



TLEMCEM

N° d'Ordre _____



UNIVERSITÉ DE TLEMCEM – ABOU-BEKR BELKAÏD
FACULTÉ SNV-STU – DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE
LABORATOIRE DE BIOLOGIE MOLÉCULAIRE APPLIQUÉE ET IMMUNOLOGIE - BIOMOLIM

MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du grade de
Master en Sciences Biologiques
Spécialité Immunologie

Par :

Billami Farah

Soutenu le 29/06/2022

Intitulé :

**Exploration clinico-immunologique de la maladie de
parkinson**

Jury

Président	Benmansour souheila	MAA	Université de Tlemcen
Encadrant	Aribi Mourad	Professeur	Université de Tlemcen
Examinatrice	Nouari Wafa	MCB	Université de Tlemcen

Année universitaire 2021/2022

Dédicace

Avec l'aide de dieu tout puissant, j'ai pu achever ce travail que je dédie :

D'abord à la mémoire de mon cher défunt père.

A ma chère maman qui m'a encouragée dans mes études, vous m'avez permis d'arriver là où j'en suis et se passe par la suite

Vous êtes le meilleur cadeau que la vie m'a apporté,

Et à ma chère sœur et frère,

A ma copine Djihan avec qui j'ai passé mon parcours universitaire avec tous ses moments doux et difficiles

A tout la famille et toutes personnes que je connais

Remerciements

Avant tout je remercie dieu tout puissant pour m'avoir aidé à réaliser ce modeste travail.

Au niveau de laboratoire de recherche spécialité immunologie je tiens à remercier le directeur de laboratoire le professeur Monsieur Aribi Mourad. Pour m'avoir bien voulu encadré ce mémoire.

Je lui témoigne ma profonde reconnaissance pour ces précieux conseils, ses orientations bienveillantes, et sa disponibilité.

J'exprime ma profonde gratitude à Mme Benmansour souheila pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire.

Je tiens à remercier Mme Nouari wafaa Examinatrice pour l'attention qu'elle a bien voulu porter à ce travail en acceptant de faire partie du jury. Quelle trouve ici ma profonde reconnaissance et toute ma gratitude.

Un grand merci à Dr Mezouar, Mme Djelti et Mme Messali qui n'ont pas hésité à m'aider à la réalisation de ce travail.

Table des matières

Dédicace	1
Remerciements	2
Table des matières	3
Liste des figures.....	7
Liste des tableaux.....	7
Liste des abréviations.....	8
Abstract	9
Résumé.....	11
Introduction.....	11
Chapitre 1 : revue de littérature	13
1. La maladie de parkinson	13
1.1. Historique.....	13
1.2. Description de la maladie de parkinson.....	15
1.3. Aspects Cliniques.....	16
1.4. La physiopathologie de la maladie	16
1.4.1. Le rôle du système immunitaire dans la maladie de Parkinson.....	17
2. Nécroinflammation.....	20
2.1. Types de mort cellulaires	20
2.2. La relation entre la nécrose et l'inflammation	27
2.3. La nécroinflammation en tant que contributeur à neuroinflammation :.....	29
3. Rapports cellulaires et pronostiques des patients.....	31
3.1 Rapport neutrophile /lymphocyte « NLR ».....	31

3.2 Rapport lymphocyte /monocyte « LMR »	31
3.3 Rapport plaquette /lymphocyte « PLR »	32
4. Acides aminés et l'immunologie.....	33
5. Nécrose cellulaire	35
Chapitre 2 : Matériel et méthodes.....	38
1 Présentation de l'enquête.....	38
1 Analyses immuno-biochimiques.....	40
.1. Rapports cellulaires : NLR – LMR - PLR	40
.1.1. Prélèvement sanguin.....	40
.1.2. Matériel.....	40
.1.3. Confection des frottis	41
.1.4. Coloration MGG (May-Grünwald-Giemsa).....	43
.1.5. Lecture par microscope optique	44
.2. Acides aminés.....	45
.2.1. Prélèvement sanguin	45
.2.2. Préparation des échantillons	45
.2.3. Dosage des taux plasmatiques des acides aminés.....	45
.2.4. Buts.....	45
.3. Lactate déshydrogénase	49
.3.1. Prélèvement sanguin	49
.3.2. Préparation des échantillons	50
.3.3. Dosage quantitatif de lactate déshydrogénase	50
Chapitre 3 : Résultats.....	51
1. Rapport cellulaire et pronostique des patients.....	51

1.1.	Rapport « NLR »	51
1.1.	Rapport « LMR »	52
1.2.	Rapport « PLR »	53
2.	Acides aminés et immunité	54
3.	Nécrose cellulaire	55
	Chapitre 4 : Discussion	57
	Chapitre 05 : conclusion et perspectives	59
	Bibliographie	61
	Annexes	64

Liste des figures

Figure 1.1 : James Parkinson.....	13
Figure 1.2 : Couverture de Essay on Shaking Palsy la première description de la Maladie de Parkinson.....	13
Figure 1.3 : Dépigmentation du locus Niger	14
Figure 1.4 : Dépigmentation du locus Niger (SMART - Servier Medical ART).....	15
Figure 1.5 : Corps de Lewy (d'après Lewy Body Dementia Research Center of Excellence.)	15
Figure 1.6 : Représentation schématique des interactions entre les cellules gliales et les cellules immunitaires dans la MP. (D'après Adina N. MacMahon Copas et al 2021)	19
Figure 1.7 : Un résumé des principaux composants des voies intrinsèques et extrinsèques de l'apoptose. (D'après Marc S D'Arcy 2019).....	22
Figure 1.8 : Classification des types de mort cellulaire (d'après Yunseo Woo et al 2020).....	26
Figure 1.9 : la mort cellulaire nécrotique régulée (RNCD) (d'après Yunseo Woo et al 2020)	28
Figure 1.10 : La structure cristalline de la LDH (d'après Anna Feldman Salit et al mai 2013)	36
Figure 2.1 : Localisation géographique de la Wilaya de Tlemcen.....	39
Figure 2.2 : Échantillons de sang.....	40
Figure 2.3 : Les étapes de la réalisation de frottis sanguin.....	42
Figure 2.4 : Coloration MGG	43
Figure 2.5 : Lecture par microscope optique (optika)	44
Figure 3.1 : rapport NLR chez des témoins et des patients parkinsoniens.....	51
Figure 3.2 : rapport LMR chez des témoins et des patients parkinsoniens.....	52
Figure 3.3 : rapport PLR chez des témoins et des patients parkinsoniens	53
Figure 3.4 : Teneur plasmatiques de trois acides aminés chez des patients atteints de MP comparés aux témoins sains.	54

Liste des tableaux

- Tableau 1.** – Exemples de maladies inflammatoires dans lesquelles l'apoptose, la nécroptose, la pyroptose ou la ferroptose sont impliquées.
- Tableau 2.** – Les acides aminés et leurs rôles.
- Tableau 3.** – Caractéristiques de la population étudiée
- Tableau 4.** – rapport NLR, LMR; PLR chez des témoins et des patients parkinsoniens

Liste des abréviations

AA : acide aminé

ARG : arginine

CD 4⁺ / 8⁺ : cluster de différenciation 4⁺ / 8⁺

CHU : centre hospitalier universitaire.

CMH 1 / 2 : complexe majeur d'histocompatibilité 1 / 2

CTL : lymphocyte T cytotoxique

DAMP : Danger Associated Molecular Pattern

DC : cellule dendritique

GLN : glutamine

MND : maladie neurodégénérative

MP : la maladie de parkinson

NCCD : le Comité de nomenclature sur la mort cellulaire

PAMP : pathogen associated molecular patterns

RNCD : la mort cellulaire nécrotique régulée

PRR : Pattern Recognition Receptors

SN : substantia nigra

SNC : système nerveux central

TCR : Le récepteur des lymphocytes T

THR: Thréonine

WBC: White blood cell count

Abstract

Introduction: Parkinson's disease is a neurodegenerative disease characterized by destruction of a specific population of neurons: the dopamine neurons of the substantia nigra of the brain.

Purpose: To determine the clinical and immunological relevance of necroinflammation in the Parkinson's disease by highlighting human serum immune biomarkers potentials.

Objectives: In this clinico-immunological study, we examine necroinflammation in Parkinson's disease.

Materials and methods: The study included twenty Parkinson's patients and twenty healthy people (controls), according to a matching of age and sex. Recruitment was at the center level medical university of Tlemcen.

Results: There is no increase in inflammation markers, cell ratios or markers of necrosis lactate dehydrogenase but an increase in the plasma levels of certain amino acids (arginine and glycine and threonine) in patients.

Conclusion: As initial notes we highlighted that the markers necroinflammation were stable in parkinsonian patients.

Keywords: Parkinson's disease - necroinflammation - necrosis - inflammation

Résumé

Introduction : la maladie de parkinson est une maladie neurodégénérative caractérisée par la destruction d'une population spécifique de neurones: les neurones à dopamine de la substance noire du cerveau.

But : déterminer la pertinence clinique et immunologique de la nécroinflammation dans la maladie de Parkinson en mettant en évidence les biomarqueurs immunitaires sériques humains potentiels.

Objectifs : Dans cette étude clinico-immunologique, nous examinons la nécroinflammation dans la maladie de parkinson.

Matériel et méthodes : l'étude a inclus vingt patients parkinsoniens et vingt personnes saines (témoins), selon nations assorties d'âge et de sexe. Le recrutement a été au niveau du centre médical universitaire de Tlemcen.

Résultats : y'a pas une augmentation des marqueurs d'inflammation les rapports cellulaires ou des marqueurs de nécrose le lactate déshydrogénase mais on a distingué une augmentation du taux plasmatique de certains acides aminés (arginine et glycine et thréonine) chez les patients.

Conclusion : nous avons mis en évidence que les marqueurs de nécroinflammation étaient absent chez les patients parkinsoniens

Mots-clés : maladie de parkinson – nécroinflammation – nécrose – inflammation

Introduction

Les maladies neurodégénératives représentent une menace majeure pour la santé humaine. Ces troubles liés à l'âge deviennent de plus en plus fréquents, en partie parce que la population âgée a augmenté ces dernières années. Des exemples de maladies neurodégénératives sont la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, (Gitler, Dhillon, et Shorter 2017)

La maladie de Parkinson est définie comme une déficience en dopamine résultant d'une lésion ou d'une dégénérescence des neurones dopaminergiques du mésencéphale dans la partie compacte de la substance noire. (Cannon et Greenamyre 2010)

La maladie de Parkinson ne se présente pas de manière stable au cours de l'histoire naturelle de la maladie. L'apparition des symptômes et des signes cliniques de la maladie est insidieuse, et le patient parkinsonien voit son état évoluer au fil des années. Classiquement, la maladie débute par une première série de signes inauguraux qui évoluent avec le temps sous forme de complications, tandis que les signes tardifs n'apparaissent qu'après des années d'évolution.

La diversité de la morphologie de la mort cellulaire dans la neurodégénérescence est souvent négligée et de nombreux auteurs ne considèrent encore que deux types, l'apoptose et la nécrose.

L'apoptose et la nécrose sont deux modes de mort cellulaire classiquement décrits au cours de la perte neuronale pathologique. Malgré les différences que l'on peut observer entre ces deux processus, il semble de plus en plus probable qu'ils empruntent des voies moléculaires communes. (Przedborski, Vila, et Jackson-Lewis 2003)

Lors d'une mort non physiologique causée par des substances toxiques ou d'autres traumatismes, on observe plutôt la nécrose, et cela généralement dans un groupe de cellules. L'altération des membranes cellulaires, l'absence d'utilisation d'ATP, la perte de l'homéostasie ionique et, enfin, le gonflement et la lyse cellulaires sont des caractéristiques de la mort nécrotique. (Pelletier et Vallette 2001)

La présente étude a porté sur la pertinence clinique de la nécroinflammation au cours de la maladie de Parkinson en mettant en évidence les marqueurs sériques humains potentiels.

Chapitre 1 : revue de littérature

1. La maladie de parkinson

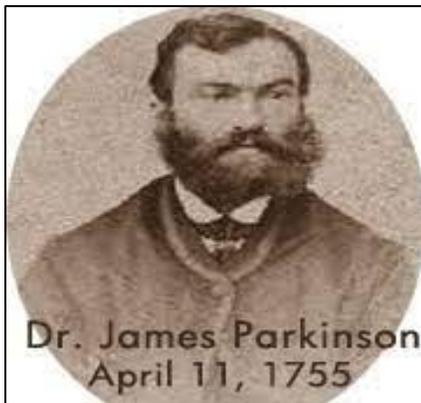
1.1. Historique

Auguste comte a écrit :

«On ne connaît pas complètement une science tant qu'on n'en sait pas l'histoire».

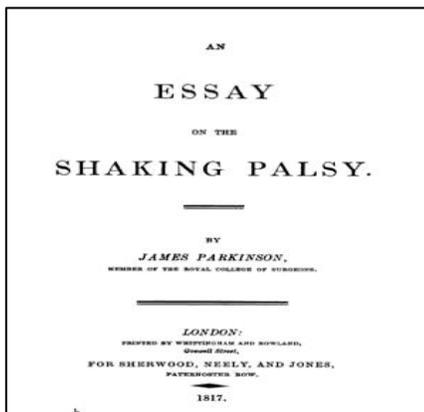
1.1.1. Sur le plan clinique :

La maladie de Parkinson et ses manifestations sont connues depuis longtemps. Elle était déjà référée au système médical indien antique de l'Ayurveda sous le nom de « Kampavata ». Elle était alors traitée par une plante, mucuna pruriens, aujourd'hui connue comme source de L-dopa.



En ce qui concerne la littérature médicale occidentale, la maladie de parkinson fût pour la première fois décrite par le physicien Galen dans des écrits sur ce qu'il appela la "paralysie agitante « (shaking palsy) en l'an 175 après J-C. Ce n'est qu'en 1817 que le médecin londonien James Parkinson publia un essai médical détaillé sur la paralysie agitante ».

Figure 1.1 : James Parkinson



Ce n'est que soixante ans plus tard qu'un neurologue français Jean Marten Charcot, reconnut l'importance des travaux de James Parkinson et nomma ainsi cette affection: "maladie de Parkinson". (Goetz 2011)

Figure 1.2 : Couverture de Essay on Shaking Palsy la première description de la Maladie de Parkinson

1.1.2. Sur le plan anatomique :

En 1919, Tretiakoff montre que le processus lésionnel se situe dans la partie profonde du cerveau, au niveau du tronc cérébral, dans une région de mésencéphale appelé locus niger ou substance noire, avec perte neuronale, dépigmentation et réaction gliale.

Macroscopiquement, cette atteinte est mise en évidence par une dépigmentation progressive principalement du locus Niger, mais aussi d'autres régions (locus ceruleus, noyau dorsal du vague). En effet, les neurones producteurs de dopamine dans ces régions contiennent un pigment, la neuromélanine, qui confère à celles-ci leur coloration sombre.

