



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



جامعة أبو بكر بلقايد – تلمسان

Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMEN

كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون

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

Département de Biologie

Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée et d'Immunologie W04144100

MÉMOIRE

Présenté par

BRAHIMI HALIMA

LAKHEL KHADEM CHAIMA

En vue de l'obtention du Diplôme de MASTER En Immunologie

THÈME

Implication de la phénylalanine et du Tryptophane dans la réponse immunitaire anti-infectieuse du nouveau-né prématuré.

Soutenu le 29- 09- 2022, devant le jury composé de:

Sous la direction du Professeur Mourad ARIBI

Présidente :	Mme Nouari Wafa MCB	Université de Tlemcen
Encadrant :	Mr. Smahi M.C Professeur	Université de Tlemcen
Examinatrice :	M ^{me} Benmansour souhila MAA	Université de Tlemcen

Année universitaire: 2021/2022

Dédicaces

Merci Allah (mon dieu) de m'avoir donner la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire , la patience d'aller jusqu'au bout du rêve et le Bonheur de lever mes mains vers le

ciel et de dire 'Ya kayoum'

*Je dédie ce modeste travail à celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon Bonheur et ma réussite, à ma mère **BAHA KHAIRA**.*

*A mon père, école de mon enfance, qui a été mon ombre Durant toutes les années des études, et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager , à me donner l'aide et à me protéger, **ABD KADER BRAHIMI** Que dieu les gardes et les protégé.*

*A mes adorables sœur: **KAWTER.SAMAH .ABLA***

*A Mon frère :**HICHEM***

*A mes amies: **RADJAA. ISSAM. MERIEM. INSAF. ASMA. GHOUTI** .A mes camarades de notre promo université 2022.*

*Un spéciale dédicace à: **YASSER TABTI** a cause de toi je suis là aujourd'hui merci beaucoup.*

A tous ceux qui me sont chères .A tous ceux qui m'aiment .A tous ceux que J'aime Je dédie Ce travail

BRAHIMI HALIMA

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail particulièrement à mes très chers parents, qui ont consacré leur existence bâtir la mienne, pour leur soutien, patience et soucis de tendresse et d'affection pour tout ce qu'ils ont fait pour que je puisse arriver à ce stade.

A ma mère qui m'a encouragé durant toute mon étude, et qui sans elle, ma réussite n'aura pas eu lieu.

Quelle trouve ici mon amour et mon affection

A mon père, qui est toujours disponible pour nous et prêt à nous aider, je lui confirme mon attachement et mon profond respect.

A mes chers frère Yahia, Mourad et Ismail, mes sœurs Racha, Zahira et Imane, et à mes petits chers Hatem et Razane ton Chaima vous dites que vous êtes la source de joie et de bonheur que j'adore et je vous Souhaite la réussite dans vos vies

A mes deux chers amis Walid & Affef qui sont la lumière de mon chemin

Remerciements

D'abord je remercie «Allah», de m'avoir donné le courage, la patience et la volonté pour réaliser ce modeste travail.

Ce travail a été réalisé au niveau du Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée et Immunologie (BIOMOLIM), Université de Tlemcen, sous la direction du Professeur Mourad ARIBI qui m'a offert une excellente formation durant toutes ses années.

J'exprime mes sincères remerciements et ma gratitude à mon honorable monsieur **Pr Mourad ARIBI**, Professeur au département de Biologie, Université de Tlemcen, qui m'a apporté son soutien et son aide, et qui m'a appris que la vie mérite toujours notre diligence, que le succès a de nombreux secrets, et que l'impossible peut arriver.

J'exprime mes sincères remerciements, du fond du cœur à mon encadrant **Mr. SMAHI M.C**, Professeur à l'université de Tlemcen pour son soutien, ses conseils, sa gentillesse sa patience, sa compréhension et ses intérêts portés pour mon thème de recherche.

Un grand merci va à notre responsable de spécialité, **M^{elle} NOUARI Wafa**, Maître de Conférences «B», à l'Université de Tlemcen d'avoir acceptée de présider le jury de ce travail.

J'exprime mes vifs remerciements à **M^{me} BENMANSOUR Souhila**, Maître Assistante «A», à l'Université de Tlemcen, pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant de faire partie de ce jury.

J'exprime mes chers remerciements à **M^{me} MESSALI Rabiaa**, ingénieure du laboratoire BIOMOLIM, pour sa générosité et son aide permanent.

Sans oublier un grand Merci pour l'équipe médicale du service pédiatre au niveau de CHU Tlemcen

Merci à toutes et à tous

Résumé

Introduction :

Les nouveau-nés prématurés ont un système immunitaire immature, avec une immunité innée et adaptative réduite, leur système immunitaire peut être encore plus compromis par différents facteurs associés à la naissance prématurée. Le système immunitaire, comme n'importe quel autre système de l'organisme, dépend d'un apport alimentaire adéquat et est très sensible aux déficits et déséquilibres nutritionnels et le tryptophane et phénylalanine l'un des essentiels acides aminés pour améliorer le système immunitaire de prématuré pendant la réponse anti-infectieuse.

Objectif:

évaluer les niveaux de tryptophane (trp) et phénylalanine (phe) dans le sérum des nouveaux nés prématurés infectés pouvant être comme conséquence lors de l'un résultat qui démontre son interférence dans la réponse immunitaire anti-infectieuse.

Matériel et méthodes:

Nous avons fait des prélèvements sanguins pour des échantillons infectés et non infectés, Les tubes ont été centrifugés 20 minutes après chaque prélèvement à 2500 tours/min pendant 15 minutes puis placés au congélateur à -20°C. et traité ces échantillons dans le laboratoire à partir de la technique biochimie "la chromatographie à couche mince (CCM)" basée sur les différences d'affinité des substances à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe, l'autre mobile de bute l'identification des taux de 02 acides aminés (TRP et PHE) dans les sérums des différents patients infectés et les comparer avec ceux des témoins en qualité et en quantité.

Conclusion : l'augmentation de phénylalanine et tryptophane dans la teneur plasmatique chez les nouveaux nés prématurés infectés c'est un bio-marqueur que le TRP et PHE possède un rôle important dans la réponse immunitaire des prématurés.

Les mots clés: phénylalanine, tryptophane, les nouveaux nés prématurés, immunité anti-infectieuse.

المقدمة :

الأطفال حديثي الولادة المبتسرين لديهم جهاز مناعي غير ناضج ، مع انخفاض المناعة الفطرية والتكيفية ، يمكن أن يكون نظام المناعة لديهم أكثر عرضة للخطر بسبب العوامل المختلفة المرتبطة بالولادة المبكرة. يعتمد الجهاز المناعي ، مثل أي نظام آخر في الجسم ، على تناول الطعام الكافي وهو حساس جدا للعجز والاختلالات الغذائية ، ويعتبر التربتوفان والفينيل ألانين أحد الأحماض الأمينية الأساسية لتحسين الجهاز المناعي للأطفال الخدج أثناء الاستجابة المضادة للعدوى.

الهدف:

لتقييم مستويات التربتوفان (ترب) والفينيل ألانين (ف) في مصل الأطفال حديثي الولادة المبتسرين المصابين التي قد تكون نتيجة لنتيجة لتقييم توضح تدخلها في الاستجابة المناعية المضادة للعدوى.

المواد والأساليب:

أخذنا عينات دم للعينات المصابة وغير المصابة ، وتم طرد الأنابيب بالطرد المركزي بعد 20 دقيقة من كل عينة عند 2500 دورة في الدقيقة لمدة 15 دقيقة ثم وضعت في الفريزر عند -20°C معالجة هذه العينات في المختبر من تقنية الكيمياء الحيوية "طبقة رقيقة اللوني (تلك)" على أساس الاختلافات في تقارب المواد فيما يتعلق مرحلتين ، واحدة ثابتة أو ثابتة الدافع الآخر هو تحديد مستويات 02 الأحماض الأمينية (ترب و ف) في الأمصال من مختلف المرضى المصابين ومقارنتها مع تلك الضوابط في الجودة والكمية.

الخلاصة:

زيادة فينيل ألانين والتربتوفان في محتوى البلازما في الأطفال حديثي الولادة المبتسرين المصابين هو علامة حيوية أن ترب و ف لها دور مهم في الاستجابة المناعية للأطفال الخدج.

الكلمات المفتاحية : فينيل ألانين ، تربتوفان ، حديثي الولادة المبتسرين ، مناعة مضادة للعدوى

Abstract

Introduction:

Preterm newborns have an immature immune system, with reduced innate and adaptive immunity; their immune system may be further compromised by various factors associated with preterm birth. The immune system, like any other system in the body, is dependent on adequate dietary intake and is very sensitive to nutritional deficits and imbalances and tryptophan ;phenylalanine one of the essential amino acids to enhance the preterm immune system during the anti-infectious response.

Objective:

To assess the levels of tryptophan (trp) and phenylalanine (phe) in the serum of infected preterm infants that may be a consequence of a finding that demonstrates its interference in the anti-infective immune response.

Material and methods:

We took blood samples for infected and uninfected specimens, centrifuged them for 20 minutes after each collection at 2500 rpm for 15 minutes and then placed them in a freezer at -20°C. The samples were processed in the laboratory using the biochemical technique "thin layer chromatography (CCM)" based on the differences in affinity of the substances with respect to two phases, one stationary or fixed, the other mobile, in order to identify the levels of 02 amino acids (TRP and PHE) in the sera of the various infected patients and compare them with those of the controls in quality and quantity.

Conclusion:

The increase of phenylalanine and tryptophan in the plasma content of infected preterm infants is a bio-marker that TRP and PHE have an important role in the immune response of preterm infants.

Key words:

Phenylalanine, tryptophan, preterm newborns, anti-infective immunity.

Liste des figures

Figures	Titres	Pages
Figure1	Distribution des différentes formes de naissance prématurée.	18
Figure2	Les cellules souches hématopoïétiques donnent naissance à toutes les cellules sanguine matures et à tous les tissus de l'organisme.	21
Figure3	Réservoirs et migration des CSH pendant la gestation et le début de la vie postnatale chez la souris.	22
Figure4	Organization de ganglion lymphatique.	24
Figure5	Le développement des leucocytes commence dans le sac vitellin avant de se déplacer vers le foie et enfin la moelle osseuse.	25
Figure6	Voies des réponses des cellules T néonatales pendant les interactions APC.	32
Figure7	Altération de l'activation des cellules B néonatales avec l'antigène.	34
Figure8	Voies métaboliques de la phénylalanine en tyrosine.	36
Figure9	La cytokine pro-inflammatoire INF- γ est préférentiellement libérée pendant le processus d'activation immunitaire de type Th1.	38
Figure10	Schéma des différentes voies métaboliques du tryptophane.	40
Figure11	Mécanisme impliqués dans la régulation de l'inflammation par le métabolisme des Trp.	41
Figure12	Les nouvelles fonctions du tryptophane dans les réponses immunitaires pourraient être influencées par le NAD ⁺ . La synthèse de novo du NAD ⁺ par le QUIN semble jouer un rôle important dans la régulation de la tolérance immunitaire.	42
Figure13	L'entérocoliteulcéronécrosane.	46
Figure14	Diagnostic du syndrome de détresse respiratoire SDR chez les prématurés.	48
Figure15	La manifestation des bactéries dans l'urine.	54
Figure16	Les symptômes d'une allergie alimentaire chez un nouveau né.	55
Figure17	Service de néonatalogie.	55
Figure18	Processus du prélèvement sanguin d'un nouveau né prématuré.	56
Figure29	Un tube centrifugé pendant 20 minutes.	57
Figure20	L'appareil de la chromatographie.	60
Figure21	Test de ninhydrine pour les réactions des acides aminées.	61
Figure22	Les étapes de préparation de la plaque CCM.	61
Figure23	Processus d'agitation des solutions diluées.	62

Figure 25	Réalisation des dépôts sur la plaque de silice.	62
Figure 26	Dépôt de la plaque dans la cuve.	63
Figure 27	Etapas effectuées pour développer la plaque.	64
Figure 28	Les différentes étapes de la révélation de CCM.	63
Figure 29	Intensité de chaque tache correspond aux différents AA.	64
Figure 30	les moyennes des valeurs de CTCF des résultats de CCM des acides aminés chez des nouveaux né prématurés.	69
Figure31	les moyennes des valeurs de CTCF des résultats de CCM des acides aminés chez des nouveaux né prématurés.	70
Figure 32	les moyenne des concentrations (g/l) des résultats de CCM des acides aminées chez des nouveaux né prématurés (infectés et non infectés)	71
Figure 33	les moyenne des concentrations (g/l) des résultats de CCM des acides aminées chez des nouveaux né prématurés (infectés et non infectés.	72
Figure 34	le diagramme a barre des moyennes des valeurs de CTCF des résultats de CCM des acides aminés chez des nouveaux né prématurés	69
Figure 35	le diagramme a barre des moyennes de concentration de protéine totale (g/l) chez acides aminés chez des nouveaux né prématurés	74
Figure 36	le diagramme a barre des moyennes de concentration de PHE (g/l) chez des nouveaux né prématuré infecté et non infecté	75
Figure 37	le diagramme a barre des moyennes de concentration de TRP (g/l) chez des nouveaux né prématuré infecté et non infecté	76

Liste des tableaux

Tableau 1	Causes classiques des accouchements prématurés	19
Tableau 2	Comparaison de l'activation et des réponses aux cytokines des monocytes et des cellules dendritiques dérivées du sang de cordon néonatal humain, cellules dendritiques dérivées du sang de cordon néonatal par rapport aux adultes.	28
Tableau 3	Définition de l'hypoglycémie	49
Tableau 4	les valeurs de CTCF des résultats de CCM des acides aminés chez des nouveaux né prématurés.	67
Tableau 5	moyennes des valeurs de CTCF des résultats de CCM des acides aminés chez des nouveaux né prématurés.	67
Tableau 6	Les pourcentages des résultats des CCM des acides aminé chez des nouveaux né prématurés.	70
Tableau 7	la concentration des résultats de CCM des acides aminés chez des nouveaux né prématurés.	70
Tableau 8	les moyennes des concentrations des résultats de CCM des acides aminées chez des nouveaux né prématurés (infectés et non infectés).	70
Tableau 9	les moyennes des pourcentages des résultats de CCM des acides aminées chez des nouveaux né prématurés (infectés et non infectés).	71
Tableau 10	statistique descriptive des concentrations des résultats de CCM des acides aminés chez des nouveaux né prématurés infectés.	72
Tableau 11	statistique descriptive des concentrations des résultats de CCM des acides aminés chez des nouveaux né prématuré non infectés.	73

Abréviations:

RCIU	Retard de Croissance Intra-Utérin.
RPM	Rupture Prématuré des Membranes
CS	Cellule Souche Hématopoïétique
MALT	Tissu Lymphoïde Associé aux Muqueuse.
OMA	Otite Moyenne Aigue
HIB	Heamophilus Influenza B.
AG	Age
PRP-T	Vaccin Conjugué à l'anatoxine Tétanique Modifié.
RVU	Reflux Vésico-Urétéral
MC	Maladie Cœliaque
Trp	Tryptophane
CCM	Chromatographie sur Couche Mince
Phe	Phénylalanine
RF	Rapport Frontal
A.A	Acide Amine.
AC	Anti-corps

Sommaire

- ✓ Dédicaces
- ✓ Remerciements
- ✓ Résumé
- ✓ Abstract
- ✓ الملخص
- ✓ Liste des figures
- ✓ Liste des tableaux
- ✓ Liste des tableaux
- ✓ Abréviations
- ✓ Introduction
- ✓ Généralités
- ✓ Définition :

1. Types de prématurité

- 2.1 Prématurité spontanée
- 2.2 Prématurité induite

2. Causes et facteurs de risque d'accouchement prématuré :

❖ *Chapitre1: Les nouveau- nés prématurés et le développement de leurs systèmes immunitaires.*

1. Système immunitaire :

- 1.1 Ontogénèse du système immunitaire
- 1.2 L'hématopoïèse périnatale
- 1.3 L'hématopoïèse post-natale

2. Développement des organes lymphoïdes primaires :

- 1.1 La moelle osseuse :
 - 1.1.1 Foie fœtal et moelle osseuse
- 1.2 Le thymus

3. Développement des organes lymphoïdes secondaires

- 3.1 La rate
- 3.2 Les ganglions lymphatiques
- 3.3 Tissus lymphoïdes associés aux muqueuses:(MALT)

4. Développement de l'immunité non spécifique du nouveau-né prématuré

5. Développement des cellules phagocytaires (polynucléaires et macrophages)

- 5.1 Les monocytes et les macrophages

5.2 Les neutrophiles

5.3 Les cellules dendritiques (CD)

5.4 les cellules NK

6. Développement du système du complément

6.1 Cellules suppressives dérivées des myéloïdes (MDSC)

7. Développement de l'immunité spécifique du nouveau-né prématuré

7.1 Développement de l'immunité cellulaire

7.1.1 Lymphocytes T

7.1.2 Cellules T CD4 néonatales

7.1.3 Les cellules TFH néonatales

7.1.4 Lymphocytes T auxiliaires (helpers) néonatales

7.1.5 Cellules Th17 néonatales

7.1.5 Cellules T CD8 néonatales

8. Développement de l'immunité humorale

8.1 Les cellules B et les immunoglobulines

❖ Chapitre 2: Phénylalanine et tryptophane

1. Phénylalanine

1.1 Définitions et structure

1.2 Conversion de la phénylalanine en tyrosine (voie majeure)

1.3 Voies mineures

1.4 Phénylalanine et le système immunitaire

2. Le tryptophane

2.1. Définitions et structure

2.2 Voies métaboliques du tryptophane :

2.2.1 Voie de la kynurénine

2.2.2 Biosynthèse de la sérotonine

2.2.3 La biosynthèse de la mélatonine

2.3 Tryptophane et le système immunitaire

Chapitre 3 : les différentes réponses anti-infectieuses pour les nouveaux nés prématurés

1. Prévention des infections :

1.1 Diarrhée aigue :

1.2 L'entérocolite ulcéronécrosante

1.2.1 Définition

1.2.2 Les facteurs de risque

1.2.3 Diagnostic de l'entérocolite ulcéronécrosante

1.2.4 La prévention contre cette maladie

1.3 l'Infections pulmonaires

1.4.1 La pneumonie néonatale

1.4.1.1 Diagnostic de pneumonie néonatale

1.4.1.2 Prévention contre cette infection

1.5 En cas de Méningites à haemophilus influenzae b (Hib)

Chapitre 4 : implication de la phénylalanine et tryptophane dans l'immunité anti-infectieux des prématurés

1. implication du tryptophane dans l'immunité anti-infectieux des prématurés

2. implication de Phénylalanine dans l'immunité anti-infectieuse des prématurés

3. Problématique

4. Objectif

5. But

Partie 02 : Matériel et Méthode

1. Etude des profils sérologiques des patients prématurés

1.1 La population étudiée

1.2 Prélèvement sanguin

1.3 Préparation des échantillons

1.1.1 Dosage des taux plasmatiques des acides aminés

1.4 Chromatographie sur Couche Mince (CCM)

1.4.1 Généralités et Principes de la méthode

2. Matériels et réactifs

2.1 Matériels

2.2 Produits et réactifs

3. Méthode

3.1 Préparation de la cuve chromatographique

3.2 Préparation des plaques CCM

3.3 Manipulation des échantillons

3.4 Réalisation des dépôts sur la plaque de silice

3.5 Dépôt de la plaque dans la cuve

3.6 Développement

3.7 Révélation

4. Quantification des différents AA

- **Partie 03 : Résultats et Discussions**

1. **Résultats et interprétations**

2. **Le taux des deux acides aminés chez les patients prématurés sains**

3. **Discussion**

4. **Résultats**

- **Partie 04 : Conclusion**

Partie 01 :
Synthèse
bibliographique

Introduction

Introduction :

Jusqu'au XVIIIe siècle, la médecine ne se préoccupait que peu de la santé des nouveau-nés et des bébés dans leur ensemble. Aujourd'hui, La conception de la prématurité est en constante évolution et de nombreux points dans cet historique sont en reconsidération sous la lumière des connaissances pathologiques et gynécologiques (**Dr Pfister, 2010**).

La naissance prématurée spontanée est devenue un problème major pour la santé publique. Le prématuré donc, a besoin d'un suivi méticuleux pour le protéger. La relation entre le bébé et ses parents est ainsi un facteur primordial dans ce suivi. En même temps leur développement incomplet, a représenté un domaine vierge pour les recherches scientifiques. Il a permis de comparer le développement fœtal in-utero et celui du bébé prématuré avec toutes ses caractéristiques et ses compétences (**Pupier, 2010**).

La prématurité est la première cause de morbidité et de mortalité néonatales dans le monde. Les principaux risques de la prématurité sont en rapport avec l'immaturation des différents organes. La meilleure connaissance de ces facteurs de risque permet une meilleure prise en charge du nouveau-né prématuré à fin de prévenir les nombreuses complications à court et à long terme.

On a choisi le sujet de la prématurité pour différentes raisons. D'abord par ce qu'il est très intéressant au grand public, et surtout pour étudier le développement du système immunitaire du prématuré et évaluer le rôle des acides aminés dans la réponse immunitaire des prématuré.

Généralités :

1. Définition :

Une grossesse humaine menée à terme dure 40 semaines. Toute naissance avant le terme de 37 semaines révolues mais au moins 22 semaines, quel que soit le poids (mais au moins 500 g) est considérée comme prématurée (Organisation mondiale de la Santé). Bien que toutes les naissances ayant lieu avant 37 semaines de gestation soient définies comme prématurées, la plupart des séquelles et des décès du nourrisson surviennent lorsque l'accouchement a lieu avant 34 semaines. Il est par conséquent souvent pratique de diviser les naissances prématurées en sous-catégories : très grande prématurité, grande prématurité, prématurité modérée et, dans certains cas, prématurité légère.

- Prématurité, naissance entre 23 et 37 semaines.
- Prématurité légère, naissance entre 34 et 36 semaines.
- Prématurité modérée, naissance entre 32 et 34 semaines.
- Grande prématurité, naissance avant 32 semaines.
- Très grande prématurité, naissance avant 28 semaines.

Une naissance prématurée peut être spontanée ou provoquée par le médecin. Environ 20 % des accouchements prématurés sont provoqués. Il s'agit de grossesses pour lesquelles le médecin a décidé que le bébé doit naître prématurément en raison de graves complications maternelles ou fœtales, telles qu'une pré-éclampsie sévère ou un retard de croissance intra-utérin (RCIU). Le travail est alors déclenché médicalement ou le médecin procède à une césarienne (**Bloch et Lequien, 2003**).

2. Types de prématurité :

2.1 La prématurité spontanée : (70%) :

Elle est la conséquence d'un travail prématuré précédé ou non d'une rupture prématurée des membranes (RPM), celle-ci majore le risque d'infection ovulaire (**Bensenonci, 2008**). Elle a pour origine : - Les infections qui sont secondaires soit à un travail prématuré par l'intermédiaire d'une activité utérine, soit à une rupture prématurée des membranes, qui elle-même sera suivie d'une activité utérine et d'un accouchement prématuré. Elles constituent la principale cause de prématurité (**Langer et al., 2001**). Les causes de distension utérine : les grossesses multiples, l'hydramnios ou l'excès de liquide amniotique parfois en rapport avec une malformation fœtale. - Toutes les malformations utérines avec la béance cervicale. - Le placenta prævia (**Ranband, 2010**).

2.2 La prématurité induite : (30%) :

Elle est la conséquence d'une décision médicale motivée par une pathologie maternelle ou fœtale sévère (HTA gravidique, hypotrophie fœtale) lorsque le bénéfice fœtal ou maternel attendu est supérieur aux risques de la prématurité ainsi induite, la naissance est souvent obtenue par césarienne. Elle s'est développée parallèlement aux progrès de la réanimation néonatale (**Press, 1983**). Les indications d'extraction sont : l'hypotrophie ou souffrance fœtale chronique, la pré-éclampsie, l'hématome rétroplacentaire ainsi que diverses pathologies maternelles (**Cunningham et al.2001**)

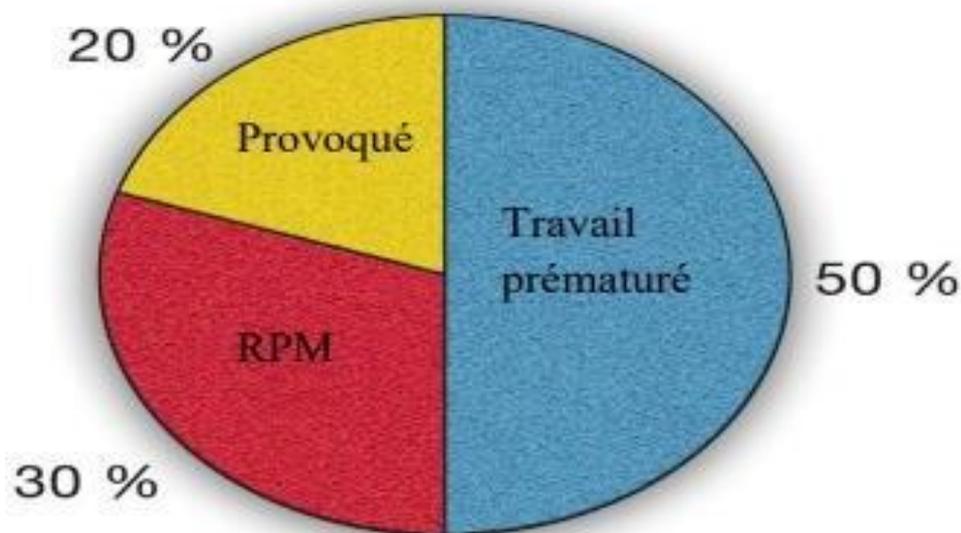


Figure n°01 : Distribution des différentes formes de naissance prématurée (**Hollier, 2005**).

