

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE de TLEMCCEN



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

Département de Biologie

Laboratoire de chimie analytique et électrochimie

MEMOIRE

Présenté par

NEHARI Saoussen Sakina

SEMMOUD Linda Sarrah

En vue de l'obtention du

Diplôme de Master

En

« **Biologie Moléculaire et Cellulaire** »

Thème

Evaluation du déséquilibre cuivre/zinc dans les troubles du spectre de l'autisme

Soutenu le : /06/2022, devant le jury composé de :

Président : Harek Y	Professeur	Université de Tlemcen
Examinatrice : Dali M	Professeur	Université de Tlemcen
Encadrant : Medjati N	Professeur	Université de Tlemcen

Année universitaire : 2021/2022

Résumé

Résumé

Le trouble du spectre autistique (TSA) est une affection neuro- développementale caractérisé par des déficits persistants dans la communication/interaction sociale et des comportements restreints et répétitifs. Les éléments traces tels que le zinc et le cuivre sont nécessaires au bon fonctionnement du système nerveux, et leurs déséquilibres peuvent contribuer à la pathogenèse ou/à l'exacerbation de TSA.

Nous avons effectué une étude cas témoins analytique et descriptive d'une population autistique de Tlemcen. L'échantillon total comprend 20 enfants, 10 cas et 10 enfants au développement typique (DT). Les dosages ont été réalisés dans le laboratoire de chimie analytique et d'électrochimie de l'université de Tlemcen.

Les principaux paramètres étudiés sont : âge, sexe, IMC, hyperactivité, troubles du sommeil, diarrhée et constipation fréquente, sélectivité alimentaire âge de diagnostic, antécédents familiaux autistiques, consanguinité, âge des parents à la conception ainsi que le ratio Cu/Zn.

Nos résultats montrent l'existence de différences significatives concernant, la consanguinité qui est plus élevée chez les sujets atteints de l'autisme, les antécédents familiaux de TSA, les troubles du sommeil, de l'hyper activité, diarrhée et constipation fréquente ainsi que la sélectivité alimentaire.

La concentration plasmatique du zinc est significativement plus élevée chez les TSA par rapport aux DT ($1,20 \pm 0,07$). Le ratio Cu/Zn chez les TSA est de 0,95 et de 1.42 chez DT ($p > 0,05$).

Mots clés : Trouble du spectre autistique, ratio Cu/Zn, développement typique, Tlemcen.

Abstract

Autism Spectrum Disorder (ASD) is a neurodevelopmental condition characterized by persistent deficits in communication/social interaction and restricted and repetitive behaviors. Trace elements such as zinc and copper are necessary for proper functioning of the nervous system, and their imbalances may contribute to the pathogenesis and/or exacerbation of ASD. We conducted an analytical and descriptive case control study of an autistic population in Tlemcen. The total sample included 20 children, 10 cases and 10 typically developing (TD) children. The assays were performed in the laboratory of analytical chemistry and electrochemistry of the University of Tlemcen.

The main parameters studied were: age, sex, BMI, hyperactivity, sleep disorders, frequent diarrhea and constipation, food selectivity, age of diagnosis, autistic family history, consanguinity, age of parents at conception as well as the Cu/Zn ratio.

Our results show the existence of significant differences concerning, consanguinity which is higher in subjects with autism, family history of ASD, sleep disorders, hyperactivity, diarrhea and frequent constipation as well as food selectivity.

Plasma zinc concentration was significantly higher in ASD than in TD (1.20 ± 0.07). The Cu/Zn ratio in ASD was 0.95 and 1.42 in TD ($p > 0.05$).

Key words: Autism spectrum disorder, Cu/Zn ratio, typical development, Tlemcen

ملخص

اضطراب طيف التوحد هو اضطراب في النمو العصبي، يتميز بعجز مستمر في التواصل و التعامل الاجتماعي وسلوكيات مقيدة و متكررة. تعتبر العناصر النزرة الزنك والنحاس ضرورية للأداء السليم للجهاز العصبي، و يتسبب عدم توازنها الى تفاقم التوحد.

لدينا دراسة مقارنة حالات و شواهد في مجتمع التوحد تتضمن العينة الاجمالية 20 طفل: 10 حالات و 10 شواهد. تم اجراء القياسات في مختبر الكيمياء التحليلية بجامعة تلمسان

مختلف العوامل التي تطرقنا لها هي: السن، الجنس، مؤشر كتلة الجسم، فرط النشاط، اضطرابات النوم، الاسهال و الامساك المتكرر، الانتقائية الغذائية، متوسط مدة الاضطراب، زواج الاقارب، سن الاباء في فترة الحمل، نسبة النحاس و الزنك.

اوضحت نتائجنا فروق ذات دلالة احصائية فيما يتعلق: زواج الاقارب حيث اننا وجدناه مرتفع عند الاشخاص المصابين بالتوحد، اضافة الى اضطرابات النوم، فرط النشاط، الاسهال و الامساك المتكرر، الانتقائية الغذائية

كما لاحظنا ان تركيز الزنك في البلازما اعلى بشكل ملحوظ عند الاطفال اللذين يعانون من اضطرابات طيف التوحد، مقارنة بالشواهد (1,20+0,07). نسبة النحاس و الزنك عندا لمرضى قدر ب0,95 و 1,42 للشواهد

كلمات مفتاحية: اضطرابات طيف التوحد، نسبة النحاس و الزنك، تطور نموذجي، تلمسان

Remerciements

En préambule à ce mémoire nous remerciant **ALLAH** qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail, et le courage durant ces longues années.

Nous adressons toute notre reconnaissance à notre encadrant Madame **DENNOUNI-MEDJATI Nouria**, professeur au département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université de Tlemcen, pour la proposition de ce sujet, pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils qui ont contribué à alimenter notre réflexion.

Nous tenons à remercier **Mme DALI M**, professeur à l'Université de Tlemcen, et chef de département, pour avoir accepté de participer à ce jury en tant qu'examinatrice

Par ailleurs, nous tenons à remercier également **Monsieur Harek Y**, professeur de l'université de Tlemcen pour nous avoir accueillis dans le laboratoire de chimie analytique et d'électrochimie, ainsi que pour la réalisation de la partie pratique

On adresse nos sincères remerciements spécialement à Madame **AMRAOUI Nawel** doctorante au département de biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la vie, et des Sciences de la terre et de l'Univers, Université de Tlemcen pour sa gentillesse habituelle, sa disponibilité, pour ses conseils et pour le temps qu'il nous a consacré.

Dédicace

Au nom de Dieu, Clément, Miséricordieux On dédie ce modeste travail à nos parents, aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour dont ils ne cessent de nous combler, que dieu leur procure bonne santé et longue vie A nos frères et nos sœurs qui n'ont cessé d'être pour nous des exemples de persévérance, de courage et de générosité. A tout la famille **NEHARI ET SEMMOUD**. A tous les étudiants de notre promotion et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible.

Liste des figures

Figure 01 : Histogramme des fréquences de sexe pour les cas et les témoins.

Figure 02 : Histogramme de l'IMC pour les sujets atteints des TSA et les témoins.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Programme de minéralisation du plasma par le four microonde.

Tableau 2 : Caractéristiques anthropométriques et sociodémographiques.

Tableau 3 : L'hyperactivité chez les cas et les témoins.

Tableau 4 : Les troubles de sommeil chez les cas et les témoins.

Tableau 5 : Sélectivité alimentaire chez les cas et les témoins.

Tableau 6 : La diarrhée chez les sujets et les témoins.

Tableau 7 : La constipation chez les sujets et les témoins.

Tableau 8 : Caractéristiques médicales de la population.

Tableau 9 : La consanguinité chez les cas et les témoins.

Tableau 10 : Les antécédents familiaux autistiques.

Tableau 11 : L'âge de la maman à la conception chez les cas et les témoins.

Tableau 12 : L'âge des pères à la conception chez les cas et les témoins.

Tableau 13 : Le taux du zinc chez les cas et les DT.

Tableau 14 : Le taux du cuivre chez les cas et les DT.

Tableau 15 : Le ratio Cu/Zn chez les patients et les DT.

Liste des abréviations

ARN	Acide Ribonucléique
ADN	Acide Désoxyribonucléique
Cu	Cuivre
DT	Développement typique
Fe	Fer
IMC	Indic de la masse corporelle
SOD	Superoxyde Dismutase
TSA	Trouble Du Spectre Autistique
Zn	Zinc

Table de matières

Résumé.....	I
Remerciement.....	II
Dédicace.....	III
Liste des figures.....	IV
Liste des tableaux.....	V
Liste d'abréviation.....	VI
Introduction.....	1
Matériel et méthodes.....	10
Résultats	et
Interprétation.....	14
Discussion.....	22
Conclusion.....	25
Références.....	27

Introduction

Introduction

Le cuivre (Cu) et le zinc (Zn) sont des oligo-éléments indispensables au métabolisme des êtres vivants. Ils sont présents à l'état de trace dans l'organisme d'où l'appellation « élément-trace ». Comme tout oligo-élément, notre corps ne peut pas les fabriquer, ils seront donc apportés par l'alimentation (**Fanni *et al.*,2021**).

Après le fer (Fe) et le zinc, le cuivre est le troisième élément trace le plus abondant du corps humain. C'est un métal essentiel qui sert de cofacteur pour de nombreuses enzymes et métalloprotéines de structure (**Grubman *et al.*, 2016 ; Bendada et Boulakradeche.,2011**).

Dans les systèmes biologiques, le Cu est principalement retrouvé sous deux états redox, Cu^+ et Cu^{2+} , lui conférant des propriétés attractives pour les cellules (**Myint *et al.*, 2018**).

Par ailleurs. Le Cu intervient dans de nombreuses fonctions physiologiques : synthèse de l'hémoglobine, en tant que neurotransmetteur, pour l'oxydation du Fe, croissance du fœtus et du nouveau-né, la respiration cellulaire, ainsi que dans la formation de pigments et de tissus conjonctifs. (**Grzeszczak *et al.*,2020 ; Myint *et al.*,2018**).

