

Immunogénétique et paludisme cérébral.

D. Mazier & M. Idrissa-Boubou

INSERM U 511, Immunobiologie cellulaire et moléculaire des infections parasitaires, Faculté de médecine Pitié-Salpêtrière, 91 Boulevard de l'Hôpital, 75013 Paris, France.

Journée SPE du 13 octobre 1999 à l'Institut Pasteur à Paris : "Génétique et maladies infectieuses dans l'environnement tropical".

Summary: Immunogenetics and Cerebral Malaria.

Since the identification, in 1954, of the first gene associated with resistance to *Plasmodium falciparum*, several genes, some of them being implicated in the regulation of the immune response, have been described as possible influences on cerebral pathology. This pathology depends primarily on the capacity of infected red blood cells to adhere to the endothelia of micro-vessels, leading to their occlusion. The major players of cerebral malaria potentially include: receptors expressed on the surface of the endothelial cell and known to interact with infected red blood cells, cytokines modulating the expression of these adhesion molecules, nitric oxide (NO) and Fc RII/CD23. Cells other than infected red blood cells, such as platelets, monocytes and lymphocytes, have the ability to adhere to these endothelial receptors and to one another, via different ligands, leading to a more complex situation and an increase in the degree of vessel occlusion.

The polymorphism of all these molecules, implicated either in adhesion, in modulation of this adhesion or activation of the expression of diverse endothelial mediators should be an important field of study. Polymorphism of five of these molecules has been explored so far: ICAM-1, TNF- α , IL-1, iNOS2 (inducible NOS) and CR-1 (complement receptor-1). To these studies, can be added those concerning mannose binding protein (MBP), a protein playing a role in innate immunity, and the class-I antigen HLA-B53.

To date the only clear-cut result concerns TNF- α . With the other polymorphisms, either no association is found (IL-1RA, CR-1, MBP), or results are geographically heterogeneous (ICAM-1, HLA-B53), or contradictory (iNOS2). Most often, the approach followed has been the candidate gene approach, as part of case control studies. One of the main problems in this approach is the difficulty of establishing the control cohort. This difficulty disappears in family studies, which include their own controls. So far, the only results based on complex segregation analysis have been focused on parasite multiplication and not on cerebral malaria.

Résumé :

Depuis l'identification, en 1954, du premier gène de résistance à une infection à *Plasmodium falciparum*, plusieurs gènes, dont certains impliqués dans la réponse immunitaire, ont été décrits comme pouvant interférer avec la pathologie cérébrale. Cette pathologie est largement dépendante de la capacité des hématies infectées à adhérer à l'endothélium des micro-vaisseaux, entraînant leur occlusion. Les différents acteurs potentiellement impliqués dans la pathologie cérébrale sont décrits : récepteurs exprimés à la surface de la cellule endothéliale et connus pour interférer avec le globule rouge parasité, cytokines modulant l'expression de ces molécules d'adhésion et dont l'augmentation a été montrée lors du neuropaludisme, monoxyde d'azote (NO) et récepteur de faible affinité pour les IgE (Fc RII/CD23). Par l'intermédiaire de différents ligands, des cellules autres que les globules rouges parasités, telles que plaquettes, monocytes, lymphocytes, peuvent adhérer à ces récepteurs endothéliaux ou entre elles, ajoutant à la complexité des phénomènes impliqués et aux possibilités de blocage du micro-vaisseau.

En théorie, toutes ces molécules, qu'elles soient impliquées dans l'adhésion, la modulation de cette adhésion ou l'activation de l'expression de divers médiateurs endothéliaux, sont des candidats dont le polymorphisme mérite d'être étudié. Le polymorphisme de cinq de ces molécules a été exploré à ce jour : ICAM-1, TNF- α , IL-1, iNOS2 (NOS inducible) et CR-1 (récepteur du complément-1). À l'étude de ces cinq gènes candidats, il faut rajouter celles concernant la mannose binding protein (MBP), protéine jouant un rôle dans l'immunité innée, et l'HLA-B53, antigène leucocytaire de classe I.

Le seul résultat clair concerne le TNF- α . Pour les autres polymorphismes, soit aucune association n'est retrouvée (IL-1RA, CR-1, MBP), soit les résultats sont géographiquement hétérogènes (ICAM-1, HLA-B53) ou contradictoires (iNOS2). L'approche suivie a été le plus souvent l'approche "gène candidat" dans le cadre d'études cas-témoins. Un des problèmes majeurs de cette approche réside dans la difficulté de mettre en place la cohorte "contrôle". Cette difficulté disparaît dans les études familiales qui incluent par définition leurs propres témoins, mais les seuls résultats obtenus par analyse de ségrégation concernent l'impact sur la densité parasitaire et non sur la pathologie cérébrale.

Key-words: *Plasmodium falciparum* -
Cerebral malaria -
Polymorphism -
Candidate gene -
Complex segregation analysis -
TNF- α -
ICAM-1 -
iNOS2 -
IL-1RA -
CR-1 -
MBP -
HLA-B53

Mots-clés : *Plasmodium falciparum* -
Neuropaludisme -
Polymorphisme -
Gène candidat -
Analyse de ségrégation -
TNF- α -
ICAM-1 -
iNOS2 -
IL-1RA -
CR-1 -
MBP -
HLA-B53

Introduction

Après l'identification, en 1954, du premier gène de résistance à une infection par *Plasmodium falciparum* (4), dix gènes ont été décrits comme pouvant interférer avec le développement de ce parasite chez l'homme (37). Les premiers gènes étaient des variants érythrocytaires, considérés comme réfractaires, au moins en partie, à la pénétration et/ou au développement du *Plasmodium* dans le globule rouge (61). Nous verrons cependant que certains variants érythrocytaires peuvent également interférer directement dans la pathologie cérébrale. Ce n'est que plus récemment que des gènes impliqués dans la réponse immune sont apparus comme pouvant jouer un rôle dans les phénomènes de susceptibilité/résistance. Cette revue concernera spécifiquement de ceux pouvant interférer avec la pathologie cérébrale.

La gravité des formes cérébrales résultant d'une infection due à *P. falciparum* est largement dépendante de la capacité des hématies infectées à adhérer à l'endothélium des micro-vaisseaux et à former des rosettes avec les hématies non infectées. Ces deux phénomènes peuvent entraîner l'occlusion des micro-vaisseaux affectés. L'activation de la cellule endothéliale qui fait suite à l'adhésion des érythrocytes infectés est caractérisée par l'activation de l'expression de divers médiateurs, tels les cytokines et peut également contribuer au processus pathologique.

La figure 1 situe très schématiquement, à l'intérieur d'un micro-vaisseau, les acteurs potentiellement impliqués dans la pathologie cérébrale et suggère donc certains gènes candidats. Parmi les récepteurs exprimés à la surface de la cellule endothéliale, certains sont connus pour interférer avec le globule rouge parasité via PfEMP1 (*P. falciparum* erythrocyte membrane protein 1), un ligand parasitaire hautement polymorphe (10). Ces récepteurs sont: la thrombospondine (TSP) (78), le CD36 (8, 9, 64), ICAM-1 (13), la E-sélectine (66), VCAM-1 (66), PECAM-1/CD31 (96), la P-sélectine (39), α_3 (90) et la thrombomoduline (76) via sa partie chondroïtine sulfate (CSA) (79). Le rôle joué par ICAM2 est peu clair (91).