Microscopiquement, la quantité de neurone dopaminergique est fortement diminuée, et de petits dépôts extracellulaires de neuromélanine sont relâchés par les neurones apoptotiques. Les neurones restants sont atrophiques et contiennent des inclusions cytoplasmiques circulaires appelées corps de Lewy. Un certain degré de gliose peut également être observé. (« Succès de la conférence du professeur Emmanuel Broussolle » 2014)

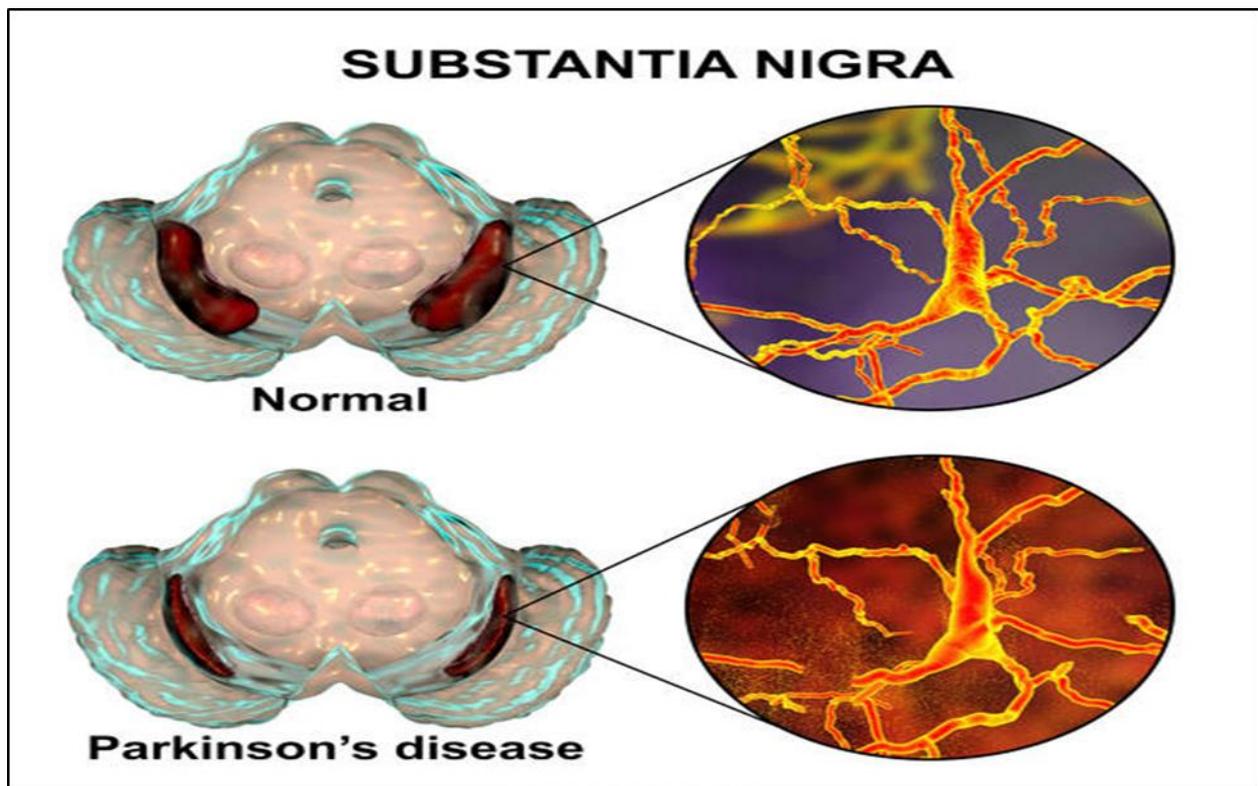


Figure 1.3 : Dépigmentation du locus Niger

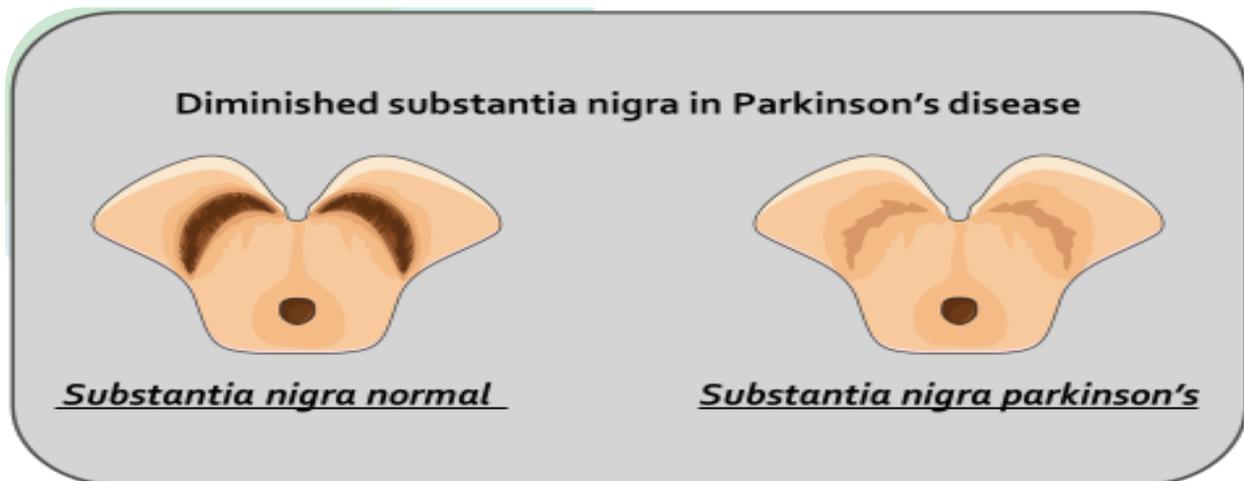


Figure 1.4 : Dépigmentation du locus Niger (SMART - Servier Medical ART)

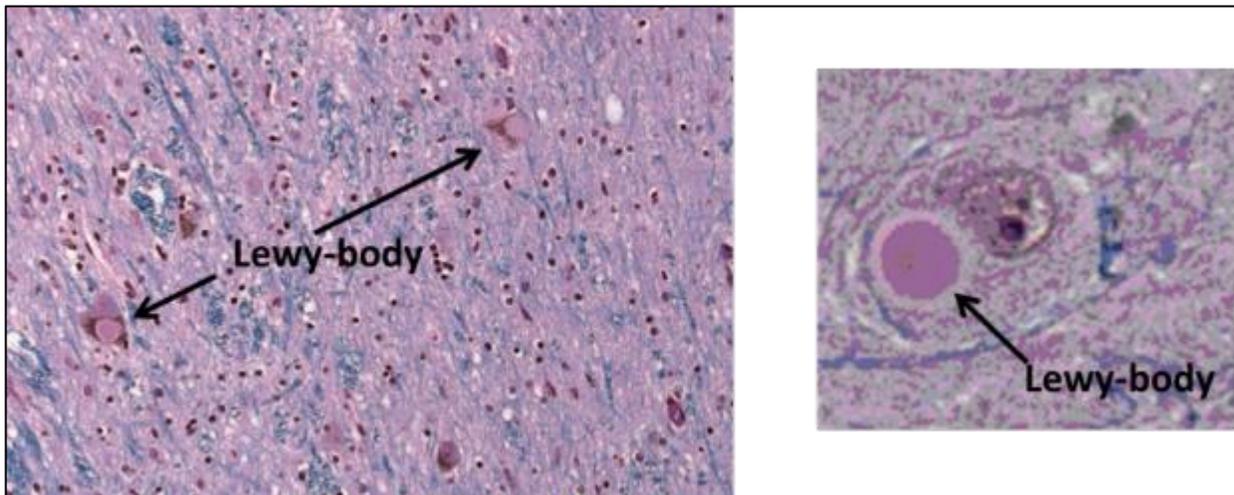


Figure 1.5: Corps de Lewy (d'après Lewy Body Dementia Research Center of Excellence.)

1.2. Description de la maladie de parkinson

C'est la deuxième maladie neurodégénérative la plus fréquente après la maladie d'Alzheimer. C'est une maladie neurologique à progression lente .Et aussi considérée comme une affection du système nerveux central à caractère dégénératif, affectant les personnes principalement dans les dernières années de la vie.(Kemoun et Defebvre 2001)

Cette maladie est caractérisée par la perte progressive de cellules nerveuses qui produisent une substance chimique appelée dopamine, impliquée dans le contrôle des mouvements automatiques. C'est la deuxième cause de handicap moteur chez le sujet âgé après les AVC (accidents vasculaires cérébraux).(DeMaagd et Philip 2015)

Elle est diagnostiquée en moyenne à 55 ans, ET Plus d'hommes que de femmes sont diagnostiqués avec la maladie de Parkinson (MP), et un certain nombre de différences entre les sexes ont été documentées dans ce trouble. (Miller et Cronin-Golomb 2010)

1.3.Aspects Cliniques

Les caractéristiques cliniques historiquement associées à la MP sont la triade des symptômes moteurs, à savoir les tremblements, la rigidité et la bradykinésie, avec une instabilité posturale apparaissant souvent à mesure que la maladie progresse. Cependant, la MP est également associée à de nombreux symptômes non moteurs, et ceux-ci précèdent souvent les symptômes moteurs de plusieurs années.(Stoker et Greenland 2018)

Les symptômes sont généralement classés en symptômes moteurs et non moteurs, et certains des symptômes peuvent être provoqués ou aggravés par le traitement dopaminergique.

Au fur et à mesure que la maladie progresse, les symptômes moteurs s'aggravent avec le temps, avec l'apparition de nouvelles complications associées au traitement à long terme par la lévodopa. Ceux-ci incluent les fluctuations non motrices, les dyskinésies et les psychoses qui sont plus difficiles à gérer. À un stade avancé de la maladie, les symptômes moteurs et non moteurs peuvent devenir résistants aux médicaments actuels. L'instabilité posturale et le blocage de la marche peuvent entraîner des chutes et des fractures, tandis que la démence et les hallucinations peuvent se développer chez certains patients, ce qui justifie parfois le placement en maison de retraite.

Les symptômes non moteurs sont courants au début de la maladie de Parkinson, mais ils progressent également et deviennent plus difficiles à gérer. Les premiers symptômes non moteurs comprennent une altération de la capacité olfactive, un dysfonctionnement autonome, de la douleur, de la fatigue, des troubles du sommeil et des troubles cognitifs et psychiatriques.

Il y'a des caractéristiques cliniques qui apparaissent plus souvent chez les hommes que chez les femmes comprennent la rigidité et le trouble du comportement des mouvements oculaires rapides, alors que plus de femmes que d'hommes présentent des dyskinésies et une dépression. (Stoker et Greenland 2018)

1.4. La physiopathologie de la maladie

Dans la maladie de Parkinson, les cellules nerveuses d'une partie des ganglions de la base (le locus Nigro) se détériorent. Les ganglions de la base sont des regroupements de cellules nerveuses situés dans les profondeurs du cerveau. Ils sont responsables de :

- Débuter et harmoniser les mouvements musculaires volontaires ;
- Supprimer les mouvements involontaires ;
- De coordonner les changements de posture.

Lorsque le cerveau émet une impulsion pour mobiliser un muscle , le signal passe par les ganglions de la base. Comme toutes les autres cellules nerveuses, celles des ganglions de la base sécrètent des médiateurs chimiques (neurotransmetteurs) qui stimulent la cellule nerveuse suivante le long de la voie nerveuse, permettant ainsi la diffusion du signal. Un neurotransmetteur clé des ganglions de la base est la dopamine, dont le principal effet est d'augmenter les impulsions nerveuses qui atteignent les muscles.

Lorsque les cellules nerveuses des ganglions de la base se détériorent, elles génèrent moins de dopamine, et le nombre de connexions entre les cellules nerveuses des ganglions de la base se réduit. En conséquence, les ganglions de la base ne peuvent plus diriger les mouvements musculaires comme ils le font normalement, ce qui conduit à des tremblements, des mouvements lents (bradykinésie), une tendance à moins bouger (hypokinésie), des problèmes de posture et de marche et une certaine perte de coordination.(« Maladie de Parkinson (MP) - Troubles du cerveau, de la moelle épinière et des nerfs » s. d.)

La MP se caractérise pathologiquement par la dégénérescence d'une connexion neuronale, plus spécifiquement les neurones dopaminergiques entre la substance noire (SN) et le striatum. Les scientifiques ont déterminé qu'une grande majorité des cellules productrices de dopamine dans la substantia nigra sont perdues chez les patients avec la maladie de Parkinson. Au fur et à mesure que ces neurones sont détruits, les signes cliniques qui caractérisent la MP tels que les mouvements ralentis, la rigidité et les tremblements commencent à apparaître.

Une autre marque neuropathologique clé de la MP est la formation de corps de Lewy, qui sont des inclusions cytoplasmiques. Principalement composé de la protéine α -synucléine (protéine humaine est relativement abondant dans le cerveau et principalement exprimé dans les terminaisons nerveuses pré-synaptiques, qui aide les cellules nerveuses à communiquer). Les corps de Lewy sont présents dans les neurones dopaminergiques du SN et d'autres régions du cerveau.

L' α -synucléine est une abondante protéine neuronale qui peut former des agrégats protéiques pathologiques dans un groupe de maladies neurodégénératives appelées synucléinopathies. La maladie de Parkinson représente la principale synucléinopathie. De très nombreuses études suggèrent que l' α -synucléine joue un rôle direct dans la pathogenèse de la maladie de Parkinson en induisant un dysfonctionnement neuronal et la mort des neurones les plus vulnérables : les neurones dopaminergiques de la substance noire, dont la perte est responsable des symptômes moteurs de la maladie. (Schulz et Falkenburger 2004)

1.4.1. Le rôle du système immunitaire dans la maladie de Parkinson

Le système immunitaire est divisé en bras inné et adaptatif qui coopèrent pour se défendre contre l'infection, mais lorsqu'ils sont dérégulés, les réponses immunitaires peuvent être des contributeurs importants aux maladies. Le système immunitaire inné représente la première ligne de défense de l'organisme contre les agents pathogènes envahisseurs, il est composé de nombreux types de cellules qui remplissent des fonctions telles que la phagocytose et la présentation des antigènes. Les cellules immunitaires innées comprennent les cellules dendritiques, les macrophages et également la microglie, qui peuvent être activées via PRR reconnaissant non seulement PAMPS mais également DAMPS endogène, y compris α -synucléine.