Au niveau de système nerveux, le Cu est impliqué dans nombreux processus, en modulant l'activité synaptique ce qui est important pour diverses fonctions neuronales (**Gromadzka *et al.*, 2020**).

Bien que le Cu soit un métal essentiel, il peut également être toxique et par conséquent, la quantité de Cu dans le corps est étroitement contrôlée par le foie. L'excès de Cu est éliminé par voie hépatobiliaire (**Chakravarty *et al.*,2016**).

Comme le Cu, le Zn est un micronutriment essentiel. Il joue des rôles physiologiques et biologiques très importants dans le corps humain. On estime que plus de 300 enzymes du corps humain ont besoin de Zn pour une activation physiologique et biologique. Les processus biologiques importants, tels que les fonctions catalytiques, structurelles et régulatrices de l'organisme. Ces processus, nécessitent une quantité adéquate de Zn pour fonctionner correctement (**Mohammadi *et al.*,2021**). Il a été démontré, qu'il jouait un rôle essentiel dans la prolifération cellulaire, la différenciation et l'activité métabolique de la cellule (**Young Moon *et al.*,2018**).

Le Zn joue également, un autre rôle important en tant que stabilisateur de la structure tertiaire de plusieurs protéines moléculaires, telles que les protéines à doigts de Zn, et régule divers facteurs de transcription dans le corps humain. Ces protéines digitales contrôlent

l'expression génique d'une variété de facteurs de croissance, de médiateurs de la réponse immunitaire et de récepteurs stéroïdiens en se liant aux protéines, à l'ARN et à l'ADN (**Li et al.,2022**).

Dans le cerveau, les ions Zn sont principalement distribués dans les vésicules présynaptiques et sont essentiels dans la signalisation neuronale, la plasticité neuronale et l'activité synaptique aux stades néonatal et adulte (**Kumar et al.,2021**). En plus, le Zn joue un rôle crucial dans le développement du cerveau, et la cognition (**Adamo et al.,2019**).

L'implication du Zn, dans de telles activités fondamentales, explique probablement le caractère essentiel du Zn pour toutes les formes de vie. Une carence en Zn entraîne le vieillissement, maladie neurodégénérative, déficience immunitaire, croissance anormale et cancer. Ainsi, qu'un manque de zinc devient un problème majeur de santé publique aussi bien dans les pays sous-développés que dans les pays développés (**Skrajnowska et Bobrowska-Korczak.,2019 ; Kumar et al.,2021**). Le manque de zinc en quantité suffisante, entraîne des troubles du développement susceptible d'être élucidé en tant que facteur contributif à la pathogénèse ou/à l'exacerbation des troubles de spectre de l'autisme TSA (**Boukhilil et al., 2021**).

Dans le cerveau, la carence en Zn, a un impact sur la connectivité, elle altère la neurotransmission adéquate. De plus, cette carence peut agir indirectement sur le cerveau en perturbant le système immunitaire et en altérant la connexion normale intestin-cerveau. (**Boukhilil et al., 2021**).

De façon générale, le Zn et le Cu, sont essentiellement liés à des cuproprotéines, leurs permettant d'exprimer ses fonctions physiologiques, dont la principale est la protection contre les stress oxydants. La principale enzyme impliquée à ce niveau est la superoxyde dismutase (SOD) qui est constituée d'un site actif complexe hétérodinucléaire Cu/Zn. La SOD participe à une réaction de dismutation afin de convertir le superoxyde en substances moins toxiques qui sont le peroxyde d'hydrogène et le dioxygène, et elle est impliquée aussi dans la lutte contre les radicaux libres qui s'accumulent dans les articulations. Le Cu est le catalyseur de cette réaction et le Zn permet de stabiliser l'enzyme pendant la catalyse (**Perry et al., 2010**).

Les carences en Cu et en Zn sont fréquentes et risques sanitaires sous-diagnostiqués (**Bonaventura et al.,2015**). Les infections aiguës altèrent le métabolisme, tandis que les carences augmentent les risques d'infection. Alors que les infections aiguës provoquent une

augmentation du Cu sérique dans le cadre d'une réponse de phase aiguë (**Romaña et al., 2011**), ils provoquent une diminution du Zn sérique en raison de sa redistribution dans le foie et d'autres tissus (**Bonaventura et al.,2015**).

Par ailleurs, Le Cu et le Zn sont des antagonistes métaboliques (**Faber., 2009**). L'absorption du Cu est diminuée lorsque le Zn est administré en forte quantité, ou lorsque le traitement au Zn est administré pendant une longue période sans supplémentation en Cu. De nombreux effets toxiques du Zn sont en fait dus à une carence en Cu (**Plum et al., 2010**). En revanche, un faible niveau de Zn exacerbe la toxicité du Cu (**Blaurock-Busch et al. 2012**), qui peut causer un dysfonctionnement hépatique et une atteinte neurologique chez les enfants (**Leary et al.,2009**).

Le du Cu élevé et le Zn déprimé, est l'un des déséquilibres les plus courants en métaux traces (**Bjørklund.,2013 ; Faber et al.,2009**). Lorsque des niveaux élevés de Cu et de faibles niveaux de Zn coexistent, ils peuvent contribuer à des maladies telles que la schizophrénie, l'hypertension, l'autisme, la fatigue, les douleurs musculaires et articulaires, les maux de tête, l'hyperactivité infantile, la dépression, la mucoviscidose, l'insomnie, la sénilité et le syndrome prémenstruel (**Bjørklund.,2013 ; Escobedo-Monge., 2020**).

Par ailleurs, le rapport Cu/Zn reflète l'équilibre entre le Cu et Zn dans le corps humain. Où ses valeur plasmatique ou sérique optimal est de 0,70 à 1,00 (**Kaslow.,2020**). Selon Osredkar et al, le rapport Cu/Zn est cliniquement plus important que leurs concentrations isolées (**Osredkar et Sustar.,2011**). Ce fait a été confirmé par une forte corrélation positive entre le rapport Cu/Zn et le niveau de Cu, ainsi qu'une corrélation négative entre le rapport Cu/Zn et le niveau de Zn (**Viktorinova et al.,2015**).

Il a été rapporté que le rapport Cu/Zn, est un bon indicateur de diverses maladies (**Gupta.,2012**) et s'est avéré être un meilleur prédicteur de la gravité de la maladie et/ou de la mortalité que les niveaux de Cu (**Malavolta et al,2010**). De plus, le rapport Cu/Zn est un indicateur de l'état nutritionnel du Zn chez les patients (**Bahi et al.,2017**). La carence en Zn doit être fortement suspectée chez les personnes ayant des rapports sériques Cu/Zn élevés.

Des études antérieures, ont révélé la validité du rapport Cu/Zn, pour la sévérité de l'état inflammatoire, le stress oxydatif, le dysfonctionnement immunitaire et l'infection

associée à une carence en zinc (**Guo., 2011**). Le rapport Cu/Zn a également été lié aux troubles neurologiques de l'enfance (**Faber et al.,2009**) et aux individus agressifs (**Walsh et al.,1997**). Ainsi que, le trouble déficitaire de l'attention et hyperactivité chez les enfants (**Skalny et al., 2020**).

Compte tenu de l'importance du métabolisme du Zn et du Cu, pour un fonctionnement neurologique sain et la détoxification des métaux lourds, on pense que ces deux oligo-éléments peuvent contribuer à la pathogenèse des troubles du spectre de l'autisme (TSA) (**Li et al.,2014**).

Le nombre d'enfants chez lesquels on diagnostique un TSA, grimpe rapidement depuis une décennie. Selon Leo Kenner, la prévalence de l'autisme est restée faible pendant de très nombreuses années, mais a augmenté au cours des dernières décennies, passant d'environ 2 à 4 sur 10 000 à une estimation de 1 %. (**Harris., 2018**). Le TSA est une affection neuro-développementale caractérisé par un défaut qualitatif de communication et d'interactions qui apparaissent chez l'enfant entre la période prénatale et la petite enfance (<2ans). (**Jinan et al., 2022**). Il est quatre fois plus fréquent chez les garçons que chez les filles. Cependant, Les différences entre les sexes de TSA, peuvent s'expliquer par des mécanismes hormonaux. (**Jinan et al., 2022**).

Compte tenu de l'importance du métabolisme du Zn et du Cu pour un fonctionnement neurologique saint et la détoxification des métaux lourds, on pense que ces deux oligo-éléments peuvent contribuer à la pathogenèse des TSA. (**Li et al.,2014**).

Le TSA est une affection neuro- développementale, caractérisé par un défaut qualitatif de communication et d'interactions qui apparaissent chez l'enfant, entre la période prénatale et la petite enfance (<2ans). (**Jinan et al., 2022**).

Le concept d'autisme, s'est progressivement élargi depuis l'époque des premières descriptions cliniques de Leo Kanner, dans son article fondateur de 1943 (**Harris.,2018**). La prévalence de l'autisme est restée faible pendant de très nombreuses années, mais a augmenté au cours des dernières décennies, passant d'environ 2 à 4 sur 10 000 à une estimation de 1 %. On pense que cela reflète les changements dans la détermination et l'élargissement des critères de diagnostic (**Rutter., 2007 ; Rutter.,2011 , Rutter., 2013**).

Le diagnostic d'autisme, est essentiellement clinique. Aucun marqueur biologique, ni test prénatal n'est disponible. Il repose sur des observations du comportement de l'enfant, en fonction de son âge (**Baio et al., 2018**). Ainsi qu'un entretien avec les parents, qui doit répondre à des critères spécifiques, convenus par des experts et définis dans le manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux (DSM-5).

