



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE de TLEMCEEN

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la
Terre et de l'Univers

Département de Biologie

Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée et immunologie



Mémoire

Présenté par

CHIKH wafa meryem

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER en Immunologie

Soutenu le : 15 Juillet 2021

Thème

Activité de l'iNOS monocytaire au cours de l'infection à SARS-COV-2

Le jury :

Pr. Mourad ARIBI	Professeur	Université de Tlemcen	Président
Dr. Maroua MILIANI	Maître de conférence B	Université de Tlemcen	Examinatrice
Dr. Wafa NOUARI	Maître de conférence B	Université de Tlemcen	Encadrante

Année universitaire 2020/2021

Résumé

Résumé

Introduction : Le système immunitaire assure une protection endogène contre les agents infectieux grâce à deux types de réponse immunitaire, innée et adaptative. Parmi les éléments de la réponse immunitaire innée, les monocytes jouent un rôle important dans la réponse inflammatoire et aussi la résolution de l'inflammation en sécrétant plusieurs médiateurs inflammatoires tels que les cytokines et le monoxyde d'azote (NO). Ce dernier est produit après la conversion de la L-arginine sous l'effet de l'enzyme monoxyde d'azote synthase inductible. D'autre part, ces cellules ont été récemment connues par leur capacité à acquérir une mémoire immunologique chez des souris dépourvus de lymphocytes. Dans ces deux dernières années, la pandémie à sars-cov2 a induit une crise sanitaire mondiale avec des millions de décès.

Objectif : L'objectif de ce travail consiste à évaluer l'activité de l'iNOS monocyttaire au cours de l'infection à SARS-COV-2.

Matériels et méthodes : Les monocytes ont été isolés à partir de cellules mononucléées du sang périphérique (PBMCs) des donneurs sains. Ces cellules ont été stimulées par le virus SARS-COV-2 pendant 24h, puis une deuxième fois pendant 24 après le premier contact. L'activité de l'iNOS a été évaluée au niveau des lysats des monocytes

Conclusion : Les monocytes peuvent produire une mémoire immunitaire qui pourrait aider à réduire la propagation de l'infection par le SRAS-COV-2.

Mots clés : Monocyte, Sars-cov2, iNOS.

Abstract

Abstract

Introduction: The immune system provides endogenous protection against infectious agents through two types of immune response, innate and adaptive. Among the elements of the innate immune response, monocytes play an important role in the inflammatory response and also the resolution of inflammation by secreting several inflammatory mediators such as cytokines and nitric oxide (NO). The latter is produced after the conversion of L-arginine under the effect of the inducible nitric oxide synthase enzyme. On the other hand, these cells have recently been known for their ability to acquire immunological memory in mice lacking lymphocytes. In the past two years, the sars-cov2 pandemic has triggered a global health crisis with millions of deaths.

Objective: The objective of this work is to evaluate the activity of the monocytic iNOS during SARS-COV-2 infection

Materials and methods: The monocytes were isolated from peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) of healthy donors. These cells were stimulated by the SARS-COV-2 virus for 24 hours, then a second time for 24 after the first contact. The activity of iNOS was assessed in monocyte lysates

Conclusion: Monocytes can produce immune memory that could help reduce the spread of SARS-COV-2 infection.

Keywords: Monocyte, Sars-cov2, iNOS.

ملخص

مقدمة: يوفر الجهاز المناعي حماية ذاتية ضد العوامل المعدية من خلال نوعين من الاستجابة المناعية، الفطرية والتكيفية. من بين عناصر الاستجابة المناعية الفطرية، تلعب الخلايا الوحيدة دورًا مهمًا في الاستجابة الالتهابية وأيضًا في حل الالتهاب عن طريق إفراز العديد من الوسائط الالتهابية مثل السيتوكينات وأكسيد النيتريك (NO). يتم إنتاج الأخير بعد تحويل L-arginine تحت تأثير إنزيم سينثاز أكسيد النيتريك المحرض. من ناحية أخرى، عُرفت هذه الخلايا مؤخرًا بقدرتها على اكتساب ذاكرة مناعية في الفئران التي تفتقر إلى الخلايا الليمفاوية. في العامين الماضيين، تسبب جائحة sars-cov2 في أزمة صحية عالمية أدت إلى وفاة الملايين.

الهدف: الهدف من هذا العمل هو تقييم نشاط iNOS أحادي الخلية أثناء عدوى SARS-COV-2 في سياق المناعة المدربة.

المواد والطرق: تم عزل وحيدات من خلايا الدم المحيطية وحيدة النواة (PBMCs) للمتبرعين الأصحاء. تم تحفيز هذه الخلايا بواسطة فيروس SARS-COV-2 لمدة 24 ساعة، ثم مرة ثانية لمدة 24 بعد الاتصال الأول. تم تقييم نشاط iNOS في lysates وحيدات

الخلاصة: يمكن أن تنتج الخلايا الوحيدة ذاكرة مناعية يمكن أن تساعد في الحد من انتشار عدوى SARS-COV-2

الكلمات المفتاحية: iNOS، Sars-cov2، Monocyte

Avant-propos

Avant-propos

Je remercie Allah le tout puissant de m'avoir guidé, et donné la foi et le courage pour accomplir ce travail.

Ce travail a été réalisé au niveau du Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliqué et d'Immunologie (BIOMOLIM), Université de Tlemcen, sous la direction du Professeur Mourad ARIBI, qui m'a ouvert les portes de son laboratoire et m'avoir assuré dans les meilleures conditions et assuré une excellente formation. J'ai l'honneur et le privilège d'avoir effectué mes travaux dans votre laboratoire.

A l'issue de ce travail, je tiens à remercier Madame NOUARI Wafa, Maître de Conférences classe B, Université de Tlemcen de m'avoir donnée la chance de travailler sous ses ailes et de m'assurer une excellente formation. Merci du fond du cœur.

Je tiens à remercier les membres du jury, Pr ARIBI Mourad et Dr Maroua MILIANI d'avoir accepté d'examiner ce travail, malgré leurs obligations professionnelles.

J'exprime également ma sincère reconnaissance à toute l'équipe du Laboratoire BIOMOLIM pour leur aide, ainsi toutes les informations et les avantages donnés durant la formation de Master.

Je remercie tous mes amis et collègues de la spécialité Immunologie pour le soutien et les encouragements.

Je dédie ce travail :

A mes parents, mes frères qui m'ont soutenu et cru en moi jusqu'au bout ainsi à toute ma famille qui ont su me soulager avec les mots qu'il faut.

A toutes mes chères amies

Table des matières

Table des matières

Résumé

Abstract

ملخص

Avant-propos

Table de matière

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction

Chapitre 1 Revue de littérature

1.1	Monocytes	13
1.1.1	Généralités	13
1.1.2	Développement	14
1.1.3	Hétérogénéité	15
1.1.3.1.	Monocytes classiques	16
1.1.3.2.	Monocytes intermédiaires	16
1.1.3.2.	Monocytes non classiques	16
1.1.4	Fonctions	17
1.1.5	Monocyte et l'infection virale	18
1.2	Covid-19	19
1.2.1	Historique	19
1.2.2	Epidémiologie	20
1.2.2.1.	Transmission	21
1.2.2.2.	Létalité	21
1.2.2.3.	Facteur de risque d'infection au COVID-19	21
1.2.2.4.	Durée d'incubation	21
1.2.2.5.	Contagiosité	21
1.2.3	Caractéristiques	22
1.2.3.1.	Le génome	22
1.2.3.2.	Protéines de structure	23

Table des matières

1.2.3.3. Protéines non structurales	24
1.2.4 Cycle viral	25
1.2.4.1. Entrée dans la cellule hôte	25
1.2.4.2. Réplication virale	26
1.2.4.3. Expression des protéines structurales et accessoires	28
1.2.4.4. Libération de nouveaux virus	28
1.2.5 Réponse immunitaire contre le SARS-CoV -2	28
1.3. Problématique	29

Chapitre 2 Matériels et méthodes

2 Matériels et méthodes.....	30
2.1. Concept de l'étude.....	30
2.2. Isolation des cellules mononucléées du sang périphérique	30
2.3. Isolation des monocytes	31
2.4. Détermination de l'activité de l'iNOS	30
2.4.1. Dosage de Monoxyde d'azote	31
2.4.2 Dosage des protéines totales.....	31
2.4.1 Evaluation d'activité iNOS monocyttaire	32

Chapitre 3. Résultat

Chapitre 4. Discussion

Chapitre 5. Conclusion et perspective

Chapitre 6. Références bibliographiques

Liste des figures

Liste des figures

Figure 1.1.	Image microscopique de monocyte	14
Figure 1.2.	Développement des monocytes	15
Figure 1.3.	La répartition mondiale des cas de COVID-19 signalés dans chaque pays	20
Figure 1.4.	Taux de reproduction virale	22
Figure 1.5	Structure et l'organisation génomique du Sars-CoV-2	23
Figure 1.6.	Organisation génomique du Sars-CoV-2	23
Figure 1.7.	Représentation de la structure SARS-CoV-2 et de son mode d'entrée dans l'hôte	26
Figure 1.8.	Cycle de réplication du virus SARS COV 2 chez l'homme	27

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau 1.1. Sous-ensembles de monocytes humains	17
Tableau 1.2. La réaction des monocytes lors de l'infection avec certains types de virus	19
Tableau 1.3. Les protéines non structurales de SARS COV 2	24

Liste des abréviations

Liste des abréviations

ACE2	Angiotensin-Converting Enzyme 2
ADCC	Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity
ARN+	Acide Ribonucléique de polarité positive
ARNdb	Acide ribonucléique double brin
ARNm	Acide Ribonucléique messenger
ARNm sg	Acide Ribonucléique messenger subgénomique
CMH	Complexe majeur d'histocompatibilité
COVID-19	Coronavirus disease 2019
CTL	lymphocytes T cytotoxiques
CTR	Complexe de transcription/réplication
GMP	Précurseurs de granulocytes/macrophages
HCoV-229E	Human Coronavirus 229E
HCoV-OC43	Human Coronavirus OC43
HSC	cellules souches hématopoïétiques (hematopoietic stem cells)
IFN	Intérféron
IFN-1	Intérféron 1
IFN-λ	Intérféron lamda
IL-1	Interleukine 1
IL-6	Interleukine 6
IL-7	Interleukine 7
iNOS	inducible nitric oxide synthase
IP10	Interferon –inducible protein 10
LP	précurseurs lymphoïdes
MCP-1	Monocyte chemoattractant protein
MDP	Macrophage-dendritic cell progenitors
MERS-COV	coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient
MP	précurseurs myéloïdes
NK	Natural killer
NO	Monoxyde d'azote
Nsp	Non-structural protein
ORF	Open reading frame
Protéine M	Protéine de la Membrane.
Protéine N	Protéine de la Nucléocapside.
Protéine S	Protéine de Spicule (Spike).

Liste des abréviations

R0	Taux de reproduction
RBD	Region Binding Domain
RdRp	RNA-dependent RNA Polymerase, ARN dependant ARN polymerase.
RE	Réticulum Endoplasmique
ROS	les espèces réactives de l'oxygène
RT-PCR	Reverse transcription polymerase chaine réaction
SARS-CoV	Severe acute respiratory syndrome coronavirus.
SARS-CoV-1	Severe acute respiratory syndrome coronavirus 1
SARS-CoV-2	severe acute respiratory syndrome coronavirus 2
TGF	Transforming growth factor
TLR	Récepteurs Toll-like
TNF-α	Tumeur necrosis factor alpha

Introduction

Introduction

L'immunité innée, qui comprend les monocytes, fournit la première ligne de défense contre les signaux de danger externes ou internes. Elle joue un rôle essentiel dans le maintien de l'homéostasie immunitaire en éliminant les agents infectieux et en favorisant la réparation des lésions tissulaires (Italiani and Boraschi, 2014). Plusieurs épreuves ont récemment montré que le système immunitaire inné peut développer une mémoire immunologique qui conduit à une réponse immunitaire accrue à un stimulus secondaire par le biais d'un changement métabolique et épigénétique des cellules immunitaires innées (van Splunter et al., 2018).