D'autre part, l'immunité adaptative constituée de lymphocytes B et T fournit une réponse hautement spécifique et ciblée capable de faire face à une variété d'infections intracellulaires ou extracellulaires différentes. Les lymphocytes T, qui sont soit $CD4^+$, soit $CD8^+$, sont initialement naïfs jusqu'à ce que leur récepteur des lymphocytes T (TCR) reconnaisse son antigène spécifique présenté par les cellules présentatrices d'antigène via les molécules du CMH. En général, les antigènes endogènes tels que ceux des virus sont présentés via MHCI aux cellules T $CD8^+$ tandis que les antigènes exogènes sont présentés via MHCII aux cellules T $CD4^+$. Toutes les cellules du corps expriment MHCI et peuvent activer Les cellules T $CD8^+$ alors que seules les cellules

professionnelles présentant l'antigène, y compris les cellules dendritiques, les macrophages, les cellules B et les cellules microgliales, expriment MHCII et ont la capacité d'activer les cellules T CD4. Une fois initialement activés dans les organes lymphoïdes secondaires, les lymphocytes T naïfs se différencient en cellules effectrices dotées de fonctionnalités spécifiques adaptées à l'infection. Les lymphocytes T CD4⁺ se différencient en l'un des sous-types T-helper ; Cellules Th1, Th2, Th17 qui produisent diverses cytokines et apportent une aide aux cellules B. Les cellules T CD8⁺ se différencient en lymphocytes T cytotoxiques qui induisent l'apoptose des cellules infectées sans affecter les cellules saines adjacentes. Les cellules B naïves, une fois activées par leur antigène spécifique et avec l'aide des cellules T auxiliaires, se différencient en plasmocytes, produisant des anticorps qui ciblent spécifiquement l'antigène et favorisent la clairance par phagocytose. Une fois activés et différenciés dans les organes lymphoïdes, les lymphocytes T et B circulent vers les tissus où ils se réactivent à la rencontre d'un antigène et remplissent leurs fonctions effectrices. Ainsi, le système immunitaire a évolué pour faire face efficacement à l'infection, mais divers facteurs génétiques et autres peuvent conspirer pour entraîner une inflammation inappropriée ou chronique en réponse à des protéines altérées ou à des auto-antigènes qui se manifestent dans une maladie auto-immune et inflammatoire. La neuroinflammation associée à des troubles tels que la MP attire les cellules immunitaires périphériques vers le SNC.

Au cours de la dernière décennie, il y a eu de plus en plus de preuves du rôle des lymphocytes T dans la pathogenèse de la MP. Malgré leur rôle important dans le système immunitaire adaptatif, il existe peu de preuves de l'implication des cellules B dans la MP. Brochard et al. ont identifié à la fois les lymphocytes T CD8⁺ et CD4⁺, mais pas les lymphocytes B ni les cellules tueuses naturelles dans le tissu cérébral post-mortem des patients atteints de MP.

Les cellules gliales sont cruciales pour le maintien de l'homéostasie dans le SNC et la perturbation de celle-ci est liée à de nombreuses maladies du SNC. Il semble y avoir peu de preuves disponibles décrivant les interactions potentielles entre les cellules immunitaires périphériques et la glie dans la MP. Une étude récente a démontré les capacités de présentation d'antigène dans les astrocytes. Des astrocytes exprimant MHCII ont été identifiés à proximité immédiate des lymphocytes T CD4⁺ dans le tissu cérébral post-mortem de patients atteints de MP et des astrocytes humains cultivés exposés à des fibrilles préformées d' α -synucleine ont exprimé les

structures de co-stimulation des lymphocytes T, CD80, CD86, et CD40 , suggérant la capacité d'activer les Cellules T CD4 +.(MacMahon Copas et al. 2021)

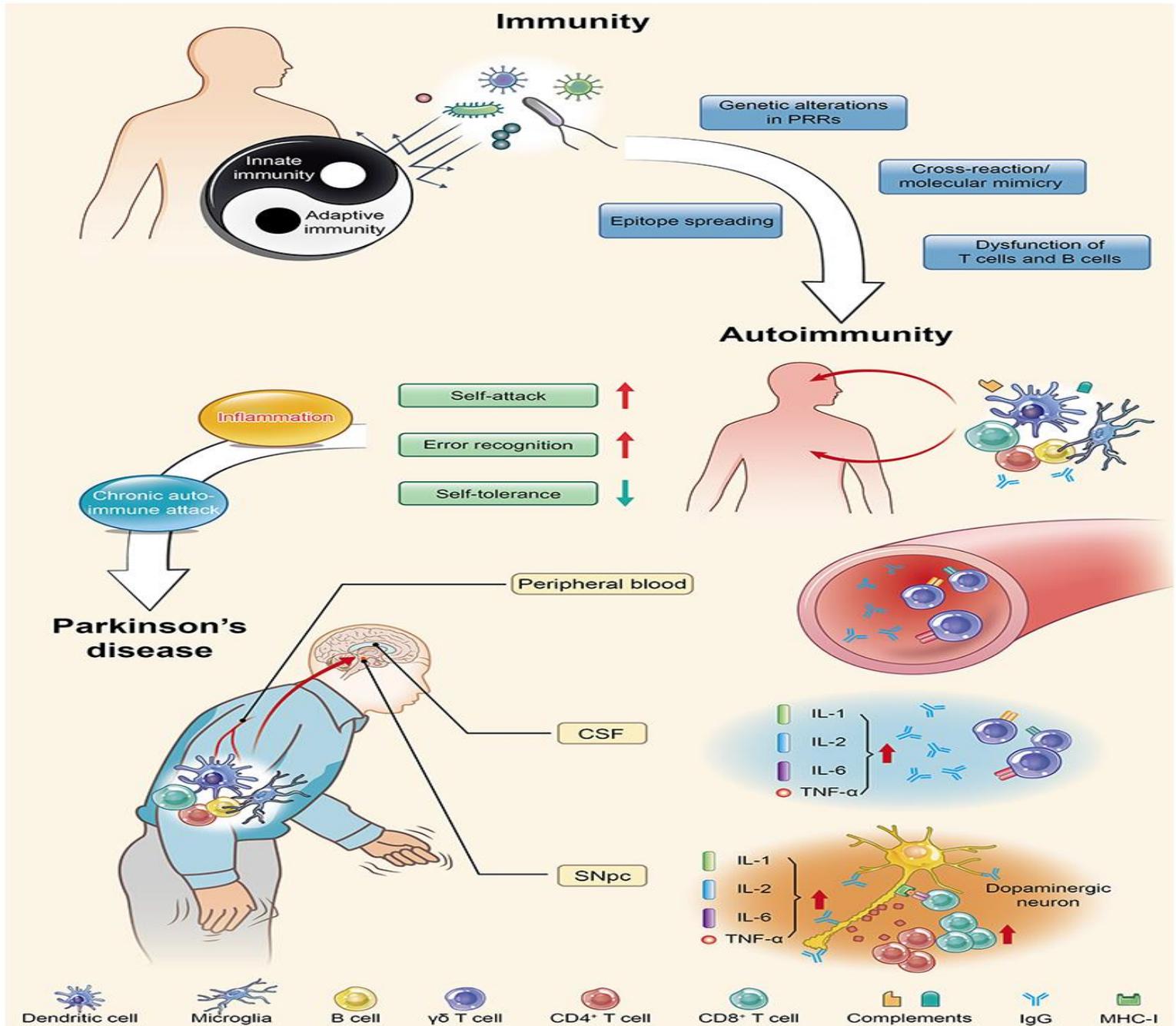


Figure 1.6 : Représentation schématique des interactions entre les cellules gliales et les cellules immunitaires dans la MP. (D'après Tianfang Jiang et al 2018)

2. Nécroinflammation

2.1.Types de mort cellulaires

On croyait autrefois que la mort cellulaire était le résultat de l'un des deux processus distincts, l'apoptose (également connue sous le nom de mort cellulaire programmée) ou la nécrose (mort cellulaire incontrôlée); ces dernières années, cependant, plusieurs autres formes de mort cellulaire ont été découvertes, soulignant qu'une cellule peut mourir par un certain nombre de voies différentes.

Au cours de la dernière décennie, le Comité de nomenclature sur la mort cellulaire (NCCD) a formulé des lignes directrices pour la définition et l'interprétation de la mort cellulaire d'un point de vue morphologique, biochimique et fonctionnel. Étant donné que le domaine continue de s'étendre et que de nouveaux mécanismes qui orchestrent plusieurs voies de mort cellulaire sont dévoilés, y compris : l'apoptose, la nécrose, la nécroptose, la ferroptose, la pyroptose....

2.1.1. L'apoptose

L'apoptose est caractérisée par un certain nombre de changements morphologiques caractéristiques dans la structure de la cellule, ainsi qu'un certain nombre de processus biochimiques dépendants des enzymes. Le résultat étant la clairance des cellules du corps, avec un minimum de dommages aux tissus environnants.

Le mot apoptose a été utilisé pour la première fois en 1972 par Kerr, Wyllie et Currie pour décrire un type morphologiquement distinct de mort cellulaire. L'apoptose est le processus par lequel une cellule cesse de croître et de se diviser et entre à la place dans un processus qui aboutit finalement à la mort contrôlée de la cellule sans déversement de son contenu dans l'environnement environnant. L'apoptose est aussi parfois appelée mort cellulaire programmée (ou plus familièrement « suicide cellulaire »). L'initiation de l'apoptose dépend de l'activation d'une série de protéases à cystéine-aspartique appelées caspases. Il y a deux catégories de caspases, les caspases initiatrices et les caspases exécuteurs. Une fois les dommages cellulaires détectés, les caspases initiatrices (caspases 8 et 9) sont activées à partir des pro-caspases

inactives et activent les caspases exécuteurs (caspases 3, 6 et 7). L'activation des caspases du exécuteur initie une cascade d'événements qui se traduit par la fragmentation de l'ADN à partir de l'activation des endonucléases, la destruction des protéines nucléaires et du cytosquelette, la réticulation des protéines, l'expression de ligands pour les cellules phagocytaires et la formation de corps apoptotiques (Poon et al. 2014). D'une manière générale, l'apoptose peut être distinguée de la forme non programmée de mort cellulaire.

Dans l'apoptose, les corps apoptotiques contenant le contenu de la cellule morte peuvent être phagocytés par les cellules environnantes, bien que ce comportement soit observé principalement dans la culture cellulaire, les cellules *in vivo* telles que les macrophages éliminent souvent les cellules apoptotiques avant qu'elles ne se fragmentent. Il en résulte un confinement du tissu lésé et, par conséquent, réduit le risque de dommages collatéraux aux cellules environnantes.

Le processus d'apoptose est hautement conservé dans les organismes multicellulaires et est génétiquement contrôlé. L'apoptose peut être initiée par la cellule elle-même lorsqu'elle détecte des dommages via un certain nombre de capteurs intracellulaires ; un mécanisme connu sous le nom de voie intrinsèque. Alternativement, elle peut résulter de l'interaction entre une cellule du système immunitaire et une cellule endommagée, appelée voie extrinsèque de l'apoptose. Dans le corps humain, on estime qu'environ 1×10^9 cellules subissent une apoptose par jour. Les voies intrinsèques et extrinsèques de l'apoptose fonctionnent en synergie pour garantir que les organismes multicellulaires restent sains et que les cellules défectueuses sont éliminées du corps. L'incapacité à réguler l'apoptose peut entraîner les pathologies présentées dans de nombreuses maladies.(D'Arcy 2019)

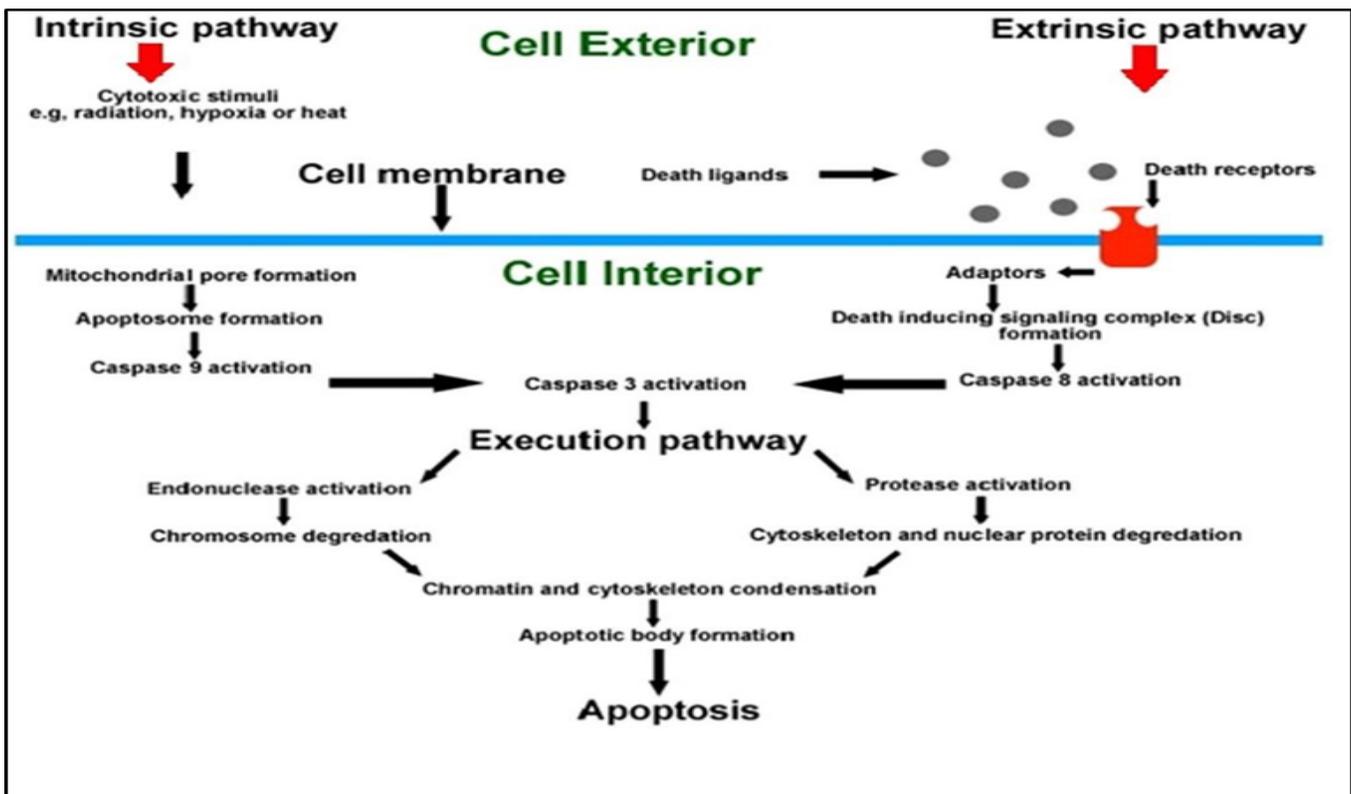


Figure 1.7 : Un résumé des principaux composants des voies intrinsèques et extrinsèques de l'apoptose. (D'après Marc S D'Arcy 2019)

2.1.2. La nécrose

La nécrose, cependant, est généralement caractérisée comme étant la mort incontrôlée de la cellule, habituellement à la suite d'une agression grave, entraînant le déversement du contenu de la cellule dans les tissus environnants et leur endommagement ultérieur. (Galluzzi et al. 2018)

Contrairement à l'apoptose, la nécrose est une alternative incontrôlée et une forme de mort cellulaire induite par une blessure externe, telle que hypoxie ou inflammation. Ce processus implique souvent une régulation à la hausse de divers facteurs pro-inflammatoires protéiques et composés, tels que le facteur nucléaire- κ B, entraînant la rupture de la membrane cellulaire provoquant déversement du contenu de la cellule dans les zones environnantes, entraînant une cascade d'inflammation et de lésions tissulaires. Contrairement à l'apoptose, la nécrose est une maladie indépendante de l'énergie. Forme de mort cellulaire, où la cellule est si gravement endommagée par un choc soudain (rayonnement, chaleur, produits chimiques, hypoxie, etc.) qu'il est incapable de fonctionner. La cellule répond généralement par gonflement, (un processus connu sous le nom d'oncose) car il ne parvient pas à maintenir homéostasie avec son environnement.(D'Arcy 2019)

Cette définition de la nécrose en tant que contrepoint à l'apoptose est un concept utile, cependant, car la nécrose est généralement observée comme un état final dans la culture

cellulaire par la présence de fragments cellulaires dans le milieu, ce qui est décrit dans de nombreux cas dans un contexte de culture cellulaire comme la nécrose est souvent simplement le reste de cellules apoptotiques tardives dont les corps apoptotiques ont perdu leur intégrité. In vivo, ces corps apoptotiques seraient phagocytés en patrouillant des globules blancs, cependant, dans les environnements de population de cellules uniques trouvés en culture, cela ne se produit pas, ce qui peut confondre le diagnostic du mécanisme exact de la mort cellulaire.