L'incidence des TSA, est quatre fois plus élevée chez les garçons que chez les filles (**Jinan et al., 2022**), et les phénotypes de TSA se présentent différemment selon les sexes (**Grove et al., 2017**). Les filles peuvent posséder un facteur de protection contre les TSA, en raison de leur développement précoce du langage (**Dickerson et al., 2017**).

Cependant, Les différences entre les sexes de TSA, peuvent s'expliquer par des mécanismes hormonaux. Une différence significative, a été dans une étude, trouvée au niveau d'hormones entre les patients atteints de TSA et les témoins (**Geier et Geier, 2006**). En outre, la dyshoméostasie hormonale entraînant des symptômes de TSA, peut être due aux hormones gonadiques prénatales : il a été constaté que la testostérone prénatale et amniotique était en corrélation avec des comportements similaires aux TSA, tant chez les femmes que chez les hommes (**Schaafsma et Pfaff, 2014**).

Le TSA est une affection hétérogène, qui est probablement causée par de multiples facteurs environnementaux et génétiques. Depuis les premières études sur les jumeaux à la fin des années 1980, une forte influence génétique est observée pour les TSA. Une revue de la littérature des études de jumeaux sur les TSA, a révélé une corrélation de 0,98 entre les jumeaux monozygotes et une estimation globale de l'héritabilité d'environ 64 à 91 % (**Tick et al., 2016**).

Aujourd'hui, plus de 900 gènes de susceptibilité à l'autisme, ont été signalés (**Banerjee-Basu et Packer, 2010**), indiquant la nature hétérogène des TSA. Deux gènes situés sur le chromosome X codant pour des protéines de la famille des neuroligines (NLGN3 et 4), ont été identifiés associés à l'autisme. Plusieurs observations suggèrent que les NLGN, pourraient être impliquées dans les mécanismes de formation ou de maturation des synapses dans le système nerveux central des mammifères (**Jamain et al., 2003**).

Les polymorphismes mononucléotidiques (SNP) communs et les variations du nombre des copies plus rares (CNV), jouent probablement un rôle dans l'incidence des TSA. Une étude portant sur les SNP communs à travers le génome, a révélé que le TSA peut être causé par un effort collectif de nombreux SNP à petit effet, plutôt que par un ou quelques gènes (**Klei et al., 2012**). Les CNV dans les TSA, sont courantes sur neuf des 23 chromosomes (**Bergbaum et Ogilvie., 2016**) et ont été signalées sur chaque chromosome. Alors que la plupart des variations génétiques sont héritées des TSA, environ 10 % des TSA peuvent être attribués à des variations génétiques de novo (**Sebat et al., 2007**).

Le microbiote intestinal, est également impliqué dans la symptomatologie des TSA. En fait, le microbiote intestinal joue un rôle essentiel dans les réactions immunitaires et l'inflammation. Une hypothèse est que divers antigènes induisent des immunoréactions périphériques à travers le tractus gastro-intestinal, ce qui altère par la suite, l'activité du SNC (**Cristiano et al., 2018**).

Un intérêt particulier a été porté au facteur environnemental ces dernières années, du fait de l'augmentation grandissante des chiffres de l'autisme, à travers le monde qui préoccupe les autorités de santé (**Chiarotti et Venerosi., 2020**).

Dans une récente revue de la littérature, portant sur 67 facteurs de risque environnementaux et 52 biomarqueurs, les facteurs de risque de TSA les plus convaincants, étaient les facteurs maternels avant ou pendant la grossesse. Ceux-ci comprenaient l'âge maternel (≥ 35 ans), le surpoids maternel avant ou pendant la grossesse, l'hypertension maternelle chronique et gestationnelle, la prééclampsie maternelle, l'utilisation d'antidépresseurs maternels avant la grossesse (**Kim et al., 2019**) et l'activation immunitaire maternelle (**Bilbo et al., 2018**).

D'autres facteurs de risque environnementaux probables pour les TSA, comprennent l'âge paternel (> 45 ans) (**Gabis et al., 2010 ; Simard et al., 2019**) et les antécédents familiaux de maladies auto-immunes (**Wu et al., 2015**), tels que le psoriasis (**Croen et al., 2019**), la polyarthrite rhumatoïde (**Rom et al., 2018**), la morphologie du placenta (**Straughen et al., 2017**) et le diabète de type 1 (**Atladottir et al., 2009**).

Il convient de noter que la littérature actuelle, établit un lien entre le Zn et les TSA dans le contexte du système nerveux central, et donc beaucoup reste inconnu dans le contexte du système nerveux périphérique. De nouvelles thérapies pharmacologiques pour les lésions cérébrales ciblent les niveaux de zinc libre dans le cerveau pour rétablir l'homéostasie, indiquant l'importance de l'homéostasie du zinc dans le cerveau (**Frederickson et al., 2005**).

Le Zn est également, impliqué dans l'interaction intestin-cerveau, et de nombreux patients atteints de TSA, présentent également des symptômes gastro-intestinaux. Les niveaux de zinc maternels, sont probablement un facteur dans la formation de l'intestin fœtal, et donc dans l'interaction intestin-cerveau dans les TSA (**Vela et al., 2015**). Les niveaux prénatals de Zn influencent également la morphologie du placenta (**Wilson et al., 2017**), et la fonction placentaire est notable dans les TSA (**Straughen et al., 2017**).

Il existe un lien, bien connu entre l'autisme et le système immunitaire (**Meltzer et Van de Water, 2017 ; Hughes et al., 2018**), pour lequel, le Zn joue un rôle essentiel dans l'immunité innée et adaptative, comme les monocytes, natural killer, T et B (**Shankar et Prasad, 1998**).

Il existe des preuves considérables, d'une association entre la carence en zinc et les TSA (**Yasuda et Tsutsui, 2013 ; Li et al., 2014 ; Goyal et al., 2019**). Les gènes de liaison au zinc associés aux TSA, sont régulés positivement à tous les stades de développement neurologique. Dans une étude portant sur 1 967 enfants atteints de TSA, près de 30 % avaient une faible concentration de zinc, dans les échantillons de cheveux (**Yasuda et al., 2011**). Une autre petite étude, a révélé des niveaux de zinc plus faibles, dans la salive d'enfants autistes, par rapport à des témoins sains (**Deshpande et al., 2019**). Les niveaux de zinc peuvent également être corrélés à la gravité de la présentation du TSA (**Guo et al., 2018**).

Les niveaux de zinc, peuvent également être affectés par des facteurs spécifiques à la géographie; des études en Irlande (**Sweetman et al., 2019**) et au Brésil (**Saldanha Tschinkel et al., 2018**), ont montré que les niveaux de zinc, chez les enfants TSA, étaient équivalents à ceux des témoins sains. Une étude à Oman, a révélé des niveaux de zinc plus élevés chez les patients atteints de TSA, que chez les témoins (**Al-Farsi et al., 2013**). Les différences géographiques, peuvent être attribuées, à des différences dans les déterminants sociaux de la santé, tels que la nutrition, le statut économique et les maladies associées.

La carence en zinc chez les nourrissons, est répandue dans les pays souffrant de malnutrition, et constitue un problème de santé publique reconnu à l'échelle mondiale (**Ackland et Michalczyk, 2016**). Les différences géographiques peuvent également être, dues à la taille de l'échantillon et à la variabilité de l'âge entre les études.

Les niveaux de cuivre sont généralement, plus élevés que la moyenne chez les patients atteints de TSA. Chez 78 enfants atteints de TSA, 15,4 % avaient des niveaux de cuivre supérieurs à la plage de référence (**Faber et al., 2009**). Dans une autre étude, les taux moyens de cuivre sérique étaient significativement plus élevés chez les enfants TSA que chez les témoins sains (**Li et al., 2014**). Une troisième étude portant sur 79 personnes autistes a révélé un schéma similaire, dans lequel les patients autistes et atteints de troubles envahissants du développement non spécifiés, présentaient des taux plasmatiques de cuivre significativement plus élevés (**Russo et Devito, 2011**). L'augmentation des niveaux physiologiques de cuivre peut également être corrélée à la sévérité croissante des TSA (**Lakshmi Priya et Geetha, 2011**). Les niveaux de cuivre chez les patients atteints de TSA, ne semblent pas varier selon la région géographique; quelle que soit la région, les niveaux de cuivre varient par rapport aux témoins entre les études.

Fait intéressant, le cuivre et le zinc jouent des rôles physiologiques concurrents, de sorte qu'une augmentation du cuivre entraîne une carence en zinc (**Grabrucker, 2012**). Le rapport a donc été examiné dans le cadre de TSA. Les patients et les enfants atteints de TSA ont tendance à avoir des ratios Cu/Zn supérieurs à ceux des témoins. Ces résultats, peuvent être révélateurs d'une carence en Zn. Ces résultats suggèrent également, une altération possible du fonctionnement du système neuroprotecteur de la métallothionéine (MT), résultant de la hausse expression du gène de la MT médiée par le Zn (**Crăciun et al., 2016**). De plus, le rapport Cu/Zn pouvait être utilisé comme biomarqueur précis pour identifier et surveiller les enfants présentant le trouble déficitaire de l'attention avec hyperactivité (TDAH) (**Nayak et al., 2021**).

L'objectif de notre travail est d'évaluer le statut du ratio Cu/Zn dans le plasma, chez les enfants résidant dans l'Ouest algérien.

Ce travail est subdivisé en quatre parties :

- La première partie : une introduction générale, comportant des généralités sur le Zn et le Cu et son rôle dans l'organisme. Ainsi qu'une notion générale sur l'autisme, sa physiopathologie et le diagnostic. En fin, l'influence du Zn, Cu et le ratio Cu/Zn sur les TSA.
- La deuxième partie : Matériel et méthodes, basé sur la mesure de taux du Cu et du Zn chez des enfants autistes.
- La troisième partie : Résultats et discussion
- La quatrième partie : une conclusion générale

Matériel et méthodes

Matériel et méthodes

1. Type et intérêt d'étude :

Il s'agit d'une étude épidémiologique de nature analytique transversale (cas/témoins) réalisée auprès de la population de la wilaya de Tlemcen.