La compréhension des phénomènes d'adhésion des globules rouges parasités (GRPs) est loin d'être établie. Les résultats, en grande majorité obtenus à partir de cultures, varient en fonction de nombreux facteurs : origine de la souche plasmodiale (souche de laboratoire, souche provenant de patients), type de cellules endothéliales utilisées (lignées, primocultures), origine de ces cellules (cerveau, veine ombilicale, poumon...), méthodologie suivie (cultures statiques, cultures en flux...), et de façon plus générale en fonction de l'expérimentateur... La possibilité d'une activation différente des cellules endothéliales d'enfants et d'adultes ajoute sûrement à la complexité (92). Il apparaît cependant que plusieurs récepteurs sont simultanément ou consécutivement induits, l'adhésion du GRP à un récepteur pouvant entraîner l'expression en cascade d'autres molécules sur lesquelles le GRP viendra adhérer (40).

Ces molécules d'adhésion sont constitutives ou inducibles, leur expression pouvant être modulée par certaines cytokines, notamment le TNF- α , l'IFN- γ , l'IL-1, l'IL-4 dont l'augmentation a été montrée dans les formes de paludisme cérébral. Le monoxyde d'azote (NO), diminue l'expression d'ICAM-1 et de VCAM-1 (94). Le parasite lui-même, et plus particulièrement le glycosylphosphatidylinositol (GPI), augmente, via l'induction d'un signal de transduction médié par une tyrosine-kinase et l'activation de NF kappa B/c-rel, l'expression des molécules d'adhésion. Cette augmentation se fait soit directement, soit par l'intermédiaire de TNF et d'IL-1 sécrétés par des monocytes/macrophages (85). Tout récemment, nous avons montré que *P. falciparum* induisait l'expression du récepteur de faible affinité pour les IgE (CD23), à la surface de cellules endothéliales humaines. Cette stimulation provoque l'induction de la NO synthase inducible (iNOS) et la synthèse de NO (95). Cette observation est sûrement à rapprocher des études suggérant le rôle des IgE dans la pathologie cérébrale (71).

Par l'intermédiaire de différents ligands (tableau I), des cellules autres que les GRPs comme les plaquettes, les monocytes et les lymphocytes peuvent adhérer à ces récepteurs endothéliaux,

Figure 1.

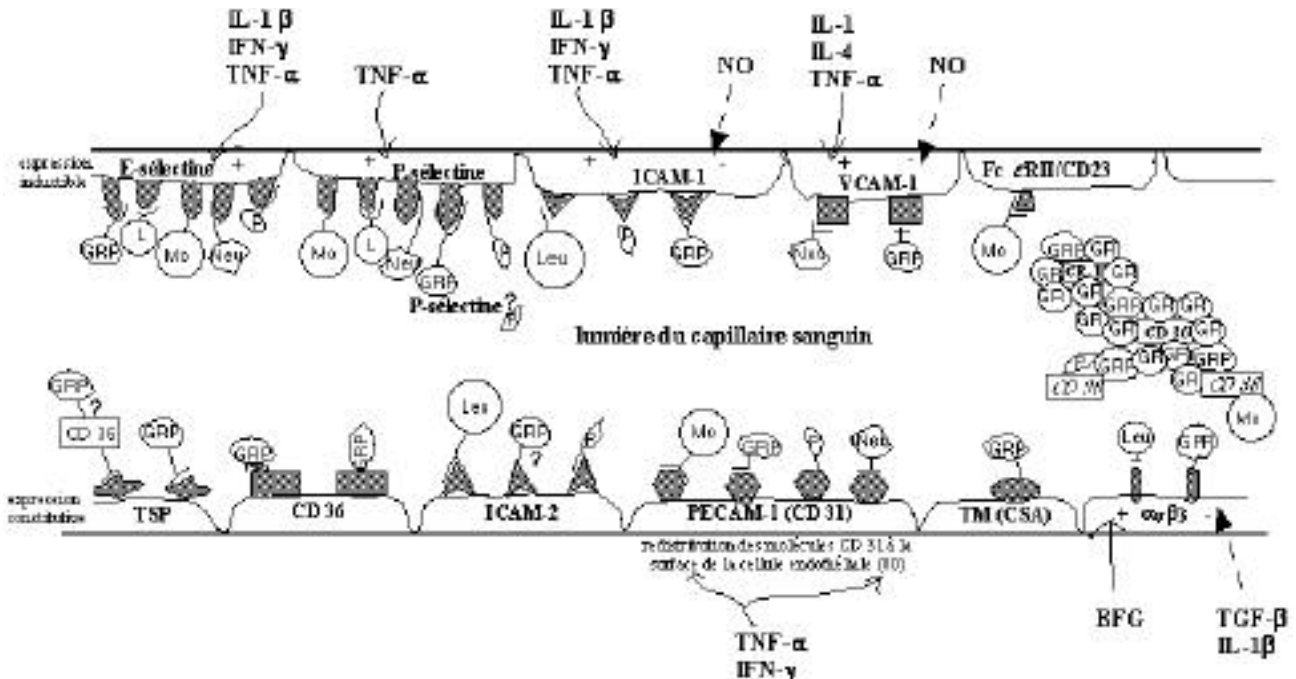
Coupe schématique d'un microvaisseau et des interactions possibles entre récepteurs endothéliaux, globules rouges parasités ou non, leucocytes et plaquettes.

A la surface de la cellule endothéliale sont symbolisés les récepteurs dont l'expression est stimulée (+) ou inhibée (-) par les cytokines et autre médiateur chimique indiqués.

Les différentes cellules et molécules potentiellement adhérentes sont schématisées par les abréviations suivantes:

CR-1 = complément du récepteur 1, CSA = chondroïtine sulfate A, GR = globule rouge, GRP = globule rouge parasité, L = lymphocytes, Mo = monocytes/macrophages, Neu = neutrophiles, P = plaquettes, TM = thrombomoduline, TSP = thrombospondine, TSPs = thrombospondine soluble.

Schematic section of a microvessel and of possible interactions between endothelial receptors, parasited or not red globules, leukocytes and blood plaques.



les chémokines étant vraisemblablement impliquées dans ce recrutement. Le rôle joué par ces cellules, nous le verrons plus loin, est loin d'être élucidé, mais la possible adhésion de ces cellules entre elles ajoute à la complexité des phénomènes impliqués et aux possibilités de blocage du micro-vasseau : par

Tableau I.

Cellules, ligands et récepteurs potentiellement impliqués dans les mécanismes pathologiques.
Cells, ligands and receptors potentially implicated in pathological mechanisms.

cellules	ligands	récepteurs	réf.	
globules rouges parasités	PFEMP-1	TSP	(78)	
		CD36 directement	(68,69)	
		CD36 via TSP soluble	(89)	
		ICAM-1	(13)	
		VCAM-1	(66)	
		ICAM-2 ?	(91)	
		E-sélectine	(66)	
		P-sélectine	(39)	
		TM (CSA)	(79)	
		PECAM-1 (CD31)	(96)	
		v 3	(90)	
		séquestrine	CD36	(64)
		bande 3	CD36	(41)
		PFEMP-1	CD36	(34)
			CR-1	(82)
	Ag sanguins ABO	(16)		
	Ig M et G	(86)		
	PFEMP-1	(17,82)		
plaquettes	LFA-1 (CD11a/CD18)	ICAM-1	(72)	
		ICAM-2	(72)	
		E-sélectine	(18)	
leucocytes	PSGL-1	P-sélectine	(18)	
		PECAM-1 (CD31)	(63)	
		LFA-1 (CD11a/CD18)	ICAM-1	(81)
lymphocytes	PSGL-1	ICAM-2	(81)	
		v 3	(73)	
		E-sélectine	(88)	
neutrophiles	VLA-4 (4b1)	P-sélectine	(59)	
		VCAM-1	(77)	
		E-sélectine	(59)	
monocytes	PSGL-1	P-sélectine	(59)	
		PECAM-1 (CD31)	PECAM-1 (CD31)	(84,100)
		E-sélectine	(59)	
	PECAM-1 (CD31)	PECAM-1 (CD31)	(60)	