Les monocytes sont des cellules myéloïdes mononucléées circulant dans le sang qui exercent plusieurs rôles, notamment dans l'inflammation et le remodelage tissulaire (Saeed et al., 2014). Ils sont également des cellules présentatrices d'antigènes et se caractérisent par une activité phagocytaire élevée. Ces cellules produisent plusieurs types de cytokines, telles que l'interleukine-1 β (IL-1 β) et IL-6 et le monoxyde d'azote (NO) en réponse à divers stimuli (Dugas et al., 1995; Fu et al., 2019). Elles expriment l'enzyme NO synthase inducible (iNOS) après stimulation par plusieurs agents, notamment les lipopolysaccharides (LPS), interféron- δ (IFN- δ), l'IL-1 et le facteur de nécrose tumorale (TNF). L'iNOS permet de convertir l'acide aminé L-arginine en NO et L-citruline (Weinberg et al., 1995).

A la fin de l'année 2019, Le coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS-CoV-2) qui est un coronavirus hautement transmissible et pathogène a été émergé. Ce virus a provoqué une pandémie de maladie respiratoire aiguë, nommée « maladie à coronavirus 2019 » (COVID-19), qui menace la santé humaine et la sécurité publique (Hu et al., 2021). Il peut infecter les monocytes après liaison avec le récepteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE-2, *Angiotensin-Converting Enzyme 2*) et supprimer les réponses antivirales. Les cellules infectées produisent de grandes quantités de cytokines et de chimiokines pro-inflammatoires, qui contribuent à l'inflammation locale des tissus et à une réponse inflammatoire systémique appelée tempête de cytokines (Jafarzadeh et al., 2020).

Dans ce contexte, ce travail a pour objectif d'évaluer l'activité de l'enzyme iNOS des monocytes au cours de l'infection à SARS-CoV2.

Chapitre 1 Revue de littérature

Chapitre 1 Revue de littérature

1.1 Monocytes

1.1.1 Généralités

Le système immunitaire assure une protection endogène et est capable de neutraliser les dangers potentiels grâce à deux types de réponse immunitaire, innée et adaptative (França et al., 2017). L'immunité innée représente la première ligne de défense de l'organisme contre les infections. Elle va reconnaître les molécules du Non Soi et de manière indépendante de la nature précise de l'antigène, ce qui lui confère une certaine polyvalence. Cette immunité est assurée par plusieurs constituants cellulaires et moléculaires de l'organisme, tels que cellules dendritiques, mastocytes, polynucléaires, macrophages, monocytes (Hato and Dagher, 2015).

Défini par Paul Ehrlich en 1891, le grand monocyte est l'ancien nom du monocyte, (Radzun, 2015). En 1958, Wachstein a développé une méthode dite "non-specific esterase", qui reconnaissait initialement les monocytes et éliminait les lymphocytes déposés sur des lames de verre. Dix ans après, Van furth et Cohn ont montré que l'identification et l'analyse des monocytes peuvent également être réalisées *in vitro* par la méthode d'adhésion sur plaque. Par conséquent, les cellules ayant la capacité d'adhérer au verre et de phagocytter sont appelées phagocytose mononucléaire, De plus, le terme "phagocytose" a été découvert pour la première fois par le biologiste russe Elie Metchnikoff (1845-1916) (Mourah, 2019).

Les monocytes sont des cellules qui fournissent des réponses contre les infections virales, bactériennes, fongiques ou parasitaires (Wacleche et al., 2018) et ont pour fonction de contrôler l'homéostasie cellulaire, notamment en cas d'inflammation. Ce sont des cellules hétérogènes (Kratofil et al., 2017a ; Yáñez et al., 2017), dérivées de progéniteurs de granulocytes/monocytes dans la moelle osseuse et entrent dans la circulation par le récepteur CCR2 sous l'influence de la chimiokine CCL2 (Wong et al., 2019). Ils représentent environ 10% des leucocytes dans le sang périphérique de l'homme (Ginhoux and Jung, 2014).

Les monocytes sont les plus gros globules blancs, mesurant entre 12 et 20 μm de diamètre, ronds avec un noyau mince en forme de bande, « en forme de serpent » ou « en forme de Rein » qui porte chromatine rouge pourpre, cytoplasme gris (Figure 1.1) (Prinyakupt and Pluempitwiriyawej, 2015) .

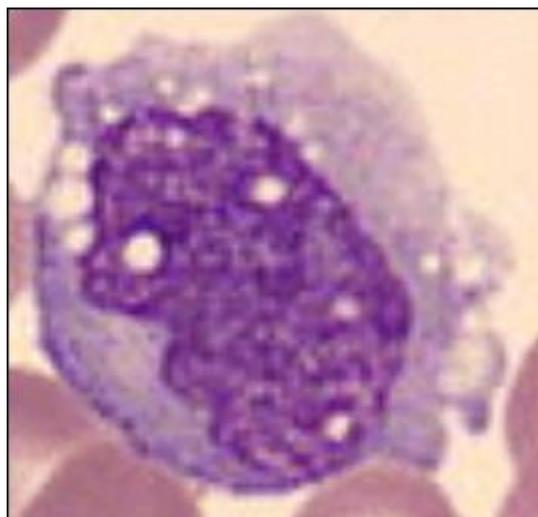


Figure 1.1. Image microscopique de monocyte (Prinyakupt and Pluempitiwiriyawej, 2015)

1.1.2 Développement

La technique de tri cellulaire activée par fluorescence multicolore et l'expression de protéines de surface cellulaire ont permis d'identifier les cellules progénitrices et les populations cellulaires différenciées (Geissmann et al., 2010).

Dans la moelle osseuse, les cellules souches hématopoïétiques (HSC) donnent naissance à des précurseurs myéloïdes (MP) et lymphoïdes (LP) (Figure 1.1). Ces cellules donnent à leur tour naissance à un groupe multipotent de précurseurs appelés précurseurs granulocytes / macrophages (GMP), qui sont identifiés par l'expression des récepteurs Fc γ , CD16 et CD32 (Terry and Miller, 2014). Les MP produisent des précurseurs de cellules dendritiques (MDP, macrophage-dendritic cell progenitors) qui expriment CD115, Le récepteur de chimiokine CXC de type3 (CX3CR1) et Fms-like tyrosine kinase 3 (Flt-3). Les MDP donnent naissance à des sous-ensembles de monocytes discrets qui peuvent être distingués par l'expression de CD14 et CD16 chez l'homme et de Ly6C, CCR2 et CX3CR1 chez la souris. Enfin, ces cellules quittent la moelle osseuse et gagnent les tissus (Geissmann et al., 2010; Wacleche et al., 2018) .

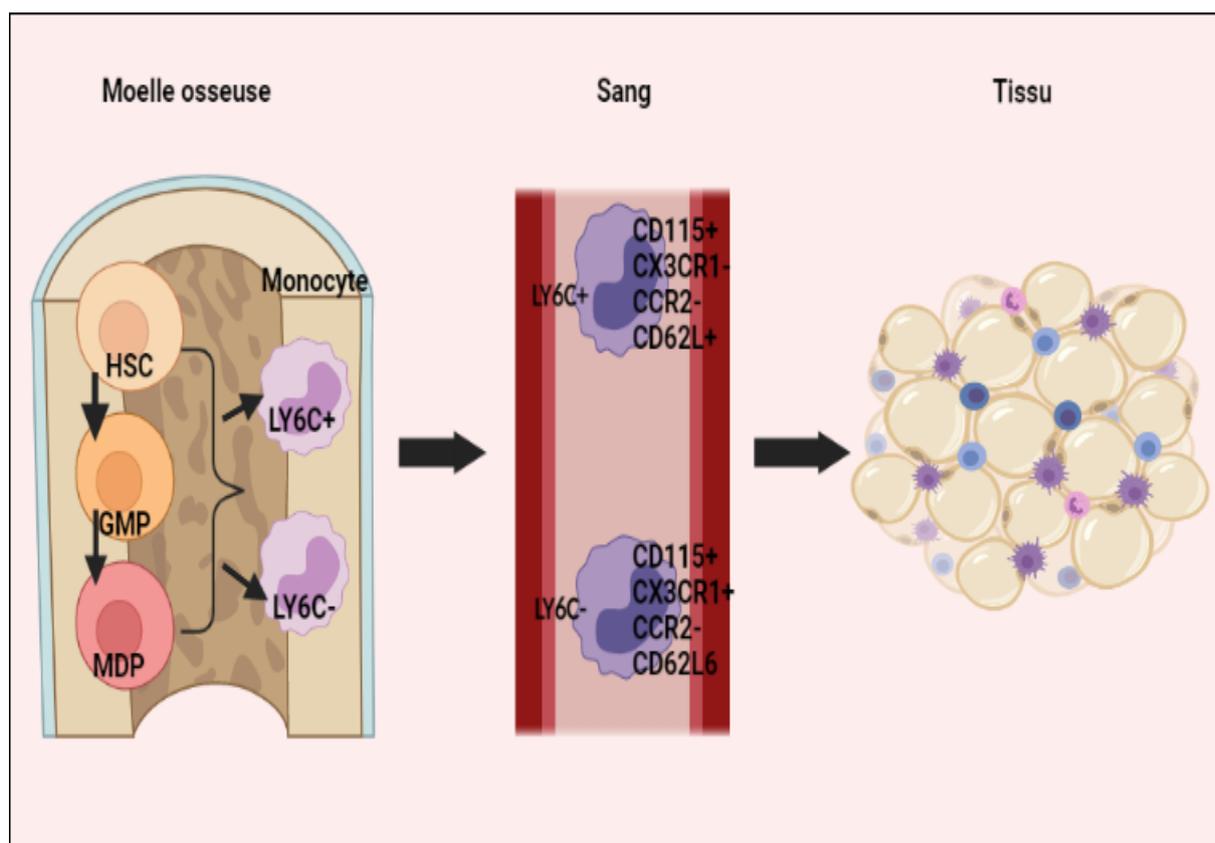


Figure 1.2. Développement des monocytes chez la souris (Ginhoux and Jung, 2014). Chez les souris, les monocytes sont obtenus à partir des cellules souches hématopoïétiques de la moelle osseuse. Ces cellules produisent des précurseurs de granulocytes/macrophages (GMP) et des précurseurs de cellules dendritiques (MDP, macrophage-dendritic cell progenitors). Elles donnent à leur tour naissance aux LY6C + (CD115 + CX3CR1- CCR2- CD62L +) et LY6C- (CD115+ CX3CR1+ CCR2- CD62L65). HSC : cellules souches hématopoïétiques (hematopoietic stem cells), GMP : précurseurs de granulocyte/ macrophages (granulocyte-macrophage progenitors), MDP : précurseur de macrophages/cellules dendritique (macrophage-dendritic cell progenitors).

Au cours de l'inflammation, les monocytes ont acquis la capacité de se différencier en macrophages qui sont des cellules phagocytaires professionnelles il existe deux types de population de macrophages : les macrophages classiques les macrophages alternatifs , ou des cellules dendritiques via l'expression d'IRF 8 (facteur de régulation de l'interféron 8)(Yáñez et al., 2017).