Cette étude a pour but de mesurer le taux du Zn et du Cu chez les patients atteints des TSA.

2. Population étudiée :

L'échantillon étudié comporte 10 sujets atteints de troubles du spectre autistique ainsi que de 10 témoins en bonne santé.

Les dosages sont réalisés dans le laboratoire de chimie analytique et d'électrochimie de l'université de Tlemcen.

3. Sources des données :

La collecte des données a été faite par utilisation d'un questionnaire comprenant différentes Items tels que l'âge, le sexe, taille, poids, Indice de Masse Corporelle (IMC),

Le dossier médical des patients était un autre support de toutes informations complémentaires concernant leurs pathologies, les antécédents personnelles, familiaux.

4. Prélèvements sanguins et préparation des échantillons :

Le sang est prélevé par ponction sur la veine du pli du coude, le sang prélevé est recueilli sur des tubes héparine de lithium.

Les échantillons sanguins sont centrifugés à **3000tr/min** pendant **10** minutes, les plasmas recueillis sont codés ensuite conservé à **-70°C** jusqu'à son utilisation.

5. Détermination du taux de zinc

5.1. Les réactifs utilisés :

- L'acide nitrique (Fluka® ,69.5% et 53%)
- Peroxyde d'hydrogène (Fluka® ,30%)
- Acide perchlorique (Biochem/Chemopharma)

Toutes les solutions étaient préparées avec de l'eau ultrapure obtenue à l'aide d'un système de purification d'eau Milli Q Gradient A 10.

5.2. Elimination des contaminants :

La détermination des éléments traces est complexe en raison de leurs nombreuses interactions dans les différents compartiments environnementaux. La contamination de l'environnement par des traces de métaux toxiques est actuellement un problème majeur. C'est pourquoi, le matériel comme les manipulations doivent être protégés des contaminants (Attar ,2014 ; Raghunath et al ,2019).

Chaque dosage est précédé d'un nettoyage poussé du matériel utilisé à l'acide nitrique à 69% et préparé à 10% et d'un rinçage par l'eau ultrapure.

5.3. Minéralisation des échantillons :

La minéralisation consiste en une digestion de la matière organique présente dans le plasma afin d'obtenir une solution contenant la teneur totale des éléments du Zn et du Cu présents dans la prise d'essai.

5.4. Préparation des échantillons :

Dans des tubes en téflon de 60 ml, sont mis 7.5 ml d'acide nitrique et de 2.5 ml de peroxyde d'hydrogène auxquels sont ajoutés 1ml de plasma. Après agitation douce et un temps de repos 15 minutes pour éviter tout risque d'explosion, les tubes sont hermétiquement fermés et placés dans la microonde qui a une capacité de minéraliser 12 échantillons à la fois.

5.5. Appareillage :

L'appareil utilisé pour la minéralisation est un four microonde de type TOPwave analytik jena AG (Germany). Le programme utilisé est spécifique pour le sang et tissus, il est illustré dans le tableau suivant :

Tableau 1 : Programme de minéralisation du plasma par le four microonde

Temps(C°)	Pression (bar)	Rampe (temps) (min)	Temps (min)	Energie (%)
160	50	5	5	90
190	50	1	10	90
50	0	1	10	0
50	0	1	10	0
50	0	1	1	0

6. Méthode d'analyse :

La voltampérométrie permet d'étudier les relations entre le potentiel, l'intensité dans une cellule. De façon générale, elle permet d'identifier et de mesurer quantitativement un grand nombre de composés (cations, certains anions, composés organiques) qui, en solution, peuvent être réduits et/ou oxydés à la surface d'une électrode, et également d'étudier les réactions chimiques incluant ces composés (Attar ,2014).

6.1 Principe de DPCSV :

Le voltamètre à rediss solution consiste à accumuler le Zn et le Cu à la surface d'une électrode à goutte de mercure pendant pendant la phase d'accumulation, en se plaçant à un potentiel inférieur au potentiel d'oxydoréduction du métal. Un balayage des potentiels les plus négatifs vers les positifs permet ensuite redissoudre les métaux amalgamés lors du passage par leur potentiel d'oxydoréduction (Attar, 2014).

6.2 Appareillage utilisé :

Les concentrations du Zn et du Cu ont été mesurées à l'aide d'un l'analyseur polygraphique Metrohm, qui génèrent des signaux de DPCSV et qui permet l'acquisition des intensités. Il est constitué de l'électrode de mercure à goutte pendante, d'une électrode de référence (Ag/AgCl/KCl 3M) dont le potentiel est remarquablement stable même lorsqu' elle débite des faibles courants, ainsi qu'une électrode auxiliaire en platine.la formation des gouttes de mercure et leur maintien au bout de l'électrode sont assurés par un système entièrement pneumatique (N₂ ultra-pure).la solution est agitée à l'aide d'un agitateur magnétique.

7. Etude statistique :

Le test de kolmogrov Smirnoff est utilisé pour vérifier si la distribution des variables suit une loi normale ($p > 0.05$). Les résultats sont exprimés par la moyenne arithmétique plus ou moins l'écart type ($X \pm \delta$). Du fait de la normalité de la distribution, le choix s'est porté sur des tests paramétriques : le test t de Student pour comparer entre deux moyennes.

Le logiciel MINITAB version/18 a été utilisé.

Résultats et Interprétation

Résultats et Interprétation

I. Les résultats :

Les résultats de cette étude sont présentés en valeur absolue et en pourcentage pour les variables qualitatives et en moyennes \pm écart type pour les variables quantitatives.

Cette étude a porté sur un échantillon total de 20 individus : 10 cas atteints des TSA et 10 témoins sains.

Les caractéristiques de la population étudiée sont représentées dans les tableaux suivant :

Tableau 2 : Caractéristiques anthropométriques et sociodémographiques :

Les données cliniques		Cas		Témoins		P - value
Age (ans)		7,2 \pm 1,751		7,2 \pm 1,317		0,556
Sexe (%) (Femme/homme)		30	70	50	50	0,545
IMC (kg/m ²)	Moyenne générale	20.05 \pm 2,000		16,32 \pm 1,165		0,304
	Normal (%)	100		100%		
L'hyper activité (%)		36		0		0,000
Troubles de sommeil (%)		20		0		0,000
Sélectivité alimentaire (%)		16		0		0,000
Diarrhée (%)		14		0		0,000
Constipation (%)		24		0		0,000

IMC : indic du masse corporelle (poids (kg)/taille (m²)).

1) Les données cliniques de la population :

a. L'âge :

Les caractéristiques de la population étudiée montrent que l'âge moyen est de 7,2 ans et 7,2 ans pour les témoins et les malades respectivement. On remarque que le p-value ($> 0,05$), on peut déduire qu'il n'existe pas une différence significative d'âge entre les cas et les témoins.

b. Le Sexe :

La population de TSA comprenait 3 sujets féminins (30%) contre 7 sujets masculins (70%), ainsi que les témoins présentaient 5 sujets de sexe féminin (50%) et 5 sujets de sexe masculin (50%).

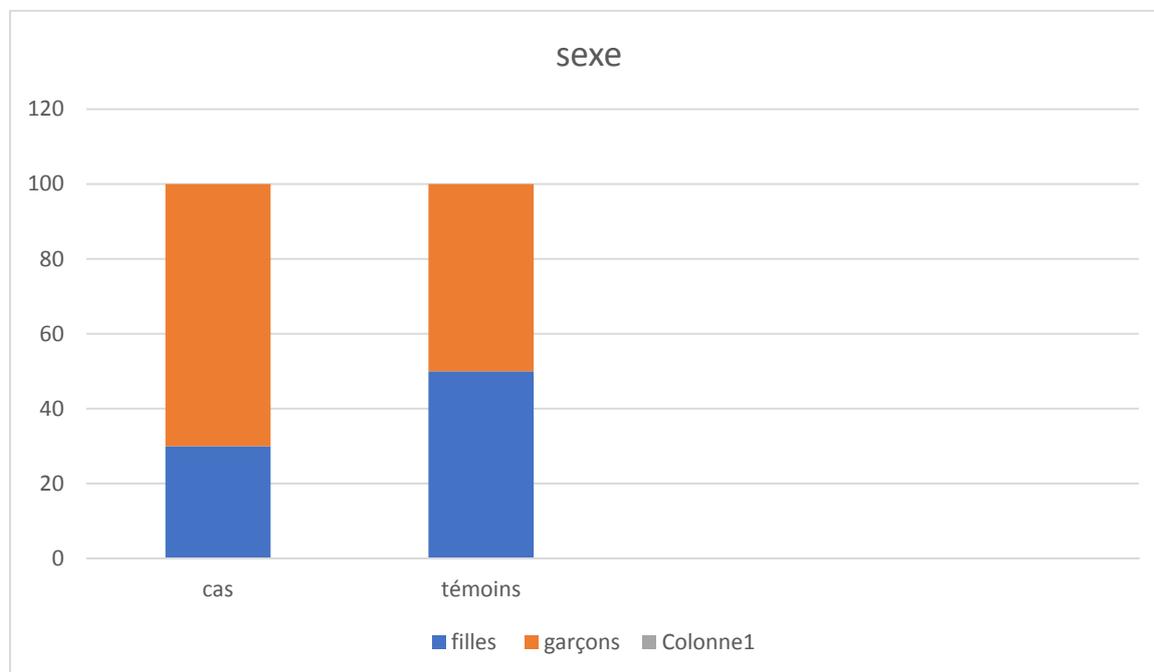


Figure 1 : Histogramme des fréquences de sexe pour les cas et les témoins.

c. L'IMC :

L'IMC avait été calculé par le ratio du poids en kg sur la taille en m². La moyenne de l'IMC de la population malade étudiée est de 20,05 kg/m², celle des témoins est de 16,32 kg/m².

