligne 4 du tableau 1). Par ailleurs, des monocytes de lignée continue introduits dans le milieu réactionnel en présence de sérum

immun créent une rosette avec les schizontes. Ceux-ci accolés entre eux tapissent la surface de la membrane cellulaire en réalisant une rosette en mono-couche continue.

Dans les modèles expérimentaux, les anticorps anti-antigène exoérythrocytaire-PfEMP-1 atténuent les signes cliniques, diminuent la parasitémie et augmentent la gamétocytogenèse (10, 43). On sait déjà qu'en dehors d'une induction immunologique, le stress physique ou médicamenteux (11) peut favoriser une induction de la gamétocytogenèse.

### **3. Les cellules de la lignée blanche**

Les monocytes sont pourvus dans notre système expérimental, de deux fonctions apparemment contradictoires. La première est la phagocytose des schizontes de *Plasmodium falciparum* (13). Elle est présente dès la phase initiale de la maladie. On la retrouve dans le système cellules - sérum de sujets neufs (ligne 1 du tableau 1). La phagocytose obéit là au chimiotactisme de l'hémozoïne qui contient des formes dégradées de l'hème. Ce chimiotactisme est renforcé dans les accès palustres de ré-infection par opsonisation sérologique surajoutée. A l'échelle anatomopathologique, cette phagocytose engendre la splénomégalie qui régresse progressivement avec l'acquisition d'une immunité efficace gamétocytogène.

La seconde fonction est la libération dans le milieu ,de facteurs de croissance. Ce sont des cytokines comprenant des interleukines, des lymphokines ou des interférons. Leur présence dans les cultures de globules blancs stimulés par l'antigène PfEMP-1 est démontrée et leur identification partiellement élucidée (39, 49, 57).

Ces facteurs de croissance sont pour nombre d'entre eux des facteurs de différenciation potentiels. Pour exemple, les lymphotoxines sont interdépendantes. Elles sont pro-inflammatoires, cytotoxiques, pyrogènes et elles mobilisent les plaquettes. Dans certaines circonstances, ces lymphotoxines ont une action inverse anti-inflammatoire, inhibitrice de l'action du TNF (Tumor necrotic factor) par le NO (Nitric oxyde) et le CO (Carbon monoxyde), libérés sous l'action de l'IL-10 (17). De même, le HMGB1 (High-mobility group box 1 protein) pro-inflammatoire peut également être anti-inflammatoire dans certaines circonstances pathologiques (28, 59). Leur taux demeure très élevé dans la phase de contrôle de la parasitémie réduite à la gamétocytémie. Ceci laisse supposer un rôle primordial de ces mécanismes dans la différenciation gamétocytaire (26, 45).

Ces facteurs de différenciation intéressent les cellules lymphoïdes elles-mêmes qui passent de la stimulation blastique à la défervescence accompagnant le stade de stockage des lymphocytes T mémoire. Cette différenciation touche également le parasite lui-même (44).

Les facteurs de croissance amenés par le sérum sont nécessaires et utilisés dans tous les systèmes de culture in vitro de cellules lymphoïdes, parasitaires, bactériennes ou contenant des

virus. Ces facteurs exercent dans le sérum une action rémanente sur le parasite. Ils expliquent les vitesses variables d'apparition des gamétocytes in vitro régulées par les antécédents palustres du donneur de souche (32).

Cette ADCA comprend partiellement et fonctionnellement l'antibody dependant cell mediated inhibition (ADCI) où les globules blancs périphériques mobilisées sont des monocytes. La présence de rosettes entraîne la croissance parasitaire puis la différenciation du parasite. La phase intermédiaire entre ces deux étapes est obligatoirement l'inhibition de croissance (55), représentée par l'ADCI. Celle-ci est un moment fonctionnel de l'ADCA.

Dans la majorité des rosettes, la nature monocytaire ou lymphocytaire de la cellule ne peut être affirmée. La caractérisation cytochimique n'a pas pu être pratiquée. La cytologie optique ne permet pas de différencier de manière certaine ces globules blancs périphériques en culture.

A noter que l'immunologie du paludisme comprend d'autres réactions immunitaires dont la stimulation polyclonale à IgG.