2.1.3. La nécroptose

La nécroptose est une forme de nécrose régulée qui peut être activée par des ligands de récepteurs de mort et des stimuli qui induisent l'expression des ligands des récepteurs de la mort dans des conditions déficientes en apoptose. Activation de la nécroptose par les ligands des récepteurs de la mort nécessite l'activité kinase de RIP1, qui médie l'activation de RIP3 et MLKL, deux médiateurs critiques en aval de la nécroptose.

C'est un processus d'autodestruction cellulaire qui est activé lorsque l'apoptose est autrement empêchée. La nécroptose est distincte de l'apoptose et d'autres formes de mort cellulaire nécrotique programmée en ce qu'elle progresse indépendamment de l'activité de la caspase. Au lieu de cela, il nécessite la phosphorylation dépendante de RIPK3 (Récepteur à activité Sérine-thréonine kinase 3) de MLKL (protéine de type domaine kinase à lignée mixte). Cet événement de phosphorylation permet à MLKL de générer un complexe de pores dans la membrane plasmique conduisant à la sécrétion de DAMP, au gonflement des cellules et à la rupture de la membrane. On peut observer différentes étapes de dégradation cellulaire au cours de la nécroptose, notamment le gonflement des organites, la rupture de la membrane cellulaire et, éventuellement, la désintégration du cytoplasme et du noyau

La nécroptose est de nature hautement immunogène et est utile comme mécanisme de défense de l'hôte contre les virus et autres agents pathogènes. Il a été démontré qu'il se produit lorsque la machinerie virale inhibe l'activité de la caspase, permettant ainsi à la cellule de s'autodétruire pour limiter la réplication virale. La nécroptose a également été détectée dans d'autres conditions pathologiques, y compris les maladies inflammatoires, la neurodégénérescence et le cancer.(Frank et Vince 2019)id

2.1.4. La pyroptose

La pyroptose est une forme inflammatoire de mort cellulaire induite par l'activation de l'inflammasome et qui joue un rôle protecteur dans la réponse de l'hôte à l'infection, mais peut également favoriser l'inflammation pathogène. (den Hartigh et Fink 2018)

Par définition, la pyroptose est une forme pro-inflammatoire de la mort cellulaire qui repose sur l'activité enzymatique des agents inflammatoires protéases qui appartiennent à la famille des protéases spécifiques de l'aspartate dépendantes de la cystéine (caspase). Le terme «pyroptose» a été inventé pour la première fois en 2001 et provient des racines grecques « pyro » - relatives au feu ou fièvre — et « ptosis » (to-sis) — pour désigner une chute — reflétant ainsi la nature inflammatoire de cette forme de mort cellulaire. Il convient de noter que la perméabilisation précoce de la membrane plasmique des cellules pyroptotiques est partagée par d'autres formes immunogènes indépendantes de la caspase de la mort cellulaire, telles que la nécroptose et la nécrose accidentelle.(Vande Walle et Lamkanfi 2016)

Elle est caractérisée par la formation de pores membranaires médiés par la gasdermine D (GSDMD), un gonflement cellulaire et une lyse rapide, suivis de la libération massive de médiateurs pro-inflammatoires tels que l'interleukine-1 β et l'interleukine. -18.

Il existe deux voies principales de pyroptose : la voie canonique médiée par la caspase-1 et la voie non canonique médiée par la caspase-4/5/11. La pyroptose peut non seulement provoquer une inflammation locale, mais également conduire à une amplification de la réponse inflammatoire. (Wang et al. 2020)

2.1.5. La ferroptose

La ferroptose est une forme récemment reconnue de mort cellulaire régulée. Il se caractérise morphologiquement par la présence de mitochondries plus petites que la normale avec des densités de membranes mitochondriales condensées, une réduction ou une disparition de la crête des mitochondries et une rupture de la membrane mitochondriale externe.

La ferroptose est provoquée par la peroxydation lipidique fer-dépendante c'est à dire s'accompagne généralement d'une grande quantité d'accumulation de fer et de peroxydation lipidique au cours du processus.

La mort cellulaire peut être exécutée par différents sous-programmes. Depuis la description de la ferroptose comme une forme de mort cellulaire non apoptotique dépendante du fer en 2012, le processus et la fonction de la ferroptose suscitent un intérêt croissant. La ferroptose peut se produire par deux voies principales, la voie extrinsèque ou dépendante du transporteur et la voie intrinsèque ou régulée par les enzymes. La ferroptose est causée par un déséquilibre redox entre la production d'oxydants et d'antioxydants, qui est entraîné par l'expression et l'activité anormales de plusieurs enzymes actives redox qui produisent ou détoxifient les radicaux libres et les produits d'oxydation des lipides .(Tang et al. 2021)

Donc Les facteurs induisant la ferroptose peuvent affecter directement ou indirectement la glutathion peroxydase par différentes voies, en entraînant une diminution de la capacité antioxydante et une accumulation d'espèces lipidiques réactives de l'oxygène (ROS) dans les cellules, conduisant finalement à la mort cellulaire oxydative. Des études récentes ont montré que la ferroptose est étroitement liée aux processus physiopathologiques de nombreuses maladies, telles que les tumeurs, les maladies du système nerveux, les lésions rénales et les maladies du sang. (J. Li et al. 2020)

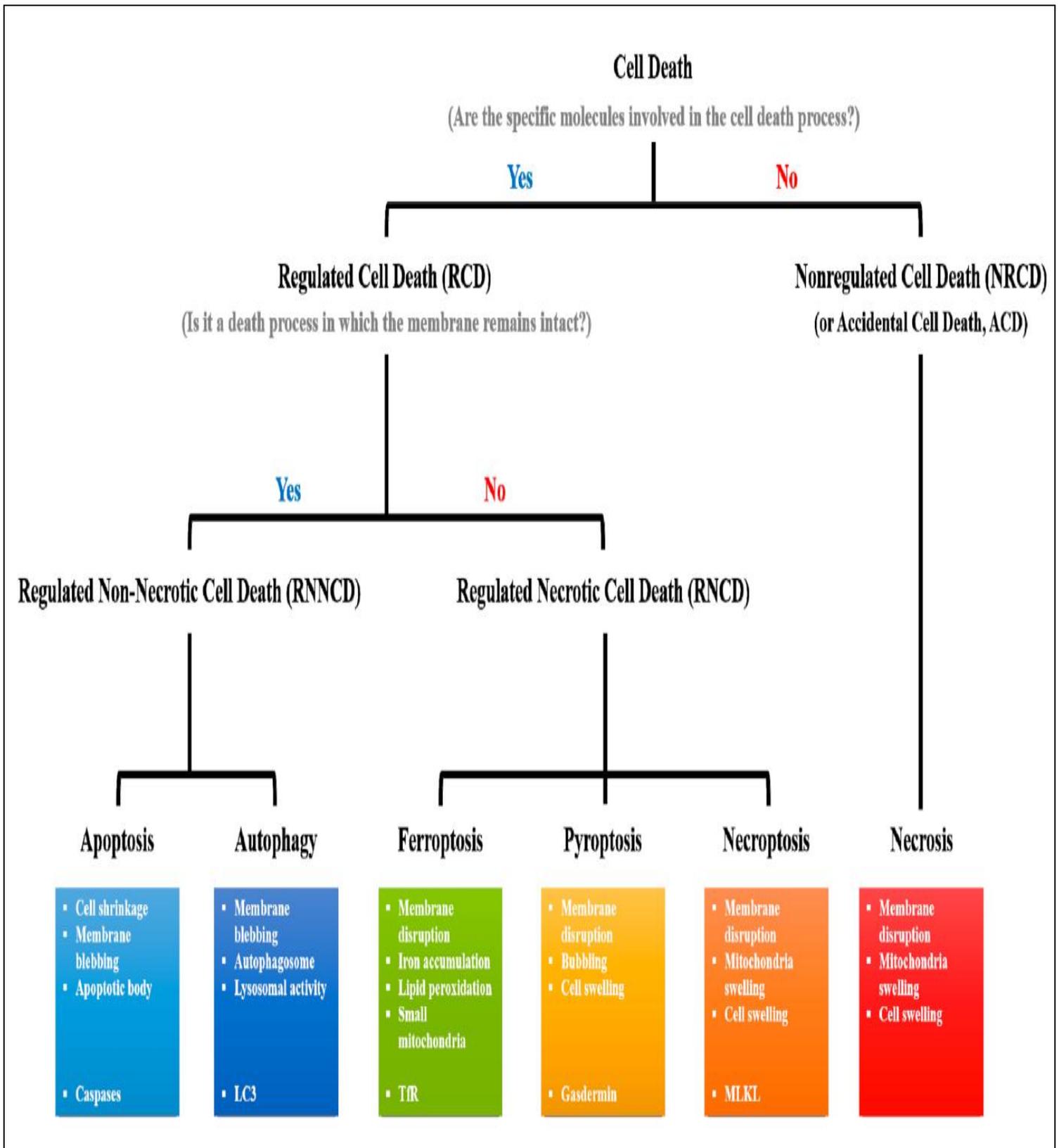


Figure 1.8 : Classification des types de mort cellulaire (d'après Yunseo Woo et al 2020)

2.2. La relation entre la nécrose et l'inflammation

La mort cellulaire qui n'est pas programmée sur le plan du développement est un signe de stress. L'inflammation est une réaction du système immunitaire induite en réponse à une infection ou à une lésion tissulaire qui est essentielle pour une défense efficace de l'hôte et la réparation des tissus. Cependant, des réponses inflammatoires excessives et/ou prolongées incontrôlées provoquent endommagent les tissus et contribuent à la pathogenèse des maladies inflammatoires aiguës et chroniques. Bien que reconnu il y a plus de 150 ans comme un composant central des tissus enflammés, le rôle potentiel de la mort cellulaire en tant que composant actif qui contribue à l'homéostasie tissulaire, à l'inflammation et à la pathogenèse de la maladie n'a que récemment attiré l'attention. De nombreux récepteurs impliqués dans l'inflammation peuvent également induire la mort cellulaire en plus de leur puissante capacité à conduire l'expression des cytokines inflammatoires. Des découvertes récentes suggèrent qu'en plus de la régulation transcriptionnelle des gènes inflammatoires, les propriétés induisant la mort cellulaire de ces récepteurs contribuent également de manière cruciale à l'inflammation; blessure ou d'infection et est liée à des lésions tissulaires et à la pathogenèse de la maladie. (Pasparakis et Vandenabeele 2015)

La nécro inflammation est définie comme la réponse inflammatoire à la mort cellulaire nécrotique. Différentes voies de mort cellulaire nécrotique comme la nécroptose, la ferroptose et la pyroptose présentent différentes réponses immunitaires, malgré un niveau comparable de libération de contenu intracellulaire (appelé modèles moléculaires associés aux dommages ou DAMP). (Tonnus et al. 2019)

Il est important de noter que la réponse nécro-inflammatoire aux cellules qui meurent par nécroptose peut être fondamentalement différente de la réponse à la ferroptose. Bien que les mécanismes de la ferroptose et de la nécroptose aient été récemment étudiés en détail, la propagation de la mort cellulaire au cours de la nécrose, bien que décrit morphologiquement, reste incomplètement compris.

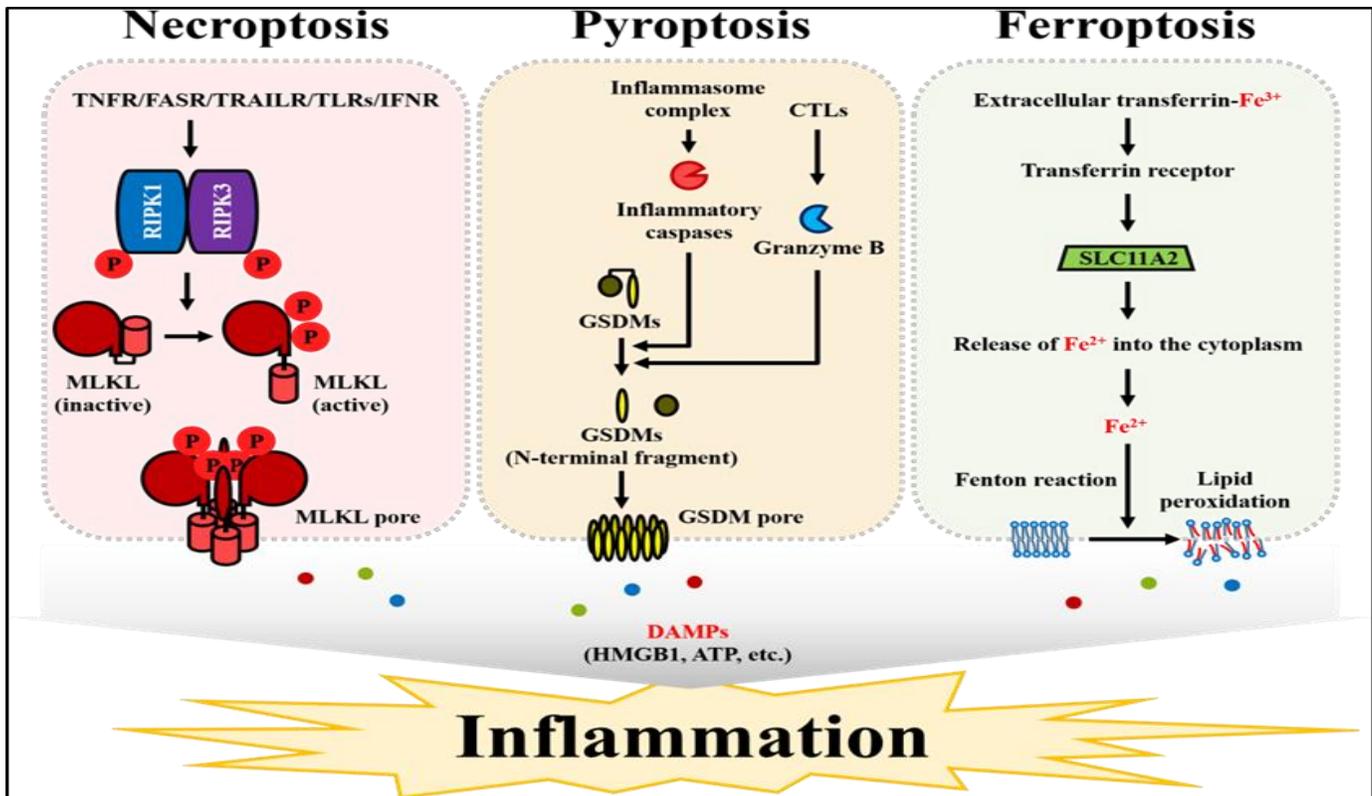


Figure 1.9 : la mort cellulaire nécrotique régulée (RNCD) (d'après Yunseo Woo et al 2020)

a. Signalisation des types de mort cellulaire nécrotique régulée

La nécroptose peut être induite par les signaux des récepteurs TNF, des récepteurs FAS, des récepteurs TRAIL, des récepteurs de type péage et des récepteurs d'interféron. En l'absence d'activité caspase-8, la phosphorylation de RIPK1 et RIPK3 induit la phosphorylation et l'activation subséquente de MLKL inactif. Le MLKL activé est transloqué dans la membrane plasmique et forme les pores.