1.1.3 Hétérogénéité

L'identification de l'hétérogénéité des monocytes est réalisée par cytométrie en flux à travers l'aspect de la taille, de la granularité et l'expression différentielle de CD14 et CD16 (Wacleche et al., 2018). Les monocytes humains peuvent être divisés en trois sous-types : classique, non classiques et intermédiaires (Tableau 1.1). Le CD14, le principal marqueur des monocytes humains, est une glycoprotéine et un antigène de différenciation des monocytes de la moelle osseuse. Il s'agit également d'une protéine accessoire pour les récepteurs de type Toll-like 4 (TLR-4) (Wacleche et al., 2018). En revanche, Le CD16 (ou

Chapitre 1 Revue de littérature

récepteur FcγIII) est une molécule de la superfamille des immunoglobulines (Ig) impliquée dans la cytotoxicité des lymphocytes T dépendant des anticorps (ADCC) (Kuby et al., 2003).

1.1.3.1. Monocytes classiques

Les monocytes classiques sont le sous-ensemble de monocytes le plus répandu dans le sang humain. Ils représentent 90% des monocytes circulants. Ces cellules expriment CD14⁺⁺ CD16⁻ (également appelé CD14⁺CD16⁻) (Lauvau et al., 2014). Ce type de monocytes sont des cellules inflammatoires provenant de la moelle osseuse (França et al., 2017). Ils ont une activité phagocytaire et produisent plusieurs cytokines pro-inflammatoires, telles que l'interleukine 1 (IL-1), IL-12, TNF-α et le facteur de nécrose tumorale α (TNF-α). Ils expriment le récepteur de chimiokines CCR2 et CX3CR (Sprangers et al., 2016) et libèrent ainsi le monoxyde d'azote (NO) (Yang et al., 2014).

1.1.3.2. Monocytes intermédiaires

Les monocytes intermédiaires (CD14⁺⁺ CD16⁺CCR2⁺) sont une population hétérogène qui exprime un mélange entre des marqueurs des monocytes classiques et non classiques. Ils représentent environ 5% des monocytes circulants (Wong et al., 2011). Ces cellules se caractérisent par la production de cytokines anti-inflammatoires comme l'IL-10, d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et de médiateurs pro-inflammatoires comme le TNF-α et l'IL-1β (França et al., 2017; Sprangers et al., 2016). Ils interviennent à un stade ultérieur de l'inflammation et participent à la présentation de l'antigène, à la cicatrisation des plaies et à la reconnaissance des parasites (Turner et al., 2014).

1.1.3.2. Monocytes non classiques

Les monocytes non classiques (CD14⁺CD16⁺⁺CCR2⁻) sont des cellules de contrôle impliquées dans la réparation des tissus et l'élimination des débris du système vasculaire. Ils produisent des cytokines anti-inflammatoires telles que l'IL10 et TGF-β (transforming growth factor) (Kratofil et al., 2017b).

Tableau 1.1 : Sous-ensembles de monocytes humains (Italiani and Boraschi, 2014)

Sous-types	Marqueurs	Récepteurs de chimiokines	Fonctions principales
Les monocytes classiques	CD14 ++ CD16 -	CCR2 + CX3CR1 -	Phagocytose, effecteurs inflammatoires
Les monocytes intermédiaires	CD14 ++ CD16 +	CCR2 - CX3CR1 +	Effecteurs inflammatoires
Les monocytes non classiques	CD14 + CD16 ++	CCR2 - CX3CR1 +	Patrouiller, rôle antiviral

Il existe également un sous-ensemble de monocytes humains classiques et intermédiaires qui présentent des propriétés inflammatoires, appelé monocytes inflammatoires. Un sous-ensemble de monocytes non classiques présente un comportement exploratoire ou d'observation le long de la paroi des vaisseaux sanguins a été également identifiés (Mitchell et al., 2014).

La diversité de ces sous-types implique la surveillance régulière des cellules microbiennes dans le corps humain et la coordination de la réponse immunitaire lors d'une infection ou d'une inflammation (Ziegler-Heitbrock, 2015). De plus, Le changement de phénotype se produit grâce à la plasticité des monocytes inflammatoires, qui dépend de l'environnement et/ou de la réponse immunitaire provoquée par l'exposition à un pathogène spécifique (Das et al., 2015) .

1.1.4 Fonctions

Le rôle des monocytes est très varié et lié à divers types de troubles, de processus infectieux et d'inflammation, et les différences fonctionnelles entre les sous-ensembles de monocytes ne sont pas complètement définis. Ils peuvent intervenir dans l'homéostasie, la défense immunitaire/l'inflammation et la réparation tissulaire, ainsi que dans l'expression d'antimicrobiens et la production de plusieurs médiateurs, notamment les espèces réactives d'oxygène (ROS), l'oxyde nitrique (NO), TNF- α ou IL-1 β . Ce sont également des cellules qui se caractérisent par leur pouvoir de traitement et présentation de l'antigène, comportement pro-angiogénique et patrouilleur (Italiani and Boraschi, 2014; Lauvau et al., 2014).

Chapitre 1 Revue de littérature

La phagocytose est également un mécanisme très important de ces cellules. Il se déroule en 4 étapes l'adhésion, l'ingestion, digestion et rejet de déchet (Dale et al., 2008).

L'oxyde nitrique (NO) a été décrit comme un puissant médiateur intracellulaire produit par et agissant sur de nombreuses cellules du corps et peut être impliqué dans la régulation des monocytes en inhibant la production de cytokines et de chimiokines de l'activité phagocytaire (Dijkstra et al., 2002) .

L'oxyde nitrique synthase (NOS) est une enzyme qui catalyse la synthèse de NO et de L-citrulline en utilisant l'oxygène et la L-arginine comme substrats. L'enzyme existe sous trois isoformes codées par des gènes distincts. La NOS inducible (iNOS, type II), est induite par les cytokines interleukine-1 (IL-1), facteurs de nécrose tumorale (TNF- α), interféron gamma (IFN- γ) et par le lipopolysaccharide (LPS) dans divers types de cellules. L'expression physiologique de la iNOS a été détectée dans les cellules épithéliales des voies respiratoires et du côlon. L'induction de la iNOS est supprimée par IL-4, -8, -10, -13, le facteur de croissance transformant bêta (TGF- β) et les stéroïdes (Dijkstra et al., 2002; Thomassen et al., 1997).

1.1.5 Monocyte et l'infection virale

Bien que la demi-vie des monocytes soit très courte, ce qui rend la réplication virale difficile ou presque impossible, les monocytes en tant que cible de l'infection virale présentent plusieurs caractéristiques intéressantes, de sorte que certains virus ont trouvé des solutions à ces limitations (Tableau 1.2). Dans le cadre de la réponse immunitaire protectrice de l'hôte, les monocytes sont recrutés séquentiellement dans un milieu hautement inflammatoire (Sprangers et al., 2016).

Lors d'une infection virale, les virus entre en contact avec la cellule hôte à faible ou à forte affinité et injecte son matériel génétique dans la cellule en induisant une activation de nombreuses voies de signalisation (Nikitina et al., 2018). Dans un environnement hautement inflammatoire, les monocytes classiques exercent une réponse immunitaire immédiate et efficace en produisant des niveaux élevés de cytokines pro inflammatoires, telles que l'IL-1 β et TNF- α pour digérer localement la matrice extracellulaire et les cellules mortes (Sprangers et al., 2016) et de l'IL-18 pour activer les cellules NK, qui vont produire à leur tour l'interféron (IFN- γ). L'interféron de type 1 (IFN-I) exerce aussi des effets biologiques pléiotropes pendant l'infection virale, qui contribuent tous à équilibrer le contrôle viral et la pathologie immunitaire. La signalisation IFN-I peut augmenter la morbidité et la mortalité en induisant une réponse inflammatoire anormale au cours d'une infection virale aiguë et favorise la conversion des cellules dendritiques plasmacytoïdes en cellules dendritiques (DC) dérivées de myéloïdes et altère la différenciation hématopoïétique des progéniteurs de la moelle osseuse en DC (Hoffmann et al., 2015; Teijaro, 2016).

Chapitre 1 Revue de littérature

La réponse immunitaire à long terme le monocyte classique peut endommager les tissus, déclencher une cascade inflammatoire et conduire à une auto-immunité (Zimmermann et al., 2012) .

Tableau 1.2. Réaction des monocytes lors de certaines infection virales (Nikitina et al., 2018).

Virus	Génome	Hôte	Type d'entrée	Réaction de monocyte
Virus de la grippe	ARNsb	Humain	Endocytose, Phagocytose	-Le Monocyte infecté produit des niveaux élevés d'IL-1 β , IL-6, TNF α
Virus de l'hépatite de souris (MHV)	ARNsb	Souris	Phagocytose	Les Monocytes infectés expriment CCR1, CCR2 et CCR5 qui conduisent au recrutement de Monocyte dans le système nerveux central.
Infection par le virus d'Epstein-Barr (EBV)	ADNdb	Humain	Endocytose	Les Monocytes infectés produisent un niveau élevé d'IL-8, MCP-1 pour de l'activation de TLR9 et TLR2, et aussi IFN α en réponse à l'EBV

1.2 Covid-19

1.2.1 Historique

Le COVID19 (Corona Virus Disease 2019 (année d'apparition)) est une pandémie qui a débuté en décembre 2019, dont le premier article a été publié le 24 janvier 2020 dans New England Journal of Medicine. Cette pandémie a touché quasiment la totalité de tous les pays du monde. L'infection a commencé à se transmettre à partir du marché de gros des fruits de mer de Huanan à Wuhan, en Chine, puis diffusé dans le monde entier. Dans les années 1960, deux type de coronavirus humains ont été isolés en culture cellulaire partir de sécrétions respiratoires de personnes atteintes d'une infection respiratoire aiguë qui sont HCoV-229E et HCoV-OC43 (Vabret et al., 2009). Cependant, ce nouveau coronavirus 2019 provoqué par SARS-CoV-2 est apparenté à celui de 2002 qu'en appelle SARS-CoV-1

Chapitre 1 Revue de littérature

(Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus) qui est apparu dans la province de Guangdong en Chine en 2002 et a répondu à 05 continents par voie aérienne, infectant 8 098 personnes et causant 774 décès (Walls et al., 2020).

L'origine exact de l'épidémie reste indéterminée, mais il s'agit d'un passage de la barrière d'espèce de l'animal vers l'homme (émergence virale) et la transmission directe de la chauvesouris a l'homme a été évoqué (Hubbard et al., 2020) .

1.2.2 Epidémiologie

Aux premiers stades de la propagation mondiale du COVID-19, les cas identifiés en dehors de la Chine étaient principalement des voyageurs qui avaient été infectés en Chine et avaient ensuite voyagé dans des régions hors de Chine. Les pays qui ont signalé des cas de COVID-19 associés à des voyages sont Singapour, le Japon, la République de Corée, la Malaisie, le Vietnam, l'Australie, les Etats-Unis d'Amérique, l'Allemagne, etc (Figure 1.3) (Ahn et al., 2020).

Le 23 mars 2020, le nombre de cas confirmés en Chine est augmenté à 373 885 et 16 328 décès, en Italie le nombre de cas atteint 63 927 et 6 077 décès, et le nombre de cas confirmés en Corée du Sud atteint 8 961 et 111 décès (Salzberger et al., 2020).

L'Algérie a annoncé son premier cas de COVID-19 le 25 février 2020, avec la province de Blida comme foyer principal, mais rapidement tout le territoire national a été touché ("WHO 2021," n.d.) .