exemple GRPs et plaquettes, GRPs et monocytes, GRPs et GRs non parasités (phénomène de rosette impliquant le récepteur du complément 1 (CR-1) (82, 83) et le CD36 (34)). En théorie, ces molécules, qu'elles soient impliquées dans l'adhésion, la modulation de cette adhésion ou l'activation de l'expression de divers médiateurs endothéliaux, sont des candidats dont le polymorphisme mérite d'être étudié. Le polymorphisme de cinq de ces molécules a été exploré à ce jour : ICAM-1, TNF- , IL-1 , iNOS2 et CR-1. À l'étude de ces cinq gènes candidats, il faut rajouter celles qui concernent la mannose binding protein (MBP), protéine jouant un rôle dans l'activation du complément et l'opsonisation (12), et l'HLA-B53, antigène leucocytaire de classe I (38). Nous ne ferons que mentionner les études concernant les polymorphismes érythrocytaires, la protection étant essentiellement attribuée à une diminution des possibilités de pénétration et de développement du parasite. Pour certains de ces polymorphismes, une interaction plus directe avec la pathologie cérébrale vient peut-être du fait que ces GRs sont moins enclins à participer à la formation de rosettes (15) ou à cytoadhérer (3). De plus, YUTHAVONG *et al.* (105), ont montré que certains globules rouges variants présentaient, quand ils étaient infectés par *P. falciparum*, une sensibilité accrue à l'activité phagocytaire des macrophages, due peut-être à l'expression de néo-antigènes à la surface de ces globules rouges (54).

Etude du polymorphisme des gènes candidats

Le TNF- , première cytokine dont l'effet d'un polymorphisme a été recherché en liaison avec la pathologie cérébrale, est le meilleur exemple de l'approche "gène candidat". Les étapes clés des études relatives à cette cytokine sont résumées dans le tableau II. Une majorité d'éléments est en faveur du rôle délétère du TNF- dans la pathologie cérébrale. Les éléments discordants, au moins certains d'entre eux, sont explicables, en particulier l'absence d'effet des thérapeutiques anti-TNF- , basées sur l'administration d'anticorps monoclonaux (99) ou de pentoxifylline (51, 102). Ces thérapeutiques sont efficaces dans les modèles rongeurs du fait de leur administration quasiment préventive, ce qui n'est naturellement pas le cas des essais chez l'homme. La corrélation peu

Tableau II.

Etapes clés des études portant sur le TNF- .
Key stages in the study on TNF- .

types d'étude	résultats	réf.
chez la souris		
modèles :		
CBA/Ca - P. berghei ANKA	- prévention de la pathologie cérébrale par administration d'un anticorps monoclonal anti-TNF- - stimulation de la synthèse d'ICAM-1 sur l'endothélium cérébral et adhésion de leucocytes induites par le TNF-	(28) (22,30)
C57BL/6 - P. berghei K173	- non implication du TNF- dans la genèse de la pathologie cérébrale	(36)
souris transgéniques (TNF-R1 soluble)	- protection contre la pathologie cérébrale par de forts niveaux de TNF-R1 soluble	(27)
souris déficientes pour le gène TNF-R1 ou 2	- rôle du TNFR2 (et non du TNFR1) dans l'augmentation de synthèse d'ICAM-1	(53)
thérapeutique :		
pentoxifylline - modèle CBA/Ca - P. berghei ANKA	- prévention de la pathologie cérébrale	(45)
- modèle C57BL/6 - P. berghei K173	- pas de prévention de la pathologie cérébrale	(93)
chez l'homme		
études in vitro :	- sécrétion du TNF- par les macrophages en réponse à des toxines plasmodiales - les isolats de parasites provenant de sujets atteints de neuropaludisme induisent in vitro la production de plus importants taux de TNF- que ceux provenant de sujets ayant développé un accès simple.	(48,85) (2)
cohortes en zone d'endémie à P. falciparum :	- fortes concentrations sériques de TNF- chez les enfants atteints de neuropaludisme en corrélation avec la mortalité - des taux élevés de TNF- sont associés au paludisme sévère mais ne corrélient pas à la pathologie cérébrale.	(32,43,49) (87)
études histopathologiques post-mortem:	- présence de TNF au niveau cérébral	(98)
thérapeutique :		
anticorps monoclonal anti-TNF-	- pas d'amélioration sur une étude portant sur 610 enfants	(99)
pentoxifylline	- amélioration (coma plus court) - pas d'amélioration malgré une diminution nette du TNF- sérique	(20) (51,102)
étude de polymorphisme :	- Les sujets homozygotes pour le variant -308, situé au niveau du promoteur du gène codant pour le TNF- , sont plus susceptibles de mourir de neuropaludisme et de présenter des séquelles neurologiques. - anémie sévère et pathologie cérébrale sont associées à des allèles différents - Le génotype "OCT-1-binding" est associé à une susceptibilité 4 fois supérieure de développer un neuropaludisme	(56) (57) (44)

convaincante entre TNF- sérique et pathologie cérébrale ne nous surprend pas; nous avons clairement montré dans un modèle développé dans notre laboratoire que la seule corrélation valable entre malaria cérébrale et TNF- impliquait des dosages intra-cérébraux de la cytokine (5). Des études ont porté sur le polymorphisme -308 du promoteur du TNF-. La première étude a été réalisée en Gambie (56), sur 376 cas de paludisme cérébral, les témoins consistant en sujets soit non impaludés, soit développant un accès simple ou une forme sévère mais non cérébrale. Cette étude montra clairement que chez les sujets homozygotes pour le variant -308, le risque de décès ou de séquelles neurologiques était sept fois supérieur à celui des témoins. Une étude plus récente a confirmé la conséquence fonctionnelle de la mutation 308 sur l'expression plus importante du gène TNF- (103). Plus récemment, deux études ont montré d'une part, qu'anémie sévère et paludisme cérébral étaient associés à des allèles différents (57) et d'autre part, qu'un polymorphisme affectant la liaison du facteur de transcription OCT-1 au promoteur du TNF- était associé au paludisme cérébral (les résultats obtenus sur l'étude du génotype "OCT-1" sont similaires en Gambie et au Kenya). Le génotype délétère, retrouvé chez environ 5 % des Africains confère un risque quatre fois plus élevé de développer une pathologie cérébrale (44).

Les études génétiques concernant ICAM-1, molécule d'adhésion considérée comme la plus impliquée dans les phénomènes de séquestration (13, 97) sont géographiquement hétérogènes. Une première étude cas-témoins, menée au Kenya par FERNANDEZ-REYES *et al.*, a montré dans une population de 547 enfants âgés de 6 mois à 7 ans qu'un polymorphisme concernant le domaine N-terminal de cette molécule était retrouvé significativement plus souvent parmi les cas de neuropaludisme, les sujets hétérozygotes présentant une susceptibilité moindre (24). L'étude menée en Gambie par BELLAMY *et al.* a concerné plus de 1200 enfants et n'a pas permis de retrouver d'association avec le variant ICAM-1^{Kilifi} (11). Parmi les explications possibles, ICAM-1^{Kilifi} ne serait pas directement responsable mais serait lié à un autre polymorphisme fonctionnel ou à un gène voisin (notons que le phénotype ICAM-1^{Kilifi} ne confère pas une capacité de cytoadhérence plus importante). Cette différence géographique peut également venir du fait qu'ICAM-1 interagit avec PfEMP1, molécule hautement polymorphique, et dont la fréquence des allèles dans les deux régions concernées pourrait être différente. Une explication peut enfin venir du fait que la boucle contenant ICAM-1^{Kilifi} contient également le site de liaison pour le sérotype majeur de rhinovirus pour lequel ICAM-1 est un récepteur cellulaire (33); l'effet d'une interaction entre *P. falciparum* et le virus peut ainsi être pris en compte (21).

