

THÈSE DE DOCTORAT EN SCIENCES VÉTÉRINAIRES

Résumé

-
- Orientation :** Médecine vétérinaire
- Titre de la thèse en français :** Caractérisation de la réaction inflammatoire dans la bronchopneumopathie éosinophilique et l'aspergillose naso-sinusale dans l'espèce canine
- Titre de la thèse en anglais :** Characterisation of the inflammatory response in canine eosinophilic bronchopneumopathy and sino-nasal aspergillosis
- Candidat :** Dominique Peeters
- Promoteur :** Prof. C. Clercx
- Co-promoteur :** Prof. M. J. Day
- Département et Service :** Département des Sciences cliniques, Médecine interne des petits Animaux
- Date de la défense publique :** le 11 octobre 2005
- Composition du Jury :** *Membres extérieurs à la faculté :*
Professeur S. Daminet, Université de Gand, Belgique, Professeur M. J. Day, University of Bristol, UK, Professeur R. Louis, ULg, Belgique
Membres internes à la faculté de Médecine vétérinaire :
Professeur C. Clercx, Département des Sciences cliniques, Professeur D. Desmecht, Département de Morphologie et Pathologie, Professeur M. Henroteaux, Département des Sciences cliniques, Professeur B. Losson, Département des Maladies infectieuses et parasitaires, Docteur H. Amory, Département des Sciences cliniques, Docteur T. Art, Département des Sciences fonctionnelles, Docteur F. Bureau, Département des Sciences fonctionnelles, Docteur A. Vanderplasschen, Département des Maladies infectieuses et parasitaires.

DESCRIPTION DU SUJET DE RECHERCHE ABORDÉ

Il existe très peu de données dans la littérature sur l'organisation et le fonctionnement du système immunitaire au sein du tractus respiratoire du chien, qu'il soit sain ou souffrant de maladie respiratoire. Dès lors, dans la première partie de ce travail, nous avons, au moyen de méthodes histochimiques et immunohistochimiques, caractérisé la distribution et l'organisation des populations leucocytaires dans le tractus respiratoire de chiens indemnes de pathologie respiratoire, afin de déter-

miner si du tissu lymphoïde organisé est présent dans la muqueuse et si le nombre et la distribution des différents types de leucocytes varient en fonction de l'âge ou du site de prélèvement dans le tractus respiratoire. Nous avons également quantifié l'expression des ARN messagers (ARNm) codant pour certaines cytokines dans les tissus respiratoires de ces chiens afin de déterminer d'éventuelles différences d'expression en fonction de l'âge ou du site de prélèvement.

La pathogénie de la plupart des maladies respiratoires du chien n'est pas

bien élucidée. Pour certaines d'entre elles, comme la bronchopneumopathie éosinophilique (BPE) et l'aspergillose naso-sinusale (ANS), des dysfonctionnements du système immunitaire sont suspectés. La BPE est une maladie caractérisée par l'infiltration d'éosinophiles dans les poumons et les bronches, pour laquelle aucune cause à l'origine de l'infiltration éosinophilique n'est identifiée (Clercx *et al.*, 2000). L'ANS est une infection mycotique localisée, le plus souvent causée par *Aspergillus fumigatus* (Sharp *et al.*, 1991). Les chiens atteints de cette maladie n'ont

pas d'immunodépression systémique et il est difficile de comprendre pourquoi cet organisme saprophyte entraîne une rhino-sinusite sévère chez certains chiens alors qu'aucune maladie n'est induite chez d'autres.

Dans le présent travail, nous nous sommes attachés à investiguer la nature de la réaction inflammatoire survenant dans ces deux entités cliniques. Pour ce faire, nous avons caractérisé les populations leucocytaires et quantifié, au moyen des techniques de RT-PCR en temps réel, l'expression des ARNm codant pour une série de cytokines dans des biopsies perendoscopiques prélevées chez des chiens souffrant d'ANS ou de BPE.