#### **4. Les effecteurs exogènes**

Des facteurs exogènes pourraient accélérer le mécanisme précédemment décrit. La complémentation alimentaire en vitamine A permet l'atténuation des formes graves de diverses affections aiguës dont le paludisme, la rougeole, et les diarrhées infantiles. Cette administration de vitamine A aux populations carencées (100 000 UI à 200 000 UI tous les 4 à 6 mois chez les enfants de plus d'un an) entraîne dans le paludisme, une évolution favorable accélérée de la maladie naturelle, en faisant disparaître les formes létales (24). Elle s'accompagne d'une parasitémie minorée (36) et d'une augmentation de l'index gamétocytaire. L'effet de cette supplémentation a été évalué en double aveugle en Papouasie-Nouvelle Guinée. Une baisse de plus de 30% des accès palustres et de près de 70% des index parasitaires ont été observés (50). Des expériences analogues au Mozambique rapportent une baisse de la mortalité du neuropaludisme (60). A contrario les régimes carencés en vitamine A favorisent la gravité clinique et parasitologique de l'affection chez l'homme et l'animal de laboratoire. Cette amélioration dans l'infection palustre, se double d'une atténuation nette de la létalité jusqu'à 50% des maladies virales aiguës, dont la rougeole et même de plus de 70 % pour les diarrhées (42, 63).

Le mode d'action de la vitamine A est partiellement élucidé. Des récepteurs ont été détectés dans la membrane des trophozoïtes (25). Cette vitamine est retrouvée en quantité importante dans le cytoplasme des trophozoïtes, dans leurs formes précoces ou tardives ou elle aurait une activité antioxydante (38). Chez l'hôte, la vitamine A aurait pour action de renforcer l'immunité contre le parasite (62).

Nous pensons que ces molécules rétinolides se comportent comme des facteurs de différenciation. Ce sont des molécules interleukine-like.

### **5. La gamétocytogenèse**

La gamétocytogenèse est l'élément constant et essentiel de toutes ces observations. Elle est l'expression de la physiologie du parasite et par conséquent de la différenciation des trophozoïtes en gamétocytes. Ce phénomène est dépendant de l'ADCA. Les éléments de cette ADCA sont l'antigène PfEMP-1 pour le ligand, les anticorps anti PfEMP-1 pour la réponse humorale, et les monocytes pour les cellules mobilisées.

Les systèmes effecteurs ultimes de cette différenciation sont les interleukines, libérées par les monocytes et lymphocytes. Ces interleukines à leur tour, déclenchent le métabolisme du NO et du CO qui deviennent des effecteurs ultimes de la réaction immune. In vivo, leur identification a été réalisée par Clark et al. (16) qui leur fait jouer un rôle essentiel dans la pathogénie de l'infection. Ces interleukines sont TNF, IL-1, les lymphotoxines et les « high-mobility group box proteins » (HMGB1). Ces HMGB1 sont ubiquitaires, abondants et préexistants à l'infection. Ils sont un complexe de cytokines dont certaines se lient à l'ADN de la cellule.

Le taux de NO retrouvé dans le sérum des enfants tolérants, à faible parasitémie gamétocytaire, est le plus élevé, suggérant la possibilité d'un rapport direct entre ces deux paramètres. Ces observations montrent que le système immunitaire est activé et acteur du maintien de la gamétocytogenèse. Cet état immunodépendant dépend également des lymphocytes T. L'éclosion de parasitémies importantes dans le SIDA en est une illustration (56).

### **6. Symbiose entre l'hôte et le parasite**

L'ensemble des observations précédentes fait entrer l'immunité palustre dans le domaine de la symbiose entre l'hôte et le parasite.

Cette symbiose est phénotypique. Le gamétocyte se développe à partir du trophozoïte présent dans les globules rouges parasités, qui sont par ailleurs morphologiquement transformés avec l'apparition des knobs, de structures membranaires appelées « caveolae » par les anglo-saxons et de fissures cytoplasmiques (6). Cet état est en général toléré par l'hôte mais l'apparition de mécanismes immunitaires de destruction des gamétocytes est en effet décrite chez un pourcentage significatif de sujets parasités (37).

Pour le pathologiste, la symbiose gamétocytaire est une cicatrisation de tissu hétérologue.