La pyroptose est causée par la formation de pores médiée par la gasdermine. L'activation du complexe inflammasome induit l'activité enzymatique de la caspase-1 et la caspase-1 clive la gasdermine D. La région N-terminale de la gasdermine D clivée est transloquée dans la membrane plasmique et forme des pores d'environ 10 à 15 nm de diamètre. En plus de la caspase-1, les protéines de gasdermine peuvent être clivées par la caspase-4, la caspase-5 et la caspase-11. De plus, la gasdermine E peut être clivée par la granzyme B, qui est libérée par les lymphocytes T CD8 cytotoxiques et les cellules tueuses naturelles (NK).

La ferroptose est causée par une rupture de la membrane induite par un processus de peroxydation lipidique médiée par le fer connu sous le nom de réaction de Fenton. Le récepteur

de la transferrine transfère le Fe³⁺ lié à la transferrine extracellulaire dans les régions endosomales intracellulaires. Fe³⁺ est réduit en Fe²⁺ par STEAP3, une ferriréductase, et le Fe²⁺ généré est libéré dans le cytoplasme par SLC11A2 (également connu sous le nom de transporteur de métal divalent 1, DMT1). La libération de Fe²⁺ dans le cytosol provoque une peroxydation des lipides dans la membrane plasmique. À la suite de l'induction de RNCD, des DAMP, tels que HMGB1 et ATP, peuvent être libérés dans les régions extracellulaires pour induire des réponses inflammatoires dans les tissus.

2.3. La nécroinflammation en tant que contributeur à neuroinflammation :

Les modèles de nécroinflammation les mieux caractérisés portent principalement sur des pathologies définies par lésions aiguës. D'autres paramètres faisant l'objet d'investigations actives incluent les infections pathogènes, maladies inflammatoires et les pathologies du système nerveux central (SNC) telles que les maladies neurodégénératives et neuroinflammatoires. Bien que cette liste ne soit en aucun cas complète, ces contextes pathologiques sont de nature aiguë et/ou ont une combinaison significative d'un composant de mort cellulaire couplé avec un état inflammatoire sévère.

Si les neurones sont encore sujets à l'apoptose ou à la nécroptose laisse le fait qu'à la fin ils meurent, et leur mort favorise davantage l'établissement et la progression de neuroinflammation. Dans cette section, nous spéculons sur les contributions de l'apoptose et de la nécroptose dans la régulation d'une réaction immunitaire inflammatoire dans des environnements neuro-inflammatoire.

Les neurones ne meurent généralement pas avant la mort de l'organisme entier. Toutefois, plusieurs types de traumatismes et de pathologies peuvent raccourcir la durée de leur existence. Les neurones qui disparaissent ainsi sont rarement remplacés car il subsiste peu de cellules souches capables de se différencier en neurones dans le système nerveux mature. Comme la plupart des cellules, les neurones peuvent mourir de deux manières différentes : par nécrose ou par apoptose.

La nécrose est produite par un traumatisme aigu, chimique ou mécanique. La cellule gonfle puis se détruit (lyse) et son contenu se disperse dans le milieu extracellulaire. Cette dispersion provoque généralement une réaction d'inflammation et inflige un traumatisme secondaire au tissu environnant.

Les effets d'une lésion peuvent également se propager du corps cellulaire vers les terminaisons : les neurones en dégénérescence ne sont plus capables de maintenir la ségrégation des ions de part et d'autre de la membrane. Ils deviennent donc dépolarisés et émettent alors un grand nombre de potentiels d'action dans leurs axones. Cette activité électrique anormale va dans un certain nombre de cas excité (dépolariser) les neurones cibles. Ainsi, l'interruption accidentelle de la circulation sanguine dans une région du cerveau provoque la dégénérescence rapide (nécrose) des neurones de cette région et peut entraîner la dégénérescence par excitotoxicité d'un volume de tissu nerveux sensiblement plus grand que celui de la lésion initiale, Donc le neurone finit par exploser et provoquer une réaction inflammatoire.

Tableau 1. – Exemples de maladies inflammatoires dans lesquelles l'apoptose, la nécroptose, la pyroptose ou la ferroptose sont impliquées. (D'après Anett Mázlo 2020)

Mort tissulaire/cellulaire	Apoptose	Nécroptose	Pyroptose	Ferroptose
Affections neurodégénératives	-Maladie d'Alzheimer -maladie de Parkinson -maladie de Huntington	-sclérose en plaque -maladie d'Alzheimer -sclérose latérale amyotrophique	-Sclérose en plaques -maladie d'Alzheimer -maladie de Parkinson, -maladie de Huntington	-Maladie d'Alzheimer, -maladie de Parkinson, -maladie de Huntington

3. Rapports cellulaires et pronostiques des patients

Il existe un intérêt croissant pour la recherche visant à mieux comprendre l'état de la maladie ou à prédire le pronostic des patients avec de simples tests sanguins associés à une inflammation systémique. Le rapport neutrophiles-lymphocytes (NLR), le rapport lymphocytes-monocytes (LMR), le rapport plaquettes-lymphocytes (PLR) peuvent être utilisés comme facteurs pour déterminer le pronostic des patients dans diverses situations cliniques.

3.1 Rapport neutrophile /lymphocyte « NLR »

L'inflammation peut être mesurée en utilisant une variété de marqueurs biochimiques et hématologiques. Bien que de nouveaux biomarqueurs spécifiques à la maladie aient été identifiés, la plupart d'entre eux prennent du temps et sont coûteux. Des études observationnelles ont étudié en profondeur le rôle du nombre total de leucocytes dans différentes affections chroniques.

Le rapport lymphocytes neutrophiles pourrait être un facteur important mesure de l'inflammation car il est rentable, disponible et facilement calculable. Peu est connu et publié sur le rapport lymphocytes neutrophiles et sa relation avec les maladies neurodégénératives. Par conséquent, l'étude actuelle a été menée pour étudier le rapport lymphocytes neutrophiles comme mesure de l'inflammation et de sa relation, le cas échéant, avec les maladies neurodégénératives. (Imtiaz et al. 2012)

$$\text{NLR} = \frac{\text{Nombre de neutrophile}}{\text{Numération lymphocytaire}} \quad (\text{Meng et al. 2018})$$

3.2 Rapport lymphocyte /monocyte « LMR »

Une numération globulaire complète est une technique d'examen facile qui nous donne des informations sur le contenu du sang formé des patients; le nombre et les dimensions des sous-groupes de cellules, et des paramètres tels que les poids de distribution. Les globules blancs (WBC : White blood cell count) sont des prédicteurs importants de nombreuses maladies, et les sous-types de WBC comme nombre de monocytes, le nombre de lymphocytes peut également prédire la mortalité à long terme dans de nombreuses conditions.

Le total des globules blancs (WBC) et ses sous-types peuvent être facilement utilisés comme indicateurs de l'inflammation. Au cours des dernières années, le LMR a été proposé comme

marqueur de substitution du dysfonctionnement endothélial et de l'inflammation dans des populations distinctes et il a également une valeur pronostique et prédictive.

Bien que le mécanisme de la relation entre un faible LMR et une mortalité accrue n'ait pas été complètement élucidé, un nombre élevé de monocytes ou un faible nombre de lymphocytes a été montré comme un effet néfaste du pronostic dans divers troubles. Cependant, certaines conditions, qui peuvent être liées à la LMR, doivent être reconnues lors de l'évaluation de la LMR.

En plus du LMR et le rapport neutrophile /lymphocyte, le rapport plaquettes-lymphocytes, peuvent également être utilisés comme marqueurs pronostiques dans la pratique clinique de routine.(Balta et al. 2016)

$$\text{LMR} = \frac{\text{Numération lymphocytaire}}{\text{Numération des monocytes}} \quad (\text{Meng et al. 2018})$$

3.3 Rapport plaquette /lymphocyte « PLR »

Les plaquettes sanguines sont des éléments anucléés du sang. D'un diamètre de 2 à 3 μm , ce sont les plus petits éléments figurés du sang. Alors que leur rôle principal est d'arrêter ou prévenir les saignements, elles sont également impliquées dans d'autres fonctions, comme l'immunité, l'inflammation ou la progression tumorale.(Strassel, Lanza, et Gachet 2020)

La numération plaquettaire se trouve normalement entre 150 et 400 $\times 10^9/\text{L}$. Les individus dont la numération plaquettaire est très faible ont un risque plus important de saignement. Le risque de saignement spontané ou cliniquement significatif est plus élevé si la numération plaquettaire est inférieure à 10 $\times 10^9/\text{L}$. En cas de chirurgie ou après une blessure, ce risque augmente lorsque le nombre de plaquettes est inférieur à 30-50 $\times 10^9/\text{L}$. Les individus ayant des anomalies congénitales ou acquises de la fonction plaquettaire ont également un risque plus élevé de saignement.(Brass 2010)

Le rapport plaquettes/lymphocytes (PLR) est apparu comme un marqueur informatif révélant des changements dans le nombre de plaquettes et de lymphocytes dus à des états inflammatoires et prothrombotiques aigus. La PLR a été largement examinée dans les maladies néoplasiques accompagnées d'une immunosuppression et d'une thrombose, qui peuvent être prédites par des numérations globulaires combinées et leurs rapports. Plusieurs grandes études

observationnelles ont démontré la valeur des changements de PLR pour évaluer la gravité de l'inflammation systémique et prédire les infections et autres comorbidités.

La valeur du PLR en tant que marqueur inflammatoire augmente lorsque ses fluctuations sont interprétées avec d'autres indices hématologiques complémentaires,

Un PLR élevé, associé à une numération plaquettaire élevée, est potentiellement utile pour diagnostiquer certaines vascularites systémiques, en particulier l'artérite à cellules géantes. (Gasparyan et al. 2019)

$$\text{PLR} = \frac{\text{Numération plaquettaire}}{\text{Numération lymphocytaire}} \quad (\text{Meng et al. 2018})$$

4. Acides aminés et l'immunologie

Un équilibre optimal entre les AA dans l'alimentation et la circulation est crucial pour l'homéostasie du corps entier, car sont les éléments fondamentaux des protéines, c'est-à-dire que lorsque l'organisme digère les protéines, il les découpe en différents acides aminés dont elles sont constituées afin de les absorber puis de les utiliser.

Il est de plus en plus reconnu qu'en plus de leur rôle en tant que blocs de construction des protéines et des polypeptides, certains AA régulent les voies métaboliques clés nécessaires au maintien, à la croissance, à la reproduction et à l'immunité.

Une carence en protéines alimentaires ou en acides aminés est connue depuis longtemps pour altérer la fonction immunitaire et augmenter la sensibilité des humains aux maladies infectieuses. La malnutrition protéique réduit les concentrations de la plupart des acides aminés dans le plasma. Les études récentes indiquent un rôle important des acides aminés dans les réponses immunitaires en régulant :

- (1) l'activation des lymphocytes T, des lymphocytes B, des cellules tueuses naturelles et des macrophages ;
- (2) état redox cellulaire, expression génique et prolifération lymphocytaire; et
- (3) la production d'anticorps, de cytokines et d'autres substances cytotoxiques. (P. Li et al. 2007)

Les acides aminés formant les protéines peuvent être classés en 3 groupes, les acides aminés essentiels qui doivent provenir de l'alimentation sans quoi le corps ne peut pas les produire, les semi-essentiels (essentiels que pour le nouveau-né), et les acides aminés non essentiels qui, eux, peuvent être synthétisés à partir d'autres acides aminés.

Tableau 2. – Les acides aminés et leurs rôles.

L'acide aminé	Code à trois lettres	La classe	Le rôle de l'acide aminé
Thréonine	THR	Les acides aminés essentiels	C'est un acide aminé essentiel chez l'homme (fourni par l'alimentation), et c'est un résidu important de nombreuses protéines, telles que l'émail des dents, le collagène et l'élastine. Acide aminé important pour le système nerveux. Utile pour les troubles intestinaux et l'indigestion, la thréonine a également été utilisée pour soulager l'anxiété et la dépression légère.
Arginine	ARG	Les acides aminés semi-essentiels	C'est un précurseur de production d'Oxyde Nitrique, par les cellules endothéliales vasculaires et immunitaires. elle augmente l'activité de la glande thymus qui produit les cellules T et stimule la défense immunitaire, influence la vasodilatation et peut agir sur la production d'hormone de croissance.
Glutamine	GLN	Les acides aminés non essentiels	un acide aminé abondant dans le plasma, le squelette muscle, fluides fœtaux et lait. joue un rôle important En tant que substrat énergétique majeur pour les cellules du système immunitaire dans leur fonction et leur homéostasie.

			<p>l'administration orale de glutamine augmente les concentrations d'hormone de croissance plasmatique chez l'homme, qui à son tour module avantageusement le système immunitaire. Ainsi, une disponibilité réduite de la glutamine peut altérer la fonction immunitaire, ce qui augmentant la susceptibilité des humains aux maladies infectieuses.</p>
--	--	--	--

5. Nécrose cellulaire

L'enzyme cytoplasmique, le lactate déshydrogénase (LDH), se trouve dans la plupart des tissus de mammifères. Il est particulièrement abondant dans les leucocytes sanguins et dans les tissus hépatiques et musculaires. Avec la destruction des cellules, la LDH est libérée dans le liquide tissulaire ou le sérum environnant et fournit un indice clinique utile des dommages aux cellules et aux organes. Des niveaux élevés de LDH se trouvent dans les espaces remplis de liquide ainsi que dans le sérum en réponse à une inflammation locale.

Le lactate déshydrogénase (LDH) est une enzyme importante de la voie métabolique anaérobie. Appartient à la classe des oxydoréductases La fonction de l'enzyme est de catalyser la conversion réversible du lactate en pyruvate avec la réduction du NAD⁺ en NADH et vice versa.

La LDH est également un marqueur non spécifique du renouvellement tissulaire, qui est un processus métabolique normal. Les globules rouges contiennent également des concentrations modérées de cette enzyme.

La LDH présente cinq formes isomères ; Les isoformes appelées isozymes sont nommées LDH-1 à LDH-5, chacune ayant une expression différentielle dans différents tissus. Cette expression différentielle de la LDH est à la base de son importance en tant que marqueur de diagnostic clinique.