Notre hypothèse de travail était que la BPE est une maladie dans laquelle la réaction inflammatoire est de type Th2. Dans ce cas, on s'attend notamment à ce que les LT CD4⁺ prédominent sur les LT CD8⁺ dans la muqueuse bronchique (Robinson *et al.*, 1992) et que l'expression tissulaire des ARNm codant pour les cytokines Th2 (interleukine [IL]-4, IL-5 et IL-13) (O'Byrne *et al.*, 2004), certaines chimiokines (RANTES, *monocyte chemoattractant proteins* [MCPs] et éotaxines) et le *CC chemokine receptor* (CCR) 3 (le récepteur des éotaxines) (Ying *et al.*, 1999) soit augmentée par rapport à leur expression chez les chiens « contrôle ». En ce qui concerne l'ANS, notre hypothèse était que la réaction immune locale montée par l'hôte contre *Aspergillus* est de type Th1. Dans ce cas, il est attendu que les LT CD8⁺ se retrouvent en proportion significative et que l'expression des ARNm codant pour les cytokines proinflammatoires (IL-6, IL-12, IL-18 et TNF- α), les cytokines Th1 (IFN-g) ainsi que les chimiokines attirant les neutrophiles (IL-8) et les cellules mononucléées (MCPs) soit augmentée (Romani, 2004).

RÉSULTATS

Des prélèvements post-mortem ont été réalisés chez des chiens adultes (n=10) et des chiots (n=5) indemnes de pathologie respiratoire, à partir de cinq sites dans le tractus respiratoire (cavité nasale, carène trachéale, bronche primaire, bronche secondaire et parenchyme pulmonaire). A l'examen histologique, aucun tissu lymphoïde organisé en follicules n'a été observé dans ces échantillons. Les marquages immunohistochimiques ont été réalisés au moyen d'anticorps primaires spécifiques de IgA, IgG, IgM, IgE, HLA-DR (molécule MHC de classe II), L1 (antigène myéломoneocytaire), CD3, CD4, CD8, TCRab, TCRgd et CD1c (protéine exprimée à la surface des cellules dendritiques). La distribution des différents types cellulaires a été décrite et les cellules marquées ont été comptées. De nombreuses différences dans le nombre de cellules ont été observées entre les chiots et les chiens adultes et/ou d'un site de prélèvement à l'autre.

La quantification des ARNm codant pour les cytokines IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-12p40, IL-18, TNF- α , IFN- γ et TGF- β et pour les chimiokines MCP-2, éotaxine-2 et éotaxine-3 a été réalisée sur des prélèvements issus des mêmes chiens que ceux inclus dans l'étude immunohistochimique. Il n'y avait pas de différence d'expression entre les chiots et les chiens adultes mais certaines différences ont été observées d'un site à l'autre pour certaines cytokines/chimiokines.

Les mêmes anticorps que ceux cités plus haut (à l'exception de l'anticorps spécifique des IgE canins) ont été utilisés pour l'étude immunohistochimique des populations leucocytaires présentes dans la muqueuse bronchique de chiens souffrant de BPE. Les résultats de cette étude n'ont pas permis de préciser la

nature de la réaction inflammatoire mise en place dans cette maladie dans la mesure où la qualité des marquages réalisés sur tissus congelés (à savoir les marquages des sous-populations de lymphocytes T, [CD4, CD8, TCRab, TCRgd] s'est révélée insuffisante. Le profil cytokinique, évalué par la quantification tissulaire des ARNm codant pour les cytokines citées plus haut ainsi que pour l'IL-8 et l'IL-13, n'a pas non plus apporté d'élément déterminant pour répondre à cette question. Cependant, nous avons montré que l'expression des ARNm codant pour MCP-3, éotaxine-2 et éotaxine-3 était augmentée dans le tissu bronchique de chiens souffrant de BPE en comparaison avec leur expression dans les bronches de chiens indemnes de maladie respiratoire. Par contre, l'expression d'autres chimiokines (MCP-1, MCP-2, MCP-4, RANTES) et du récepteur CCR3 (unique récepteur des éotaxines et un des récepteurs de RANTES et des MCP) n'était pas régulée à la hausse dans les tissus de chiens avec BPE.