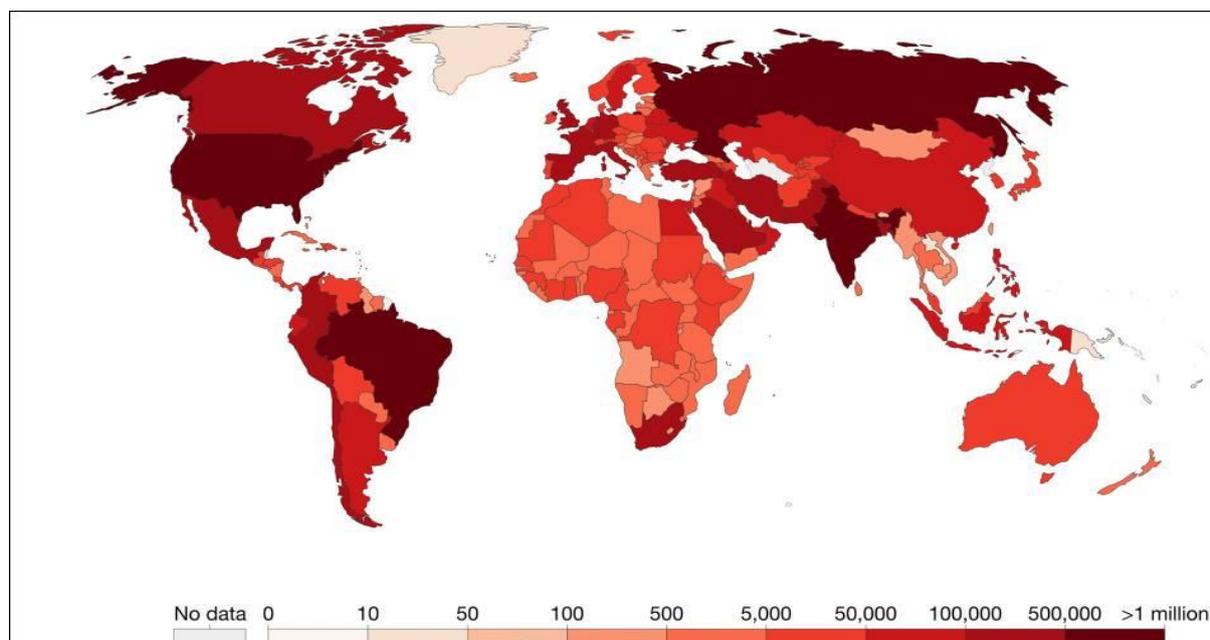


Figure 1.3. La répartition mondiale des cas de COVID-19 signalés dans chaque pays (Machhi, 2020). Le 28 mars 2020 le nombre est passé à plus de 600 000 cas, le nombre de morts atteignant 27 000. Le 1er avril 2020 les infections mondiales confirmées ont atteint 1 000 000 avec un

Chapitre 1 Revue de littérature

nombre de morts dans le monde de 50 000, 2 semaines après, les États-Unis ont signalé 500 000 cas enregistrés et un nombre de morts 19 468 décès.

1.2.2.1 Transmission

La transmission interpersonnelle du SARS-CoV-2 se fait principalement au sein de la famille, et elle est favorisée par les individus. Ce virus peut survivre dans les aérosols pendant 3 heures et sur des surfaces inertes pendant 72 heures (van Doremalen et al., 2020).

1.2.2.2 Létalité

Le taux de létalité de l'infection représente la probabilité de décès d'une personne infectée, qu'elle se rende ou non à l'hôpital. Le taux mondial de létalité est estimé à 2,16 %, mais il existe de grandes différences entre les pays (Verity et al., 2020).

1.2.2.3 Facteur de risque d'infection au COVID-19

D'après les méta-analyses des principaux résultats concernant l'infection et les complications, les facteurs de risque représentés sont les suivants :

- Sexe masculin.
- Âge supérieur à 70 ans.
- Professionnels de santé (Pijls et al., 2021) .

1.2.2.4 Durée d'incubation

Il s'agit d'un concept important pour déterminer la durée de l'isolement afin de contrôler la propagation de l'infection. Elle est comparable à celle d'autres virus ou l'entrée de la source d'infection est similaire au lieu final de réplication du virus, qui est estimé entre 2 et 7 jours (Plaçais and Richier, 2020).

1.2.2.5 Contagiosité

Il est évalué par un indicateur appelé R0 (ou taux de reproduction), qui correspond au nombre moyen d'infections secondaires qu'un cas index peut produire. Parmi les personnes tout à fait susceptibles d'être infectées, l'OMS estime le R0 à 2,6 (1,5 –3,5) (Figure 1.4). En mars 2020, une méta-analyse a indiqué que le R0 pourrait être plus élevé, estimé à 3,3. La maladie apparaît contagieuse pendant la période d'incubation évaluée 02 jours avant l'apparition des symptômes. Sur la base d'études menées sur des modèles animaux et humains, la charge virale infectieuse minimale est estimée à 100 particules. Des études ont montré que la contagiosité est plus susceptible de se produire dans les premiers jours des symptômes et peut durer plus de trois semaines. Cependant, un résultat RT-PCR positif ne signifie pas nécessairement que le virus est vivant et infectieux, en particulier pour la charge virale la plus faible, qui nécessite une culture virale (Lefevre et al., 2020; Machhi, 2020).

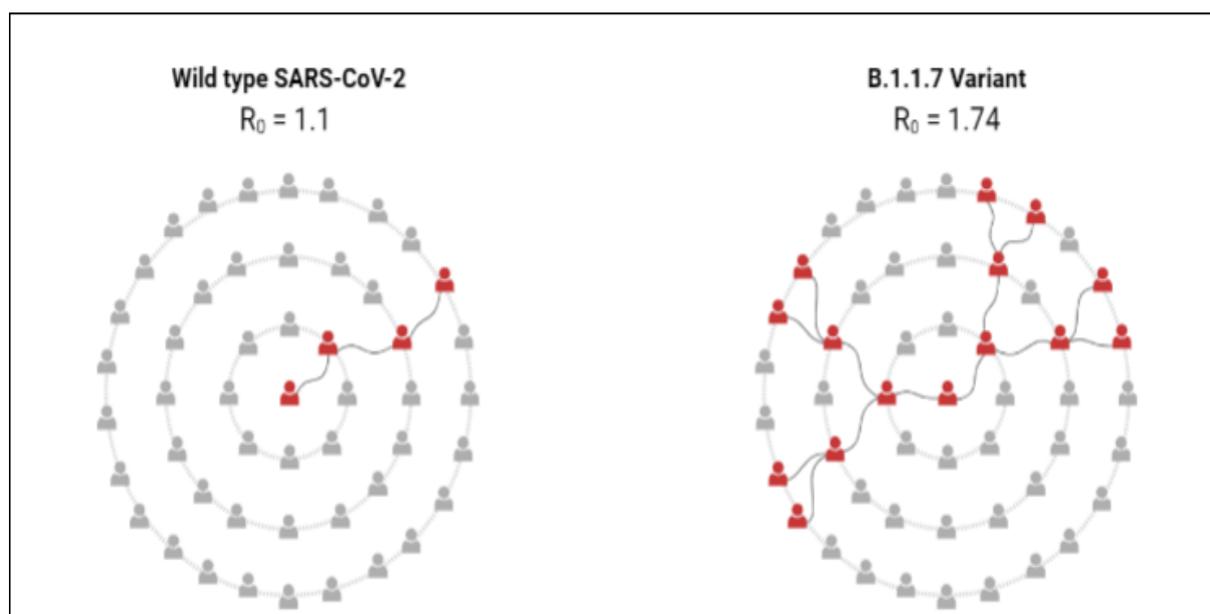


Figure 1.4. Taux de reproduction virale R_0 (Machhi, 2020).

1.2.3 Caractéristiques

1.2.3.1 Le génome

Les coronavirus sont entourés d'une enveloppe contenant la nucléocapside virale qui est disposée en symétrie hélicoïdale, reflétant les propriétés atypiques des virus à ARN positif. Le SRAS-CoV-2 appartient aux Nidovirales, à la famille des coronavirus, à la sous-famille des Orthocoronavirinae, et est divisé en quatre genres, Alphacoronavirus, Betacoronavirus, Gammacoronavirus et Deltacoronavirus (Chen et al., 2020; Zhu et al., 2020). Les genres Alphacoronavirus et Betacoronavirus proviennent de chauves-souris, tandis que Gammacoronavirus et Deltacoronavirus ont évolué à partir de pools génétiques d'oiseaux et de porcs (Dhama et al., 2020) .

Le génome du SRAS-CoV-2 a été séquencé et caractérisé au début de la pandémie de COVID-19 et il s'agit d'un grand génome à ARN monocaténaire non segmenté à sens positif (Figure 1.5) d'une longueur de 29 903 nucléotides qui contient jusqu'à 29 cadres de lecture ouverts (Open Reading Frame ORF)(Chan et al., 2020; Varghese et al., 2020). Bien que le nombre exact de protéines fonctionnelles reste à établir, il existe environ 16 protéines non structurales (nsp), quatre protéines structurales et six ou sept protéines accessoires et le gène de l'ARN polymérase RdRp (RNA-dependent RNA Polymerase, ARN dépendant ARN polymérase) qui code l'ARN Polymérase (Figure 1.6) (Yoshimoto, 2020).

Selon les caractéristiques moléculaires, le SARS-CoV-2 est considéré comme un nouveau type de coronavirus, appartenant au sous-genre Sarbecovirus (Zhu et al., 2020).

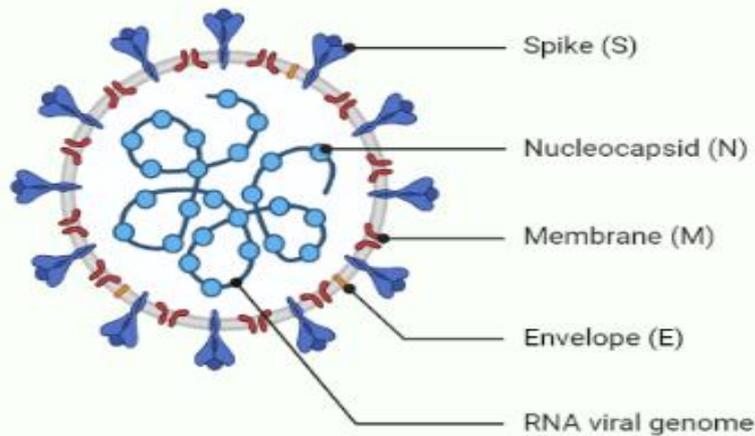


Figure 1.5. Structure du Sars-CoV-2 (Lefevre et al., 2020). ORF : open reading frame ; RdRp: RNA-dependent RNA Polymerase /ARN dependant ARN polymerase ; Spike S : gènes codant les protéines de structure Glycoprotéine (S: surface), E: Glycoprotéine d'enveloppe (E: enveloppe), M: Protéine membranaire, N: Protéine nucléocapside.