Il s'agit là d'une véritable xénogreffe hétérologue. Elle réalise une symbiose phénotypique intra cytoplasmique des gamètes.

Pour nous, la symbiose regroupe tous les stades classiques de vie commune entre deux individus d'espèce différente dont le plus gros est qualifié « hôte » et le plus petit « symbiote » et quelque

soit le bénéfice ou le dommage occasionné à l'un ou à l'autre par cette association (parasitisme, commensalisme, mutualisme...). En d'autres termes nous pensons que la symbiose est un processus biologique évolutif qui va de la tolérance imparfaite entre deux espèces vivantes jusqu'à la symbiose parfaite où chacun des acteurs tire bénéfice de l'association (34, 35)(lire à ce sujet notre théorie « Du rejet à la symbiose » sur le site internet du CNRS HAL Archives ouvertes à l'adresse <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01475009>).

Cette approche est le moyen d'atténuer les manifestations cliniques. Elle est le critère biologique de l'évolution favorable de la maladie. Le parasite assure sa reproduction et l'hôte sa survie.

## **7. Stratégies de recherche**

Deux stratégies de la recherche en prophylaxie sont ouvertes : la vaccination et les facteurs exogènes de différenciation.

Les concepts vaccinaux anti-palustres actuels n'intègrent ni la symbiose phénotypique ni la gamétocytogenèse. Les travaux exposés ici permettent d'envisager la mise au point d'une stratégie vaccinale symbiogène, entraînant une amplification de la gamétocytogenèse. Les mutations antigéniques des agents infectieux nous apparaissent comme des phases nécessaires et obligatoires pour l'évolution symbiogène. Elles sont l'expression de la liaison de plus en plus étroite hôte-symbiote dans laquelle les deux acteurs mettent en commun leur matériel génétique (48).

La voie stratégique de prévention plus large, déjà exploitée et très prometteuse à court terme, est celle des facteurs naturels exogènes ayant une action interleukine-like, anti-inflammatoires et de différenciation. La vitamine A en est un parfait exemple.

Les molécules anti-inflammatoires de synthèse sont d'autres interleukines-like. Pour exemple, des molécules de semi-synthèse, telle la chloroquine, sont des agents gamétocytogènes reconnus *in vivo* et *in vitro* (11). Cette fonction serait indépendante de la chloroquino-résistance. La gamétocytogenèse observée en phase de défervescence d'un accès traité par la chloroquine et *in vitro*, est une voie de recherche. Ces propriétés retrouvées pour de multiples substances naturelles, sont susceptibles d'ouvrir des perspectives d'application rapides en pays d'endémie.

## **VI. Conclusion**

L'ensemble de ces observations met en évidence un nouveau mécanisme immunitaire d'adhérence. Au cours de l'infection palustre, l'antigène exo-érythrocytaire PfEMP-1, responsable de l'adhérence des schizontes aux cellules endothéliales, s'avère un acteur essentiel. Les moyens de prévention à mettre en place qu'ils soient vaccinaux ou d'apport exogène doivent reproduire l'évolution spontanément favorable de la maladie naturelle, et donc favoriser la gamétocytogenèse.

Un nouveau mécanisme immunitaire d'adhérence appelé ADCA est une donnée fondamentale de l'immunologie palustre. Les interleukines participent à ce phénomène de l'immunologie, qui est la symbiose immunodépendante hôte/parasite. Ce nouveau concept permet une meilleure compréhension de la pathologie du paludisme. La stratégie vaccinale pourrait inclure la symbiose gamétocytogène comme critère d'efficacité.