Les résultats concernant l'oxyde nitrique (NO) sont encore plus troublants... Une première étude réalisée au Gabon par KUN *et al.* a montré qu'un polymorphisme, situé dans le promoteur de l'oxyde nitrique synthase inducible 2 (iNOS2), était associé à une protection contre toutes les formes de paludisme sévère, incluant la susceptibilité à une ré-infection (47). Une étude menée en Gambie par BURGNER *et al.* (14) montre au contraire une susceptibilité aux formes sévères... Ces résultats n'aident guère à interpréter les données contradictoires issues d'études menées *in vivo*, *in vitro*, dans les modèles murins ou chez l'homme, même si une majorité d'entre elles s'accorde pour ne pas trouver d'effet délétère au NO (5, 6, 7, 23, 46, 75).

Trois autres polymorphismes ont été étudiés en Gambie : le récepteur au complément-1 (CR-1), la protéine liant le mannose (MBP) et l'antagoniste du récepteur à l'IL-1 (IL-1RA). Molécule présente à la surface des érythrocytes, le CR-1 a été décrit comme jouant un rôle dans la formation des rosettes (82), phénomène considéré comme important dans la malaria cérébrale

(15). Aucune corrélation n'a été trouvée mais on peut imaginer qu'une faible densité de récepteurs au CR-1 (ce qui est observé dans le génotype TT) est suffisante pour participer à la formation de rosettes (11). L'étude portant sur des sujets homozygotes pour la déficience des allèles codant la MBP, protéine connue pour jouer un rôle important dans l'immunité innée, n'a pas trouvé d'association avec le développement de la pathologie cérébrale (12). Le choix de l'IL-1RA provient d'études montrant que l'IL-1, comme le TNF-, est retrouvée en plus fortes concentrations dans le sérum de patients développant un paludisme cérébral (49). Là encore, aucune association n'a été retrouvée entre le polymorphisme de l'IL-1RA et le neuropaludisme (11). Ce dernier résultat mérite vraisemblablement d'être reconsidéré à la lueur de l'observation faite chez la souris par CURFS *et al.* (19), montrant la dualité d'effet de l'IL-1 et en particulier son effet protecteur contre la pathologie cérébrale quand les doses utilisées sont faibles...

Les gènes candidats dont le polymorphisme a été étudié jusqu'ici concernent, au niveau des micro-vaisseaux, les molécules impliquées dans l'adhésion de l'érythrocyte infecté ou dans leur régulation. Jusqu'à présent les phénomènes d'aval et les gènes les régulant n'ont pas été étudiés : susceptibilité cellulaire aux processus d'activation, capacité de régénération de la cellule endothéliale. D'autre part, si les variants érythrocytaires potentiellement impliqués dans les phénomènes de rosettes ont été le sujet d'études (15), rien ne concerne les autres types cellulaires potentiellement impliqués : plaquettes, macrophages, leucocytes...

Susceptibilité cellulaire aux processus d'activation

L'étude comparative de l'endothélium cérébral de souris sensibles ou résistantes au paludisme cérébral a en effet montré qu'après stimulation par le TNF- ou l'IL-6, des différences étaient observées dans l'induction d'ICAM-1 et de VCAM-1, ces différences étant liées à une régulation différente des récepteurs p55 et p75 au TNF-. De même, les protéine-kinases C et A (PKC et PKA) sont différemment impliquées dans l'activation induite par le TNF- (52). Des différences génétiques de sensibilité au TNF- au niveau de la cellule endothéliale pourraient rendre compte des disparités trouvées entre les taux sériques de TNF- et la pathologie cérébrale (87). Le rôle de la cellule endothéliale dans la sensibilité a déjà été montré dans des pathologies neurologiques virales (70) ou dans l'hypertension (101).

La capacité de régénération de la cellule endothéliale

Elle est de toute évidence à considérer, avec en particulier des études concernant la capacité de production de VEGF (vascular endothelial growth factor), facteur assurant la prolifération des cellules endothéliales et l'expansion de nouveaux vaisseaux sanguins assurant la réoxygénation de la zone atteinte (62). Il en est de même pour d'autres gènes participant plus ou moins directement au processus d'angiogénèse : angiopoïétine-2 (67) et angiogénine (35).

Implication des plaquettes, macrophages et leucocytes

Le rôle des plaquettes, via l'interaction de LFA-1/ICAM-1, est clair dans le modèle rongeur (22, 30, 31). Les résultats chez l'homme sont moins consensuels. Une étude en microscopie électronique par PONGPONRATN *et al.* (74), a cependant permis de mettre en évidence des plaquettes adhérant à l'endothélium lésé. Très récemment, une analyse quantitative avec un anticorps monoclonal spécifique de la glycoprotéine plaquettaire GPIIb-IIIa a été réalisée chez des enfants décé-

dés (paludisme cérébral, anémie sévère et comas d'autre cause). Une proportion significativement plus élevée de vaisseaux cérébraux montrant une accumulation de plaquettes a été décelée dans les cas de paludisme cérébral. Des leucocytes et des GRPs étaient associés aux plaquettes, participant aux phénomènes d'obstruction de la lumière des micro-vaisseaux. Dans les trois groupes de cerveaux étudiés, des cellules T CD3⁺, CD4⁺ et CD8⁺ étaient identifiées. Dans les cas de neuropaludisme, le nombre plus important de leucocytes était lié à la présence de monocytes activés (29). L'utilisation de différents modèles murins a clairement montré que les lymphocytes T CD4⁺ (28) et CD8⁺ (42, 104) étaient indispensables pour le développement du neuropaludisme. Que ces cellules puissent agir via la sécrétion de cytokines est clair. On peut cependant leur imaginer un rôle plus complexe. MONSO-HINARD *et al.* (58) ont en effet montré, en analysant l'expression des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) sur des cellules endothéliales cérébrales issue de souris sensibles ou résistantes au neuropaludisme, que la susceptibilité génétique à cette pathologie semblait en relation avec une absence ou un faible taux constitutif de molécules du CMH de classe I et une plus grande capacité d'induction de molécules du CMH de classe II. Il a été montré que les lymphocytes T CD4⁺ adhéraient aux molécules HLA-DR exprimées à la surface de cellules endothéliales stimulées par l'IFN- γ (55). Un phénomène similaire pourrait rendre compte du rôle des lymphocytes T CD4⁺ dans la pathologie cérébrale. La signification de l'absence ou du nombre faible de molécules du CMH de classe I à la surface des cellules endothéliales de souris sensibles est inconnue. C'est dans ce contexte qu'il nous faut considérer l'association observée entre la présence de l'HLA-B53 et la protection contre la pathologie cérébrale, plus que dans le cadre d'une hypothétique protection contre les stades hépatiques (38).