Le p-value de IMC était égale (p= 0,304), cela confirme il n'y a pas une différence significative entre les cas et les témoins.

Selon l'OMS, une insuffisance pondérale est de <3 percentiles, normal compris entre 3 et 97 percentiles, une classe en surpoids avec un IMC de ≥97 percentiles.

Nous avons remarqué que la majorité des cas font partie de la classe en surpoids (40%), et la totalité des témoins ont un IMC normal.

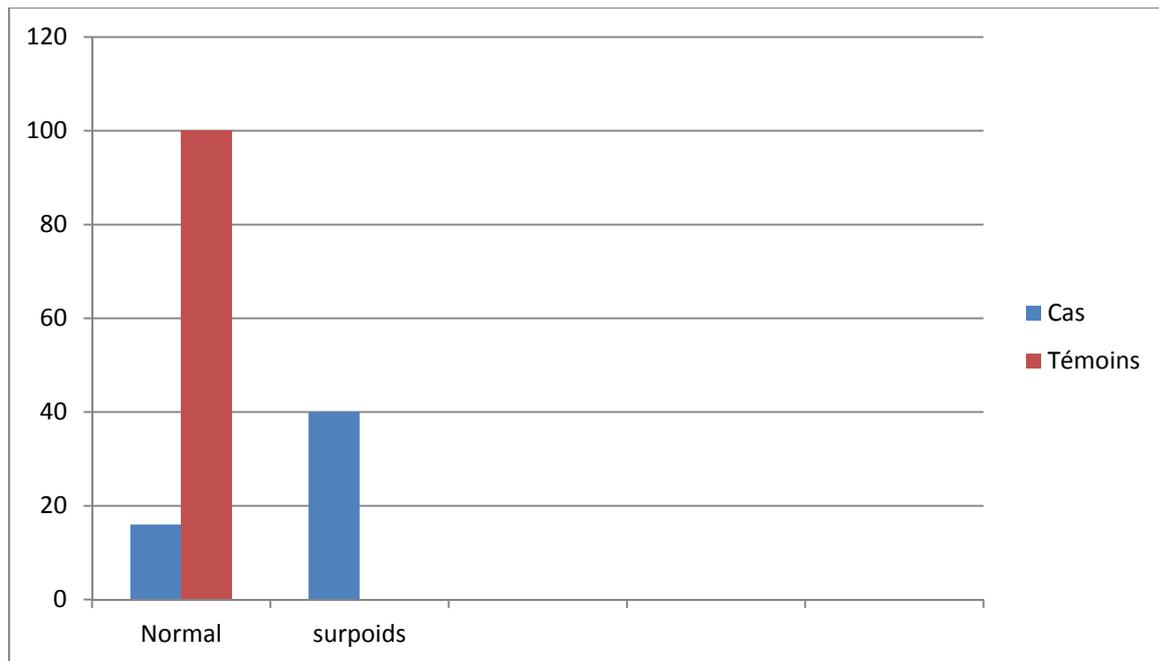


Figure 2 : Histogramme de l'IMC pour les sujets atteints des TSA et les témoins.

d. L'hyperactivité :

Tableau 3 : L'hyperactivité chez les cas et les témoins

		Cas	Témoins	P-value
L'hyperactivité (%)	Oui	36	0	0,000
	Non	45	100	

Le tableau 3 montre que le pourcentage de l'hyperactivité chez les cas est supérieur par rapport aux témoins qui est de 0%.

On peut déduire qu'il existe une différence significative entre les cas et les témoins ($p=0,000$).

e. Troubles de sommeil :

Tableau 4 : les troubles de sommeil chez les cas et les témoins

		Cas	Témoins	P-value
Les troubles de sommeil (%)	Oui	20	0	0,000
	Non	80	100	

Le tableau 4 montre une proportion de 20% des patients qui souffrent des troubles de sommeil, alors que la totalité des témoins ne souffre pas de ces troubles.

On peut déduire qu'il existe une différence significative entre les cas et les témoins ($p=0,000$)

f. Sélectivité alimentaire :

Tableau 5 : Sélectivité alimentaires chez les cas et les témoins

		Cas	Témoins	P-value
Sélectivité alimentaire (%)	Oui	16	0	0,000
	Non	48	100	

Le tableau 5 montre que le pourcentage de la sélectivité était plus élevé chez les sujets atteints de TSA 20% contre 0% pour les témoins.

On peut déduire qu'il existe une différence significative entre les cas et les témoins ($p=0,000$).

g. Diarrhée :

Tableau 6 : la diarrhée chez les sujets et les témoins

		Cas	Témoins	P-value
Diarrhée (%)	Oui	14	0	0,000
	Non	35	100	

Le tableau 6 montre une proportion de % des patients qui souffrent de la diarrhée, alors que la totalité des témoins ne souffre pas de ce problème.

On peut déduire qu'il existe une différence significative entre les cas et les témoins ($p=0,000$).

h. Constipation :

Tableau 7 : la constipation chez les sujets et les témoins :

		Cas	Témoins	P-value
Constipation (%)	Oui	24	0	0,000
	Non	40	100	

Le tableau 7 montre un pourcentage de 20% des malades qui souffrent de la constipation, cependant la totalité des témoins ne souffre pas de ce problème.

On peut déduire qu'il existe une différence significative entre les cas et les témoins ($p=0,000$).

2) **Caractéristique médicale de la population :**

Tableau 8 : caractéristique médicale de la population

Facteurs	Cas	Témoins	P-value
L'âge de diagnostic (ans)	2,111±1,746		
Consanguinité %	27	0	0,000
ATC familiaux %	16	0	0,000
Age des mamans à la conception (ans)	29 ± 5,268	30 ± 6	0,001
≥35 (%)	9	27	
<35 (%)	72	54	
Age des pères à la conception (ans)	41,43 ± 9,235	36,67 ± 6,874	0,000
≥45 (%)	14	0	
<45 (%)	35	81	

a. L'âge de diagnostic :

Selon le tableau 8 la moyenne de l'âge de diagnostic de la maladie est de 2,111±1,746 ans.

b. Consanguinité :

Tableau 9 : La consanguinité chez les cas et les témoins

		Cas	Témoins	P-value
La consanguinité (%)	Oui	27	0	0,000
	Non	54	100	

Le tableau 9 montre que le taux de consanguinité n'est pas élevé chez les sujets atteints de TSA.

On peut déduire qu'il existe une différence significative entre les cas et les témoins (p=0,000).

c. ATC familiaux autistiques :

Tableau 10 : les antécédents familiaux autistiques :

		Cas	Témoins	P-value
ATC f autistique (%)	Oui	16	0	0,000
	Non	48	100	

Le tableau 10 montre, que le pourcentage des antécédents autistiques chez les cas est de 16%. Cependant chez les témoins est de 0%.

On peut déduire qu'il existe une différence significative entre les cas et les témoins (p=0,000).

d. L'âge des mamans à la conception :

Tableau 11 : l'âge de la maman à la conception chez les cas et les témoins

		Cas	Témoins	P-value
L'âge de la maman à la conception (%)	≥35	9	27	0,001
	<35	72	54	

Le tableau 8 montre que la moyenne de l'âge des mamans à la conception est de $29 \pm 5,268$ ans et de 30 ± 6 ans pour les cas et les DT respectivement.

On remarque qu'il existe une différence significative entre les cas et les témoins (p=0,001).

e. L'âge des pères à la conception :

Tableau 12 : l'âge des pères à la conception chez les cas et les témoins

		Cas	Témoins	P-value
L'âge des pères à la conception (%)	≥45	14	0	0,000
	<45	35	81	

Le tableau 8 montre que la moyenne de l'âge des pères à la conception est de $41,43 \pm 9,235$ ans et de $36,67 \pm 6,874$ ans pour les cas et les témoins respectivement.

On remarque qu'il existe une différence significative entre les cas et les témoins (p=0,000).

f. Le taux du zinc chez les cas et les témoins :

Tableau 13 : le taux du zinc chez les cas et les DT :

	Cas	Témoins	P-value
Concentration du zinc (mg/L)	1,20 ± 0.07	0,80 ± 0,06	0,000

Le tableau 13 montre que, la moyenne de taux du zinc chez nos patients était de 1,20 ± 0.07 mg/L contre 0,80 ± 0,06 mg/L chez les enfants normaux.

On note qu'il existe une différence significative entre les cas et les DT (p=0,000).

g. Le taux du cuivre chez les cas et les témoins :

Tableau 14 : le taux du cuivre chez les cas et les DT :

	Cas	Témoins	P-value
Concentration du cuivre (mg/L)	1,13 ± 0,08	1,14 ± 0,10	0,486

Le tableau 14 montre que, la moyenne de taux du cuivre chez nos patients était de 1,13 ± 0,08 mg/L contre 1,14 ± 0,10 mg/L chez les enfants normaux.

On remarque qu'il n'existe pas une différence significative entre les cas et les DT (p=0,486).

h. Le ratio Cu/Zn chez les patients et les DT :

Tableau 15 : le ratio Cu/Zn chez les patients et les DT :

	Cas	Témoins
Le ratio Cu/Zn	0,95	1,42

Le tableau 15 montre que le ratio Cu/Zn chez les cas égal à 0,95 et 1,42 chez les cas et les témoins respectivement.

Discussion

Discussion

Ce travail avait pour objectif principal d'évaluer le déséquilibre Cu/Zn chez les enfants atteints de TSA.

Notre étude a été réalisée sur 10 sujets atteints de TSA et de 10 témoins. L'âge moyen de la dizaine d'enfants diagnostiqués de TSA inclus à cette étude est de $7,2 \pm 1,75$ ans, avec une tranche d'âge allant de 5 à 10 ans.

L'âge moyen de diagnostic est $2,11 \pm 1,75$ ans ce qui concorde avec l'âge d'apparition des symptômes de TSA et de son diagnostic qui se fait entre 2 et 4 ans (**Jinan et al., 2022**). Il est nécessaire d'observer l'enfant durant cette tranche d'âge, afin de cerner et de détecter les premiers signes du trouble.