2. Causes et facteurs de risque d'accouchement prématuré :

Au Burkina, Kabore et coll. en 2007 ont répertorié les conditions socioéconomiques, la primiparité, les vomissements gravidiques, l'exécution des travaux champêtres, une charge importante du travail au cours de la grossesse comme significativement associés aux petits poids de naissance (**Kabore et al., 2007**) En 2010 dans une étude descriptive à HGOPY le statut matrimonial, l'absence d'emploi, la primiparité chez les moins de 20 ans étaient associés à l'accouchement prématuré de même que les antécédents de prématurité, d'avortement, d'accouchements prématurés induits, de grossesses multiples, de paludisme et des infections au cours de la grossesse (**Munyutu, 2011**) **Diarra AK en 2010** dans une étude descriptive des accouchements prématurés au centre de santé de référence de la commune I du district de Bamako a identifié certains facteurs tels que la primiparité, la faible couverture prénatale, le paludisme comme risques d'accouchement prématuré.

Tableau n°1: Causes classiques des accouchements prématurés (Bourillon, 1993).

La décision médicale	L'accouchement prématuré spontané	
	Causes maternelles	Causes ovulaires
Hypertension artérielle Diabète Placenta prævia Hémorragie	Infections materno-fœtales Fibrome Béance cervicale	Grossesses multiples Malformations Hydramnios

Chapitre1: Les nouveau- nés prématurés et le développement de leurs systèmes immunitaires.

1. Système immunitaire :

Le système immunitaire a la tâche complexe de distinguer les envahisseurs étrangers des tissus de l'organisme et des auto-antigènes. L'apprentissage de cette discrimination entre le soi et le non-soi commence dès le début de la gestation et se poursuit tout au long de la vie .Les nouveau-nés possèdent un système immunitaire en développement, qui est différent de celui des adultes du fait qu' ils vivent initialement dans un environnement stérile semi-allogène, puis sont exposés à un environnement riche en microbes, ce qui rend les nouveau-nés très sensibles aux infections. On estime que 40 % des 3 millions de décès néonataux annuels dans le monde sont dus à des infections (**Liu et al.2012**).

1.1 Ontogénèse du système immunitaire :

L'état immunitaire du nouveau-né est l'expression du développement des systèmes et fonctions immunologiques pendant la vie intra-utérine, ce développement s'effectue normalement en l'absence de stimulation antigénique (**Moneret-Vautrin et Dollander, 1976**).

1.2 Hématopoïèse périnatale :

L'hématopoïèse chez le fœtus et le nouveau-né diffère de celle de l'adulte. La principale fonction de l'hématopoïèse adulte est la production de nouvelles cellules pour compenser la perte constante de cellules hématopoïétiques, tandis qu'à l'état fœtale et néonatale, les conditions extrêmes de la croissance et les changements physiologiques rapides exigent un apport extraordinaire de cellules hématopoïétiques multi potentielles. Un apport extraordinaire de cellules souches hématopoïétiques (CSH) multi potentielles (**Christensen et Sola-Visner, 2009**).

Les cellules sanguines, qui sont d'origine mésenchymateuse, sont essentiellement érythroblastiques. Plus tard, pendant le développement de l'embryon, des cellules hématopoïétiques migrent dans le foie et y forment un foyer érythropoïétique. Par la suite, la moelle osseuse, la rate, les nœuds lymphatiques et le thymus de l'embryon reçoivent des cellules hématopoïétiques provenant du foie, et s'engagent dans l'hématopoïèse (**Deldar, 1998**).

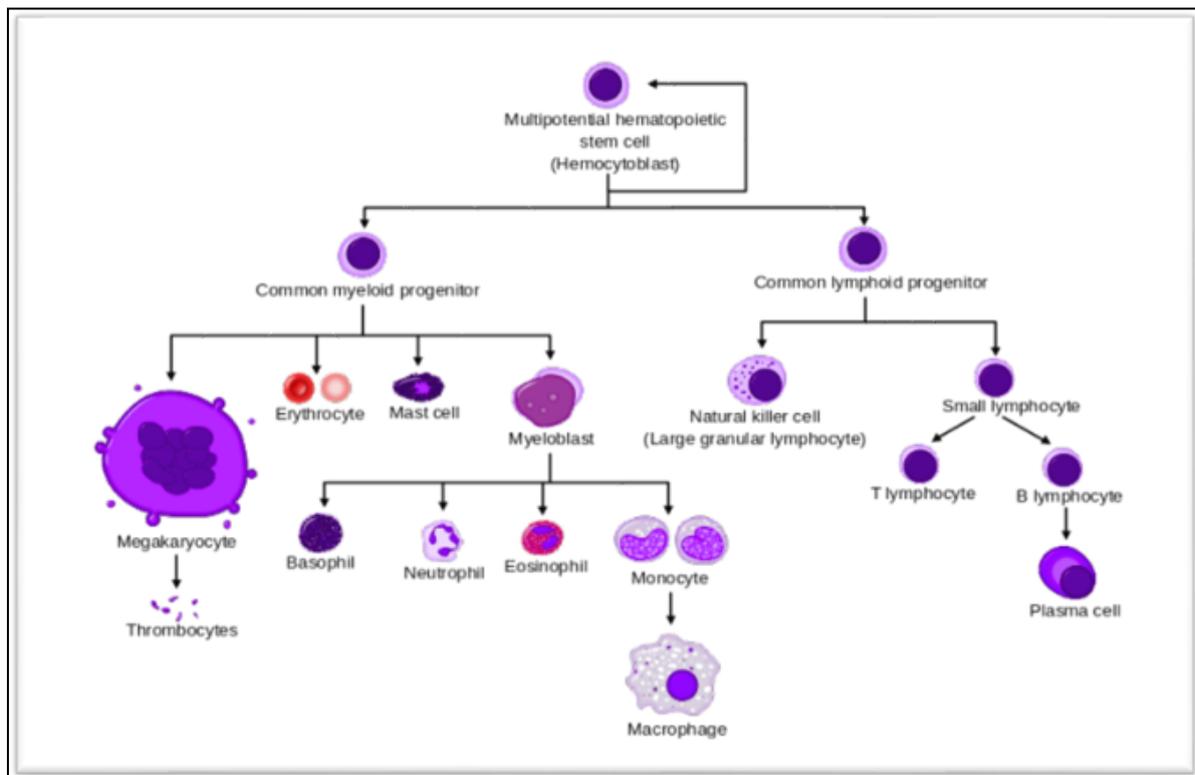


Figure n° 2: Les cellules souches hématopoïétiques donnent naissance à toutes les cellules sanguines matures et à tous les tissus de l'organisme. Les érythrocytes, les granulocytes et les monocytes partagent le même progéniteur myéloïde (**Hägström, 2014**).

1.3 L'hématopoïèse post-natale :

Après la naissance, l'hématopoïèse est limitée à la moelle osseuse, alors que le foie et la rate deviennent inactifs mais gardent un potentiel hématopoïétique. Cette hématopoïèse extra-médullaire entre en jeu en cas d'augmentation des besoins en cellules sanguines, généralement lors d'aplasie ou d'hypoplasie médullaire. A la naissance et durant les premiers temps de la vie extra-utérine, la moelle de tous les os est rouge : elle possède une activité hématopoïétique. Celle-ci diminue peu à peu, et la moelle rouge est remplacée par de la moelle jaune inactive. L'activité hématopoïétique ne perdure chez l'adulte que dans la moelle des os plats : sternum, côtes, pelvis, vertèbres et crâne, et dans l'épiphyse des os longs. Le reste de la moelle osseuse est comblé par du tissu adipeux (**Jain, 1993**).

2. Développement des organes lymphoïdes primaires :

2.1 La moelle osseuse :

La moelle osseuse, cavité centrale des os longs, est la source de toutes les cellules souches lymphoïdes (**Tompkins, 1993**). Il est le siège de l'hématopoïèse, on y retrouve toutes les lignées sanguines. Les lymphocytes destinés à devenir lymphocytes T migrent dans le thymus, tandis que les

lymphocytes B se développent au sein de la moelle osseuse dérive du mésenchyme (**Aufderheide, 1981**).

2.1.1 Foie fœtal et moelle osseuse :

La production de cellules hématopoïétiques se fait d'abord dans le sac vitellin, bien que l'hématopoïèse définitive commence dans l'aorte-gonade-mésonephros (AGM) avec la formation des premières cellules hématopoïétiques. La formation des premiers précurseurs hématopoïétiques à partir de cellules souches hématopoïétiques pluripotentes qui migrent ensuite vers le foie. L'hématopoïèse dans la moelle osseuse commence après 10-20 semaines (**Kan et al.2016**). L'amyélopoïèse commence dès la troisième semaine, tandis que la lymphopoïèse, c'est-à-dire la production de cellules lymphoïdes, commence vers la semaine 8 (**Kan et al. 2016**).

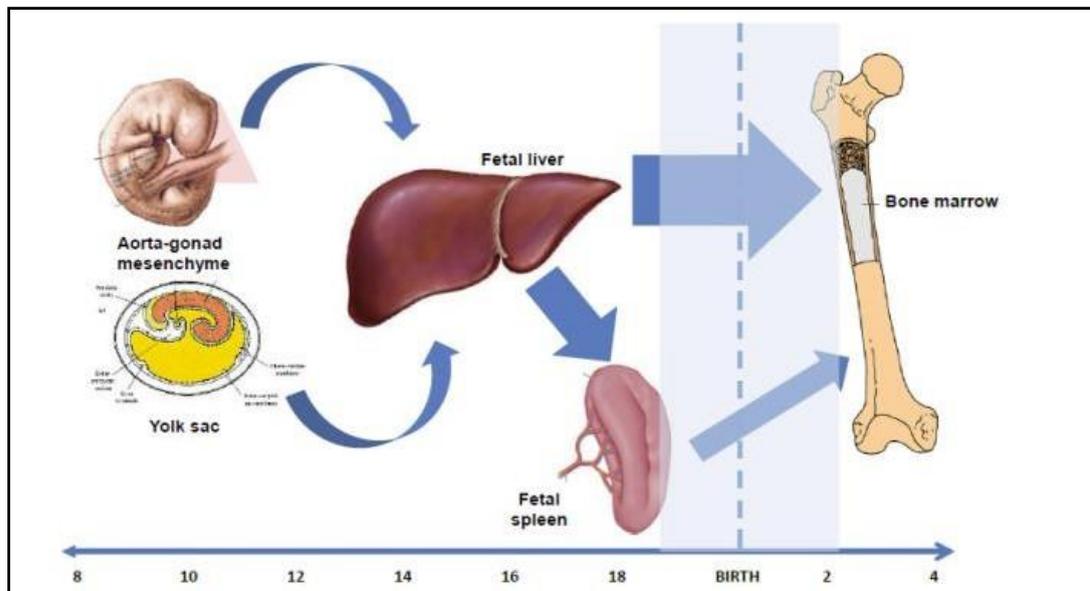


Figure n°3: Réservoirs et migration des CSH pendant la gestation et le début de la vie postnatale chez la souris. Les flèches bleues représentent la migration des CSH par voie sanguine (**Christensen et al.2004**).

2.2 Le thymus :

Le thymus naît d'une ébauche provenant des 3^{ème} et 4^{ème} poches endodermiques pharyngiennes. Cette ébauche est faite de cellules épithéliales, elle est colonisée par les cellules souches d'origine mésenchymateuse vers la 8^{ème} semaine de grossesse et les deux lobes thymiques sont mis en place dans la zone antérieure du médiastin. Le thymus se développe ensuite progressivement et deviendra le siège d'une lymphopoïèse intense, indépendante de toute stimulation antigénique (**François, 1999**). La fonction du thymus est de fournir la circulation sanguine et les organes lymphoïdes secondaires en

lymphocytes T (**Revillard, 1995**). Il est le siège de la différenciation de ces lymphocytes à partir des précurseurs dérivés de cellules souches lymphoïdes de la moelle osseuse.

3. Développement des organes lymphoïdes secondaires :

Les organes lymphoïdes secondaires sont représentés par : la rate, les ganglions et les tissus lymphoïdes associés aux muqueuses.

3.2 La rate :

La rate s'individualise par une structure réticulaire à la 6ème semaine, mais avant la 15ème semaine, il y a peu de lymphocytes qui apparaissent autour des artères Centro-lobulaires de la rate. Cette structure se différencie et s'établit à la 25ème semaine (**Hayywxarj, 1973**). La rate joue un rôle de filtration, élimination par ses macrophages les microorganismes et les antigènes de la circulation sanguine. Elle filtre également les érythrocytes vieillissants ou anormaux (**Tompkins, 1993**). Ce rôle de filtre est permis par le vaste réseau de fibres réticulées constellé de cellules réticulées et de macrophages. La zone marginale est la zone de filtration la plus importante (**Dellmann, 1998**).

3.2 Les ganglions lymphatiques :

Les ganglions lymphatiques sont de petits organes arrondis, disséminés partout dans l'organisme commencent à se former à la fin du 2ème mois, à partir de proliférations mésenchymateuses ayant fait intrusion dans la lumière de vaisseaux lymphatiques. Ils sont hébergés par des lymphocytes à partir des 70 et 120 jours, mais l'organisation en nodules et cordons est tardive (figure n°4) (**Metcalf et Moore, 1971**). Les nœuds lymphatiques ont une double fonction (**Tompkins, 1993**). Ils permettent l'élimination des pathogènes par phagocytose des macrophages, grâce à une filtration très fine de la lymphe, et sont le siège de l'initiation de la réponse immunitaire spécifique. Les nœuds lymphatiques drainant un site d'infection sont fréquemment hypertrophiés, du fait de l'accumulation de cellules et de fluides en réponse à la stimulation antigénique. La capsule s'en trouve alors distendue, et le nœud lymphatique devient chaud et douloureux.

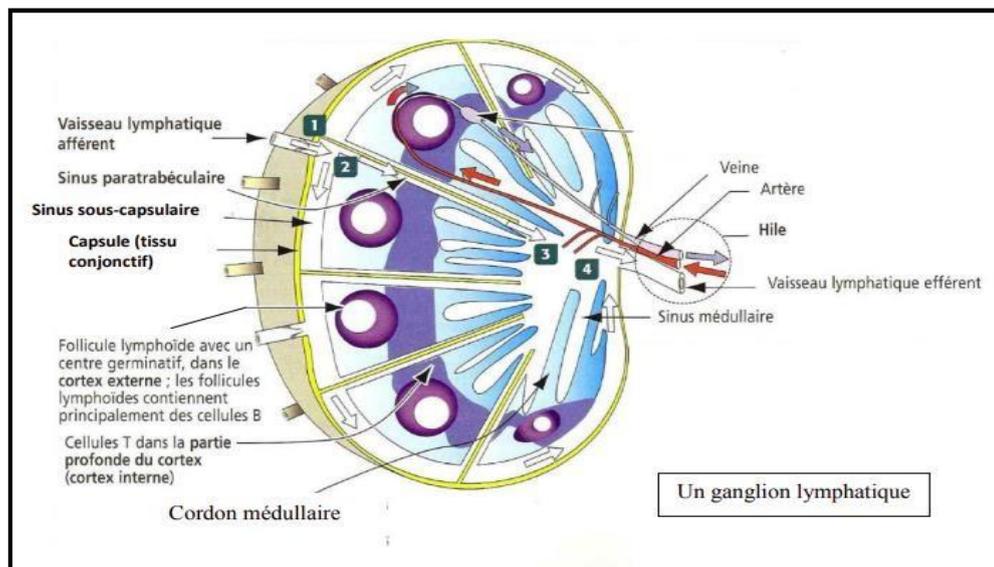


Figure n°4: organisation de ganglion lymphatique (Georges, 2007)

3.3 Tissus lymphoïdes associés aux muqueuses:(MALT)

Les tissus lymphoïdes associés aux muqueuses (MALT) sont formés d'une part de tissus lymphoïdes diffus dans le tissu conjonctif sous épithélial et d'autre part de formations lymphoïdes organisées qui sont des sites d'induction de la réponse immunitaire vis-à-vis d'antigène pénétrant par voie muqueuse à travers l'épithélium (Revallard, 2001).

3. Développement de l'immunité non spécifique du nouveau-né prématuré:

La réponse immunitaire innée des enfants prématurés est réduite dans sa capacité à répondre de manière adéquate aux infections en raison de déficiences dans des protéines/peptides solubles et des réponses cellulaires à l'infection. Les protéines et les peptides solubles ont la capacité d'opsoniser les pathogènes (pour faciliter la phagocytose) et de tuer directement les agents pathogènes grâce à leurs propriétés antimicrobiennes. La production de facteurs solubles, tels que l'immunoglobuline (Ig), est limitée chez le fœtus. Il doit donc compter sur l'apport maternel. Les IgG spécifiques de l'antigène sont transférées à travers le placenta à partir de la circulation maternelle en grandes quantités après 32 semaines de gestation (voir le tableau ci-dessous).après 32 semaines de gestation (van den Berg *et al.*, 2011).

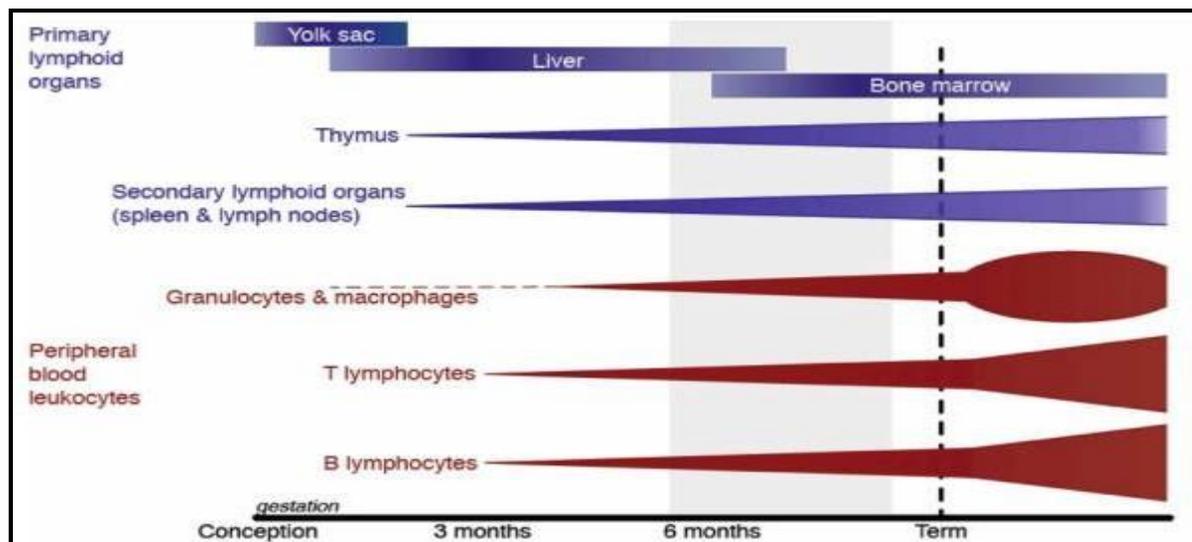


Figure n° 5: Le développement des leucocytes commence dans le sac vitellin avant de se déplacer vers le foie et enfin la moelle osseuse (Durandy, 2003).

4. Développement des cellules phagocytaires (polynucléaires et macrophages) :

5.1 Les monocytes et les macrophages :

Ces cellules présentatrices d'antigènes du système immunitaire inné qui sécrètent de médiateurs inflammatoires, remplissent leur fonction en phagocytant les microbes et en présentant ensuite l'antigène aux lymphocytes T et B, des microbes et la présentation ultérieure de l'antigène aux cellules T et B, faisant ainsi le lien entre les branches innées et adaptatives du système immunitaire. Après avoir été libérés de la moelle osseuse, les monocytes circulent dans la circulation sanguine et se différencient ensuite en cellules T et B, dans les tissus. Ils deviennent ensuite résidents dans tout l'organisme. Le corps se spécialisant en populations distinctes dans les alvéoles, le tissu conjonctif interstitiel, les os, le cerveau et le foie (Levy, 2005). Là, ils jouent des rôles importants de phagocytose, de destruction des microbes, la production de cytokines et d'AMP, l'élimination des cellules hôtes mortes, et la présentation des antigènes. Les nouveau-nés ont un nombre comparable de monocytes que les adultes (Ueno *et al.* 1981). Cependant, les monocytes des prématurés Cependant, on a constaté que les monocytes de prématurés sont déficients dans leur capacité à être d'inflammation par chimio taxie (Maródi *et al.* 2001). L'analyse in vitro de cellules dérivées de nouveau-nés prématurés a également démontré une déficience en matière de phagocytose. Ainsi qu'un faible l'expression de molécules Co stimulatrices telles que MHCII, CD40, MHCII, CD40 et CD80, nécessaires à la présentation de l'antigène. A été associée à une incidence accrue de septicémie (Azizia *et al.* 2012 ; Ygberg et Nilsson, 2012). D'autres récepteurs, tels que TLR-4, CD14 et MD-2, qui, ensemble, forment un complexe sur la paroi extracellulaire de l'organisme, sont également présents forment un complexe à la surface extracellulaire des macrophages, sont impliqués dans la signalisation inflammatoire via le LPS, un antigène dérivé de

la paroi des bactéries à Gram négatif les cellules néonatales semblent présenter des niveaux normaux de chacune de ces molécules. Cependant, les conséquences de l'activation des TLR chez les prématurés et les nouveaux nés sont différentes de celles observées chez les enfants. En aval réponse cytokinique en aval de l'interaction du LPS avec ces molécules chez les adultes est cohérente avec un profil pro-inflammatoire Th1 conduisant à l'expression de l'interféron gamma (IFN γ), de l'IL-12 et du facteur de nécrose tumorale alpha (TNF α), qui ciblent principalement les pathogènes intracellulaires. Cette réponse est différente chez les nouveau-nés et surtout chez les prématurés, où l'on observe un profil dominant de Th17 avec IL-6 et IL-23, qui se défendent contre les pathogènes extracellulaires bactériens et fongiques. La cytokine anti-inflammatoire et immun-régulatrice IL-10 joue également un rôle dominant. On pense que cette polarisation empêcherait la production excessive de cytokines pro-inflammatoires, comme le TNF α et l'IFN γ , qui sont associés à l'avortement spontané et au retard de croissance intra-utérin (**Lewis et Wilson, 2006 ; Dowling et Levy, 2014**). Cependant, ce modèle de polarisation sensibilise néanmoins les prématurés et les nouveaux nés à l'infection par un agent pathogène, et les nouveau-nés à l'infection par un large éventail de microorganismes intracellulaires qui devraient normalement nécessiter une comme *Listeria monocytogenes* et le virus de l'herpès simplex (HSV) (**Dowling et Levy, 2014**).

4.1 Les neutrophiles :

Les neutrophiles appartiennent à un groupe de globules blancs connus sous le nom de granulocytes qui possèdent des granules cytoplasmiques contenant des AMPs. Ils sont présents dans le parenchyme hépatique fœtal dès la cinquième semaine de gestation (**De Kleer et al. 2014**) réponse à un stimulus, les neutrophiles doivent voyager de la circulation sanguine vers le site l'inflammation, pénétrer dans le tissu par diapédèse, phagocyter l'agent pathogène et le tuer sur place. L'agent pathogène et le tuer dans son phagolysosome. les prématurés présentent des déficiences dans chacune de ces fonctions (**Raymond et al. 2017**) L'expression de l'intégrine $\beta 2$ est nécessaire pour l'arrêt du roulement et de l'adhésion à l'endothélium, mais elle est diminuée chez les neutrophiles prématurés et ne peuvent pas être régulés en réponse à un stimulus (**Lorant et al. 1999**). Les niveaux d'opsonines telles que l'immunoglobuline G (IgG), le complément et leurs récepteurs nécessaires à la reconnaissance des Reconnaissance des antigènes et la phagocytose sont réduits chez les neutrophiles prématurés (**Abughali et al., 1994 ; Linden et al., 2013**). Ce phénomène de diminution de l'opsonisation dans les neutrophiles prématurés a été démontré dans des études in vitro qui montrent une altération de la phagocytose des neutrophiles adultes après incubation dans du sérum de prématuré (**Linderkamp et al. 1998**). La mise à mort pathogène dans le phagolysosome des neutrophiles se produit principalement par le biais d'une explosion respiratoire dépendant de la NADPH oxydase II a été démontré que les nouveau-nés à terme ont un burst respiratoire largement intact mais les nouveau-nés prématurés surtout ceux particulièrement ceux qui sont gravement malades (**Strunk et al., 2004**) , D'autres molécules

bactéricides normalement présentes dans les granules neutrophiles, comme la lactoferrine, la myéloperoxydase et la BPI sont également diminuées en quantité dans les neutrophiles néonataux. (~30-50% des niveaux adultes) , et plus encore chez les prématurés un phénomène qui a été corrélé à un risque accru de NEC (**Anderson et al.1987 ; Pammi et Abrams, 2015**). Enfin, les nouveau-nés sont incapables d'augmenter la production robuste de neutrophiles en réponse à une infection, principalement en raison d'une de la moelle osseuse. Ce déficit est exacerbé chez les prématurés (**Carr et Huizinga, 2000**).

5.3 Les cellules dendritiques (CD):

Comme les monocytes et les macrophages, les cellules dendritiques relient les réponses immunitaires innées et adaptatives (**Adkins et al. 2004 ; Zaghouani et al., 2009**). Les CD peuvent être séparés en deux groupes principaux : les CD conventionnelles (cDC) et les CD plasmacytoïdes (pDC) (**Willems et al. 2009**). Les cellules de type DC exprimant le CMH de classe II peuvent être détectées dans le thymus et le fœtus humain et sont également identifiées dans le ganglion lymphatique mésentérique et le thymus vers 12 semaines de gestation (**Wu et Liu, 2007**). Les pDC représentent un petit sous-ensemble de DCs qui circulent principalement dans le sang et les lymphatiques, produisant des quantités massives d'IFN de type I (IFN α/β) lors de la reconnaissance d'antigènes étrangers (**Willems et al. 2009**) Ils acquièrent ensuite la capacité de présenter ces antigènes aux lymphocytes T (**Cao et Liu, 2007**).