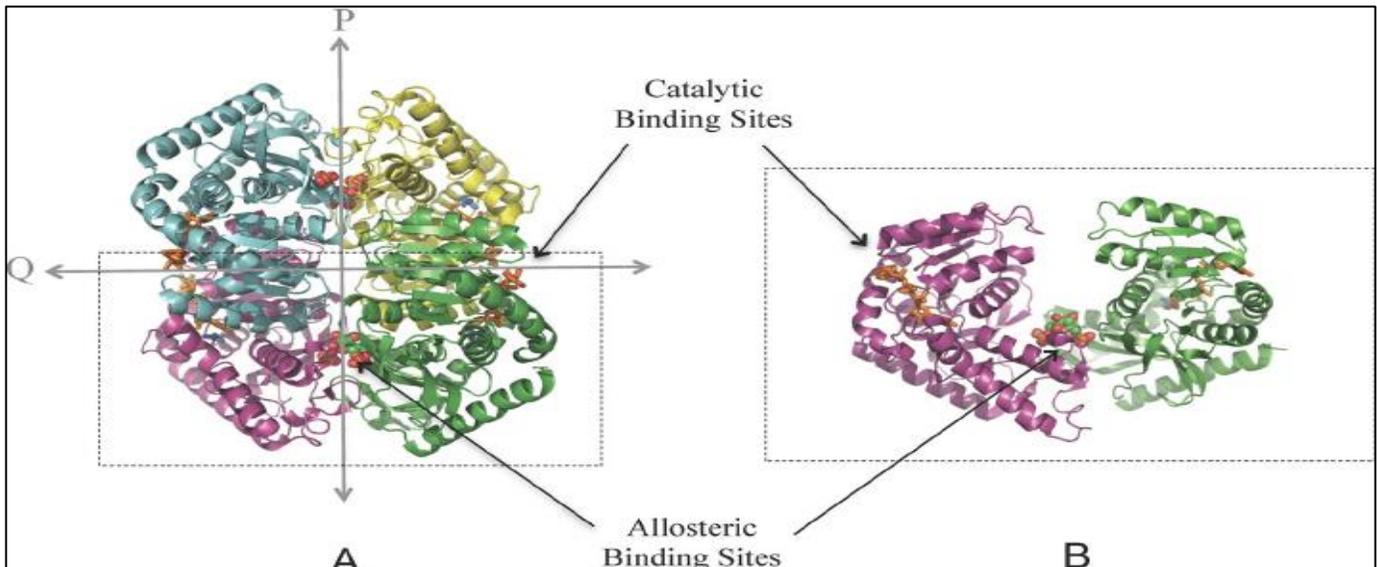
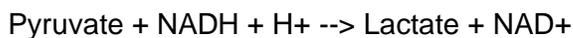


Figure 1 .10 : La structure cristalline de la LDH (d'après Anna Feldman Salit et al mai 2013)

La lactate déshydrogénase est l'une des enzymes de transfert H (oxydoréductase), qui catalyse la conversion réversible du pyruvate en lactate en utilisant le NADH. Fondamentalement, l'enzyme est impliquée dans le métabolisme anaérobie du glucose lorsque l'oxygène est absent ou en quantité limitée.



Lorsque les cellules sont exposées à des conditions anaérobies ou hypoxiques, la production d'ATP par phosphorylation oxydative est perturbée. Ce processus exige des cellules qu'elles produisent de l'énergie par un métabolisme alternatif. Par conséquent, la LDH est régulée à la hausse dans de telles conditions pour répondre au besoin de production d'énergie. Cependant, le lactate produit lors de la conversion anaérobie du glucose rencontre une impasse dans le métabolisme. Il ne peut subir d'autre métabolisme dans aucun tissu à l'exception du foie. Par conséquent, le lactate est libéré dans le sang et transporté vers le foie, où la LDH effectue la réaction inverse de conversion du lactate en pyruvate via le cycle de Cori.

La quantification de la LDH présente un intérêt clinique car une concentration sérique d'isoenzymes de LDH reflète des conditions pathologiques spécifiques aux tissus. Par conséquent, la LDH peut être utilisée comme marqueur de diverses lésions tissulaires en raison de sa forme isozyme et de sa présence omniprésente. Lors de lésions tissulaires, les cellules libèrent de la LDH dans le sang. Selon le type de lésion tissulaire, l'enzyme peut rester élevée jusqu'à 7 jours dans le sang. La LDH élevée dans le sérum à la suite de la destruction d'organes est due à une mort cellulaire importante qui entraîne une perte de cytoplasme.

Des niveaux anormalement bas de LDH sont très rares et ne sont généralement pas considérés comme nocifs.(Farhana et Lappin 2022).

La MP est définie par la dégénérescence d'une connexion neuronale, plus spécifiquement des neurones dopaminergiques entre la substantia nigra (SN) et le striatum. La dégénérescence des cellules neuronales est liée à une mort cellulaire non régulée qui se traduit par une inflammation avec augmentation des marqueurs inflammatoires et nécrotiques. La nécroinflammation correspond à la réponse inflammatoire à la mort cellulaire nécrotique. Pour cela au cours de l'évaluation des patients parkinsoniens nous nous demandons si il y'a une réponse nécroinflammatoire à cause de la maladie ?

But : Dans cette analyse, nous discutons la pertinence clinique et immunologique de la nécroinflammation dans la maladie de Parkinson en mettant en évidence les marqueurs immunitaires sériques humains potentiels.

Objectif : Dans cette étude, nous avons examiné s'il y a une production de LDH pour examiner la présence de cytotoxicité due à l'inflammation induite par la nécrose, ce qui est révélé par l'évaluation numérique des rapports NLR LMR et PLR.

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

1 Présentation de l'enquête

L'enquête a été menée auprès des malades à l'aide d'un Questionnaire établie au préalable en interrogeant les malades ou bien un membre de leurs familles.

Ce questionnaire a été effectué au cours du mois de mars 2022. (annexe)

Grâce au questionnaire nous avons récolté des informations de base comprenant :

- Age ; Taille ; Poids.
- Indice de Masse Corporelle (IMC : poids/ taille², kg/m²).
- Historique et diagnostique de la maladie
- Aspects clinique de la maladie

.1. Population étudiée :

- 20 Patients MP de sexes différents dont 12 Hommes et 8 Femmes.
- 20 Témoins dont 12 Hommes et 8 Femmes.

Les patients ont été recrutés au niveau du service neurologie au centre hospitalo-universitaire de Tlemcen.

Les témoins sont été recrutés au sein De la maison de retraite de Tlemcen.

Tableau 3. – Caractéristiques de la population étudiée

Paramètre	Témoins n =20	Parkinsoniens n=20
IMC	24,16 ± 0,67	27,03 ± 0,94
Age	62,85 ± 1,31	69,2 ± 2,21
Rapport M/F	12/8	12/8

.2. Les critères d'inclusion :

Il s'agissait de tous parkinsoniens, les patients présentant les caractéristiques suivantes :

- Habitant la wilaya de Tlemcen
- Tout âge confondu.
- Hospitalisation ou consultation au service de neurologie du CHU.

.3. Critères d'exclusion :

Les patients inclus dans ce travail sont des malades souffrant de la maladie de parkinson demeurant dans la wilaya de Tlemcen, diagnostiqués et ayant un dossier au service de neurologie du CHU de Tlemcen.

.4. Le type et la période d'étude

Il s'agit d'une étude clinique transversale s'intéressant aux marqueurs de la nécro inflammation des patients de la population de Tlemcen porteurs de la maladie de Parkinson sur une période de 3 mois allant du 01 mars jusqu'au 30 mai 2022.

.5. Localisation géographique et démographie de la wilaya de Tlemcen

La Wilaya de Tlemcen occupe une position de choix au sein de l'ensemble national. Elle est située sur le littoral Nord-ouest du pays et dispose d'une façade maritime de 120 km. Le Chef-lieu de la wilaya est située à 432 km à l'Ouest de la capitale, Alger.

Elle est délimitée au nord par la Méditerranée, à l'ouest par le Maroc, au sud par la wilaya de Naâma et à l'est par les wilayas de Sidi-Bel-Abbès et AïnTémouchent. Cette région s'étend sur une superficie de 9017 km². Elle comprend 20 Dairas 53 communes dont celle de Tlemcen.

La population de la Wilaya de Tlemcen est estimée en 2010 à 977 206 habitants pour une densité de 108 habitants par Km².

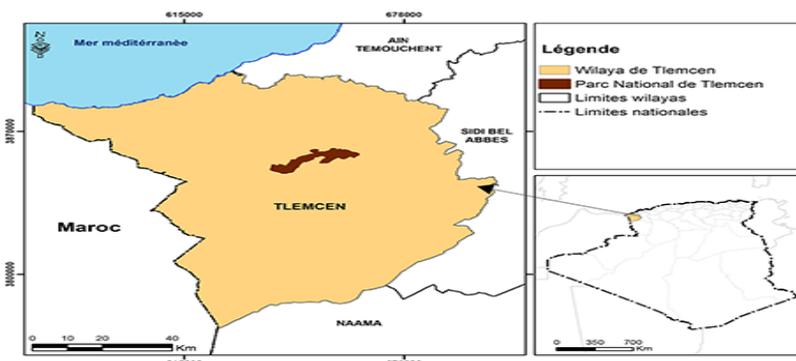


Figure 2.1: Localisation géographique de la Wilaya de Tlemcen.

1 Analyses immuno-biochimiques

.1. Rapports cellulaires : NLR – LMR - PLR

.1.1. Prélèvement sanguin

Les prélèvements sanguins ont été réalisés par des professionnels de santé au niveau de la veine du pli de coude et les échantillons ont été recueillis dans des tubes EDTA (anti coagulant).



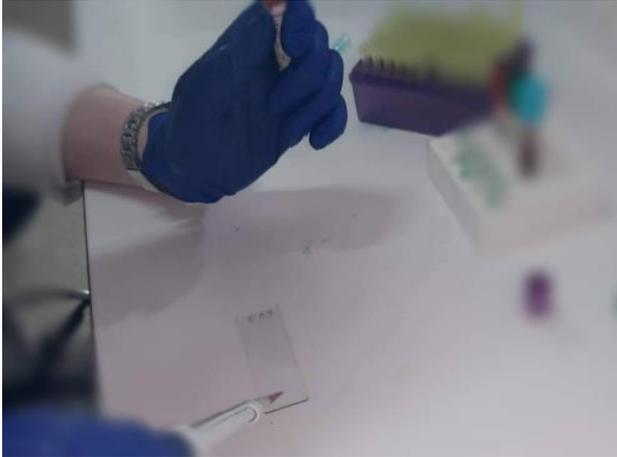
Figure 2.2 : Échantillons de sang.

.1.2. Matériel

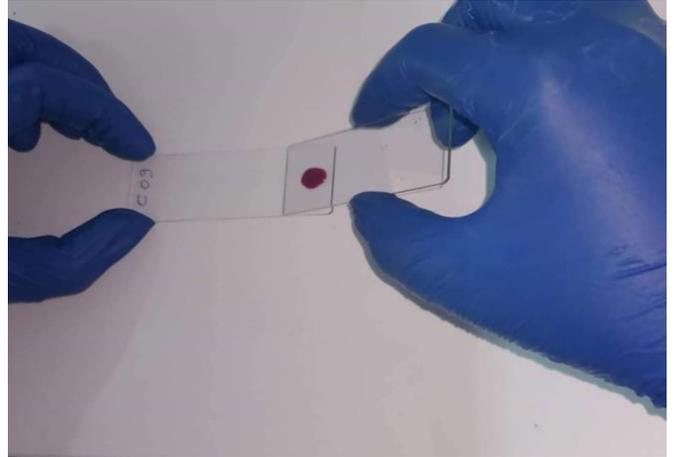
- Sang totale
- Lames propre.
- Lame à bords rodés.
- Pipette.
- Colorants.
- Cuves.
- Microscope optique (optika).

.1.3. Confection des frottis

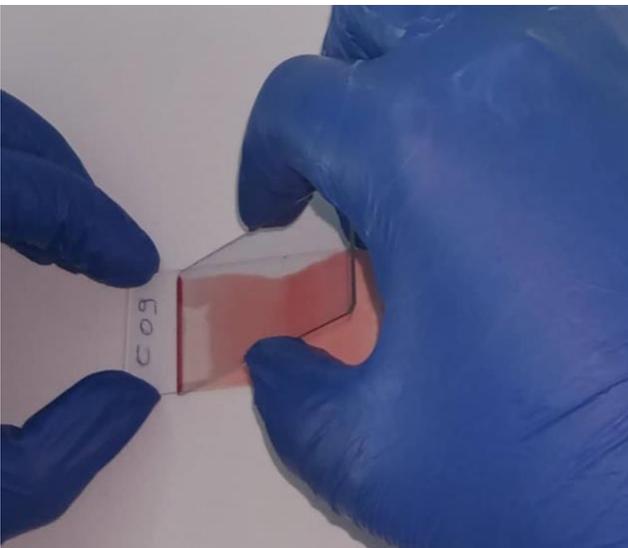
- a) on Dépose une petite goutte de sang (prélèvement capillaire ou veineux) à environ 1 cm de l'extrémité d'une lame propre, posée horizontalement sur un plan dur.
- b) on maintien cette lame d'une main et de l'autre, incliner à 45° une deuxième lame à bords rodés, juste à l'avant de la goutte.
- c) on la ramène au contact sans l'y faire pénétrer (pour ne pas détériorer les cellules).
- d) on Laisse diffuser le sang le long de l'arête et, avant qu'il n'en ait atteint les bords, d'un mouvement rapide, on tire vers l'extrémité de la lame horizontale.
- e) Sécher rapidement, par agitation à l'air.
- f) on Marque le frottis, soit au crayon graphite sur le film lui-même, soit au diamant, à une extrémité de la lame



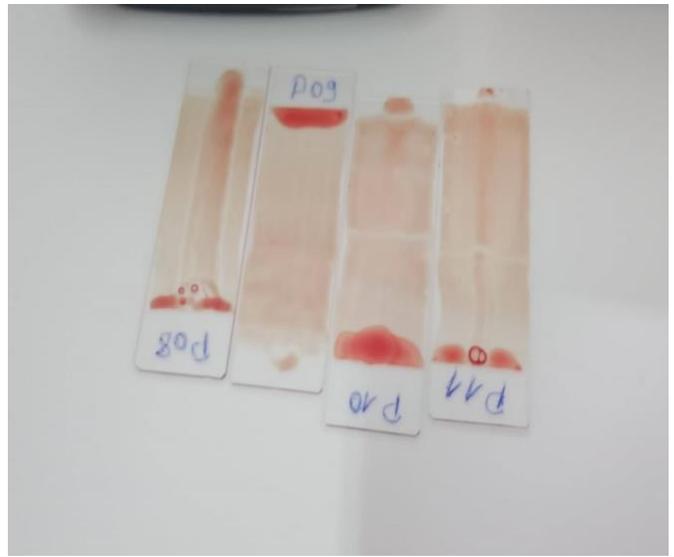
Déposer une goutte de sang a 1 cm de l'extrémité de la lame



Faire glisser la seconde lame a étalement inclinée de 45° vers la goutte de sang jusqu'à la toucher



Glisser la lame en tirant ou en poussant : tout le sang doit être étalé avant atteindre l'autre extrémité de la



Sécher rapidement par agitation a l'air

Figure 2.3 : Les étapes de la réalisation de frottis sanguin

.1.4. Coloration MGG (May-Grünwald-Giemsa)

La coloration s'effectue par immersion des lames fraîchement préparées dans des bacs à coloration.