Pour l'étude de la réaction inflammatoire mise en place lors d'ANS, des biopsies perendoscopiques ont été prélevées chez 15 chiens souffrant d'ANS, à la jonction entre la cavité nasale et le sinus frontal. Les colorations histochimiques utilisées consistaient en hématoxyline & éosine, bleu de toluidine (pour les mastocytes), rouge sirrius (pour les éosinophiles) et coloration de Grocott (pour les éléments mycéliens). Les marquages immunohistochimiques ont été réalisés au moyen des mêmes anticorps que dans les autres études immunohistochimiques décrites dans le présent travail. Dans la grande majorité des biopsies examinées, on retrouvait une muqueuse ulcérée, recouverte par un tissu nécrotique et sévèrement enflammée. L'inflammation de la LP était surtout constituée de cel-

lules mononucléées (surtout des lymphocytes et des plasmocytes mais aussi des macrophages). Des hyphes septés et branchés ont été observés à la surface de l'épithélium ou dans les placards nécrotiques superficiels dans les biopsies provenant de 6 chiens. En aucun cas, des hyphes n'étaient présents sous le niveau de l'épithélium. L'observation immunohistochimique la plus importante consistait en la présence de lymphocytes CD4⁺ et lymphocytes CD8⁺ en proportions équivalentes.

En ce qui concerne la quantification tissulaire des ARNm codant pour les cytokines/chimiokines, les mêmes réactions que celles utilisées dans l'étude sur la BPE ont été utilisées à l'exception de celle pour RANTES et CCR3. Il y avait significativement plus d'ARNm codant pour MCP-1, -2, -3 et-4, IL-8, IL-10, IL-18 et TNF- α dans les biopsies des chiens malades que dans celles des chiens « contrôle ». Par contre, il n'y avait pas de différence d'expression pour les autres cytokines et chimiokines.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Nous avons démontré l'absence de structures lymphoïdes organisées en follicules dans la muqueuse nasale et la muqueuse bronchique à différents niveaux de l'arbre respiratoire dans l'espèce canine. La présence et la fréquence de ces structures varient d'une espèce à l'autre et, au sein d'une même espèce, en fonction de l'âge. Tout comme chez les rongeurs, il est possible que du tissu lymphoïde pharyngé (« amygdales pharyngées ») joue les rôles dévolus au tissu lymphoïde associé à la muqueuse nasale chez le chien. Il serait dès lors intéressant de vérifier cette hypothèse par une étude ultérieure investiguant la présence de tissu lym-

phoïde dans le nasopharynx chez le chien.

Les résultats des marquages immunohistochimiques et des colorations au bleu de toluidine réalisés dans les tissus de chiens indemnes de maladie respiratoire nous ont servi de référence pour l'étude des populations leucocytaires dans l'ANS et la BPE. La localisation des différents types cellulaires, ainsi que les différences dans leur nombre entre les chiots et les chiens adultes et entre les portions proximale et distale du tractus respiratoire, étaient grosso modo similaires à ce qui est décrit dans d'autres espèces comme l'homme, les rongeurs ou le cheval (Wilkes *et al.*, 1992 ; El Kaissouni *et al.*, 1998 ; Blunden et Gower, 1999).

Nous n'avons pas pu démontrer que des mécanismes de type Th2 prédominent dans la pathophysiologie de la BPE. En effet, nous n'avons pas pu mettre en évidence d'augmentation de la production des cytokines de type Th2 par les lymphocytes T dans la muqueuse bronchique. Les immunohistochimies ne nous avaient pas non plus permis de mettre en évidence de signes indirects d'une imprégnation de type Th2 dans la muqueuse bronchique, comme par exemple une augmentation du rapport lymphocytes CD4 / lymphocytes CD8 qui, en association avec une infiltration éosinophilique, suggère un milieu à prédominance Th2 (Robinson *et al.*, 1992).