Les cDCs désignent toutes les DCs autres que les pDCs. Elles circulent principalement dans les tissus comme les monocytes, Les populations CD des prématurés et des néonataux expriment moins le CMH-II, le CD80 et le CD86 que les cellules adultes. Cela reflète leur capacité défectueuse à activer pleinement les cellules T et B spécifiques de l'antigène. En conséquence, les nouveau-né et en particulier les prématurés présentent de mauvaises réponses à la plupart des vaccins (**Willems et al.2009**)(**De Wit et al., 2003**)(**Langrish et al., 2002**). Cette production de cytokines chez les nouveau-nés à terme diminue au cours de la première année de vie, tandis que les niveaux de cytokines pro inflammatoires cytokines telles que l'IL-1 β et le TNF α augmentent. En outre, les pDC néonatales présentent de graves défauts dans la production d'IFN α/β après l'activation du TLR, Activation du TLR. On a constaté que les poumons néonataux contiennent moins de cDCs et significativement moins de pDCs par rapport aux poumons adultes (**Ruckwardt et al.2014**).

Tableau n°2 : Comparaison de l'activation et des réponses aux cytokines des monocytes et des cellules dendritiques dérivés du sang de cordon néonatal humain cellules dendritiques dérivées du sang decordon néonatal par rapport aux adulte (**Basha et al., 2014**).

Surface molecules/ cytokines	Relative expression in newborns	Function
HLA-DR	↓	MHC class II cell surface receptor for antigen presentation
CD80	↓	Costimulatory signaling molecule for T cell activation
CD86	↓	Costimulatory signaling molecule for T cell activation
CD40	↓	Costimulatory signaling molecule for T cell activation
TNF- α	↓	Proinflammatory cytokine which activates neutrophils and T helper cells
IFN- α	↓	Antiviral cytokine important for MHC class I expression
IFN- γ	↓	Important Th1 cytokine against antiviral and intracellular pathogens.
IL-12	↓	Cytokine produced by dendritic cells inducing Th1 type immunity
IL-1 β	↓	Proinflammatory cytokine secreted in response to infection and causes fever
IL-6	↑	Proinflammatory cytokine.
IL-10	↑	Antiinflammatory cytokine involved in downregulation of Th1 response.
IL-23	↑	IL-17 functions to regulate Th17 function and proliferation

5.4les cellules NK :

Les cellules NK peuvent être mises en évidence dans le foie fœtale dès la 9^{ème} semaine de développement. Elles jouent un rôle important dans la défense contre les virus et les cellules malignes, en exprimant des récepteurs qui servent de médiateurs pour la destruction de ces cellules nocives. Le pourcentage de cellules NK dans le sang de cordon des nouveau-nés prématurés et à terme est souvent légèrement inférieur à celui du sang des enfants et des adultes. Cependant, le nombre absolu est légèrement plus élevé, en raison d'une numération lymphocytaire globalement plus élevée chez les nourrissons (Shearer *et al.* 2003). Il existe deux sous-ensembles de cellules NK matures fonctionnellement distincts. Le sous-ensemble CD56 bright CD16 dim/neg sécrète de grandes quantités de cytokines, est peu cytotoxique et se loge de préférence dans les ganglions lymphatiques. (Le Garff-Tavernier *et al.* 2010). Les cellules NK fœtales et néonatales sont principalement déficientes en matière de production d'IFN γ et de TNF α et présentent une fonction cytotoxique réduite par rapport aux cellules adultes. Comme les cellules T CD8⁺ cytolytiques, les cellules NK assurent la médiation de la cytotoxicité, bien qu'elles diffèrent en accomplissant ceci via un mécanisme indépendant du CMH (Le Garff-Tavernier *et al.* 1992). La fonction des cellules NK est étroitement régulée par la présence de récepteurs activateurs et inhibiteurs à la surface des cellules. Par exemple, le récepteur CD94/NKG2A est un récepteur inhibiteur, tandis que le CD94/NKG2C est un récepteur activateur. se lie à la même

molécule HLA-E (human leukocyte antigen-E) (**Braud et al.1998**). Le CD56 est un marqueur spécifique des cellules NK dont la présence à la surface des cellules reflète la fonction cytolytique. Les cellules NK tuent les cellules cibles infectées qui sont recouvertes d'anticorps IgG dans un processus appelé cytotoxicité cellulaire dépendant des anticorps (ADT), cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (ADCC) (**Merrill et al.1996**).

5. Développement du système du complément :

Le système du complément, composé de trois voies pour la reconnaissance des pathogènes, la perméabilisation ultérieure, l'opsonisation et la lyse des microbes nuisibles, joue également un rôle important dans l'amorçage du système immunitaire adaptatif. Il s'agit des voies classiques, alternative et de la voie des lectines. L'expression du complément peut varier chez les nouveaux nés en raison de variantes génétiques communs ainsi qu'à des déficiences rares. La synthèse du complément est détectée dès la sixième semaine de gestation avec une maturation progressive en fonction de l'âge (**Kohler, 1973**). L'activité sérique du complément est connue pour être diminuée chez les nouveau-nés à terme par rapport aux adultes et encore plus réduite chez les prématurés. Les niveaux de protéines du complément chez les prématurés, spécifiquement C3 et C9, ont été mesurés pour être aussi bas que 10 % des niveaux de l'adulte, restant bas jusqu'à la fin de la grossesse (**Levy, 2005**).Ces composants sont connus pour être responsables de la reconnaissance des antigènes polysaccharides et de la formation du complexe d'attaque membranaire lors de la complexe d'attaque membranaire dans la lyse bactérienne, respectivement. D'autre part, le produit d'activation du complément, C5a, un puissant peptide chimio attractant et un médiateur de la lésion d'ischémie/reperfusion mésentérique (**Tayman et al.2011**).

6.1 Cellules suppressives dérivées des myéloïdes (MDSC) :

Les neutrophiles et les monocytes sont associés à une population connue sous le nom de cellules suppressives dérivées des myéloïdes (MDSC). Qui ont été jouent un rôle régulateur majeur dans l'inflammation et la fonction immunitaire dans de nombreux états pathologiques (**Youn et al.2018**). Elles produisent des niveaux élevés de ROS, de NO, d'arginase (ARG1), d'un enzyme immunosuppressive ainsi que la prostaglandine E2 (PGE2). On a également constaté qu'elles expriment fortement un certain nombre de cytokines anti-inflammatoires, y compris l'IL-10, qui servent toutes de médiateur pour leur puissante inhibition des réponses immunitaires des cellules T, des cellules B et des cellules NK (**Huang et al., 2006**) (**Li et al . 2009**).

6. Développement de l'immunité spécifique du nouveau-né prématuré :

7.2 Développement de l'immunité cellulaire :

le système immunitaire adaptatif consiste en une réponse à médiation cellulaire impliquant des cellules T auxiliaires (CD4+) et des cellules T cytotoxiques (CTL, CD8+), des réponses humorales

faisant intervenir des immunoglobulines et des acteurs immun régulateurs, notamment les cellules régulatrices T (Tregs) (**Durandy, 2001**).

7.2.4 Lymphocytes T :

Il existe deux sous-ensembles distincts de cellules T exprimant les récepteurs des cellules T (TCR) γ/δ et α/β des protéines. Les cellules exprimant les TCR γ/δ dans le foie fœtal ne migrent pas vers le thymus pour leur maturation, mais jouent un rôle important dans la protection contre les infections microbiennes à un stade précoce du développement (**Shi et al. 2011**) (**Opiela et al. 2009**). Les cellules T α/β migrent vers le thymus pour leur maturation à travers une série d'événements développementaux orchestrés qui aboutissent à des thymocytes TCR+ CD4 ou CD8. TCR+, qui jouent un rôle essentiel dans la reconnaissance des antigènes et l'activation des cellules T (**Fink, 2013**).

7.1.2 Cellules T CD4 néonatales :

- L'activité des cellules T CD4+, appelées "cellules auxiliaires", fonctionnent en activant d'autres lymphocytes pour tuer les cellules infectées. Après avoir été présentés des antigènes par des molécules du CMH de classe II exprimées par les CPA, elles produisent des cytokines qui régulent la réponse immunitaire. Chez l'homme, les cellules CD4+ néonatales du sang de cordon (CB) néonatales sont enrichies en RTE et prolifèrent en réponse à l'IL-7 en l'absence de stimulation du TCR (**Fink, 2013**) (**Opiela et al. 2009**). Des études expérimentales sur les cellules T CD4+ néonatales montrent une polarisation vers les réponses Th2 (IL4, IL-5, IL-10) avec une diminution de la production de cytokines Th1 (IFN- γ , IL-2 et TNF- α). TNF- α). Il a été démontré que la suppression de la sécrétion d'interféron (IFN- γ) par les cellules Th1 était due à l'expression et la sécrétion plus élevées de l'IL-4 (**Zaghouni et al. 2009**).

7.1.3 Les cellules TFH néonatales :

Sous-ensemble de cellules T CD4+, elles jouent un rôle important dans la prolifération des cellules B, le changement de classe d'isotopes et la maturation de l'affinité des anticorps dans le centre germinal et la maturation de l'affinité des anticorps dans le centre germinal. Les cellules CD4+ Folliculaire Th (TFH) produisent de l'IL-21, des molécules Co-stimulatrices ICOS et des molécules inhibitrices PD-1, et expriment des niveaux élevés de récepteur de chimiokine CXCL13 CXCR5. Ces composants cellulaires TFH aident les cellules B à développer des réponses anticorps et des réactions de centres germinaux (**Crotty, 2012**). Les nouveau-nés présentent une réduction des taux de CD4+CXCR5+PD-1+ TFH dans leur fréquence et leur sécrétion d'IL-21. Ce phénomène a été démontré par la diminution de l'expression de l'IL-4 qui conduit à une localisation limitée des cellules TFH dans

les centres germinaux des tissus lymphoïdes néonataux et à une régulation négative du récepteur de chimiokine CCR7 (**debock et al.2013**).

7.1.4 Lymphocytes T auxiliaires (helpers) néonatales :

Ils sont porteurs du marqueur CD4. Ce sont les lymphocytes T mémoire. Ils sont spécifiques de l'antigène, ont une durée de vie longue, et se multiplient lors de chaque stimulation antigénique. Leur nombre croît donc régulièrement, ce qui augmente les chances de rencontre avec l'antigène. Une fois activé, le lymphocyte T helper va activer secondairement les autres lymphocytes et induire leur transformation en lymphocytes effecteurs (**Day, 2000**).

7.1.4 Cellules Th17 néonatales :

Des études ont montré qu'une population de cellules T CD161+ CD4+ se transforme et développe préférentiellement en cellules Th17. Ces cellules Th17 jouent un rôle important dans le développement de l'immunité aux infections bactériennes et fongiques au niveau des barrières épithéliales (**Cosmi et al.2008**). Les cellules Th17 jouent un rôle important dans l'immunité néonatale contre les infections à *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Salmonella* et *Candida* (**Weaver et al.2004**). Th17 après une stimulation TCR in vitro en présence de cytokines pro-inflammatoires IL-23, IL-6, IL-1 et TGF- β . Il a été démontré que cela était dû à l'augmentation de l'expression de composants clés de signalisation Th17 en amont et des facteurs de transcription IL-23R, STAT3, RORC, IL6ST (gp130), et TGF β R1 (**Black et al. 2012**). Cependant, après stimulation du TCR par des anticorps anti-CD28 en l'absence de cytokines pro inflammatoires IL-6, IL-1b et IL-23, contrairement à l'adulte, les cellules de la famille Th17 ne sont pas stimulées. Les cellules Th1, Th2 et Th17 jouent un rôle important dans le développement de l'immunité contre les infections intracellulaires et les parasites extracellulaires, tandis que les cellules Treg sont essentielles pour la tolérance immunitaire et jouent un rôle crucial dans la limitation des réponses immunitaires excessives exercées par les cellules Th1, Th2 et Th17.

7.1.5 Cellules T CD8 néonatales :

Des études portant sur le sang de cordon ombilical humain et le sang de souris néonatales ont démontré une déficience à la fois dans l'ampleur et la fonctionnalité de la réponse des cellules T CD8+ néonatales (**McCarron et Reen, 2010**). Il a été démontré que cela est dû en partie à une production réduite d'IL12p70 bioactif par les CPA néonatales par rapport aux CPA adultes. (**Lee et al., 2008**). L'altération de l'activation des cellules T CD8+ néonatales est également due à une co-stimulation limitée médiée par le CD28 en raison d'une l'expression réduite des récepteurs CD86 et CD80 de l'APC ainsi qu'à des différences dans l'absorption et le traitement de l'antigène soluble par les cellules T et par les CD103+ néonatales (**Ruckwardt et al.2014**). Les lymphocytes T cytotoxiques CD8+ (CTL) jouent

un rôle important dans l'immunité antivirale et anti tumorale, et des études antérieures ont démontré que les nourrissons humains présentent des réponses de cellules T CD8+ protectrices de type adulte. à des infections virales et à des vaccins à ADN (Zhang *et al.* 2002).

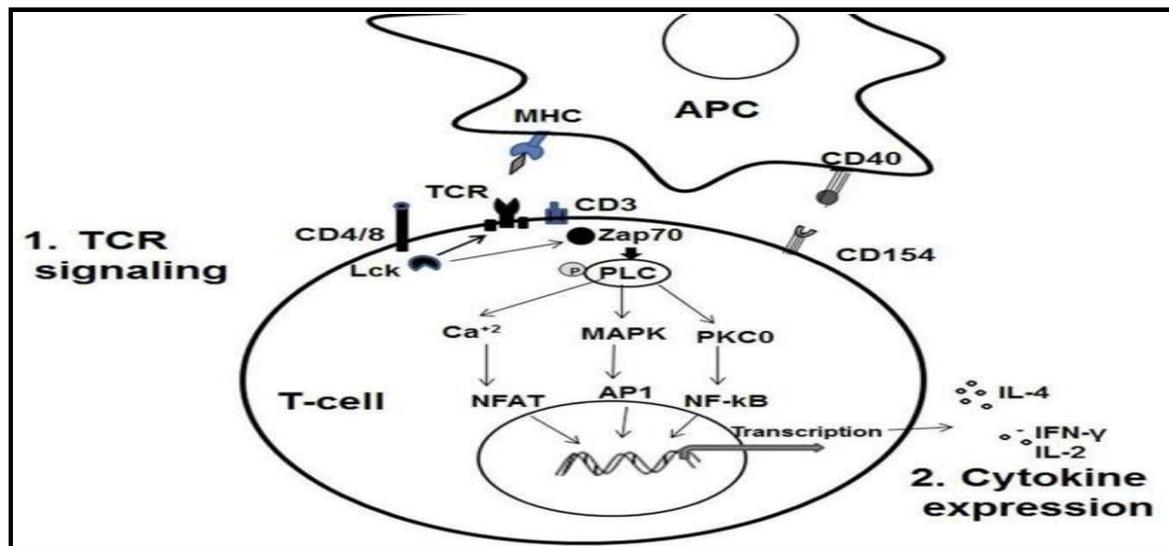


Figure n° 6: Voies des réponses des cellules T néonatales pendant les interactions APC (SaleemBasha *et al.* 2014).

7. Développement de l'immunité humorale :

8.1 Les cellules B et les immunoglobulines:

Le récepteur des lymphocytes B est constitué d'anticorps spécifiques pour la détection. Après la liaison de l'antigène au récepteur, ce dernier est endocytosé traité et présenté à la surface du lymphocyte B par des protéines du CMH-II qui se lient à un lymphocyte T auxiliaire. Cela déclenche l'activation des lymphocytes T, la libération de cytokines pour induire la prolifération des lymphocytes B et la différenciation en plasmocytes producteurs d'anticorps ou en cellules à mémoire. Les anticorps qui rencontrent les antigènes neutralisent les pathogènes associés et/ou attirent les macrophages ou les cellules tueuses pour les attaquer. Le transfert passif d'anticorps au fœtus et au nouveau-né se produit par le biais du transfert d'IgG maternelles à partir du placenta ou IgA sécrétoires (IgA) du lait maternel. In utero, le sérum fœtal d'immunoglobulines sont très faibles jusqu'à la 18ème ou la 20ème semaine de gestation. La concentration d'immunoglobulines fœtales augmente avec transfert de l'immunoglobuline G (IgG) maternelle à travers le placenta au cours du troisième trimestre de la grossesse. Les enfants prématurés à <22 semaines de gestation ont un taux d'anticorps maternels de 10 % qui passe à 50 % entre 28 et 32 semaines, et qui pour atteindre 20 à 30 % de plus que les niveaux maternels à terme (Palmeira *et al.*, 2012). Les concentrations d'IgG peuvent encore baisser après la naissance chez ces prématurés en raison de la physiologie normale, en raison de

l'hypogammaglobulinémie physiologique normale qui se produit chez tous les nourrissons. Cependant, le lait maternel des mères de prématurés présente des niveaux plus élevés des IgA plus élevés que ceux du lait des mères à terme (**Grossn *et al.*, 1981 ; Mehta et Petrova. , 2011**). Les essais cliniques évaluant l'effet de l'administration d'immunoglobulines par voie orale d'immunoglobulines chez les prématurés (**Foster *et al.*, 2016**) n'ont trouvé aucun effet de l'administration d'immunoglobulines orales sur le risque de maladies à médiation d'affections à médiation immunitaire telles que le NEC. Ceci est intéressant, étant donné qu'une étude récente utilisant un modèle de NEC chez la souris a montré que l'IgA sécrétoire du lait maternel protégeait contre la NEC (**Gopalakrishna *et al.*2019**). Ces données ont été mises en corrélation avec les taux d'IgA sécrétoires provenant d'échantillons de matières fécales de prématurés. Malgré les limitations de la qualité et de la quantité des d'immunoglobulines, même les prématurés des 24 semaines de gestation répondent vigoureusement aux vaccins protéiques (**Smolen *et al.*1983 ; Koblin *et al.*, 1988**) . tels que les anatoxines tétanique et diphtérique, l'antigène de surface de l'hépatite B et le VPO (**Bernbaum *et al.*1985 ; Adenyi-Jones *et al.*1992**). En revanche, les réponses aux antigènes polysaccharidiques indépendants des lymphocytes T, tels que les polysaccharides capsulaires d'*Haemophilus influenzae* type b ou des streptocoques du groupe B ou des streptocoques du groupe B, sont gravement émoussées tant chez les prématurés et les nouveau-nés à terme jusqu'à ~18-24 mois (**Landers *et al.*, 2005**). Les vaccins conjugués anti- pneumococcique et anti-H influenza ont été conçus pour remédier à ce phénomène de perte d'efficacité, en complexant les antigènes de polysaccharide à des protéines immunogènes par un mécanisme médié par les cellules T (**van den Biggelaar et Pomat, 2013**).

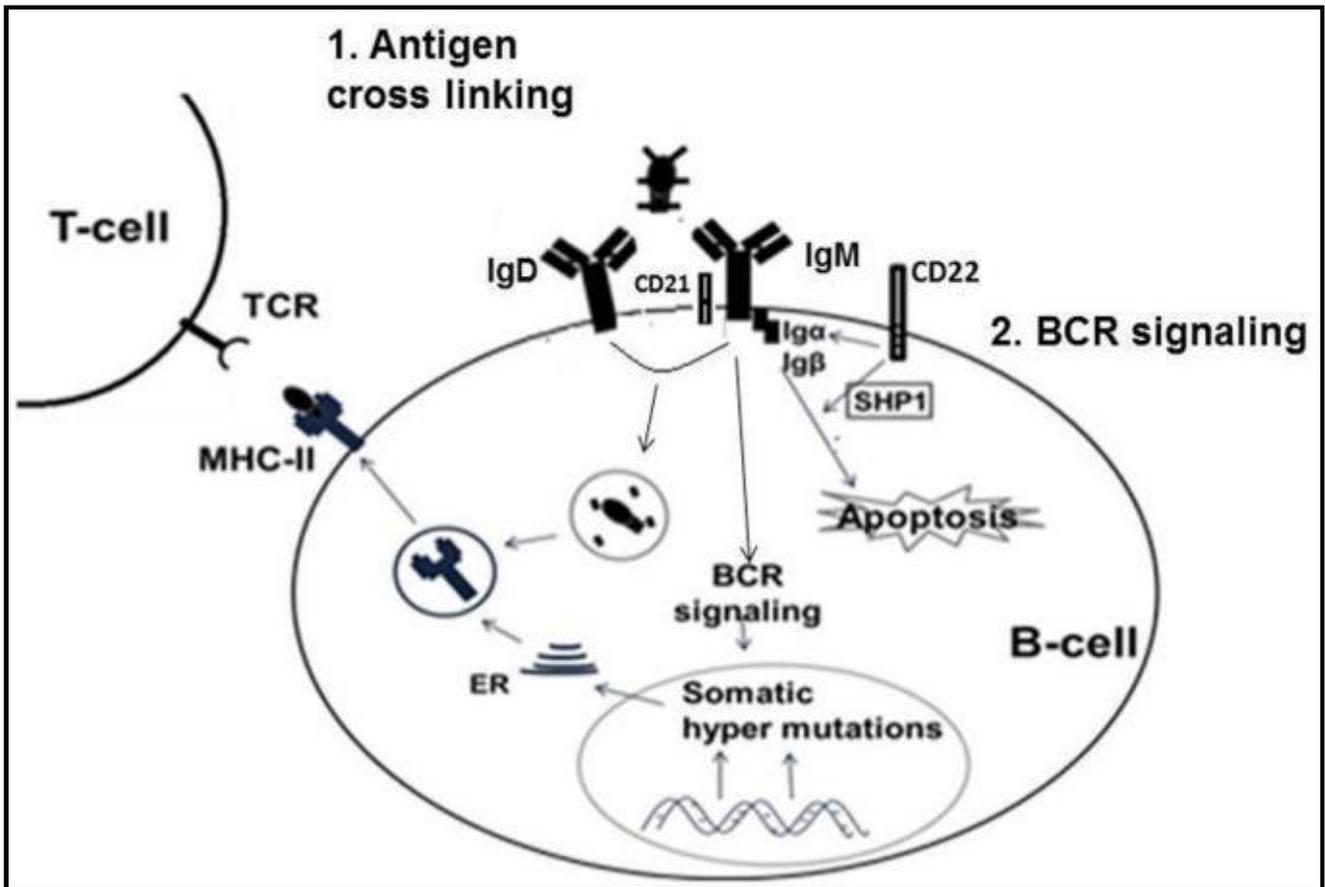


Figure n° 7: Altération de l'activation des cellules B néonatales avec l'antigène (Basha *et al.* 2014).

Chapitre 2: Phénylalanine et tryptophane :

1. Phénylalanine :

1.1 Définitions et structure:

La phénylalanine est un acide α aminé aromatique, découvert dans le lupin jaune par Schulze et Barbieri en 1879, et synthétisé par Erlenmeyer et Lipp 3 ans plus tard (**Graff, 2015**). C'est un acide aminé essentiel, indispensable au bon fonctionnement de notre organisme, non synthétisé par l'organisme chez les êtres supérieurs, car ils sont dépourvus de la machinerie enzymatique qui permet sa synthèse chez les êtres inférieurs via la voie du shikimate, donc fourni exclusivement par l'alimentation. C'est un acide aminé qui présente un grand intérêt en raison de ses fonctions et représente environ 4% des acides aminés de notre organisme. La phénylalanine est classée comme étant non polaire à cause du caractère hydrophobe du groupe benzyle de la chaîne latérale. Dans le milieu industriel la L- phénylalanine est synthétisée par la bactérie *Escherichia coli* dont l'utilisation a été efficace dans le domaine médicale, alimentaire et de nutrition (**Williamson et Darlene, 2021**). De plus, la L- phénylalanine fait partie intégrante des acides aminés protéinogènes, elle est donc un élément de base des protéines qui constituent plusieurs tissus comme (les muscles, les os ...) ce qui lui confère le rôle de bâtisseur nécessaire à la croissance. Au niveau du foie sous l'action de la phénylalanine hydroxylase, la phénylalanine se transforme en tyrosine, précurseur des hormones thyroïdiennes et des catécholamines (adrénaline, noradrénaline, dopamine) ainsi que de la mélanine. Au niveau du cerveau, elle produit des phényléthylamines qui stimulent les Voies métaboliques.

1.2 Conversion de la phénylalanine en tyrosine (voie majeure) :

La phénylalanine est convertie en tyrosine sous l'action de l'enzyme phe hydroxylase qui assure l'hydroxylation de la L- phénylalanine en L tyrosine par para -hydroxylation de sa chaîne aromatique. Cette réaction est complexe et se produit principalement dans le foie mais aussi dans les reins (**Bhagavan, 2015**), réalisée en présence de l'oxygène respiratoire et du fer ferreux, impliquant l'incorporation de l'oxygène en position para de la phénylalanine, tandis que l'autre atome est réduit pour former de l'eau (**Satyanarayana et Chakrapani, 2015**). Le système d'hydroxylation est présent dans le cytosol des hépatocytes et contient de la Phe hydroxylase (**Bhagavan et Ha, 2015**), qui exerce sa fonction et devient active grâce à un coenzyme portant le nom de tétrahydrobioptérine ou H4 – bioptérine (contenant un anneau de ptéridine), qui est structurellement apparenté aux folates (**Kabore et al., 2007**) le site d'hydroxylation est physiologiquement irréversible et consiste en une oxydation couplée de phénylalanine en tyrosine et de BH4 en un dérivé di hydro quinonoïde avec l'oxygène moléculaire comme accepteur l'électrons (**Bhagavan et Ha, 2015**).

1.3 Voies mineures :

Il existe 2 voies mineures qui sont alternatives et beaucoup moins importantes chez les sujets normaux en raison de l'existence de la voie majeure qui est beaucoup plus efficace que celles-ci. Ces voies deviennent plus importantes en cas de phénylcétonurie qui est une maladie autosomique récessive due à un déficit en phénylalanine hydroxylase, entraînant une concentration sanguine très élevée en phénylalanine et très faible en tyrosine. La première réaction implique la transamination de la phénylalanine dans sa chaîne latérale alanine pour former l'acide phénylpyruvique (PPA), catalysée par l'enzyme phénylalanine (histidine) transaminase présente principalement dans le foie puisque cette réaction est activée par le substrat et devient plus importante en cas de taux sanguin élevés de phénylalanine (**Patrícia et al., 2015**). La réaction implique l'incorporation d'un atome d'oxygène moléculaire en position para de la phénylalanine, tandis que l'autre est réduit pour former de l'eau, c'est la BH4 qui fournit les équivalents réducteurs, qui à leur tour sont fournis par le NADPH. Cette transamination est une réaction d'une aminotransférase spécifique qui catalyse le transfert de la fonction amine de la phénylalanine vers α -cétoglutarate qu'elle transforme en glutamate, tandis que la phénylalanine donne un acide phénylpyruvique, l'enzyme phénylalanine (histidine) transaminase a pour coenzyme le phosphate de pyridoxal (PLP) (**FMPMC-PS, 2021**). La phénylalanine peut également subir une décarboxylation en phényléthylamines dégradé en acide phénylacétique (**Patrícia et al., 2015**).