La moyenne de l'IMC dans le groupe cas est de $20,05 \pm 2$ (kg/m²), par contre le groupe témoins elle est de $16,32 \pm 1,16$ (kg/m²) ; on remarque que la majorité des cas font partie de la classe en surpoids (40%), et la totalité des témoins ont un IMC normal.

Pour les caractéristiques cliniques de la population, nous avons constaté que la plupart des sujets souffrent des troubles du sommeil (20%), de l'hyper activité (36%), de la diarrhée fréquente (14%), et de la constipation fréquente (24%), ainsi qu'une sélectivité alimentaire (16%). ces résultats sont en accord avec ceux de Ouisselsat *et al.* (**Ouisselsat et al., 2018**).

Selon nos résultats, il y a beaucoup plus d'enfants autistes issus de mariages consanguins (27% chez les cas, contre 0% chez les témoins), cette différence avec les témoins est statistiquement significative. Nos résultats sont similaires à ceux de Roy *et al.*, qui a exploré une association entre la consanguinité et l'apparition de la TSA, en suspectant une transmission récessive autosomique (**Roy et al., 2020**).

Dans notre étude, on s'aperçoit une dominance des antécédents familiaux de TSA chez les cas avec un pourcentage de (16%). Cela concorde avec les résultats de l'étude Kim et al, qui a aussi aperçu une prédominance des ATC dans sa population. Ces résultats prouvent et démontrent que le TSA est un trouble transmissible génétiquement (**Kim et al., 2019**).

Notre étude a permis de mettre en évidence une différence significative entre groupe d'autiste et témoin concernant l'âge des mères ($p=0,001$). On a trouvé que l'âge moyen des mères à la naissance de leurs enfants autistes est de $29 \pm 5,268$ ans, contre 30 ± 6 ans pour les mères des enfants normaux. Cela confirme que l'âge des mamans des enfants autistes est de l'ordre du seuil proposé par Parner *et al.* (**Parner et al., 2012**).

Une différence significative entre cas et témoins a été révélée en ce qui concerne l'âge paternel à la conception avec une moyenne de $41,43 \pm 9,235$ ans chez les cas, contre, $36,67 \pm 6,874$ ans chez les témoins. Par contre Ouisselsat *et al.*, ont révélé qu'il n'y a aucune différence significative entre cas et témoins en ce qui concerne l'âge des pères à la conception (**Ouisselsat et al., 2018**).

Notre étude a montré que le taux plasmatique du zinc est plus élevé chez les cas que chez les témoins ($1,20 \pm 0,07$ mg/L chez les cas, contre $0,80 \pm 0,06$ mg/L, $p=0,000$), cela concorde avec l'étude d'Al Farsi *et al*, qui a révélé des niveaux de zinc plus élevé chez les patients atteints de TSA que chez les témoins **(Al-Farsi *et al.*, 2013)**.

En ce qui concerne le taux plasmatique du cuivre, aucune différence significative entre cas et témoins n'a été révélée ($p=0,486$). Certaines études, ont montré que le taux moyen du cuivre était significativement plus élevé chez les enfants TSA que chez les témoins **(Faber *et al.*, 2009 ; Russo et Devito, 2011 ; Li *et al.*, 2014)**.

Notre étude a montré, que la valeur plasmatique du ratio Cu/Zn est plus élevée chez les témoins que chez les cas (0,95 chez les cas, contre 1,42 chez les témoins). Selon Kaslow, les valeurs plasmatiques ou sériques optimales du ratio Cu/Zn, sont de 0,70 et 1,00. **(Kaslow *et al.*, 2020)**.

Conclusion

Conclusion

Le TSA est une affection neuro- développementale caractérisé par un défaut qualitatif de communication et d'interactions qui apparaissent chez l'enfant entre la période prénatale et la petite enfance (<2ans).

Cette étude a permis de mesurer le taux plasmatique du ratio Cu/Zn chez les enfants atteints de TSA dans la ville de Tlemcen.

Nous avons observé l'existence de différences significatives entre cas et témoins en ce qui concerne, la consanguinité, les ATC familiaux autistiques, l'âge des mamans à la conception.

On constate notamment que (20%) des enfants autistes souffrent de troubles du sommeil, (36%) de l'hyperactivité, des problèmes digestifs ((14%) diarrhée et (24%) constipation), (16%) de la sélectivité alimentaire.

Le dosage plasmatique a montrés que les valeurs plasmatiques optimales du ratio Cu/Zn est plus élevé chez les témoins avec une valeur optimale qui dépasse 1.

D'autres études sont nécessaires pour vérifier nos résultats et étudier les effets de facteurs multiples sur l'autisme.

Le résultat de ce travail ouvre de vastes perspectives dans la compréhension du rôle du zinc et du cuivre dans la physiopathologie de troubles autistiques. Il convient d'approfondir d'avantage les recherches sur ces oligoéléments en tant que de nouvelles cibles de recherche pour le traitement de différents troubles.

Nous espérons que cette étude sera renforcée par d'autres travaux, notamment en Algérie.

Références

A

- Ackland, ML et Michalczyk, AA (2016). Zinc et nutrition infantile. *Cambre. Biochimie. Biophys.* 611, 51-57. doi : 10.1016/j.abb.2016.06.011
- Adamo, Xiuzhen Liu, Patricia Mathieu, Johnathan R. Nuttall, Suangsuda Supasai and Patricia Oteiza. Early Developmental Marginal Zinc Deficiency Affects Neurogenesis Decreasing Neuronal Number and Altering Neuronal Specification in the Adult Rat Brain. *Front. Cell. Neurosci.* 2019. 13:62
- Al-Farsi, YM, Waly, MI, Al-Sharbati, MM, Al-Shafae, MA, Al-Farsi, OA, Al-Khaduri, MM, et al. (2013). Niveaux de métaux lourds et de minéraux essentiels dans des échantillons de cheveux d'enfants autistes à Oman : une étude cas-témoins. *Biol. Trace Elem. Rés.* 151, 181–186. doi : 10.1007/s12011-012-9553-z
- Atladottir, HO, Pedersen, MG, Thorsen, P., Mortensen, PB, Deleuran, B., Eaton, WW, et al. (2009). Association d'antécédents familiaux de maladies auto-immunes et de troubles du spectre autistique. *Pédiatrie* 124, 687–694. doi : 10.1542/peds.2008-2445
- Attar, H ; Calin, M ; Zhang, L. C ; Scudino, S ; Eckert, J. Manufacture by selective laser melting and mechanical behavior of commercially pure titanium. *Materials science and engineering* : 2014 A, 593, 17-177.

B

- Bahi, G.A.; Boyvin, L.; Méité, S.; M'Boh, G.M.; Yeo, K.; N'Guessan, K.R.; Bidié, A.D.; Djaman, A.J. Assessments of serum copper and zinc concentration, and the Cu/Zn ratio determination in patients with multidrug resistant pulmonary tuberculosis (MDR-TB) in Côte d'Ivoire. *BMC Infect. Dis.* 2017,17, 257.
- Banerjee-Basu, S., et Packer, ASFARI. (2010). Gene : une base de données évolutive pour la communauté de recherche sur l'autisme. *Dis. Modèle. Méca.* 3, 133–135. doi : 10.1242/dmm.005439

- Baio J, Wiggins L, Christensen DL, et al. Prevalence of Autism Spectrum Disorder Among Children Aged 8 Years - Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 11 Sites, United States, 2014. *MMWR Surveill Summ* 2018;67:1-23.
- Bendada, K ; Boulakradeche, Mw. Optimisation des conditions de dosage par spectroscopie d'absorption atomique (SAAF et SAAET) : Application à la détermination de la pollution et de la bioaccumulation des métaux lourds, 2011.
- Bergbaum, A., et Ogilvie, CM (2016). Autisme et anomalies chromosomiques - une revue. *Clin. Anat.* 29, 620–627. doi: 10.1002/ca.22719
- Bilbo, SD, Block, CL, Bolton, JL, Hanamsagar, R. et Tran, PK (2018). Au-delà de l'infection - activation immunitaire maternelle par des facteurs environnementaux, développement microglial et pertinence pour les troubles du spectre autistique. *Exp. Neurol.* 299, 241–251. doi : 10.1016/j.expneurol.2017.07.002
- Bjørklund, G. The role of zinc and copper in autism spectrum disorders. *Acta Neurobiol. Exp.* **2013**,73,225–236.
- Blaurock-Busch, E., Amin, OR, Dessoki, HH et Rabah, T. (2012). Métaux toxiques et éléments essentiels dans les cheveux et sévérité des symptômes chez les enfants autistes. *Médica* 7, 38–48.
- Bonaventura, P.; Benedetti, G.; Albarède, F.; Miossec, P. Zinc and its role in immunity and inflammation. *Autoimmun. Rev.* **2015**, 14, 277–285.