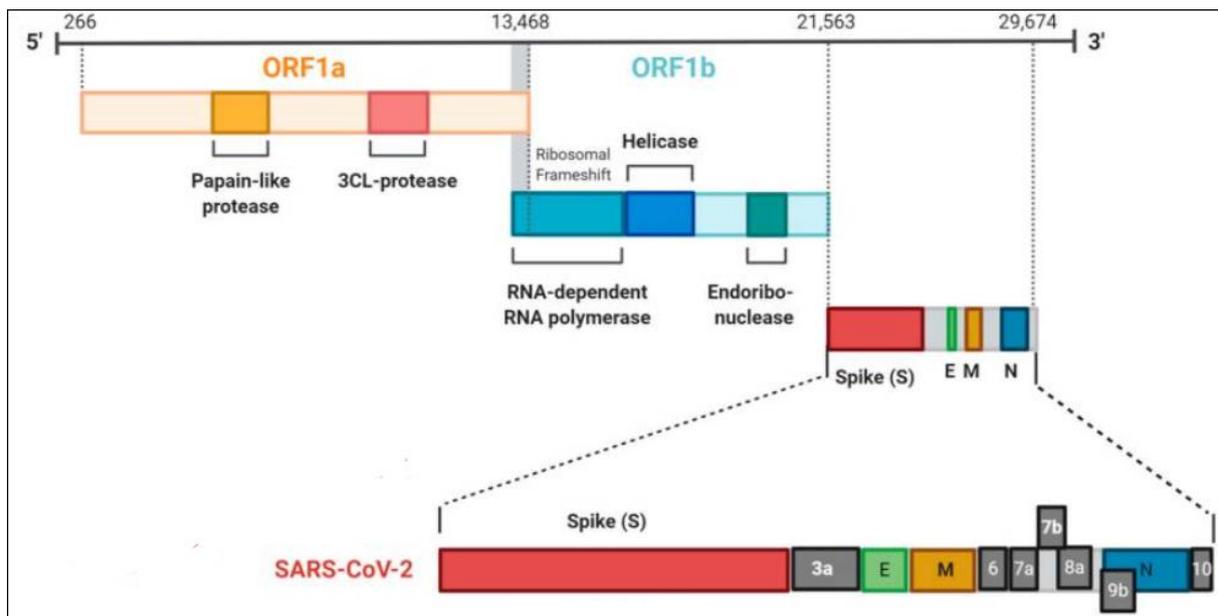


Figure 1.6. Organisation génomique du Sars-CoV-2 (Zhand et al., 2020). Un cadre de lecture ouvert commun 1 (ORF1) a/b qui code une polyprotéine. Les autres ORF sont responsables du codage des quatre principales protéines structurales : les protéines de pointe (S), d'enveloppe (E), de membrane (M) et de nucléocapside (N) ainsi que plusieurs protéines accessoires, ORF : open reading frame ; RdRp: gène codant l'ARN polymérase ARN-dépendante.

1.2.3.2 Protéines de structure

Il existe quatre protéines de structure qui sont à l'origine de la morphologie du virus. Les protéines de spicule (S) sont des glycoprotéines membranaires qui forment les pointes de la couronne observée en microscopie électronique et qui sont nécessaires à l'entrée de la

Chapitre 1 Revue de littérature

particule de virion infectieuse. Chaque protéine S est subdivisée en deux sous-unités S1 et S2, correspondant à la partie globulaire et à la tige du spicule. Ensuite, les protéines d'enveloppe (E) sont plus petites parmi les protéines structurales majeures et interagissent avec les protéines (M) pour former l'enveloppe virale qui entourent la capsid du virion. Ce sont les protéines les plus abondantes. Enfin les protéines de nucléocapside (N) se lient à l'ARN pour former la capsid lors de l'assemblage du virion (Figure 1.5) (Lefevre et al., 2020; Naqvi et al., 2020).

1.2.3.3 Protéines non structurales

Les protéines non structurales (nsp) jouent de nombreux rôles dans les processus de réplication et d'assemblage du virus. Elles participent à la pathogenèse virale en modulant la régulation précoce de la transcription et l'activité hélicase (Naqvi et al., 2020). Elles disposent également l'enzyme l'ARN polymérase ARNdépendante (RdRp) qui intervient dans la réplication du virus et permet la synthèse d'ARN subgénomiques. De plus, les premiers ORF (ORF1a/b) représentent environ les deux tiers de la longueur totale du génome qui code pour 16 nsp (nsp1-16)(Tableau 1.3) (Chen et al., 2020) .

Tableau 1.3. Protéines non structurales de SARS COV 2 (Chan et al., 2020; Chen et al., 2020)

Protéines	Fonctions
nsp1	Dégradation de l'ARNm cellulaire et inhibition de la signalisation IFN
nsp2	Pas encore déterminée
nsp3	C'est une protéase de type papaine et une protéine membranaire multipasse qui traite la polyprotéine virale pour libérer nsp1, nsp2 et nsp3. Elle bloque la réponse immunitaire innée de l'hôte et favorisent l'expression des cytokines
nsp4	C'est une protéine membranaire multi-passes qui nécessaire pour la réplication virale en induisant l'assemblage des vésicules cytoplasmiques à double membrane.
nsp5	Nsp5 se clive sur 11 sites dans la polyprotéine pour libérer nsp4-nsp16. Il est également responsable de la maturation nsp.
nsp6	C'est une protéine membranaire à passes multiples qui induit des vésicules à double membrane dans les cellules infectées. Elle limite également l'expansion de l'autophagosome
nsp7	Elle forme un cofacteur avec nsp8 et nsp12 l'ARN polymérase ARNdépendante.

Chapitre 1 Revue de littérature

sous-unité S2 contient la région de répétition de l'heptapeptide HR1, HR2 et la fusion peptide qui assure la fusion des membranes virale et cellulaire au cours de réarrangements importants) (Figure 1.7) (Naqvi et al., 2020).

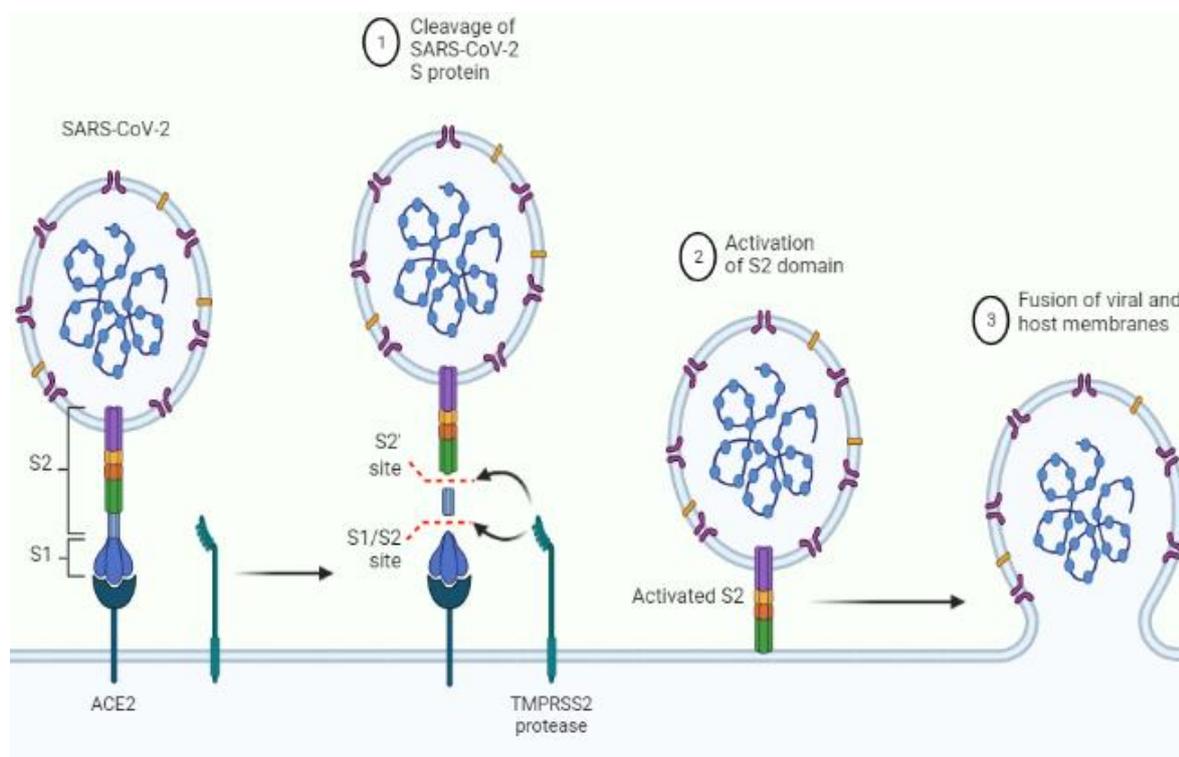


Figure 1.7. Représentation de la structure SARS-CoV-2 et de son mode d'entrée dans l'hôte (Naqvi et al., 2020).

SARS-CoV-2 assure la fixation à la membrane d'une cellule hôte et engage l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2) comme récepteur d'entrée, plus exactement par l'interaction entre la glutamine 493 dans la région RBD de la protéine de pointe SARS-CoV-2 et la lysine 31 sur le récepteur ACE2 humain (Jamai Amir et al., 2020).

1.2.4.2 Réplication virale

La réplication de SARS COV 2 est exclusivement intra-cytoplasmique. Après décapsidation de virus dans la cellule hôte y aura libération de matériel génétique dans le cytoplasme de la cellule, c'est l'ARN de sens (+) qui va être traité comme un ARN messager par la cellule hôte et aboutit à la transcription précoce de protéine virale et induit l'expression de cadre de lecture ORF1a /b qui vont ensuite donner deux polyprotéines PP1a et le PP1ab et par un clivage protéolytique de ces polyprotéine y'aura la production de 16 protéines non structurales essentielles à la réplication (Naqvi et al., 2020). La RdRp et 15 autres protéines non structurales s'associent pour former le complexe de transcription/réplication (CTR) qui intervient dans la réplication du génome viral ARN+ en ARN- et la transcription, c'est-à-dire

Chapitre 1 Revue de littérature

le CTR copie le génome viral dans une molécule d'ARN complémentaire appelée antigénome. L'antigénome est un intermédiaire de réplication utilisé comme matrice pour la réplication de nouveaux génomes (ARN +). La réplication est discontinue et s'arrête au niveau des séquences de régulation transcriptionnelle (séquences TRS). Par conséquent, l'antigénome est un groupe d'ARN subgénomiques (sg) de différentes longueurs, qui serviront de matrice pour la synthèse d'ARNm sg (+). Ces ARNm (sg) sont nommés de 1 à 7 selon leur taille réduite. Cette caractéristique est propre à l'ordre des Nidovirales auquel appartient la famille des Coronavirus, faisant référence à l'ensemble des ARNm (sg) produits lors de l'infection (Figure 1.X) (V'kovski, 2021).