L'absence de différence significative entre les quantités d'ARNm codant pour diverses cytokines dans la muqueuse des chiens avec BPE et dans celle des chiens « contrôle » ne nous permet pas de tirer des conclusions quant à la nature de la réponse immune mise en place dans la BPE. Bien que les méthodes utilisées pour la quantification des ARNm dans nos études aient été validées (Peters *et al.*, 2004 ; Peters *et al.*,

2005), l'absence de différence significative entre les deux groupes pourrait être liée au gène rapporteur utilisé pour normaliser nos résultats, en l'occurrence celui codant pour la GAPDH. Un gène rapporteur idéal est exprimé de façon constante d'un individu à l'autre et dans toutes les cellules, et son expression n'est pas influencée par des médicaments, les conditions expérimentales ou l'état physiologique de l'individu (Bustin, 2000). Or, il a été démontré que les concentrations en GAPDH varient significativement d'un individu à l'autre ou d'un moment à l'autre chez le même individu (Bustin *et al.*, 1999), ou en fonction du stade de développement ou de l'état physiologique, et que le gène codant pour la GAPDH est l'objet d'une régulation transcriptionnelle complexe. L'utilisation du gène codant pour la GAPDH comme standard interne lors de quantification par RT-PCR n'est donc pas idéale (Bustin, 2000). Cependant, très peu de gènes rapporteurs ont été étudiés pour l'espèce canine. Il a par ailleurs été démontré récemment que des résultats obtenus par RT-PCR quantitative sont beaucoup plus corrects s'ils sont le résultat d'une normalisation basée sur l'utilisation de plusieurs gènes rapporteurs que si un seul gène rapporteur, quel qu'il soit, a été utilisé pour la normalisation (Vandesompele *et al.*, 2002). Cette méthode de calcul du nombre de copies d'ARNm est plus complexe et nécessite plus de temps que celle faisant appel à un seul gène rapporteur ; néanmoins, son utilisation devrait se généraliser dans le futur.

D'autres facteurs comme le petit nombre de patients et l'hétérogénéité dans la sévérité des cas peuvent être en partie responsables des résultats de notre étude. Par ailleurs, des types cellulaires autres que les lymphocytes T, retrouvés dans les biopsies bronchiques (lym-

phocytes B, éosinophiles, macrophages et cellules épithéliales), sont également capables de produire des cytokines et il est possible que les quantités réelles d'ARNm produits par les lymphocytes T soient « diluées » dans la totalité des ARNm produits. Dès lors, on pourrait appliquer les réactions PCR de nos études à de l'ARN extrait de lymphocytes T isolés à partir de liquide de lavage broncho-alvéolaire ou de biopsies bronchiques, comme cela a été réalisé dans d'autres études (Zemann *et al.*, 2003).

En ce qui concerne les chimiokines, nous avons montré une augmentation de l'expression des ARNm codant pour MCP-3, éotaxine-2 et éotaxine-3 chez les chiens avec BPE par rapport aux chiens « contrôle », ce qui est similaire à ce qui est rapporté dans l'asthme chez l'homme (Ying *et al.*, 1999 ; Berkman *et al.*, 2001). Ceci suggère que ces chimiokines participent activement à l'attraction des leucocytes dans les bronches lors de BPE. Les éotaxines-2 et -3 attirent spécifiquement les éosinophiles via le CCR3, tandis que MCP-3 attire aussi d'autres types cellulaires (mastocytes, cellules NK, monocytes) via le CCR2 (Lloyd, 2002 ; Zimmermann *et al.*, 2003). Les remarques formulées plus haut concernant les résultats des cytokines (choix de la méthode de normalisation, petite taille et hétérogénéité de la population des chiens avec BPE et type de prélèvement analysé) sont également d'application pour les chimiokines. L'absence d'augmentation de l'expression des autres chimiokines et du CCR3 dans les biopsies de chiens avec BPE demande dès lors confirmation par d'autres études avant que des conclusions définitives ne puissent être tirées.

Chez le chien, l'ANS se rencontre la plupart du temps chez des individus qui

ne présentent pas d'immunosuppression systémique (pas de diabète sucré ou d'hyperadrénocorticisme, pas de leucopénie, pas de signes d'infection dans d'autres systèmes) (Sharp *et al.*, 1991). Les résultats de notre étude histochimique nous ont amenés à la conclusion que l'ANS canine est similaire à la sinusite chronique érosive non invasive chez l'homme (Uri *et al.*, 2003). En effet, très peu d'éosinophiles et de mastocytes étaient présents dans les lésions, et aucun hyphes n'a été observé envahissant la muqueuse nasale.