C

- Chakravaty, Ch ; Gallo, P ; Amann-Winkel, K ; Angel, Ch ; Alexeevich Anisimov, M; Caupin, F; Lascaris, E; Loerting, T; Panagiotopoulos, AZ; Russo,J; Alexander Sellberg, J; Stanley,He; Tanaka, H; Vega, C; Xu,L; Pettersson, L. Water: A Tale of Two Liquids. DOI: 10.1021/acs.chemrev.5b00750 *Chem. Rev.* 2016, 116, 7463–7500

- Chiarotti, F ; Venerosi, A . Epidemiology of Autism Spectrum Disorders: A Review of Worldwide Prevalence Estimates Since 2014. Reference Center for the Behavioural Sciences and Mental Health, Italian National Institute of Health, 00161 Rome, Italy. *Brain Sci.* 2020, 10, 274; doi:10.3390/brainsci10050274.
- Craciun, EC, Bjorklund, G., Tinkov, AA, Urbina, MA, Skalny, AV, Rad, F., et al. (2016). Évaluation des niveaux de zinc et de cuivre dans le sang total chez les enfants atteints de troubles du spectre autistique. *Métab. Cerveau Dis.* 31, 887–890. doi : 10.1007/s11011-016-9823-0
- Cristiano, C., Lama, A., Lembo, F., Mollica, MP, Calignano, A. et Mattace Raso, G. (2018). Interaction entre inflammation périphérique et centrale dans les troubles du spectre autistique : stratégies nutritionnelles et thérapeutiques possibles. *Devant. Physiol.* 9:184. doi : 10.3389/fphys.2018.00184
- Croen, LA, Qian, Y., Ashwood, P., Daniels, JL, Fallin, D., Schendel, D., et al. (2019). Antécédents familiaux de troubles immunitaires et de troubles du spectre autistique et du développement : résultats de l'étude pour explorer le développement précoce. *Autisme Rés.* 12, 123–135. doi: 10.1002/aur.1979

D

- Deshpande, RR, Dungarwal, PP, Bagde, KK, Thakur, PS, Gajjar, PM et Kamath, AP (2019). Évaluation comparative de la concentration salivaire de zinc chez les enfants autistes et en bonne santé dans le cadre d'une étude pilote sur le groupe d'âge en dentition mixte. *Indien J. Dent. Rés.* 30, 43–46. doi : 10.4103/ijdr.IJDR_728_16
- Dickerson, AS, Rotem, RS, Christian, MA, Nguyen, VT et Specht, AJ (2017). Différences potentielles entre les sexes par rapport aux troubles du spectre autistique et aux métaux. *Courant. Environ. Santé Rep.* 4, 405–414. doi : 10.1007/s40572-017-0164-x

E

- El Idrissi, B ; Hammouti, M ; Elayyachy, A . New thio-compounds as corrosion inhibitor for steel in 1 M HCl. 005 Published by Elsevier Ltd. doi:10.1016/j.corsci.2005.09.016.

- Escobedo, M; Enrique, B; Vicente, C. Copper and Copper/Zinc Ratio in a Series of Cystic Fibrosis Patients. *Nutrients* 2020, 12, 3344.

F

- Faber, S.; Zinn, G.M.; Kern, J.C., 2nd; Kingston, H.M. The plasma zinc/serum copper ratio as a biomarker in children with autism spectrum disorders. *Biomarkers* 2009, 14, 171–180.
- Fanni, D; Gerosa, C; Nurchi, VM; Suri, JS; Nardi, V; Congiu, T; Coni, P; Ravarino, A; Cerrone, G; Piras, M; Cau, F; Kounis, NG; Balestrieri, A; Gibo, Y; Van Eyken, P; Coghe, F; Rullo, Ev; Taibi, R; Orrù, G; Faa, G; Saba, L. Trace elements and the carotid plaque: the GOOD (Mg, Zn, Se), the UGLY (Fe, Cu), and the BAD (P, Ca). 021; 25: 3772-3790.
- Frederickson, CJ, Koh, JY et Bush, AI (2005). La neurobiologie du zinc dans la santé et la maladie. *Nat. Rév. Neurosci.* 6, 449–462. doi : 10.1038/nrn1671

G

- Gabis, L., Raz, R. et Kesner-Baruch, Y. (2010). L'âge paternel dans les troubles du spectre autistique et le TDAH. *Pédiatre Neurol.* 43, 300–302. doi : 10.1016/j.pediatrneurol.2010.05.022
- Geier, DA et Geier, MR (2006). Une évaluation clinique et en laboratoire des marqueurs de la voie de transsulfuration du cycle de la méthionine et des androgènes chez les enfants atteints de troubles autistiques. *Horm. Rés.* 66, 182–188. doi: 10.1159/000094467
- Goyal, DK, Neil, J., Simmons, SD, Mansab, F., Benjamin, S., Pitfield, V., et al. (2019). Carence en zinc dans l'autisme: une étude contrôlée. *Aperçus Biomed.* 4:12. doi : 10.36648/2572-5610.4.3.63
- Grabrucker, AM (2012). Facteurs environnementaux dans l'autisme. *Devant. Psychiatrie.* 3:118. doi : 10.3389/fpsy.2012.00118

- Gromadzka, G ;Tarnacka, B ; Flaga, A ; Adamczyk, A. Copper Dyshomeostasis in Neurodegenerative Diseases—Therapeutic Implications. *Int. J. Mol. Sci.* 2020, 21, 9259; doi:10.3390/ijms21239259.
- Grove, R., Hoekstra, RA, Wierda, M. et Begeer, S. (2017). Explorer les différences entre les sexes dans les traits autistiques : une étude analytique factorielle des adultes autistes. *Autisme* 21, 760–768. doi : 10.1177/1362361316667283
- Grubman, A.; White, A.R. Copper and Molecular Aspects of Cell Signaling. In *Molecular, Genetic, and Nutritional Aspects of Major and Trace Minerals*; Collins, J.F., Ed.; Molecular Nutrition; Elsevier: London, UK, 2016; pp. 85–99.
- Grzeszczak Konard , Sebastian Kwiatkowski , Danuta Kosik-Bogacka. The Role of Fe, Zn, and Cu in Pregnancy .*Biomolecules*.2020. 12;10(8):1176.
- Guo, C.H.; Chen, P.C.; Yeh, M.S.; Hsiung, D.Y.; Wang, C.L. Cu/Zn ratios are associated with nutritional status, oxidative stress, inflammation, and immune abnormalities in patients on peritoneal dialysis. *Clin. Biochem.* **2011**, 44, 275–280
- Guo, M., Li, L., Zhang, Q., Chen, L., Dai, Y., Liu, L., et al. (2018). Statut vitaminique et minéral des enfants atteints de troubles du spectre autistique dans la province chinoise de Hainan : associations avec les symptômes. *Nutr. Neurosci.* 23, 803–810. doi : 10.1080/1028415X.2018.1558762
- Gupta, V.; Kumar, A.; Asthana, R.K. Serum zinc and copper levels in aplastic anemia. *Indian Pediatr.* **2012**, 49, 493–494.

H

- Harris, J. (2018). Leo Kanner et l'autisme : Une perspective de 75 ans. *Revue internationale de psychiatrie*, 30 (1), 3–17.

- Hughes, HK, Mills Ko, E., Rose, D. et Ashwood, P. (2018). Dysfonctionnement immunitaire et auto-immunité en tant que mécanismes pathologiques dans les troubles du spectre autistique. *Devant. Cell Neurosci.* 12:405. doi : 10.3389/fncel.2018.00405

J

- Jamain S, Quach H, Betancur C, Råstam M, Colineaux C, Gillberg IC, Soderstrom H, Giros B, Leboyer M, Gillberg C, Bourgeron T; Paris Autism Research International Sibpair Study. Mutations of the X-linked genes encoding neuroligins NLGN3 and NLGN4 are associated with autism. *Nat Genet*, 2003, 34: 27–29
- Jinan Zeidan, Eric Fombonne, Julie Scolah, Alaa Ibrahim, Maureen S. Durkin, Shekhar Saxena, Afiqah Yusuf, Andy Shih, Mayada Elsabbagh. Global prevalence of autism: A systematic review update. 2022.15,5 ; 778-790

K

- Kaslow, J.E. Copper/Zn Imbalance. Medical Board of California. Available online: <http://www.mbc.ca.gov> (accessed on 15 August 2020).
- Kim, JY, Son, MJ, Son, CY, Radua, J., Eisenhut, M., Gressier, F., et al. (2019). Facteurs de risque environnementaux et biomarqueurs des troubles du spectre autistique : un examen général des données probantes. *Lancet Psychiatry* 6, 590–600. doi : 10.1016/S2215-0366(19)30181-6
- Klei, L., Sanders, SJ, Murtha, MT, Hus, V., Lowe, JK, Willsey, AJ, et al. (2012). Les variantes génétiques courantes, agissant de manière additive, sont une source majeure de risque d'autisme. *Mol. Autisme* 3:9. doi : 10.1186/2040-2392-3-9
- Konrad Grzeszczak , Sebastian Kwiatkowski , Danuta Kosik-Bogacka. The Role of Fe, Zn, and Cu in Pregnancy .*Biomolecules*.2020. 12;10(8):1176.
- Kumar, V. Kumar, A. Singh, K. Neurobiology of zinc and its role in neurogenesis. *Nutr.* 2021:60(1):55-64.

L

- Lakshmi Priya, MD, et Geetha, A. (2011). Niveau d'oligo-éléments (cuivre, zinc, magnésium et sélénium) et d'éléments toxiques (plomb et mercure) dans les cheveux et les ongles des enfants autistes. *Biol. Trace Elem. Rés.* 142, 148–158. doi : 10.1007/s12011-010-8766-2
- Leary SC, Winge DR, Cobine PA. 'Pulling the plug' on cellular copper: the role of mitochondria in copper export. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1793:146–153.
- Li, SO, Wang, JL, Bjorklund, G., Zhao, WN et Yin, CH (2014). Taux sériques de cuivre et de zinc chez les personnes atteintes de troubles du spectre autistique. *Neuroreport* 25, 1216–1220. doi : 10.1097/WNR.0000000000000251
- Li, X., Han, M., Zhang, H. *et al.* Structures and biological functions of zinc finger proteins and their roles in hepatocellular carcinoma. *Biomark Res* 2022. **10**, 2.