## Bibliographie

- (1) Trop Med Int Health. 2007 Apr;12(4):547-53. Submicroscopic Plasmodium falciparum gametocyte carriage is common in an area of low and seasonal transmission in Tanzania. Shekalaghe SA, Bousema JT, Kunei KK *et al.*
- (2) Clin Exp Immunol. 2001 Dec;126(3):503-10. Changes in cytokine production associated with acquired immunity to Plasmodium falciparum malaria. Rhee MS, Akanmori BD, Waterfall M *et al.*
- (3) J Theor Biol. 2000 Jan 21;202(2):113-27. Modelling the transition of asexual blood stages of Plasmodium falciparum to gametocytes. Diebner HH, Eichner M, Molineaux L *et al.*
- (4) Infect Immun. 1999 Dec;67(12):6369-74. Malaria transmission and naturally acquired immunity to PfEMP-1. Piper KP, Hayward RE, Cox MJ *et al.*
- (5) Infect Immun. 2007 Jan;75(1):211-219. Generation of cross-protective antibodies against Plasmodium falciparum sequestration by immunization with an erythrocyte membrane protein 1-duffy binding-like 1 alpha domain. Moll K, Pettersson F, Vogt AM *et al.*
- (6) Blood Cells., 1990, 16, 351-368. Ultrastructure of malaria-infected erythrocytes. Atkinson CT, Aikawa M.
- (7) Am J Trop Med Hyg. 2004, 71, 239-247. Update on the clinical development of candidate malaria vaccines. Ballou WR, Arevalo-Herrera M, Carucci D *et al.*
- (8) Nature. 1999, 398, 562-563. Malaria. A new escape and evasion tactic. Barnwell JW.
- (9) Trends Parasitol., 2008, 24, 199-200. New insight into the role of dendritic cells in malaria immune pathogenesis. Bousheri S, Cao H.
- (10) Proc Biol Sci., 2001, 268, 2325-2330. The effect of partial host immunity on the transmission of malaria parasites. Buckling A, Read AF.
- (11) Parasitology., 1999, 118, 339-346. Chloroquine increases Plasmodium falciparum gametocytogenesis in vitro. Buckling A, Ranford-Cartwright LC, Miles A *et al.*
- (12) Nat Med. 1998, 4, 358-360. Parasite antigens on the infected red cell surface are targets for naturally acquired immunity to malaria. Bull PC, Lowe BS, Kortok M *et al.*
- (13) Clin Exp Immunol. 1982;47, 635-644. Opsonic activity of human immune serum on in vitro phagocytosis of Plasmodium falciparum infected red blood cells by monocytes. Celada A, Cruchaud A, Perrin LH.
- (14) Eur J Cell Biol. 2005, 84, 15-27. The role of ICAM-1 in Plasmodium falciparum cytoadherence. Chakravorty SJ, Craig A.
- (15) J Exp Med., 2000, 192, 1-10. The semiconserved head structure of Plasmodium falciparum erythrocyte membrane protein 1 mediates binding to multiple independent host receptors. Chen Q, Heddini A, Barragan A *et al.*
- (16) Clin Microbiol Rev, 2004, 17, 509-539. Pathogenesis of malaria and clinically similar conditions. Clark IA, Alleva LM, Mills AC *et al.*
- (17) Trends Parasitol., 2003, 19, 335-337. Genes, nitric oxide and malaria in African children. Clark IA, Rockett KA, Burgner D.

- (18) *Parasitol Int.*, 2007, 56, 51-59. Comparison of cellular and humoral responses to recombinant protein and synthetic peptides of exon2 region of *Plasmodium falciparum* erythrocyte membrane protein1 (PfEMP1) among malaria patients from an endemic region. Das P, Grewal JS, Mahajan B *et al.*
- (19) *Cell Microbiol.*, 2006, 8, 1371-1381. Variant antigen gene expression in malaria. Dzikowski R, Templeton Tj, Deitsch K.
- (20) *Trends Parasitol.*, 2006, 22, 401-404. Deciphering the export pathway of malaria surface proteins. Epp C, Deitsch K.
- (21) *Int J Parasitol.*, 2008, 38, 1099-1109. Frequent recombination events generate diversity within the multi-copy variant antigen gene families of *Plasmodium falciparum*. Franck M, Kirkman K L, Costantini D *et al.*
- (22) *Curr Drug Metab.*, 2008, 9, 238-240. Blood stage parasites: sufficient to induce protective immunity. Gomase VS, Tagore S.
- (23) *Mol Biochem Parasitol.* 2001, 112, 253-261. The *Plasmodium falciparum* knob-associated PfEMP3 antigen is also expressed at pre-erythrocytic stages and induces antibodies which inhibit sporozoite invasion. Gruner AC, Brahim K, Eling W *et al.*
- (24) *East Afr Med J*, 2003, 80, 17-21. Vitamin A supplementation on child morbidity. Haidar J, Tsegaye D, Mariam DH *et al.*
- (25) *Acta Trop.* 2003 Aug; 87, 345-353. In vitro antimalarial activity of retinoids and the influence of selective retinoic acid receptor antagonists. Hamzah J, Skinner-Adams TS, Davis TM.
- (26) *J Immunol.*, 2008, 180, 1451-1461. Ex vivo cytokine and memory T cell responses to the 42-kDa fragment of *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein-1 in vaccinated volunteers. Huaman MC, Martin LB, Malkin E *et al.*
- (27) *Curr Opin Infect Dis.* 2007, 20, 311-316. New concepts in vaccine development in malaria. Kanoi BN, Egwang TG.
- (28) *Leukoc Biol.* 2008, 83, 558-563. HMGB1 preconditioning: therapeutic application for a danger signal? Klune JR, Billiar TR, Tsung A.
- (29) *Curr Opin Microbiol.*, 2006 Aug, 9, 374-380. A family affair: var genes, PfEMP1 binding, and malaria disease. Kraemer SM, Smith JD.
- (30) *Mol Microbiol.*, 2003 Nov, 50, 1215-1227. Characterization of the pathway for transport of the cytoadherence-mediating protein, PfEMP1, to the host cell surface in malaria parasite-infected erythrocytes. Kriek N, Tilley L, Horrocks P *et al.*
- (31) *Eukaryot Cell.*, 2007 Sep, 6, 1511-1520. Antigenic variation in *Plasmodium falciparum*: gene organization and regulation of the var multigene family. Kyes SA, Kraemer SM, Smith JD.
- (32) *Communication personnelle, Hôpitaux de Paris*, 1982. Cinétique d'apparition des gamétocytes de *Plasmodium falciparum* in vitro. Le Bras J.
- (33) *Trends Parasitol.*, 2004, 20, 597-603. Clinical features and pathogenesis of severe malaria. Mackintosh CL, Beeson J, Marsh G K.
- (34) *Symbiosis in cell evolution.* W. H. Freeman and Company, New York, 1981. Margulis L
- (35) *Symbiosis*, 1985, 1, 101-124. Symbiosis as a mechanism of evolution: status of cell symbiosis theory. Margulis L, Bermudes D.
- (36) *Am J Trop Med Hyg.*, 2001, 65, 115-119. Antioxidant status and acute malaria in children in Kampala, Uganda. Metzger A, Mukasa G, Shankar AH *et al.*
- (37) *Proc Biol Sci.*, 2008, 275, 1217-1224. On the evolution of reproductive restraint in malaria. Mideo N, Day T.
- (38) *Ann Trop Med Parasitol.* 2003, 97, 237-243. In-vitro uptake of vitamin A by *Plasmodium falciparum*. Mizuno Y, Kawazu SI, Kano S *et al.*

- (39) *Int Immunol.* 1990, 2, 1121- 1132. In vitro cell-mediated immune responses to Plasmodium falciparum schizont antigens in adults from a malaria endemic area: CD8+ T lymphocytes inhibit the response of low responder individuals. Mshana RN, Mclean S, Boulandi J.
- (40) *Parasite Immunol.*, 2005, 27, 373-384. Regulation of immune response by Plasmodium-infected red blood cells. Ndungu FM, Urban BC, Marsh K *et al.*
- (41) *Infect Immun.*, 2008, 76, 759-766. Humoral responses to Plasmodium falciparum blood-stage antigens and association with incidence of clinical malaria in children living in an area of seasonal malaria transmission in Burkina Faso, West Africa. Nebie I, Diarra A, Oueddraogo A *et al.*
- (42) OMS. Intégration de la supplémentation en vitamine A et de la vaccination : politique et répercussions programmatiques. Rapport des 12-13 janvier 1998, UNICEF, New York, Who/EPI/GEN/98.07, 1998.
- (43) Biken J., 1986, 29, 77-81. Induction of gametocytogenesis in Plasmodium falciparum by the culture supernatant of hybridoma cells producing anti-P. falciparum antibody. Ono T, Nakai T, Nakabayashi T.
- (44) *Ann Trop Med Parasitol.* 2003, 97, 327-337. Human cytokine responses to meso-endemic malaria on the Pacific Coast of Colombia. Praba-Egge AD, Montenegro S, Arevalo-Herrera M *et al.*
- (45) *Science.*, 2000, 287, 128-131. Sex determination in malaria parasites. Paul RE, Coulson TN, Raibaud A *et al.*
- (46) *Mol Biochem Parasitol.*, 2003, 132, 17-26. Maurer's clefts--a novel secretory organelle? Przyborski JM, Wickert H, Krohne G *et al.*
- (47) *Parasite Immunol*, 2003, 25, 211-219. Cytokine profile of Plasmodium falciparum-specific T cells in non-immune malaria patients. Ramharter M, Willheim M, Winkler H *et al.*
- (48) Transfert de gènes mitochondriaux dans le noyau au cours de l'évolution des eucaryotes. Rapport de Maitrise, Ecole Normale Supérieure, Paris, 2001. Ray N.
- (49) *Clin Exp Immunol.* 2001, 126, 503-510. Changes in cytokine production associated with acquired immunity to Plasmodium falciparum malaria. Rhee MS, Akanmori BD, Waterfall M *et al.*
- (50) *Lancet*, 1999, 354, 203-209. Effect of vitamin A supplementation on morbidity due to Plasmodium falciparum in young children in Papua New Guinea: a randomised trial. Shankar AH, Genton B, Semba RD *et al.*
- (51) *Indian J Med Res.*, 1997, 106, 53-62. Knob proteins in falciparum malaria. Sharma YD.
- (52) *Microbes Infect.*, 2003, 5, 897-909. Cytoadherence and sequestration in Plasmodium falciparum: defining the ties that bind. Sherman IW, Eda S, Winograd E.
- (53) *J Infect Dis.* 2004, 190, 1010-1018. Identification of a conserved region of Plasmodium falciparum MSP3 targeted by biologically active antibodies to improve vaccine design. Singh S, Soe S, Mejia JP *et al.*
- (54) *Exp Parasitol.* 1992, 75, 269-280. Plasmodium falciparum: cytoadherence of malaria-infected erythrocytes to human brain capillary and umbilical vein endothelial cells-a comparative study of adhesive ligands. Smith H, Nelson JA, Gahmberg CG *et al.*
- (55) *Malar J*, 2004, 3, 24. Gametocytogenesis: the puberty of Plasmodium falciparum. Talman AM, Domarle O, McKenzie FE *et al.*
- (56) *Am J Trop Med Hyg.*, 2004, 71, 41-54. The burden of co-infection with human immunodeficiency virus type 1 and malaria in pregnant women in sub-saharan Africa. Ter Kuile FO, Parise ME, Verhoeff FH *et al.*
- (57) *J Immunol.* 1985, 135, 3498-3504. Production of IL 2 and IFN-gamma by T cells from malaria patients in response to Plasmodium falciparum or erythrocyte antigens in vitro. Troye-Blomberg M, Andersson G, Stoczkowska M *et al.*



- (58) *Infect Immun.* 1992, 60, 4483-4490. Cytoadherence characteristics of rosette-forming *Plasmodium falciparum*. Udomsangpetch R, Webster HK, Pattanapanyasa K *et al.*
- (59) *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2006, 17, 189-201. High-mobility group box 1 (HMGB1) protein: friend and foe. Ulloa L, Messmer D.
- (60) *Ann Trop Paediatr.*, 2001, 21, 211-222. A randomised, double-blind, placebo-controlled clinical trial of vitamin A in severe malaria in hospitalised Mozambican children. Varandas L, Julien M, Gomes A *et al.*
- (61) *Infect Immun.*, 2005, 73, 3271-3277. Direct activation of human endothelial cells by *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes. Viebig NK, Wulbrand U, Förster R *et al.*
- (62) *Clin Microbiol Rev.*, 2005, 18, 446-464. Effects of vitamin a supplementation on immune responses and correlation with clinical outcomes. Villamor E, Fawzi WW.
- (63) *Nutr J.*, 2008, 7,7. Major reduction of malaria morbidity with combined vitamin A and zinc supplementation in young children in Burkina Faso: a randomized double blind trial. Zeba AN, Sorgho H, Rouamba N *et al.*