La génération d'une forte réponse immune à médiation cellulaire de type Th1, caractérisée par l'activation de lymphocytes CD4⁺ produisant de l'IFN-g et de macrophages produisant des cytokines pro-inflammatoires (IL-12, IL-18 et TNF- α) (Cenci *et al.*, 1997 ; Brieland *et al.*, 2001), est nécessaire pour acquérir une immunité efficace contre les infections fongiques (Romani, 2004). Le très faible nombre d'éosinophiles et la forte proportion de lymphocytes cytotoxiques (CD8⁺) dans les lésions de nos chiens avec ANS étaient plutôt en faveur d'une réponse immune de type Th1 que d'une réponse de type Th2. L'augmentation de l'expression de l'IL-18 et du TNF- α observée chez les chiens souffrant d'ANS était compatible avec la mise en place d'une réponse immune et inflammatoire efficace, mais, par contre, nous n'avons pas observé de régulation à la hausse de l'expression de l'IL-12 et de l'IFN-g chez les chiens malades. Bien que cette absence d'augmentation doit être vérifiée par une étude faisant appel à une autre méthode de calcul du nombre de copies d'ARNm (cfr supra), ces résultats pourraient être expliqués par l'augmentation de l'expression de l'IL-10 observée dans notre étude. En effet, l'IL-10 est une puissante cytokine immunomodulatrice qui exerce à la

fois des effets bénéfiques et délétères sur la réponse de l'hôte à une infection fongique (Romani, 2004). Cette cytokine inhibe l'activité anti-fongique et le pouvoir oxydant des monocytes humains contre les hyphes d'*Aspergillus*, tout en augmentant leur activité phagocytaire (Roilides *et al.*, 1997). Elle réprime la production d'IFN-g et des cytokines pro-inflammatoires dans un contexte d'infection fongique (Romani, 2004).

Nous avons montré que l'expression des ARNm codant pour les chimiokines IL-8, MCP-1, -2, -3 et -4 est augmentée dans les biopsies de chiens malades par rapport aux biopsies « contrôle ». L'induction de l'IL-8 est considérée comme très importante pour la protection contre *Aspergillus* (Tomee *et al.*, 1997 ; Borger *et al.*, 1999). En effet, elle est impliquée dans le recrutement des neutrophiles et la stimulation de la phagocytose des conidies d'*Aspergillus* par ces neutrophiles.

Bien que diverses études *in vivo* et *in vitro* aient rapporté la production de MCP-1 par les cellules respiratoires suite à leur exposition à *A. fumigatus* (Tomee *et al.*, 1997 ; Morrison *et al.*, 2003), les rôles exacts de cette chimiokine dans l'élimination du champignon ne sont pas encore élucidés. Par ailleurs, il existe très peu de données dans la littérature scientifique sur l'expression des autres chimiokines MCP en cas d'infection par *Aspergillus* (Blease *et al.*, 2001). Les résultats de notre étude suggèrent en tout cas que toutes les chimiokines MCP participent à l'élaboration de la réaction inflammatoire lors d'ANS chez le chien.