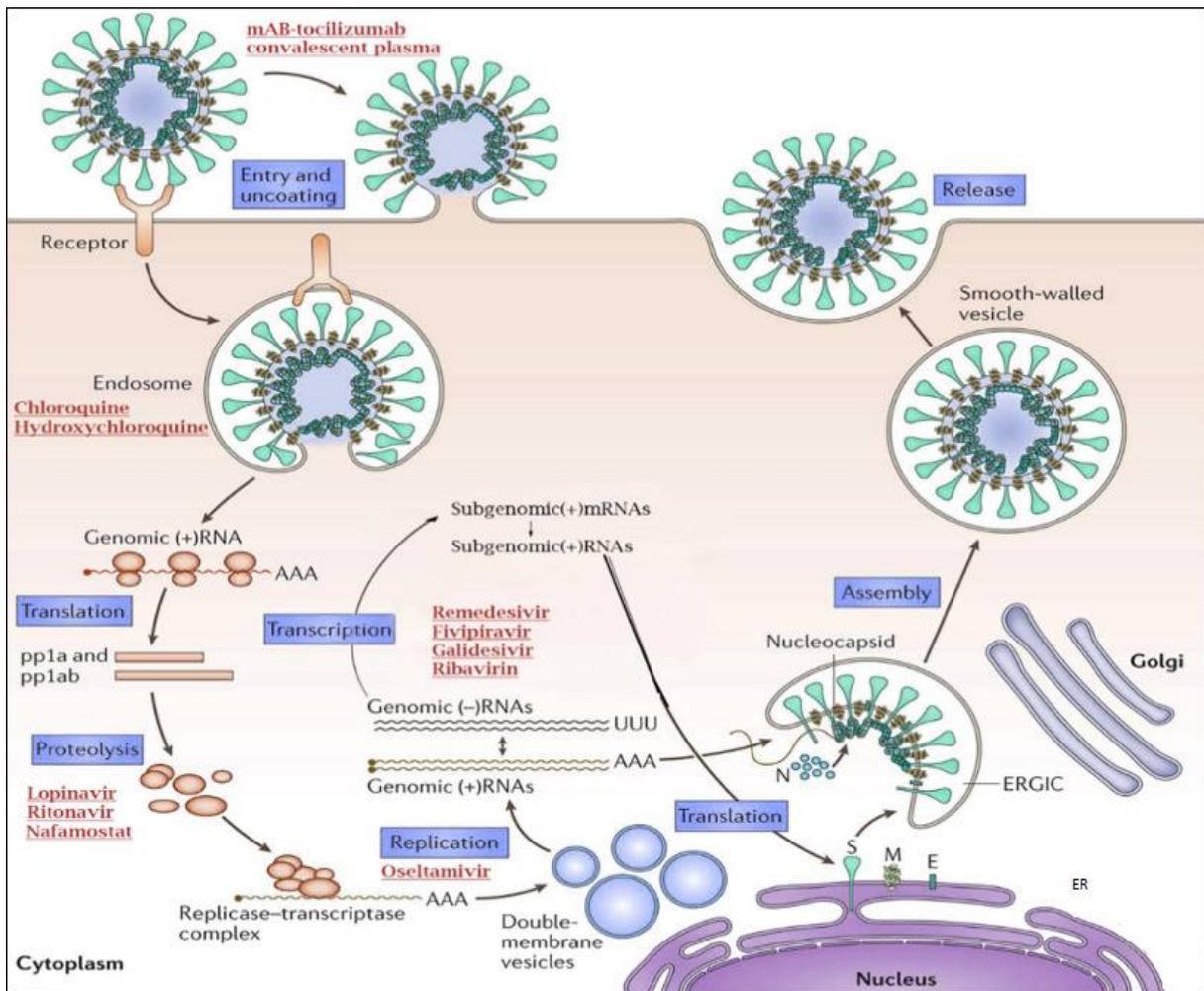


Figure 1.8. Cycle de réplication du virus SARS COV 2 chez l'homme (Naqvi et al., 2020; Zhand et al., 2020). Le cycle de vie du virus commence lorsque la protéine S se fixe à son récepteur cellulaire, l'enzyme de conversion de l'angiotensine II (ACE2). Après un changement de conformation de la protéine S, l'enveloppe virale fusionne avec la membrane cellulaire. Après endocytose, l'ARN du SRAS-CoV-2 est libéré dans le cytoplasme. L'ARN génomique, qui a un sens positif, est traduit en polyprotéines virales pp1a et 1ab. La polymérase génère une série d'ARNm subgénomiques et traduit les protéines virales correspondantes. Dans le réticulum endoplasmique (RE) et l'appareil de Golgi, les protéines virales et l'ARN du génome sont assemblés en virions et transportés par des vésicules pour être libérés hors de la cellule. ACE2 : l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2, RE : le réticulum endoplasmique.

Chapitre 1 Revue de littérature

1.2.4.3 Expression des protéines structurales et accessoires

Les ARNm (sg) sont traduits en protéines nsp et en protéines de structure. Les protéines N se lient à l'ARN + viral pour former la nucléocapside, qui est assemblée avec les protéines structurales M, S, HE et E au niveau du réticulum endoplasmique (RE), où elles subissent leur maturation (Machhi, 2020; Varghese et al., 2020).

1.2.4.4 Libération de nouveaux virus

Après l'assemblage des protéines, les virions sont dirigés vers l'appareil de Golgi où ils subissent une transformation supplémentaire par glycosylation et formation des bourgeonne sous forme des vésicules qui contiennent à l'intérieur des virus entièrement formés et l'enveloppé. Enfin, la fusion entre la membrane de la cellule hôte et la membrane de la vésicule entraîne la libération d'un nouveau virus (Machhi, 2020) .

1.2.5 Réponse immunitaire contre le SARS-CoV -2

Lors des infections virales générale, le système immunitaire inné reconnaît rapidement l'infection et induit l'expression d'IFN de type I et de molécules apparentées. Cela peut se produire dans les deux heures suivant l'infection. La réponse immunitaire innée a trois objectifs principaux : (1) restreindre la réplication du virus dans les cellules infectées, (2) créer un état antiviral dans l'environnement tissulaire local, notamment en recrutant des cellules effectrices du système immunitaire inné, dont le but de ralentir la réplication et la propagation du virus ,et (3) initier une réaction immunitaire adaptative (Sette and Crotty, 2021).

Les informations sur la nature du virus SARS-CoV-2 et les réponses immunitaires associées sont encore en train d'émerger. De nombreux aspects de la pathogenèse du virus sont encore inconnus (Geller and Yan, 2020). L'antigène du SRAS-CoV-2 est traité par des cellules présentatrices d'antigène spécifiques (APC), y compris les monocytes/macrophages. L'antigène est ensuite présenté à des lymphocytes T cytotoxiques (CTL) spécifiques *via* le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) ou l'antigène leucocytaire humain (HLA)(Zhand et al., 2020) .

Au moment d'infection avec le SRAS-CoV-2 y'aura l'expression des interférons de type I (IFN), tels que l'interféron IFN- α et l'IFN- β , qui détermine la réponse immunitaire innée (Zhand et al., 2020). De plus, l'infection des cellules épithéliales respiratoires et des cellules immunitaires conduit à la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-1, IL-6), entraînant une perméabilité capillaire excessive, attirant les cellules inflammatoires et produisant IFN 1 (Geller and Yan, 2020; Sette and Crotty, 2021; V'kovski, 2021) .

Selon les rapports, les patients atteints de COVID-19 sévère ont des niveaux élevés de cytokines circulantes, y compris les chimiokines et cytokines pro-inflammatoires (IP10, MCP-

Chapitre 1 Revue de littérature

1, MIP1a, IL-2, IL-6, IL-7, TNF α). Il existe également une étude sur les niveaux élevés d'IL-6 circulante qui sont associés au développement d'une forme sévère (Huang et al., 2020; Mehta et al., 2020).

1.3. Problématique

Le SARS-CoV-2, un coronavirus hautement contagieux et pathogène, a déclenché une pandémie de maladies respiratoires aiguës appelée « maladie à coronavirus 2019 », menaçant la santé humaine et la sécurité publique. D'un autre côté, les monocytes jouent un rôle important dans l'élimination des virus et la réorganisation des tissus en produisant divers types de cytokines et d'oxyde nitrique (NO). Dans un milieu inflammatoire le NO produit en grandes concentrations par NO-synthase inductible de type 2 (iNOS) qui intervient comme immunorégulateur.

1.3.1. Objectif

L'objectif de ce travail consiste à évaluer l'activité iNOS monocyttaire au cours de l'infection à SARS-COV-2.

1.3.2. But

Montrer que les monocytes peuvent développer une mémoire au cours de l'infection à SARS COV-2.

Chapitre 2. Matériel et méthodes

2 Matériel et méthodes

2.1. Concept de l'étude

Les expériences ont été réalisées sur des cellules mononucléées du sang périphérique (PBMC, Peripheral Blood Mononuclear Cells), des monocytes et des lysats cellulaires pendant le premier et le deuxième contact au SARS-COV-2 dans le but d'analyser l'activité de l'iNOS monocyttaire au cours de l'infection à SARS-COV-2,

2.2. Isolation des cellules mononucléées du sang périphérique

Les PBMC ont été séparés par centrifugation en gradient de densité à l'aide d'Histopaque (1,077 g ml⁻¹ ; Sigma-Aldrich, Munich, Allemagne), et cultivés dans le milieu RPMI 1640 en milieu humide à 37°C et 5% de CO₂, additionné de 2 mM de L-glutamine, 50 µg /mL de gentamicine et 10% de sérum fœtal bovin (FBS). Le test d'exclusion au bleu trypan (TBET) a été utilisé pour évaluer la viabilité cellulaire par microscopie optique (Zeiss, Allemagne) (Belhassena et al., 2020).

2.3. Isolation des monocytes

Les monocytes ont été séparés à partir des PBMC par la méthode d'adhésion en plastique. Après incubation des PBMCs pendant 2h à 37 °C et 5 CO₂, les cellules non adhérentes ont été éliminées et les monocytes ont été lavés deux fois avec du PBS. Ensuite, les monocytes ont été stimulés avec le virus inactivés à deux contacts (deuxième contact est réalisé après 24h du premier contact).

2.3. Détermination de l'activité de l'iNOS

2.3.1. Dosage de Monoxyde d'azote

La production cellulaire de NO est déterminée par les métabolites stables (nitrite [NO₂-] et nitrate [NO₃-], NO_x) accumulés dans le surnageant de culture cellulaire par la méthode de Griess (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA) ; Tout d'abord deprotéiniser le surnageant par l'ajout de 99µL de TCA (5%) à 11µL de surnageant et y'aura formation d'une masse blanchâtre puis centrifuger à (1000 xg /10min). Ensuite, dans un tube eppendorf, 100µL de surnageant récupérer de l'étape précédente a été ajouté à 100µL de Vanadium III chloride (8mg/mL) et 50µL du réactif de 'Griess'. Après incubation à 37° durant 30 minutes, la densité optique à une longueur d'onde de 540 nm a été lue et les concentrations de NO_x dans les surnageant ont été déterminées à partir d'une courbe d'étalonnage établi par 0-150 µmol/L de Nitrate Sodique NaNO₃ (Meziane et al., 2019).

Chapitre 2. Matériel et méthodes

2.3.2. Dosage des protéines totales

La teneur en protéines cellulaires a été mesurée dans le lysat cellulaire à l'aide d'un kit commercial (Thermo Fisher Scientific Inc.,Middletown, États-Unis) (Belhassena et al., 2020).

2.3.1. Evaluation d'activité iNOS monocytaire

Une unité de iNOS est définie comme la quantité d'enzyme nécessaire pour produire 1 μmol d'oxyde nitrique/minute à 37°C dans les conditions de dosage. Elle a été exprimée en mU/mg de protéines/minute.

Chapitre 3. Résultats

Résultats

Chapitre 4 Discussion

Discussion

Chapitre 5 Conclusion et perspectives

Chapitre 5. Conclusions et perspectives

La pandémie de COVID-19 est considérée comme la crise sanitaire mondiale la plus grave depuis la grippe espagnole de 1918 et probablement la crise mondiale la plus importante depuis la fin de la Seconde Guerre mondiale. Cette situation sanitaire qui est très difficile impose une mobilisation rapide non seulement des autorités sanitaires et de la communauté médicale, mais aussi de toute la force de la communauté des chercheurs est nécessaire pour identifier les meilleures méthodes pour diagnostic, prévention et traitement des patients.

Les monocytes sont les cellules de l'immunité innée qui jouent un rôle crucial dans la lutte contre les infections, notamment contre ce nouveau virus. Il a été récemment décrit que ces cellules peuvent acquérir un type de mémoire immunitaire par reprogrammation épigénétique.

L'objectif de ce travail consiste à évaluer l'activité iNOS monocyttaire au cours de l'infection à SARS COV2.

D'après les recherches menées et le dosage de iNOS monocyttaire, nous pouvons déduire que les monocytes peuvent produire une mémoire immunitaire qui pourrait aider à réduire la propagation de l'infection par le SRAS-COV-2.