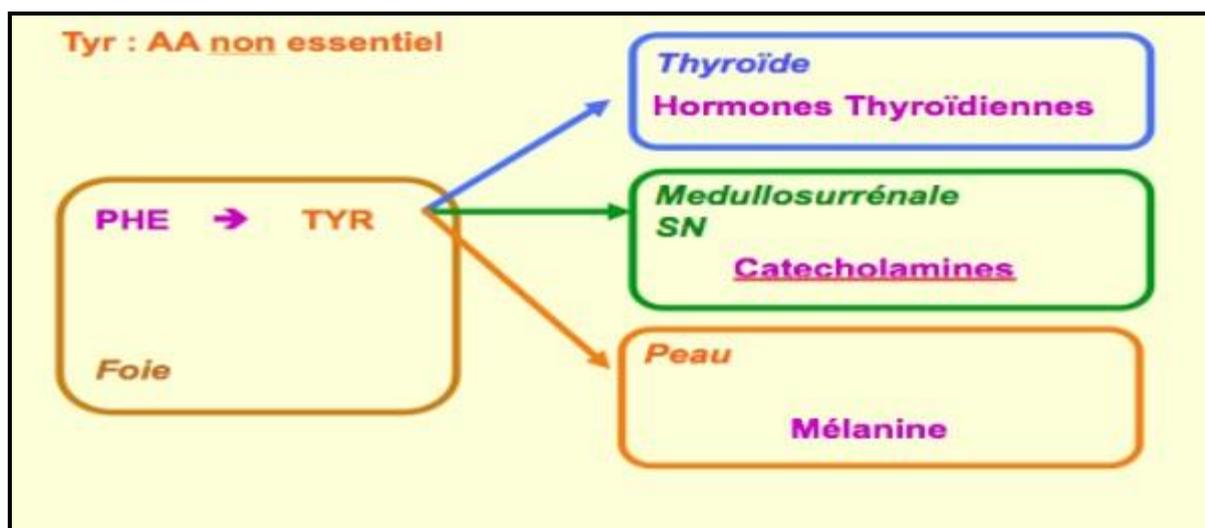


Figure n° 9: Voies métaboliques de la phénylalanine en tyrosine (**Puy, 2016**).

1.4 Phénylalanine et le système immunitaire :

Des preuves montrent qu'une fonction importante de la phénylalanine est de réguler à la hausse l'expression et l'activité de la GTP cyclo hydrolase I, qui est la première enzyme et celle qui contrôle le taux de la synthèse de la tétrahydrobioptérine, cofacteur essentiel de la cofacteur essentiel de la NOS (Shi *et al.*, 2004). Ainsi, la phénylalanine peut réguler la synthèse du NO par les leucocytes. Par conséquent, un apport adéquat de phénylalanine alimentaire est nécessaire pour maintenir un apport suffisant en tétrahydrobioptérine pour la production de NO par iNOS dans les macrophages activés et d'autres leucocytes (Wu et Meininger., 2002). La tyrosine, un produit de la dégradation de la phénylalanine, est le précurseur immédiat de la synthèse des hormones catécholamines (épinéphrine et norépinephrine), des hormones thyroïdiennes (triiodothyronine et thyroxine), ainsi que de la dopamine et de l'insuline thyroïdiennes (triiodothyronine et thyroxine) (Kim *et al.* 2007) nerveux sympathique pour agir sur le système immunitaire (Kin et Sanders, 2006). Il est intéressant de noter que les cellules Th1 que les cellules B expriment des récepteurs b2-adrénergiques. Le site L à liaison de l'épinéphrine et de la norépinephrine aux récepteurs déclenche la génération d'AMPc à partir d'ATP et l'activation subséquente de la protéine l'activation de la protéine kinase A, qui stimulent la différenciation et la prolifération des cellules Th1 et des cellules B (Kin et sanders, 2006). En outre, les hormones thyroïdiennes régulent plusieurs processus physiologiques importants, notamment l'expression des gènes et le métabolisme et la différenciation des leucocytes (Dorshkind et Horseman, 2000). De plus, la dopamine et la mélanine réduisent la synthèse des cytokines pro-inflammatoires (dont le TNFa, l'IL-1b, l'IL-6 et l'IL-10) par les monocytes et les macrophages, induisent la production de médiateurs anti-inflammatoires par les leucocytes, et régulent l'activité de l'organisme anti-inflammatoires par les leucocytes et régulent la prolifération lymphocytaire, l'agrégation des plaquettes et l'activité phagocytaire des neutrophiles (Basu et Dasgupta, 2000). Ces bases biochimiques expliquent la constatation qu'une déficience en phénylalanine et en tyrosine dans l'alimentation peut avoir des effets négatifs sur la santé. Phénylalanine et de tyrosine dans l'alimentation altère la réponse immunitaire chez les poulets, ce qui peut être inversé par leur supplémentation dans le régime alimentaire (Konashi *et al.* 2000).

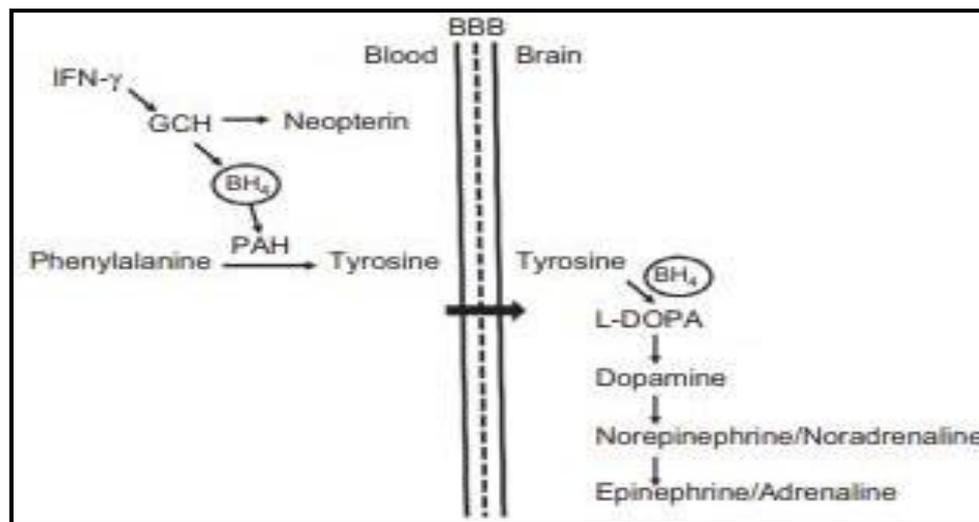


Figure n° 10 : La cytokine pro-inflammatoire IFN- γ est préférentiellement libérée pendant le processus d'activation immunitaire de type Th1 (Geisler *et al.* 2013).

2. Le tryptophane :

2.1. Définitions et structure:

Est un acide α aminé aromatique, hydrophobe isolé la première fois en 1901 par Frederick Gowland Hopkins et Sydney William Cole au cours de leurs recherches sur la digestion tryptique des protéines (Ellis et Hopkins, 2011). C'est un acide aminé essentiel, non synthétisé par l'organisme, apporté par l'alimentation car les animaux et les mammifères sont dépourvus de Trp synthase qui permet sa synthèse chez les êtres inférieurs par condensation de la sérine avec un groupe indole (Nongonierma et FitzGerald, 2015). Il est indispensable au bon fonctionnement de notre organisme, en outre il est le plus rare et représentant 1% des acides aminés dans notre corps. A travers d'une série de réaction et sous l'influence enzymatique le L tryptophane forme la sérotonine (5-hydroxytryptamine) ainsi que la mélatonine (hormone de sommeil). Il forme par ailleurs la niacine (vitamine B3) et d'autres métabolites qui sont efficaces pour maintenir l'équilibre des processus biologiques. En outre, la phénylalanine, la tyrosine et le tryptophane sont des précurseurs de l'acétyl-CoA. Ce sont des acides aminés glucoformateurs et cétoformateurs.

2.2 Voies métaboliques du tryptophane :

2.2.1 Voie de la kynurénine :

La voie de la kynurénine qui peut mener à la formation du nicotinamide adénine dinucléotide (NAD⁺) et commence par la conversion du tryptophane en N-formylkynurénine par l'indoleamine -2,3-

dioxygénase 1,2 (IDO1, 2) et le tryptophane 2,3-dioxygénase 2 (TDO2). Bien que cette enzyme soit fortement exprimée dans le foie, elle est également exprimée à des niveaux plus faibles dans les neurones. L'étape suivante est la conversion du N-formylkynurénine en L kynurénine premier métabolite stable par l'enzyme arylformidase (AFMID) (**Lovelace et al.2017**).

2.2.2 Biosynthèse de la sérotonine :

La sérotonine synthétisée par la voie périphérique joue un rôle dans l'hémostase, la vasoconstriction et le contrôle des réponses immunitaires, la motilité intestinale et la fonction vésical (**David et Bende, 2021**). La première étape de la synthèse de la sérotonine est l'hydroxylation du tryptophane par l'action de l'enzyme tryptophane hydroxylase, qui utilise comme toutes les hydroxylases la tétrahydrobioptérine comme cofacteur (**Martin et al. 2020**). L'étape suivante de la synthèse est la décarboxylation du 5- hydroxytryptophane en 5-hydroxytryptamine (sérotonine) par l'action de l'enzyme acide L- aminé aromatique qui utilise le phosphate de pyridoxal (**Vasudevan et al.2013**).

2.2.3 La biosynthèse de la mélatonine :

La mélatonine est une indoleamine amphiphile dérivée du tryptophane, sécrétée chez les vertébrés par la glande pinéale pour servir d'hormones ayant des actions endocriniennes (**Cipolla-Neto et Amaral, 2018**). La synthèse de la mélatonine est initiée par la transformation du tryptophane en sérotonine, suivie par la transformation de la sérotonine en mélatonine par un processus en deux étapes impliquant deux enzymes, la sérotonine N-acétyltransférase (NAT) qui est l'enzyme limitante pour cette synthèse et l'acétylsérotonine O-méthyltransférase (ASMT)(**Claustrat et Leston, 2015**).

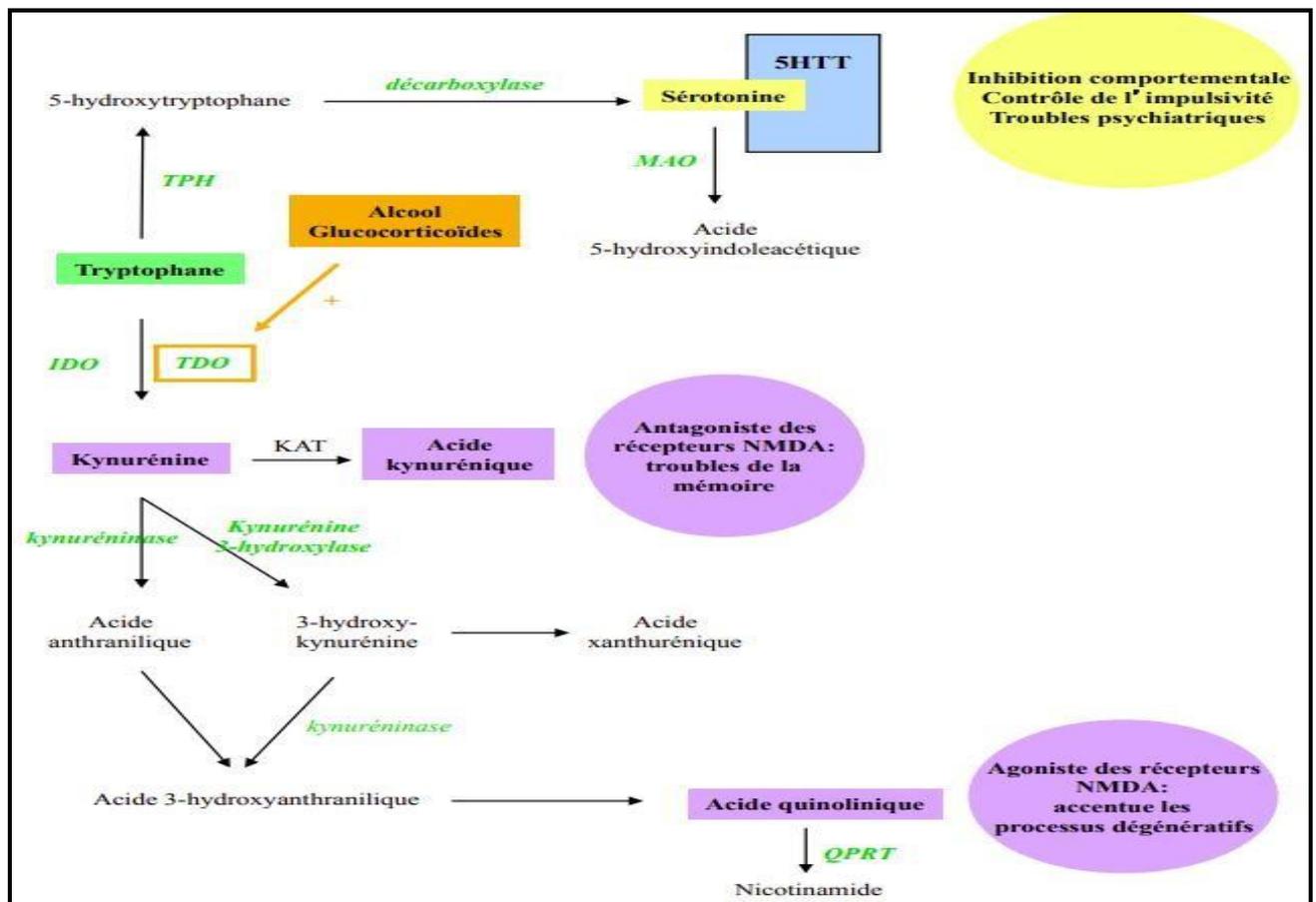


Figure n° 11: Schéma des différentes voies métaboliques du tryptophane TPH: tryptophane hydroxylase; TDO: tryptophane 2,3-dioxygénase; IDO: indoleamine 2,3-dioxygénase; KAT: kynurénine aminotransférase; QPRT: acide quinolinique phosphoribosyltransférase; MAO: monoamine oxydase; RL: radicaux libres; 5HTT: transporteur de la sérotonine (Stone et Darlington, 2002)

2.3 Tryptophane et le système immunitaire :

Les produits du catabolisme du tryptophane comprennent la sérotonine, la N-acétylsérotonine, la mélatonine et l'acide anthranilique (Kim *et al.* 2007). Le catabolisme du tryptophane est augmenté pour générer de l'acide anthranilique par la voie de l'indoleamine 2,3-dioxygénase (IDO) au cours d'une inflammation ou d'une stimulation par le LPS ou certaines cytokines (Platten *et al.* 2005). La sérotonine, la mélatonine et la N acétylsérotonine peuvent renforcer l'immunité de l'hôte en inhibant la production de superoxyde, en piégeant les radicaux libres et en atténuant la production de TNF α (Perianayagam *et al.*, 2005). En outre, la N-acétylsérotonine est un inhibiteur de la sépiaptérine réductase, une enzyme permettant la synthèse de la tétrahydrobioptérine (Shi *et al.* 2004). En modulant la synthèse inductible du NO ce métabolite du tryptophane peut affecter les systèmes d'immunité innée et acquise. De façon intéressante, on a découvert que l'acide anthranilique récemment inhiber la production de cytokines Th1 pro-inflammatoires et prévenir la neuroinflammation auto-immune (Platten *et al.* 2005). Parce qu'il y a une baisse progressive des concentrations de tryptophane dans le plasma des animaux atteints

d'inflammation, son catabolisme joue un rôle critique dans les fonctions des macrophages et des lymphocytes (**Melchior et al. 2004**). Des travaux précoces ont indiqué que la privation de tryptophane résultant traitement par l'IFN γ était associée à l'effet antiprolifératif de cette cytokine sur les parasites intracellulaires et les tumeurs (**Taylor et Feng, 1991**);(**Ozaki et al. 1988**). Il est intéressant de noter que des concentrations progressivement croissantes d'IFN γ étaient requises l'inhibition de sa croissance en présence de concentrations élevées de tryptophane (**Pfefferkorn, 1991**).Par la suite, **Munn et al. 1998** ont démontré qu'une inhibition pharmacologique de l'IDO supprimait l'activité des cellules T et induisait un rejet d'allogreffe fœtale chez la souris. Plus récemment, on a découvert que l'acide N-(3,4,-diméthoxycinnamoyl) anthranilique, un dérivé synthétique actif par voie orale de l'acide anthranilique, un métabolite du tryptophane, protégeait les souris paralysées contre l'auto exposition expérimentale. Des souris paralysées contre l'encéphalomyélite auto-immune expérimentale (**Platten et al. 2005**). Les données disponibles suggèrent que le catabolisme du tryptophane joue un rôle dans les réponses immunitaires en produisant un environnement immunosuppresseur local capable de contrôler l'homéostasie des cellules T et l'autotolérance pendant l'inflammation (**Platten et al.2005**), Inversement, l'administration orale de 300 mg de tryptophane à des rats a augmenté la phagocytose par les macrophages et la réponse immunitaire innée (**Esteban et al., 2004**). Une supplémentation alimentaire avec 0-22 % de L-tryptophane a également augmenté la résistance aux infections bactériennes et parasitaires chez les rats nourris avec un régime à 20 % de zéine (**Watson, 1984**).

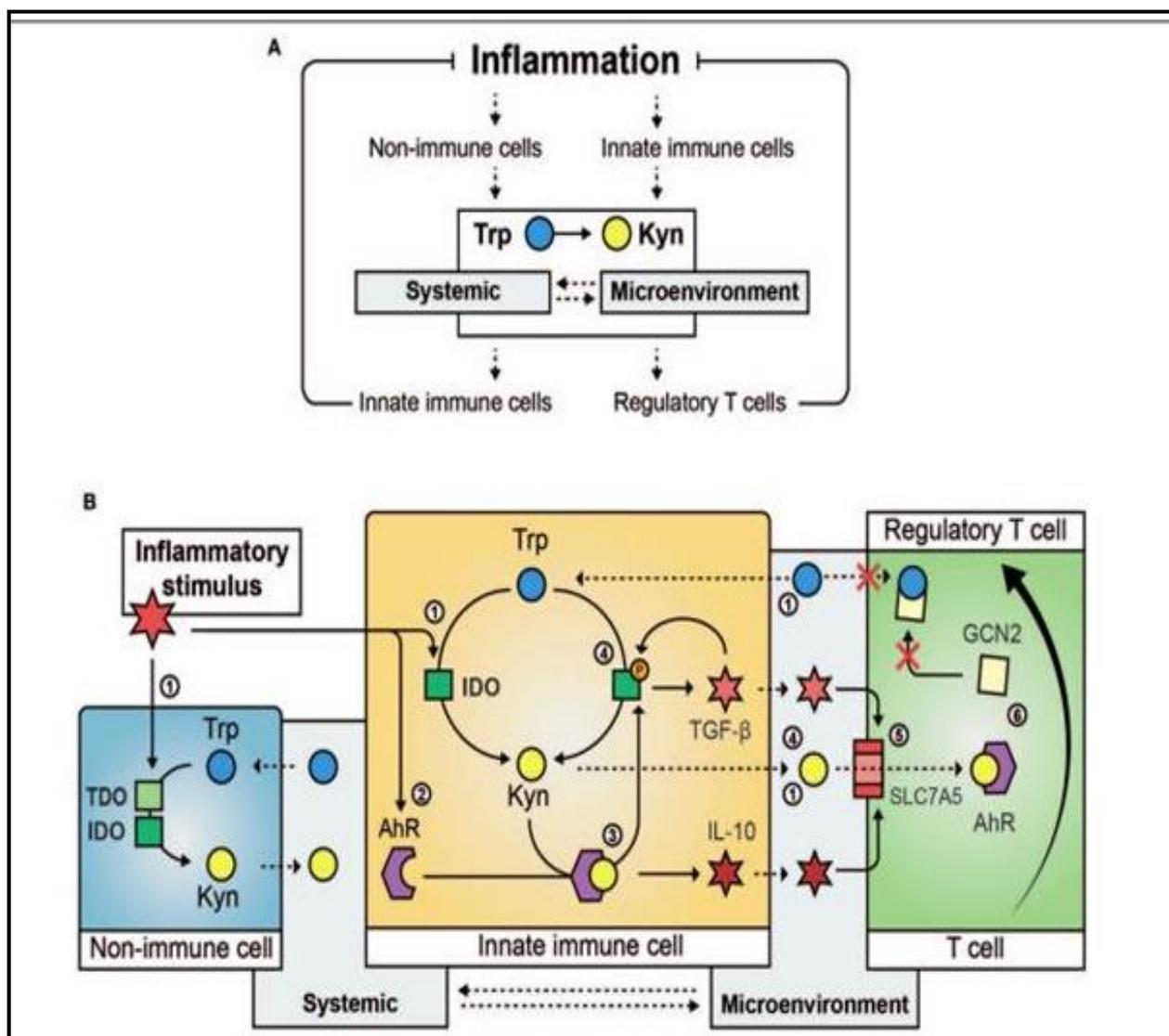


Figure n°12: Mécanismes impliqués dans la régulation de l'inflammation par le métabolisme des Trp. L'inflammation active le métabolisme des Trp et provoque des modifications systémiques et intra- et extracellulaires du rapport Kyn/Trp qui supprime la réponse inflammatoire (A). Les étapes moléculaires impliquées dans l'effet immunomodulateur de l'activation du métabolisme des métabolismes de Trp (B) (Sorgdrager *et al.* 2019).

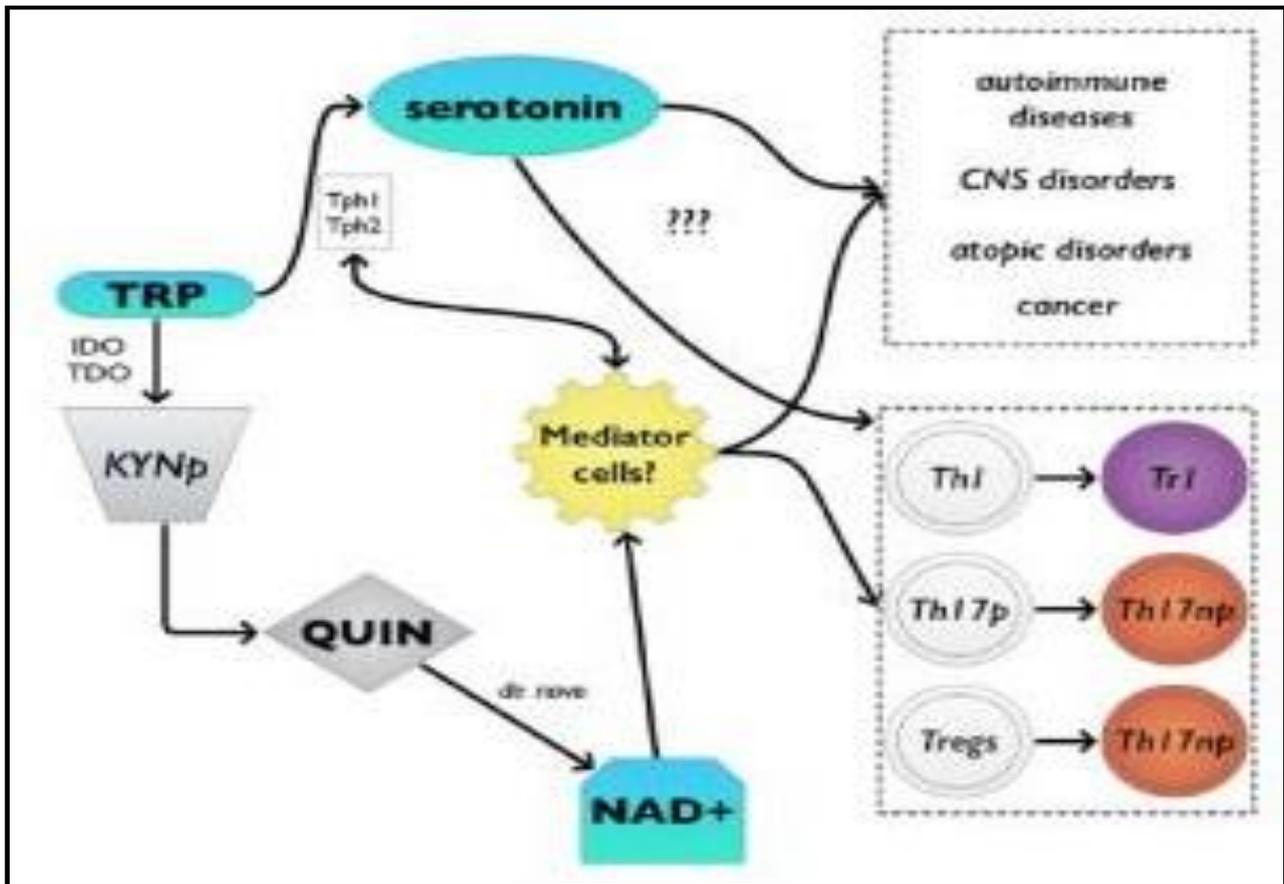


Figure n°13: Les nouvelles fonctions du tryptophane dans les réponses immunitaires pourraient être influencées par le NAD+. La synthèse de novo du NAD+ par le QUIN semble jouer un rôle important dans la régulation et la tolérance immunitaires. SNC signifie système nerveux central , IDO, indoleamine 2,3-dioxygénase , KYNp, voie de la kynurénine , NAD+, nicotinamide adénine dinucléotide , QUIN, acide quinolinique ; TDO, tryptophane 2,3-dioxygénase , Tph1, tryptophane hydroxylase 1 , Tph2, tryptophane hydroxylase 2 , Tregs, Hydroxylase 2 , Tregs, cellules T régulatrices , TRP, tryptophan. (Rodriguez *et al.*, 2017).

Chapitre 3 : les différentes réponses anti-infectieuses pour les nouveaux nés prématurés :

1. Prévention des infections :

Depuis l'Antiquité, l'observation clinique a clairement montré que les enfants allaités ont des taux de mortalité et de morbidité inférieurs à ceux des enfants qui ne sont pas allaités par leur mère ou un autre adulte. Or, il était difficile, voire impossible, d'évaluer précisément ce niveau potentiel de protection, et encore moins d'en identifier les causes, avant le développement de la bactériologie et de l'hygiène. Un jeune médecin français nommé M. Tissier est crédité d'avoir fait le premier progrès significatif sur cette idée au tournant du 20^e siècle. Il a d'abord été suggéré qu'il pourrait y avoir une corrélation entre ce fait et le fait que les bébés allaités souffraient moins de maladies diarrhéiques aiguës parce qu'ils avaient des niveaux plus élevés de germes *Bifidus* spécifiques dans leur système que les bébés qui n'étaient pas allaités. Par conséquent, Tissier a compris que le lait de la femme avait cette qualité protectrice car il favorisait la croissance de bactéries intestinales bénéfiques pendant plus d'un siècle. Les progrès actuels des connaissances ont permis d'identifier, au moins en partie, les types de facteurs de protection présents dans le lait maternel et de souligner l'importance de la relation avec le développement des mécanismes de défense du système immunitaire chez le fœtus en développement (**Tissier, 1998**).

1.1 Diarrhée aigue :

La diarrhée et l'âge néonatal sont deux facteurs majeurs responsables de la mortalité pédiatrique dans le monde (**Jones *et al.*, 2003. Koseket *al.*, 2003**). Le nouveau-né a une susceptibilité accrue aux complications liées à la diarrhée en raison de l'immaturité des systèmes qui régulent l'homéostasie liquidienne et la réponse immunologique (**Fanroffet *al.*, 2007**). Un diagnostic précoce et un traitement rapide sont cruciaux car la diarrhée chez les nouveau-nés peut rapidement entraîner une déshydratation et une malnutrition potentiellement mortelles (**Parkash et Das, 2005. Sharmanet *al.*, 2004**). Des études cliniques et épidémiologiques définissant la gravité et l'étiologie sont nécessaires afin d'améliorer les approches diagnostiques et thérapeutiques de la diarrhée néonatale.

1.2 Entérocolite ulcéronécrosante :

1.2.1 Définition :

Les prématurés ou les nouveaux nés malades qui ont un faible poids à la naissance sont les principales cibles de la maladie acquise connue sous le nom d'entérocolite ulcéronécrosante. Elle se distingue par une nécrose plus profonde ou moins profonde de la couche de mucus intestinal. L'urgence

gastro-intestinale la plus courante chez les nouveau-nés fait l'objet de discussions. La symptomatologie comprend une intolérance alimentaire, une diarrhée, une fièvre, une instabilité thermique, un iléus, une météorite, des vomissements bilieux, des rectorragies, une diarrhée, des apnées, et parfois des signes de septicémie. Le diagnostic est clinique et étayé par l'imagerie. L'objectif principal du traitement est d'apporter une assistance qui comprend une aspiration nasogastrique, une nutrition parentérale complète, des antibiotiques, un isolement en cas d'infection et parfois une intervention chirurgicale (**Cochran, 2021**).

1.2.2 Les facteurs de risque :

Les facteurs de risque généraux pour l'entérocolite ulcéronécrosante en plus la prématurité comprennent (**Cochran, 2021**)

- Rupture prolongée des membranes avec amnionite
- Asphyxie à la naissance
- Nourrisson petit pour l'âge gestationnel
- Cardiopathie congénitale
- Anémie
- Exsanguino-transfusions
- Altération du microbiome intestinal (dysbiose)
- Alimentation par du lait non humain

Trois facteurs intestinaux sont généralement présents:

- Antécédent d'accident ischémique
- Colonisation bactérienne
- Substrat Intraluminal (c'est-à-dire, alimentation entérale)

1.2.3 Diagnostic de l'entérocolite ulcéronécrosante :

Selon **Cochran en 2021**, le diagnostic de cette infection est comme suite :

- Détection de sang dans les selles, Rx abdominales, Échographie.

1.2.4 La prévention contre cette maladie ;

Les prématurés à risque doivent idéalement être nourris au lait maternel, et les tétées doivent commencer par de petites quantités qui sont progressivement augmentées selon des protocoles standardisés. (Les formules pour prématurés sont un substitut approprié si le lait maternel n'est pas disponible.) Les formules hypertoniques, les médicaments ou les produits de contraste doivent être évités. Une anémie, de basses saturations en oxygène et une polyglobulie doivent être traitées rapidement. Lorsque cela est possible, les antibiotiques et les médicaments antiacides doivent être évités.

Les probiotiques (p. ex., *Bifidus infantis*, *Lactobacillus acidophilus*) contribuent à prévenir l'entérocolite ulcéronécrosante, mais des études supplémentaires sont nécessaires pour déterminer la posologie optimale et des souches appropriées sont requises avant une utilisation systématique (Akker *et al.* 2020).

Les corticostéroïdes peuvent être administrés aux femmes enceintes qui sont à risque de naissance prématurée pour prévenir l'entérocolite ulcéronécrosante (Xiong *et al.* 2019).

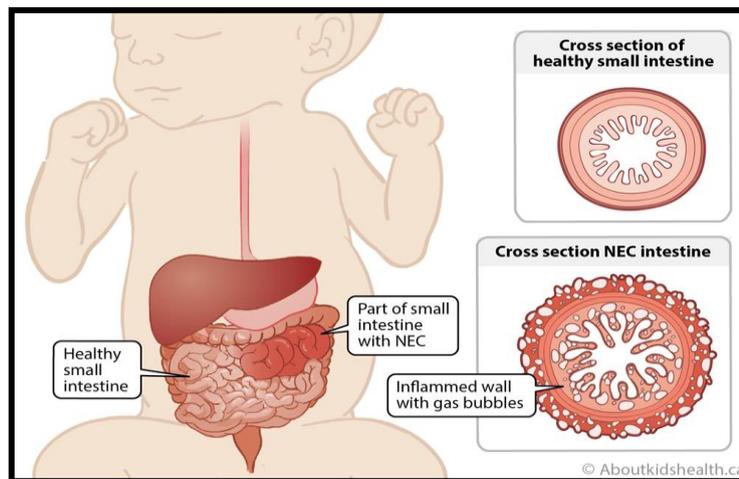


Figure n°14: l'entérocoliteulcéronécrosane (AKH, 2019).

1.3 En cas d'Infections pulmonaires :

1.3.1 La pneumonie néonatale :

La pneumonie néonatale est une infection des alvéoles (petites cavités pulmonaires) et des tissus environnants. Elle cible les nouveau-nés. Un syndrome de septicémie généralisée peut se développer dans les heures suivant l'accouchement, dès son apparition, ou il peut prendre jusqu'à sept jours et n'affecter que les poumons. Une détresse respiratoire ou un choc peut être l'étendue des symptômes. Sur la base d'une évaluation clinique et biologique, le diagnostic de sepsis est posé. Le traitement initial implique l'utilisation d'antibiotiques à large spectre qui sont rapidement remplacés par des médicaments adaptés aux agents étiologiques (Tesini, 2020).

1.3.4.1 Diagnostic de pneumonie néonatale :

- **Rx thorax**

Le bilan comprend une Rx thorax, une oxymétrie pulsée, des hémocultures, et une coloration de Gram et une culture d'aspiration trachéale.

De nouveaux infiltrats persistants doivent se voir sur les Rx thorax, mais ils peuvent être difficiles à reconnaître si le nourrisson présente une dysplasie broncho-pulmonaire sévère. Si la coloration de Gram d'un aspirât trachéal montre un nombre important de polynucléaires et un microorganisme unique qui est compatible avec celui qui se développe en culture d'aspiration trachéale, la probabilité n'augmente que ce microorganisme soit la cause de la pneumonie. Puisque la pneumonie bactérienne chez le nouveau-né peut se disséminer, un bilan complet du sepsis, y compris une ponction lombaire, doit également être effectué. Cependant, les hémocultures ne sont positives que dans 2 à 5% des cas de pneumonie nosocomiale (Tesini, 2020).

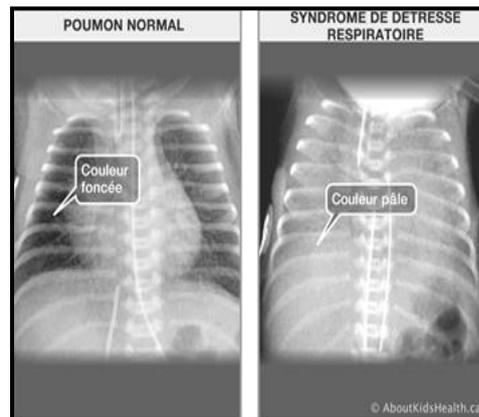


Figure n°15 : Diagnostic du syndrome de détresse respiratoire (SDR) chez les bébés prématuré (AKH, 2009).

1.4.1.2 Prévention contre cette infection :

Limiter la durée pendant laquelle les nouveau-nés reçoivent un tube respiratoire peut souvent prévenir une pneumonie tardive. La pneumonie peut également être évitée en se lavant les mains, en utilisant des gants et en désinfectant les surfaces. Pneumonie tardive.

1.5 Méningites à *Haemophilus influenzae b* (Hib) :

Chez des Prématurés d'un AG moyen de 28 semaines vaccinés par un vaccin anti haemophilus b conjugué à la protéine de la membrane externe du méningocoque (PRPOMP) à deux et quatre mois d'âge chronologique, la réponse anticorps est moindre après 2 doses que chez les nouveau-nés à terme (53 % des prématurés ont un taux d'anticorps supérieur à 1 µg/ml versus 92 % des nouveau-nés à terme). Après administration à deux, quatre et douze mois d'un vaccin conjugué à l'anatoxine tétanique modifiée (PRP-T) il existe une réponse anticorps significativement plus basse chez les prématurés d'AG inférieur à 30 semaines après deux doses, alors que les plus de 30 semaines d'AG ne montrent pas de différence par rapport aux nouveau-nés à terme. Cette différence n'est pas retrouvée après trois doses (Kristensen *et al.*, 1996). Trois doses de vaccin PRP-T à deux, trois et quatre mois ont permis l'induction de réponses vaccinales chez 72% des moins de 31 semaines d'AG. Enfin, après trois doses administrées à deux, quatre et six mois il n'est pas retrouvé de différence chez les prématurés (AG < 29 semaines) par rapport aux nouveau-nés à terme, 82 versus 87% ont un taux d'anticorps supérieur à 1 µg/ml dans l'étude de D'Angioetal (D'Angioetal. 1995).

1.4 Infection urinaire :

Considérée comme une infection grave chez le nouveau-né, l'infection urinaire est définie par une bactériurie supérieure à 10⁵ bactéries/ml, dans un prélèvement urinaire réalisé de façon aseptique. Son incidence chez le nouveau-né varie de 0,15 à 5,5 % (**Gérard *et al.*, 1998. Déchelette *et al.* 1980**). Les signes cliniques sont très hétérogènes. À travers ce travail, nous allons exposer les caractéristiques cliniques, biologiques et thérapeutiques de cette infection chez le nouveau-né dans l'unité de néonatalogie du CHU Hassan-II de Fès, avec revue des données récentes de la littérature.

Il existe un facteur de risque d'infection prénatale. *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* ont pu être isolés des urines chez respectivement 60 % et 30 % des patients grâce à un test cyto-bactériologique. Un problème rénal peut être découvert par échographie. Selon les informations de l'antibiogramme, le traitement a consisté en une bi-antibiothérapie (amoxicilline ou C3G pendant 10 jours complétée par de la gentamicine pendant 2 à 3 jours). Une amélioration clinique observée chez tous les patients caractérise l'évolution. Dans tous les cas, les urines étaient stériles en fin d'intervention et un traitement préventif à base de céfaclor était systématiquement recommandé. A partir du troisième mois de vie, une urétrocystographie rétrograde est réalisée pour vérifier un reflux vésico-urétéral (RVU) (**Atmaniet *al.* 2007**).

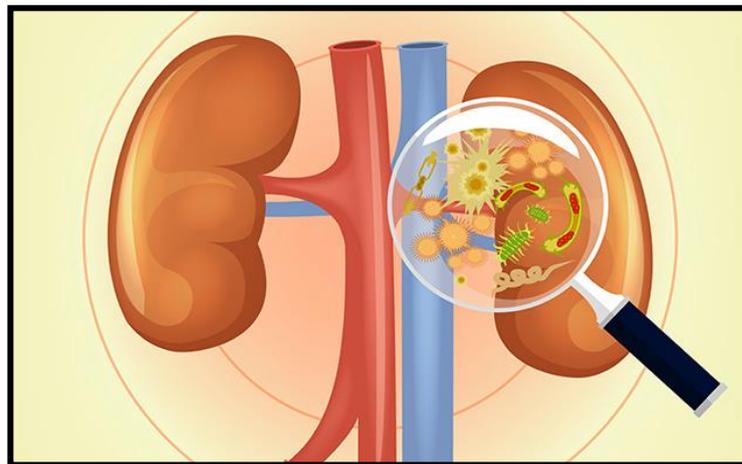


Figure n°16 : manifestation des bactéries dans l'urine.

Chapitre 4 : implication de la phénylalanine et tryptophane dans l'immunité anti-infectieux des prématurés :

Les acides aminés entrent en jeu dans diverses fonctions physiologiques: Synthèse des protéines, fourniture d'énergie, précurseurs d'hormones, précurseurs d'enzymes, etc. Leur rôle signal a surtout été étudié au niveau musculaire où certains AA comme la leucine (**Boutry et al. 2008**) et la citrulline sont particulièrement actifs sur la promotion de la synthèse protéique. Plusieurs protéines impliquées dans les étapes de traduction protéique sont activées par ces AA (**Boutry et al. 2008**).

1. implication du tryptophane dans l'immunité anti-infectieux des prématurés :

Le lait maternel est une excellente source de nutrition pour les prématurés en raison de ses nombreux facteurs bioactif tel que les cytokines, les facteurs de croissance et les hormones (**Castellote et al. 2011**). Le lait maternel continue l'exposition du nourrisson au système immunitaire de la mère après la naissance, ce qui lui confère une immunité passive (**Garofalo, 2010 ; Agarwal et al. 2011**), et joue un rôle primordial dans le développement et la régulation du système immunitaire du prématuré (**Castellote et al. 2011**) (**Garofalo, 2010**). Le lait maternel est la seule source d'acides aminés essentiels TRP pour les nourrissons exclusivement allaités. Le TRP est vital pour une croissance optimale (**Sánchez et al. 2013**) et le développement du système nerveux central.

Le Trp est évidemment enrichi dans la circulation fœtale. La concentration plasmatique de Trp chez le prématuré est considérablement plus élevée que chez sa mère (**Adachi, 1990**). Le colostrum et le lait humain transitoire contiennent des concentrations de Trp plus élevées que le lait humain des périodes de lactation ultérieures (**Zanardo, 1989**), mais même aux derniers stades de la lactation, le lait humain a la teneur en Trp la plus élevée parmi tous les laits de mammifères. On peut conclure que l'élévation du Trp plasmatique induite par le lait maternel est d'une grande importance pour le développement adéquat du système nerveux sérotoninergique et le comportement neuropsychologique normal du nouveau-né (**Egushi, 1992**). L'apport élevé de Trp à la fin de la période fœtale et au début de la période postnatale coïncide avec la période de différenciation la plus sensible du système nerveux central.

2. implication de la phénylalanine dans l'immunité anti-infectieuse des prématurés :

La phénylalanine est un acide aminé essentiel à l'organisme humain et peut être apportée par l'alimentation par exemple le lait maternel chez les nourrissons. Elle joue un rôle essentiel au niveau de la synthèse des neurotransmetteurs. Elle agit à ce titre sur la libération de l'adrénaline et de la dopamine.

4. Problématique :

La naissance prématurée est définie comme une naissance avant 37 semaines complètes de gestation. Il est la première cause de morbidité et de mortalité néonatales dans le monde. Les principaux risques de la prématurité sont en rapport avec l'imaturité de système immunitaire. La meilleure connaissance de ces facteurs de risque permet une meilleure prise en charge du nouveau-né prématuré afin de prévenir les nombreuses complications à court et à long terme.

Le tryptophane et la Phénylalanine sont des acides aminés aromatiques essentiels, indispensables au bon fonctionnement de notre organisme, non synthétisés par l'organisme chez les êtres supérieurs. Une fois que ces acides pénètrent dans le corps, ils passent par des voies métaboliques ils produisent des nouveaux acides aminés comme tyrosine et d'autres dérivées comme la sérotonine, la kynurénine, la mélatonine.

Ces acides aminés possèdent un rôle important dans la régulation et fonctionnement de système immunitaire pendant la réponse anti-infectieuse.

5. Objectif :

Nous avons choisi le sujet de la prématurité pour différentes raisons. Alors que principalement pour étudier le développement du système immunitaire du prématuré et ses défenses dans l'immunité anti-infectieuse et le rôle de Le tryptophane et la Phénylalanine dans cette réponse chez les prématurés.

6. But :

Cette étude va nous permettre de mieux comprendre certains aspects de l'implication du tryptophane et de la Phénylalanine dans l'immunité anti-infectieuse chez le nouveau-né prématuré.

Partie 02 : Matériels et Méthodes

1. Etude des profils sérologiques des patients prématurés

1.1 la population étudiée :

- 05 Patients infectés de sexe masculin (nouveaux nés prématurés).
- 05 Témoins dont 02 filles et 03 garçons.
- Les patients et les témoins ont été recrutés au niveau du service de néonatalogie à l'EHS Mère & Enfant de Tlemcen.
- Les échantillons ont été analysés au niveau du laboratoire d'immunologie BIOMOLIM, département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de L'Univers, Université de Tlemcen



Photo n°17 : Service de néonatalogie (CHU Tlemcen, 2022)

1.2 Prélèvements sanguins :

Les prélèvements ont été réalisés 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 les voies jugulaires (au niveau du cou du nouveau-né).

Les tubes utilisés pour la récolte du sang, sont des tubes sec, après les avoir rempli jusqu'au trait du volume souhaité, ces derniers ont été étiquetés de façon à ne pas cacher l'intérieur du tube, pour qu'on puisse vérifier l'état des échantillons.

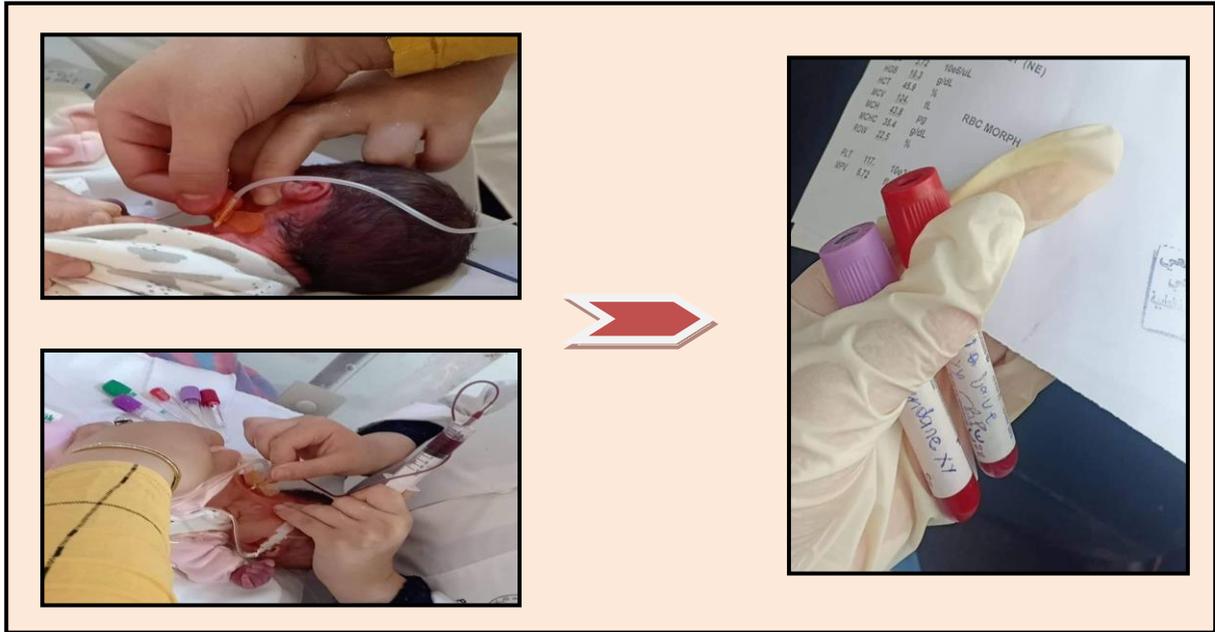


Photo n°18 : processus du prélèvement sanguin d'un nouveau-né prématuré (CHU Tlemcen, 2022)

1.3 Préparation des échantillons :

Les tubes ont été centrifugés 20minutes après chaque prélèvement à 2500 tours/min pendant 15minutes, les sérums ont été ensuite recrutés et transférés dans des tubes eppendorf, puis placé au congélateur à -20°C.

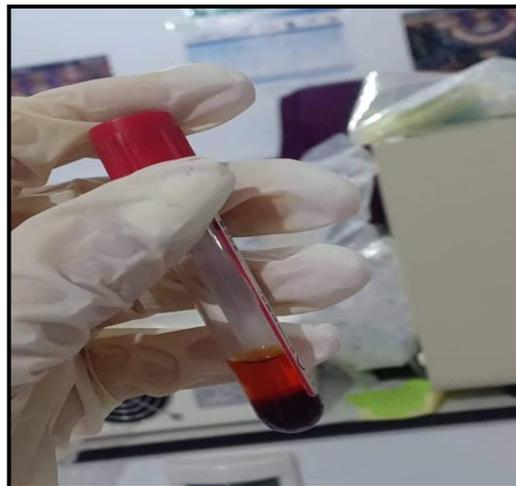


Photo n°19 : un tube centrifugé pendant 20 minutes à 2500 tours/min (labo de recherche BIOMOLIM-Tlemcen)

1.3.1 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).

1.3.1.1 Le but de dosage des taux plasmatique des AA :

Le but de ce travail est l'identification des taux de 02 acides aminés dans les sérums des différents patients infectés et les comparer avec ceux des témoins en qualité et en quantité.

1.4 Chromatographie sur Couche Mince (CCM):

1.4.1 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.



Photo n°20 : Appareil de chromatographie (labo de recherche BIOMOLIM-Tlemcen, 2022)

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, appelé rapport frontal ou rétention frontale (Rf) :

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

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 acide aminé (sauf avec la proline : on obtient une couleur jaune).

La Ninhydrine réagit avec les AA en donnant le pourpre de Ruhemann ce qui permet de donner de la couleur et donc observer les différents AA.

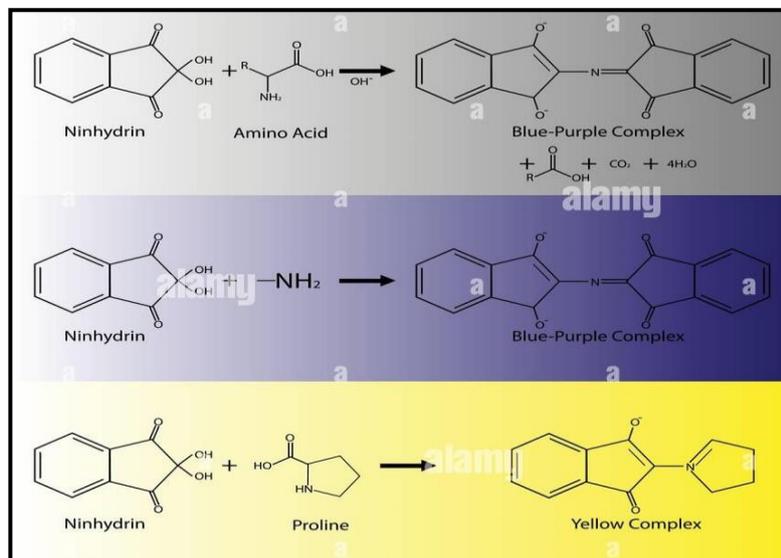


Figure n°21 : test de Ninhydrine pour les réactions des acides aminés.

Les AA qui se trouvent dans le mélange, (dans notre cas le mélange est le sérum) 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. Matériels et réactifs :

2.1 Matériels :

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

2.2 Produits et réactifs :

- Echantillon 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 butanol acide acétique.

3. Méthode :

3.1 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.

3.2 Préparation des plaques CCM :

- ❖ Réactiver le gel silice dans une étuve à 80°C pendant 1h.
- ❖ Utiliser une plaque de dimensions (17 cm / 20 cm).
- ❖ Tracer un léger trait au crayon parallèle au bord inférieur à 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 15 petits points ou seront disposés les 15 dépôts dont l'espace entre chacun d'entre eux est de 1,2 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 où 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.

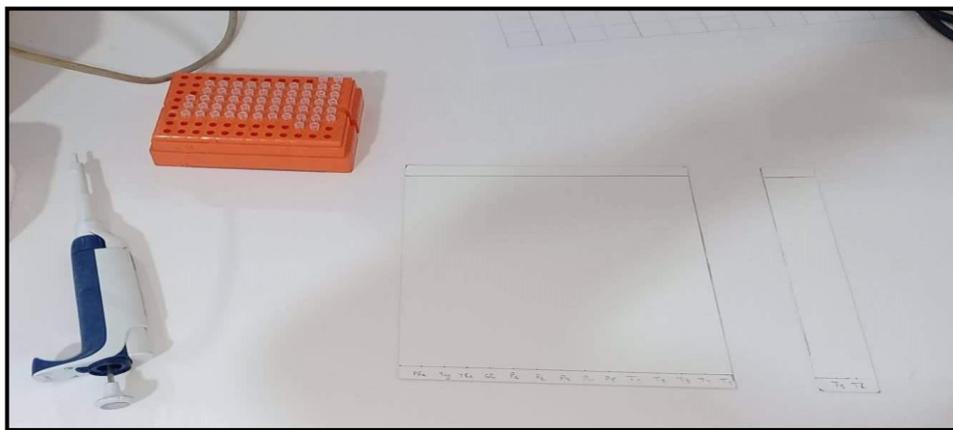


Photo n°22 : les étapes de préparation de la plaque CCM (Labo de recherche Biomolim, 2022)

3.3 Manipulation des échantillons :

- ❖ Retirer les sérums du réfrigérateur pour préparer les solutions diluées.
- ❖ Pour chaque échantillon on prend une quantité de 25 μ l à partir d'un sérum pur et le verser dans un eppendorfs étiqueté contenant 75 μ l d'eau distillée.
- ❖ Agiter les tubes Eppendorf l'aide d'un agitateur vortex afin d'homogénéiser le mélange



Photo n°23 : processus d'agitation des solutions diluées (Labo de recherche Biomolim, 2022).

3.4 Réalisation des dépôts sur la plaque de silice :

A l'aide d'une micropipette réglable on prélève 2 μ l 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 2 mm.



Photo n°24 : Réalisation des dépôts sur la plaque de silice (Labo de recherche Biomolim, 2022).

3.5 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.



Photo n°25 : dépôt de la plaque dans la cuve (Labo de recherche Biomolim, 2022).

3.6 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- cheveux pour évaporer entièrement l'éluant.



Photo n°26 : l'étape effectuée pour le développer la plaque (Labo de recherche Biomolim, 2022).

3.7 Révélation :

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

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

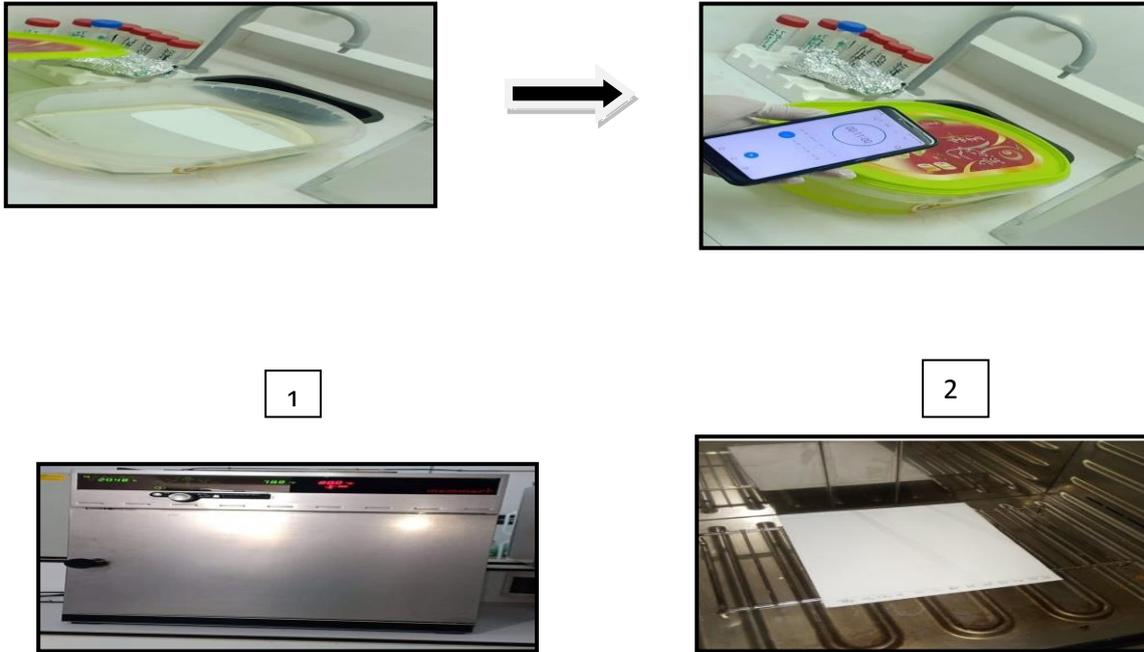


Photo n°27 : les différentes étapes de la Révélation de CCM (Labo de recherche Biomolim, 2022).

4. Quantification des différents AA

- ❖ Une analyse de chaque plaque CCM scanné par un logiciel de traitement d'Image (Image J) a été effectuée afin de quantifier l'intensité de chaque tache correspondant aux différents AA.
- ❖ Etude statistique : L'analyse des données a été réalisée à l'aide du test **t-student** et test de **MANN WHETNY** en utilisant le logiciel **SPSS**. Où les valeurs sont exprimées en tant que moyenne (+-erreur standard) .Une valeur de p inférieures a 0.05 ($p < 0.005$) a été retenue comme significatif.

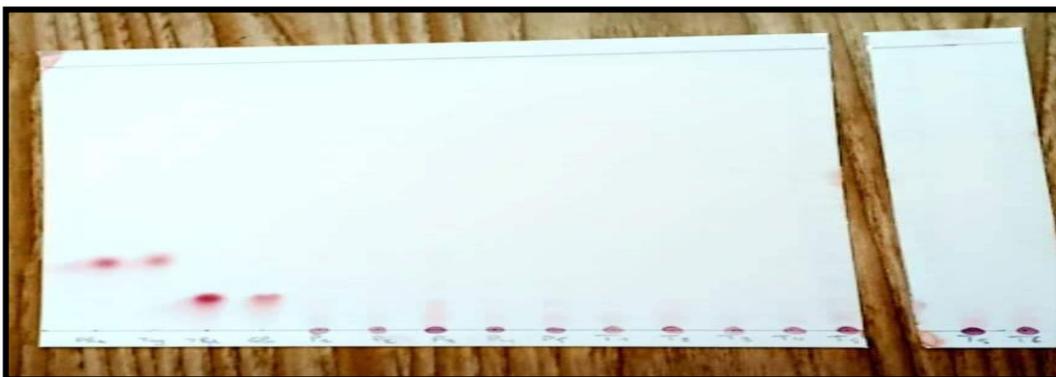


Photo n°28 :l'intensité de chaque tache correspondant aux différents AA (Labo de recherche Biomolim, 2022).

Partie 03 : Résultats et Discussions

1. Résultats et interprétations :

Notre étude s'est basée sur une méthode de chromatographie sur plaque de gel de silice (CCM) pour mettre au point l'analyse quantitative de 2 acides aminés phénylalanine et tryptophane (**Phe et Trp**) dans des échantillons de sang des prématurés infectés comparés avec des nouveau-nés prématurés sains.

Méthode n 1 :

À partir de l'étude de la plaque CCM par logiciel image J les résultats de CTCF présentés dans le tableau suivant :

Échantillons	Les valeurs de CTCF	Les valeurs des CTCF de phénylalanine chez les patients et les témoins	Les valeurs des CTCF de tryptophane chez les patients et les témoins
Phe	161743508		
trp	150172000		
Patient 1	1000507,66	00	00
Patient 2	61000,183	00	00
Patient 3	6007,71222	00	00
Patient 4	5000,66667	00	00
Patient 5	17020,4117	00	00
Témoin 1	8675,92933	00	00
Témoin 2	4649,92533	00	00
Témoin 3	4009,92633	00	00
Témoin 4	5097,66667	00	00
Témoin 5	10083,6533	00	00

Tableau n 4: les valeurs de CTCF des résultats de CCM des acides aminés chez des nouveaux né prématurés.

Échantillons	CTCF de phénylalanine	CTCF de tryptophane	CTCF de Patients	CTCF de témoins
Les moyennes de CTCF	161743508	150172000	19540,980	6503,420

Tableau n 5 : moyennes des valeurs de CTCF des résultats de CCM des acides aminés chez des nouveaux né prématurés.

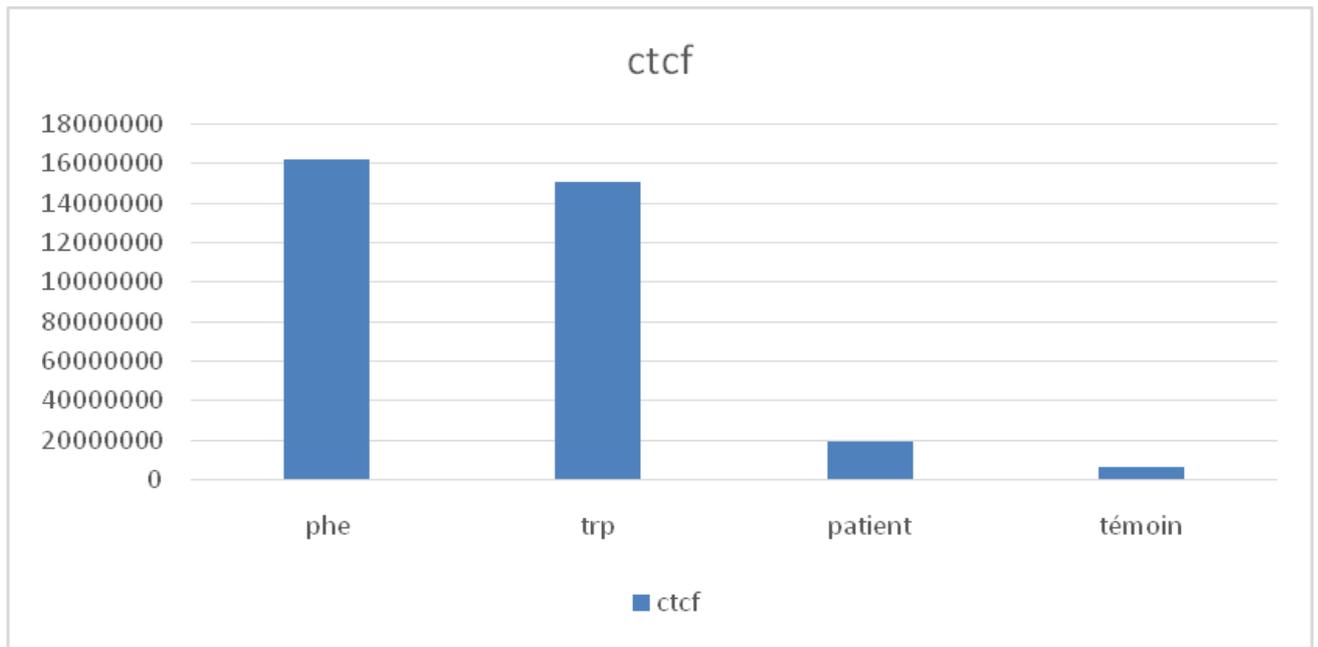


Figure n 30: les moyennes des valeurs de CTCF des résultats de CCM des acides aminés chez des nouveaux né prématurés.

Histogramme ci-dessus reprisent les valeurs de CTCF chez les patient et les témoins a comparant avec les valeurs de CTCF des acides aminés de laboratoire , on observe que les patient et les témoins possède un taux plus faible de TRP et PHE .

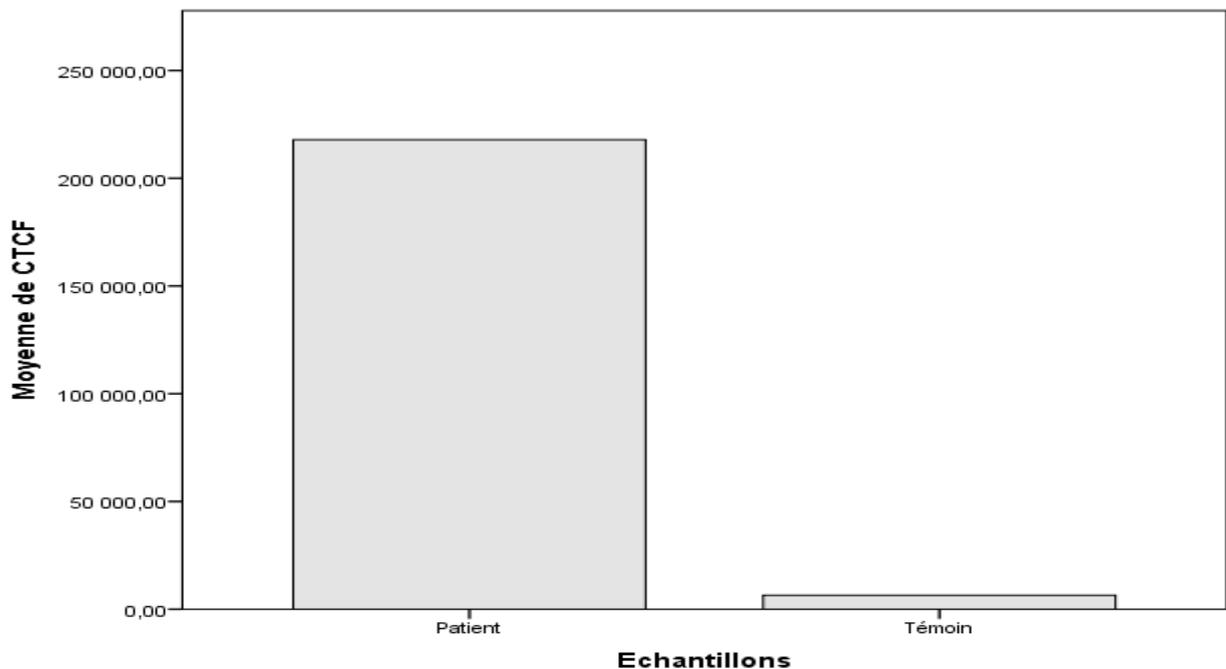


Figure n 34: diagramme a barre des moyennes des valeurs de CTCF des résultats de CCM des acides aminés chez des nouveaux né prématurés.

Le diagramme à barres ci-dessus représente la moyenne de CTCF chez les bébés prématurés, de sorte que nous avons constaté que les teneurs plasmatiques atteignent la moyenne maximale chez les nourrissons non infectés estimée 19540,980 à . D'autre part, la moyenne chez les nourrissons présentant une septicémie était d'environ 6503,420 .

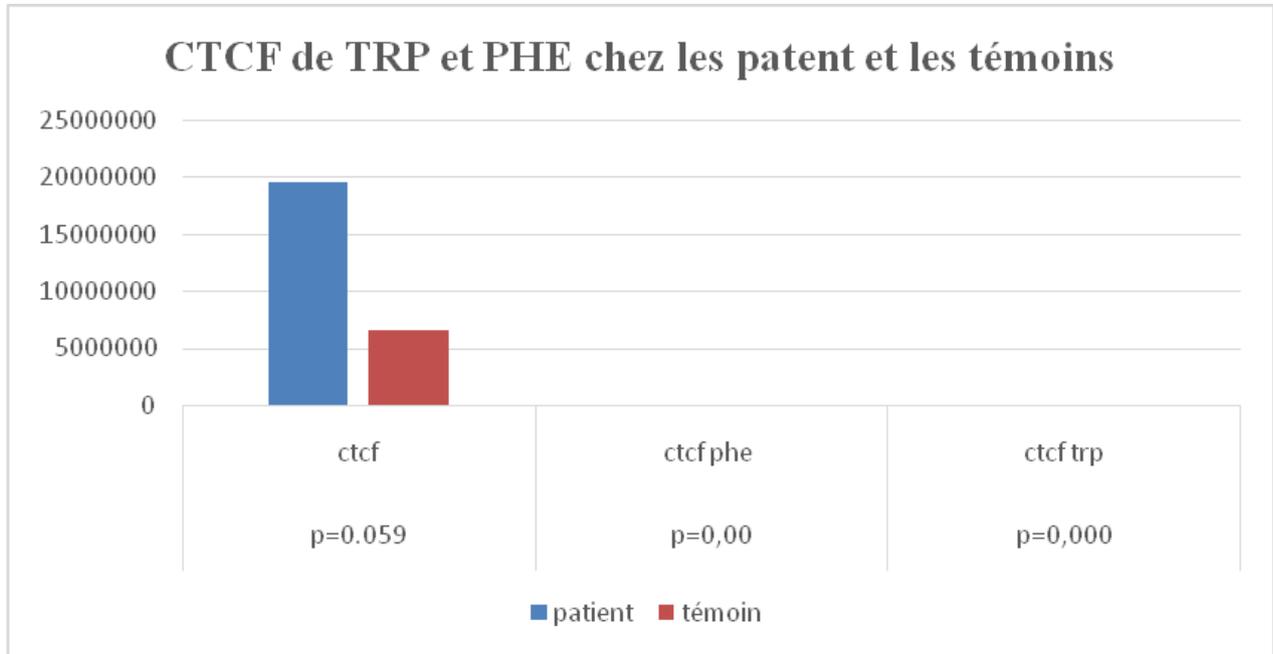


Figure n 31: les moyennes des valeurs de CTCF des résultats de CCM des acides aminés chez des nouveaux né prématurés

La figure met en évidence que les teneurs plasmatiques de Phe ($p=0,000$), Trp ($p=0,00$), et de p value de entre les patients et les témoins sont significativement ne pas différent augmentés chez les patients par rapport au groupe sujet témoins de valeur ($p=0,059$)> 0,05.

Méthode n 2:

A partir des graphes de profils de chromatographie sur couche mince (CCM) .

Échantillons	Phénylalanine %	Tryptophane %
Patient 1	13,028	11,446
Patient 2	11,239	11,617
Patient 3	11,596	9,809
Patient 4	8,69	10,025
Patient 5	9,968	8,283
Témoin 1	9,77	8,082
Témoin 2	10,836	9,682
Témoin 3	10,961	10,275
Témoin 4	8,42	9,462
Témoin 5	8,333	7,574

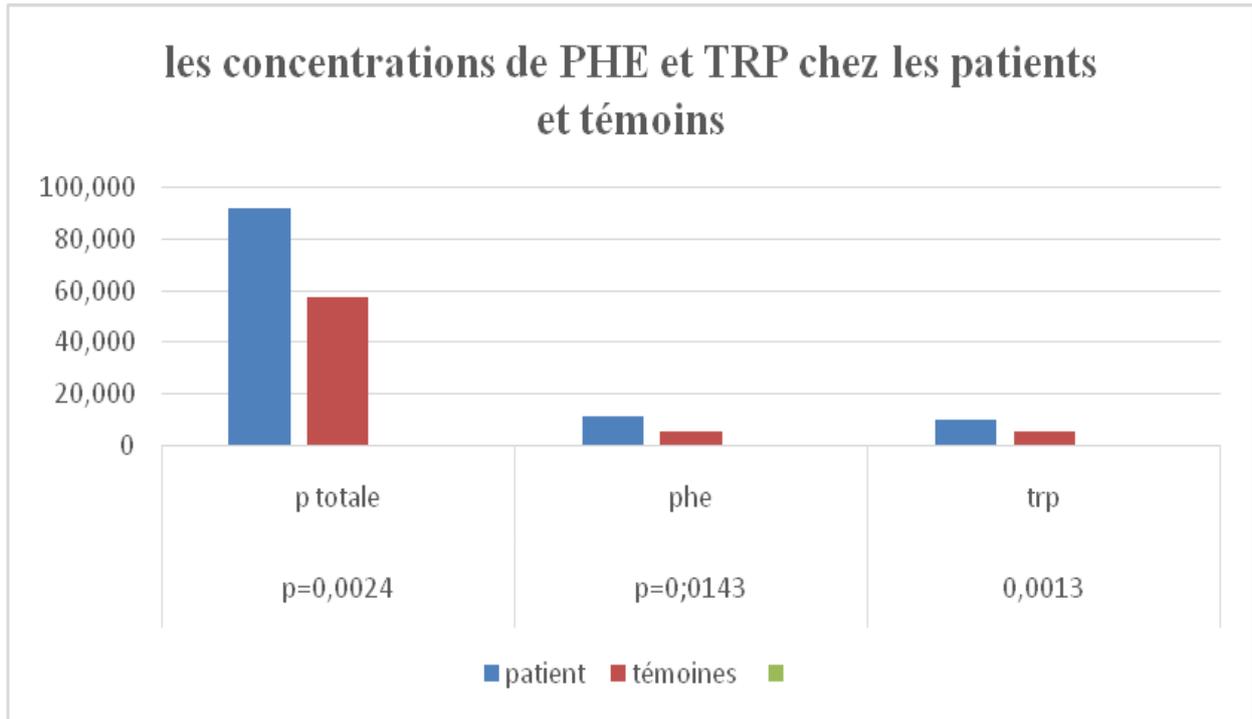


Figure n 32: histogramme des moyenne des concentrations (g/l) des résultats de CCM des acides aminées chez des nouveaux né prématurés (infectés et non infectés).

La figure met en évidence que les teneurs plasmatiques de Phe ($p=0,0143$), Trp ($p=0,0013$) protéine totale ($p=0,0024$) e de p value de entre les patients et les témoin sont significativement différent augmentés chez les patients par rapport au groupe sujet témoins.

Échantillon	Phénylalanine %	Tryptophane %
Patient	10,904	10,236
Témoins	9,664	9,015

Tableau n 9 : les moyennes des pourcentages des résultats de CCM des acides aminées chez des nouveaux né prématurés (infectés et non infectés).

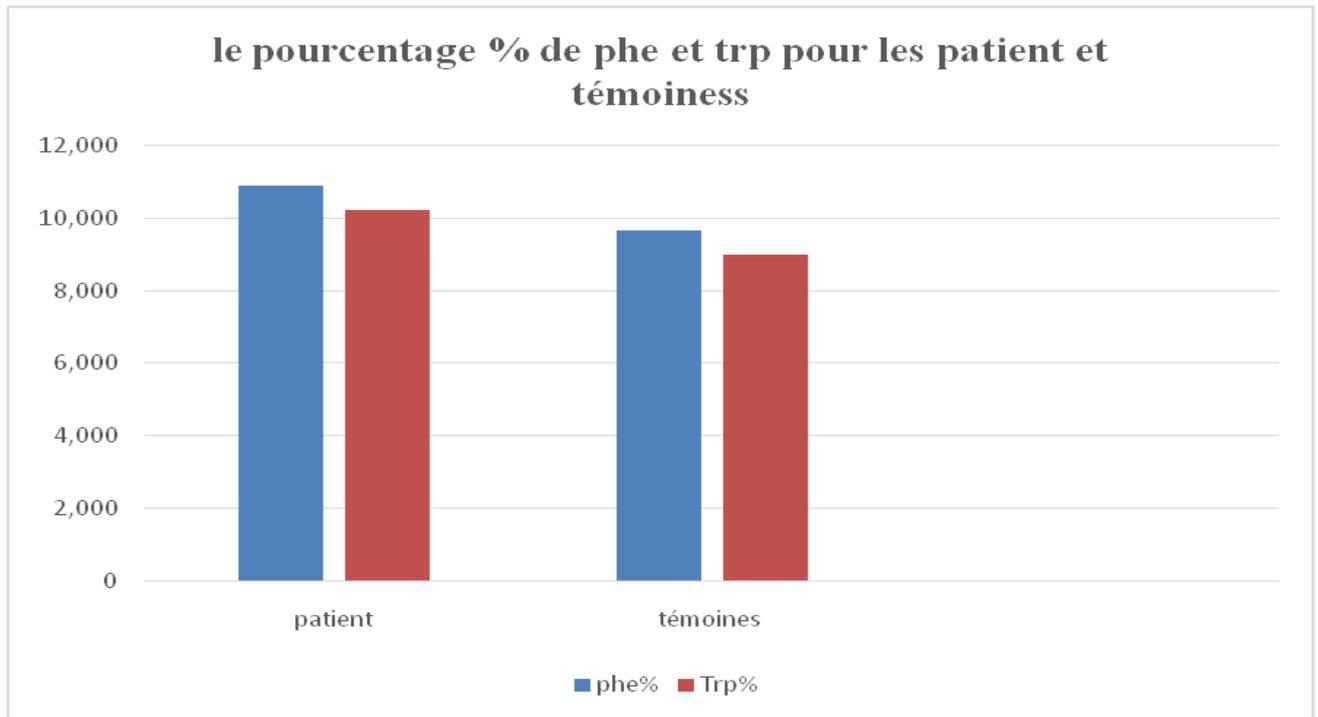


Figure n 33: les moyennes des pourcentages des résultats de CCM des acides aminées chez des nouveaux né prématurés (infectés et non infectés).

Histogramme ci-dessus représente la moyenne des pourcentages de PHE et TRP chez les bébés prématurés, de sorte que nous avons constaté que le pourcentage de PHE (10,904 %) et TRP(10,236%) peut élevée chez le groupe de prématuré infectés par rapport un autre groupe de prématurés témoins PHE (9,664%) et TRP (9,015%).

	Concentration de protéine totale	Concentration de phénylalanine	Concentration de tryptophane
N	5	5	5
Le moyenne	92,134	10,915	9,941
Médiane	44,43	5,152	4,358
Ecart type	96,809	13,133	11,383
Variance	9372,156	172,478	129,573

Tableau n 10: statistique descriptive des concentrations des résultats de CCM des acides aminés chez des nouveaux né prématurés infectés.

Le tableau ci dissous représente les statistique descriptive des données des résultats de CCM des acides aminés chez des nouveaux né prématurés infectés ce que nous avons trouvée dans notre étude on a le nombre total des échantillons 5 cas.

Donc nous avons réalisé la moyenne, médiane, variance et écart type.

	Concentration de protéine totale	Concentration de phénylalanine	Concentration de tryptophane
N	5	5	5
La moyenne	57,384	5,448	5,167
Médiane	49,94	5,473	5,131
Ecart type	12,748	0,715	1,336
Variance	162,518	0,512	1,787

Tableau n 11: statistique descriptive des concentrations des résultats de CCM des acides aminés chez des nouveaux né prématuré non infectés.

Le tableau ci dessous représente les statistique descriptive des données des résultats de CCM des acides aminés chez des nouveaux né prématurés non infectés ce que nous avons trouvée dans notre étude on a le nombre total des échantillons 5 cas.

Donc nous avons réalisé la moyenne, médiane, variance et écart type.

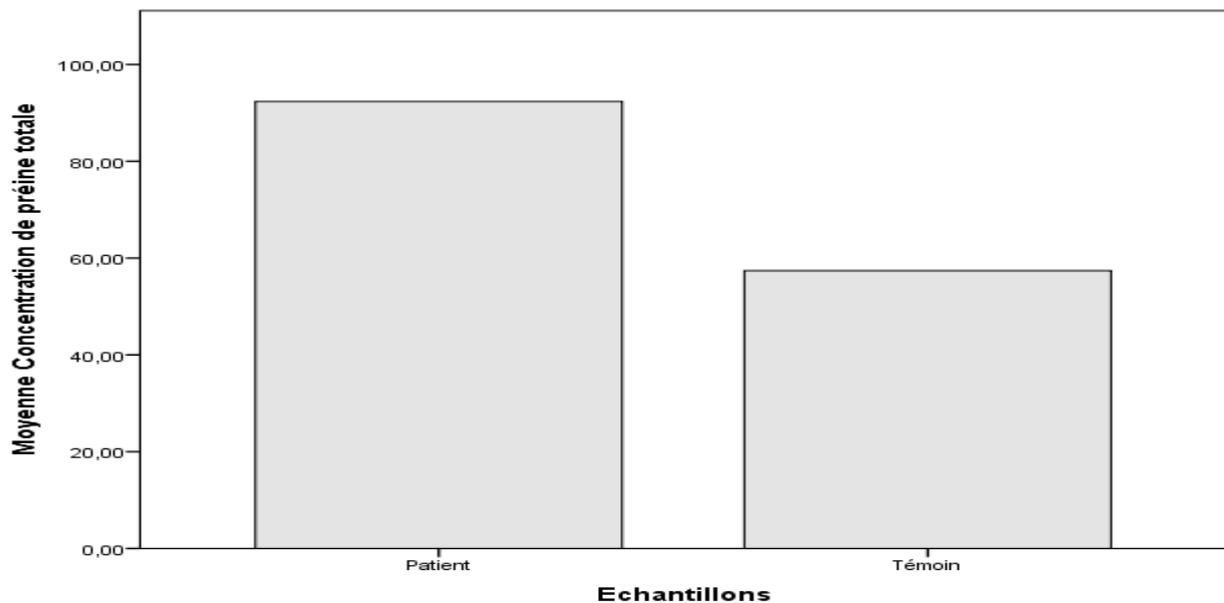


Figure n 35 : le diagramme a barre des moyennes de concentration de protéine totale (g/l) chez des nouveaux né prématuré infecté et non infecté.

Le diagramme à barres ci-dessus représente la moyenne de concentration de protéine totale (g/L) chez les bébés prématurés, de sorte que nous avons constaté que les teneurs plasmatiques atteignaient la moyenne maximale chez les nourrissons non infectés estimée à 57,384 g/l. D'autre part, la moyenne chez les nourrissons présentant une septicémie était d'environ 92,134 g/l.

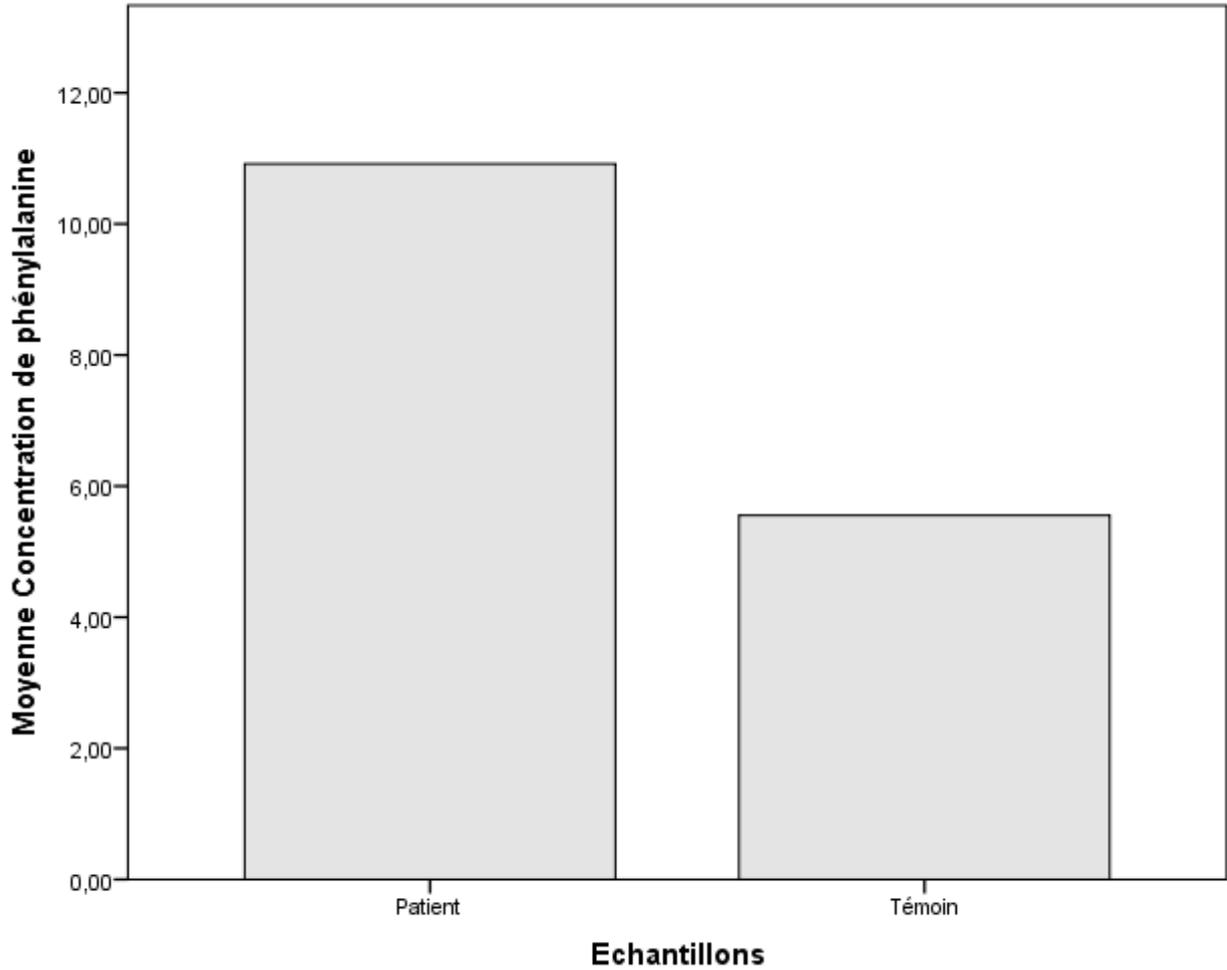


Figure n36 : le diagramme a barre des moyennes de concentration de phénylalanine (g/l) chez des nouveaux né prématuré infecté et non infecté.

Le diagramme à barres ci-dessus représente la moyenne de concentration plasmatique de phénylalanine (g/L) chez les bébés prématurés, de sorte que nous avons constaté que les teneurs plasmatiques atteignaient la moyenne maximale chez les nourrissons non infectés estimée à 5,448 g/l. D'autre part, la moyenne chez les nourrissons présentant une septicémie était d'environ 10,915 g/l.

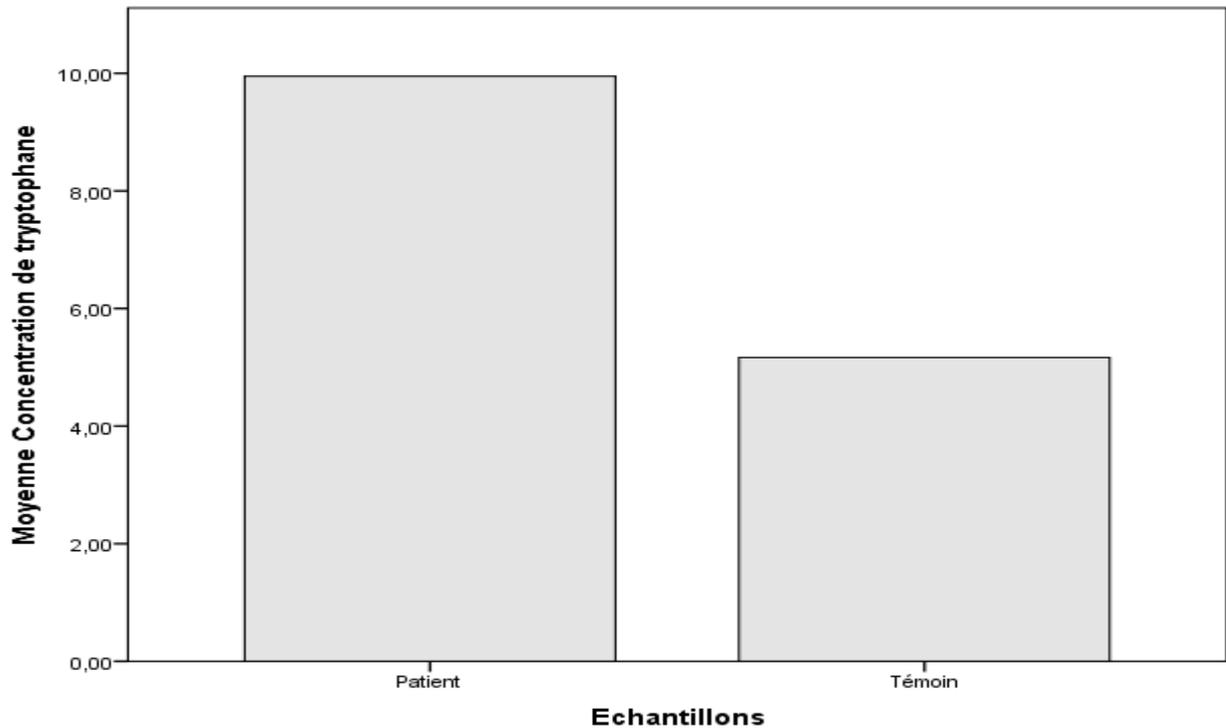


Figure n37 : le diagramme a barre des moyennes de concentration de tryptophane (g/l) chez des nouveaux né prématuré infecté et non infecté.

Le diagramme à barres ci-dessus représente la moyenne de concentration plasmatique de tryptophane (g/L) chez les bébés prématurés, de sorte que nous avons constaté que les teneurs plasmatiques atteignait la moyenne maximale chez les nourrissons non infectés estimée à 5,16 g/l .D'autre part, la moyenne chez les nourrissons présentant une septicémie était d'environ 9,941 g/l.

Discussion :

1. Limite de l'étude :

Pendant la période de stage de notre étude nous n'avons pas reçu suffisamment d'échantillons

De nourrissons prématurés atteints de septicémie dans de nombreux cas, nous avons donc dû Utiliser cette quantité d'échantillons, qui sont dus à plusieurs raisons, y compris les critères D'exclusion que nous avons mentionnée plus tôt, difficulté à faire des prélèvements chez les Nouveau-nés atteints de septicémie parce que ce sont des nourrissons prématurés et aussi la Rareté des cas.

2. Épidémiologie :

Les infections néonatales continuent de perturber la maladie en raison de leur fréquence Et leur sévérité.

Dans notre étude au service néonatal de CHU mère enfant de la wilaya de Tlemcen, nous Avons eu 5 cas de nouveau-nés prématurés avec septicémie par rapport à 5 cas témoins de Nouveau-nés prématurés.

Chez les prématurés, nous avons trouvée peu de données sont disponibles sur la génération des acides aminées et leur implication dans la réponse immunitaire contre les infections.

Dans cette étude nous essayons de comprendre et de quantifier l'effet de phénylalanine et tryptophane sur les bébés prématurés pendant la réponse immunitaire anti-infectieuse. En choisissant deux groupes de prématuré infecté et non infecté, nous avons prélevé d'échantillons de plasma pour 5 patients et 5 témoins et traité ces échantillons dans laboratoire des recherche BIOMOLIM pour fait une comparaison entre les résultat obtenue a partir le technique chromatographie a couche mince (CCM) pour identifier le taux plasmique de TRP et PHE dans le sang des échantillons. Alors hypothèse de notre étude basé sur le changement de taux plasmique de TRP et de PHE chez les prématuré infecté par apport les prématuré non infecté.

Pour analysé notre plaque CCM en va choisir 2 méthodes basé sur identification de taux plasmique des acides aminés. le première méthode c'est la calcule le rapporte CTCF() ce dernier repercent intensité des acides aminé pour chaque patient et chaque témoin a l'aides de logiciel IMAG J en observe que pour tout les patients et les témoins il y a aucune tache en parallèle avec les tache des acides aminé (PHE et TRP qui sont Préparé en laboratoire), donc les valeurs de CTCF que ce soit chez les patient ou les témoins est nulle donc probablement que ces échantillons ne possède pas de ces acides aminé dans leur sangs ou bien possède un teneur plasmatique plus faible en conséquence, il n'apparaissait pas dans la plaque CCM.

Mais aussi nous observons d'autres tache moins le niveau des acides aminé de Laboratoire donc il y a une autre hypothèse elle explique la présence de ces taches:<< Plasma de patient et de témoins possède d'autres acides aminés sauf PHE et TRP ou bien le TRP et le PHE présent chez les patients et les témoins mais avec une teneur plasmique plus faible avec autres acides aminé c'est pour ca la tache de PHE et TRP ne présent pas sur la plaque CCM >> Et après la comparaison entre les valeurs de CTCF qui est résulte dans les Histogrammes après implication de test **t de student** et test **Mann-Whitney** on résulte que $p=0;059 > 0,05$ (valeurs de risque)alors les 2 moyennes de ces 2 groupe est significativement n'est pas différent.

D'autre part nous avons traiter la plaque CCM par une deuxième méthode a cause de manque d'informations qui résulte a partir première méthode.

La deuxième méthode basé sur la calcule des concentrations de phe et trp sérique pour chaque échantillons résulte que il y a une petite quantité de ces acides aminé a cause d'analyse les graphes qui résulte après application IMAG J qui donne le pourcentage de phe at

trp dans la plasma de chaque patient et chaque témoins et après a partir Excel on a calculé la concentration de chaque acides aminé a l'aide de concentration de protéine totale.

A partir le résultat qui on observe sur les histogrammes, la concentration de phe et de trp augmenté chez les patients par rapport au group témoin et après implication de test **t de student** et test **Mann-Whitney** : $p(\text{phe})=0,0143 < 0,005$ et au même temps $p(\text{trp})=0,0013 < 0,005$ alors les moyennes de ces groupes et significativement différent .

Les nouveau-nés prématurés ont un système immunitaire immature, avec une immunité innée et adaptative réduite, leur système immunitaire peut être encore plus compromis par différents facteurs associés à la naissance prématurée. Le système immunitaire des prématurés comporte un plus petit nombre de monocytes et de neutrophiles.

Pool de monocytes et de neutrophiles, une capacité réduite de ces cellules à tuer les agents pathogènes, et une production plus faible de cytokines, ce qui limite l'activation des lymphocytes T et réduit la capacité à combattre les bactéries et à détecter les virus dans les tissus et les cellules, par rapport aux enfants nés à terme.

Les facteurs de risque associés à la naissance prématurée sont nombreux et beaucoup sont à médiation immunologique : inflammation, infection, surdistention utérine, ischémie ou hémorragie utéro-placentaire. ischémie ou hémorragie utéroplacentaire, stress ; caractéristiques démographiques maternelles, antécédents de grossesse, comportements indésirables et marqueurs biologiques et génétiques (**Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, et al.2008**).

Le système immunitaire, comme n'importe quel autre système de l'organisme, dépend d'un apport alimentaire adéquat et est très sensible aux déficits et déséquilibres nutritionnels (**Evoy et al. 1996**).

Dans notre étude nous savons choisir le TRP et le PHE comme un modèle d'étude chez les prématurés, alors quelle est la relation entre ces acides aminés et l'immunité de prématuré ?

Le tryptophane (TRP) est un acide α aminé aromatique, essentiel, non synthétisé par l'organisme et représentant 1% des acides aminés dans notre corps. le lait maternel est la seule source d'acide aminé essentiel TRP pour les nourrissons nourris exclusivement au sein. L'acide aminé TRP est vital pour une croissance RP n'est plus élevée que pendant la période néonatale (**Sánchez CL, Cubero J, Sánchez J, et al. 2013**) et le développement du système nerveux central(**Cubero J, Esteban S, Sánchez J, et al. 2005**). Alors que le lait humain contient environ 114 mg/g N de TRP (**Koletzko B, Baker S, Cleghorn G, et al. 2005**).

Dans les dernières années Les scientifiques se concentrent sur la relations entre la fonctionnement de système immunitaire de prématuré et leur nutrition et comparé avec les résultats qui identifier le rôle des acides aminé dans l'activation de système immunitaire .par exemple le rôle de acide aminé TRP est très important dans la réponse immunitaire d'adulte :

Le catabolisme du tryptophane chez homme est augmenté pour générer de l'acide anthranilique par la voie de l'indoleamine 2,3-dioxygénase (IDO) au cours d'une inflammation

ou d'une stimulation par le LPS ou certaines cytokines (**Platten et al.2005**). La sérotonine, la mélatonine et la N acétylsérotonine peuvent renforcer l'immunité de l'hôte en inhibant la production de superoxyde, en piégeant les radicaux libres et en atténuant la production de TNFa (**Perianayagam et al., 2005**). Les données disponibles suggèrent que le catabolisme du tryptophane joue un rôle dans les réponses immunitaires en produisant un environnement immunosuppresseur local capable de contrôler l'homéostasie des cellules T et l'autotolérance pendant l'inflammation (**Platten et al. 2005**).

Chez le prématuré les scientifiques vous avez noté une réduction de la disponibilité du TRP libre et une augmentation des concentrations de TRP total dans les EBM (breast milk expressed) de prématurés. Cette tendance générale se reflète dans la littérature où le lait de prématurés est associé à une teneur en protéines plus élevée dans les premiers stades du cycle de la lactation (**Darwish AM, Dakroury AM, El-Feel MS, et al. 1989**) (**Cubero J, Esteban S, Sánchez J, et al. 2005**).

Les implications d'un faible taux de TRP pour le nourrisson semblent peu claires et insuffisamment étudiées dans la littérature. Au cours du premier mois de gestation, le plasma maternel TRP du plasma maternel est utilisé par le fœtus pour synthétiser la sérotonine, importante pour le développement neurologique du cerveau antérieur (**Boccutto L, Chen CF, Pittman AR, et al.2013**). Comme le cortisol déclenche la dégradation de la TRP par la TDO dans la voie du métabolite Kyn et que nos résultats ont montré une moindre quantité de TRP libre dans les EBM de prématurés, il aurait été raisonnable d'étudier les effets de la TRP sur la santé.

Des chercheurs vous n'avez pas trouvé de preuves d'une augmentation des cytokines dans l'EBM prématuré, un schéma également démontré par (**Ustundag et al.2005**).

L'effet de divers composants alimentaires qui augmentent le TRP plasmatique, par exemple les protéines et les hydrates de carbone (**Markus CR .2008**)(**Fernstrom JD (2013)**

<<Dans notre étude nous avons trouvé une peut d'augmentations de taux plasmique de TRP chez prématuré infecté >>

D'autre part La phénylalanine est un acide α aminé aromatique, essentiel, indispensable au bon fonctionnement et ne produit pas par l'organisme .il possède un rôle très important dans immunité chez homme : la phénylalanine peut réguler la synthèse du NO par les leucocytes. Par conséquent, un apport adéquat de phénylalanine alimentaire est nécessaire pour maintenir un apport suffisant en tétrahydrobioptérine pour la production de NO par iNOS dans les macrophages activés et d'autres leucocytes (**Wu et Meininger., 2002**).

La tyrosine, un produit de la dégradation de la phénylalanine, est le précurseur immédiat de la synthèse des hormones catécholamines (épinéphrine et norépinephrine), des hormones thyroïdiennes (triiodothyronine et thyroxine), ainsi que de la dopamine et de l'insuline thyroïdiennes (triiodothyronine et thyroxine) (**Kim et al.2007**) nerveux sympathique pour agir sur le système immunitaire (**Kin et Sanders, 2006**).

Chez les prématurés Plus précisément, la concentration moyenne de phénylalanine (Phe) dans le plasma est de 63 $\mu\text{mol/L}$, avec un coefficient de variation intra-individuel de 9,5 %, la variation des AA étant comprise entre 12 et 32 % (**Fingerhut R et al.2010**)

Dans notre étude nous observons une augmentation de concentrations sérique de PHE chez les prématurés infectés et les scientifiques ont interprété cette augmentation du phe sérique :

Ces augmentations peuvent être encore plus élevées chez les prématurés, en particulier les grands prématurés, en raison de l'immatunité métabolique possible et de l'augmentation de l'incidence de la maladie.

en particulier les grands prématurés, en raison d'une éventuelle immaturité métabolique et de l'utilisation de préparations à forte teneur en protéines pour permettre une prise de poids supplémentaire afin d'assurer une croissance normale (**Beath SV .2003**) (**Llanos A, Mena P, Uauy R .2004**), ainsi qu'une diminution du catabolisme de l'AA

Essentiels provoquée par des formules riches en caséine, comme cela a été observé pour la Phe et le Tyr (**Darling PB et al.1004**).

En outre, ces nourrissons présentent très fréquemment une immaturité pulmonaire et des complications telles que le syndrome de détresse respiratoire néonatale, où des taux élevés de Phe ont également été observés, probablement en raison de la diminution de l'activité de la phénylalanine hydroxylase causée par la déplétion de soncofacteur, la tétrahydrobioptérine (**Ploder M et al.2008**).

La L-Phe a augmenté les taux sériques de glucagon et de PYY mais a réduit les niveaux de ghréline dans le plasma (**Alamshah A et al .2017**). L'augmentation de l'apport et des taux plasmatiques de phénylalanine entraîne l'inhibition de l'enzyme tyrosinase, et la conversion ultérieure, par hydroxylation, de la phénylalanine en tyrosine, ce qui augmente la disponibilité de la tyrosine.

Cette augmentation peut avoir un effet délétère sur le développement du cerveau, entraînant des conséquences telles que des troubles du sommeil, des déficits de mémoire, d'attention et de concentration(**Cie´sła J et al .2011**)(**Shortland GJ et al .1994**)

Le degré de prématurité et l'alimentation par voie intraveineuse ont influencé la concentration plasmatique de Phe chez le nouveau-né. Des concentrations plus élevées n'étaient pas rares chez les grands prématurés lors de l'alimentation par voie intraveineuse. (**Ernesto Cortés-Castell1 et al .2015**).

Alors notre étude Nous avons essayé de confirmer la validité de l'hypothèse sur laquelle nous avons construit cette recherche et Pour mieux exploiter ces résultats, il doit suggérer de refaire d'autres simulations avec d'autres groupes classés selon l'âge, le sexe et l'état de contrôle des nouveaux nés prématurés présentant une infection pour bien préciser le rôle des acides aminés (**phe et trp**) et aussi pour mieux estimer leurs effet dans la modulation du système immunitaire.

Partie 04 : Conclusion

Le sujet de prématurité plus tendance sur plus des années et la catégorie des scientifique on va essayer tenter de couvrir toutes les variables qui affectent le système immunitaire.

A partir de cette étude nous concluons que l'augmentation le taux de phénylalanine et tryptophane dans le teneur plasmique chez les nouveau né prématurés infectés c'est un biomarqueur que le TRP et PHE possède un rôle important dans la réponse immunitaire des prématurés

Malheureusement, encore trop peu est connu pour prévoir correctement les développementales de ces enfants. Davantage de recherches aiderait à mieux comprendre les conséquences de acides aminés (TRP et PHE) sur l'évolution des diverses fonctionnement des organes et de système immunitaire De plus, il semble très important d'effectuer des recherches approfondies sur les facteurs psychosociaux associés.

Et notre perspective sur les années prochaine que amélioré les techniques de recherche et rassemblons grand nombre des échantillons selon âge et sexe et d'autre variable.

LES RÉFÉRE

A

Abughali N, Berger M, Tosi MF. Deficient total cell content of CR3 (CD11b) in neonatal neutrophils. *Blood*. (1994) 83:1086– doi: 10.1182/blood.V83.4.1086.1086 92.

Adenyi-Jones SCA, Faden H, Ferdon MB, Kwong MS, Ogra PL. Systemic and local immune responses to enhanced-potency inactivated poliovirus vaccine in premature and term infants. *J Pediatr*. (1992) 120:686– 9. doi: 10.1016/S0022-3476(05)80228-8

Adkins B, Leclerc C, Marshall-Clarke S. Neonatal adaptive immunity comes of age. *Nat Rev Immunol*. (2004) 4:553–64. doi: 10.1038/nri1394/

Alamshah A, Spreckley E, Norton M, Kinsey-Jones JS, Amin A, Ramgulam A, et al. l-phenylalanine modulates gut hormone release and glucose tolerance, and suppresses food intake through the calcium-sensing receptor in rodents. *Int J Obes*. (2017) 41:1693–701. doi: 10.1038/ijo.2017.164. *Amino Acid Metabolism, Third Edition* | David A Bender(auth.) | download n.d. (accessed September 29, 2021)

Anderson DC, Freeman KLB, Heerdt B, Hughes BJ, Jack RM, Smith CW. Abnormal stimulated adherence of neonatal granulocytes: impaired induction of surface MAC-1 by chemotactic factors or secretagogues. *Blood* . (1987) 70:740–50 doi : 10.1182/blood.V70.3.740.bloodjournal703740

AUFDERHEIDE W., 1981. Hematopoiesis . *The veterinary clinics of North America Small Animal Practice*, 11(2), 219-229. {10}BACH J.F., 1990. Cellules immuno-c

Azizia M, Lloyd J, Allen M, Klein N, Peebles D. Immune status in very preterm neonates. *Pediatrics*. (2012) 129:e967– 74. doi: 10.1542/peds.2011-1579//

B

Badawy AAB (2017) Tryptophan availability for kynurenine path way metabolism across the life span: control mechanisms and focus on aging, exercise, diet and nutritional supplements. *Neuropharmacology* 112, 248–2.

Basu S & Dasgupta PS (2000) Dopamine, a neurotransmitter, influences the immune system. *J Neuroimmunol* 102, 113 – 124. Bhargava KK, Hanson RP & Sunde ML (1971) Effects of threonine on growth and antibody production in chicks infected with Newcastle disease virus. *Poultry Sci* 50, 710 –713.1

Bensenonci, 2008) Bensenonci. A, Mazouni. S, (2008). *Les éléments de pédiatres Tome 2* . . Kabore P, Donnen P, Dramaix-willmet M. Facteurs de risque obstétricaux du petit

poids de naissance à terme en milieu rural sahélien. Arch Pédiatr santé publique 2007, 19 (6) : 489-497.

Bernbaum JC, Daft A, Anolik R, Samuelson J, Barkin R, Douglas S, et al. Response of preterm infants to diphtheria-tetanus-pertussis immunizations. J Pediatr. (1985) 107:184–8. doi: 10.1016/S0022-3476(85)80122-0

Bhagavan NV, Ha C-E. Protein and Amino Acid Metabolism. Essentials of Medical Biochemistry, Elsevier; 2015, p. 227–68.

Black A, Bhaumik S, Kirkman RL, Weaver CT, Randolph DA. Developmental regulation of Th17-cell capacity in human neonates. European journal of immunology. 2012; 42(2):311–319. [PubMed: 22101893]

Blau N, van Spronsen FJ, Levy HL. Phenylketonuria. Lancet. 2010; 376: 1417–1427. doi: 10.1016/ S0140-6736(10)60961-0 PMID: 2097136 .

BLOCH H., LEQUIEN P. L'enfant prématuré, Paris : A. Colin, 2003.

Boccutto L, Chen CF, Pittman AR, et al. (2013) Decreased tryptophan metabolism in patients with autism spectrum disorders. Mol Autism 4, 16.

Bourillon A. Pédiatrie pour le praticien, SIMEP .Edition Paris, Paris, 1993 :576.

C

Cao W, Liu YJ. Innate immune functions of plasmacytoid dendritic cells. Curr Opin Immunol. (2007) 19:24–30. doi: 10.1016/j.coi.2006.11.004..

Carr R, Huizinga TWJ. Low soluble FcRIII receptor demonstrates reduced neutrophil reserves in preterm neonates. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed. (2000) 83:F160. doi: 10.1136/fn.83.2.F160 ,

Christensen, J. L., Wright, D. E., Wagers, A. J. and Weissman, I. L., Circulation and chemotaxis of fetal hematopoietic stem cells. PLoS Biol. 2004. 2: E75. 10.1371/journal.pbio.0020075.

Christensen, R. D. and Sola-Visner, M. C., Fetal and neonatal hematopoiesis . In T. L. Simon, E. L. Snyder, B. G. Solheim, C. P. Stowell, R. G. Strauss and M. Petrides (Ed.) Rossi's principles of transfusion medicine. Wiley-Blackwell , Oxford, UK 2009].

Cieśła J, Fraczyk T, Rode W. Phosphorylation of basic amino acid residues in proteins: important but easily missed. Acta Biochim Pol. 2011;58:137---48.

Cipolla-Neto J, Amaral FG do. Melatonin as a Hormone: New Physiological and Clinical Insights. Endocr Rev 2018;39:990–102

Claustrat B, Leston J. Melatonin: Physiological effects in humans. Neurochirurgie 2015;61:77–8

Cosmi L, De Palma R, Santarlasci V, et al. Human interleukin 17-producing cells originate from a CD161+CD4+ T cell precursor. The Journal of experimental medicine. 2008; 205(8):1903–1916. [PubMed: 18663128]

Cubero J, Esteban S, Sánchez J, et al. (2005) Ion-exchange HPLC assay of tryptophan in breast milk of mothers with three months breast-feeding. Biog Amines 19, 171–175. Darwish AM, 133. Dakroury AM, El-Feel MS, et al. (1989) Comparative study on breast milk of mothers delivering preterm and term infants – protein, fat and lactose. Nahrung 33, 249–251.

Crotty S. The 1–1–1 fallacy. Immunological reviews. 2012; 247(1):133–142. [PubMed: 22500837] 105. Locci M, Havenar-Daughton C, Landais E, et al. Human circulating PD-

D

DAY M.J., 2000. Schalm's veterinary hematology, fifth edition

De Kleer I, Willems F, Lambrecht B, Goriely S. Ontogeny of myeloid cells. Front Immunol. (2014) 5:423. doi: 10.3389/fimmu.2014.00423.

De Wit D, Tonon S, Orlslagers V, Goriely S, Boutriaux M, Goldman M, et al. Impaired responses to toll-like receptor 4 and toll-like receptor 3 ligands in human cord blood. J Autoimmun. (2003) 21:277– doi: 10.1016/j.jaut.2003.08.003//80

Debock I, Jaworski K, Chadlaoui H, et al. Neonatal follicular Th cell responses are impaired and modulated by IL-4. Journal of immunology. 2013; 191(3):1231–1239..

DELDAR A., 1998. Blood and bone marrow. In : Textbook of veterinary histology, 5ème édition, p62-79.

DELLMANN H.D., EVREL J., 1998. Textbook of veterinary histology, fifth edition, Williams and Wilkins company, Baltimore, 380p..

Diarra AK. L'accouchement prématuré dans le service de gynécologie obstétrique du centre de santé de référence de la commune I du district de Bamako de janvier 2006 au décembre 2007 à propos de 195 cas ; [Thèse médecine] Bamako-Mali : FMPOS ; 2010.

Dorshkind K & Horseman ND (2000) The roles of prolactin, growth hormone, insulin-like growth factor-I, and thyroid hormones in lymphocyte development and function: insights from genetic models of hormone and hormone receptor deficiency. Endocr Rev 21, 292 – 312..

Dowling DJ, Levy O. Ontogeny of early life immunity. Trends Immunol. (2014) 35:299–310. doi: 10.1016/j.it.2014.04.007.

Dowling DJ, Levy O. Ontogeny of early life immunity. Trends Immunol. (2014) 35:299–310. doi: 10.1016/j.it.2014.04.007

Durandy A (2001), Ontogénèse du système immunitaire embryonnaire et foetal. Encycl Méd Chir (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, tous droits réservés), Gynécologie/Obstétrique, 5-2006-C-20, , 5 p

Durandy, A. (2003). Ontogeny of the immune system. Transfus. Med. Hemother. 30, 222–227.

E

Ellis H. Sir Frederick Gowland Hopkins: Nobel Laureate and pioneer British biochemist. Br J Hosp Med (Lond) 2011;72:414.

Esteban S, Nicolaus C, Garmundi A, Rial RE, Rodriguez AB, Ortega E & Ibars CB (2004) Effect of orally administered L-tryptophan on serotonin, melatonin, and the innate immune response in the rat. Mol Cell Biochem 267, 39 –46.

F

Fingerhut R, De Jesus Silva Arevalo G, Baumgartner MR, Haberle J, Rohrbach M, Figueroa AW, et al.

Postprandial changes of amino acid and acylcarnitine concentrations in dried blood samples. J Inherit Metab Dis. 2010; 33: S235–239. doi: 10.1007/s10545-010-9167-6 PMID: 20652412 .

Fink PJ. The biology of recent thymic emigrants. Annual review of immunology. 2013; 31:31–50

FMPMC-PS - Composés azotés - Objectifs au cours de Biochimie DCEM3 Biochimie métabolique et Régulations C1 n.d. & Ext.102.html (accessed September 23, 2021

Foster JP, Cole MJ, Seth R. Oral immunoglobulin for preventing necrotizing enterocolitis in preterm and low birth weight neonates. Cochrane Database Syst Rev. (2016) 2016:CD001816. doi: 10.1002/14651858.CD001816.pub3

François Denis, 1999: Les virus transmissibles de la mère à l'enfant, Ed : John Libbey Eurotext , 461 pages

G

Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, et al. (2008) Epidemiology and cause of preterm birth. Lancet 371, 75–84.

Gopalakrishna KP, Macadangdang BR, Rogers MB, Tometich JT, Firek BA, Baker R, et al. Maternal IgA protects against the development of necrotizing enterocolitis in preterm infants. Nat Med. (2019) 25:1110– 5. doi: 10.1038/s41591-019-0480-

Graff M. Biological roles of phenylalanine and its derivatives; The genetic disorder phenylketonuria and its possible treatment; Potential separation methods of phenylalanine enantiomers and biological functions of D-phenylalanine, 2015, p. 1–25.

Gross SJ, Buckley RH, Wakil SS, McAllister DC, David RJ, Faix RG. Elevated IgA concentration in milk produced by mothers delivered of preterm infants. J Pediatr. (1981) 99:389–93. doi: 10.1016/S0022-3476(81)80323-X

H

Hägström, M., Hematopoiesis simple. 2009. 2014:

Hseu JR, Lu FI, Su HM, Wang LS, Tsai CL & Hwang PP (2003) Effect of exogenous tryptophan on cannibalism, survival and growth in juvenile grouper, *Epinephelus coioides*. Aquaculture 218, 251 – 263

Huang B, Pan PY, Li Q, Sato AI, Levy DE, Bromberg J, et al. Gr-1+CD115+ immature myeloid suppressor cells mediate the development of tumorinduced T regulatory cells and T-cell anergy in tumor-bearing host. Cancer Res. (2006) 66:1123–31. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-05-1299o

J

JAIN M.C., 1993. Essentials of veterinary hematology. Lea et Febiger, Philadelphia.

Jean- Pierre Revillard (2001) : immunologie 4ème édition, Ed Boeck Supérieur, 600 pages.]

K

Kim SW, Mateo RD, Yin YL & Wu G (2007) Functional amino acids and fatty acids for enhancing production performance of sows and piglets. Asian-Aust J Anim Sci 20, 295 – 306..

Kin NW & Sanders VM (2006) It takes nerve to tell T and B cells what to do. J Leukoc Biol 79, 1093 –1104 .I

Koblin BA, Townsend TR, Muñoz A, Onorato I, Wilson M, Polk BF. Response of preterm infants to diphtheria–tetanus–pertussis vaccine. Pediatr Infect Dis J. (1988) 7:704–11. doi: 10.1097/00006454-198810000-00008

Kohler PF. Maturation of the human complement system. I. Onset time and sites of fetal C1q, C4, C3, and C5 synthesis. J Clin Invest. (1973) 52:671–77. D 10.1172/JCI107228

Konashi S, Takahashi K & Akiba Y (2000) Effects of dietary essential amino acid deficiencies on immunological variables in broiler chickens. Br J Nutr 83, 449 –456.

L

Landers CD, Chelvarajan RL, Bondada S. The role of B cells and accessory cells in the neonatal response to TI-2 antigens. Immunol Res. (2005) 31:25– 36. doi: 10.1385/IR:31:1:25

Langrish CL, Buddle JC, Thrasher AJ, Goldblatt D. Neonatal dendritic cells are intrinsically biased against Th-1 immune responses. Clin Exp Immunol. (2002) 128:118–23. doi: 10.1046/j.1365-

Le Garff-Tavernier M, Beziat V, Decocq J, et al. Human NK cells display major phenotypic and functional changes over the life span. Aging cell. 2010; 9(4):527–535. [PubMed: 20477761

Lee HH, Hoeman CM, Hardaway JC, et al. Delayed maturation of an IL-12-producing dendritic cell subset explains the early Th2 bias in neonatal immunity. The Journal of experimental medicine. 2008; 205(10):2269–2280. [PubMed: 18762566]

Levy O. A pediatric perspective on antimicrobial proteins and peptides: expression, function, and clinical relevance. In: Gallo RL, editor. Antimicrobial Peptides in Human Health and Disease. Norfolk: Horizon Bioscience (2005). p. 305–329.

Levy O. A pediatric perspective on antimicrobial proteins and peptides: expression, function, and clinical relevance. In: Gallo RL, editor. Antimicrobial Peptides in Human Health and Disease. Norfolk: Horizon Bioscience (2005). p. 305–329.

Lewis DB, Wilson CB. Developmental immunology and role of host defenses in fetal and neonatal susceptibility to infection. In: Remington JS, Klein JO, Wilson CB, Baker CJ, editors. Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant. Philadelphia, PA: W.B. Saunders (2006). P. 87– 210. doi: 10.1016/B0-72-160537-0/50006-2 66.

Li H, Han Y, Guo Q, Zhang M, Cao X. Cancer-expanded myeloid-derived suppressor cells induce anergy of NK cells through membrane-bound TGFβ1. J Immunol. (2009) 182:240–9. doi: 10.4049/jimmunol.182.1.240

Linden JR , De Paepe ME, Laforce-Nesbitt SS, Bliss JM. Galectin-3 plays an important role in protection against disseminated candidiasis. Med Mycol. (2013) 51:641–51. doi: 10.3109/13693786.2013.77060.

Linderkamp O, Ruef P, Brenner B, Gulbins E, Lang F. Passive deformability of mature, immature, and active neutrophils in healthy and septicemic neonates. *Pediatr Res* (1998) 44:946– 50. doi: 10.1203/00006450-199812000-00021).

Liu Y, Tian X, He B, Hoang TK, Taylor CM, Blanchard E, et al. Lactobacillus reuteri DSM 17938 feeding of healthy newborn mice regulates immune responses while modulating gut microbiota and boosting beneficial metabolites. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. (2019) 317:G824– 38. doi: 10.1152/ajpgi.00107.2019.

Lorant DE, Li W, Tabatabaei N, Garver MK, Albertine KH. P-selectin expression by endothelial cells is decreased in neonatal rats and human premature infants. *Blood*. (1999) 94:600–9. doi: 10.1182/blood.V94.2.600.

Lovelace MD, Varney B, Sundaram G, Lennon MJ, Lim CK, Jacobs K, et al. Recent evidence for an expanded role of the kynurenine pathway of tryptophan metabolism in neurological diseases. *Neuropharmacology* 2017;112:373–88.

Liu L, Johnson HL, Cousens S, et al. Global, regional, and national causes of child mortality: an updated systematic analysis for 2010 with time trends since 2000. *Lancet*. 2012; 379(9832):2151– 2161. [PubMed: 22579125]]

M

Maródi L, Goda K, Palicz A, Szabó G. Cytokine receptor signalling in neonatal macrophage: defective STAT-1 phosphorylation in response to stimulation with ifn- γ . *Clin Exp Immunol*. (2001) 126:456–60. doi: 10.1046/j.1365-2249.2001.01693.x

Martin KS, Azzolini M, Lira Ruas J. The kynurenine connection: how exercise shifts muscle tryptophan metabolism and affects energy homeostasis, the immune system, and the brain. *Am J Physiol Cell Physiol* 2020;318:C818–30.

Mehta R, Petrova A. Biologically active breast milk proteins in association with very preterm delivery and stage of lactation. *J Perinatol*. (2011) 31:58– 62. doi: 10.1038/jp.2010.68

Melchior D, Seve B & Le Floc'h N (2004) Chronic lung inflammation affects plasma amino acid concentrations in pigs. *J Anim Sci* 82, 1091– 1099

Merrill JD, Sigaroudinia M, Kohl S. Characterization of natural killer and antibody-dependent cellular cytotoxicity of preterm infants against human immunodeficiency virus-infected cells. *Pediatr Res*. (1996) 40:498– 503. doi: 10.1203/00006450-199609000-00021.

Munyutu DG. Preterm deliveries in the Yaounde Gyneco-obstetric and pediatric hospital, epidemiology and clinical aspects ; [Thèse médecine] YaoundeCameroun : université de Yaoundé ; 2011..

McCarron MJ, Reen DJ. Neonatal CD8+ T-cell differentiation is dependent on interleukin-12. Human immunology. 2010; 71(12):1172–1179

Moneret-Vautrin. D. A., Dollander A. (1976), «Développement des systèmes et fonctions immunologiques chez le fœtus et le nouveau-né». Rev. Franç. Allergol., , 16 (n° 4), 137-206

Metcalf. D et Moore MAS, 1971). Haemopoietic cells: their origin, migration and differentiation. Amsterdam, North Holland

N

Nongonierma AB, FitzGerald RJ. Milk proteins as a source of tryptophan-containing bioactive peptides. Food Funct 2015;6:2115–27.

O

Obled C. Amino acid requirements in inflammatory states. Can J Anim Sci. (2003) 83:365–73. doi: 10.4141/A03-021.

Opiela SJ, Koru-Sengul T, Adkins B. Murine neonatal recent thymic emigrants are phenotypically and functionally distinct from adult recent thymic emigrants. Blood. 2009; 113(22):5635–5643. [PubMed: 19168791]

P

Palmeira P, Quinello C, Silveira-Lessa AL, Zago CA, Carneiro-Sampaio M. IgG placental transfer in healthy and pathological pregnancies. Clin Dev Immunol. (2012) 2012:985646. doi: 10.1155/2012/985646

Pammi M, Abrams SA. Oral lactoferrin for the prevention of sepsis and necrotizing enterocolitis in preterm infants . Cochrane Database Syst. Rev. (2015) 2:CD007137. Doi 10.1002/14651858.CD007137.pub4

Patrícia FS, Fernanda M, José HC, Fabiola C, Emilio LS, Gustavo CF. Phenylketonuria

Pathophysiology: on the Role of Metabolic Alterations. Aging and Disease 2015;6:390.

Perianayagam MC, Oxenkrug GF & Jaber BL (2005) Immune-modulating effects of melatonin, N-acetylserotonin, and N-acetyldopamine. Ann NY Acad Sci 1053, 386 –

Phenylalanine : dietary sources, functions and health effects | Williamson, Darlene | download n.d.(accessed September 24, 2021).

Phillips JH, Hori T, Nagler A, Bhat N, Spits H, Lanier LL. Ontogeny of Humanliller (NK) cells: fetal NK lasmic CD3 ϵ , δ Proteins. J Exp Med. (1992) 175:1055–66. doi: 10.1084/jem.175.4.1055

Platten M, Ho PP, Youssef S, Fontoura P, et al. (2005) Treatment of autoimmune neuroinflammation with a synthetic tryptophan metabolite. Science 310, 850 – 855

Ploder M, Neurauter G, Spittler A, Schroecksnadel K, Roth E, Fuchs D. Serum phenylalanine in patients post trauma and with sepsis correlate to neopterin concentrations. Amino Acids. 2008; 35: 303–307. PMID: 18163176.

R

Raymond SL, Mathias BJ, Murphy TJ, Rincon JC, López MC, Ungaro R, et al. Neutrophil chemotaxis and transcriptomics in term and preterm neonates. Transl Res. (2017) 190:4–15. doi: 10.1016/j.trsl.2017.08.003..

REVILLARD, 1995. Immunologie, 2ème édition. 198}TOMPKINS M.B., 1993. Lymphoid system. In : Hudson L.C., Hamilton W.P. Atlas of feline anatomy for veterinarians. W.B. Saunders company. 114-123.

Ruckwardt TJ, Malloy AM, Morabito KM, Graham BS. Quantitative and qualitative deficits in neonatal lung-migratory dendritic cells impact the generation of the CD8+ T cell response. PLoS pathogens. 2014; 10(2):e1003934. [PubMed: 24550729]

Ruckwardt TJ, Malloy AMW, Morabito KM, Graham BS. Quantitative and qualitative deficits in neonatal lung-migratory dendritic cells impact the generation of the CD8+ T cell response. PLoS Pathog. (2014) 10:e1003934. doi: 10.1371/journal.ppat.1003934.

S

Saleem Basha, Naveen Surendran, and Michael Pichichero Published in final edited form as: Expert Rev Clin Immunol. 2014 September ; 10(9): 1171–1184. doi:10.1586/1744666X.2014.942288

Sánchez CL, Cubero J, Sánchez J, et al. (2013) Evolution of the circadian profile of human milk amino acids during breastfeeding. J Appl Biomed 11, 59–70.

Satyanarayana U, Chakrapani U. Biochemistry (with clinical concepts & case studies). New Delhi: Elsevier Health Sciences APAC; 2015

Schwarz J, Scheckenbach V, Kugel H, Spring B, Pagel J, Härtel C, et al. Granulocytic myeloid-derived suppressor cells (GR-MDSC) accumulate in cord blood of preterm

infants and remain elevated during the neonatal period. *Clin Exp Immunol.* (2018) 191:328–37. doi: 10.1111/cei.13059

Shearer WT, Rosenblatt HM, Gelman RS, Oyomopito R, Plaeger S, Stiehm ER, et al. Lymphocyte subsets in healthy children from birth through 18 years of age: the pediatric AIDS Clinical Trials Group P1009 study. *J Allergy Clin Immunol.* (2003) 112:973–80. doi: 10.1016/j.jaci.2003.07.003

Shi C, Sahay B, Russell JQ, et al. Reduced immune response to *Borrelia burgdorferi* in the absence of gammadelta T cells. *Infection and immunity.* 2011; 79(10):3940–3946. [PubMed: 21768278]

Shi W, Meininger CJ, Haynes TE, Hatakeyama K & Wu G (2004) Regulation of tetrahydrobiopterin synthesis and bioavailability in endothelial cells. *Cell Biochem Biophys* 41, 415–433

Shortland GJ, Walter JH, Fleming PJ, Halliday D. Phenylalanine kinetics in sick preterm neonates with respiratory distress syndrome. *Pediatr Res.* 1994;36:713–8

Smolen P, Bland R, Heiligenstein E, Lawless MR, Dillard R, Abramson J. Antibody response to oral polio vaccine in premature infants. *J Pediatr.* (1983) 103:917–9. doi: 10.1016/S0022-3476(83)80714-8

Strunk T, Temming P, Gembruch U, Reiss I, Bucsky P, Schultz C. Differential maturation of the innate immune response in human fetuses. *Pediatr Res* (2004) 56:219–26. doi: 10.1203/01.PDR.0000132664.66975.79)

T

Taylor MW & Feng G (1991) Relationship between interferon-g, indoleamine 2,3-dioxygenase, and tryptophan catabolism. *FASEB J* 5, 2516–2522.

Tayman C, Tonbul A, Kahveci H, Uysal S, Koseoglu B, Tatli MM, et al. C5a, a complement activation product, is a useful marker in predicting the severity of necrotizing enterocolitis. *Tohoku J Exp Med.* (2011) 224:143–50. doi: 10.1620/tjem.224.14

TOMPKINS M.B., 1993. Lymphoid system. In : Hudson L.C., Hamilton W.P. Atlas of feline anatomy for veterinarians. W.B. Saunders company. 114-123..

TOMPKINS M.B., 1993. Lymphoid system. In : Hudson L.C., Hamilton W.P. Atlas of feline anatomy for veterinarians. W.B. Saunders company. 114-123.

TOMPKINS M.B., 1993. Lymphoid system. In : Hudson L.C., Hamilton W.P. Atlas of feline anatomy for veterinarians. W.B. Saunders company. 114-123.

U

Ueno Y, Koizumi S, Yamagami M, Miura M, Taniguchi N. Characterization of hemopoietic stem cells [CFU(C)] in cord blood. *Exp Hematol.* (1981) 9:716– 22.

Ustundag B, Yilmaz E, Dogan Y, et al. (2005) Levels of cytokines (IL-1, IL-2, IL-8, TNF- α) and trace elements (Zn, Cu) in breast milk from mothers of preterm and term infants. *Mediators Inflamm* 6, 331–336.

V

van den Biggelaar AHJ, Pomat WS. Immunization of newborns with bacterial conjugate vaccines. *Vaccine.* (2013) 31:2525– 30. doi: 10.1016/j.vaccine.2012.06.019

Vasudevan DM, Sreekumari S, Vaidyanathan K. Textbook of biochemistry for medical students. Seventh edition. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers (P) LTD; 2013. .

van den Berg, J. P., Westerbeek, E. A. M., van der Klis, F. R. M., Berbers, G. A. M., and van Elburg, R. M. (2011). Transplacental transport of IgG antibodies to preterm infants: a review of the literature. *Early Hum. Dev.* 87, 67–72. Vermillion, S. T., Soper, D.

W

Watson RR & Petro TM (1984) Resistance to bacterial and parasitic infections in the nutritionally compromised host. *CRC Crit Rev Microbiol* 10, 297 – 315.

Weaver CT, Hatton RD, Mangan PR, Harrington LE. IL-17 family cytokines and the expanding diversity of effector T cell lineages. *Annual review of immunology.* 2007; 25:821–852..

Willems F, Vollstedt S, Suter M. Phenotype and function of neonatal DC. *European journal of immunology.* 2009; 39(1):26–35. [PubMed: 19137537]

Willems F, Vollstedt S, Suter M. Phenotype and function of neonatal DC. *Eur J Immunol.* (2009) 39:26–35. doi: 10.1002/eji.200838391.

Willems F, Vollstedt S, Suter M. Phenotype and function of neonatal DC. *Eur J Immunol.* (2009) 39:26–35. doi: 10.1002/eji.200838391 0)

Wu G, Meininger CJ, Knabe DA, Bazer FW & Rhoads JM (2000) Arginine nutrition in development, health and disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 3, 59 –66.

Wu L, Liu YJ. Development of dendritic-cell lineages. *Immunity*. 2007; 26(6):741–750. [PubMed: 17582346].

Y

Ygberg S, Nilsson A. The developing immune system - from foetus to toddler. *Acta Paediatr Int J Paediatr*. (2012) 101:120–7. doi: 10.1111/j.1651-2227.2011.02494.

Youn J-I, Collazo M, Shalova IN, Biswas SK, Gabrilovich DI. Characterization of the nature of granulocytic myeloid-derived suppressor cells in tumor-bearing mice. *J Leukoc Biol*. (2012) 91:167–81. doi: 10.1189/jlb.0311177//

Z

Zaghouani H, Hoeman CM, Adkins B. Neonatal immunity: faulty T-helpers and the shortcomings of dendritic cells. *Trends Immunol*. (2009) 30:585– 91. doi: 10.1016/j.it.2009.09.002)

Zaghouani H, Hoeman CM, Adkins B. Neonatal immunity: faulty T-helpers and the shortcomings of dendritic cells. *Trends in immunology*. 2009; 30(12):585–591. [PubMed: 19846341]

Zhang J, Silvestri N, Whitton JL, Hassett DE. Neonates mount robust and protective adult-like CD8(+)-T-cell responses to DNA vaccines. *Journal of virology*. 2002; 76(23):11911–11919. [PubMed: 12414933]