REFERENCES

- BERKMAN N., OHNONA S., CHUNG F.K., BREUER R. Eotaxin-3 but not eotaxin gene expression is upregulated in asthmatics 24 hours after allergen challenge. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 2001, **24**, 682-687.
- BLEASE K., MEHRAD B., LUKACS N.W., KUNKEL S.L., STANDIFORD T.J., HOGABOAM C.M. Antifungal and airway remodeling roles for murine monocyte chemoattractant protein-1/CCL2 during pulmonary exposure to *Aspergillus fumigatus* conidia. *J. Immunol.*, 2001, **166**, 1832-1842.
- BLUNDEN A.S., GOWER S.M. A histological and immunohistochemical study of the humoral immune system of the lungs in young thoroughbred horses. *J. Comp. Pathol.*, 1999, **120**, 347-356.
- BORGER P., KOETER G.H., TIMMERMAN J.A., VELLENGA E., TOMEE J.F., KAUFFMAN H.F. Proteases from *Aspergillus fumigatus* induce interleukin (IL)-6 and IL-8 production in airway epithelial cell lines by transcriptional mechanisms. *J. Infect. Dis.*, 1999, **180**, 1267-1274.
- BRIELAND J.K., JACKSON C., MENZEL F., LOEBENBERG D., CACCIAPUOTI A., HALPERN J., HURST S., MUCHAMUEL T., DEBETS R., KASTELEIN R., CHURAKOVA T., ABRAMS J., HARE R., O'GARRA A. Cytokine networking in lungs of immunocompetent mice in response to inhaled *Aspergillus fumigatus*. *Infect. Immunol.*, 2001, **69**, 1554-1560.
- BUSTIN S.A., GYSELMAN V.G., WILLIAMS N.S., DORUDI S. Detection of cytokeratins 19/20 and guanylyl cyclase C in peripheral blood of colorectal cancer patients. *Br. J. Cancer*, 1999, **79**, 1813-1820.
- BUSTIN S.A. Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays. *J. Mol. Endocrinol.*, 2000, **25**, 169-193.
- CENCI E., PERITO S., ENSSLE K.H., MOSCI P., LATGE J.P., ROMANI L., BISTONI F. Th1 and Th2 cytokines in mice with invasive aspergillosis. *Infect. Immunol.*, 1997, **65**, 564-570.
- CLERCX C., PEETERS D., SNAPS F., HANSEN P., MCENTEE K., DETILLEUX J., HENROTEAUX M., DAY M.J. Eosinophilic bronchopneumopathy in dogs. *J. Vet. Intern. Med.*, 2000, **14**, 282-291.
- EL KAISSOUNI J., BENE M.C., THIONNOIS S., MONIN P., VIDAILHET M., FAURE G.C. Maturation of B cells in the lamina propria of human gut and bronchi in the first months of human life. *Dev. Immunol.*, 1998, **5**, 153-159.
- LLOYD C. Chemokines in allergic lung inflammation. *Immunol.*, 2002, **105**, 144-154.
- MORRISON B.E., PARK S.J., MOONEY J.M., MEHRAD B. Chemokine-mediated recruitment of NK cells is a critical host defense mechanism in invasive aspergillosis. *J. Clin. Invest.*, 2003, **112**, 1862-1870.
- O'BYRNE P.M., INMAN M.D., ADELROTH E. Reassessing the Th2 cytokine basis of asthma. *Trends Pharmacol. Sci.*, 2004, **25**, 244-248.
- PETERS I.R., HELPS C.R., HALL E.J., DAY M.J. Real-time RT-PCR: Considerations for efficient and sensitive assay design. *J. Immunol. Methods*, 2004, **286**, 203-217.
- PETERS I.R., HELPS C.R., CALVERT E.L., HALL E.J., DAY M.J. Cytokine mRNA quantification in histologically normal canine duodenal mucosa by real-time RT-PCR. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 2005, **103**, 101-111.
- ROBINSON D.S., HAMID Q., YING S., TSICOPOULOS A., BARKANS J., BENTLEY A.M., CORRIGAN C., DURHAM S.R., KAY A.B. Predominant Th2-like bronchoalveolar T-lymphocyte population in atopic asthma. *N. Engl. J. Med.*, 1992, **326**, 298-304.
- ROILIDES E., DIMITRIADOU A., KADILTSOGLU I., SEIN T., KARPOUZAS J., PIZZO P.A., WALSH T.J. IL-10 exerts suppressive and enhancing effects on antifungal activity of mononuclear phagocytes against *Aspergillus fumigatus*. *J. Immunol.*, 1997, **158**, 322-329.
- ROMANI L. Immunity to fungal infections. *Nat. Rev. Immunol.*, 2004, **4**, 1-23.
- SHARP N.J.H., HARVEY C.E., SULLIVAN M. Canine nasal aspergillosis and penicilliosis. *Comp. Cont. Educ.*, 1991, **13**, 41-.
- TOMEE J.F., WIERENGA A.T., HIEMSTRA P.S., KAUFFMAN H.K. Proteases from *Aspergillus fumigatus* induce release of proinflammatory cytokines and cell detachment in airway epithelial cell lines. *J. Infect. Dis.*, 1997, **176**, 300-303.
- URI N., COHEN-KEREM R., ELMALAH I., DOWECK I., GREENBERG E. Classification of fungal sinusitis in immunocompetent patients. *Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 2003, **129**, 372-378.
- VANDESOMPELEJ., DEPRETERK., PATTYN F., POPPE B., VAN ROY N., DE PAEPE A., SPELEMAN F. Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. *Genome Biol.*, 2002, **3**, RESEARCH0034.
- WILKES L.K., MCMENAMIN C., HOLT P.G. Postnatal maturation of mast cell subpopulations in the rat respiratory tract. *Immunol.*, 1992, **75**, 535-541.