Dans la majorité des études rapportées dans cette revue, l'approche suivie a été l'approche "gène candidat". Le seul résultat clair concerne le TNF- α ; pour les autres polymorphismes, soit aucune association n'est retrouvée (IL-1RA, CR-1, MBP), ou bien les résultats sont soit géographiquement discordants (ICAM-1, HLA-B53), soit contradictoires (iNOS2). Dans une pathologie aussi complexe que le paludisme cérébral, où interfèrent les facteurs génétiques de l'hôte comme du parasite, l'immunité acquise, la prise en charge thérapeutique..., la sélection de gènes candidats sur des données biologiques et/ou cliniques est délicate, la confusion pouvant être grande entre marqueur et inducteur. Ce choix est particulièrement difficile pour les cytokines, celles-ci pouvant être protectrices ou délétères, en fonction de la dose, du lieu et du moment de sécrétion. À la complexité de la pathologie s'ajoute celle des études mises en œuvre : modèles murins non infectables par *P. falciparum* et dont l'extrapolation des résultats à l'homme est délicate, dosages sérologiques ne reflétant qu'imparfaitement ce qui se passe dans le cerveau, expérimentations réalisées avec le parasite prélevé en périphérie et donc non adhérent, tests de cytoadhérence réalisés sur des cellules endothéliales qui ne sont pas celles du malade, excluant ainsi toute possibilité d'étude du volant susceptible... Un autre problème avec les études cas-témoins réalisées réside dans la difficulté de mettre en place la cohorte "témoin". La définition du sujet résistant à la pathologie cérébrale est délicate, de nombreuses causes environnementales pouvant entrer en jeu. Cette difficulté disparaît dans les études familiales qui incluent par définition leurs propres témoins.

À partir de données familiales, l'approche par analyse de ségrégation faite par ABEL *et al.* (1) suggère l'implication d'un gène majeur dans la régulation de la densité parasitaire. Une seconde étude réalisée au Cameroun, en zone de transmission plus importante, est plus en faveur d'un contrôle polygénique (25). Une analyse de liaison réalisée sur des paires de germains (sib

pairs), a souligné l'importance de la région du chromosome 5q31-33 contenant de nombreux gènes codant des cytokines (26). Nous ne connaissons pas l'impact de ce contrôle sur la pathologie cérébrale. Il faut en effet différencier pathogénicité et virulence (capacité du parasite à se multiplier), les liens entre charge parasitaire et développement d'une pathologie cérébrale étant loin d'être clairs.

Conclusion

L'étude des gènes impliqués dans une réponse immunitaire interférant avec le paludisme cérébral n'en est qu'à son début. Peu de gènes, parmi les candidats possibles, ont été expertisés, la limite venant essentiellement du temps nécessaire à l'étude d'un polymorphisme (entre 3 et 6 mois pour un gène avec la technique PCR-SSCP (polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism). À moyen terme, des techniques plus performantes, en terme de sensibilité de détection et de rapidité devraient être disponibles : détection de mutations par DHPLC (denaturing high performance liquid chromatography), génotypage par MALDI (matrix associated laser), spectroscopie de masse. D'autre part la technologie des microarrays, par la puissance qu'elle offre, devrait aider à définir un grand nombre de nouveaux gènes candidats.

Remerciements

Nous voudrions exprimer nos sincères remerciements à I. DESPORTES-LIVAGE, J.-F. FRANETICH, J. NITCHEU, S. PIED, L. RÉNIA, B. TRAORÉ, I. VOULDOUKIS et F. CAMBIEN pour la lecture critique du manuscrit. M. IDRISSE-BOUBOU a bénéficié de bourses accordées par le Ministère de l'éducation nationale, de la recherche et de l'enseignement supérieur, l'Institut Lilly, la Fondation pour la recherche médicale et l'AUPELF-UREF.

Références bibliographiques

- ABEL L, COT M, MULDER L, CARNEVALE P & FEINGOLD J - Segregation analysis detects a major gene controlling blood infection levels in human malaria. *Am J Hum Genet*, 1992, **50**, 1308-1317.
- ALLAN RJ, BEATTIE P, BATE C, VAN HENS BROEK MB, MORRIS-JONES S *et al.* - Strain variation in tumor necrosis factor induction by parasites from children with acute *falciparum* malaria. *Infect Immun*, 1995, **63**, 1173-1175.
- ALLEN SJ, O'DONNELL A, ALEXANDER ND, MGONE CS, PETO TE *et al.* - Prevention of cerebral malaria in children in Papua New Guinea by southeast Asian ovalocytosis band 3. *Am J Trop Med Hyg*, 1999, **60**, 1056-1060.
- ALLISON AC - Protection afforded by sickle-cell trait against subtertian malarial infection. *Br Med J*, 1954, **1**, 190-192.
- AMANI V, VIGARIO AM, BELNOUE E, MARUSSIG M, FONSECA L *et al.* - Involvement of IFN- γ receptor-mediated signalling in protection against *Plasmodium berghei* infection and its pathology. *Eur J Immunol* (soumis).
- ANSTEY NM, WEINBERG JB, HASSANALI MY, MWAIKAMBO ED, MANYENGA D *et al.* - Nitric oxide in Tanzanian children with malaria: inverse relationship between malaria severity and nitric oxide production/nitric oxide synthase type 2 expression. *J Exp Med*, 1996, **184**, 557-567.
- ASENSIO VC, OSHIMA H & FALANGAPB - *Plasmodium berghei*: is nitric oxide involved in the pathogenesis of mouse cerebral malaria? *Exp Parasitol*, 1993, **77**, 111-117.
- BARNWELL JW, ASCHAS, NACHMAN RL, YAMAYA M, AIKAWA M & INGRAVALLO P - A human 88-kD membrane glycoprotein (CD36) functions *in vitro* as a receptor for a cytoadherence ligand on *Plasmodium falciparum* infected erythrocytes. *J Clin Invest*, 1989, **84**, 765-772.
- BARNWELL JW, OCKENHOUSE CF & KNOWLES DM - Monoclonal antibody OKM5 inhibits the *in vitro* binding of *Plasmodium falciparum* infected erythrocytes to monocytes, endothelial and C32 melanoma cells. *J Immunol*, 1985, **135**, 3494-3497.
- BARUCH DI, GORMLEY JA, HOWARD RJ & PASLOKE BL - *Plasmodium falciparum* erythrocyte membrane protein 1 is a parasitized erythrocyte receptor for adherence to CD36, thrombospondin, and intercellular adhesion molecule 1. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, **93**, 3497-3502.

11. BELLAMY R, KWIATKOWSKI D & HILL AV - Absence of an association between intercellular adhesion molecule 1, complement receptor 1 and interleukin 1 receptor antagonist gene polymorphisms and severe malaria in a West African population. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1998, **92**, 312-316.
12. BELLAMY R, RUWENDE C, MCADAM KP, THURSZ M, SUMIYA M *et al.* - Mannose binding protein deficiency is not associated with malaria, hepatitis B carriage nor tuberculosis in Africans. *CJM*, 1998, **91**, 13-18.
13. BERENDT AR, SIMMONS DL, TANSEY J, NEWBOLD CI & MARSH K - Intercellular adhesion molecule-1 is an endothelial cell adhesion receptor for *Plasmodium falciparum*. *Nature*, 1989, **341**, 57-59.
14. BURGNER D, XU W, ROCKETT K, GRAVENOR M, CHARLES IG *et al.* - Inducible nitric oxide synthase polymorphism and fatal cerebral malaria. *Lancet*, 1998, **352**, 1193-1194.
15. CARLSON J, NASH GB, GABUTTI V, AL-YAMAN F & WAHLGREN M - Natural protection against severe *Plasmodium falciparum* malaria due to impaired rosette formation. *Blood*, 1994, **84**, 3909-3994.
16. CARLSON J & WAHLGREN M - *Plasmodium falciparum* erythrocytes rosetting is mediated by promiscuous lectin-like interactions. *J Exp Med*, 1992, **176**, 1311-1317.
17. CHEN Q, BARRAGAN A, FERNANDEZ V, SUNDSTRÖM A, SCHLICH-TERLE M *et al.* - Identification of *Plasmodium falciparum* erythrocyte membrane protein (PFEMP-1) as the rosetting ligand of the malaria parasite *P. falciparum*. *J Exp Med*, 1998, **187**, 15-23.
18. COOLING LL, ZHANG DS, WALKER KE & KOERNER TA - Detection in human blood platelets of sialyl Lewis X gangliosides, potential ligands for CD62 and other selectins. *Glycobiology*, 1995, **5**, 571-581.
19. CURFS JH, VAN DER MEERJW, SAUERWEINRW & ELING WMC - Low dosages of interleukin 1 protect mice against lethal cerebral malaria. *J Exp Med*, 1990, **172**, 1287-1291.
20. DI PERRI G, DI PERRI IG, MONTEIRO GB, BONORA S, HENNIG C *et al.* - Pentoxifylline as a supportive agent in the treatment of cerebral malaria in children. *J Infect Dis*, 1995, **171**, 1317-1322.
21. ECKWALANGA M, MARUSSIG M, DIAS TAVARES M, BOUANGA JC, HULLIER E *et al.* - Murine AIDS protects mice against experimental cerebral malaria: down regulation by IL-10 of a Th1 CD4⁺ cell mediated pathology. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, **91**, 8097-8101.
22. FALANGA PB & BUTCHER EC - Late treatment with anti-LFA-1 (CD11a) antibody prevents cerebral malaria in a mouse model. *Eur J Immunol*, 1991, **21**, 2259-2263.
23. FAVRE N, RYFFEL B & RUDIN W - The development of murine cerebral malaria does not require nitric oxide production. *Parasitology*, 1999, **118**, 135-138.
24. FERNANDEZ-REYES D, CRAIG AG, KYES SA, PESHU N, SNOW RW *et al.* - A high frequency African coding polymorphism in the N-terminal domain of ICAM-1 predisposing to cerebral malaria in Kenya. *Hum Mol Genet*, 1997, **6**, 1357-1360.
25. GARCIA A, COT M, CHIPPAUX JP, RANQUE S, FEINGOLD J *et al.* - Genetic control of blood infection levels in human malaria: evidence for a complex genetic model. *Am J Trop Med Hyg*, 1998, **58**, 480-488.
26. GARCIA A, MARQUET S, BUCHETON B, HILLAIRE D, COT M *et al.* - Linkage analysis of blood *Plasmodium falciparum* levels: interest of the 5q31-q33 chromosome region. *Am J Trop Med Hyg*, 1998, **58**, 705-709.
27. GARCIA I, MIYAZAKI Y, ARAKI K, ARAKI M, LUCAS R *et al.* - Transgenic mice expressing high levels of soluble TNF-R1 fusion protein are protected from lethal septic shock and cerebral malaria, and are highly sensitive to *Listeria monocytogenes* and *Leishmania* major infections. *Eur J Immunol*, 1995, **25**, 2401-2407.
28. GRAU GE, FAJARDO L, PIGUET PF, ALLET B, LAMBERT PH & VASSALLI P - Tumor necrosis factor (cachectin) as an essential mediator in murine cerebral malaria. *Science*, 1987, **237**, 1210-1212.
29. GRAU GE, MACKENZIE CD, CARR RA, REDARD M, PIZZOLATO G *et al.* - Platelet accumulation in brain microvessels in fatal paediatric cerebral malaria. 48th annual meeting of the Am Soc Trop Med Hyg, Washington DC, 1999.
30. GRAU GE, POINTEAIRE P, PIGUET PF, VESIN C & ROSEN H - Late administration of monoclonal antibody to leukocyte function-antigen 1 abrogates incipient murine cerebral malaria. *Eur J Immunol*, 1991, **21**, 2265-2267.
31. GRAU GE, TACCHINI-COTTIER F, VESIN C, MILON G, LOU JN *et al.* - TNF-induced microvascular pathology: active role for platelets and importance of the LFA-1/ICAM-1 interaction. *Eur Cytokine Netw*, 1993, **4**, 415-419.
32. GRAU GE, TAYLOR TE, MOLYNEUX ME, WIRIMA JJ, VASSALLI P *et al.* - Tumor necrosis factor and disease severity in children with *falciparum* malaria. *N Engl J Med*, 1989, **320**, 1586-1591.
33. GREVE JM, DAVIS G, MEYER AM, FORTE CP, YOST SC *et al.* - The major human rhinovirus receptor is ICAM-1. *Cell*, 1989, **56**, 839-847.
34. HANDUNNETTI SM, VAN SCHRAVENDIJK MR, HASLER T, BARNWELL JW, GREENWALT DE & HOWARD RJ - Involvement of CD36 on erythrocytes as a rosetting receptor for *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes. *Blood*, 1992, **80**, 2097-2104.
35. HARTMANN A, KUNZ M, KOSTLIN S, GILLITZER R, TOKSOY A *et al.* - Hypoxia-induced up-regulation of angiogenin in human malignant melanoma. *Cancer Res*, 1999, **59**, 1578-1583.
36. HERMSEN CC, CROMMERT JVD, FREDRIX H, SAUERWEIN RW & ELING WMC - Circulating tumour necrosis factor is not involved of cerebral malaria in *Plasmodium berghei*-infected C57BL mice. *Parasite Immunol*, 1997, **19**, 571-577.
37. HILL AVS - The immunogenetics of resistance to malaria. *Proc Assoc Am Physicians*, 1999, **111**, 272-277.
38. HILL AV, ALLSOPP CE, KWIATKOWSKI D, ANSTEY NM, TWUMASI P *et al.* - Common west African HLA antigens are associated with protection from severe malaria. *Nature*, 1991, **352**, 595-600.
39. HO M, SCHOLLAARDT T, NIU X, LOOAREESUWAN S, PATEL KD & KUBES P - Characterization of *Plasmodium falciparum*-infected erythrocyte and P-selectin interaction under flow conditions. *Blood*, 1998, **91**, 4803-4809.
40. HO M & WHITE NJ - Molecular mechanisms of cytoadherence in Malaria. *Am J Physiol*, 1999, **276**, C1231-C1242.
41. HOLMQUIST GR, UDOMANGPETCH L, BERZINS H, WIGZELL H & PERLMANN P - *Plasmodium chabaudi* antigen Pf105, *Plasmodium falciparum* antigen Pf155, and erythrocyte band 3 share cross-reactive epitopes. *Infect Immun*, 1988, **56**, 1545-1550.
42. IDRISSE BOUBOU M, COLLETTE A, VOEGTLÉ D, MAZIER D, CAZENAVE PA & PIED S - T cell response in malaria pathogenesis: selective increase in T cells carrying the TCR V(beta) 8 during experimental cerebral malaria. *Int Immunol*, 1999, **11**, 1553-1562.
43. KERN P, HEMMER CJ, VAN DAMME J, GRUSS HJ & DIETRICH M - Elevated tumor necrosis factor alpha and interleukin-6 serum levels as markers for complicated *Plasmodium falciparum* malaria. *Am J Med*, 1989, **87**, 139-143.
44. KNIGHT JC, UDALOVA I, HILL AV, GREENWOOD BM, PESHU N *et al.* - A polymorphism that affects OCT-1 binding to the TNF promoter region is associated with severe malaria. *Nat Genet*, 1999, **22**, 145-150.
45. KREMSNER PG, GRUNDMANN H, NEIFER S, SLIWA K, SAHLMULLER G *et al.* - Pentoxifylline prevents murine cerebral malaria. *J Infect Dis*, 1991, **64**, 605-608.
46. KREMSNER PG, NUSSLER A, NEIFER S, CHAVES MF, BIENZLE U *et al.* - Malaria antigen and cytokine-induced production of reactive nitrogen intermediates by murine macrophages: no relevance to the development of experimental cerebral malaria. *Immunology*, 1993, **78**, 286-290.
47. KUN JF, MORDMULLER B, LELL B, LEHMAN LG, LUCKNER D & KREMSNER PG - Polymorphism in promoter region of inducible nitric oxide synthase gene and protection against malaria. *Lancet*, 1998, **351**, 265-266.
48. KWIATKOWSKI D, CANNON JG, MANOGUE KR, CERAMI A, DINARELLO CA & GREENWOOD B - Tumor necrosis factor production in *falciparum* malaria and its association with schizont rupture. *Clin Exp Immunol*, 1989, **77**, 361-366.
49. KWIATKOWSKI D, HILL AV, SAMBOU I, TWUMASI P, CASTRACANE J *et al.* - TNF concentration in fatal cerebral, non-fatal cerebral, and uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria. *Lancet*, 1990, **336**, 1201-1204.
50. LECOANET-HENCHOZ S, GAUCHAT JG, AUBRY JP, GRABER P, LIFE P *et al.* - CD23 regulates monocyte activation through a novel interaction with the adhesion molecules CD11b-CD18 and CD11c-CD18. *Immunity*, 1995, **3**, 119-125.
51. LOOAREESUWAN S, WILAIRATANA P, VANNAPHAN S, WANARATANA V, WENISCH C *et al.* - Pentoxifylline as an ancillary treatment for severe *falciparum* malaria in Thailand. *Am J Trop Med Hyg*, 1998, **58**, 348-353.
52. LOU J, GASCHE Y, ZHENG L, CRITICO B, MONSO-HINARD C *et al.* - Differential reactivity of brain microvascular endothelial cells to TNF reflects the genetic susceptibility to cerebral malaria. *Eur J Immunol*, 1998, **28**, 3989-4000.
53. LUCAS R, JUILLARD P, DECOSTER E, REDARD M, BURGER D *et al.* - Crucial role of tumor necrosis factor (TNF) receptor 2 and membrane-bound TNF in experimental cerebral malaria. *Eur J Immunol*, 1997, **27**, 1719-1725.
54. LUZZI GA, MERRY AH, NEWBOLD CI, MARSH K, PASVOL G & WEATHERALL DJ - Surface antigen expression on *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes is modified in alpha- and beta-thalassemia. *J Exp Med*, 1991, **173**, 785-791.
55. MASUYAMA J, MINATO N & KANO S - Mechanisms of lymphocyte adhesion to human vascular endothelial cells in culture. T lymphocyte adhesion to endothelial cells through endothelial HLA-DR antigens induced by gamma interferon. *J Clin Invest*, 1986, **77**, 1596-1605.
56. MCGUIRE W, HILL AV, ALLSOPP CE, GREENWOOD BM & KWIATKOWSKI D - Variation in the TNF-alpha promoter region associated with susceptibility to cerebral malaria. *Nature*, 1994, **371**, 508-510.
57. MCGUIRE W, KNIGHT JC, HILL AV, ALLSOPP CE, GREENWOOD BM & KWIATKOWSKI D - Severe malarial anemia and cerebral malaria are associated with different tumor necrosis factor promoter alleles. *J Infect Dis*, 1999, **179**, 287-290.