Le passage d'un bac à l'autre s'effectue à la pince, ou sur appareil automatique dont le programme est établi pour les séquences suivantes :

- May-Grünwald pure pendant 2min
- May-Grünwald dilue au 1/2 pendant 3min
- Giemsa dilue au 1/10 pendant 5min
- Giemsa dilue au 1/10 pendant 5min
- Giemsa dilue au 1/10 pendant 5min
- Eau tamponnée PH7 pendant 2min

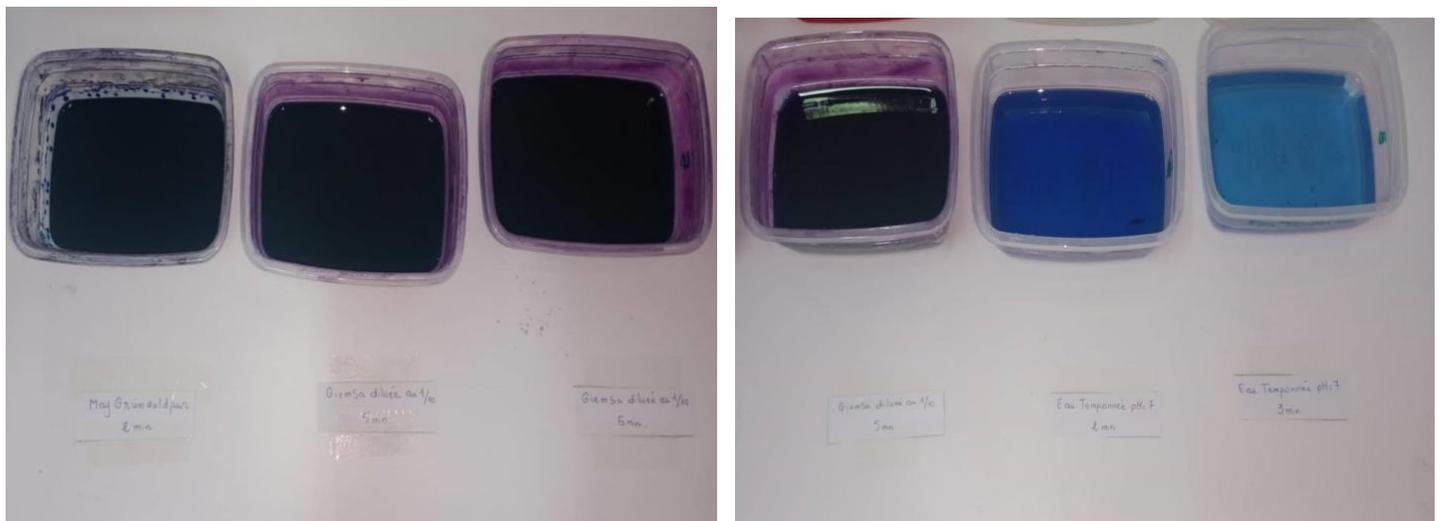


Figure 2.4 : Coloration MGG

.1.5. Lecture par microscope optique



Figure 2.5: Lecture par microscope optique (optika)

L'Analyse des résultats a été effectuée par le logiciel Imagej (NIH)

.2. Acides aminés

.2.1. Prélèvement sanguin

Les prélèvements ont été réalisés à jeun les matinées entre 09h00 et 11h00, 4 ml de sang des patients ont été prélevés soit directement en aspirant à l'aide d'une seringue, soit en utilisant des micro-perfuseurs avec adaptateur pour prélèvement ou ce qu'on appelle aussi des aiguilles épicroâniennes.

Concernant les sites de prélèvement on a choisi des sites anatomiques appropriés qui sont soit les veines du pli du coude soit les veines de la face dorsale de la main.

Les tubes utilisés pour la récolte du sang, sont des tubes Héparine-Lithium, après les avoir rempli jusqu'au trait du volume souhaité, ces derniers ont été étiquetés par des étiquettes d'identification qui doivent être collées de façon à ne pas cacher l'intérieur du tube, pour qu'on puisse vérifier l'état des échantillons.

.2.2. Préparation des échantillons

Les tubes ont été centrifugés 20 minutes après chaque prélèvement à 2500 tours/min pendant 15 minutes, les plasmas ont été ensuite recrusés et transférés dans des tubes eppendorfs, puis placés au congélateur à -20°C.

.2.3. Dosage des taux plasmatiques des acides aminés

Le dosage des acides aminés a été effectué par la technique de chromatographie en phase liquides sur couche mince (CCM).

.2.4. Buts

Le but de ce travail est l'identification des taux de 3 acides aminés dans les plasmas des différents patients MP et les comparer avec ceux des témoins en qualité et en quantité.

.2.5. Chromatographie sur Couche Mince

.2.5.1. Généralités et Principes de la méthode

La chromatographie est une méthode physique de séparation de mélanges en leurs constituants ; elle est basée sur les différences d'affinité des substances à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe, l'autre mobile.

La chromatographie sur couche mince, ou sur plaque (CCM), est effectuée surtout en vue d'une analyse d'un mélange.

La phase stationnaire solide est fixée sur une plaque, et la phase mobile liquide, nommée éluant, est un solvant ou un mélange de solvants.

On dépose sur la phase fixe une petite quantité du mélange à séparer et on met cette phase au contact de la phase mobile.

La phase mobile migre de bas en haut, par capillarité, le long de la phase fixe en entraînant les constituants du mélange. C'est le phénomène d'élution, qui permet la séparation des constituants du mélange à analyser.

Chaque constituant migre à une certaine hauteur, caractéristique de la substance, que l'on appelle rapport frontal ou rétention frontale (Rf) :

$$\text{Rf} = \text{hauteur de la tache} / \text{hauteur du front du solvant.}$$

Chaque tache correspond à un constituant et on l'identifie par comparaison du Rf avec un témoin (une même substance migre à la même hauteur dans des conditions opératoires identiques; même Rf).

Après la révélation du chromatogramme par la Ninhydrine on obtient des spots colorés.

La Ninhydrine est un colorant spécifique des groupes N-terminaux des AA qui donne une coloration violette et parfois brune après réaction avec les acides aminés

Pour préparer 0.2g de la Ninhydrine, on ajoute 95ml de butanol avec 10ml de l'acide acétique puis on passe à une agitation

Les AA qui se trouvent dans le mélange, (dans notre cas le mélange est le plasma) sont identifiés grâce à des solutions pures d'acides aminés préparées auparavant, et qui vont nous servir comme des étalons de référence, la seule chose qui nous reste à faire est de calculer les Rf des constituants du mélange et les comparer avec ceux des étalons.

.2.5.2. Matériel et réactifs

Matériel

- Une cuve chromatographique.
- Un Bécher.
- Une éprouvette.
- Des Eppendorfs.
- Des plaques silices.
- Une Étuve.
- Des Flacons.
- Des tubes coniques.
- Des Micropipettes.
- Des Embouts.
- Une Pince.
- Un Sèche-cheveux.
- Un récipient.
- Du papier film.
- Du papier aluminium.
- Du papier Joseph.
- Des ciseaux.
- Un crayon.
- Une règle.
- Un cutter.
- Une hotte à flux laminaire.

.2.5.3. Produit et réactifs

- Échantillon solution diluée de mélange a analysé
- Solution aqueuse de chaque AA
- L'éluant : un mélange de :
 - 1) Butanol.
 - 2) Acide acétique.
 - 3) Eau distillée.
- Réactif de révélation : Ninhydrine et Acétone

Méthode :

- Préparation de la cuve chromatographique :

La cuve chromatographique est un récipient habituellement en verre fermé par un couvercle étanche qui sert d'une part à éviter l'évaporation du solvant (la phase mobile), on peut aussi ajouter du papier film afin d'assurer une bonne isolation, car la CCM doit être réalisé dans une atmosphère saturée.

- En ce qui concerne la préparation de l'éluant on doit suivre les propositions du mode opératoire. On utilise un solvant contenant : Butanol. Acide acétique. Eau distillée respectivement (70%.18%.12%).

- L'éluant est versé dans le fond de cuve et ajuster le niveau de 5 à 8 mm de hauteur.

- Garnir l'intérieure de la cuve d'un papier verticalement imprégné dans l'éluant et plaqué contre la paroi : une ouverture est ménagée dans un filtre pour observer le développement de la chromatographie, ou bien on peut garnir uniquement les deux grandes parois et laisser les deux petites libres pour qu'on puisse observer aussi le développement surtout si on utilise plusieurs plaques à la fois.

- Recouvrir la cuve à l'aide de son couvercle et attendre pour que l'atmosphère de la cuve soit saturée par la vapeur de l'éluant.

- Préparation des plaques CCM :

- Réactiver le gel silice dans une étuve à 80°C pendant 1heure.

- Utiliser une plaque de dimensions (20 cm / 20 cm).

- Tracer un léger trait au crayon parallèle au bord inférieur a une distance de 1 cm du bas de la plaque (une ligne de dépôt qui servira à repérer les dépôts) sans arracher le matériau ou toucher avec les doigts en particulier là où la migration va se produire pour ne pas abimer la surface de la plaque ce qui fausserait l'analyse.

- Sur ce trait tracer 12 petits points ou seront disposés les 12 dépôts dont l'espace entre chacun d'entre eux est de 1,5 cm, sans oublier de laisser 1 cm de chaque côté de la plaque.

- Tracer un autre trait de repère à 1cm au-dessous du bord supérieur de la plaque là ou l'éluant doit arriver.

- Une fois l'éluant atteint le trait supérieur, il faut retirer la plaque et la sécher sous une hotte à flux laminaire à l'aide d'un sèche-cheveux en mettant un masque et des gants.

- Manipulation des échantillons
 - Retirer les plasmas du réfrigérateur pour préparer les solutions diluées.
 - Pour chaque échantillon on prend une quantité de 50µl à partir d'un plasma pur et le verser dans un eppendorf étiqueté contenant 150 µl d'eau distillée.
 - Agiter les eppendorfs à l'aide d'un agitateur vortex afin d'homogénéiser le mélange.
- Réalisation des dépôts sur la plaque de silice

A l'aide d'une micropipette réglable on prélève 2 µl de notre échantillon, puis on fait les dépôts sur nos points repères, on sèche ce dépôt à l'aide d'un sèche-cheveux puis on répète l'opération 2 à 3 fois, il faut s'assurer que le diamètre des dépôts ne dépasse pas 2mm.
- Déposition de la plaque dans la cuve
 - Plonger le bord inférieure de la plaque verticalement dans le solvant de migration dans la cuve (la ligne de dépôts ne doit pas être trempée dans l'éluant).
 - Remettre le couvercle et refermer immédiatement la cuve.
- Développement du chromatogramme
 - Laisser le front de la phase mobile progresser et la migration des composés s'effectuer.
 - Ressortir doucement la plaque avec une pince lorsque l'éluant arrive à 1 cm du bord supérieur de la plaque.
 - Sécher la plaque sous hotte avec un sèche- chevaux pour évaporer entièrement l'éluant.
- Révélation

Après la migration les taches correspondant à chaque constituant doivent être révélées :

- Plonger les plaques dans la Ninhydrine en position horizontale pendant 10min.
- Évaporer la solution de révélation avec le sèche- chevaux et placer la plaque dans une étuve à 80°C jusqu'à l'apparition des taches colorer (10min).
- Quantification des différents AA

L'analyse quantitative a été effectuée à l'aide du logiciel imageJ (NIH, VSA)

.3. Lactate déshydrogénase

.3.1. Prélèvement sanguin

Les prélèvements ont été réalisé à jeun les matinées entre 09h00 et 11h00, 4 ml de sang des patients ont été prélevés soit directement en aspirant à l'aide d'une seringue, soit en utilisant des micro- perfuseurs avec adaptateur pour prélèvement ou ce qu'on appelle aussi des aiguilles épicroâniennes.

Concernant les sites de prélèvement on a choisi des sites anatomiques appropriés qui sont soit les veines du pli du coude soit les veines de la face dorsale de la main.

Les tubes utilisés pour la récolte du sang, sont des tubes Héparine-Lithium, après les avoir rempli jusqu'au trait du volume souhaité, ces derniers ont été étiquetés par des étiquettes d'identification qui doivent être collées de façon à ne pas cacher l'intérieur du tube, pour qu'on puisse vérifier l'état des échantillons.

.3.2. Préparation des échantillons

Les tubes ont été centrifugés 20 minutes après chaque prélèvement à 2500 tours/min pendant 15 minutes, les plasmas ont été ensuite recrusés et transférés dans des tubes eppendorfs, puis placés au congélateur à -20°C.

.3.3. Dosage quantitatif de lactate déshydrogénase

L'activité Lactate Déshydrogénase (LDH) est présente dans toutes les cellules de l'organisme. Comparativement au sérum, cette activité est particulièrement élevée dans le foie, le cœur, le rein, les muscles squelettiques et les érythrocytes. En plus de leur activité LDH, la plupart de ces tissus ont une composition iso enzymatique différente (séparable par électrophorèse).

Nous avons réalisé le test du lactate déshydrogénase LDH qui permet de mesurer l'intégrité de la membrane cellulaire et ainsi de quantifier la moyenne des cellules mortes par kit BIOLABO (méthode de SFBC modifiée)

Principe :

Méthode de Henry et al (conforme aux recommandations SFBC). Le schéma réactionnel est le suivant : $\text{Pyruvate} + \text{NADH} + \text{H}^+ \xrightarrow{\text{LDH}} \text{L-Lactate} + \text{NAD}^+$

La diminution de l'absorbance due à la conversion du NADH en NAD⁺ directement proportionnelle à l'activité LDH dans le spécimen, est mesurée à 340 nm.

Chapitre 4 : Discussion

Les Maladies du système nerveux, en particulier les maladies neurodégénératives, se caractérisent par la mort neuronale et une neuroinflammation progressive. Les mécanismes de la mort neuronale ne sont pas bien définis et une interaction significative entre les voies a été suggérée. De plus, il a été proposé que la mort des neurones soit un catalyseur pour activer les cellules immunitaires dans le cerveau et maintenir la production inflammatoire.(Heckmann, Tummers, et Green 2019)

La nécroinflammation est un processus nécrotique inflammatoire complexe du système nerveux qui devrait jouer un rôle important dans les maladies neurologiques. La nécrose est une sorte de mort cellulaire non régulée qui déclenche des réponses immunitaires innées en rompant les cellules mortes et en libérant des composants intracellulaires. Les études actuelles suggèrent que la nécrose est associée à la pathogenèse des maladies neuro-inflammatoires, telles que la maladie de Parkinson.

L'inflammation est généralement causée par une blessure ou une infection, se distingue fondamentalement par la pathologie entre les formes aiguës et chroniques d'inflammation.