YING S., MENG Q., ZEIBECOGLOU K., ROBINSON D.S., MACFARLANE A., HUMBERT M., KAY A.B. Eosinophil chemotactic chemokines (eotaxin, eotaxin-2, RANTES, monocyte chemoattractant protein-3 (MCP-3), and MCP-4), and C-C chemokine receptor 3 expression in bronchial biopsies from atopic and nonatopic (intrinsic) asthmatics. *J Immunol*, 1999, **163**, 6321-6329.

ZEMANN B., SCHWAERZLER C., GRIOT-WENK M., NEFZGER M., MAYER P., SCHNEIDER H., DE WECK A., CARBALLIDO J.M., LIEHL E. Oral administration of specific antigens to allergy-prone infant dogs induces IL-10 and TGF-beta expression and prevents allergy in adult life. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2003, **111**, 1069-1075.

ZIMMERMANN., HERSHEY G.K., FOSTER P.S., ROTHENBERG M.E. Chemokines in asthma: Cooperative interaction between chemokines and IL-13. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2003, **111**, 227-242; quiz 243.

PUBLICATIONS ISSUES DU TRAVAIL DE THÈSE

ARTICLES DE SYNTHÈSE

PEETERS D., CLERCX C.
La bronchopneumopathie éosinophilique idiopathique canine : revue de la littérature. *Ann. Méd. Vét.*, 2004, **148**, 115-120.

PEETERS D., CLERCX C.
L'aspergillose naso-sinusale dans l'espèce canine. *Ann. Méd. Vét.*, 2004, **148**, 168-172.

ARTICLES ORIGINAUX

PEETERS D., PETERS I.R., FARNIR F., CLERCX C., DAY M.J. Real-time RT-PCR quantification of mRNA encoding cytokines and chemokines in histologically normal canine nasal, bronchial and pulmonary tissue. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 2005, **104**, 195-204.

PEETERS D., DAY M.J., FARNIR F., MOORE P., CLERCX C. Distribution of leucocyte subsets in the canine respiratory tract. *J. Comp. Pathol.*, 2005, **132**, 261-272.

PEETERS D., DAY M.J., CLERCX C. An immunohistochemical study of canine nasal aspergillosis. *J. Comp. Pathol.*, 2005, **132**, 283-288.

PEETERS D., DAY M.J., CLERCX C. An immunohistochemical study of canine eosinophilic bronchopneumopathy. *J. Comp. Pathol.*, 2005, **133**, 128-135.

PEETERS D., PETERS I.R., CLERCX C., DAY M.J. Real-time RT-PCR quantification of mRNA encoding cytokines, CC chemokines and CCR-3 in bronchial biopsies from dogs with eosinophilic bronchopneumopathy. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 2006, **110**, 65-77..

PEETERS D., PETERS I.R., CLERCX C., DAY M.J. Quantification of mRNA encoding cytokines and chemokines in nasal biopsies from dogs with sinonasal aspergillosis. *Vet. Microbiol.*, 2006, **114**, 318-326.

REMERCIEMENTS

Fonds Spéciaux de l'ULg 2000. European College of Veterinary Internal Medicine (ECVIM Studies Fund 2002). Bourse de Voyage 2004 de la Communauté française de Belgique