

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي.

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 Sciences de la Terre et l'Univers

Département de biologie



MÉMOIRE

Présenté par

BELHADJ CHAFIA et BELKACEM HADJER

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En immunologie

Thème

**Analyse in silico de l'Interaction Broméline-NLRP3 : Exploration des Mécanismes
Potentiels d'Inhibition de l'Inflammasome**

Soutenue , devant le jury composé de :

Présidente	SELADJI-BEKKARA Meryem	MCA	Univercité de Tlemcen
Encadrante	DJELTI Farah	MCA	Univercité de tlemcen
Examinatrice	BOUBLENZA Nesrine	MCB	Univercité de tlemcen

Année universitaire 2024/2025

Résumé

Cette étude vise à explorer les interactions moléculaires potentielles entre la broméline une enzyme protéolytique extraite de l'ananas, et le domaine PYD de l'inflammasome NLRP3, un acteur clé de l'immunité innée. Une approche de docking moléculaire *in silico* a été utilisée pour analyser les modes de liaison potentiels et identifier les résidus clés impliqués dans l'interface protéique. Les résultats révèlent des modes de liaison distincts avec des affinités prédites dans la gamme nanomolaire, suggérant une interaction stable et spécifique. Bien que préliminaires, ces conclusions ouvrent la voie à de nouvelles stratégies thérapeutiques ciblant NLRP3 dans le contexte des maladies inflammatoires chroniques. Des études *in vitro* et *in vivo*, , sont nécessaires pour valider ces interactions, évaluer l'impact de la broméline sur la production de cytokines inflammatoires et confirmer son efficacité dans des modèles précliniques.

Mots clés : Inflammasome, broméline, NLRP3, Immunomodulation, Docking moléculaire.

Abstract

This study aims to explore the potential molecular interactions between broméline, a proteolytic enzyme extracted from pineapple, and the PYD domain of the NLRP3 inflammasome, a key player in innate immunity. An *in silico* molecular docking approach was used to analyze potential binding modes and identify key residues involved in the protein interface. The results reveal distinct binding modes with predicted affinities in the nanomolar range, suggesting a stable and specific interaction. While these findings are preliminary, they open new avenues for therapeutic applications targeting NLRP3 in the context of chronic inflammatory diseases. Further *in vitro* and *in vivo* studies are necessary to assess the impact of broméline on the production of inflammatory cytokines and confirm its efficacy in preclinical models.

Keywords: Inflammasome, Bromelain, NLRP3, Immunomodulation, Molecular Docking.

هدف هذه الدراسة إلى استكشاف التفاعلات الجزيئية المحتملة بين البروميلين، وهو إنزيم محلل للبروتين مستخلص من الأناناس و ، ومجالPYD في جسيم الالتهابNLRP3، وهو لاعب رئيسي في المناعة الفطرية. تم استخدام نهج إرساء جزيئي في السيليكو لتحليل أنماط الارتباط المحتملة وتحديد البقايا الرئيسية المشاركة في واجهة البروتين. تكشف النتائج عن أنماط ربط متميزة بتقارب متوقع في نطاق النانومتر، مما يشير إلى تفاعل مستقر ومحدد. على الرغم من أن هذه النتائج أولية، إلا أنها تفتح آفاقاً جديدة للتطبيقات العلاجية التي تستهدفNLRP3 في سياق الأمراض الالتهابية المزمنة. تعد الدراسات المختبرية وفي الجسم الحي، ضرورية للتحقق من صحة هذه التفاعلات، وتقييم تأثير البروميلين على إنتاج السيتوكينات الالتهابية وتأكيده في النماذج قبل السريرية.

الكلمات المفتاحية: الالتهاب، البروميلين، NLRP3 ، تعديل المناعة .

Remerciements

Notre reconnaissance envers Allah pour nous avoir donné la force, la patience et la guidance dans la réalisation de notre thèse est un témoignage profond de notre foi et de notre humilité.

Je tiens à exprimer mes remerciements les plus sincères à **Dr.Farah DJELTI**, notre encadrante , pour sa disponibilité, sa rigueur scientifique, ses conseils avisés et son accompagnement tout au long de ce travail. Sa bienveillance, sa pédagogie et son exigence m'ont permis de progresser et de donner le meilleur de moi-même.

Je lui adresse toute ma gratitude pour la confiance qu'il m'a accordée et pour l'intérêt qu'il a porté à mon travail.

Notre reconnaissance envers les membres du jury pour avoir accepté d'évaluer notre travail et pour avoir consacré leur temps à cette tâche. Leur expertise et leurs commentaires seront précieux pour enrichir notre recherche.

Dédicaces

Chafia

Je commence par remercier Allah pour Ses innombrables bénédictions et Son soutien tout au long de ce voyage d'étude. Je suis reconnaissant à Allah pour m'avoir donné la force de survivre et le courage de surmonter toutes les difficultés. Que la paix et les bénédictions soient sur notre Prophète Muhammad, le messager d'Allah, qui nous a enseigné à rechercher le savoir avec sincérité.

Je dédie ce travail :

À la lumière de mes jours, à la source de mes efforts et à la flamme de mon cœur : Ma vie et mon bonheur, Ma Mère que j'adore et qui m'a toujours soutenue et épaulée. La seule personne qui a toujours été là pour moi, dans les moments de doute comme dans les instants de joie. Merci pour ton amour inconditionnel, ta patience et ton appui indéfectible tout au long de ce parcours. Ce travail est autant le tien que le mien.

À l'homme de ma vie,

Mon éternel modèle, celui qui a toujours veillé sur moi dans l'ombre,
Qui s'est sacrifié sans jamais compter, Pour que je réussisse, pour que je sois fière, pour que j'aille loin.

À toi, Papa, ce travail est une modeste offrande,

Le reflet de ta force, de ta générosité et de ton amour inconditionnel.

À mon soutien moral et à ma source de joie et de bonheur : Mon frère jumeau Ismail, mon frère Tayeb et mon petit frère Jaber, je vous aime d'être dans ma vie.

À mes grands-parents,

À mon grand-père et ma grand-mère, partis trop tôt mais présents à jamais dans mon cœur.

Merci pour les valeurs que vous avez transmises, pour l'amour discret mais profond que vous avez semé en moi.

Vos souvenirs m'accompagnent et votre sagesse continue de m'éclairer.

Ce travail est aussi un acte de fidélité envers tout ce que vous avez été pour moi.

Puisse ma réussite être un hommage silencieux à votre mémoire.

À toi, ma tendre grand-mère,

Présente par ta douceur, ta prière, et ton amour silencieux.

Merci pour ton regard bienveillant, tes mots simples mais toujours justes,

Et ta présence apaisante, qui m'a souvent réconfortée sans même parler.

Ton amour m'accompagne comme un talisman discret,

Et ta fierté compte plus que mille réussites.

Je te dédie ce travail avec tout mon amour.

En témoignage de ma profonde reconnaissance et de mon attachement sincère.

Dédicaces

À notre professeur Farah djelti

Un immense merci à vous,

Qui avez été bien plus qu'une enseignante : une guide, une source d'inspiration, une présence rassurante.

Votre soutien constant, votre écoute, votre patience et votre passion ont marqué chacun de nos pas.

Sans votre accompagnement, vos encouragements et votre foi en nous, rien de tout cela n'aurait été possible.

Vous avez cru en nous même lorsque nous doutions,

Vous nous avez portés avec bienveillance, exigence et cœur.

Nous vous devons une part précieuse de cette réussite.

Recevez notre profonde reconnaissance, notre respect le plus sincère,

Et, avec tout notre attachement, ces simples mots qui viennent du cœur :

Nous vous aimons.

À ma chère amie SARRA, qui a été à mes côtés contre vents et marées. Elle n'était pas seulement une amie, mais aussi un véritable soutien et une compagne loyale. Elle était toujours là pour me conseiller et me soutenir moralement, et je n'aurais pas pu accomplir ce que j'ai fait sans elle. Je lui suis à jamais reconnaissant pour ses paroles réconfortantes et sa tendresse, et pour avoir été un élément indispensable de ma vie.

À la personne chère à mon cœur,

Merci pour ta tendresse, ta patience et ta présence réconfortante dans les moments les plus incertains.

Ton soutien discret a été une lumière dans ce parcours.

À Hadjer, Mon amie de fin d'études, ma partenaire de route dans cette belle mais exigeante aventure.

Merci pour ton soutien indéfectible, ta bonne humeur, ta patience et ta présence fidèle à chaque étape.

Ton engagement, ton amitié sincère et ta détermination ont fait toute la différence.

Ce travail est aussi le fruit de notre complicité, de nos efforts partagés et de notre confiance mutuelle.

À toi, Maysaa,

Mon cher ami, dont la présence m'a été précieuse tout au long de ce parcours.

Merci pour ton amitié sincère, ton soutien constant, tes mots d'encouragement et ta bonne humeur qui ont souvent apaisé les moments de doute.

Ton écoute, ta générosité et ta bienveillance ont été pour moi d'un grand réconfort.

Ce travail, je le partage avec gratitude avec toi, car tu y as contribué par ta présence, ton énergie et ton cœur.

« Et leur dernière invocation sera : Louange à Allah, Seigneur de l'univers. »

Dédicaces

Hadjer

À ma mère,

Ton amour, ton soutien inconditionnel et ta force ont toujours été mes repères. Ce travail est à ton image :
le fruit de la persévérance, du courage et de l'amour.

À mon mari,

Merci pour ta patience, ton encouragement quotidien et ta présence rassurante. Ton soutien m'a portée
durant chaque étape de ce parcours.

À ma grand-mère,

Ton affection et tes prières m'accompagnent toujours, même en silence. Tu restes une source
d'inspiration inestimable.

À mon oncle,

Merci pour tes conseils, ta bienveillance et les mots justes au bon moment. Ton aide a été précieuse.

À ma belle-famille,

Merci pour votre soutien discret mais toujours présent. Votre gentillesse et vos encouragements ont
compté plus que vous ne l'imaginez.

LISTES D'ABREVIATIONS

Immunologie :

- **ASC** : Apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD
- **CARD** : Caspase recruitment domain
- **IL-18** : Interleukin-18
- **IL-1 β** : Interleukin-1 beta
- **ITC** : Isothermal titration calorimetry
- **LRR** : Leucine-rich repeat
- **MAPK** : Mitogen-activated protein kinase
- **NF- κ B** : Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
- **NLRP3** : NOD-like receptor family pyrin domain containing 3
- **PYD** : Pyrin domain
- **SPR** : Surface plasmon resonance
- **TNF- α** : Tumor necrosis factor alpha

Bioinformatique :

- **BSA** : Buried Surface Area
- **HADDOCK** : High Ambiguity Driven protein-protein DOCKing
- **MM/GBSA** : Molecular mechanics/generalized Born surface area
- **PDB** : Protein Data Bank
- **RMSD** : Root mean square deviation

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Structure de l'inflammasome NLRP3 montrant ses composants principaux.....	03
Figure 2 : Mécanismes moléculaires d'activation et de régulation de l'inflammasome NLRP3	05
Figure 3 :Structure chimique du sucre de la bromélaïne d'ananas carboh.	08
Figure 4 : Mécanismes moléculaires possibles de l'activité antitumorale de la bromélaïne	10
Figure 5 : Processus de docking protéine-protéine.....	12
Figure 6 : Application du Docking à l'Étude des Interactions Bromélaïne–NLRP.....	13
Figure 7 : Structure de la bromélaïne créée par homology modeling via PHYRE2 et visualisée avec Chimera.....	23
Figure 8 : Modèle structurel 3D de la bromélaïne (<i>PDB ID : 6YCE</i>).....	23
Figure 9 : Modèle structurel 3D de la protéine NLRP3 – domaine PYD (<i>PDB ID : 3QF2</i>).....	24
Figure 10 : Alignement structural du modèle d'homologie de la bromélaïne (rouge) avec la structure cristallographique (6YCE, vert).....	41
Figure 11 : Graphique Ramachandran de la bromélaïne modélisée.....	42
Figure 12 : Score ERRAT de la bromélaïne modélisée.....	46
Figure 13 : Estimation de la qualité locale du modèle 3D par QMEANDisCo.....	47
Figure 14 : Résultat de la comparaison des différents clusters HADDOCK (Bromélaïne–NLRP3).....	55
Figure 15 : Interaction hydrogène et ponts salins (via PDBsum).....	57
Figure 16 : Analyse des interactions acides aminés (NLRP3 – Bromélaïne) par PyMOL.....	58
Figure 17 : Analyse des interactions (NLRP3 – Bromélaïne) par LigPlot+.....	58

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Validation stéréo-chimique et géométrique du modèle structural par MolProbity de la broméline créée par homology modeling.....	43
Tableau 2 : Analyse bioinformatique comparative de la broméline(P14518) et du domaine PYD de NLRP3 (Q96P20, 1-91).....	48
Tableau 3 : Comparatif des acides aminés prédits pour NLRP3 (ID PDB : 3QF2) et la broméline (ID PDB :6YCE).....	50
Tableau 4 : Données clés des clusters générés par HADDOCK lors du docking moléculaire entre la broméline (ID PDB :6YCE) et NLRP3(ID PDB : 3QF2).....	52
Tableau 5 : Interactions par liaisons hydrogène entre la broméline (Chaîne A) et NLRP3 (Chaîne B).....	56
Tableau 6 : Interactions par ponts salins entre la broméline (Chaîne A) et NLRP3 (Chaîne B).....	56
Tableau 7 : Analyse computationnelle détaillée de l'interaction prédite entre la broméline(ID PDB :6YCE) et NLRP3(ID PDB : 3QF2).....	60

TABLE DES MATIERES

Résumé	I
Abstract	II
ملخص.....	III
Remerciements	IV
Dédicaces	V
Liste d'abréviations.....	VII
Liste des figures.....	VIII
Liste des tableaux	X
Introduction.....	1

Chapitre I : Revue de la littérature

1.1. Les Récepteurs NLRP3 : Mécanismes d'Activation et Rôle dans l'Immunité Innée	3
1.1.1. L'inflammasome NLRP3 : Un régulateur clé de la réponse inflammatoire innée.....	3
1.1.1.1. Structure et Fonction du NLRP3	3
1.1.1.2. Rôle dans l'Immunité Innée	4
1.1.2. Activation de NLRP3 : Mécanismes moléculaires et implications pathologiques.....	4
1.1.2.1. Activation primaire : Sensibilisation à la stimulation	5
1.1.2.2. Activation secondaire : Assemblage de l'inflammasome	5
1.1.2.3. Implications pathologiques.....	6
1.1.2.4. Perspectives thérapeutiques.....	6
1.2. Broméline : Propriétés Biochimiques et Effets Immunomodulateurs	7
1.2.1. Broméline d'Ananas : Structure, Composition et Propriétés Pharmacologiques.....	7
1.2.1.1. Structure et Composition	7
1.2.1.2. Propriétés Pharmacologiques.....	8
1.2.2. Broméline comme Agent Immunomodulateur	9
1.2.2.1. Mécanismes d'Action du Broméline	9
1.2.2.2. Applications Cliniques et Perspectives.....	11
1.2.2.3. Résultats Cliniques Récents	11
1.3. Modélisation In Silico des Interactions Protéine-Protéine : Méthodes et Applications	11
1.3.1. Principes du Docking Protéine-Protéine : Approches de Modélisation Moléculaire pour Étudier les Interactions Broméline-NLRP3	11
1.3.1.1. Principes du Docking Protéine- Protéine.....	11
1.3.1.2. Application du Docking à l'Étude des Interactions Broméline-NLRP3	13
1.3.2. Applications du Docking In Silico dans l'Étude des Interactions immunitaires	14

TABLE DES MATIERES

1.3.2.1. Interactions entre les Protéines de l'Inflammasome et les Modulateurs immunitaires.....	14
1.3.2.2. Développement de Modulateurs Immunitaires ciblés	14
1.3.2.3. Optimisation des Vaccins et de la Thérapie Cellulaire	15
1.4. Implications pour l'Immunothérapie et la Vaccinologie : Vers de Nouvelles Stratégies Immunomodulatrices	15
1.4.1. Contributions Théoriques et Pratiques de l'Étude In Silico des Interactions Broméline-NLRP3	15
1.4.1.1. Modélisation des Interactions Moléculaires pour Mieux Cibler les Maladies Inflammatoires.....	15
1.4.1.2. Développement de Stratégies Immunomodulatrices Ciblées	16
1.4.1.3. Optimisation de l'Utilisation du Broméline en Immunothérapie	16
1.4.2. Perspectives Cliniques : Broméline Comme Adjuvant dans les Thérapies et la Conception de Vaccins	16
1.4.2.1. Broméline comme Adjuvant Immunitaire dans des Thérapies Innovantes	16
1.4.2.2. Broméline dans la Conception de Nouveaux Vaccins	17
1.4.3. Sécurité et Efficacité Clinique de Broméline	18
1.5. Lacunes et Défis dans la Recherche Future	18
1.5.1. Identification des Zones Sous-Explorées.....	18
1.5.1.1. Mécanismes de Régulation Post-Traductionnelle de NLRP3.....	18
1.5.1.2. Interaction avec les Isoformes de NLRP3	18
1.5.1.3. Effet de l'Interaction Broméline-NLRP3 dans des Modèles In Vivo.....	19
1.5.1.4. Interactions Multiples au Sein du Microenvironnement Cellulaire.....	19
1.5.1.5. Régulation de la Pyroptose par Broméline	19
1.5.2. Perspectives pour les Études In Silico et Expérimentales à Venir.....	19
1.5.2.1. Amélioration des Modèles In Silico et des Méthodes de Docking.....	19
1.5.2.2. Utilisation de Modèles Prédicatifs Basés sur l'IA et le Machine Learning.....	20
1.5.2.3. Nouveaux Modèles In Vivo et Approches Cliniques.....	20
1.5.2.4. Stratégies de Personnalisation des Traitements	20
1.5.2.5. Évaluation Clinique et Développement de Médicaments.....	20
Chapitre IV : Discussion	62
Chapitre V : Conclusion et perspectives.....	65
Chapitre VI : Bibliographies	67

Introduction

Le système immunitaire inné constitue la première ligne de défense de l'organisme contre les agents pathogènes, orchestrant des réponses inflammatoires cruciales pour l'élimination des menaces et le maintien de l'homéostasie immunitaire (Fischer & Deindl, 2022). Parmi les acteurs clés de ce système, l'inflammasome NLRP3 émerge comme une entité centrale dans la détection des dangers, qu'ils soient d'origine infectieuse ou environnementale. Ce complexe multiprotéique, localisé dans le cytosol, est activé en réponse à des motifs moléculaires associés aux pathogènes (PAMPs) ou aux lésions cellulaires (DAMPs), entraînant la maturation des cytokines pro-inflammatoires IL-1 β et IL-18, qui amplifient la réponse immune (Wang & Hauenstein, 2020 ; Meyers & Zhu, 2020). Toutefois, une activation incontrôlée ou mal régulée de NLRP3 peut aboutir à des pathologies inflammatoires chroniques et des troubles auto-immunes, soulignant ainsi la nécessité impérieuse d'une compréhension approfondie de ses mécanismes de régulation (Seok et al., 2021).

Dans ce contexte, la broméline, une protéase de cystéine extraite des tiges de *Ananas comosus* (ananas), s'impose comme une molécule d'intérêt en raison de ses propriétés immunomodulatrices et anti-inflammatoires notables (Nelson et al., 2022). Bien que ses effets sur la production de cytokines et l'activation des cellules immunitaires soient bien documentés, son rôle spécifique dans la modulation des inflammasomes, et en particulier son interaction avec NLRP3, demeure encore largement inexplicé. L'étude des interactions moléculaires entre la broméline et NLRP3 pourrait révéler de nouvelles voies de régulation de l'inflammation et offrir de nouvelles perspectives thérapeutiques dans la gestion de maladies inflammatoires et auto-immune (Swanson et al., 2019).

Ainsi, l'objectif principal de cette étude est de caractériser, de manière systématique et détaillée, les interactions entre la broméline et l'inflammasome NLRP3, en utilisant une approche **in silico** de **docking protéine-protéine**. Cette méthodologie avancée permettra de simuler, avec une grande précision, l'affinité de liaison entre la broméline et le domaine PYD de NLRP3, une région cruciale dans l'oligomérisation du complexe inflammasome. À travers des simulations de docking, nous viserons à identifier les sites d'interaction spécifiques, évaluer la stabilité des complexes formés et explorer les effets de cette interaction sur la régulation de l'activation de NLRP3.

L'enjeu de cette recherche dépasse la simple caractérisation de l'interaction broméline-NLRP3 ; il s'agit de proposer un modèle moléculaire permettant de mieux comprendre les mécanismes par lesquels la broméline pourrait moduler l'activation de NLRP3, avec pour objectif final de la positionner comme un modulateur naturel des réponses inflammatoires. Cette étude pourrait, en effet, ouvrir la voie à l'élaboration de stratégies thérapeutiques plus sûres et plus efficaces dans le traitement des maladies inflammatoires et auto-immunes, tout en offrant une alternative potentiellement plus respectueuse de l'équilibre immunitaire que les traitements conventionnels actuels.

Chapitre I : Revue de la littérature

1.1. Les Récepteurs NLRP3 : Mécanismes d'Activation et Rôle dans l'Immunité Innée

1.1.1. L'inflammasome NLRP3 : Un régulateur clé de la réponse inflammatoire innée

L'inflammasome NLRP3 est un complexe protéique cytoplasmique qui joue un rôle crucial dans la détection des dangers et l'activation de la réponse immunitaire innée (Xu & Núñez, 2023). En tant qu'élément central de l'inflammation, il régule la production de cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-1 β et l'IL-18 (Ge et al., 2021 ; Sharma & Kanneganti, 2021). Ces cytokines sont essentielles pour initier et maintenir une réponse inflammatoire efficace, mais leur production excessive peut également entraîner des pathologies inflammatoires chroniques (McKee & Coll, 2020).

1.1.1.1. Structure et Fonction du NLRP3

L'inflammasome NLRP3 est principalement constitué de trois composants : un récepteur NLRP3 (NOD-like receptor family pyrin domain containing 3), une ASC (apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD), et un pro-caspase-1 (Fu & Wu, 2023). Le NLRP3 possède un domaine pyrine (PYD) qui permet son interaction avec l'ASC, un domaine CARD (caspase activation and recruitment domain) qui interagit avec la caspase-1 pour son activation (Fu & Wu, 2023). La formation de ce complexe entraîne l'activation de la caspase-1, qui est essentielle pour la maturation et la sécrétion des cytokines inflammatoires (Figure 1) (Fu & Wu, 2023).

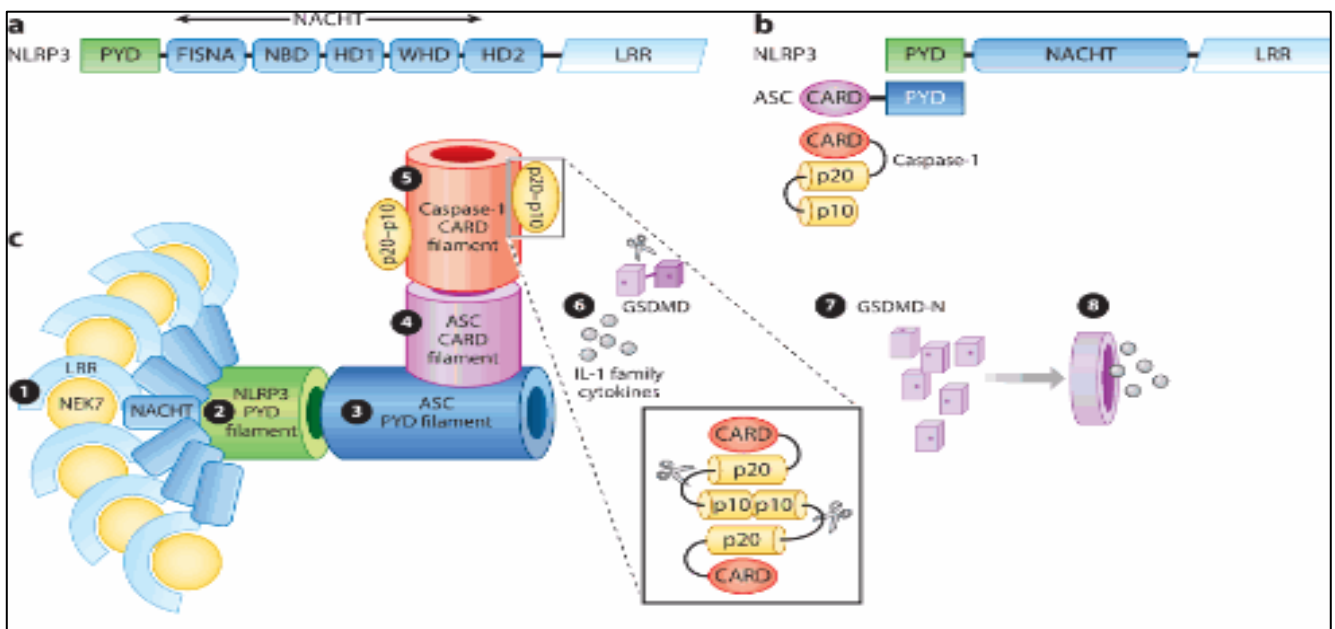


Figure 1: Structure de l'inflammasome NLRP3 montrant ses composants principaux (Fu & Wu, 2023).

1.1.1.2. Rôle dans l'Immunité Innée

L'inflammasome NLRP3 joue un rôle clé dans la détection des signaux de danger. Il est capable de répondre à une large gamme de stimuli, y compris des infections, des lésions tissulaires, et des signaux d'autodanger (Wang & Hauenstein, 2020). Ces stimuli sont perçus par le NLRP3, qui s'active et entraîne une cascade de signalisation menant à l'activation de la caspase-1, puis à la maturation des cytokines pro-inflammatoires (Kelley et al., 2019 ; Akbal et al., 2022). Cette activation est vitale pour la défense de l'hôte contre les agents pathogènes et pour la réparation tissulaire après une blessure (Liu et al., 2023).

Les monocytes, macrophages, et cellules dendritiques sont les principaux types cellulaires impliqués dans l'activation de NLRP3 (Honda et al., 2023). En réponse à des infections, NLRP3 détecte des motifs moléculaires associés aux pathogènes (PAMPs) et des motifs associés à des lésions cellulaires (DAMPs) (Kelley et al., 2019). Par exemple, les acides nucléiques libérés lors de la rupture cellulaire ou les produits de la dégradation de la paroi bactérienne peuvent activer le NLRP3 et déclencher l'inflammation (Honda et al., 2023).

Les récentes découvertes ont également montré que NLRP3 joue un rôle plus large dans le contrôle de la fonction de l'autophagie, un processus essentiel pour éliminer les agents pathogènes et maintenir l'homéostasie cellulaire (Cao et al., 2019). Ce rôle étendu du NLRP3 dans la régulation de la mort cellulaire et de la survie souligne l'importance de ce récepteur dans la modulation de la réponse immunitaire innée (Huang et al., 2021 ; Accogli et al., 2023).

1.1.2. Activation de NLRP3 : Mécanismes moléculaires et implications pathologiques

L'activation du NLRP3 est finement régulée et implique plusieurs étapes moléculaires. Elle peut être divisée en deux phases principales : l'activation primaire et l'activation secondaire (Figure 2) (McKee & Coll, 2020 ; Swanson et al., 2019).

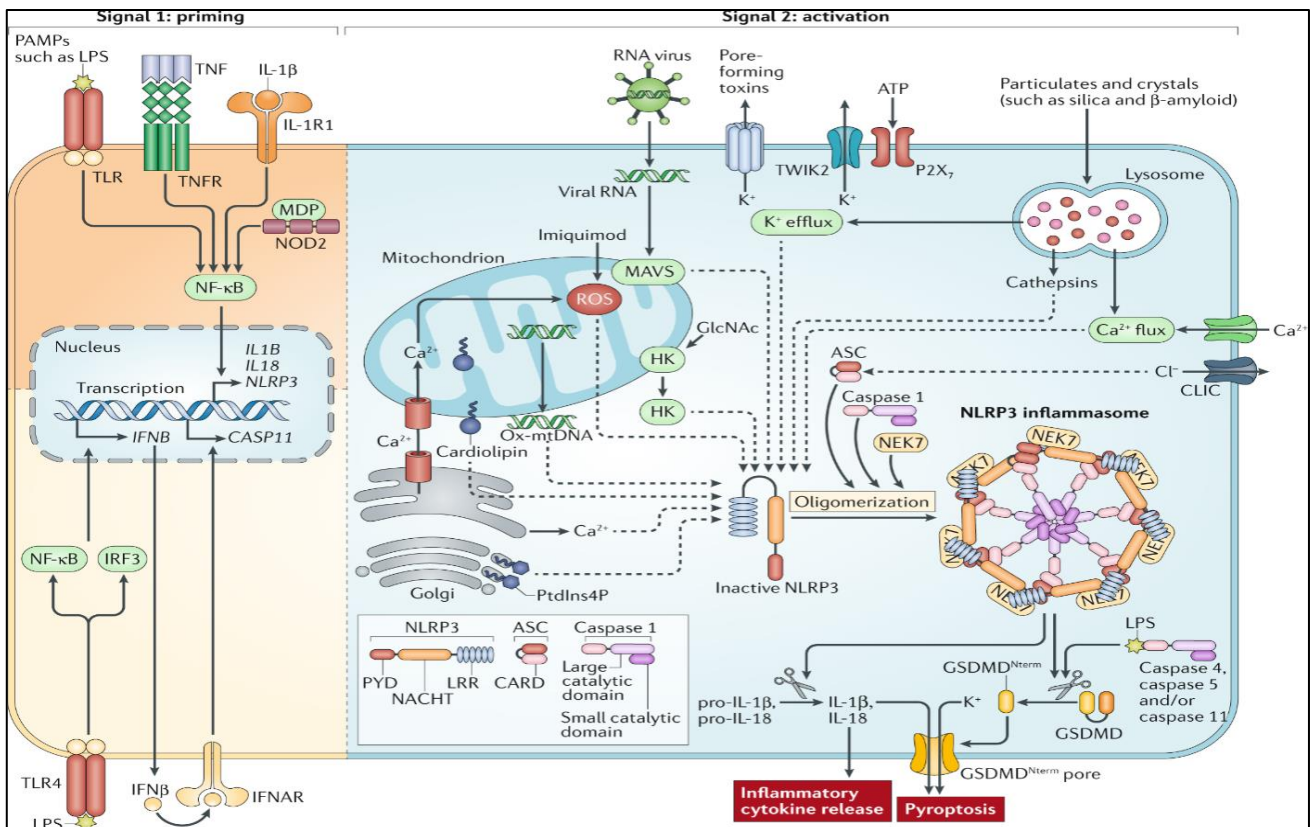


Figure 2: Mécanismes moléculaires d'activation et de régulation de l'inflammasome NLRP3 (Swanson et al., 2019).

1.1.2.1. Activation primaire : Sensibilisation à la stimulation

La phase d'activation primaire survient lorsque des signaux inflammatoires initiaux (comme l'infection ou les lésions cellulaires) entraînent la production de protéines telles que la pro-IL-1β et la pro-IL-18 (McKee & Coll, 2020). Le récepteur NLRP3 est à ce moment-là inactif et nécessite un signal de priming pour devenir fonctionnel. Ce priming se fait principalement par la voie de signalisation NF-κB, qui induit la transcription des gènes codant pour les cytokines inflammatoires (Duez & Pourcet, 2021).

1.1.2.2. Activation secondaire : Assemblage de l'inflammasome

L'activation secondaire survient après que le NLRP3 ait été activé par des stimuli tels que les cristaux d'urates (dans la goutte), les particules de silice, les agents infectieux, ou encore les perturbations du métabolisme cellulaire (Swanson et al., 2019). Ces signaux induisent des changements conformationnels dans le NLRP3, permettant son interaction avec l'ASC et la caspase-1 (Huang et al., 2021). Une fois l'inflammasome formé, la caspase-1 est activée, ce qui aboutit à la maturation des cytokines IL-1β et IL-18, ainsi qu'à la pyroptose, un type particulier de mort cellulaire inflammatoire (Xu & Núñez, 2023).

Les modulations post-traductionnelles de NLRP3, telles que la phosphorylation, l'ubiquitination, et la déubiquitination, sont cruciales pour la régulation de son activité(Qin & Zhao, 2023). Par exemple, des protéines kinases comme JNK et p38 MAPK peuvent influencer l'activation de NLRP3 en réponse à des signaux de stress(Jenster et al., 2022).

1.1.2.3. Implications pathologiques

L'activation excessive ou inappropriée de l'inflammasome NLRP3 est associée à plusieurs pathologies inflammatoires chroniques et auto-immunes(Fusco et al., 2020). Des études récentes ont montré que des mutations génétiques du NLRP3, telles que celles observées dans la fièvre méditerranéenne familiale (FMF), entraînent une activation constitutive de l'inflammasome, ce qui conduit à une inflammation chronique(Broly et al., 2024 ; Moltrasio et al., 2022). De même, l'activation excessive de NLRP3 est impliquée dans des maladies comme l'arthrite rhumatoïde, l'athérosclérose, la sclérose en plaques, et des troubles neurodégénératifs comme l'Alzheimer (Fusco et al., 2020).

En outre, les perturbations du métabolisme cellulaire, telles que l'obésité et le diabète de type 2, sont également liées à une activation anormale de NLRP3(Sharma & Kanneganti, 2021). Des études récentes ont suggéré que des lipides en excès, tels que les acides gras saturés, peuvent interférer avec la régulation de NLRP3, entraînant une activation chronique de l'inflammasome et une inflammation systémique (Anand, 2020).

Dans des contextes pathologiques, l'inflammation persistante médiée par NLRP3 peut entraîner des dommages tissulaires et contribuer à la progression de maladies inflammatoires chroniques (Fusco et al., 2020). Par exemple, dans l'athérosclérose, l'activation de NLRP3 dans les cellules endothéliales et les macrophages conduit à la production de cytokines inflammatoires qui favorisent la formation de plaques athéromateuses (Lu et al., 2022 ; Yalcinkaya et al., 2024).

1.1.2.4. Perspectives thérapeutiques

Le ciblage de l'inflammasome NLRP3 constitue un domaine prometteur pour le développement de thérapies anti-inflammatoires. Des inhibiteurs de NLRP3 et de ses composants, tels que les inhibiteurs de la caspase-1 ou des molécules modifiant la structure de l'inflammasome, sont en développement pour traiter diverses maladies inflammatoires(Zhang et al., 2020). Des molécules comme le MCC950, un inhibiteur sélectif de NLRP3, ont montré un potentiel dans la réduction des symptômes de maladies inflammatoires, en bloquant l'activation excessive de l'inflammasome(Zheng et al., 2024 ; Li et al., 2022).

En résumé, l'inflammasome NLRP3 joue un rôle clé dans la régulation de la réponse immunitaire innée et l'inflammation, et son activation est fortement impliquée dans de nombreuses pathologies inflammatoires.

La compréhension des mécanismes moléculaires d'activation et des implications cliniques ouvre la voie à de nouvelles approches thérapeutiques visant à moduler cette voie de signalisation pour traiter des maladies inflammatoires chroniques et auto-immunes(Ren et al., 2024) .

1.2.Broméline : Propriétés Biochimiques et Effets Immunomodulateurs

1.2.1.Broméline d'Ananas : Structure, Composition et Propriétés Pharmacologiques

La Broméline est un mélange complexe d'enzymes protéolytiques extraites de la tige et du fruit de l'ananas (*Ananas comosus*), et il a été largement étudié pour ses propriétés biochimiques et pharmacologiques. En tant qu'enzyme multi-enzymatique, la Broméline contient une variété de protéases, principalement des sérine protéases, ainsi que des phosphatases, des peroxydases, des ribonucléases et des glucosidases

1.2.1.1.Structure et Composition

La Broméline est une protéase de type sérine, appartenant à la classe des enzymes de la famille des subtilisines, qui catalyse la dégradation des protéines. Sa structure est constituée de sous-unités protéiques qui, ensemble, forment un complexe capable de cliver des peptides et des protéines, rendant la Broméline très efficace pour l'hydrolyse des protéines(Alam et al., 2024; Kansakar et al., 2024 ; A. Sharma et al., 2024; G. Sharma & Vimal, 2023;Tacias-Pascacio et al., 2023).

Les deux sources principales de la Broméline, à savoir la tige et le fruit de l'ananas, contiennent des variantes d'enzymes protéolytiques, mais elles diffèrent légèrement dans leur composition et leur activité(Okayama et al., 2023). Les enzymes présentes dans la tige sont plus concentrées, et leurs effets sont souvent plus prononcés sur les protéines cellulaires. En revanche, les enzymes extraites du fruit sont plus couramment utilisées dans les préparations commerciales en raison de leur disponibilité(Colletti et al., 2021).

La Broméline est également riche en minéraux, notamment le calcium, le magnésium, le potassium et le zinc, et contient également des vitamines comme la vitamine C, qui peuvent moduler diverses fonctions biologiques(Hikisz&Bernasinska-Slomczewska, 2021).

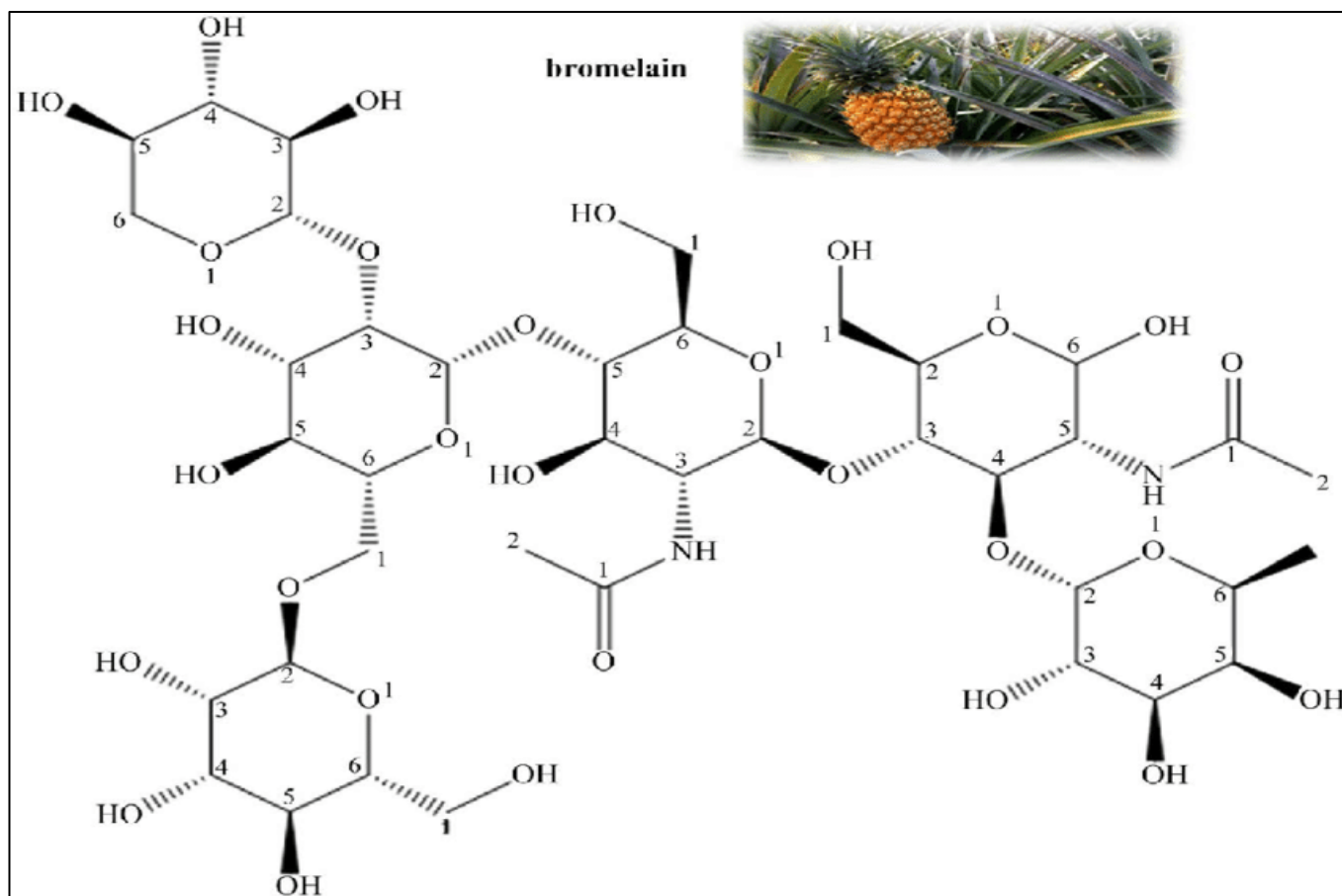


Figure 3 : structure chimique du sucre de la broméline d'ananas (Hikal et al., 2021).

1.2.1.2. Propriétés Pharmacologiques

La Broméline a fait l'objet de nombreuses études en raison de ses propriétés anti-inflammatoires, analgésiques, antioxydantes, et immunomodulatrices (Bottega et al., 2021 ; Nelson et al., 2022; Rajan et al., 2022). Des recherches récentes ont montré que la Broméline exerce une activité anti-inflammatoire en inhibant la production de prostaglandines et d'autres médiateurs inflammatoires. Cette activité est principalement médiée par sa capacité à moduler la voie de signalisation NF- κ B, impliquée dans la régulation de la réponse inflammatoire (Insuan et al., 2021).

En outre, des études ont suggéré que la Broméline pourrait jouer un rôle crucial dans la réduction de l'œdème et dans l'amélioration de la circulation sanguine, ce qui en fait un traitement prometteur pour les blessures et les affections inflammatoires aiguës et chroniques (Agrawal et al., 2022; Consorti et al., 2024 ; Varilla et al., 2021).

1.2.2. Broméline comme Agent Immunomodulateur : Mécanismes d'Action et Modulation de l'Inflammation

La Broméline est reconnue non seulement pour ses effets anti-inflammatoires, mais aussi pour ses propriétés immunomodulatrices. Elle modifie la réponse immunitaire en agissant sur plusieurs types cellulaires du système immunitaire, notamment les macrophages, les monocytes, et les lymphocytes. Ces propriétés lui permettent de réguler la production de cytokines pro-inflammatoires et de moduler la réponse inflammatoire en fonction des besoins (Badriyya et al., 2020).

1.2.2.1. Mécanismes d'Action du Broméline

a. Inhibition des Cytokines Pro-inflammatoires

Des études récentes ont mis en évidence que la Broméline peut inhiber la production de cytokines inflammatoires clés telles que TNF- α , IL-1 β , et IL-6. Ces cytokines sont souvent surproduites dans des conditions inflammatoires chroniques et auto-immunes (Alves Nobre et al., 2024). La Broméline semble interférer avec les récepteurs et voies de signalisation associés à la production de ces cytokines, en particulier via la voie NF- κ B. En inhibant cette voie, Broméline empêche l'activation des cellules immunitaires et la production de cytokines inflammatoires qui aggravent l'inflammation (Badriyya et al., 2020 ; Insuan et al., 2021).

b. Modulation des Macrophages et des Monocytes

La Broméline agit sur les macrophages, des cellules clés de la réponse inflammatoire. Une étude récente a révélé que la Broméline induit une polarisation des macrophages vers un phénotype anti-inflammatoire (M2), plutôt que pro-inflammatoire (M1). Cela favorise une résolution plus rapide de l'inflammation et la réparation des tissus (Pérez & Rius-Pérez, 2022; Rodríguez-Morales & Franklin, 2023). De plus, la Broméline est capable de moduler les monocytes, en réduisant leur activation et en inhibant leur migration vers les sites d'inflammation (Alves Nobre et al., 2024).

c. Effets sur les Lymphocytes T et B

La Broméline a également été montrée pour influencer les lymphocytes T et lymphocytes B. Elle peut favoriser une meilleure activation des lymphocytes T régulateurs (Tregs), qui sont essentiels pour maintenir l'homéostasie immunitaire et empêcher une inflammation excessive. Par ailleurs, la Broméline semble moduler la production d'anticorps par les lymphocytes B, favorisant ainsi une réponse immunitaire équilibrée (Badriyya et al., 2020 ; Rodríguez-Morales & Franklin, 2023; Umar et al., 2023).

d. Effet sur l'Inflammasome NLRP3

Des recherches récentes ont révélé que la Broméline peut interagir avec l'inflammasome NLRP3, une composante clé de la réponse immunitaire innée. L'inhibition de NLRP3 par le Broméline pourrait être l'un des mécanismes par lesquels il réduit l'inflammation et aide à prévenir des maladies inflammatoires chroniques, comme l'arthrite ou les maladies cardiovasculaires.

e. Modulation de l'Autophagie

La Broméline peut également influencer l'autophagie, un mécanisme cellulaire essentiel pour la dégradation et le recyclage des composants cellulaires, ainsi que pour la réponse aux agents pathogènes (Figure 4). En modulant l'autophagie, la Broméline contribue à la régulation des processus inflammatoires et à la prévention de l'accumulation de composés intracellulaires susceptibles d'induire une réponse inflammatoire (Chen et al., 2022; Hu et al., 2022; Su et al., 2020).

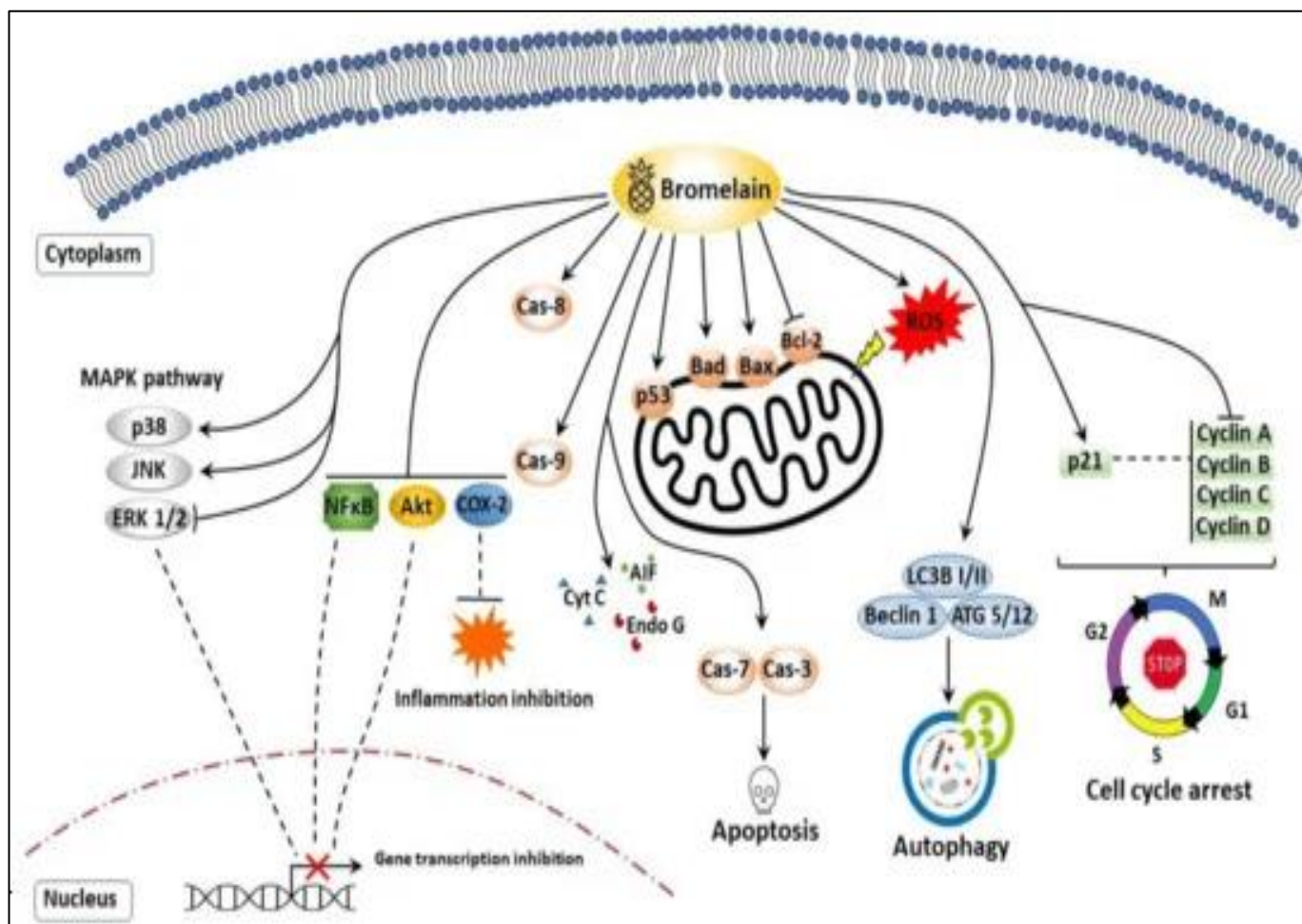


Figure 4: Les mécanismes moléculaires possibles de l'activité immunomodulatrice de la broméline (Hikisz & Bernasinska-Slomczewska, 2021).

1.2.2.2. Applications Cliniques et Perspectives

Les effets immunomodulateurs du Broméline ouvrent la voie à des applications thérapeutiques dans diverses conditions inflammatoires et auto-immunes. Par exemple, il a été étudié pour son potentiel dans le traitement de maladies comme l'arthrite rhumatoïde, où son action anti-inflammatoire pourrait aider à réduire la douleur et à améliorer la fonction articulaire. De plus, la Broméline montre un potentiel prometteur en tant qu'adjuvant thérapeutique dans les maladies cardiovasculaires, où il pourrait aider à réduire l'inflammation des parois des vaisseaux sanguins (Agrawal et al., 2022; Bottega et al., 2021; Pezzani et al., 2023 ; Rajan et al., 2022).

Les effets du Broméline sur les cytokines et l'inflammasome NLRP3 pourraient également en faire un candidat intéressant dans le traitement de maladies neurodégénératives comme la maladie d'Alzheimer, où l'inflammation joue un rôle clé dans la progression de la maladie.

1.2.2.3. Résultats Cliniques Récents

Des études cliniques récentes ont montré que l'administration de la Broméline chez des patients atteints de maladies inflammatoires chroniques a conduit à une réduction significative des marqueurs inflammatoires, comme le C-réactive protéine (CRP), ainsi qu'à une amélioration des symptômes cliniques. Une étude publiée en 2023 a démontré que l'utilisation de Broméline dans des modèles de colite inflammatoire chez des animaux de laboratoire a réduit l'inflammation colique et amélioré la fonction intestinale (Madkhali et al., 2023; Pereira et al., 2023; Varilla et al., 2021).

1.3. Modélisation In Silico des Interactions Protéine-Protéine : Méthodes et Applications

1.3.1. Principes du Docking Protéine-Protéine : Approches de Modélisation Moléculaire pour Étudier les Interactions Broméline-NLRP3

La modélisation in silico des interactions protéine-protéine repose sur des approches computationnelles qui permettent de prédire la manière dont deux protéines interagissent à un niveau moléculaire. L'une des méthodes les plus courantes pour étudier ces interactions est le docking moléculaire, qui consiste à prédire la structure d'un complexe protéine-protéine à partir des structures individuelles des protéines (Mathur et al., 2024).

1.3.1.1. Principes du Docking Protéine-Protéine

Le docking protéine-protéine est une technique de modélisation moléculaire utilisée pour prédire l'affinité et la structure d'un complexe formé par deux protéines. Cette méthode repose sur plusieurs étapes clés :

- Préparation des structures des protéines : Avant de commencer le docking, il est essentiel de disposer des structures tridimensionnelles des protéines concernées. Ces structures peuvent provenir de bases de données publiques, telles que Protein Data Bank (PDB), ou être générées par

des outils de modélisation de protéines (par exemple, homologymodeling)(Banciul, 2024; Muhammed & Aki-Yalcin, 2023; Piehl & Burley, 2024).

- Recherche de la conformation optimale : Le docking consiste à tester diverses conformations possibles des deux protéines pour déterminer celle qui maximise l'interaction entre elles. Les algorithmes de docking utilisent souvent des approches rigides ou flexibles pour explorer l'espace de conformation. Dans un docking rigide, les structures des protéines sont fixes, tandis que dans un docking flexible, les protéines peuvent également subir des ajustements de conformation(Kuder, 2024; Zacharias, 2022).
- Évaluation des interactions : Une fois les différentes configurations testées, les résultats sont évalués selon des critères tels que l'affinité de liaison, la surface de contact et l'énergie de liaison. Les potentiels énergétiques (par exemple, le score de docking) permettent d'évaluer la stabilité du complexe formé(Rossini & Dimitrov, 2021; Yildiz, 2024; Zhu et al., 2023).
- Validation et raffinement : Après la génération d'un modèle initial, des méthodes de raffinement moléculaire peuvent être utilisées pour améliorer la précision de l'interaction prédite(Siebenmorgen et al., 2024). Cela inclut l'optimisation de la géométrie du complexe et la prise en compte des effets solvation et électrostatiques(Chow et al., 2023; Godwini et al., 2023; Yoshida et al., 2021).

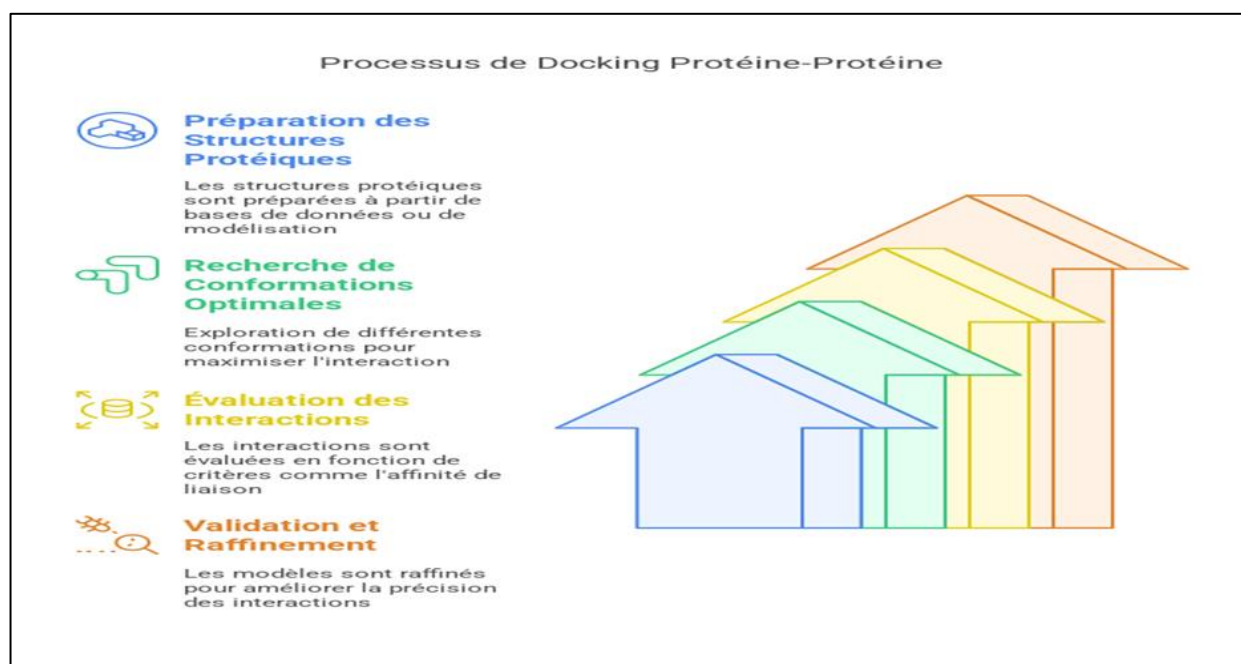


Figure 5: Processus de docking protéine-protéine.

1.3.1.2. Application du Docking à l'Étude des Interactions Broméline-NLRP3

Le docking protéine-protéine a été utilisé pour analyser les interactions entre Broméline et NLRP3, afin de prédire comment la Broméline, en tant qu'agent immunomodulateur, pourrait interagir avec l'inflammasome NLRP3.

Des études récentes ont employé des outils de docking moléculaire comme HADDOCK ou ZDOCK pour prédire les sites de liaison de la Broméline sur le récepteur NLRP3. Ces études ont montré que la Broméline pourrait interagir avec des résidus spécifiques de l'hématopoïétique LRR (Leucine-rich repeats) et le domaine pyrine de NLRP3, inhibant ainsi son activation.

Les résultats du docking ont également suggéré que l'interaction entre la Broméline et NLRP3 pourrait moduler la formation du complexe inflammasome, ce qui pourrait expliquer les effets anti-inflammatoires et immunomodulateurs observés expérimentalement. Le docking a permis de prédire les résidus clés dans le site de liaison, offrant des informations pour le développement de molécules inhibitrices ou des thérapies visant à moduler l'activation de l'inflammasome NLRP3 (Dos Santos Nascimento et al., 2022; Tallei et al., 2024).

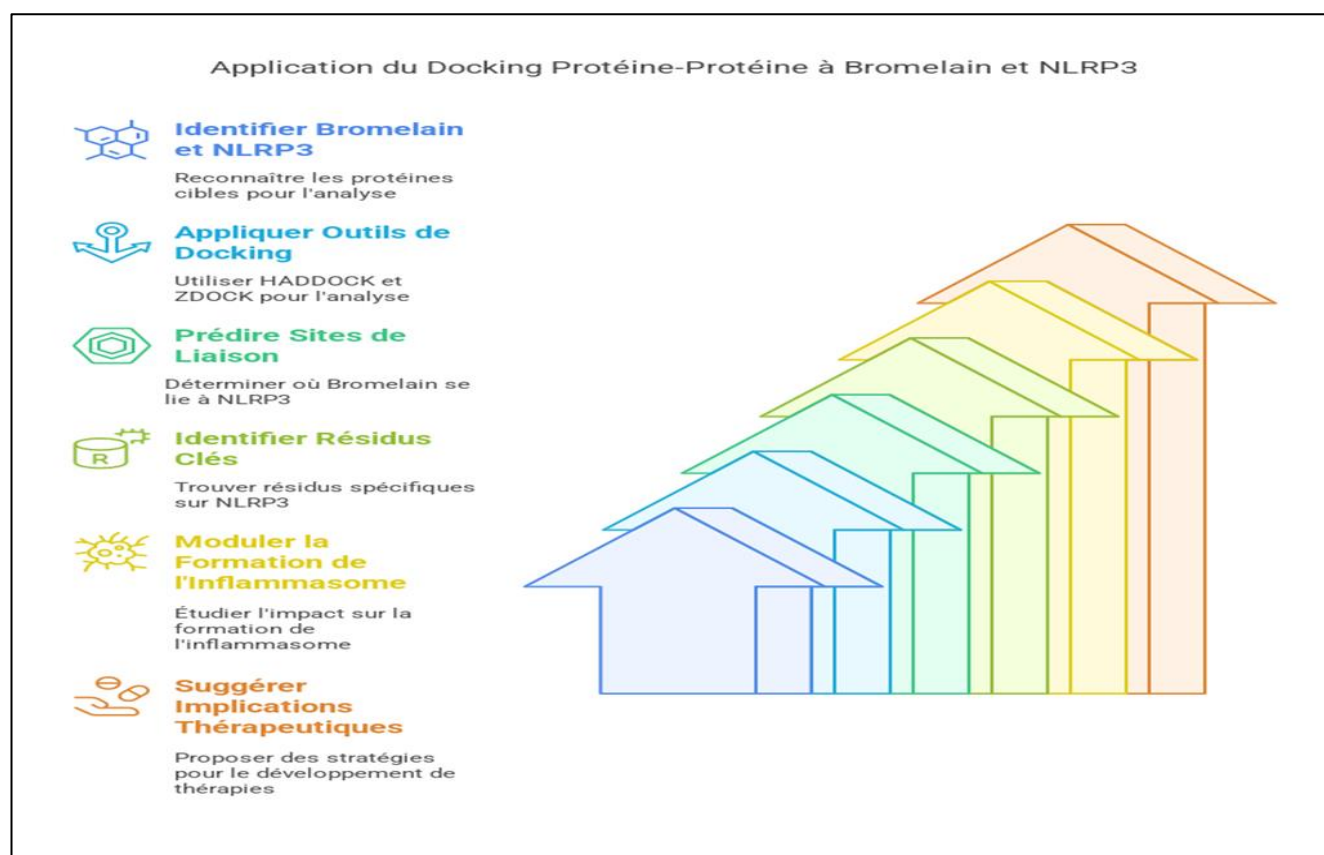


Figure 6: Application du Docking à l'Étude des Interactions Broméline-NLRP3

1.3.2.Applications du Docking In Silico dans l'Étude des Interactions Immunitaires

La modélisation in silico, et en particulier le docking protéine-protéine, est devenue un outil fondamental pour étudier les interactions entre les protéines impliquées dans la réponse immunitaire. Elle permet de comprendre les mécanismes moléculaires sous-jacents aux interactions biologiques et peut guider le développement de nouvelles thérapies immunomodulatrices. Voici plusieurs applications récentes du docking in silico dans l'étude des interactions immunitaires (School of Pharmaceutical Sciences, Shri Guru Ram Rai University. et al., 2024; Van Noort et al., 2021).

1.3.2.1.Interactions entre les Protéines de l'Inflammasome et les Modulateurs Immunitaires

Les inflammasomes, dont le NLRP3 est un exemple clé, sont des complexes multiprotéiques impliqués dans la détection des signaux de danger et dans la régulation de la réponse inflammatoire. Le docking in silico permet de simuler les interactions entre les différentes protéines de l'inflammasome, comme ASC, caspase-1, et les récepteurs NLR. Par exemple, des études ont exploré comment des petites molécules ou des peptides inhibiteurs peuvent se lier à ces complexes pour inhiber l'activation excessive de l'inflammasome, contribuant ainsi à la prévention des maladies inflammatoires(Dadkhah&Sharifi, 2025; Ilyas et al., 2024; Zhang et al., 2025;Zulfat et al., 2024).

L'utilisation du docking pour analyser l'interaction entre Broméline et des protéines de l'inflammasome NLRP3 offre une vue d'ensemble sur la manière dont cette protéine pourrait interférer avec l'assemblage de l'inflammasome et inhiber la production de cytokines pro-inflammatoires. Ces études ouvrent la voie à de nouvelles stratégies thérapeutiques pour les maladies inflammatoires, telles que l'arthrite rhumatoïde, les maladies cardiovasculaires et les maladies neurodégénératives(Agarwal et al., 2024;BabajideRowaiye et al., 2024; El-Sayed et al., 2024; Zhang et al., 2025;Zulfat et al., 2024)

1.3.2.2.Développement de Modulateurs Immunitaires Ciblés

La modélisation in silico a également permis de développer des modulateurs immunitaires spécifiques en simulant les interactions entre des protéines de la réponse immunitaire et des molécules biologiques, telles que des anticorps monoclonaux ou des inhibiteurs protéiques. Par exemple, des outils de docking ont été utilisés pour identifier des petites molécules capables de se lier spécifiquement à des récepteurs TLR (Toll-like receptors) ou NLR afin de moduler la réponse immune sans provoquer une activation excessive des voies inflammatoires(Merk et al., 2022; Pérez-Regidor et al., 2022; Wang et al., 2020).

L'une des applications notables du docking in silico a été l'identification de molécules capables de se lier aux sites de liaison du récepteur NLRP3, empêchant ainsi l'activation prématurée de l'inflammasome dans des conditions pathologiques. Ces découvertes ont conduit à l'émergence de molécules candidates

pour des traitements thérapeutiques dans des maladies telles que la goutte, l'athérosclérose, et la sclérose en plaques(Ajala et al., 2023; Harrison et al., 2022; Hayat et al., 2024).

1.3.2.3.Optimisation des Vaccins et de la Thérapie Cellulaire

Le docking in silico peut également être utilisé dans la conception de nouveaux vaccins en simulant les interactions entre les antigènes et les récepteurs du système immunitaire(Alibakhshi et al., 2024; Amaya-Ramirez et al., 2023; Khalid et al., 2022). Des modèles de docking ont été utilisés pour optimiser l'efficacité des adjuvants vaccinaux, en prédisant comment des adjuvants comme le Broméline pourraient se lier à des récepteurs clés sur les cellules dendritiques pour améliorer la présentation de l'antigène et induire une réponse immune plus robuste(Coelho et al., 2023; Lavelle &McEntee, 2024 ; Lee & Suresh, 2022)

1.4.Implications pour l'Immunothérapie et la Vaccinologie : Vers de Nouvelles Stratégies Immunomodulatrices

1.4.1.Contributions Théoriques et Pratiques de l'Étude In Silico des Interactions Broméline-NLRP3

L'étude in silico des interactions entre laBroméline et NLRP3 offre de nombreuses perspectives théoriques et pratiques pour le développement de stratégies immunomodulatrices. Ces études computationnelles permettent non seulement de mieux comprendre les mécanismes moléculaires sous-jacents à la régulation de l'inflammasome NLRP3, mais aussi de fournir des pistes pour concevoir des thérapies plus ciblées, en particulier dans le domaine de l'immunothérapie(Mekni et al., 2019).

1.4.1.1.Modélisation des Interactions Moléculaires pour Mieux Cibler les Maladies Inflammatoires

Les recherches in silico, notamment celles utilisant le docking protéine-protéine, ont permis d'identifier les sites spécifiques où Broméline pourrait se lier à NLRP3, bloquant ainsi son activation excessive et la production de cytokines pro-inflammatoires comme l'IL-1 β et l'IL-18. Cette inhibition pourrait avoir des applications cruciales dans des maladies où l'activation inappropriée de NLRP3 joue un rôle clé, telles que l'arthrite rhumatoïde, l'athérosclérose, et même des troubles neurodégénératifs comme la maladie d'Alzheimer (B. Sharma et al., 2023).

L'identification des résidus clés de NLRP3 impliqués dans l'interaction avec la Broméline pourrait aussi conduire à la conception de médicaments ciblés ou de biomolécules spécifiques capables d'interférer avec l'activation de cet inflammasome sans affecter d'autres voies physiologiques cruciales. En d'autres termes, ces études in silico peuvent guider la mise au point de thérapies moléculaires personnalisées pour réguler l'immunité et réduire l'inflammation de manière plus efficace et plus sûre(Vong et al., 2021).

1.4.1.2. Développement de Stratégies Immunomodulatrices Ciblées

Une autre contribution importante de l'étude *in silico* des interactions Broméline-NLRP3 réside dans la possibilité de concevoir des stratégies immunomodulatrices ciblées. Par exemple, en simulant l'impact de différents composés sur l'interaction Broméline-NLRP3, les chercheurs peuvent identifier des composés nouveaux ou des modifications structurales permettant de renforcer les effets anti-inflammatoires tout en minimisant les effets secondaires. Ces résultats peuvent aider à développer des agents thérapeutiques innovants dans le cadre de maladies inflammatoires, auto-immunes, ou même de cancers, où la régulation de l'inflammasome NLRP3 peut être une cible thérapeutique clé (Hayat et al., 2024).

1.4.1.3. Optimisation de l'Utilisation du Broméline en Immunothérapie

L'une des applications pratiques de l'étude *in silico* est l'optimisation de l'utilisation du Broméline dans des traitements combinés. Par exemple, les modèles moléculaires peuvent prédire comment Broméline interagit avec d'autres thérapies biologiques (comme les anticorps monoclonaux ou les inhibiteurs de la caspase-1) pour obtenir un effet synergique dans la réduction de l'inflammation. Une meilleure compréhension des mécanismes moléculaires impliqués dans ces interactions pourrait guider les stratégies thérapeutiques en les rendant plus précises et efficaces (Pezzani et al., 2023b; Şahin, 2021).

1.4.2. Perspectives Cliniques : Broméline Comme Adjuvant dans les Thérapies et la Conception de Vaccins

Le rôle de Broméline dans l'immunothérapie et la vaccinologie suscite un grand intérêt en raison de ses effets immunomodulateurs et anti-inflammatoires. Grâce à ses propriétés uniques, Broméline pourrait être utilisé de manière innovante dans des thérapies adjuvantes et comme adjuvant immunitaire dans la conception de vaccins (Colletti et al., 2021 ; Kansakar et al., 2024).

1.4.2.1. Broméline comme Adjuvant Immunitaire dans des Thérapies Innovantes

Un adjuvant immunitaire est une substance qui augmente l'efficacité d'une réponse immunitaire à un antigène (Turley & Lavelle, 2022). La Broméline, en raison de sa capacité à moduler l'activation des macrophages, des lymphocytes et d'autres cellules immunitaires, pourrait être utilisé pour améliorer la réponse immunitaire dans divers contextes thérapeutiques (Alves Nobre et al., 2025). Des recherches récentes suggèrent que l'administration de la Broméline pourrait favoriser une activation plus robuste des cellules dendritiques et des lymphocytes T, entraînant ainsi une meilleure présentation des antigènes et une réponse immunitaire amplifiée (Pezzani et al., 2023).

a. Applications dans le Traitement du Cancer

L'une des applications les plus prometteuses de la Broméline comme adjuvant immunitaire est dans le traitement du cancer. En tant qu'adjuvant, la Broméline pourrait renforcer l'efficacité des

immunothérapies (comme les inhibiteurs de point de contrôle), en aidant à stimuler une réponse immunitaire anti-tumorale plus forte. Par ailleurs, en réduisant l'inflammation dans le micro-environnement tumoral, Broméline pourrait aider à moduler la réponse immunitaire de manière à ce qu'elle cible plus spécifiquement les cellules tumorales (Pezzani et al., 2023).

b. Applications dans les Maladies Auto-immunes

Dans les maladies auto-immunes où l'inflammation chronique est présente (comme la polyarthrite rhumatoïde), Broméline pourrait être utilisé comme complément dans des traitements pour moduler la réponse immunitaire. En réduisant la production de cytokines pro-inflammatoires et en équilibrant la réponse des cellules T régulatrices, Broméline pourrait limiter les épisodes inflammatoires aigus et améliorer la gestion à long terme de ces conditions (Alves Nobre et al., 2025 ; Pothacharoen et al., 2021).

1.4.2.2. Broméline dans la Conception de Nouveaux Vaccins

Les vaccins sont une composante essentielle de la médecine préventive, et l'ajout d'adjuvants immunitaires tels que Broméline pourrait améliorer la réponse immunitaire aux vaccins. Par exemple, la Broméline pourrait être utilisé pour renforcer la réponse immunitaire à des vaccins sous-unitaire, qui utilisent des antigènes purifiés ou des protéines recombinantes (Kumar et al., 2023).

a. Optimisation des Réponses Immunitaires aux Vaccins

L'immunité à médiation cellulaire est souvent essentielle pour une réponse vaccinale efficace (Lee & Suresh, 2022). Broméline pourrait activer les cellules dendritiques et favoriser la présentation des antigènes via le récepteur Toll-like (TLR), ce qui renforcerait l'activation des lymphocytes T CD8+ et CD4+. De plus, Broméline pourrait contribuer à l'induction de la mémoire immunitaire par une modulation subtile de la réponse inflammatoire, rendant les vaccins plus durables et efficaces (Badriyya et al., 2020).

b. Amélioration de la Réponse Immunitaire aux Vaccins Anticancéreux

Dans les vaccins anticancéreux, où l'objectif est d'induire une réponse spécifique contre les cellules tumorales, l'utilisation de Broméline pourrait aider à stimuler les cellules T cytotoxiques et favoriser une réponse plus robuste contre les antigènes tumoraux. Par exemple, dans les vaccins thérapeutiques contre le cancer, Broméline pourrait être utilisé comme adjuvant pour améliorer la reconnaissance et l'élimination des cellules tumorales (Pezzani et al., 2023).

1.4.3.Sécurité et Efficacité Clinique de Broméline

Bien que les résultats précliniques et les études in silico montrent un potentiel prometteur de Broméline comme adjuvant, des études cliniques rigoureuses sont nécessaires pour évaluer sa sécurité, sa toxicité et son efficacité clinique en tant qu'adjuvant immunitaire. L'intégration de Broméline dans des protocoles de traitement clinique ou de vaccination nécessitera une évaluation minutieuse de son impact à long terme sur la réponse immunitaire et son interaction avec d'autres thérapies existantes(Leelakanok et al., 2023).

1.5.Lacunes et Défis dans la Recherche Future

1.5.1. Identification des Zones Sous-Explorées

Bien que les recherches actuelles sur l'interaction entre Broméline et NLRP3 aient fourni des informations cruciales sur les mécanismes potentiels impliqués dans la modulation de l'inflammasome, plusieurs domaines restent sous-explorés. Ces lacunes peuvent offrir des opportunités pour des avancées significatives dans la compréhension des interactions moléculaires et des applications thérapeutiques futures. Voici quelques-unes des principales zones sous-explorées dans la recherche actuelle :

1.5.1.1.Mécanismes de Régulation Post-Traductionnelle de NLRP3

La recherche sur la régulation post-traductionnelle du récepteur NLRP3 reste limitée. Des modifications telles que la phosphorylation, l'ubiquitination, et la sumoylation jouent un rôle clé dans l'activation et la désactivation de NLRP3, mais leur interaction avec des molécules externes comme Broméline n'a pas été largement étudiée. Des études futures devraient explorer comment Broméline pourrait influencer ces modifications post-traductionnelles et ainsi moduler plus efficacement l'activation de NLRP3 dans diverses pathologies inflammatoires(Qin & Zhao, 2023 ; Zangiabadi& Abdul-Sater, 2022 ;Xia et al., 2023).

1.5.1.2.Interaction avec les Isoformes de NLRP3

Le récepteur NLRP3 existe sous plusieurs isoformes qui peuvent avoir des structures et des fonctions légèrement différentes. Actuellement, peu de recherches se sont concentrées sur la façon dont Broméline pourrait interagir avec ces différentes isoformes. Comprendre cette interaction pourrait offrir une vision plus précise de la façon dont Broméline influence l'activation de NLRP3 dans des contextes pathologiques variés. De futures études devraient se concentrer sur l'identification et la caractérisation des isoformes spécifiques de NLRP3 et sur leur interaction avec Broméline(Zangiabadi& Abdul-Sater, 2022 ; Wang&Hauenstein, 2020).

1.5.1.3.Effet de l'Interaction Broméline-NLRP3 dans des Modèles In Vivo

La majorité des recherches actuelles sur l'interaction Broméline-NLRP3 reposent sur des modèles in silico ou des études in vitro, ce qui représente une grande avancée, mais laisse encore une lacune

importante. Les modèles animaux *in vivo* et les essais cliniques sont nécessaires pour valider les hypothèses théoriques et confirmer l'efficacité de Broméline dans la modulation de l'inflammasome NLRP3 dans des contextes physiopathologiques réels. Des recherches *in vivo* sont cruciales pour observer comment Broméline agit dans des systèmes biologiques complexes et pour tester son efficacité dans des modèles de maladies inflammatoires chroniques et auto-immunes(Zito et al., 2020 ;Zhang et al., 2021).

1.5.1.4.Interactions Multiples au Sein du Microenvironnement Cellulaire

Le microenvironnement cellulaire dans lequel l'inflammasome NLRP3 opère est extrêmement complexe. Il comprend des facteurs comme les lipides, les ions (notamment les ions calcium), et une diversité de protéines de signalisation(Sharma &Kanneganti, 2021 ; Liang et al., 2021). Les interactions de Broméline avec ces éléments du microenvironnement n'ont pas encore été suffisamment explorées. Par exemple, Broméline pourrait potentiellement influencer des processus tels que l'autophagie, le métabolisme des lipides, ou les réponses au stress cellulaire, qui interagissent étroitement avec la signalisation du NLRP3. Des études futures devraient explorer comment Broméline modifie ces processus pour réguler l'inflammation(Hu et al., 2022).

1.5.1.5.Régulation de la Pyroptose par Broméline

L'un des résultats de l'activation de NLRP3 est la pyroptose, un type de mort cellulaire inflammatoire. Bien que l'inhibition de NLRP3 par Broméline ait montré un potentiel intéressant, il reste encore des questions sans réponse sur la façon dont Broméline pourrait interférer avec les voies amenant à la pyroptose. Des recherches futures devraient explorer en détail comment Broméline influence les voies de signalisation de la pyroptose et si son action peut réduire les effets délétères de cette forme de mort cellulaire dans les pathologies inflammatoires(Coll et al., 2022).

1.5.2.Perspectives pour les Études In Silico et Expérimentales à Venir

Les recherches futures sur l'interaction Broméline-NLRP3 pourraient grandement bénéficier des avancées technologiques en matière de modélisation moléculaire, de biotechnologie, et de méthodes expérimentales. Voici quelques directions prometteuses pour les recherches à venir :

1.5.2.1.Amélioration des Modèles In Silico et des Méthodes de Docking

L'un des défis majeurs pour les études *in silico* actuelles est la précision des modèles. Les modèles de docking protéine-protéine utilisés dans l'étude des interactions Broméline-NLRP3 pourraient être améliorés en utilisant des approches de docking flexible et des techniques plus avancées pour simuler les interactions avec plus de réalisme. L'inclusion de solvants et la prise en compte de l'hétérogénéité de

l'environnement cellulaire pourraient améliorer la précision des prédictions, offrant ainsi de meilleures perspectives pour la conception de molécules thérapeutiques ciblées(Onufriev& Case, 2019) .

1.5.2.2.Utilisation de Modèles Prédicatifs Basés sur l'IA et le Machine Learning

Les technologies basées sur l'intelligence artificielle (IA) et le machine learning offrent des possibilités d'analyses de données à grande échelle pour prédire des interactions protéine-protéine et affiner les modèles *in silico*. Des algorithmes d'apprentissage automatique peuvent analyser des ensembles de données complexes et fournir des prédictions sur les interactions entre Broméline et NLRP3. Ces techniques pourraient aider à identifier de nouvelles cibles thérapeutiques et à découvrir des inhibiteurs potentiels de l'inflammasome avec une efficacité accrue(Patel & Shah, 2022).

1.5.2.3.Nouveaux Modèles In Vivo et Approches Cliniques

Les modèles *in vivo* sont essentiels pour comprendre les effets systémiques de Broméline sur l'inflammation et l'immunité. Des études cliniques utilisant des modèles animaux (souris transgéniques ou modèles de maladies inflammatoires humaines) permettront de tester la sécurité et l'efficacité de Broméline dans des contextes pathologiques réels. Ces modèles devraient inclure des évaluations des effets à long terme de Broméline, en particulier dans les contextes d'inflammation chronique et d'auto-immunité(Shin et al., 2020).

1.5.2.4.Stratégies de Personnalisation des Traitements

Le profilage génétique et l'approche de médecine personnalisée sont des domaines d'innovation qui pourraient transformer le traitement des maladies inflammatoires. Les variations génétiques individuelles affectant la réponse à NLRP3 ou la réponse immunitaire peuvent influencer l'efficacité de Broméline comme traitement. De futures études devraient explorer comment personnaliser les traitements à l'aide de tests génétiques et de profils d'expression de gènes liés à l'inflammation pour optimiser l'utilisation de Broméline chez des patients spécifiques.

1.5.2.5.Évaluation Clinique et Développement de Médicaments

Bien que Broméline soit déjà utilisé dans certaines applications cliniques, des essais cliniques rigoureux sont nécessaires pour confirmer ses effets dans le traitement des maladies inflammatoires. Il serait pertinent de mener des études de phase I et II pour évaluer son efficacité, sa sécurité et son dosage optimal en tant que thérapie immunomodulatrice. De plus, la formulation de nouveaux médicaments combinant Broméline avec d'autres agents anti-inflammatoires ou des inhibiteurs ciblés deNLRP3 pourrait ouvrir de nouvelles avenues pour traiter les maladies inflammatoires (Colletti et al., 2021).

Chapitre IV : Discussion

IV. Discussion

Cette étude a synthétisé un corpus de données récentes, issues de modèles *in silico*, pour explorer le potentiel de la bromélaïne comme modulateur de l'inflammasome NLRP3, un complexe protéique crucial dans la régulation de l'immunité innée et des processus inflammatoires (Yu et al., 2024). Nos résultats renforcent l'hypothèse selon laquelle la broméline, une enzyme protéolytique extraite de l'ananas, pourrait exercer un effet immunomodulateur en interagissant avec le domaine PYD (Pyrin Domain) de NLRP3, influençant ainsi son assemblage et son activation.

L'analyse structurale *in silico* a révélé un contraste significatif entre la bromélaïne et le domaine PYD de NLRP3 (Pothacharoen et al., 2021). La broméline présente une structure flexible, typique des enzymes adaptées à la catalyse (Bhakuni&Venkatesu, 2019), tandis que le domaine PYD adopte une structure principalement hélicoïdale, favorisant les interactions protéine-protéine (Yu et al., 2024). Cette disparité structurale suggère que la broméline pourrait se lier à NLRP3, modifiant sa conformation et son accessibilité à d'autres composants du complexe inflammasome.

Des études de docking moléculaire ont appuyé cette hypothèse, indiquant une liaison de haute affinité entre la broméline et le domaine PYD, avec un score HADDOCK élevé (Wajih et al., 2024). Ces données suggèrent que le cluster 16 pourrait représenter le mode d'interaction le plus pertinent entre la broméline et NLRP3. Bien que ces prédictions informatiques soient encourageantes, il est crucial de souligner la nécessité de validations expérimentales pour confirmer ces interactions et clarifier leur signification biologique.

Nos analyses ont révélé plusieurs mécanismes potentiels par lesquels la bromélaïne pourrait moduler l'activité de NLRP3 : en interférant potentiellement avec la palmitoylation de Cys126 de NLRP3, un processus crucial pour l'activation de l'inflammasome (Yu et al., 2024) ; en ciblant la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), connues pour déclencher l'activation de NLRP3 (Henedak et al., 2024); et en perturbant potentiellement l'interaction entre NLRP3 et le réseau trans-Golgi dispersé (dTGN) via une liaison ionique avec le phosphatidylinositol-4-phosphate (PtdIns4P), une voie qui mène à l'oligomérisation de NLRP3 (Chen & Chen, 2018). De plus, l'influence positive de la broméline sur la régulation de l'autophagie et de la mitophagie, processus essentiels au maintien de l'homéostasie cellulaire et de la fonction mitochondriale, pourrait atténuer davantage l'activation de l'inflammasome (Gupta et al., 2025).

Cependant, il est important de noter que le potentiel thérapeutique de la broméline ne se limite pas à la modulation de NLRP3. Ses propriétés anti-inflammatoires, anti-thrombotiques et fibrinolytiques (Agrawal et al., 2022) suggèrent un large éventail d'applications cliniques potentielles. Le rôle protecteur de la broméline contre le dysfonctionnement testiculaire (Jebur et al., 2020), son potentiel à traiter la toxicité des métaux, et son activité antitumorale et antivirale (Alves Nobre et al., 2025; Sagar et al.,

IV. Discussion

2020) soulignent sa polyvalence en tant qu'agent thérapeutique. Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour explorer ces diverses applications et pour déterminer les doses optimales et les formulations les plus appropriées.

Ce travail souligne le potentiel de la broméline en tant qu'agent thérapeutique prometteur dans la modulation de l'inflammasome NLRP3, ouvrant ainsi une nouvelle voie d'exploration pour le traitement de diverses maladies inflammatoires chroniques. Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour valider ces conclusions et déterminer le potentiel clinique complet de la bromélaïne. De plus, étant donné l'intérêt croissant pour l'axe intestin-cerveau et le rôle du microbiote intestinal dans la régulation de l'inflammation, il est crucial d'explorer comment la bromélaïne affecte la composition et la fonction du microbiote.

Chapitre V : Conclusion et perspective

Conclusion et perspectives

En conclusion, cette étude *in silico* a permis d'explorer finement les interactions potentielles entre la broméline (ID PDB :6YCE) et le domaine PYD (ID PDB : 3QF2) de l'inflammasome NLRP3, un régulateur clé de l'immunité innée et de l'inflammation. L'analyse énergétique des complexes moléculaires modélisés a révélé des modes de liaison préférentiels, avec des affinités prédites dans la gamme nanomolaire, suggérant une interaction stable et spécifique. L'identification des résidus clés impliqués dans l'interface protéique, notamment au niveau du domaine PYD du NLRP3, offre des perspectives intéressantes pour comprendre l'impact potentiel de la broméline sur l'oligomérisation et l'activation du complexe inflammasomique.

Bien que ces conclusions soient issues de simulations bioinformatiques et nécessitent une validation expérimentale, elles suggèrent que la broméline pourrait moduler l'activité du NLRP3 et, par conséquent, la libération de cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-1 β et l'IL-18. Cibler l'inflammasome NLRP3 représente une stratégie thérapeutique prometteuse dans le contexte des maladies inflammatoires chroniques et des troubles auto-immunes. Le potentiel immunomodulateur de la broméline, tel que révélé par cette étude, pourrait être exploité pour développer de nouvelles approches thérapeutiques visant à restaurer l'homéostasie immunitaire et à atténuer les réponses inflammatoires excessives. Des études complémentaires sont nécessaires pour confirmer ces interactions et élucider les mécanismes moléculaires précis par lesquels la broméline influence l'activité du NLRP3 dans différents contextes cellulaires et pathologiques.

Chapitre VI : Bibliographies

- Agarwal, V., Haldhar, R., Hirad, A. H., Ahmed, B., Han, S. B., Gupta, A., Raj, V., & Lee, S. (2024). Repurposing FDA-approved drugs as NLRP3 inhibitors against inflammatory diseases: Machine learning and molecular simulation approaches. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 1–13. <https://doi.org/10.1080/07391102.2024.2308072>
- Agrawal, P., Nikhade, P., Patel, A., Mankar, N., & Sedani, S. (2022). Broméline: A potent phytomedicine. *Cureus*, 14(8), e27876. <https://doi.org/10.7759/cureus.27876>
- Ajala, A., Uzairu, A., Shallangwa, G. A., & Abechi, S. E. (2023). Virtual screening, molecular docking simulation and ADMET prediction of some selected natural products as potential inhibitors of NLRP3 inflammasomes as drug candidates for Alzheimer disease. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 48, 102615. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2023.102615>
- Alam, F., Nag, M., Islam, M., & Biswas, S. (2024). Broméline: A potential nutraceutical. In F. Alam, R. Amin, M. Islam, & J. Yakin (Eds.), *Pharmaceutical science: Research and innovation* (1st ed., pp. 99–110). Iterative International Publishers. <https://doi.org/10.58532/PSRICH13>
- Alibakhshi, A., Alagheband Bahrami, A., Mohammadi, E., Ahangarzadeh, S., & Mobasheri, M. (2024). In-silico design of a new multi-epitope vaccine candidate against SARS-CoV-2. *Acta Virologica*, 67, 12481. <https://doi.org/10.3389/av.2023.12481>
- Alves Nobre, T., De Sousa, A. A., Pereira, I. C., Carvalho Pedrosa-Santos, Á. M., Lopes, L. D. O., Debia, N., El-Nashar, H. A. S., El-Shazly, M., Islam, M. T., Castro E Sousa, J. M. D., & Torres-Leal, F. L. (2024). Broméline as a natural anti-inflammatory drug: A systematic review. *Natural Product Research*, 1–14. <https://doi.org/10.1080/14786419.2024.2342553>
- Amaya-Ramirez, D., Martinez-Enriquez, L. C., & Parra-López, C. (2023). Usefulness of docking and molecular dynamics in selecting tumor neoantigens to design personalized cancer vaccines: A proof of concept. *Vaccines*, 11(7), 1174. <https://doi.org/10.3390/vaccines11071174>
- Azarkan, M., Maquoi, E., Delbrassine, F., Herman, R., M'Rabet, N., Calvo Esposito, R., Charlier, P., & Kerff, F. (2020). Structures of the free and inhibitors-bound forms of broméline and ananain from *Ananas comosus* stem and in vitro study of their cytotoxicity. *Scientific Reports*, 10(1), 19570. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-76172-5>
- Babajide Rowaiye, A., Oluwasunmibare, O. S., Suleiman Abubakar, U., Aondona, P., Chinonye Emenyeonu, L., & Agbalalah, T. (2024). The NLRP3 inflammasome as a target for antiinflammatory drugs. In P. Singh (Ed.), *The NLRP3 inflammasome: An attentive arbiter of*

- inflammatory response* (pp. 119–158). BENTHAM SCIENCE PUBLISHERS. <https://doi.org/10.2174/9789815223941124010009>
- Badriyya, E., Salman S, S., Pratiwi, A. R., Dillasamola, D., Aldi, Y., & Husni, E. (2020). Topical anti-inflammatory activity of broméline. *Pharmacognosy Journal*, 12(6s), 1586–1593. <https://doi.org/10.5530/pj.2020.12.217>
 - Baek, M., Park, T., Heo, L., & Seok, C. (2020). Modeling protein homo-oligomer structures with GalaxyHomomer web server. In D. Kihara (Ed.), *Protein structure prediction* (Vol. 2165, pp. 127–137). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0708-4_7
 - Balasco, N., Esposito, L., Thind, A. S., Guarracino, M. R., & Vitagliano, L. (2023). The analysis of protein fine structure is a valuable tool for quality assessment. *Acta Crystallographica Section A Foundations and Advances*, 79(a2), C448–C448. <https://doi.org/10.1107/S2053273323091672>
 - Banciul, R. (2024). *The benchmarks for protein-protein, protein-DNA, and protein-RNA docking* (Version v1.0) [Dataset]. Zenodo. <https://doi.org/10.5281/ZENODO.10517524>
 - Bottega, R., Persico, I., De Seta, F., Romano, F., & Di Lorenzo, G. (2021). Anti-inflammatory properties of a proprietary broméline extract (Bromeyal™) after in vitro simulated gastrointestinal digestion. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, 35, 20587384211034686. <https://doi.org/10.1177/20587384211034686>
 - Butt, S. S., Badshah, Y., Shabbir, M., & Rafiq, M. (2020). Molecular docking using Chimera and Autodock Vina software for nonbioinformaticians. *JMIR Bioinformatics and Biotechnology*, 1(1), e14232. <https://doi.org/10.2196/14232>
 - Chaudhary, M., Tyagi, K., & Patel Nagar, U. (2024). A review on molecular docking and its application. *International Journal of Advanced Research*, 12(3), 1141–1153. <https://doi.org/10.21474/IJAR01/18505>
 - Chauhan, R., Bhattacharya, J., Solanki, R., Ahmad, F. J., Alankar, B., & Kaur, H. (2023). GUD-VE visualization tool for physicochemical properties of proteins. *MethodsX*, 10, 102226. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2023.102226>
 - Chen, C.-H., Hsia, C.-C., Hu, P.-A., Yeh, C.-H., Chen, C.-T., Peng, C.-L., Wang, C.-H., & Lee, T.-S. (2022). Broméline ameliorates atherosclerosis by activating the TFEB-mediated autophagy and antioxidant pathways. *Antioxidants*, 12(1), 72. <https://doi.org/10.3390/antiox12010072>

- Chow, M., Lambros, E., Li, X., & Hammes-Schiffer, S. (2023). Nuclear–electronic orbital QM/MM approach: Geometry optimizations and molecular dynamics. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 19(13), 3839–3848. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.3c00361>
- Coelho, M. M., Bezerra, E. M., Da Costa, R. F., De Alvarenga, É. C., Freire, V. N., Carvalho, C. R., Pessoa, C., Albuquerque, E. L., & Costa, R. A. (2023). In silico description of the adsorption of cell signaling pathway proteins ovalbumin, glutathione, LC3, TLR4, ASC PYCARD, PI3K and NF- κ B on 7.0 nm gold nanoparticles: Obtaining their Lennard-Jones-like potentials through docking and molecular mechanics. *RSC Advances*, 13(50), 35493–35499. <https://doi.org/10.1039/D3RA06180A>
- Colletti, A., Li, S., Marengo, M., Adinolfi, S., & Cravotto, G. (2021). Recent advances and insights into broméline processing, pharmacokinetics and therapeutic uses. *Applied Sciences*, 11(18), 8428. <https://doi.org/10.3390/app11188428>
- Colosimo, S., Balzani, E., Cioni, R. M., Campesato, M., & Cicero, A. F. G. (2021). Supplementation with anti-inflammatory nutraceutical products in the management of chronic pelvic pain: A narrative review. *Current Topics in Nutraceutical Research*, 20(2), 265–275. <https://doi.org/10.37290/ctnr2641-452X.20:265-275>
- Dadkhah, M., & Sharifi, M. (2025). The NLRP3 inflammasome: Mechanisms of activation, regulation, and role in diseases. *International Reviews of Immunology*, 44(2), 98–111. <https://doi.org/10.1080/08830185.2024.2415688>
- Dos Santos Nascimento, I. J., De Aquino, T. M., & Da Silva-Júnior, E. F. (2022). Molecular docking and dynamics simulation studies of a dataset of NLRP3 inflammasome inhibitors. *Recent Advances in Inflammation & Allergy Drug Discovery*, 15(2), 80–86. <https://doi.org/10.2174/2772270816666220126103909>
- El-Sayed, S., McMahan, E., Musleh, S., Freeman, S., Brough, D., Kasher, P. R., & Bryce, R. A. (2024). Virtual screening-led design of inhibitor scaffolds for the NLRP3 inflammasome. *Bioorganic Chemistry*, 153, 107909. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2024.107909>
- Ferrari, I. (2024). *Broméline: Unveiling its potential as a natural anti-inflammatory agent through effective binding to apoptosis-associated speck-like containing CARD (ASC)* [Preprint]. