

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

المدرسة الوطنية للبيطرة - الجزائر

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE – ALGER

PROJET DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION

DU DIPLOME DOCTEUR VETERINAIRE

THEME

Leishmaniose Canine : Aspect Immunologique

Présentée par : Melle BOUKOBBAL Souhila

Soutenu le : 30 octobre 2008

Le Jury :

Président :	Aissi M,	Maitre de conférences.	(E.N.V.-Alger)
Promoteur :	Ait-Oudhia.Kh,	Chargée de cours.	(E.N.V.-Alger)
Examineur :	Ghalmi.F,	Chargée de cours.	(E.N.V.-Alger)
Examineur :	Boudiaf.S,	Chargée de cours.	(E.N.V.-Alger)
Examineur :	Benatallah.A,	Maitre assistante.	(E.N.V.-Alger)

Année universitaire 2007 – 2008

REMERCIEMENTS

A Mademoiselle AIT OUDHIA KHATIMA,

Qui a acceptée de diriger ce travail avec beaucoup de patience et d'une gentillesse.

Qu'elle trouve ici l'expression de ma reconnaissance et de mon profond respect.

A Mademoiselle AISSI Meriem,

Qui m'a fait l'honneur de présider notre jury,

Hommages respectueux.

A Mesdames GHALMI Farida, BOUDIAF Salima et BENATTALLAH Amel,

Qui se sont intéressées à ce travail

ET qui me font l'honneur de participer à notre jury,

Sincère remerciements.

DEDICACES

Je dédie affectueusement ce modeste travail aux personnes les plus chères de ma vie:

A mes très chers parents pour tout l'amour et l'affection, un merci ne suffit pas pour vos sacrifices.

A mes très chères sœurs : Maya, Imene, Saida.

A mon très cher frère : Nadir.

J'espère que ce travail leurs fera honneur.

BOUKOBBAL SOUHLA

Résumé:

La leishmaniose canine est une zoonose parasitaire due au parasite *Leishmania* dont le principal réservoir est le chien domestique.

Les manifestations cliniques de l'infection sont différentes selon le statut immunologique de l'hôte. Cette maladie induit théoriquement deux types de réponse immunitaires l'une humorale et l'autre cellulaire. Ces pathogènes sont surtout connus au sein de la communauté des immunologistes comme un outil très utile à la compréhension du fonctionnement du système immunitaire, grâce à des études faites sur des souris de laboratoires infectées par les leishmanies.

Les immunologistes ont cependant réussi à élucider une partie des mécanismes qui gouvernent la différenciation des lymphocytes TCD4⁺ naïf en cellule de type Th1 productrices d'interféron- γ (TFN- γ) et en cellules de type Th2 productrices d'interleukine-4 (IL-4) et d'IL-12.

Afin d'illustrer le mécanisme de l'interaction M Φ -parasite, nous avons fait une étude bibliographique qui contribue à la compréhension de la résistance des leishmanies face à la réponse immunitaire.

Abstract:

The canine leishmaniasis is a parasitic zoonosis due to the *Leishmania* parasite whose principal reservoir is the domestic dog.

The clinical manifestations of the infection are different according to the immunological statute of the host. This disease induces theoretically two immunizing types of answers one humeral and the other cellular. These pathogenics are especially known within the community of the immunologists as a very useful tool for the comprehension of the operation of the immune system, thanks to studies made on laboratory mice infected by the *leishmania*.

The immunologists however succeeded in elucidating part of the mechanisms which control the differentiation of naive lymphocytes TCD4⁺ in cell of the type Th1 producers of interferon- γ (TFN- γ) and in cells of the type of Th2 producers of interleukine-4 (IL-4) and IL-12.

In order to illustrate the mechanism of the interaction M Φ -parasite, we have made a bibliographical study which contributes to the comprehension of the resistance of the *leishmania* within the immunizing answer.

خلاصة:

الأشمنبوز الكلبى هو نطاق طفيلي ناجم عن طفيل "لشمانيا" حيث ان الخزان الاسلسى له هو الكلب. المظاهر الطبية للعدوى أو التعفن مختلفة حسب قانون المناعة للمضيف. هذا المرض يحدث نظريا نوعين من اجوبة المناعة ، واحدة سائلة ناجمة عن المزاج والأخرى خلوية. هذه الجراثيم أو الطفيليات معروفة خاصة ضمن جماعة باحثي المناعة كأداة مهمة جدا لفهم سير قانون المناعة بفضل دراسات أقيمت على فئران مخابر معفنة بالأشمنى. باحثوا المناعة ناجحوا في توضيح وتفسير جزء من بنىويات إحيائية التي تحكم التمييز للتكبيس لنفاوي T CD4⁺ naïf داخل خلية من نوع Th1 المنتجة للمتدخلات (TFN- γ) والتخليف وخلايا من نوع Th2 المنتجة لـ أنترلكين (IL-4) interleukine-4 و IL-12 وللتوضيح البنوية والتفاعل الطفيلي M Φ ، قمنا بدراسة فهرسية التي ساعدت على فهم مقاومة اللشمانية مقابل جواب المناعة.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1	Les manifestations cliniques observées lors de la <i>Leishmaniose</i> canine.	8
Tableau 2	Les lésions observées lors de la <i>Leishmaniose</i> canine.	9
Tableau 3	Composantes cellulaires et morphologie microscopique	12

LISTES DE FIGURES

Figure 1	Figure 1 : Diagramme schématisé du cycle de vie de <i>Leishmania</i>.	7
Figure 2	diagrammes de l'évolution du macrophage.	11
Figure 3	Mécanisme d'action du protéasome et de l'immunoprotéasome.	21
Figure 4	Interaction entre le MØ et <i>Leishmania</i> via leurs molécules de surface et des protéines solubles.	24

LISTE DES ABREVIATIONS

CFU- ML	Colony, Forming Unit of Myeloïd and Lymphoïd cells),
LDL	Low Density, Lipoprotéine)
ROI	Réactive Oxygen Intermediates).
PRR	Pattern Recognition Receptors
JAK	Janus Kinases
PI	Phosphoinositides
SHIP	S H 2 – containing Inositol Phosphatase
PI3K	Phosphoinositides 3 Kinase
DAG	La diacylglycérol
PLC γ	Phospholipase γ
NF, κ B	Nuclear Factor Kappa B
SHP-1	homology 2 domain containing tyrosine phosphatase1
PTP	Une phosphotyrosine phosphatase
PTP1B	La phosphatase
PTEN	Ptase and tensin homolog deleted on chromosome TEN
SIRPs	Signal Régulatory protein
LIRs	Leucocyte Ig like Réceptors, aussi appelés ILI et MIR
TAP 1 et 2	Transporter associated with Antigen Processing
LPG	Lipophosphoglycane
NO	Monoxyde d'azote
IL-4	interleukine
MØ	macrophage
(Ig)	Immunoglobulines
CR1	Récepteurs (complément Receptor1).
CMH	Complexes majeurs molécules d'histocompatibilité
CC, CXC ET	Chimiokines
CX3C,	
CXCR5	
TCR	T Cell Receptor
BCR	B Cell Receptor
CPA	Les cellules présentatrices d'antigènes

SOMMAIRE

	Page
REMERCIEMENTS	I
DEDICACES	II
RESUME	III
LISTE DES TABLEAUX	IV
LISTE DES FIGURES	IV
LISTE DES ABREVIATIONS	V
SOMMAIRE	VI
INTRODUCTION	1
HISTORIQUE	3

CHAPITRE I

LE PARASITE LEISHMANIAS ET LA LEISHMANIOSE CANINE

I.1.GENERALITES SUR LE PARASITE LEISHMANIA :	4
I.1.1.MORPHOLOGIE DU PARASITE	4
I.1.2.CLASSIFICATION	4
I.1.3.LE CYCLE DE VIE DU PARASITE:	5
I.2.ETUDE CLINIQUE DE LA LEISHMANIOSE CANINE	8
I.2.1.SYMPTOMATOLOGIE	8
I.2.2.EVOLUTION DE LA MALADIE	9
I.3.TRAITEMENT ET PROPHYLAXIEDE LA LEISHMANIOSE CANINE	10
I.3.1.TRAITEMENT	10
I.3.2.PROPHYLAXIE	10

CHAPITRE II

LA REPONCE IMMUNITAIRE ET LE ROLE DU MACROPHAGE

II.1. LE MACROPHAGE	11
II.1.1.EVOLUTION	11
II.1.2. MORPHOLOGIE	12
II.1.3.MOLECULES DE SURFACE	12
II.2.LA REPONSE IMMUNITAIRE	13

II.2.1.GENERALITES.	13
II.2.2.ROLE DANS LA REPONSE INNEE	14
II.2.2.1.PRODUCTIONS D'AGENTS MICROBICIDES	14
II.2.2.2. PHAGOCYTOSE	15
II.2.2.3. PRODUCTION DES CHIMIOKINES ET AUTRES MEDiateURS DE L'INFLAMMATION:	16
II.2.3. ROLE DANS LA REPONSE ADAPTATIVE	16
II.2.3.1. CELLULES PRESENTATRICES D'ANTIGENES	16
II.2.3.2.ACTIVATION DES LYMPHOCYTES T	17
II.3. SIGNALISATION INTRA CELLULAIRE DU MACROPHAGE	17
II.3.1. PRINCIPES DE LA SIGNALISATION	17
II.3.2. VOIES DE LA SIGNALISATION	17
II.3.2.1. JAK /SAT	17
II.3.2.2. MAPK	18
II.3.2.3. PI	18
II.3.2.4. NF - KB	18
II.3.3 REGULATEURS NEGATIFS DE LA SIGNALISATION	18
II.3.3.1. PHOSPHOTYROSINES PHOSPHATASES	18
II.3.3.2. PHOSPHATASES DES LIPIDES	19
II.3.3.3. SOCS	19
II.3.3.4. PIAS	19
II.3.3.5. PROTEASOMES	19

CHAPITRE III

INTERACTION LEISHMANIA- MACROPHAGE

III.1. INTERACTION INITIALE	22
III.2. PHAGOCYTOSE	24
III.3. FONCTIONS DU MACROPHAGE INHIBE PAR <i>LEISHMANIA</i>	25
III.1.1. NO ET ROI	25
III.3.2. CYTOKINES	25
III.3.3. PRESENTATION D'ANTIGENES ET INTERACTION CELLULAIRES	26
III.4. VOIES DE SIGNALISATIONS ALTEREES PAR LEISHMANIA	26
III.4.1. CALCIUM, LIPIDES ² ET PHOSPHATES D'INOSITOL	26
III.4.2. PKC	27
III.4.3. JAK/ STAT1	27
III.4.4. MARKS	27
III.4.5. PRODUCTION DE MOLECULES IMMUNOSUPPRESSIVES	27
III.4.6. ACTIVATION D'INHIBITEURS DE LA SIGNALISATION	28
III.4.6.1. PHOSPHOTYROSINE PHOSPHATASE	28
III.4.6.2. AUTRES	28
CONCLUSION	29
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	30

INTRODUCTION

Les leishmanioses sont des Parasitoses, Infectieuses, inoculables et exceptionnellement Contagieuses; Elles sont dues au développement et multiplication au sein des cellules du système des phagocytes mononuclées (SPM) de parasite de genre: *Leishmania*.

Comme de très nombreux autres pathogènes, ces parasites ont également la particularité d'utiliser un hôte invertébré en l'occurrence des insectes diptères de la famille *Psychodidae* appelés: phlébotomes, pour leur transmission et leur dissémination (Bachi, (2001).

L'importance de la *leishmania* dans le monde est illustré par le nombre annuel de nouveaux cas humains qui se chiffre entre 1,5 à 2 Millions de cas par an (Desjeux, 1996), et par leur répartition géographique intéressant toutes les régions du globe et particulièrement le bassin méditerranéen, qui constitue avec ses conditions bioclimatique, un foyer endémique (Ashford, 1999) ou il y a cohabitation entre les leishmanioses zoonotique humaines et canine mais avec des prévalence variées (Derreure, 1999).

La leishmaniose canine est une zoonose parasitaire due par *Leishmania infantum* dont le réservoir principal est le chien domestique (Bettini et Gradani, 1986). Ce dernier joue un rôle important dans la propagation de la maladie entraînant la forme humaine.

Les manifestations cliniques de l'infection sont différentes selon le statut immunologique de l'hôte. (Dedet, 1999). Lors de l'infestation par ce parasite, les macrophages jouent de nombreux rôles dans la réponse immunitaire (innée et adaptative); ils sont activés par des différents médiateurs avant l'arrivée au site de l'infection. Afin que ces macrophages, puissent interagir entre eux et produire une réponse immunitaire à leur environnement, une signalisation intracellulaire est indispensable au déroulement de ce processus, dont plusieurs paramètres entrent en considération (Ravetch, 1994).

Les *leishmanioses* induit théoriquement deux types de réponse immunitaires l'une humorale et l'autre cellulaire. Ces pathogènes sont surtout connus au sein de la communauté des immunologistes comme un outil très utile à la compréhension du fonctionnement du système immunitaire, grâce à des études faites sur des souris de laboratoires infectées par les *Leishmanies*. Les immunologistes ont cependant réussi à élucider une partie des mécanismes qui gouvernent la différenciation des lymphocytes TCD4⁺ naïf en cellule de type Th1 productrices d'interféron- γ (TFN- γ) et en cellules de type Th2 productrices d'interleukine-4 (IL-4) et d'IL-12.

Afin d'illustrer le mécanisme de l'interaction MΦ-parasite, des études ont été faites sur *L. Major* du fait de la rapidité de l'apparition de la réponse immunitaire contrairement à *L. Infantum* (Tacchini-Cottier F et al, 2000). Les leishmanioses représentent un important problème de santé publique dans les pays en voie de développement. Pour le moment, il n'existe pas de moyens immuno- prophylactiques efficaces contre ces maladies.

Aujourd'hui, un consensus semble s'imposer pour considérer l'association du glucantime et des dérivés d'antimoine comme le meilleur traitement de la leishmaniose canine. Néanmoins, les chiens sous traitement restent infectieux, malgré l'apparente guérison clinique de l'animal.

Cela signifie que l'amélioration symptomatique n'est pas corrélée à la diminution significative de la charge parasitaire et qu'il existe un risque épidémique même si la guérison clinique persiste. Cette situation est encore compliquée par l'émergence des phénomènes de chimiorésistance des Leishmanioses, qu'il faut prendre en considération dans la mesure où il s'agit d'une zoonose et où certaines molécules sont utilisées chez l'homme et chez l'animal.

Les cas de co-infection HIV/leishmaniose posent un sérieux problème de santé publique dans la mesure où les thérapeutiques sont peu efficaces chez les malades du SIDA ainsi que chez toute personne immunodéprimée. D'autre part l'absence d'un vaccin efficace pour combattre cette maladie et l'existence d'une transmission directe, nous amène à se poser la question suivante :

"Comment est-ce que les leishmanies arrivent-elles à persister et à échapper aux fonctions du macrophage? "

D'où l'objectif de ce modeste travail qui est de faire une étude bibliographique qui contribue à la compréhension de la résistance des leishmanies face à la réponse immunitaire. Pour se faire nous avons divisé notre étude en trois principaux volets:

- 1- LE PARASITE *LEISHMANIA* ET LA *LEISHMANIOSE*.
- 2- LE MACROPHAGE ET SON ROLE DANS LE DEVELOPPEMENT DE L'IMMUNITE.
- 3- INTERACTION *LEISHMANIA*- MACROPHAGE.

1/ HISTORIQUE :

L'étude historique de la Leishmaniose nous ramène au second ou au troisième millénaire avant notre ère, en effet une tablette d'argile découverte dans le palais de NIVIE et étudiée en 1894 évoque une leishmaniose tégumentaire par présence d'ulcération (J.P Dedet 1999).

EL BOUKHARI au Xe siècle décrit cette affection cutanée, mettant en cause la piqûre d'un moustique (Dedet 1999).

Le parasite leishmania fut découvert par Sir WILLIAM LEISHMAN en 1900 dans des frottis de la rate d'un soldat mort de fièvre à Dum-dum en INDE. Alors qu'il publiait ses résultats en 1903, CHARLE DONOVAN identifia le même parasite fut nommé leishmania Donovanii en leur honneur et la forme amastigote du parasite est communément appelé corps de leishmanie-Donovan (Robert et Janovy, 2000).

En 1908 CHARLES NICOLLES nomma *Leishmania infantum* l'agent pathogène de la leishmaniose viscérale observé dans les pays méditerranéens.

La relation de *Leishmaniose* humaine et canine est démontrée en 1912 dans l'entourage d'un garçon atteint de leishmaniose viscérale par Lombard et Quilichini à Alger.

En 1974 Chance a mis au point la caractérisation iso enzymatique des souches de leishmanies.

Les premiers cas de Co. Infection VIH leishmaniose ont été signalés en 1985 par De La loma et ses collaborateurs (Bachi, 2001).

I. LE PARASITE *LEISHMANIA* ET LA LEISHMANIOSE CANINE**I.1. GENERALITES SUR LE PARASITE *LEISHMANIA* :****I.1.1.ETUDE DU PARASITE *LEISHMANIA*:****I.1.1.1.MORPHOLOGIE DU PARASITE:**

Les leishmanies sont des protozoaires parasites, qui se présentent sous deux stades morphologiques principaux: Les promastigotes et les amastigotes.

Les promastigotes sont des parasites extracellulaires, rencontrés chez le vecteur. Ils présentent un corps plus ou moins fuselé de 5 à 20 μm de longueur et un long flagelle qui assure leur mobilité (Garni, 2001).

Les amastigotes sont des parasites intracellulaires, rencontrés chez l'homme et les mammifères au niveau du M Ø. Ces parasites sont des cellules arrondies avec un corps plus ramassé (4x2 μm) et un flagelle très court qui ne dépasse pas le corps cellulaire (Garni, 2001).

I.1.1.2.LA CLASSIFICATION :

La classification des leishmanies est la suivante (Levine, 1982):

Règne	Protista (Haeckel, 1866)
Sous règne	Protozoa (Goldfuss 1817, Siebold 1848).
Embranchement	Sarcomastigophora (Honigberg et Balmuth ,1963)
Sous embranchement	Mastigophora, Diesing, (1866)
Classe	Zoumastigophorea (Calking, 1909)
Ordre	Kinétoplastida(Honigberg, 1963, Vickerman, 1976).
Sous ordre	Trypanosomatina(Kent, 1880)
Famille	Trypanosomatidae(Doflein, 1901, Grobben, 1905)
GENRE	<i>Leishmania</i> (Ross, 1903)
Sous genre	<i>Leishmania.infantum</i> (Dedet, 1999).

La classification des espèces est fondée sur leur pouvoir pathogène sur les mammifères.

La taxonomie du sous genre *Leishmania* a subi plusieurs modifications. Les critères d'identification sont devenus fiables avec l'introduction de l'analyse iso-enzymatique (Dedet, 1999).

I.1.3 CYCLE DE VIE DE PARASITE *LEISHMANIA* :

D'après Jacks et Kamhawi, 2001, le cycle des leishmanies est un cycle hétéroxène animé par deux hôtes; un Hôte invertébré (phlébotome) et un hôte vertébré (homme, chien). Lorsque la femelle phlébotome infectée prend un repas sanguin d'un hôte vertébré, elle salive au site de piqure et régurgite par la même occasion le parasite sous forme promastigote.

Leishmania infecte ensuite un phagocyte principalement les monocytes /macrophage (MØ) du système réticulo-endothélial et se transforme en amastigote. S'en suit une multiplication du parasite par fissions binaire dans le phagolysosome du phagocyte qui est finalement lysé.

Les parasites ainsi libérés sont phagocytés par des cellules avoisinantes, ces dernières riches en parasites sont aspirées par le vecteur lors de son repas sanguin.

De retour dans le tube digestif du phlébotome les parasites se différencient à nouveau en promastigotes après 12 à 18 heures.

Les différents stades du parasite leishmania peuvent être identifiés selon leur morphologie ou leur emplacement dans le tube digestif du vecteur mais également selon les molécules qui composent leur surface.

Les promastigotes, sont recouverts d'un glycocalyx alors que les amastigotes en sont dépourvus (Dimenta et al, 1991).

Chez les promastigotes, la molécule de surface la plus abondante est le lipophosphoglycane (LPG) composé d'un disaccharide et d'un phosphate (Mcconville et al, 1995), cette molécule de surface est très importante dans l'infection des phlébotomes et joue un rôle dans l'interaction avec les macrophages de l'hôte mammifère.

La deuxième molécule en importance chez les promastigotes est la glycoprotéine gp63, elle est environ 10 fois moins abondante que les LPG, elle recouvre l'entière surface du parasite.

D'autres molécules joueraient un rôle de protection de la surface des promastigotes sont: les phospholipides GIPL, gp46/PSA2 (Mcconville et Ralton, 1997).

Pour ce qui est des molécules retrouvées à la surface des amastigotes, on observe deux majeurs, une diminution marquée de l'expression du LPG (Mcconville et Ralton, 1997) et une diminution moindre que LPG de gp63 (Schneider et al, 1992).

Bien qu'il puisse y avoir plusieurs espèces de leishmania cible d'une espèce particulière de vecteur, il n'est pas dit que ce dernier transmettra toutes les espèces de parasites de façon aléatoire.

En effet, il semble que l'association vecteurs-parasites soit spécifique (Killick – Kendrick, 1981). La résistance d'un parasite, semble dépendre de la capacité de celui-ci à surmonter certains obstacles tels que: les enzymes digestives de l'intestin médian et la membrane peritrophique entourant le repas sanguin (Sacks, 2001).

Pour ce qui est des enzymes digestives, Sacks en 2001 a démontré l'importance des gp63 sécrétées par le parasite dans la formation d'une matrice qui diminuerait la quantité des enzymes digestives de l'intestin et leur charge négative protégerait le parasite de l'effet hydrolysant des enzymes à proximité.

Le LPG à la surface du parasite jouerait également ce rôle (Sacks, 2001).

Leishmania doit également pouvoir échapper de la membrane péritrophique composée de chitines en produisant une chitinase (Schlein et al, 1991).

Finalement, *Leishmania* doit être capable de s'attacher aux cellules épithéliales de l'intestin pour éviter d'être éliminé avec les restes du repas sanguin. Cet attachement est médié par une interaction entre le LPG et les cellules épithéliales intestinales (Kamhawi et al, 2000, Pimenta et al, 1992, Sacks et al, 2000).

Lors d'un repas sanguin, le phlébotome injecte de la salive au site de piqure. Plusieurs études ont démontré que des homogénats de glandes salivaires avaient un pouvoir immunodilateur lorsqu'elles sont injectées de façon concomitante avec *leishmania* et permettaient l'augmentation de la taille, de la lésion et/ou de la charge parasitaire. Cette exacerbation de la pathologie est associée à une augmentation de L'IL-4 (Belkaid et al, 1998 ; Lima et Titus, 1996, Mbow et al, 1998) et une inhibition de plusieurs fonctions du MØ telle la présentation d'antigène, la production de monoxyde d'azote (NO) est la prolifération de lymphocytes T spécifiques aux parasites (Hall et Titus, 1995; et al, 2000, Théodos et Titus, 1993). Par contre, la réponse de l'hôte était très différente lorsqu'on précédait à l'infection directement par une piqure de mouche infectée plutôt qu'à la co-inoculation de parasites et d'homogénats de glandes salivaires. En effet, on observe une faible expression de LIL-4 et aucun changement dans l'évolution de la pathogenèse (Kamhawi et al, 2000). La salive de vecteur est aussi reconnue pour conférer une immunité contre la *Leishmaniose* (Belkaid et al, 1998, Kamhawi et al, 2000). En effet, les souris exposées aux homogénats de glandes salivaires étaient

protégées contre l'exacerbation d'homogénats de parasites. Egalement, les souris préalablement piquées par des mouches non infectées auraient de plus petites lésions et moins de parasites suite à une infection par des phlébotomes porteurs de *Leishmania*.

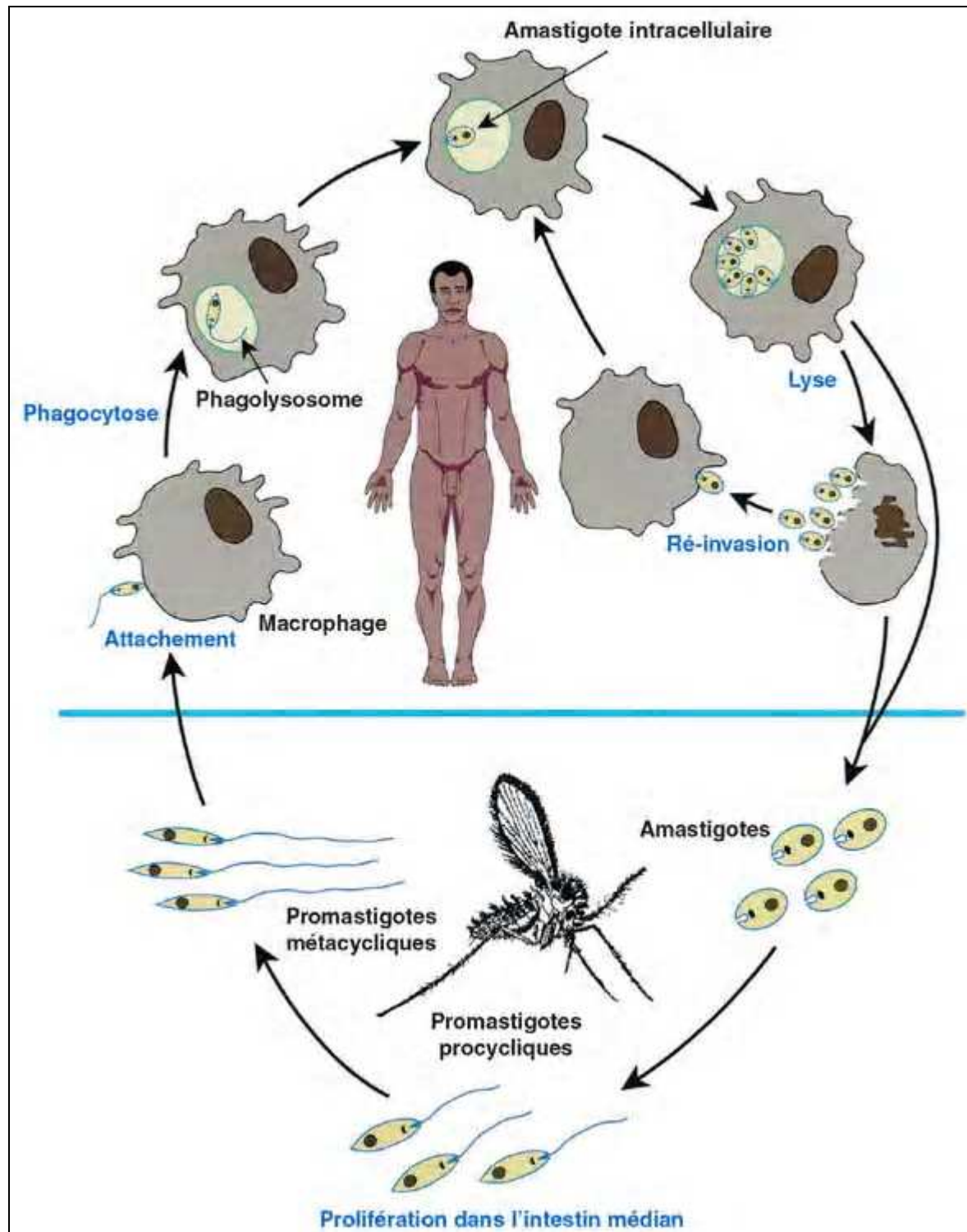


Figure 1 : Diagramme schématisé du cycle de vie de *Leishmania*. (Handman, 2001)

I.2. ETUDE CLINIQUE DE LA LEISHMANIOSE CANINE :**I.2.1. SYMPTOMATOLOGIE:**

Les manifestations cliniques apparaissent après une phase d'incubation très variable (entre 3 mois à 1 an). La *leishmaniose* a une symptomatologie polymorphe, associant des signes muco-cutanés et viscéraux et la présence d'un seul signe doit faire suspecter la maladie. (Dedet, 1999)

Tableau: 1 Les manifestations cliniques observées lors de la *Leishmaniose* canine.

Les Symptômes	
Le chancre d'inoculation (Derreure, 1999)	- la <i>leishmaniose</i> canine débute par une réaction locale qu'environ douze semaines après la primo-infection par piqure d'un phlébotome infecté. - Les lésions peuvent être uniques ou multiples, localisée soit au niveau de la truffe et du chanfrein, soit sur la face interne des oreilles. - Le chancre évolue vers la guérison spontanée en quatre à huit mois sans laisser des cicatrices.
Symptômes généraux. Selon Derreure 1999	- Amaigrissement - hyperthermie rarement observée - modification du caractère : le chien perd son entrain, souvent abattu, et parfois plongé dans une sorte de torpeur. - Modification sanguine, anémie, leucopénie, monocytose, ...etc.
Symptômes Cutanéomuqueux	- Dépilation progressive et diffuse au niveau : de la tête (signes de lunettes), le poitrail, et les membres (Lamonthes et coll, 2000) - Fur-Fur amiantacé et Ulcérations qui laissent ensuite une sérosité riche en <i>Leishmanie</i>. (Ferrer M. 1999). - Une hyper Kératose: sur le chanfrein, la truffe, le bord des oreilles, coudes des ischions et les jarrets. - L'onychogribose: est un signe très fréquent retrouvé (ongle de fakir), (Derreure, 1999)
Symptômes affectant les organes du S.P.M	- Au début de la maladie, la majorité des ganglions superficiels sont hypertrophiés surtout les sous-glossiers prés-scapulaires et poplités, leur palpation est indolore. - Splénomégalie avec une douleur à la palpation (Cabassu et al, 1988)
Autres troubles	- Troubles oculaires dans 72% de cas, les lésions sont bilatérales pouvant se compliquer d'ulcération de la cornée (Amara et coll., 2003). - Nodules dermiques (Amara, 2000) - Symptômes viscéraux: Troubles digestives avec diarrhée et troubles hépatorénaux; - L'ostéomyélite (Souza, 2005) - Lésion pulmonaires de type pneumonie interstitielle.

Tableau: 2 Les lésions observées lors de la *Leishmaniose* canine (Vider et al, 1999)

a) Lésions macroscopiques	- Rate: hypertrophiée, ramollie. - Foie: hypertrophié, congestionné. - moelle osseuse: fluide hémorragique. - Ganglions: hypertrophiés et déformés au cours de la maladie. - Reins: néphrite. - Gastro-entérite parfois hémorragique.
b) Lésions microscopiques:	- Hyperplasie des cellules du SPM - Infiltration importante de la rate, des ganglions et du derme par les macrophages. - La structure des tissus est normalement bouleversée. - au niveau de la rate il y a confusion de la pulpe blanche et la pulpe rouge. - Les sinus sont obstrués par les macrophages. - Formation de nodules péri vasculaires par accumulation de macrophages et d'histiocytes, en particulier dans le derme. - Apparition de foyers de nécrose par lyse de macrophages. Infectés. - Pan cytopénie se traduisant par une diminution du nombre d'hématies, de leucocytes et de thrombocytes.

I.2.2. EVOLUTION DE LA MALADIE:

Maladie d'évolution chronique, au cours de la quelle un état général satisfaisant peut se maintenir pendant plusieurs mois. Cependant l'évolution vers la cachexie puis la mort est de règle, des chiens. Le traitement ne permet pas d'obtenir une stérilisation parasitaire de l'organisme et les rechutes sont possibles (Cabassu et al, 1988)

I.3. PROPHYLAXIE ET TRAITEMENT DE LA *LEISHMANIOSE* CANINE

I.3.1. TRAITEMENT DE LA *LEISHMANIOSE* CANINE :

La thérapeutique de la *leishmaniose* canine est basée sur le traitement des différents symptômes engendrés par l'infestation de parasitisme des leishmanies et la destruction du parasite lui-même (Euzéby, 1982).

Divers protocoles thérapeutiques ont été envisagés. L'association du Glucantime® (antimoniote de méglumine) et du Zycloric®(Calloporinol), semble donner des résultats satisfaisants sur le plan clinique avec une nette diminution de risques de rechutes (Dedet ; 1999).

Ces traitements permettent souvent une amélioration clinique chez le chien *Leishmanien*, cependant ils ne suffisent pas à éliminer le partage parasitaire (Banath, 2002).

I.3.2. PROPHYLAXIE

Le **moyen de lutte** le plus sûr contre la *leishmaniose* canine est évidemment de limiter la pollulation du vecteur (Phlébotome) ou du moins de réduire les possibilités de piqûres par la pulvérisation d'insecticides ayant une bonne rémanence dans les maisons et les gîtes de chien.

Les insecticides (tel: DDT) couramment utilisées dans les pays en voie de développement dû à leur faible coût ont entraîné l'apparition de certaines souches de phlébotomes de plus en plus résistantes telles observés en Inde (Bora, 1999).

Le contrôle de cette zoonose passe aussi par le contrôle du réservoir que ce soit par l'élimination des chiens infectés, ou par traitement de ces derniers. Killik Kendrik en 1999 a démontré l'efficacité du port des colliers imprégnés d'insecticides (Scalibor) dans le but de protéger les chiens contre cette infection et de limiter la transmission à l'homme comme cela a été démontré en Italie (Maroli et al, 2001) et en France (Killik Kendrik, 1999)

II. LA REPONSE IMMUNITAIRE ET LE ROLE DU MACROPHAGE

II.1.LE MACROPHAGE:

Le terme macrophage fût employé pour la première fois par Metchnikoff à la fin de 19^{ème} siècles, pour identifier de grosses cellules mononuclées retrouvées dans les tissus et qui avaient la capacité de phagocyter (karvosky, 1981).

II.1.1.EVOLUTION:

Comme toutes les cellules de la lignée sanguine, l'origine du macrophage est la moelle osseuse chez les mammifères adultes (Van Furth, 1989): (voire figure:2)

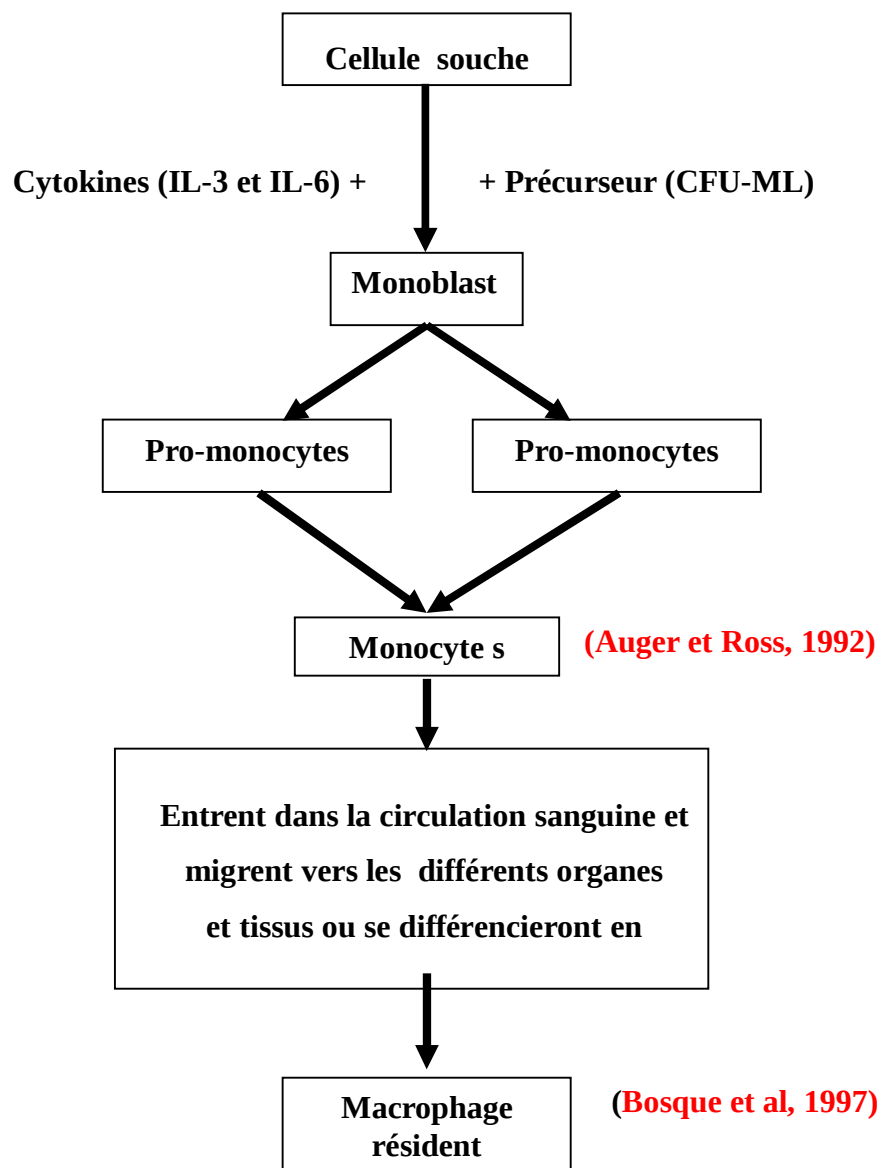


Figure 2:diagramme de l'évolution du macrophage.

On peut distinguer les monocytes des MØ par la grande capacité de phagocytoses qu'ont ces derniers.

Selon le tissu où ils se retrouvent, les MØ ont différents noms et morphologies. La dispersion des monocytes à travers l'organisme semble faire au hasard et les MØ résidents résultant seront modelés selon leur micro- environnement (Auger et Ross, 1992).

II.1.2. MORPHOLOGIE :

Tableau: 3 Composantes cellulaires et morphologie microscopique (Auger et Ross, 1992)

Les macrophages	Les monocytes
-Cellules de 25 à 50 µm, - noyau est en position excentrique, - cytoplasme abondant, - L'appareil de Golgi juxtaposé au noyau, - Le réticulum endoplasmique rugueux dispersé dans le cytoplasme, - les mitochondries et les lysosomes situés près de la membrane cytoplasmique qui peuvent se lier aux phagosomes, -le cytosquelette du MØ, forme de microtubules et microfilament d'actine, est très bien développé qui permet sa locomotion de même que la formation de pseudopodes lors de la phagocytose.	-Cellules de 12 à 15 µm, -Noyau est en position excentrique rond ou ayant la forme d'un rein. -Ils possèdent un ou deux nucléoles qui sont perdus lors de la différenciation en MØ. -Un cytoplasme abondant (dans lequel se retrouvent diverses granules azurophiles de différentes tailles).

II.1.3. MOLECULES DE SURFACE :

Les molécules retrouvées à la surface des phagocytes peuvent varier en nature et en nombre selon le degré de différenciation du monocyte et du macrophage, du degré d'activité du MØ ainsi que de son type et de son environnement

Les principales molécules de surface du macrophage regroupé comme suit:

1- Les récepteurs de la portion constante (Fc), des immunoglobulines (Ig). On retrouve principalement des récepteurs pour IgG et les IgE (Ravetch 1997).

Ces récepteurs sont responsables de l'attachement et de la phagocytose subséquente, de particules recouvertes d'anticorps, dites opsonisées, tels microbes et cellules tumorales.

LA REPONSE IMMUNITAIRE ET LE ROLE DU MACROPHAGE

2-Les récepteurs CR1 (complément Receptor1), CR3 et CR4 impliqués dans la phagocytose par le MØ (Caroll, 1998).

Les particules recouvertes de complément (Opsonisées) se fixent au MØ via ces récepteurs. Pour permettre leur adhésion aux cellules environnantes et à la matrice extracellulaire, les MØ possèdent des sélectines et des intégrines.

3-Les sélectines sont des récepteurs qui lient à des épitopes glucidiques et permettent le ralentissement des monocytes dans le vaisseau sanguin (Weis et al, 1998).

4-Les intégrines quant à elles, permettent la liaison ferme des monocytes/ MØ avec d'autres cellules (dont les cellules endothéliales) et avec la matrice extracellulaire (Gahmberg et al, 1998).

5- La présentation d'antigènes aux lymphocytes T nécessite la présence des molécules des complexes majeurs molécules d'histocompatibilité (CMH) I et II. Les monocytes /MO arborent également des récepteurs pour de nombreux facteurs de croissance et cytokines tels : GM-CSF, M-CSF, CSF-1, IL -2, 3, 4,6, TNF, IFN α , B, γ (Auger et Ross ,1992)

6-On retrouve des récepteurs de plusieurs chimiokines de type CC, CXC ET CX3C, qui favorisent le chimiotactisme des cellules hématopoïétiques vers le site d'inflammation (Mahalingam et Karupiah, 1999)

7-Les MØ expriment des glycoprotéines de type lectines qui permettent la liaison aux oligosaccharides tels mannose, fucose et galactose (Weis et al ; 1998).

II.2.LA REPONSE IMMUNITAIRE

II.2.1. GENERALITE

Toutes les espèces animales sont confrontées de façon quotidienne à un grand nombre de microorganismes (bactéries, champignons, parasites protozoaires, virus) qui peuvent affecter leur santé et même leur survie. Deux systèmes de défense s'opposent à ces microorganismes : un système appelé l'immunité innée, qui est commun à tous les animaux, y compris l'homme, et un système immunitaire dit adaptatif (ou spécifique) qui est présent exclusivement chez les Vertébrés (quelque 45000 espèces actuellement répertoriées, chiffre à comparer avec les 2 millions d'invertébrés décrits à l'heure actuelle).

Le système adaptatif est apparu au cours de l'évolution chez les ancêtres des poissons cartilagineux, probablement vers – 450 millions d'années, et il co-existe chez tous les vertébrés avec une puissante réponse immunitaire innée.

L'immunité innée (naturelle) est une réponse peu spécifique, immédiate, due aux phagocytes ; macrophages, les cellules NK et le complément. Elle utilise des récepteurs peu spécifiques

LA REPONSE IMMUNITAIRE ET LE ROLE DU MACROPHAGE

conservés et non clonaux reconnaissant des motifs moléculaires des pathogènes. Elle constitue donc la première ligne de défense contre les pathogènes mais pas de mémoire (réponse stéréotype).

Par contre l'immunité adaptative est une réponse immunitaire très spécifique inductible et donc retardée (après 4 jours). Elle est due aux lymphocytes (T et B) et aux anticorps produits par les B. Cette réponse utilise des récepteurs d'antigènes hautement spécifiques, très divers et clonaux (T Cell Receptor; TCR et B Cell Receptor; BCR), elle confère une protection (mémoire immunitaire) par le même pathogène (réponse adaptée) (**Bosque et al, 1997**)

II.2.2. ROLES DANS LA REPONSE INNEE

Le MØ joue de nombreux rôles tant dans la réponse immunitaire innée qu'adaptative pour cela, il doit d'abord être actif. Cette activation peut être causée par les différents médiateurs de l'inflammation présent avant l'arrivée des monocytes circulants ou affectant les M Ø résidents.

II.2.2.1. PRODUCTION D'AGENTS MICROBICIDES :

II.2.2.1.1. MONOXYDE D'AZOTE

Le NO est une molécule extrêmement importante du système immunitaire. Il est reconnu pour son effet antimicrobien tant chez les bactéries, que chez les parasites, les virus, les champignons et les helminthes.

Cet effet est dépendant de l'inhibition de la synthèse ou de la réparation de l'ADN et de l'altération des protéines ou de l'inhibition de leur production (**Bogdan et al ; 2000**). En effet, il peut inhiber certains enzymes essentielles à la croissance des cellules tumorales comme celles de la chaîne respiratoire. Son action peut aussi provoquer l'apoptose et l'arrêt du cycle cellulaire et augmenter la sensibilité des cellules tumorales (**Pervin et al ; 2001**).

Cependant le NO peut aussi avoir des effets dommageables sur les cellules et les tissus provoquant la dégradation de la matrice extracellulaires et recrutement de cellules inflammatoires, induisant ainsi l'expression des chimiokines, qui peuvent entraîner une inflammation chronique (**Bogdan ; 2001**).

II.2.2.1.2. METABOLITES DE L'OXYGENE :

On nomme métabolites de l'oxygène ROI (de l'anglais Réactive Oxygen Intermediates). Les radicaux libres produits par le stress oxydatif.

C'est un moyen de défense très important chez les phagocytes comme les monocytes /MØ tout comme chez les neutrophiles. Ils sont produits par un complexe protéique membranaire appelé NADPH oxydase (phox).

LA REPONSE IMMUNITAIRE ET LE ROLE DU MACROPHAGE

Tout comme le NO, les métabolites de l'oxygène sont très utiles dans la destruction de l'oxygène et de cellules tumorale, mais peuvent aussi avoir des effets néfastes sur les cellules et les tissus sains environnants.

II.2.2.1.3. ENZYMES LYSOSOMALES :

Le MØ produit certaines enzymes qui permettent l'élimination des débris, les cellules tumorales et agents pathogènes ainsi que la digestion des particules ingérée. Ces enzymes sont le plus souvent contenues dans une vacuole appelée : lysosome.

On retrouve des protéases neutres telles les élastases et les collaginases, des hydrolases acide comme les sérines protéases, les lipases, les polysaccharidases, les désoxyribonucléases et les sulphatases (Auger et Ross, 1992). Ces dernières ont des capacités antimicrobiennes directes et en plus, facilitent et amplifient la réponse immunitaire adaptative en augmentant la production d'anticorps (IgG). Elles peuvent également favoriser le recrutement des cellules dendritiques immatures par gradient de concentration.

(Lehrer et Ganz, 2002).

II.2.2.2. PHAGOCYTOSE :

La phagocytose est le moyen utilisé par les cellules pour ingérer des particules de plus de 0,5µm. C'est un mécanisme dépendant de la polymérisation de l'actine. Certaines cellules sont spécialisées dans ce domaine comme les monocytes /macrophage, les neutrophiles et les cellules dendritiques immatures (Aderem et Underhill, 1999). Le macrophage peut phagocyter toutes sortes de particules telles microorganismes, débris cellulaires et cellules tumorales.

Dû à la capacité des pathogènes de muter et à la nécessité pour les macrophages de reconnaître un grand nombre d'entre eux, l'évolution a généré des récepteurs sont appelés PRR (Pattern Recognition Receptors) (Medzhitov et Janeway, 1997).

La particule à phagocyter peut aussi avoir été recouverte des molécules du complément qui sont reconnues par leurs récepteurs sur le macrophage (Caroll, 1998).

Il s'en suit alors une polymérisation de F-actine en réponse à la transduction de signaux induite par l'attachement aux récepteurs. Cette polymérisation permet la formation de pseudopodes qui entourent le microorganisme. Dans certains cas, d'autres protéines cytosquelettiques comme la vinculine, l'actinine et la paxilline peuvent aussi être impliquées (Aderem et Underhill, 1999). Toutes fois phagosome complètement formé, il y a dépolymérisation de F-actine. Le phagosome est alors accessible aux endosomes précoces qui peuvent s'y lier

II.2.2.3. PRODUCTION DES CHIMIOKINES ET AUTRES MEDiateURS DE L'INFLAMMATION:

Les chimiokines sont des polypeptides qui ont des propriétés chimioattractantes, elles induisent le recrutement cellulaire en trois étapes:

D'abord, elles stimulent l'expression d'adhésines à la surface des cellules endothéliales vasculaires ce qui permet l'attachement des leucocytes et leur migration dans les tissus.

Ensuite, la production d'un gradient de concentration de ces polypeptides guide les cellules vers la lésion.

Finalement, elles sont responsables de l'activation des fonctions effectrices des leucocytes par leur liaison avec des récepteurs spécifiques, ce qui engendre l'activation de la signalisation intracellulaire. Elles sont classées généralement en quatre catégories selon la position et le nombre de leurs cystéines conservées CC, CXC, CX3C, C. (Mahalingam et Karupiah, 1999).

II.2.3. ROLES DANS LA REPONSE ADAPTATIVE:

II.2.3.1. CELLULES PRESENTATRICES D'ANTIGENES:

En plus d'être très importants dans l'alimentation immédiate des pathogènes, les MO ont un rôle primordial à jouer dans l'établissement d'une réponse immunitaire spécifique médiée par les lymphocytes T, dites adaptatives. En effet, ils peuvent présenter des antigènes, tout comme les cellules dendritiques et lymphocytes B (Brown et Gordon, 2002).

Néanmoins, les MO ont une part active à jouer dans ce domaine. La présentation d'antigène se fait à l'aide de deux molécules différentes, le CMH de classe I et de classe II.

Le CMH de classe I est exprimé chez presque toutes les cellules nucléées de l'organisme. La molécule de classe I responsable de la présentation de peptides cytosoliques, endogène ou non.

La cellule reconnaît les protéines à dégrader et les dirige vers la dégradation par divers moyens qui ne sont pas tous très bien compris.

Le mécanisme le plus documenté est la liaison de la protéine en question avec des molécules d'ubiquitines qui l'assigneront au protéasome.

Ce dernier est responsable de la dégradation de la majorité des protéines cellulaire.

Une fois la protéine est dégradée en peptide, ces derniers entrent dans le réticulum endoplasmique via les protéines transporteurs TAP 1 et 2, où ils se lient aux molécules de CMH I.

Le complexe CMH I- antigène est ensuite exporté à la surface cellulaire via l'appareil de Golgi. (Pamer et Cresswell, 1998).

Le CMH II est responsable de la présentation d'antigènes exogènes acquis par phagocytose.

Il est donc très important pour la reconnaissance de pathogènes intracellulaires confinés dans des vacuoles. (Wick et Ljungren, 1999).

LA REPONSE IMMUNITAIRE ET LE ROLE DU MACROPHAGE

Les cellules présentatrices d'antigènes (CPA) migrent ensuite aux ganglions lymphatiques drainants afin d'activer les lymphocytes T.

II.2.3.2. ACTIVATION DES LYMPHOCYTES T:

Les cellules dendritiques chargées en antigènes parasitaires activent les lymphocytes T naïfs présents dans le ganglion lymphatique. L'activation provoque une augmentation de la taille des cellules, leur progression à travers le cycle cellulaire, et des modifications phénotypiques comme l'expression à leur surface de la molécule CD69 ou l'augmentation de l'expression de la molécule CD44 ou de récepteur de la chimiokines CXCR5.

Une fois activés, les lymphocytes T activés migrent vraisemblablement vers la zone B du ganglion ou quittent le ganglion par vaisseaux lymphatiques efférents. (Reiner SL, Locksley RM; 1995).

II.3. SIGNALISATION INTRA CELLULAIRE DU MACROPHAGE

II.3.1. PRINCIPES DE LA SIGNALISATION

Afin que les MO puissent interagir entre eux et produire une réponse immunitaire à leur environnement, une signalisation intracellulaire est nécessaire au déroulement de ce processus.

Pour se faire, plusieurs paramètres entrent en considérations, d'où l'objectif de ce chapitre qui est de tenter de comprendre le principe fondamental de cette signalisation.

II.3.2. VOIES DE LA SIGNALISATION

Certaines protéines retrouvées à la surface du MO telles que (JAK/STAT, MAPK,...) représentent les principales voies de signalisation par leur activités catalytique sur les entités pathologiques en cause. Les principales voies étudiées sont :

II.3.2.1. JAK /SAT

La voie JAK / STAT joue un rôle importants dans l'activation et la répression des cellules du système immunitaire tel que le macrophage (Leonard et O'Shea, 1998). Les Janus Kinases sont des grandes protéines catalysantes (ou JH 1) qui médient l'attachement au récepteur et qui régulent également l'activité catalytique, on le nomme FERM (Hilkens et al, 2001, Zhou et al, 2001). Les protéines STAT se fixent aux récepteurs et conserve l'intégrité du domaine FERM (o'shea et al, 2002).

Le mécanisme d'activation de voie JAK / SAT est relativement simple. Les protéines JAKs sont liées aux récepteurs via leurs domaines FERM., entraînant l'oligomérisation de ce dernier puis leur autophosphorylation (Briscoe et al, 1996).

II.3.2.2. MAPK

La famille des MAPKs phosphorylent certaines protéines (sérine, thréonine, tyrosine,...) qui assurent une plus grande spécificité d'interaction entre le MO et agent pathogène (Tanoue et al ; 2000)

III.2.3. PI :

. Ces PI jouent plusieurs rôles dans la physiologie cellulaire. Ils permettent la circulation des vésicules, la phagocytose, la transcription de certains gènes, la motilité cellulaire, la survie, la prolifération cellulaire (Rameh et Cantley, 1999). Les PI vont activer des protéines situés à la membrane cytoplasmique, qui joue un rôle dans la réponse immunitaire dont la modulation de la phagocytose et la production de métabolites de l'oxygène (Coekjian et Jirousek ; 1999).

II.3.2.4. NF - KB

Joue un rôle principal dans les réponses inflammatoires et immunitaires. En effet, son activation est induite suite au stress cellulaire tels les ROI et UV, aux infections bactériennes, virales et parasitaires (Sen et Baltimore, 1986).

II.3.3 REGULATEURS NEGATIFS DE LA SIGNALISATION**II.3.3.1. PHOSPHOTYROSINES PHOSPHATASES****-LA SHP-1:**

Retrouvée principalement chez les cellules hématopoïétiques, mais également chez les cellules musculaires lisses (Marrero et al, 1998) et les cellules épithéliales (Banville et al, 1998). Elle régule négativement plusieurs voies de signalisation.

La SHP -1 joue un rôle très important dans la régulation négative des lymphocytes B et T et dans la suppression de nombreuses voies de signalisation reliées à la croissance cellulaire, à la survie, à l'activation, à la migration et à l'adhésion des cellules myéloïdes pendant la croissance cellulaire. (Kozlowski et al, 1998, Paulson et al, 1996).

- La SPHP- 2 :

La SHP-2 est très importante dans la signalisation reliée aux facteurs de croissance (Tonks et Neel, 2001) aux intégrines et à la migration cellulaire (Yu et al, 2002)

- La CD 45 :

La CD 45 est une PTP transmembranaire qui se retrouve dans toutes les cellules hématopoïétiques nucléés (Trowbridge et Thomas, 1994).

Elle a surtout été étudié chez les lymphocytes T et B où elle régule positivement la signalisation découlant de l'attachement du BCR et du TCR et elle est impliquée dans la maturation des thymocytes et dans la sélection des cellules B (Byth et al, 1996, Kishihara et al, 1993).

II.3.3.2. PHOSPHATASES DES LIPIDES

La SHIP et PTEN sont deux phosphatases responsables de la déphosphorylation des différents phospholipides d'inositol. La SHIP est restreinte aux cellules hématopoïétiques et son expression varie en fonction du développement cellulaire (Krystal, 2000).

La PTEN est une protéine cytotogique impliquée dans le transport des vésicules synaptiques (Krystal et al, 2000). Elle semble impliquée dans l'inhibition tumorale puisque le gène de PTEN peut être délété ou muté dans de nombreux cancers tels que les mélanomes, les cancers de l'endomètre et de prostate (Canteley et Neel et Neel, 1999).

II.3.3.3. SOCS :

Les membranes de la famille SOCS jouent un rôle dans l'inhibition de la signalisation induite par plusieurs cytokines en agissant principalement sur les voies JAK / STAT. (Greenhalgh et Hilton, 2001, Kile et al, 2001).

II.3.3.4. PIAS

La famille des protéines PIAS a été découverte par la technique de double hybride chez la levure par la liaison de certaines de ces membres avec les protéines STAT. Elle est composée de cinq membres, PIAS1, PIAS3, PIAS xa, PIAS xB et PIAS y (Chung et al, 1997, Liu et al, 1998). Les PIAS peuvent aussi se lier à d'autres facteurs de transcription lorsqu'elles agissent comme ligases E3.

II.3.3.5. PROTEASOMES:

Pour être dégradées, les protéines doivent d'abord être reconnues et liées à des molécules d'ubiquitines pour ensuite être dirigées vers le complexe du protéasome.

La voie protéolytique de l'ubiquitine-protéasome est responsable de la dégradation de nombreuses protéines cellulaires et étrangères. Elle joue un rôle important dans le cycle et la division cellulaire dans la réponse au stress, dans la réponse immunitaire et inflammatoire et dans plusieurs autres événements cellulaires. Il est essentiel à la survie de tout eucaryote. Il intervient dans la régulation négative de certains facteurs de transcription comme SATAT. Pour être dégradées, les protéines doivent d'abord être reconnues et liées à des molécules d'ubiquitine pour ensuite être dirigées vers le complexe du protéasome.

D'abord, l'enzyme activatrice de l'ubiquitine, E1 forme un intermédiaire E1thiol-ester ubiquitine par un mécanisme dépendant de l'ATP, puis transféré l'ubiquitine à l'enzyme E2

(Hershko et al, 1983). De manière générale, en attache plutôt l'ubiquitine de manière covalente à la protéine cible.

Les ligases d'ubiquitine protéine E3s sont responsables de la reconnaissance spécifique des protéines à dégrader. E3 permet le rapprochement entre E2 ubiquitine et la cible (Glickman et Ciechanover, 2002). Les E3 peuvent reconnaître les protéines substrats de différentes façons. La plus connue est certainement via phosphorylation du substrat. Dans certains cas, E3 doit aussi être phosphorylée (Kornitzer et Ciechanover, 2000). Certaines protéines sont reconnues via leurs domaines N-terminal (Varshavsky et al, 2000) ou simplement car elles n'ont pas la bonne conformation (Seufert et Jentsch, 1990).

Suite à leur ubiquitination, les protéines seront dirigées vers le protéasome. Le protéasome est une unité protéolytique d'environ 2,5 MDa qui nécessite l'ATP pour dégager les protéines et qui se situe dans le cytoplasme. Le noyau est associé au réticulum endoplasmique. Le protéasome 26S est constitué de deux parties majeures ; l'unité centrale 20S et l'unité régulatrice 19S (Glickman et Ciechanover, 2001).

Le 20S est composé de quatre anneaux superposés les deux anneaux centraux son formés de 7 sous-unités B chacun – trois de ces sous-unités possèdent un site protéolytique actif pour la thréonine.

Le 20S contient donc six sites de protéases (Groll et al, 2007) lors d'une stimulation à L'IFN γ , ces trois sous-unités sont remplacées dans les protéasomes nouvellement formés par des sous-unités homologues, LMP2, LMP7, et MECL-1 qui génèrent des peptides plus adéquats à la présentation d'antigènes par le CMHI (Bochtler et al, 1999, Kloetzel, 2001). On parle alors d'immunoprotéasome. Les deux anneaux extérieurs sont composés de 7 sous-unités α et permettent l'attachement des unités 19S. Le 19S régule l'activité du protéasome en sélectionnant les substrats par la dégradation et en les dirigeants vers le 20S.

Les ATP ases seraient responsables du déroulement des protéines et de leur translocation dans le 20S. Le protéasome coupe les protéines en peptides longs de 3 à 23 acides aminés (Kisselev et al ; 1999).

Ces peptides sont probablement réduits d'avantage par des protéases. Les sous-unités B protéolytiques ont chacune leur préférence, B coupe après un résidu acide ou hydrophobe, après un résidu basique ou hydrophobe comme nous l'avons déjà mentionné. La stimulation à L'IFN γ favorise la génération de peptides plus antigéniques par la présence d'autres sous-unités B qui favorisent la coupure après un résidu hydrophobe. Ce qui faciliterait entre autres la fixation du

LA REPONSE IMMUNITAIRE ET LE ROLE DU MACROPHAGE

peptide avec le CMHI. A la fin du processus, l'ubiquitine est recyclée via /19S qui contient une activité hydrolase de l'ubiquitine (Glickman, et Cie chanvoer, 2002).

(La figure: 3 illustre le mécanisme d'action du protéasome et ses différentes composantes).

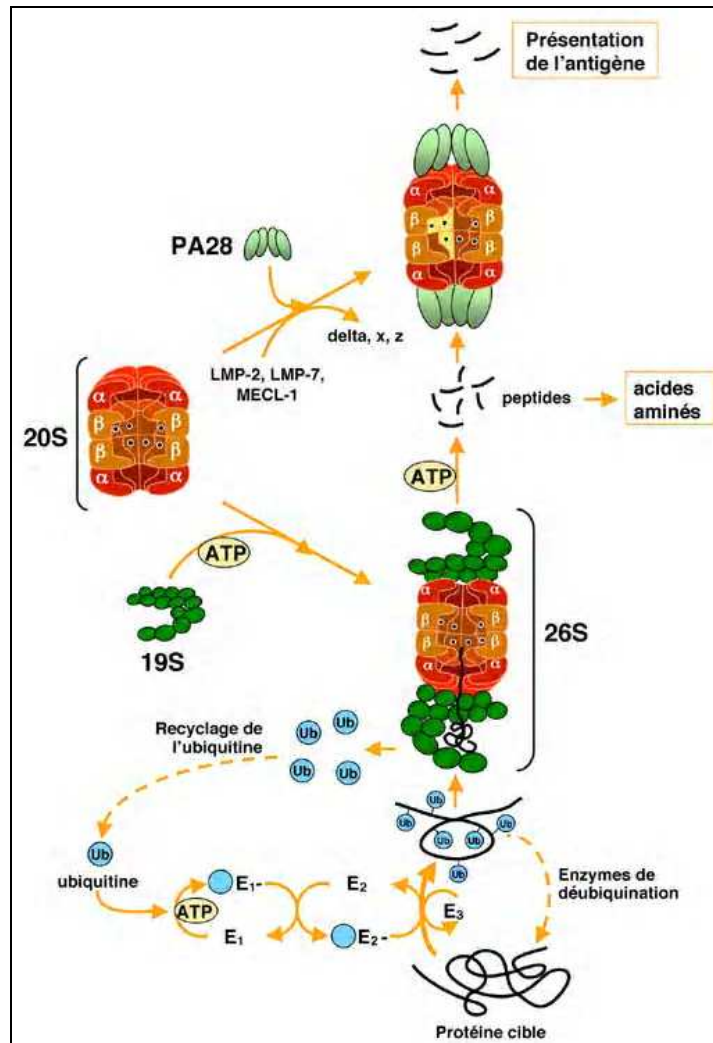


Figure 3 : Mécanisme d'action du protéasome et de l'immunoprotéasome. (Mansfield et Olivier, 2002)

III. INTERACTION *LEISHMANIA*- MACROPHAGE

La *Leishmaniose* induit théoriquement deux types de réponse immunitaires l'une humorale et l'autre cellulaire. Des études ont démontré que le parasite *Leishmania* n'est pas restreint à un seul type cellulaire, il peut infecter aussi bien les fibroblastes, les dendritiques et les neutrophiles ainsi que les cellules non hématopoïétiques.

Ces études ont présenté des différences de résultats qu'ont à la réponse immunitaire engendrée par le parasite *Leishmania* in vitro par rapport à la situation observée in vivo.

Cette différence est contradictoire selon les types de cellules hôtes (monocytes, macrophages, tissu ou réside la cellule), selon leur niveau de différenciation et la façon dont elles ont été différenciées et finalement selon l'espèce de parasite et selon le stade de développement (Promastigotes ou amastigotes).

Afin se bien illustre le mécanisme de l'interaction MO-parasite des études ont été faite sur *L.Major*, du fait de la rapidité d'apparition de la réponse immunitaire contrairement à *L.Infantum*.

III.1. INTERACTION INITIALE:

Suite à leur interaction dans un hôte par leur vecteur, le phlébotome et les promastigotes de *Leishmania* doivent échapper à la lyse par le complément jusqu'à ce qu'ils soient phagocytés par un milieu où ils pourront se répliquer. Les promastigotes métacycliques résistent à la lyse par le complément du fait que leur LPG est plus long et qu'il ne permet pas la fixation du complexe C5b-C9 du complément responsable de la lyse cellulaire.

La gp63 participe aussi à protéger la leishmania de la lyse cellulaire en convertissant le C3b en C3bi qui permet plutôt l'opsonisation du parasite et sa phagocytose (Brittingham et al, 1995). Finalement, le parasite posséderait des protéines Kinases qui phosphorylerait les membres du système du complément et inhiberaient ainsi la cascade (Bogdan et Rollinghoff, 1998).

Les molécules de surfaces du parasite sont également très importantes pour sa fixation au milieu. Dans un système in Vivo, en présence de complément, les promastigotes métacycliques sont généralement opsonisés par le C3b et le C3bi qui se fixe respectivement sur le CRI et 3 du macrophage.

Le LPG et la gp63 peuvent se lier au C3b et C3bi (et donc au CR1 et 3) mais il semble que se soit le CR3 qui permet l'interaction la plus ferme entre le macrophage et le parasite. En effet, le C3b

est rapidement converti en C3bi, entre autres par l'action de la gp63, ce qui fait que la liaison avec le CR1 est transitoire (Kane et Mosser, 2000).

Le LPG peut également lier la protéine C réactive (un produit précoce de l'inflammation) et se fixer ainsi au récepteur de cette protéine pour être phagocyté (Culley et al, 1996). Il semble que sa phagocytose via ce récepteur n'entraîne pas la réponse immunitaire observée habituellement lors de l'internalisation d'autres types de particules via le même récepteur (Bodman Smith et al, 2002).

Une molécule de surface du parasite qu'on connaissait déjà, le GIPL, semble lui aussi, permettre l'attachement au macrophage puisque un anticorps anti-GIPL bloque l'internalisation du parasite (Suzuki et al, 2002).

En effet, après quelques jours d'infection, une réponse immunitaire humorale se met en place. La liaison des promastigotes et des amastigotes avec le macrophage et leur phagocytose subséquente est un mécanisme relativement silencieux qui n'induit pas la réponse inflammatoire à laquelle on s'attendrait, ce qui favorise leur survie (Cunningham, 2002). La figure : X illustre les différentes molécules impliquées dans l'interaction *leishmania*- macrophage.

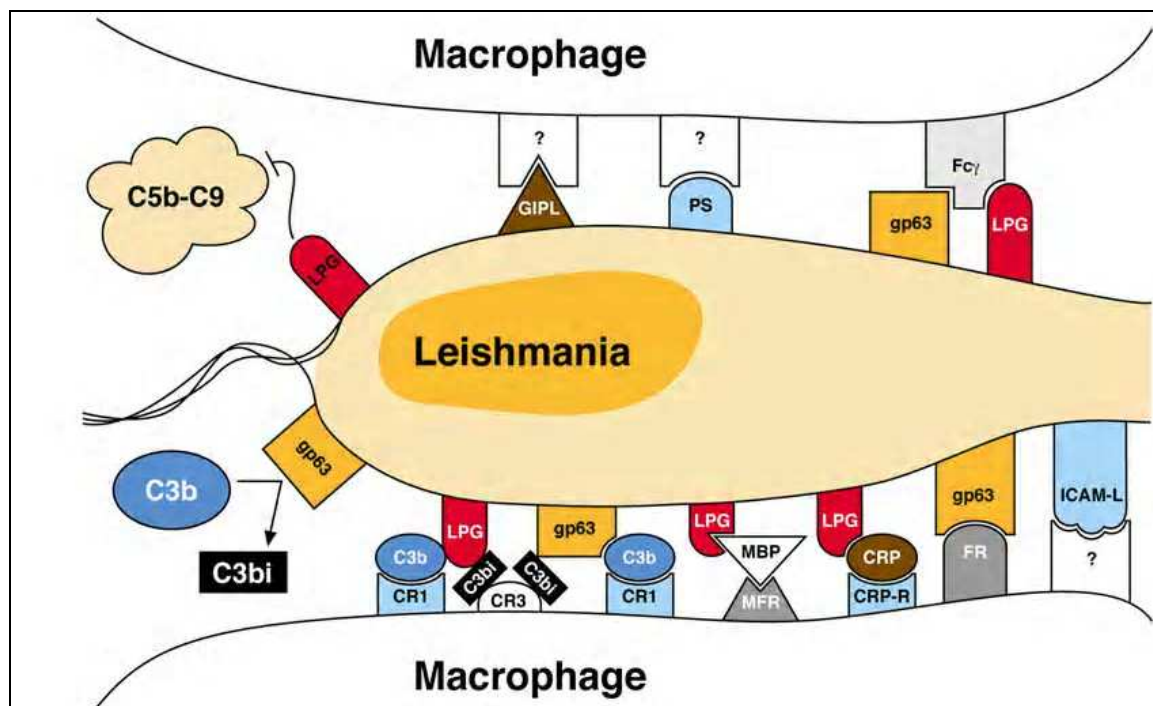


Figure 4. : Interaction entre le MØ et *Leishmania* via leurs molécules de surface et des protéines solubles.

PS= phosphatidylsérine, MBP= mannose binding protein, MFR= mannose fucose receptor, CRP= C-reactive protein, CRP-R= C-reactive protein receptor, FR= fibronectine receptor.

(Bogdan et Rölinghoff, 1998).

Dans un autre ordre d'idées, il semble que l'internalisation du parasite peut nécessiter la participation de plus d'un récepteur à la fois (Brittingham, et al, 1999). De plus, quelques études démontrent que le LPG n'est pas absolument nécessaire à l'attachement et à la phagocytose par le

macrophage (Descoteaux et Turco, 2002). Ceci pourrait démontrer une certaine redondance des récepteurs qui s'unissent déjà aux mêmes molécules à la surface du macrophage.

III.2. PHAGOCYTOSE

Suite à leur attachement au macrophage, les parasites seront internalisés dans une vacuole appelée parasitophore. Il a jusqu'à récemment été affirmé que les promastigotes étaient toujours contenus à l'intérieur de vacuoles où ils résistaient à la dégradation et pouvaient se transformer en amastigotes. Il semblerait maintenant qu'ils se retrouvent également libres dans le cytoplasme et qu'ils pourraient s'y transformer en amastigotes (Ritting et Bogdan, 2000).

De façon générale, les amastigotes sont résistants à l'environnement acide et hydrolytique des phagolysosomes malgré l'absence de LPG à leur surface. Ce n'est pas le cas des promastigotes, qui se seraient adaptés à cet environnement par différents mécanismes :

- D'abord, le LPG semble jouer un rôle très important dans leur survie, puisque des parasites déficients en LPG seraient lysés rapidement après leur phagocytose (Descoteaux et Turco, 1999).

- Il serait responsable de l'inhibition transitoire de la fusion entre le phagosome et les endosomes (Des jardins et Descoteaux, 1997). Ce retard de fusion pourrait être relié à l'accumulation de F. actine autour des phagosomes causée par le LPG qui nécessite la présence de Ca et l'inhibition de PKC (Holm et al, 2003).

- Le LPG peut aussi retarder cette fusion en changeant la courbure des membranes et en créant aussi une répulsion entre le phagosome et l'endosome (Miao et al, 1995).

Ce retard dans la maturation des phagolysosomes permettrait au promastigote de se différencier en amastigote qui lui est résistant à cet environnement.

Une autre stratégie utilisée par le parasite pour survivre dans le phagolysosome est l'inhibition des enzymes hydrolytiques et autres molécules microbicides :

- 1-Le LPG semble pouvoir neutraliser le ROIs présents dans les vacuoles (Chan et al, 1989). Deux nouvelles sortes de molécules présent chez le parasite *leishmania* joueraient également ce rôle : les peroxidines 1 et 2 qui pourraient inactiver les ROIS (Barr et Gedamu, 2003).

La forte charge négative du LPG et les répétitions de galactose mannose protégeraient le parasite de l'attaque hydrolytique (Eilam et al, 1985).

- 2-La gpG3 est aussi reconnue pour son action dans les conditions acides présentes dans le phagolysosome (Cunningham, 2002). Elle protégerait ainsi les parasites de la lyse (Seay et al, 1996).

III.3. FONCTIONS DU MACROPHAGE INHIBE PAR *LEISHMANIA*:

Le parasite *Leishmania* évite la réponse immunitaire dirigée contre lui en se reproduisant à l'intérieur des macrophages, mais également en inhibant plusieurs fonctions de celui-ci qui pourraient lui être néfastes. L'inhibition des fonctions du macrophage peut s'effectuer par des changements au niveau de l'expression des gènes mais également au niveau post-transcriptionnel et post-traductionnel. On peut séparer ces fonctions en trois grands groupes : les fonctions microbicides, la production de cytokines et la présentation d'antigène et l'activation de cellules effectrices.

III.3.1. NO et ROI

Deux types de molécules microbicides sont reconnus pour leur efficacité contre *Leishmania*. Le NO (Liew et al, 1990) et les radicaux de l'oxygène (Murray, 1982).

L'infection initiale des macrophages par le parasite viendrait inhiber la production de NO qui pourrait être générée suite à une stimulation à l'IFN, produit par les lymphocytes T. Cette inhibition de la production de NO pourrait être due à la production d'IL-10, à l'inactivation de la voie JAK/STAT ou l'activation des PTP.

Pour ce qu'est des ROI, leur production peut elle aussi être inhibée durant l'infection par *Leishmania* (Buchmüller – Rouiller et Mauël, 1987 ; Olivia ; 1992). Pour l'inactivation des ROIS par LPG, il semble que LPG et la gp63 pourraient être responsables de l'inhibition de leur production entre autres via l'inactivation de la PKC. (Sorensen et al ; 1994)

III.3.2. CYTOKINES

Le deuxième groupe de fonctions du macrophage inhibées par *Leishmania* regroupe la production des cytokines. Les cytokines touchées sont impliquées soit dans la réponse inflammatoire (IL-1 et INFα) soit dans l'activation des lymphocytes T (IL-12).

Une étude plus récente a révélée que l'infection par *Leishmania* induisait la transcription de l'IL-1α, et l'inhibition de la transcription de l'IL-12. Elle est essentielle à l'activation des lymphocytes de type Th1 qui sécrèteront ensuite de l'IFNγ afin d'activer les macrophages à devenir d'avantage microbicides. Il est évident qu'une telle action entraîne l'élimination du parasite. C'est probablement pourquoi *Leishmania* a acquis la capacité de réguler négativement l'IL -12.

Plusieurs études ont décrit ce phénomène. Les promastigotes, amastigotes et le phosphoglycan du LPG peuvent tous inhiber la production d'IL-12 chez les macrophages (Piedrafita et al ; 1999).

III.3.3. PRESENTATION D'ANTIGENES ET INTERACTION CELLULAIRES

Un autre aspect très important de la réponse immunitaire est bien entendu la présentation d'antigènes par les CPA aux lymphocytes T afin de développer une réponse spécifique au parasite. Cette étape est cruciale dans la défense contre *Leishmania*. Il est vrai que lors d'infections par ce parasite, ce sont surtout les cellules dendritiques qui semblent responsables de la présentation d'antigène aux lymphocytes T naïfs. Néanmoins, les macrophages doivent aussi être capables d'exprimer les antigènes via le CMHII pour être reconnus par les lymphocytes T activés et devenir davantage microbicides. Il semble également que *Leishmania* puisse empêcher le couplage des antigènes aux molécules de CMHII (Fruth et al ; 1993 ; Prina et al ; 1993). Par contre, ces molécules se retrouvaient dans la vacuole parasitophore (lang et al ; 1994) et seraient endocytées par les amastigotes présents et dégradées des protéases du macrophage (Souza lao et al ; 1995).

Un autre aspect de la présentation d'antigène est la communication cellulaire via les molécules de co-stimulation telle CD 40/CD40L.

Il semble que l'inhibition de la liaison CD40/CD40L soit responsable de l'absence de INOS (Soong et al ; 1996) et des activités microbicides du macrophage (Kamanaka et al ; 1996 ; Soong et al ; 1996) et que la guérison de la Leishmaniose dépende d'une liaison CD40/CD40L active (Campbell et al ; 1996 ; Heirizel et al 1998). Une étude récente suggère que la signalisation découlant de l'interaction de CD40 soit altérée chez les macrophages infectés, ce qui mènerait à une diminution d'expression d'INOS (Awasthi et al ; 2003).

III.4. VOIES DE SIGNALISATIONS ALTEREES PAR *LEISHMANIA*

De plus en plus d'études démontrent que l'infection par *Leishmania* cause l'inactivation de voies de signalisation dépendantes du Ca^{2+} et des PTKs. En outre, cela serait la cause de l'inhibition de plusieurs fonctions du macrophage.

III.4.1. CALCIUM, LIPIDES ET PHOSPHATES D'INOSITOL:

L'infection des macrophages par *Leishmania* semble faire augmenter le niveau de Ca^{2+} intracellulaire (Eilam et al ; 1985 ; Olivier et al ; 1992)

Cette élévation serait due à une augmentation de la prise de Ca^{2+} par les cellules infectées (Mansfield et Olivier, 2002). Il en découle une inactivation de la voie de signalisation dépendante de Ca^{2+} puisque les cellules ne répondent plus aux peptides chimiotactique et ne produisent plus de ROIs (Olivier et al, 1992). Il semble que le LPG puisse lier le Ca^{2+} (Eilam et al, 1985), ce qui laisse croire que l'augmentation observée pourrait être due à une séquestration du Ca^{2+} par le LPG (Mansfield et olivier, 2002). D'autres protagonistes seraient reliés à l'inhibition des ROIs, les phosphates d'inositol, qui est également fortement inhibé (déphosphorylé) lors de l'infection. (Olivier et al, 1992).

III.4.2. PKC

C'est une enzyme qui peut être dépendante de la mobilisation du Ca^{2+} . Il a d'ailleurs été démontré que *leishmania* diminuait son activité et augmenterait ainsi sa survie (Descoteaux et al, 1992, Mc Neely et turco, 1987 ; olivier et al, 1992). De plus le LPG serait une molécule de choix pour procéder à cette inhibition (Descoteaux et al, 1992). *Leishmania* peut également inhiber la protéine MRP (de l'anglais MARCKs -Related Protein), un substrat de la PKC associé au cytosquelette qui est impliquée dans le déplacement des vacuoles (Kane et Mosser, 2000).

III.4.3. JAK/ STAT1

Leishmania inhibe la voie JAK2/STAT1 qui est reconnue pour transmettre le signal initié par la liaison du récepteur de l'IFN γ . En fait, les MO infectés semblent incapables de phosphoryler JAK1, JAK2 et STAT1 suite à une stimulation à l'IFN γ (Blanchette et al ; 1999, Nandan et Reiner, 1995). Cette inactivation serait due à l'action des PTPs, plus spécialement SHP-1 (Ray et al ; 2000).

III.4.4. MARKS

Il a été démontré par deux études différentes que l'infection des MO par *Leishmania* inhibait l'activation des MAPKs suite à une stimulation du LPS ou au PMA (Martiny et al, 1999, Nandan et al, 1999).

III.4.5. PRODUCTION DE MOLECULES IMMUNOSUPPRESSIVES

Comme nous l'avons vu jusqu'à maintenant, *leishmania* a la grande capacité d'inactiver sa cellule hôte, le M0. Il parvient à inhiber plusieurs fonctions qui sont essentielles à une réponse immunitaire adéquate en altérant, dans la plupart des cas, des voies de signalisation. Ceci lui permet de survivre à l'intérieur des phagocytes, de se diviser et d'envahir son hôte. Une des façons qu'il utilise pour y parvenir est l'induction de molécules immunosuppressives induites par plusieurs espèces de parasite in vitro (chez les M0) et in vivo (Bogdan et Rölinghoff, 1998).

III.4.6. ACTIVATION D'INHIBITEURS DE LA SIGNALISATION

III.4.6.1. PHOSPHOTYROSINE PHOSPHATASE:

Leishmania est responsable de l'inhibition de plusieurs fonctions du macrophage dépendante de l'IFN γ de même que de plusieurs voies de signalisations dépendantes de la phosphorylation de résidus tyrosines (JAK /STAT, MAPKs). Certaines études ont démontré que ces déphosphorylations étaient dues à l'activation des PTPs de la cellule hôte (Blanchette et al, 1999, Olivier et al, 1998)

III.4.6.2. AUTRES

Outre les PTPs et les SHP-1, *leishmania* semble pouvoir induire d'autres inhibiteurs de la signalisation cellulaires dont les sérines / thréonine phosphatases, SOC 3.

Il semblerait que l'activité de la PP-2B, une sérine /Thréonine phosphatases, soit induite chez les macrophages infectés par *Leishmania*. Ceci pourrait être dû à l'induction des niveaux de Ca²⁺ intracellulaire pour lesquels la PP-2B est dépendante. Cette activation pourrait résulter en une déphosphorylation de plusieurs protéines contenant des résidus sérines et thréonines et permettre leur inactivation (Mansfield et Olivier 2002).

En résumé, grâce à l'action des lymphocytes T sur les macrophages, les souris infectées réussissent à contrôler la multiplication des leishmanies et à éliminer leur dissémination. Ainsi quelques semaines après l'infection, la charge parasitaire mesurée au niveau du site inflammatoire ou dans les ganglions lymphatiques est considérablement réduite par rapport à celle mesurée quelques jours après l'injection du parasite. Toutefois, des techniques sensibles de détections ont montrés qu'un petit nombre de parasites pouvait persister dans les ganglions lymphatiques. La rate et la moelle osseuse plusieurs mois après la guérison des lésions cutanées (AebishenT, Mordey SF, Handman. E ; 1993).

Ces parasites sont retrouvés dans des macrophages, dans des cellules dendritiques et le plus souvent dans des fibroblastes, qui constituent un refuge pour les amastigotes du fait de leur pouvoir leishmanicide limité (Bogdan. C et al ; 2000).

Le maintien de l'infection sous forme latente dépend de la synthèse continue de NO et le maintien de l'expression élevée de iNOS plusieurs mois après l'infection dépend de la stimulation chronique de lymphocytes TCD4 + antiparasitaire et de plus l'administration d'un inhibiteur iNOS à des souris guéries depuis plusieurs mois entraîne une multiplication massive du parasite et l'apparition de nouvelles lésions (Park AY, Hondowicz BD, Scott P, 2000)

CONCLUSION:

Les leishmanioses sont des parasitoses dues au développement et multiplication au sein des cellules du système des phagocytes mononuclées (SPM) de parasite de genre *leishmania* dont l'espèce la plus importante en médecine vétérinaire est *L.infantum*.

Cette dernière est transmise aux vertébrés (homme et chien) par une pique d'une femelle phlébotome créant un lac hémolympatique qui permet aux promastigotes d'entrer en contact avec les cellules macrophagiques et d'être phagocytés.

L'étude des souris de laboratoire infectées par *L.Major* nous a permis de bien connaître l'immunité anti-*leishmanien* et comment que le parasite est arrivé à persister lors de son interaction avec le vecteur, et l'hôte vertébré :

Chez le vecteur, les promastigotes arrivent à persister et échapper aux enzymes digestives de l'intestin médian et la membrane peritrophique du phlébotome par ces molécules de surface LPG et gp63. Ces deux dernières ont un rôle important dans la formation d'une matrice qui diminuerait la quantité des enzymes digestives et leur charge négative protégerait le parasite de l'effet hydrolysant aux enzymes à proximité et grâce aux LPG qui s'attachent aux cellules épithéliales pour échapper à l'élimination avec le reste du repas sanguin.

Chez l'hôte vertébré: ces parasites peuvent inhiber plusieurs fonctions du macrophage par:

- L'échappement à la lyse cellulaire par leur LPG qui ne permet pas la fixation aux complexes C5b-C9 du complément et gp63 en convertissant le C3b en C3bi.
- L'empêchement du couplage des antigènes aux molécules CMHII pour ne pas être reconnu par les lymphocytes T.
- L'inhibition de la production de Monoxyde d'Azote par la stimulation d'INF et la production IL-10 et LPG et gPG3.
- L'inhibition de la prolifération de lymphocyte T spécifique aux parasites.

Le parasite doit donc s'adapter à des conditions de vie différentes. Son passage du vecteur à l'hôte et de l'hôte au vecteur va entraîner une reprogrammation génétique provoquant ainsi des dysfonctionnements, à l'origine de certaines situations génétiques et donc de nouvelles expressions cliniques de la pathologie. Pour cela l'étude du génome est une source importante pour les études transcriptomique et protéomique qui permettent de mieux comprendre le processus de différenciation du parasite, son interaction avec la cellule hôte et sa capacité à résister aux traitements conventionnels.

Cependant l'étude du génome leishmanien va nous aider à bien comprendre la maladie pour bien pouvoir la contrôler: soit par l'action directe sur le parasite, soit par la modulation de la réponse immunitaire de l'hôte, dans le but de développer de nouveaux médicaments.

Références Bibliographique

Aderem, A. and Underhill, D.M. (1999) Mechanisms of phagocytosis in macrophages. *Annual Review of Immunology* , **17** , 593-623.

Arevalo, I., Ward, B., Miller, R., Meng, T.C., Najjar, E., Alvarez, E., Matlashewski, G. and Llanos-Cuentas, A. (2001) Successful treatment of drug-resistant cutaneous leishmaniasis in humans by use of imiquimod, an immunomodulator. *Clinical Infectious Diseases* , **33** , 1847-1851.

Auger, M.J. and Ross, J.A. (1992) The biology of the macrophage. In Lewis, C.E. and McGee, J.O.D. (eds.), *The Macrophage: the Natural Immune System* . Oxford University Press, Oxford, pp. 3-74.

Awasthi, A., Mathur, R., Khan, A., Joshi, B.N., Jain, N., Sawant, S., Boppana, R., Mitra, D. and Saha, B. (2003) CD40 signaling is impaired in L. major-infected macrophages and is rescued by a p38MAPK activator establishing a host-protective memory T cell response. *The Journal of Experimental Medicine* , **197** , 1037-1043.

Banville, D., Stocco, R. and Shen, S.H. (1995) Human protein tyrosine phosphatase 1C (PTPN6) gene structure: Alternate promoter usage and exon skipping generate multiple transcripts. *Genomics* , **27** , 165-173.

Barr, S.D. and Gedamu, L. (2003) Role of peroxidoxins in Leishmania chagasi survival. Evidence of an enzymatic defense against nitrosative stress. *The Journal of Biological Chemistry* , **278** , 10816-10823.

Belkaid, Y., Butcher, B. and Sacks, D.L. (1998a) Analysis of cytokine production by inflammatory mouse macrophages at the single-cell level: selective impairment of IL-12 induction in *Leishmania* -infected cells. *European Journal of Immunology* , **28** , 1389-1400.

Belkaid, Y., Kamhawi, S., Modi, G., Valenzuela, J., Noben-Trauth, N., Rowton, E., Ribeiro, J. and Sacks, D.L. (1998b) Development of a natural model of cutaneous leishmaniasis: powerful effects of vector saliva and saliva preexposure on the long-term outcome of Leishmania major infection in the mouse ear dermis. *The Journal of Experimental Medicine* , **188** , 1941-1953.

Berger, S.A., Mak, W.T. and Paige, J.C. (1994) Leukocyte common antigen (CD45) is required for immunoglobulin E-mediated degranulation of mast cells. *Journal of Experimental Medicine* , **180** , 471-476.

- Blanchette, J., Racette, N., Siminovitch, K.A., Faure, R. and Olivier, M. (1999) *Leishmania* - induced increases in activation of macrophage SHP-1 phosphatase are associated with impaired IFN γ -triggered JAK2 activation. *European Journal of Immunology* , **29** , 3737-3744.
- Bodman Smith, K.B., Mbuchi, M., Culley, F.J., Bates, P.A. and Raynes, J.G. (2002) C-reactive protein-mediated phagocytosis of *Leishmania donovani* promastigotes does not alter parasite survival or macrophage responses. *Parasite Immunology* , **24** , 447-454.
- Bogdan, C. (2001a) Nitric oxide and the immune response. *Nature Immunology* , **2** , 907-916.
- Bogdan, C. (2001b) Nitric oxide and the regulation of gene expression. *Trends in Cell Biology* , **11** , 66-75.
- Bogdan, C., Donhauser, N., Doring, R., Rollinghoff, M., Diefenbach, A. and Rittig, M.G. (2000a) Fibroblasts as host cells in latent leishmaniasis. *Journal of Experimental Medicine* , **191** , 2121-2130.
- Bogdan, C. and Röllinghoff, M. (1998) The immune response to *Leishmania* : mechanisms of parasite control and evasion. *International Journal for Parasitology* , **28** , 121-134.
- Bogdan, C., Rollinghoff, M. and Diefenbach, A. (2000b) Reactive oxygen and reactive nitrogen intermediates in innate and specific immunity. *Current Opinion in Immunology* , **12** , 64-76.
- Bora, D. (1999) Epidemiology of visceral leishmaniasis in India. *National Medical Journal of India* , **12** , 62-68.
- Bosque, F., Belkaid, Y., Briend, E., Hevin, B., Lebastard, M., Soussi, N. and Milon, G. (1997) The biology of macrophages. *Pathologie Biologie* , **45** , 103-109.
- Briscoe, J., Rogers, N.C., Witthuhn, B.A., Watling, D., Horn, D.L., Harpur, A.G., Wilks, A.F., Stark, G.R., Ihle, J.N. and Kerr, I.M. (1996) Kinase-negative mutants of JAK1 can sustain interferon-gamma-inducible gene expression but not an antiviral state. *EMBO Journal* , **15** , 799-809.
- Brittingham, A., Chen, G., McGwire, B.S., Chang, K.P. and Mosser, D.M. (1999) Interaction of *Leishmania* gp63 with cellular receptors for fibronectin. *Infection and Immunity* , **67** , 4477-4484.
- Brittingham, A., Morrison, C.J., McMaster, W.R., McGwire, B.S., Chang, K.P. and Mosser, D.M. (1995) Role of the *Leishmania* surface protease gp63 in complement fixation, cell adhesion, and resistance to complement-mediated lysis. *Journal of Immunology* , **155** , 3102-3111.

Buchmüller-Rouiller, Y. and Mauël, J. (1987) Impairment of the oxidative metabolism of mouse peritoneal macrophages by intracellular *Leishmania* spp. *Infection and Immunity* , **55** , 587-593.

Byth, K.F., Conroy, L.A., Howlett, S., Smith, A.J., May, J., Alexander, D.R. and Holmes, N. (1996) CD45-null transgenic mice reveal a positive regulatory role for CD45 in early thymocyte development, in the selection of CD4⁺ CD8⁺ thymocytes, and B cell maturation. *Journal of Experimental Medicine* , **183** , 1707-1718.

Campbell, K.A., Ovendale, P.J., Kennedy, M.K., Fanslow, W.C., Reed, S.G. and Maliszewski, C.R. (1996) CD40 ligand is required for protective cell-mediated immunity to *Leishmania* major. *Immunity* , **4** , 283-289.

Cantley, L.C. and Neel, B.G. (1999) New insights into tumor suppression: PTEN suppresses tumor formation by restraining the phosphoinositide 3-kinase/AKT pathway. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* , **96** , 4240–4245.

Carroll, M.C. (1998) The role of complement and complement receptors in induction and regulation of immunity. *Annual Review of Immunology* , **16** , 545-568.

Chan, J., Fujiwara, T., Brennan, P., McNeil, M., Turco, S.J., Sibille, J.C., Snapper, M., Aisen, P. and Bloom, B.R. (1989) Microbial glycolipids: possible virulence factors that scavenge oxygen radicals. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* , **86** , 2453-2457.

Chung, C.D., Liao, J., Liu, B., Rao, X., Jay, P., Berta, P. and Shuai, K. (1997) Specific inhibition of Stat3 signal transduction by PIAS3. *Science* , **278** , 1803-1805.

Culley, F.J., Harris, R.A., Kaye, P.M., McAdam, K.P. and Raynes, J.G. (1996) C-reactive protein binds to a novel ligand on *Leishmania donovani* and increases uptake into human macrophages. *Journal of Immunology* , **156** , 4691-4696.

Cunningham, A.C. (2002) Parasitic adaptive mechanisms in infection by *Leishmania* . *Experimental and Molecular Pathology* , **72** , 132-141.

Descoteaux, A., Matlashewski, G. and Turco, S.J. (1992) Inhibition of macrophage protein kinase C-mediated protein phosphorylation by *Leishmania donovani* lipophosphoglycan. *Journal of Immunology* , **149** , 3008-3015.

Descoteaux, A. and Turco, S.J. (1999) Glycoconjugates in *Leishmania* infectivity. *Biochimica et Biophysica Acta* , **1455** , 341-352.

Descoteaux, A. and Turco, S.J. (2002) Functional aspects of the *Leishmania donovani* lipophosphoglycan during macrophage infection. *Microbes and Infection* , **4** , 975-981.

- Desjardins, M. and Descoteaux, A. (1997) Inhibition of phagolysosomal biogenesis by the *Leishmania* lipophosphoglycan. *Journal of Experimental Medicine* , **185** , 2061-2068.
- Eilam, Y., El On, J. and Spira, D.T. (1985) *Leishmania major*: excreted factor, calcium ions, and the survival of amastigotes. *Experimental Parasitology* , **59** , 161-168.
- Fruth, U., Solioz, N. and Louis, J.A. (1993) *Leishmania major* interferes with antigen presentation by infected macrophages. *Journal of Immunology* , **150** , 1857-1864.
- Gahmberg, C.G., Valmu, L., Fagerholm, S., Kotovuori, P., Ihanus, E., Tian, L. and Pessa-Morikawa, T. (1998) Leukocyte integrins and inflammation. *Cellular and Molecular Life Sciences* , **54** , 549-555.
- Greenhalgh, C.J. and Hilton, D.J. (2001) Negative regulation of cytokine signaling. *Journal of Leukocyte Biology* , **70** , 348-356.
- Guerin, P.J., Olliaro, P., Sundar, S., Boelaert, M., Croft, S.L., Desjeux, P., Wasunna, M.K. and Bryceson, A.D.M. (2002) Visceral leishmaniasis: current status of control,
- Hall, L.R. and Titus, R.G. (1995) Sand fly vector saliva selectively modulates macrophage functions that inhibit killing of *Leishmania major* and nitric oxide production. *Journal of Immunology* , **155** , 3501-3506.
- Heinzel, F.P., Rerko, R.M. and Hujer, A.M. (1998) Underproduction of interleukin-12 in susceptible mice during progressive leishmaniasis is due to decreased CD40 activity. *Cellular Immunology* , **184** , 129-142.
- Hershko, A., Heller, H., Elias, S. and Ciechanover, A. (1983) Components of the ubiquitin protein ligase system: resolution, affinity purification and role in protein breakdown. *Journal of Biological Chemistry* , **258** , 8206–8214.
- Hilkens, C.M., Is'harc, H., Lillemeier, B.F., Strobl, B., Bates, P.A., Behrmann, I. and Kerr, I.M. (2001) A region encompassing the FERM domain of Jak1 is necessary for binding to the cytokine receptor gp130. *FEBS Letters* , **505** , 87-91.
- Holm, A., Tejle, K., Magnusson, K.E., Descoteaux, A. and Rasmusson, B. (2001) *Leishmania donovani* lipophosphoglycan causes periphagosomal actin accumulation: correlation with impaired translocation of PKC α and defective phagosome maturation. *Cellular Microbiology* , **3** , 439-447.
- Kamanaka, M., Yu, P., Yasui, T., Yoshida, K., Kawabe, T., Horii, T., Kishimoto, T. and Kikutani, H. (1996) Protective role of CD40 in *Leishmania major* infection at two distinct phases of cell-mediated immunity. *Immunity* , **4** , 275-281.

- Kamhawi, S., Belkaid, Y., Modi, G., Rowton, E. and Sacks, D. (2000a) Protection against cutaneous Leishmaniasis resulting from bites of uninfected sand flies. *SCIENCE* , **290** , 1351 - 1354.
- Kamhawi, S., Modi, G.B., Pimenta, P.F.P., Rowton, E. and Sacks, D.L. (2000b) The vectorial competence of *Phlebotomus sergenti* is specific for *Leishmania tropica* and is controlled by species-specific, lipophosphoglycan mediated midgut attachment. *Parasitology* , **121** , 25-33.
- Kane, M.M. and Mosser, D.M. (2000) Leishmania parasites and their ploys to disrupt macrophage activation. *Current Opinion in Hematology* , **7** , 26-31.
- Karnovsky, M.L. (1981) Metchnikoff in Messina: a century of studies on phagocytosis. *New England Journal of Medicine* , **304** , 1178-1180.
- Killick-Kendrick, R. (1985) Some epidemiological consequences of the evolutionary fit between *Leishmaniae* and their phlebotomine vectors. *Bulletin of the Society for Pathological and Exotic Filiales* , **78** , 747-755.
- Killick-Kendrick, R. (1990) Phlebotomine vectors of the leishmaniasis: a review. *Medical and Veterinary Entomology* , **4** , 1-24.
- Kima, P.E., Soong, L., Chicharro, C., Ruddle, N.H. and McMahon-Pratt, D. (1996) *Leishmania* -infected macrophages sequester endogenously synthesized parasite antigens from presentation to CD4⁺ T cells. *European Journal of Immunology* , **26** , 3163-3169.
- Kishihara, K., Penninger, J., Wallace, V.A., Kundig, T.M., Kawai, K., Wakeham, A., Timms, E., Pfeffer, K., Ohashi, P.S., Thomas, M.L., Furlonger, C., Paige, J.C. and Mak, W.T. (1993) Normal B lymphocyte development but impaired T cell maturation in CD45-exon 6 protein tyrosine phosphatase-deficient mice. *Cell* , **74** , 143-156.
- Klingmüller, U., Lorenz, U., Cantley, L.C., Neel, B.G. and Lodish, H.F. (1995) Specific recruitment of SH-PTP1 to the erythropoietin receptor causes inactivation of JAK2 and termination of proliferative signals. *Cell* , **80** , 729-738.
- Kornitzer, D. and Ciechanover, A. (2000) Modes of regulation of ubiquitin-mediated protein degradation. *Journal of Cellular Physiology* , **182** , 1-11.
- Kozlowski, M., Larose, L., Lee, F., Le, D.M., Rottapel, R. and Siminovitch, K.A. (1998) SHP-1 binds and negatively modulates the c-Kit receptor by interaction with tyrosine 569 in the c-Kit juxtamembrane domain. *Molecular and Cellular Biology* , **18** , 2089-2099.
- Krystal, G. (2000) Lipid phosphatases in the immune system. *Seminars in Immunology* , **12** , 397-403.

Lang, T., de Chastellier, C., Frehel, C., Hellio, R., Metezeau, P., de Souza Lao, S. and Antoine, J.C. (1994a) Distribution of MHC class I and of MHC class II molecules in macrophages infected with *Leishmania amazonensis* . *Journal of Cell Science* , **107** , 69-82.

Lang, T., Hellio, R., Kaye, P.M. and Antoine, J.-C. (1994b) *Leishmania donovani* -infected macrophages: characterization of the parasitophorous vacuole and potential role of this organelle in antigen presentation. *Journal of Cell Science* , **107** , 2137-2150.

Lehrer, R.I. and Ganz, T. (2002) Defensins of vertebrate animals. *Current Opinion in Immunology* , **14** , 96-102.

Leonard, W.J. and O'Shea, J.J. (1998) Jaks and STATs: biological implications. *Annual Review of Immunology* , **16** , 293-322.

Lima, H.C. and Titus, R.G. (1996) Effects of sand fly vector saliva on development of cutaneous lesions and the immune response to *Leishmania braziliensis* in BALB/c mice. *Infection and Immunity* , **64** , 5442-5445.

Liu, B., Liao, J., Rao, X., Kushner, S.A., Chung, C.D., Chang, D.D. and Shuai, K. (1998a) Inhibition of Stat1-mediated gene activation by PIAS1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* , **95** , 10626-10631.

Liu, F., Sells, M.A. and Chernoff, J. (1998b) Protein tyrosine phosphatase 1B negatively regulates integrin signaling. *Current Biology* , **8** , 173-176.

Liu, K.D., Gaffen, S.L. and Goldsmith, M.A. (1998c) JAK/STAT signaling by cytokine receptors. *Current Opinion in Immunology* , **10** , 271-278.

Lovelace, J.K., Dwyer, D.M. and Gottlieb, M. (1986) Purification and characterization of the extracellular acid phosphatase of *Leishmania donovani* . *Molecular and Biochemical Parasitology* , **20** , 243-251.

Mahalingam, S. and Karupiah, G. (1999) Chemokines and chemokine receptors in infectious diseases. *Immunology and Cell Biology* , **77** , 469-475.

Mansfield, J.M. and Olivier, M. (2002) Immune Evasion by Parasites. In Kaufmann, S.H.E., Sher, A. and Ahmed, R. (eds.), *Immunology of Infectious Diseases* . ASM Press, Washington, D.C., pp. 379-392.

Maroli, M., Mizzon, V., Siragusa, C., D'Oorazi, A. and Gradoni, L. (2001) Evidence for an impact on the incidence of canine leishmaniasis by the mass use of deltamethrin-impregnated dog collars in southern Italy. *Medical Veterinarian Entomology* , **15** , 358-363.

Marrero, M.B., Venema, V.J., He, H., Caldwell, R.B. and Venema, R.C. (1998a) Inhibition by the JAK/STAT pathway of IFN γ - and LPS-stimulated nitric oxide synthase induction in

vascular smooth muscle cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications* , **252** , 508-512.

Marrero, M.B., Venema, V.J., Ju, H., Eaton, D.C. and Venema, R.C. (1998b) Regulation of angiotensin II-induced JAK2 tyrosine phosphorylation: roles of SHP-1 and SHP-2. *The American Journal of Physiology* , **275** , C1216-C1223.

Martiny, A., Meyer-Fernandes, J.R., de Souza, W. and Vannier-Santos, M.A. (1999) Altered tyrosine phosphorylation of ERK1 MAP kinase and other macrophage molecules caused by *Leishmania* amastigotes. *Molecular and Biochemical Parasitology* , **102** , 1-12.

Mbow, M.L., Bleyenbergh, J.A., Hall, L.R. and Titus, R.G. (1998) *Phlebotomus papatasi* sand fly salivary gland lysate down-regulates a Th1, but up-regulates a Th2, response in mice infected with *Leishmania major* . *Journal of Immunology* , **161** , 5571-5577.

McConville, M.J. and Ralton, J.E. (1997) Developmentally regulated changes in the cell surface architecture of *Leishmania* parasites. *Behring Institute Mitt.* , **99** , 34-43.

McConville, M.J., Schnur, L.F., Jaffe, C. and Schneider, P. (1995) Structure of *Leishmania* lipophosphoglycan: inter- and intra-specific polymorphism in Old World species. *Biochemical Journal* , **310** , 807-818.

McNeely, T.B. and Turco, S.J. (1987) Inhibition of protein kinase C activity by the *Leishmania donovani* lipophosphoglycan. *Biochemical and Biophysical Research Communications* , **148** , 653-657.

Medzhitov, R. and Janeway, C.A. (1997) Innate immunity: impact on the adaptive immune response. *Current Opinion in Immunology* , **9** , 4-9.

Miao, L., Stafford, A., Nir, S., Turco, S.J., Flanagan, T.D. and Epanand, R.M. (1995) Potent inhibition of viral fusion by the lipophosphoglycan of *Leishmania donovani*. *Biochemistry* , **34** , 4676-4683.

Murray, H.W. (1982) Cell mediated immune response in experimental visceral leishmaniasis: II: oxygen dependent killing of intracellular *Leishmania donovani* amastigotes. *Journal of Immunology* , **129** , 351-357.

Nandan, D. and Reiner, N.E. (1995) Attenuation of gamma interferon-induced tyrosine phosphorylation in mononuclear phagocytes infected with *Leishmania donovani* : selective inhibition of signaling through Janus kinases and Stat1. *Infection and Immunity* , **63** , 4495-4500.

Olivier, M., Baimbridge, K.G. and Reiner, N.E. (1992a) Stimulus-response coupling in monocytes infected with *Leishmania* . Attenuation of calcium transients is related to defective agonist-induced accumulation of inositol phosphates. *Journal of Immunology* , **148** , 1188-1196.

Olivier, M., Brownsey, R.W. and Reiner, N.E. (1992b) Defective stimulus-response coupling in human monocytes infected with *Leishmania donovani* is associated with altered activation and translocation of protein kinase C. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* , **89** , 7481-7485.

Olivier, M., Romero-Gallo, B.J., Matte, C., Blanchette, J., Posner, B.I., Tremblay, M.J. and Faure, R. (1998) Modulation of interferon-gamma-induced macrophage activation by phosphotyrosine phosphatases inhibition. Effect on murine Leishmaniasis progression. *Journal of Biological Chemistry* , **273** , 13944-13949.

O'Shea, J.J., Gadina, M. and Schreiber, R.D. (2002) Cytokine signaling in 2002: new surprises in the Jak/Stat pathway. *Cell* , **109 Suppl** , S121-S131.

Paulson, R.F., Vesely, S., Siminovitch, K.A. and Bernstein, A. (1996) Signalling by the W/Kit receptor tyrosine kinase is negatively regulated in vivo by the protein tyrosine phosphatase Shp1. *Nature Genetics* , **13** , 309-315.

Pervin, S., Singh, R. and Chaudhuri, G. (2001) Nitric oxide-induced cytostasis and cell cycle arrest of a human breast cancer cell line (MDA-MB-231): potential role of cyclin D1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* , **98** , 3583-3588.

Pimenta, P.F., Turco, S.J., McConville, M.J., Lawyer, P.G., Perkins, P.V. and Sacks, D.L. (1992) Stage-specific adhesion of *Leishmania* promastigotes to the sandfly midgut. *Science* , **256** , 1812-1815.

Proudfoot, L., Schneider, P., Ferguson, M.A.J. and McConville, M.J. (1995b) Biosynthesis of the glycolipid anchor of lipophosphoglycan and the structurally related glycoinositol phospholipids from *Leishmania major* . *Biochemical Journal* , **308** , 45-55.

Rameh, L.E. and Cantley, L.C. (1999) The role of phosphoinositide 3-kinase lipid products in cell function. *Journal of Biological Chemistry* , **274** , 8347-8350.

Ravetch, J.V. (1994) Fc receptors: rubor redux. *Cell* , **78** , 553-560.

Ravetch, J.V. (1997) Fc receptors. *Current Opinion in Immunology* , **9** , 121-125.

Ray, M., Gam, A.A., Boykins, R.A. and Kenney, R.T. (2000) Inhibition of interferon- γ signaling by *Leishmania donovani* . *Journal of Infectious Diseases* , **181** , 1121-1128.

Roberts, L.S. and Janovy, J.J. (2000) *Gerald D. Schmidt & Larry S. Roberts' Foundations of Parasitology* . McGraw-Hill Higher Education, Boston.

Sacks, D. (2001) *Leishmania*-sand fly interactions controlling species-specific vector competence. *CELLULAR MICROBIOLOGY* , **3** , 189 - 196.

Sacks, D.L., Modi, G., Rowton, E., Spath, G., Epstein, L., Turco, S.J. and Beverley, S.M. (2000) The role of phosphoglycans in *Leishmania* -sand fly interactions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* , **97** , 406-411.

Schlein, Y., Jacobson, R.L. and Shlomai, J. (1991) Chitinase secreted by *Leishmania* functions in the sandfly vector. *Proceedings of the Royal Society of London Ser. B.* , **245** , 121-126.

Schneider, P., Rosat, J.-P., Bouvier, J., Louis, J. and Bordier, C. (1992) *Leishmania major* : differential regulation of the surface metalloprotease in amastigote and promastigote stages. *Experimental Parasitology* , **75** , 196-206.

Seay, M.B., Heard, P.L. and Chaudhuri, G. (1996) Surface Zn-proteinase as a molecule for defense of *Leishmania mexicana amazonensis* promastigotes against cytolysis inside macrophage phagolysosomes. *Infection and Immunity* , **64** , 5129-5137.

Sen, R. and Baltimore, D. (1986) Multiple nuclear factors interact with the immunoglobulin enhancer sequences. *Cell* , **46** , 705-716.

Seufert, W. and Jentsch, S. (1990) Ubiquitin-conjugating enzymes UBC4 and UBC5 mediate selective degradation of short-lived and abnormal proteins. *EMBO Journal* , **9** , 543-550.

Tanoue, T., Adachi, M., Moriguchi, T. and Nishida, E. (2000) A conserved docking motif in MAP kinases common to substrates, activators and regulators. *Nature Cell Biology* , **2** , 110-116.

Theodos, C.M. and Titus, R.G. (1993) Salivary gland material from the sand fly *Lutzomyia longipalpis* has an inhibitory effect on macrophage function in vitro. *Parasite Immunology* , **15** , 481-487.

Tonks, N.K. and Neel, B.G. (2001) Combinatorial control of the specificity of protein tyrosine phosphatases. *Current Opinion in Cell Biology* , **13** , 182-195.

Trowbridge, I.S. and Thomas, M.L. (1994) CD45: an emerging role as a protein tyrosine phosphatase required for lymphocyte activation and development. *Annual Review of Immunology* , **12** , 85-116.

van Furth, R. (1989) Origin and turnover of monocytes and macrophages. *Current Topics in Pathology* , **79** , 125-150.

Vythilingam, I., Zainal, A.R. and Hamidah, T. (1999) Laboratory evaluation of lambda-cyhalothrin a

Weis, W.I., Taylor, M.E. and Drickamer, K. (1998) The C-type lectin superfamily in the immune system. *Immunological Reviews* , **163** , 19-34.

Yu, W.M., Hawley, T.S., Hawley, R.G. and Qu, C.K. (2002) Role of the docking protein Gab2 in beta(1)-integrin signaling pathway-mediated hematopoietic cell adhesion and migration. *Blood* , **99** , 2351-2359.

Zhou, Y.J., Chen, M., Cusack, N.A., Kimmel, L.H., Magnuson, K.S., Boyd, J.G., Lin, W., Roberts, J.L., Lengi, A., Buckley, R.H., Geahlen, R.L., Candotti, F., Gadina, M., Changelian, P.S. and O'Shea, J.J. (2001) Unexpected effects of FERM domain mutations on catalytic activity of Jak3: structural implication for Janus kinases. *Molecular Cell* , **8** , 959-969.