58. MONSO-HINARD C, LOU JN, BEHR C, JUILLARD P & GRAU GE - Expression of major histocompatibility complex antigens on mouse brain microvascular endothelial cells in relation to susceptibility to cerebral malaria. *Immunology*, 1997, **92**, 53-59.
59. MOORE KL, PATEL KD, BREUHL RE, LI F, JOHNSON DA *et al.* - P-selectin glycoprotein ligand-1 mediates rolling of human neutrophils on P-selectin. *J Cell Biol* 1995, **128**, 661-671.
60. MULLER WA, WEIGL SA, DENG X & PHILLIPS DM - PECAM-1 is required for transendothelial migration of leukocytes. *J Exp Med*, 1993, **178**, 449-460.
61. NAGEL RL & ROTH EF Jr. - Malaria and red cell genetic defects. *Blood*, 1989, **74**, 1213-1221.
62. NAMIKI A, BROGI E, KEARNEY M, KIM EA, WU T *et al.* - Hypoxia induces vascular endothelial growth factor in cultured human endothelial cells. *J Biol Chem*, 1995, **270**, 31189-31195.
63. NEWMAN PJ, BERNDT MC, GORSKI J, WHITE GC, LYMAN S *et al.* - PECAM-1 (CD31) cloning and regulation to adhesion molecules of the immunoglobulin gene superfamily. *Science*, 1990, **247**, 1219-1222.
64. OCKENHOUSE CF, MAGOWAN C & CHULAY JD - Activation of monocytes and platelets by monoclonal antibodies or malaria-infected erythrocytes binding to the CD36 surface receptor *in vitro*. *J Clin Invest*, 1989, **84**, 468-475.
65. OCKENHOUSE CF, KLOTZ FW, TANDON NN & JAMIESON GA - Sequestrin, a CD36 recognition protein on malaria infected erythrocytes identified by anti-idiotypic antibodies. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, **88**, 3175-3179.
66. OCKENHOUSE CF, TEGOSHI T, MAENO Y, BENJAMIN C, HO M *et al.* - Human vascular endothelial cell adhesion receptors for *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes: roles for endothelial leukocyte adhesion molecule 1 and vascular cell adhesion molecule 1. *J Exp Med*, 1992, **176**, 1183-1189.
67. OH H, TAKAGI H, SUZUMA K, OTANI A, MATSUMURA M & HONDA Y - Hypoxia and vascular endothelial growth factor selectively up-regulate angiopoietin-2 in bovine microvascular endothelial cells. *J Biol Chem*, 1999, **274**, 15732-15739.
68. OQUENDO P, HUNDT E, LAWLER J & SEED B - CD36 directly mediates cytoadherence of *Plasmodium falciparum* parasitized erythrocytes. *Cell*, 1989, **58**, 95-101.
69. PANTON LJ, LEECH JH, MILLER LH & HOWARD RJ - Cytoadherence of *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes to human melanoma cell lines correlates with surface OKM5 antigen. *Infect Immun*, 1987, **55**, 2754-2758.
70. PARK BH, LAVI E & GAULTON GN - Intracerebral hemorrhages and infarction induced by a murine leukemia virus is influenced by host determinants within endothelial cells. *Virology*, 1994, **203**, 393-396.
71. PERLMANN P, PERLMANN H, FLYG BW, HAGSTEDT M, ELGH-ZALI G *et al.* - Immunoglobulin E, a pathogenic factor in *Plasmodium falciparum* malaria. *Infect Immun*, 1997, **65**, 116-121.
72. PHILIPPEAUX MM, VESIN C, TACCHINI-COTTIER F & PIGUET PF - Activated human platelets express beta 2 integrin. *Eur J Haematol*, 1996, **56**, 130-137.
73. PIALI L, HAMMEL P, UHEREK C, BACHMANN F, GISLER RH *et al.* - CD31/PECAM-1 is a ligand for alpha v beta 3 integrin involved in adhesion of leukocytes to endothelium. *J Cell Biol*, 1995, **130**, 451-460.
74. PONGPONRATN E, RIGANTI M, HARINASUTA T, BUNNAG D - Electron microscopy of the human brain in cerebral malaria. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 1985, **16**, 219-227.
75. PRADA J, MULLER S, BIENZLE U & KREMSNER PG - Upregulation of reactive oxygen and nitrogen intermediates in *Plasmodium berghei* infected mice after rescue therapy with chloroquine or artemether. *J Antimicrob Chemother*, 1996, **38**, 95-102.
76. RABHI-SABILE S, STEINER-MOSONYI M, POLLEFEY S, COLLEN D, POUVELLE B *et al.* - *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes: a mutational analysis of cytoadherence via murine thrombomodulin. *Thromb Haemost*, 1999, **81**, 815-821.
77. REINHARDT PH, ELLIOTT JF & KUBES P - Neutrophils can adhere via $\alpha_4\beta_1$ -integrin under flow conditions. *Blood*, 1997, **89**, 3837-3846.
78. ROBERTS DD, SHERWOOD JA, SPITALNIK SL, PANTON LJ, HOWARD RJ *et al.* - Thrombospondin binds falciparum malaria parasitized erythrocytes and may mediate cytoadherence. *Nature*, 1985, **318**, 64-66.
79. ROGERSON SJ, CHAIYAROL SC, REEDER JC & BROWN G - Chondroitin sulfate A is a cell surface receptor for *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes. *J Exp Med*, 1995, **182**, 15-20.
80. ROMER LH, MCLEAN NV, YAN HC, DAISE M, SUN J & DELISSER HM - IFN-gamma and TNF-alpha induce redistribution of PECAM-1 (CD31) on human endothelial cells. *J Immunol*, 1995, **154**, 6582-6592.
81. ROTHLEIN R, DUSTIN ML, MARLIN SD & SPRINGER TA - A human intercellular adhesion molecule (ICAM-1) distinct from LFA-1. *J Immunol*, 1986, **137**, 1270-1274.
82. ROWE JA, MOULDS JM, NEWBOLD CI & MILLER LH - *P. falciparum* rosetting mediated by a parasite-variant erythrocyte membrane protein and complement-receptor 1. *Nature*, 1997, **388**, 292-295.
83. ROWE A, OBEIRO J, NEWBOLD CI & MARSH K - *Plasmodium falciparum* rosetting is associated with malaria severity in Kenya. *Infect Immun*, 1995, **63**, 2323-2326.
84. SCHIMMENTI LA, YAN HC, MADRI JA, & ALBELDA SM - Platelet endothelial cell adhesion molecule, PECAM-1, modulates cell migration. *J Cell Physiol*, 1992, **153**, 417-428.
85. SCHOFIELD L, NOVAKOVIC S, GEROLD P, SCHWARZ RT, MCCONVILLE MJ & TACHADO SD - Glycosylphosphatidylinositol toxin of *Plasmodium* up-regulates intercellular adhesion molecules-1, vascular adhesion molecule-1, and E-selectin expression in vascular endothelial cells and increases leukocyte and parasite cytoadherence via tyrosine kinase-dependent signal transduction. *J Immunol*, 1996, **156**, 1897-1896.
86. SCHOLANDER C, TREUTIGER CJ, HULTENBY K & WAHLGREN M - Novel fibrillar structure confers adhesive property to malaria-infected erythrocytes. *Nature Med*, 1996, **2**, 204-208.
87. SHAFFER N, GRAU GE, HEDBERG K, DAVACHI F, LYAMBA B *et al.* - Tumor necrosis factor and severe malaria. *J Infect Dis*, 1991, **163**, 96-101.
88. SHIMIZU Y, SHAW S, GRABER N, GOPAL TV, HORGAN KJ *et al.* - Activation-independent binding of human memory T cells to adhesion molecule ELAM-1. *Nature*, 1991, **349**, 799-803.
89. SIANO J, GRADT K, MILLET P, SWERLICK R & WICK T - *Plasmodium falciparum*: soluble thrombospondin increases cytoadherence of parasitized erythrocytes to human microvascular endothelium under shear flow conditions. *Exp Parasitol*, 1997, **87**, 69-72.
90. SIANO JP, GRADY KK, MILLET P & WICK TM - *Plasmodium falciparum*: cytoadherence to $\alpha_3\beta_1$ on human microvascular endothelial cells. *Am J Trop Med Hyg*, 1998, **59**, 77-79.
91. SMITH H, NELSON JA, GAHMBERG CG, CRANDALL I & SHERMAN IW - *Plasmodium falciparum*: cytoadherence of malaria-infected erythrocytes to human brain capillary and umbilical vein endothelial cells a comparative study of adhesive ligands. *Exp Parasitol*, 1992, **75**, 269-280.
92. STINS MF, GILLES F & KIM KS - Selective expression of adhesion molecules on human brain microvascular endothelial cells. *J Neuroimmunol*, 1997, **76**, 81-90.
93. STOLTENBURG-DIDINGER G, NEIFER S, BIENZLE U, ELING WM, KREMSNER PG - Selective damage of hippocampal neurons in murine cerebral malaria prevented by pentoxifylline. *J Neuro Sci*, 1993, **114**, 20-24.
94. TAKAHASHI M, IKEDA U, MASUYAMA J, FUNAYAMA H, KANO S & SHIMADA K - Nitric oxide attenuates adhesion molecule expression in human endothelial cells. *Cytokine*, 1996, **8**, 817-821.
95. TRAORE B, VOULDOUKIS I, MUANZA K, NACHER M, GAY F *et al.* - *Plasmodium falciparum* induces the expression of the low affinity Fc ϵ RII and iNOS-2 pathway in human endothelial lung cells. *Blood (soutmis)*.
96. TREUTIGER CJ, HEDDINI A, FERNANDEZ V, MULLER WA & WAHLGREN M. PECAM-1/CD31, an endothelial receptor for binding *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes. *Nature Med*, 1997, **3**, 1405-1408.
97. TURNER GD, MORRISON H, JONES M, DAVIS TM, LOOAREESUWAN S *et al.* - An immunohistochemical study of the pathology of fatal malaria. Evidence for widespread endothelial activation and a potential role for intercellular adhesion molecule-1 in cerebral sequestration. *Am J Pathol*, 1994, **145**, 1057-1069.
98. UDOMSANGPETCH R, CHIVAPAT S, VIRIVAVEJAKUL P, RIGANTI M, WILAIRATANA P *et al.* - Involvement of cytokines in the histopathology of cerebral malaria. *Am J Trop Med Hyg*, 1997, **57**, 501-506.
99. VAN HENS BROEK MB, PALMER A, ONYIORAH E, SCHNEIDER G, JAFFAR S *et al.* - The effect of a monoclonal antibody to tumor necrosis factor on survival from childhood cerebral malaria. *J Infect Dis*, 1996, **174**, 1091-1097.
100. VAPORCIYAN AA, DELISSER HM, YAN HC, MANDIGUREN II, THOM SR *et al.* - Involvement of platelet-endothelial cell adhesion molecule-1 in neutrophil recruitment *in vivo*. *Science*, 1993, **262**, 1580-1582.
101. VOLPE M, IACCARINO G, VECCHIONE C, RIZZONI D, RUSSO R *et al.* - Association and cosegregation of stroke with impaired endothelium-dependent vasorelaxation in stroke prone, spontaneously hypertensive rats. *J Clin Invest*, 1996, **98**, 256-261.
102. WENISCH C, LOOAREESUWAN S, WILAIRATANA P, PARSCHALK B, VANNAPANN S *et al.* - Effect of pentoxifylline on cytokine patterns in the therapy of complicated *Plasmodium falciparum* malaria. *Am J Trop Med Hyg*, 1998, **58**, 343-347.
103. WILSON AG, SYMONS JA, McDOWELL TL, McDEVITT HO & DUFF GW - Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha promoter on transcriptional activation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, **94**, 3195-3199.
104. YANEZ DM, MANNING DD, COOLEY AJ, WEIDANZ WP & VANDER HEYDE HC - Participation of lymphocyte subpopulations in the pathogenesis of experimental murine cerebral malaria. *J Immunol*, 1996, **157**, 1620-1624.
105. YUTHAVONG Y, BUNYARATVEJA & KAMCHONWONGPAISAN S - Increased susceptibility of malaria-infected variant erythrocytes to the mononuclear phagocyte system. *Blood Cells*, 1990, **16**, 591-597.