Chapitre 6. Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Ahn, D.-G., Shin, H.-J., Kim, M.-H., Lee, S., Kim, H.-S., Myoung, J., Kim, B.-T., Kim, S.-J., 2020. Current Status of Epidemiology, Diagnosis, Therapeutics, and Vaccines for Novel Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *J. Microbiol. Biotechnol.* 30, 313–324. <https://doi.org/10.4014/jmb.2003.03011>
- Belhassena, I., Nouari, W., Messaoud, A., Nouar, M., Brahimi, M., Lamara, S.-A.C., Aribi, M., 2020. Aspirin enhances regulatory functional activities of monocytes and downregulates CD16 and CD40 expression in myocardial infarction autoinflammatory disease. *Int. Immunopharmacol.* 83, 106349. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.106349>
- Chan, J.F.-W., Kok, K.-H., Zhu, Z., Chu, H., To, K.K.-W., Yuan, S., Yuen, K.-Y., 2020. Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan. *Emerg. Microbes Infect.* 9, 221–236. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1719902>
- Chen, Y., Liu, Q., Guo, D., 2020. Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. *J. Med. Virol.* 92, 418–423. <https://doi.org/10.1002/jmv.25681>
- Dale, D.C., Boxer, L., Liles, W.C., 2008. The phagocytes: neutrophils and monocytes. *Blood* 112, 935–945. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-12-077917>
- Das, A., Sinha, M., Datta, S., Abas, M., Chaffee, S., Sen, C.K., Roy, S., 2015. Monocyte and macrophage plasticity in tissue repair and regeneration. *Am. J. Pathol.* 185, 2596–2606. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2015.06.001>
- Dhama, K., Khan, S., Tiwari, R., Sircar, S., Bhat, S., Malik, Y.S., Singh, K.P., Chaicumpa, W., Bonilla-Aldana, D.K., Rodriguez-Morales, A.J., 2020. Coronavirus Disease 2019-COVID-19. *Clin. Microbiol. Rev.* 33. <https://doi.org/10.1128/CMR.00028-20>
- Dijkstra, G., Zandvoort, A.J.H., Kobold, A.C.M., Jager-Krikken, A. de, Heeringa, P., Goor, H. van, Dullemen, H.M. van, Tervaert, J.W.C., Loosdrecht, A. van de, Moshage, H., Jansen, P.L.M., 2002. Increased Expression of Inducible Nitric Oxide Synthase in Circulating Monocytes from Patients with Active Inflammatory Bowel Disease. *Scand. J. Gastroenterol.* 37, 546–554. <https://doi.org/10.1080/00365520252903099>
- Dugas, B., Mossalayi, M.D., Damais, C., Kolb, J.-P., 1995. Nitric oxide production by human monocytes: evidence for a role of CD23. *Immunol. Today* 16, 574–580. [https://doi.org/10.1016/0167-5699\(95\)80080-8](https://doi.org/10.1016/0167-5699(95)80080-8)
- França, C.N., Izar, M.C.O., Hortêncio, M.N.S., do Amaral, J.B., Ferreira, C.E.S., Tuleta, I.D., Fonseca, F.A.H., 2017. Monocyte subtypes and the CCR2 chemokine receptor in cardiovascular disease. *Clin. Sci. Lond. Engl.* 1979 131, 1215–1224. <https://doi.org/10.1042/CS20170009>
- Fu, H., Alabdullah, M., Großmann, J., Spieler, F., Abdosh, R., Lutz, V., Kalies, K., Knöpp, K., Rieckmann, M., Koch, S., Noutsias, M., Pilowski, C., Dutzmann, J., Sedding, D., Hüttelmaier, S., Umezawa, K., Werdan, K., Loppnow, H., 2019. The differential statin effect on cytokine production of monocytes or macrophages is mediated by differential geranylgeranylation-dependent Rac1 activation. *Cell Death Dis.* 10, 880. <https://doi.org/10.1038/s41419-019-2109-9>
- Geissmann, F., Manz, M.G., Jung, S., Sieweke, M.H., Merad, M., Ley, K., 2010. Development of monocytes, macrophages, and dendritic cells. *Science* 327, 656–661. <https://doi.org/10.1126/science.1178331>

Chapitre 6. Références bibliographiques

Geller, A., Yan, J., 2020. Could the Induction of Trained Immunity by β -Glucan Serve as a Defense Against COVID-19? *Front. Immunol.* 11, 1782. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01782>

Ginhoux, F., Jung, S., 2014. Monocytes and macrophages: developmental pathways and tissue homeostasis. *Nat. Rev. Immunol.* 14, 392–404. <https://doi.org/10.1038/nri3671>

Hato, T., Dagher, P.C., 2015. How the Innate Immune System Senses Trouble and Causes Trouble. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 10, 1459–1469. <https://doi.org/10.2215/CJN.04680514>

Hoffmann, H.-H., Schneider, W.M., Rice, C.M., 2015. Interferons and viruses: an evolutionary arms race of molecular interactions. *Trends Immunol.* 36, 124–138. <https://doi.org/10.1016/j.it.2015.01.004>

Hu, B., Guo, H., Zhou, P., Shi, Z.-L., 2021. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nat. Rev. Microbiol.* 19, 141–154. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00459-7>

Huang, C., Wang, Y., Li, X., Ren, L., Zhao, J., Hu, Y., Zhang, L., Fan, G., Xu, J., Gu, X., Cheng, Z., Yu, T., Xia, J., Wei, Y., Wu, W., Xie, X., Yin, W., Li, H., Liu, M., Xiao, Y., Gao, H., Guo, L., Xie, J., Wang, G., Jiang, R., Gao, Z., Jin, Q., Wang, J., Cao, B., 2020. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet* 395, 497–506. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5)

Hubbard, J., Phiri, K., Moucheraud, C., McBride, K., Bardoni, A., Balakasi, K., Lungu, E., Dovel, K., Kakwesa, G., Hoffman, R.M., 2020. A Qualitative Assessment of Provider and Client Experiences With 3- and 6-Month Dispensing Intervals of Antiretroviral Therapy in Malawi. *Glob. Health Sci. Pract.* 8, 18–27. <https://doi.org/10.9745/GHSP-D-19-00286>

Italiani, P., Boraschi, D., 2014. From Monocytes to M1/M2 Macrophages: Phenotypical vs. Functional Differentiation. *Front. Immunol.* 5, 514. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00514>

Jafarzadeh, A., Chauhan, P., Saha, B., Jafarzadeh, S., Nemati, M., 2020. Contribution of monocytes and macrophages to the local tissue inflammation and cytokine storm in COVID-19: Lessons from SARS and MERS, and potential therapeutic interventions. *Life Sci.* 257, 118102. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118102>

Jamai Amir, I., Lebar, Z., yahyaoui, G., Mahmoud, M., 2020. Covid-19 : virologie, épidémiologie et diagnostic biologique. *Option/Bio* 31, 15–20. [https://doi.org/10.1016/S0992-5945\(20\)30178-1](https://doi.org/10.1016/S0992-5945(20)30178-1)

Kratofil, R.M., Kubes, P., Deniset, J.F., 2017a. Monocyte Conversion During Inflammation and Injury. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 37, 35–42. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.116.308198>

Kratofil, R.M., Kubes, P., Deniset, J.F., 2017b. Monocyte Conversion During Inflammation and Injury. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 37, 35–42. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.116.308198>

Kuby, J., Goldsby, R.A., Kindt, T.J., Osborne, B.A., 2003. *Immunologie: le cours de Janis Kuby*. Dunod, Paris.

Lauvau, G., Chorro, L., Spaulding, E., Soudja, S.M., 2014. Inflammatory monocyte effector mechanisms. *Cell. Immunol.* 291, 32–40. <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2014.07.007>

Lefeuvre, C., Przyrowski, É., Apaire-Marchais, V., 2020. [Virological aspects and diagnosis of SARS-CoV-2 coronavirus]. *Actual. Pharm.* 59, 18–23. <https://doi.org/10.1016/j.actpha.2020.08.005>

Machhi, J., 2020. The Natural History, Pathobiology, and Clinical Manifestations of SARS-CoV-2 Infections 28.

Chapitre 6. Références bibliographiques

- Mehta, P., McAuley, D.F., Brown, M., Sanchez, E., Tattersall, R.S., Manson, J.J., 2020. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *The Lancet* 395, 1033–1034. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30628-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30628-0)
- Meziane, W., Mekkaoui, Z., Hai, I., Kacimi, K., Djilali, K., Touil-Boukoffa, C., Lefranc, G., Fernandez, A., Lamb, N., Mennechet, F., Aribi, M., 2019. Combination of metformin with sodium selenite induces a functional phenotypic switch of human GM-CSF monocyte-derived macrophages. *Int. Immunopharmacol.* 73, 212–224. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2019.05.004>
- Mitchell, A.J., Roediger, B., Weninger, W., 2014. Monocyte homeostasis and the plasticity of inflammatory monocytes. *Cell. Immunol.* 291, 22–31. <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2014.05.010>
- Mourah, F., 2019. Caractérisation phénotypique et fonctionnelle des sous-populations de monocytes dans les réponses immunitaires 239.
- Naqvi, A.A.T., Fatima, K., Mohammad, T., Fatima, U., Singh, I.K., Singh, A., Atif, S.M., Hariprasad, G., Hasan, G.M., Hassan, M.I., 2020. Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: Structural genomics approach. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis.* 1866, 165878. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2020.165878>
- Netea, M.G., Giamarellos-Bourboulis, E.J., Domínguez-Andrés, J., Curtis, N., van Crevel, R., van de Veerdonk, F.L., Bonten, M., 2020. Trained Immunity: a Tool for Reducing Susceptibility to and the Severity of SARS-CoV-2 Infection. *Cell* 181, 969–977. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.04.042>
- Nikitina, E., Larionova, I., Choinzonov, E., Kzhyshkowska, J., 2018. Monocytes and Macrophages as Viral Targets and Reservoirs. *Int. J. Mol. Sci.* 19. <https://doi.org/10.3390/ijms19092821>
- Pijls, B.G., Jolani, S., Atherley, A., Derckx, R.T., Dijkstra, J.I.R., Franssen, G.H.L., Hendriks, S., Richters, A., Venemans-Jellema, A., Zalpuri, S., Zeegers, M.P., 2021. Demographic risk factors for COVID-19 infection, severity, ICU admission and death: a meta-analysis of 59 studies. *BMJ Open* 11, e044640. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2020-044640>
- Plaçais, L., Richier, Q., 2020. [COVID-19: Clinical, biological and radiological characteristics in adults, infants and pregnant women. An up-to-date review at the heart of the pandemic]. *Rev. Med. Interne* 41, 308–318. <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2020.04.004>
- Prinyakupt, J., Pluempitiwiriwawej, C., 2015. Segmentation of white blood cells and comparison of cell morphology by linear and naïve Bayes classifiers. *Biomed. Eng. OnLine* 14, 63. <https://doi.org/10.1186/s12938-015-0037-1>
- Radzun, H.-J., 2015. Historie und Perspektive des Monozyten-/Makrophagensystems. *Pathol.* 36, 432–442. <https://doi.org/10.1007/s00292-015-0050-y>
- Saeed, S., Quintin, J., Kerstens, H.H.D., Rao, N.A., Aghajani-refah, A., Matarese, F., Cheng, S.-C., Ratter, J., Berentsen, K., van der Ent, M.A., Sharifi, N., Janssen-Megens, E.M., Ter Huurne, M., Mandoli, A., van Schaik, T., Ng, A., Burden, F., Downes, K., Frontini, M., Kumar, V., Giamarellos-Bourboulis, E.J., Ouwehand, W.H., van der Meer, J.W.M., Joosten, L.A.B., Wijmenga, C., Martens, J.H.A., Xavier, R.J., Logie, C., Netea, M.G., Stunnenberg, H.G., 2014. Epigenetic programming of monocyte-to-macrophage differentiation and trained innate immunity. *Science* 345, 1251086. <https://doi.org/10.1126/science.1251086>

Chapitre 6. Références bibliographiques

- Salzberger, B., Buder, F., Lampl, B., Ehrenstein, B., Hitzentbichler, F., Hanses, F., 2020. Epidemiology of SARS-CoV-2 infection and COVID-19. *Internist* 61, 782–788. <https://doi.org/10.1007/s00108-020-00834-9>
- Sette, A., Crotty, S., 2021. Adaptive immunity to SARS-CoV-2 and COVID-19. *Cell* 184, 861–880. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.01.007>
- Sprangers, S., de Vries, T.J., Everts, V., 2016. Monocyte Heterogeneity: Consequences for Monocyte-Derived Immune Cells. *J. Immunol. Res.* 2016, 1475435. <https://doi.org/10.1155/2016/1475435>
- Teijaro, J.R., 2016. Type I interferons in viral control and immune regulation. *Curr. Opin. Virol.* 16, 31–40. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2016.01.001>
- Terry, R.L., Miller, S.D., 2014. Molecular control of monocyte development. *Cell. Immunol.* 291, 16–21. <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2014.02.008>
- Thomassen, M.J., Buhrow, L.T., Connors, M.J., Kaneko, F.T., Erzurum, S.C., Kavuru, M.S., 1997. Nitric oxide inhibits inflammatory cytokine production by human alveolar macrophages. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 17, 279–283. <https://doi.org/10.1165/ajrcmb.17.3.2998m>
- Turner, J.D., Bourke, C.D., Meurs, L., Mbow, M., Dièye, T.N., Mboup, S., Polman, K., Mountford, A.P., 2014. Circulating CD14^{bright}CD16⁺ ‘Intermediate’ Monocytes Exhibit Enhanced Parasite Pattern Recognition in Human Helminth Infection. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 8, e2817. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002817>
- Vabret, A., Dina, J., Brison, E., Brouard, J., Freymuth, F., 2009. Coronavirus humains (HCoV). *Pathol. Biol.* 57, 149–160. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2008.02.018>
- van Doremalen, N., Bushmaker, T., Morris, D.H., Holbrook, M.G., Gamble, A., Williamson, B.N., Tamin, A., Harcourt, J.L., Thornburg, N.J., Gerber, S.I., Lloyd-Smith, J.O., de Wit, E., Munster, V.J., 2020. Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. *N. Engl. J. Med.* 382, 1564–1567. <https://doi.org/10.1056/NEJMc2004973>
- van Splunter, M., van Osch, T., Brugman, S., Savelkoul, H., Joosten, L., Netea, M., van Neerven, R., 2018. Induction of Trained Innate Immunity in Human Monocytes by Bovine Milk and Milk-Derived Immunoglobulin G. *Nutrients* 10, 1378. <https://doi.org/10.3390/nu10101378>
- Varghese, P.M., Tsolaki, A.G., Yasmin, H., Shastri, A., Ferluga, J., Vatish, M., Madan, T., Kishore, U., 2020. Host-pathogen interaction in COVID-19: Pathogenesis, potential therapeutics and vaccination strategies. *Immunobiology* 225, 152008. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2020.152008>
- Verity, R., Okell, L.C., Dorigatti, I., Winskill, P., Whittaker, C., Imai, N., Cuomo-Dannenburg, G., Thompson, H., Walker, P.G.T., Fu, H., Dighe, A., Griffin, J.T., Baguelin, M., Bhatia, S., Boonyasiri, A., Cori, A., Cucunubá, Z., FitzJohn, R., Gaythorpe, K., Green, W., Hamlet, A., Hinsley, W., Laydon, D., Nedjati-Gilani, G., Riley, S., van Elsland, S., Volz, E., Wang, H., Wang, Y., Xi, X., Donnelly, C.A., Ghani, A.C., Ferguson, N.M., 2020. Estimates of the severity of coronavirus disease 2019: a model-based analysis. *Lancet Infect. Dis.* 20, 669–677. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30243-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30243-7)
- V’kovski, P., 2021. Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2 16.
- Wacleche, V., Tremblay, C., Routy, J.-P., Ancuta, P., 2018. The Biology of Monocytes and Dendritic Cells: Contribution to HIV Pathogenesis. *Viruses* 10, 65. <https://doi.org/10.3390/v10020065>

Chapitre 6. Références bibliographiques

Walls, A.C., Park, Y.-J., Tortorici, M.A., Wall, A., McGuire, A.T., Velesler, D., 2020. Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. *Cell* 181, 281-292.e6.

<https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.058>

Weinberg, J., Misukonis, M., Shami, P., Mason, S., Sauls, D., Dittman, W., Wood, E., Smith, G., McDonald, B., Bachus, K., 1995. Human mononuclear phagocyte inducible nitric oxide synthase (iNOS): analysis of iNOS mRNA, iNOS protein, biopterin, and nitric oxide production by blood monocytes and peritoneal macrophages. *Blood* 86, 1184–1195.

<https://doi.org/10.1182/blood.V86.3.1184.1184>

WHO 2021, n.d.

Wong, K.L., Tai, J.J.-Y., Wong, W.-C., Han, H., Sem, X., Yeap, W.-H., Kourilsky, P., Wong, S.-C., 2011. Gene expression profiling reveals the defining features of the classical, intermediate, and nonclassical human monocyte subsets. *Blood* 118, e16–e31. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-12-326355>

Wong, M.E., Jaworowski, A., Hearps, A.C., 2019. The HIV Reservoir in Monocytes and Macrophages. *Front. Immunol.* 10, 1435. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01435>

Yáñez, A., Coetzee, S.G., Olsson, A., Muench, D.E., Berman, B.P., Hazelett, D.J., Salomonis, N., Grimes, H.L., Goodridge, H.S., 2017. Granulocyte-Monocyte Progenitors and Monocyte-Dendritic Cell Progenitors Independently Produce Functionally Distinct Monocytes. *Immunity* 47, 890-902.e4.

<https://doi.org/10.1016/j.immuni.2017.10.021>

Yang, J., Zhang, L., Yu, C., Yang, X.-F., Wang, H., 2014. Monocyte and macrophage differentiation: circulation inflammatory monocyte as biomarker for inflammatory diseases. *Biomark. Res.* 2, 1.

<https://doi.org/10.1186/2050-7771-2-1>

Yoshimoto, F.K., 2020. The Proteins of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS CoV-2 or n-COV19), the Cause of COVID-19. *Protein J.* 39, 198–216. <https://doi.org/10.1007/s10930-020-09901-4>

Zhand, S., Saghaeian Jazi, M., Mohammadi, S., Tarighati Rasekhi, R., Rostamian, G., Kalani, M.R., Rostamian, A., George, J., Douglas, M.W., 2020. COVID-19: The Immune Responses and Clinical Therapy Candidates. *Int. J. Mol. Sci.* 21, E5559. <https://doi.org/10.3390/ijms21155559>

Zhu, N., Zhang, D., Wang, W., Li, X., Yang, B., Song, J., Zhao, X., Huang, B., Shi, W., Lu, R., Niu, P., Zhan, F., Ma, X., Wang, D., Xu, W., Wu, G., Gao, G.F., Tan, W., China Novel Coronavirus Investigating and Research Team, 2020. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N. Engl. J. Med.* 382, 727–733. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001017>

Ziegler-Heitbrock, L., 2015. Blood Monocytes and Their Subsets: Established Features and Open Questions. *Front. Immunol.* 6, 423. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00423>

Zimmermann, H.W., Trautwein, C., Tacke, F., 2012. Functional role of monocytes and macrophages for the inflammatory response in acute liver injury. *Front. Physiol.* 3, 56.

<https://doi.org/10.3389/fphys.2012.00056>

Résumé

Introduction : Le système immunitaire assure une protection endogène contre les agents infectieux grâce à deux types de réponse immunitaire, innée et adaptative. Parmi les éléments de la réponse immunitaire innée, les monocytes jouent un rôle important dans la réponse inflammatoire et aussi la résolution de l'inflammation en sécrétant plusieurs médiateurs inflammatoires tels que les cytokines et le monoxyde d'azote (NO). Ce dernier est produit après la conversion de la L-arginine sous l'effet de l'enzyme monoxyde d'azote synthase inductible. D'autre part, ces cellules ont été récemment connues par leur capacité à acquérir une mémoire immunologique chez des souris dépourvues de lymphocytes. Dans ces deux dernières années, la pandémie à sars-cov2 a induit une crise sanitaire mondiale avec des millions de décès.

Objectif : L'objectif de ce travail consiste à évaluer l'activité de l'iNOS monocyttaire au cours de l'infection à SARS-COV-2.

Matériels et méthodes : Les monocytes ont été isolés à partir de cellules mononucléées du sang périphérique (PBMCs) des donneurs sains. Ces cellules ont été stimulées par le virus SARS-COV-2 pendant 24h, puis une deuxième fois pendant 24 après le premier contact. L'activité de l'iNOS a été évaluée au niveau des lysats des monocytes

Conclusion : Les monocytes peuvent produire une mémoire immunitaire qui pourrait aider à réduire la propagation de l'infection par le SRAS-COV-2.

Mots clés : Monocyte, Sars-cov2, iNOS.

Abstract

Introduction: The immune system provides endogenous protection against infectious agents through two types of immune response, innate and adaptive. Among the elements of the innate immune response, monocytes play an important role in the inflammatory response and also the resolution of inflammation by secreting several inflammatory mediators such as cytokines and nitric oxide (NO). The latter is produced after the conversion of L-arginine under the effect of the inducible nitric oxide synthase enzyme. On the other hand, these cells have recently been known for their ability to acquire immunological memory in mice lacking lymphocytes. In the past two years, the sars-cov2 pandemic has triggered a global health crisis with millions of deaths.

Objective: The objective of this work is to evaluate the activity of the monocytic iNOS during SARS-COV-2 infection.

Materials and methods: The monocytes were isolated from peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) of healthy donors. These cells were stimulated by the SARS-COV-2 virus for 24 hours, then a second time for 24 after the first contact. The activity of iNOS was assessed in monocyte lysates

Conclusion: Monocytes can produce immune memory that could help reduce the spread of SARS-COV-2 infection.

Keywords: Monocyte, Sars-cov2, iNOS.

ملخص

مقدمة: يوفر الجهاز المناعي حماية ذاتية ضد العوامل المعدية من خلال نوعين من الاستجابة المناعية، الفطرية والتكيفية. من بين عناصر الاستجابة المناعية الفطرية، تلعب الخلايا الوحيدة دورًا مهمًا في الاستجابة الالتهابية وأيضًا في حل الالتهاب عن طريق إفراز العديد من الوسائط الالتهابية مثل السيتوكينات وأكسيد النيتريك (NO). يتم إنتاج الأخير بعد تحويل L-arginine تحت تأثير إنزيم سينثاز أكسيد النيتريك المحرض. من ناحية أخرى، عُرفت هذه الخلايا مؤخرًا بقدرتها على اكتساب ذاكرة مناعية في الفئران التي تفتقر إلى الخلايا الليمفاوية. في العامين الماضيين، تسبب جائحة sars-cov2 في أزمة صحية عالمية أدت إلى وفاة الملايين.

الهدف: الهدف من هذا العمل هو تقييم نشاط iNOS أحادي الخلية أثناء عدوى SARS-COV-2.

المواد والطرق: تم عزل وحيدات من خلايا الدم المحيطية وحيدة النواة (PBMCs) للمتبرعين الأصحاء. تم تحفيز هذه الخلايا بواسطة فيروس SARS-COV-2 لمدة 24 ساعة، ثم مرة ثانية لمدة 24 بعد الاتصال الأول. تم تقييم نشاط iNOS في lysates وحيدات

الخلاصة: يمكن أن تنتج الخلايا الوحيدة ذاكرة مناعية يمكن أن تساعد في الحد من انتشار عدوى SARS-COV-2

الكلمات المفتاحية: Monocyte، Sars-cov2، iNOS.