Les rapports cellulaires NLR, LMR et PLR reflètent l'état inflammatoire et immunitaire du patient, et sont des biomarqueurs indiquant le diagnostic, la stratification, la progression et la réponse au traitement de plusieurs maladies, y compris neurodégénératives. (Santos et al. 2022)

Contrairement aux résultats déjà trouvés (Madetko et al. 2022) Nos résultats indiquent que les patients atteints de MP ont des valeurs diminuées de NLR, LMR et de PLR par rapport aux témoins.

Des niveaux anormalement bas de LDH ne se produisent que rarement et ne sont généralement pas considérés comme nocifs.(« Clinical and Diagnostic Significance of Lactate Dehydrogenase and Its Isoenzymes in Animals - PMC »)

Bien que diverses maladies neurologiques surviennent chez les patients présentant une erreur innée du métabolisme des acides aminés, les acides aminés agissent également comme des neurotransmetteurs. Et exercent un effet neurodégénératif en cas de libération excessive. Les acides aminés listés étaient significativement augmentés chez les patients atteints de la maladie de Parkinson.

Nos résultats indiquent l'absence de la réponse nécroinflammatoire produite par une mort cellulaire non régulée la nécrose chez les patients atteints de la maladie de Parkinson. Donc on suggère que la mort cellulaire ayant subi par les neurones lors de maladie de Parkinson n'est pas une mort cellulaire non régulée nécrose.

Chapitre 05 : conclusion et perspectives

La maladie de Parkinson est une affection neurodégénérative qui touche de nombreux individus. Le mode d'apparition de la maladie est encore inexpliqué, depuis sa découverte la MP a fait l'objet de nombreuses recherches basées sur d'innombrables hypothèses tentant d'expliquer l'apparition de la maladie, mais aucune d'entre elles n'a pu être confirmée jusqu'à présent.

Des études pathologiques et expérimentales indiquent que l'inflammation figure en bonne place dans la pathogenèse de la MP.

Nos recherches montrent l'absence d'une réponse nécro-inflammatoire due à la nécrose chez les patients atteints de la MP.

Les résultats que nous avons obtenus, tels que la diminution des ratios cellulaires indiquant l'absence d'inflammation, les basses valeurs du lactate déshydrogénase confirment que le type de mort cellulaire n'est bien évidemment pas la nécrose.

Des recherches futures sont nécessaires pour étudier le type de mort cellulaire et son mécanisme impliqué dans la neurodégénération et pour démontrer l'auto-immunité dans la maladie de Parkinson.

Les principaux objectifs de ce travail de recherche, permettent l'exploration détaillée de nombreuses problématiques relatives à la maladie de parkinson. Les données recueillies de cette étude ont permis de mettre en lumière le mode de mort cellulaire dans la neurodégénérescence.

En conclusion nos résultats supportent une absence de la nécroinflammation dans la maladie de parkinson.

On suppose avoir une prédétermination immunitaire de la maladie de parkinson, pour étudier le type de mort cellulaire et son mécanisme impliqué dans la neurodégénération et pour démontrer l'auto-immunité dans la maladie de Parkinson.

Bibliographie

- Balta, Sevket, Zafer Demirer, Mustafa Aparci, Ali Osman Yildirim, et Cengiz Ozturk. 2016. « The Lymphocyte-Monocyte Ratio in Clinical Practice ». *Journal of Clinical Pathology* 69 (1): 88-89. <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2015-203233>.
- Brass, Lawrence. 2010. « Understanding and Evaluating Platelet Function ». *Hematology. American Society of Hematology. Education Program* 2010: 387-96. <https://doi.org/10.1182/asheducation-2010.1.387>.
- Cannon, Jason R., et J. Timothy Greenamyre. 2010. « Neurotoxic in Vivo Models of Parkinson's Disease Recent Advances ». *Progress in Brain Research* 184: 17-33. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(10\)84002-6](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(10)84002-6).
- « Clinical and Diagnostic Significance of Lactate Dehydrogenase and Its Isoenzymes in Animals - PMC ». s. d. Consulté le 27 juin 2022. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7313120/>.
- D'Arcy, Mark S. 2019. « Cell Death: A Review of the Major Forms of Apoptosis, Necrosis and Autophagy ». *Cell Biology International* 43 (6): 582-92. <https://doi.org/10.1002/cbin.11137>.
- DeMaagd, George, et Ashok Philip. 2015. « Parkinson's Disease and Its Management ». *Pharmacy and Therapeutics* 40 (8): 504-32. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4517533/>.
- « Essential Amino Acids: Definition, Benefits, and Foods ». 2019. 21 janvier 2019. <https://www.medicalnewstoday.com/articles/324229>.
- Farhana, Aisha, et Sarah L. Lappin. 2022. « Biochemistry, Lactate Dehydrogenase ». In *StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing*. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557536/>.
- Frank, Daniel, et James E. Vince. 2019. « Pyroptosis versus Necroptosis: Similarities, Differences, and Crosstalk ». *Cell Death & Differentiation* 26 (1): 99-114. <https://doi.org/10.1038/s41418-018-0212-6>.
- Galluzzi, Lorenzo, Ilio Vitale, Stuart A. Aaronson, John M. Abrams, Dieter Adam, Patrizia Agostinis, Emad S. Alnemri, et al. 2018. « Molecular Mechanisms of Cell Death: Recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018 ». *Cell Death and Differentiation* 25 (3): 486-541. <https://doi.org/10.1038/s41418-017-0012-4>.
- Gasparyan, Armen Yuri, Lilit Ayyvazyan, Ulzhan Mukanova, Marlen Yessirkepov, et George D. Kitas. 2019. « The Platelet-to-Lymphocyte Ratio as an Inflammatory Marker in Rheumatic Diseases ». *Annals of Laboratory Medicine* 39 (4): 345-57. <https://doi.org/10.3343/alm.2019.39.4.345>.
- Gitler, Aaron D., Paraminder Dhillon, et James Shorter. 2017. « Neurodegenerative Disease: Models, Mechanisms, and a New Hope ». *Disease Models & Mechanisms* 10 (5): 499-502. <https://doi.org/10.1242/dmm.030205>.
- Goetz, Christopher G. 2011. « The History of Parkinson's Disease: Early Clinical Descriptions and Neurological Therapies ». *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*: 1 (1): a008862. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a008862>.
- Hartigh, Andreas B. den, et Susan L. Fink. 2018. « Pyroptosis Induction and Detection ». *Current Protocols in Immunology* 122 (1). <https://doi.org/10.1002/cpim.52>.

- Heckmann, Bradlee L., Bart Tummers, et Douglas R. Green. 2019. « Crashing the Computer: Apoptosis vs. Necroptosis in Neuroinflammation ». *Cell Death & Differentiation* 26 (1): 41-52. <https://doi.org/10.1038/s41418-018-0195-3>.
- Imtiaz, Fauzia, Kashif Shafique, Saira Saeed Mirza, Zeenat Ayoob, Priya Vart, et Saadiyah Rao. 2012. « Neutrophil lymphocyte ratio as a measure of systemic inflammation in prevalent chronic diseases in Asian population ». *International Archives of Medicine* 5 (janvier): 2. <https://doi.org/10.1186/1755-7682-5-2>.
- Kemoun, G., et L. Defebvre. 2001. « [Gait disorders in Parkinson disease. Clinical description, analysis of posture, initiation of stabilized gait] ». *Presse Medicale (Paris, France: 1983)* 30 (9): 452-59.
- Li, Jie, Feng Cao, He-Liang Yin, Zi-Jian Huang, Zhi-Tao Lin, Ning Mao, Bei Sun, et Gang Wang. 2020. « Ferroptosis: Past, Present and Future ». *Cell Death & Disease* 11 (2): 88. <https://doi.org/10.1038/s41419-020-2298-2>.
- Li, Peng, Yu-Long Yin, Defa Li, Sung Woo Kim, et Guoyao Wu. 2007. « Amino Acids and Immune Function ». *The British Journal of Nutrition* 98 (2): 237-52. <https://doi.org/10.1017/S000711450769936X>.
- MacMahon Copas, Adina N., Sarah F. McComish, Jean M. Fletcher, et Maeve A. Caldwell. 2021. « The Pathogenesis of Parkinson's Disease: A Complex Interplay Between Astrocytes, Microglia, and T Lymphocytes? ». *Frontiers in Neurology* 12 (mai): 666737. <https://doi.org/10.3389/fneur.2021.666737>.
- Madetko, Natalia, Bartosz Migda, Piotr Alster, Paweł Turski, Dariusz Kozirowski, et Andrzej Friedman. 2022. « Platelet-to-Lymphocyte Ratio and Neutrophil-Tolymphocyte Ratio May Reflect Differences in PD and MSA-P Neuroinflammation Patterns ». *Neurologia i Neurochirurgia Polska* 56 (2): 148-55. <https://doi.org/10.5603/PJNNS.a2022.0014>.
- « Maladie de Parkinson (MP) - Troubles du cerveau, de la moelle épinière et des nerfs ». s. d. Manuels MSD pour le grand public. Consulté le 17 juin 2022. <https://www.msdmanuals.com/fr/accueil/troubles-du-cerveau,-de-la-moelle-%C3%A9pini%C3%A8re-et-des-nerfs/troubles-du-mouvement/maladie-de-parkinson-mp>.
- Meng, Xianchun, Qian Chang, Yuying Liu, Ling Chen, Gaohui Wei, Jingjing Yang, Peiguo Zheng, Fucheng He, Wanhai Wang, et Liang Ming. 2018. « Determinant Roles of Gender and Age on SII, PLR, NLR, LMR and MLR and Their Reference Intervals Defining in Henan, China: A Posteriori and Big-Data-Based ». *Journal of Clinical Laboratory Analysis* 32 (2): e22228. <https://doi.org/10.1002/jcla.22228>.
- Miller, Ivy N., et Alice Cronin-Golomb. 2010. « Gender Differences in Parkinson's Disease: Clinical Characteristics and Cognition ». *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society* 25 (16): 2695-2703. <https://doi.org/10.1002/mds.23388>.
- « Necroptosis: A Novel Pathway in Neuroinflammation - PMC ». s. d. Consulté le 27 juin 2022. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8311004/>.
- Pasparakis, Manolis, et Peter Vandenabeele. 2015. « Necroptosis and Its Role in Inflammation ». *Nature* 517 (7534): 311-20. <https://doi.org/10.1038/nature14191>.
- Pelletier, M, et F M Vallette. 2001. « Apoptose et maladies neurodégénératives ». *P HARMACOLOGIE* 15: 8.

- Poon, Ivan K. H., Christopher D. Lucas, Adriano G. Rossi, et Kodi S. Ravichandran. 2014. « Apoptotic Cell Clearance: Basic Biology and Therapeutic Potential ». *Nature Reviews. Immunology* 14 (3): 166-80. <https://doi.org/10.1038/nri3607>.
- Przedborski, Serge, Miquel Vila, et Vernice Jackson-Lewis. 2003. « Neurodegeneration: What Is It and Where Are We? » *The Journal of Clinical Investigation* 111 (1): 3-10. <https://doi.org/10.1172/JCI117522>.
- Santos, Kamilla de Faria, Rômulo Morais Azevedo, Caroline Christine Pincela da Costa, Dhiogo da Cruz Pereira Bento, Angela Adamski da Silva Reis, et Rodrigo da Silva Santos. 2022. « Neutrophil-Lymphocyte Ratio (NLR) and Platelet-Lymphocyte Ratio (PLR) as neuroinflammatory biomarkers in Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) progression ». *Research, Society and Development* 11 (5): e29611528073. <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i5.28073>.
- Schulz, Jörg B., et Björn H. Falkenburger. 2004. « Neuronal Pathology in Parkinson's Disease ». *Cell and Tissue Research* 318 (1): 135-47. <https://doi.org/10.1007/s00441-004-0954-y>.
- Stoker, Thomas B., et Julia C. Greenland, éd. 2018. *Parkinson's Disease: Pathogenesis and Clinical Aspects*. Brisbane (AU): Codon Publications. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK536721/>.
- Strassel, C., F. Lanza, et C. Gachet. 2020. « Plaquettes sanguines de culture : état de l'art ». *Bulletin De L'Academie Nationale De Medecine* 204 (9): 971-80. <https://doi.org/10.1016/j.banm.2020.10.002>.
- Tang, Daolin, Xin Chen, Rui Kang, et Guido Kroemer. 2021. « Ferroptosis: Molecular Mechanisms and Health Implications ». *Cell Research* 31 (2): 107-25. <https://doi.org/10.1038/s41422-020-00441-1>.
- Tonnus, Wulf, Florian Gembardt, Markus Latk, Simon Parmentier, Christian Hugo, Stefan R. Bornstein, et Andreas Linkermann. 2019. « The clinical relevance of necroinflammation—highlighting the importance of acute kidney injury and the adrenal glands ». *Cell Death and Differentiation* 26 (1): 68-82. <https://doi.org/10.1038/s41418-018-0193-5>.
- Vande Walle, Lieselotte, et Mohamed Lamkanfi. 2016. « Pyroptosis ». *Current Biology* 26 (13): R568-72. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2016.02.019>.
- Wang, Qun, Jianfeng Wu, Yicheng Zeng, Kong Chen, Chuangxin Wang, Shiqi Yang, Nisi Sun, Hao Chen, Kang Duan, et Gaofeng Zeng. 2020. « Pyroptosis: A pro-Inflammatory Type of Cell Death in Cardiovascular Disease ». *Clinica Chimica Acta* 510 (novembre): 62-72. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2020.06.044>.

Annexes

Questionnaire :

a) Données démographiques

Nom et prénom	Date de naissance	Sexe		Lieu de naissance et pays d'origine	résidence	Tél/mobl	Taille /poids
		1 (Masculin)	2 (Féminin)				

b) Histoire de la maladie et diagnostic

b.1) Histoire de la maladie

(1) Date d'apparition

avant l'âge de 50 ans (rare)	75-80 ans
1	2

(2) Evolution**-Histoire de la maladie dans la famille**

Héréditaire			
(1) Oui			(2) non
Nature de la parenté	1 (premier degré)		
	2 (collatéraux)		

(3) Traitement

Type de traitement	
---------------------------	--

Tolérance de traitement		
ça va mieux	C'est stable	ça empire

Efficacité de traitement		
ça va mieux	C'est stable	ça empire

b.2) Diagnostic**(1) clinique****- type de la maladie :**

forme classique (comprenant un tremblement de repos, un ralentissement des mouvements et une raideur d'un seul côté du corps)	
forme « akinéto-rigide » (le tremblement est absent)	
forme « tremblante » (juste un tremblement de repos)	

-maladie (s) associée (s) :**- signes cliniques :**

(En dehors de ces trois principaux signes)

	OUI	NON
une baisse des capacités de mémoire		
troubles de l'attention		
un ralentissement de la pensée		
troubles du sommeil (nombreux rêves agités)		
perte de motivation (état dépressif)		

(D'autres symptômes qui peuvent apparaître au cours de l'évolution la maladie)

	OUI	NON
une fatigue marquée avec somnolence		
une diminution de l'odorat		
une constipation		
un amaigrissement		
des troubles de la déglutition		

(2) examen biologique

Analyse demandées	Résultats	Normes formes
VITAMINE D (25 OH)	ng/ml	30-60