M

- Malavolta M, Giacconi R, Piacenza F, Santarelli L, Cipriano C, Costarelli L, Tesei S, Pierpaoli S, Basso A, Galeazzi R, Lattanzio F, Mocchegiani E. Plasma copper/zinc ratio: an inflammatory/nutritional biomarker as predictor of all-cause mortality in elderly population. *Biogerontology*. 2010;11(3):309–19.
- Meltzer, A., et Van de Water, J. (2017). Le rôle du système immunitaire dans les troubles du spectre autistique. *Neuropsychopharmacologie* 42, 284–298. doi : 10.1038/npp.2016.158
- Mohammadi H, Talebi S, Ghavami A, Rafiei M, Sharifi S, Faghihimani Z, et al. Effects of zinc supplementation on inflammatory biomarkers and oxidative stress in adults: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Trace Ele Med Biol*. 2021. 68:126857. doi : 10.1016/j.jtemb.2021.126857
- Myint, Z.W.; Oo, T.H.; Thein, K.Z.; Tun, A.M.; Saeed, H. Copper deficiency anemia: Review article. *Ann. Hematol.* 2018, 97, 1527–1534.

N

- Nayak, S ; Sahu, S ; Patra, S ; John, J . Assessment of Copper and Zinc Levels in Hair and Urine of Children With Attention Deficit Hyperactivity Disorder: A Case-Control Study in Eastern India. 2021.13(12):e20692.

O

- Osredkar, J ; Natasa, S. Copper and Zinc, Biological Role and Significance of Copper/Zinc Imbalance. *Clinic Toxicol* 2011, S:3 <http://dx.doi.org/10.4172/2161-0494.S3-001>
- Ouisselsat, M ; Maidoumi, S ; Lekouch, N ; Ait Belcaid, H ; Sebban, H ; et Sedki, A. Facteurs de risque associés au Trouble du Spectre de l'Autisme (TSA) chez les enfants de la ville de Marrakech (Maroc). Volume 1, N°2 , pp : 108 - 114 (2018) ISSN : 2605-6208

P

- Parner ET, Baron-Cohen S, Lauritsen MB, Jørgensen M, Schieve LA, Yeargin-Allsopp M, Obel C. (2012). Parental age and autism spectrum disorders. *Ann. Epidemiol.*; 22(3):143- 50.
- Perry J J P . Shin D S. GetzoffE D. Tainer J A. The structural biochemistry of the superoxide dismutases. *Biochim Biophys Acta*. 2010 ;1804(2):245-62.
- Plum, L ;Haase, H ; Laura, M . The Essential Toxin: Impact of Zinc on Human Health. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2010, 7, 1342-1365; doi:10.3390/ijerph7041342

R

- Raghunath, A ; Delgado, L.M ; Wu, Z ; Shologu, N ; Ksheirsagar, A ; sorushanova, R ; Zeugols, D. I . the collagen superfamily ; from biosynthesis to advanced biomaterial development. *advanced materials*, 2019 31 1, 1801651.s
- Rom, AL, Wu, CS, Olsen, J., Jawaheer, D., Hetland, ML et Morch, LS (2018). Polyarthrite rhumatoïde parentale et troubles du spectre autistique chez la progéniture : une étude de cohorte nationale danoise. *Confiture. Acad. Enfant Adolescentc. Psychiatrie* 57, 28–32.e1. doi : 10.1016/j.jaac.2017.10.002

- Romaña, D.L.; Olivares, M.; Uauy, R.; Araya, M. Risks and benefits of copper in light of new insights of copper homeostasis. *J. Trace Elem. Med. Biol.* **2011**, *25*, 3–13.
- Roy, N ; Ghaziuddin, M ; Mohiuddin, S. Consanguinity and Autism. *Current Psychiatry Reports* 2020; 22(1):3.
- Russo, AJ et Devito, R. (2011). Analyse de la concentration plasmatique de cuivre et de zinc et de l'efficacité de la thérapie au zinc chez les personnes atteintes du syndrome d'Asperger, d'un trouble envahissant du développement non spécifié (PDD-NOS) et d'autisme. *Biomarque. Aperçus* 6, 127–133. doi : 10.4137/BMI.S7286
- Rutter, M., Kreppner, J., Croft, C., Murin, M., Colvert, E., Beckett, C., et al. (2007). Résultats de la petite adolescence des adoptés institutionnellement privés et non privés. III. Quasi-autisme. *Journal of Child Psychology and Psychiatry, and Allied Disciplines*, *48* (12), 1200–7.
- Rutter, M. (2011). Progrès dans la compréhension de l'autisme : 2007-2010. *Journal de l'autisme et des troubles du développement*, *41* (4), 395-404
- Rutter, M. (2013). Changer les concepts et les découvertes sur l'autisme. *Journal de l'autisme et des troubles du développement*, *43* (8), 1749–1757.

S

- Saldanha Tschinkel, PF, Bjorklund, G., Conon, LZZ, Chirumbolo, S. et Nascimento, VA (2018). Concentrations plasmatiques des oligo-éléments cuivre, zinc et sélénium chez les enfants brésiliens atteints de troubles du spectre autistique. *Biomédical. Pharmacologie*. 106, 605–609. doi : 10.1016/j.biopha.2018.06.174
- Schaafsma, SM et Pfaff, DW (2014). Étiologies sous-jacentes aux différences entre les sexes dans les troubles du spectre autistique. *Devant. Neuroendocrinol.* *35*:255–271. doi : 10.1016/j.yfrne.2014.03.006

- Sebat, J., Lakshmi, B., Malhotra, D., Troge, J., Lese-Martin, C., Walsh, T., et al. (2007). Forte association de mutations du nombre de copies de novo avec l'autisme. *Sciences* 316, 445–449. doi : 10.1126/science.1138659
- Shankar, AH et Prasad, AS (1998). Zinc et fonction immunitaire : la base biologique de l'altération de la résistance aux infections. *Un m. J.Clin. Nutr.* 68, 447S–463S. doi : 10.1093/ajcn/68.2.447S
- Simard, M., Laprise, C. et Girard, SL (2019). Impact de l'âge paternel à la conception sur la santé humaine. *Clin. Chim.* 65, 146–152. doi : 10.1373/clinchem.2018.294421
- Skanly V Anatoly , Anna L Mazaletskaya , Olga P Ajsuvakova , Geir Bjørklund , Margarita G Skalnaya , Jane C-J Chao , Lyubov N Chernova , Roza A Shakieva , Philippe Yu Kopylov , Andrey A Skalny , Alexey A Tinkov. Serum zinc, copper, zinc-to-copper ratio, and other essential elements and minerals in children with attention deficit/hyperactivity disorder (ADHD) .*Trace Elem Med Biol.* 2020. 58:126445.
- Skrajnowska, D ; Bobrowska-Korczak, B. Role of Zinc in Immune System and Anti-Cancer Defense Mechanisms. *Nutrients* 2019, 11, 2273; doi:10.3390/nu11102273
- Straughen, JK, Misra, DP, Divine, G., Shah, R., Perez, G., VanHorn, S., et al. (2017). L'association entre l'histopathologie placentaire et les troubles du spectre autistique. *Placenta* 57, 183–188. doi : 10.1016/j.placenta.2017.07.006
- Sweetman, DU, O'Donnell, SM, Lalor, A., Grant, T. et Greaney, H. (2019). Carence en zinc et en vitamine A dans une cohorte d'enfants atteints de troubles du spectre autistique. *Dév.* 45, 380–386. doi : 10.1111/cch.12655

T

- Tick, B., Bolton, P., Happe, F., Rutter, M. et Rijdsdijk, F. (2016). Héritabilité des troubles du spectre autistique : une méta-analyse d'études sur les jumeaux. *J. Child Psychol. Psychiatrie.* 57, 585–595. doi : 10.1111/jcpp.12499

V

- Vela, G., Stark, P., Socha, M., Sauer, AK, Hagemeyer, S. et Grabrucker, AM (2015). Le zinc dans l'interaction intestin-cerveau dans l'autisme et les troubles neurologiques. *Neural Plast.* 2015 :972791. doi: 10.1155/2015/972791
- Viktorinova, A ; Ursinyova, M ; Trebaticka, J ; Uhnakova, I ; Durackova, Z ; Masanova, V. Changed Plasma Levels of Zinc and Copper to Zinc Ratio and Their Possible Associations with Parent- and Teacher-Rated Symptoms in Children with Attention-Deficit Hyperactivity Disorder. *Biol Trace Elem Res* DOI 10.1007/s12011-015-0395-3.

W

- Walsh, W.J.; Isaacson, H.R.; Rehman, F.; Hall, A. Elevated blood copper/zinc ratios in assaultive young males. *Physiol. Behav.* 1997, 62, 327–329.
- Wilson, RL, Leemaqz, SY, Goh, Z., McAninch, D., Jankovic-Karasoulos, T., Leghi, GE, et al. (2017). Le zinc est un régulateur essentiel de la morphogénèse placentaire et de l'hémodynamique maternelle pendant la grossesse chez la souris. *Sci. Rep.* 7:15137. doi : 10.1038/s41598-017-15085-2
- Wu, S., Ding, Y., Wu, F., Li, R., Xie, G., Hou, J., et al. (2015). Les antécédents familiaux de maladies auto-immunes sont associés à un risque accru d'autisme chez les enfants : une revue systématique et une méta-analyse. *Neurosci. Biocomportement. Rév.* 55, 322–332. doi : 10.1016/j.neubiorev.2015.05.004

Y

- Yasuda, H., Yoshida, K., Yasuda, Y. et Tsutsui, T. (2011). Carence infantile en zinc : association avec les troubles du spectre autistique. *Sci. Rép.* 1:129. doi : 10.1038/srep00129
- Yasuda, H., et Tsutsui, T. (2013). Évaluation des déséquilibres minéraux infantiles dans les troubles du spectre autistique (TSA). *Int. J. Environ. Rés. Santé publique* 10, 6027–6043. doi : 10.3390/ijerph10116027

- Young-Moon, Mi ; Kim, Hg, Young-choi, Bo ; Sohn, M ; Chung, T ; Suh, S. Zinc Promotes Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cell Proliferation and Differentiation towards a Neuronal Fate. *Stem Cells International* Volume 2018, Article ID 5736535, 9 pages <https://doi.org/10.1155/2018/5736535>.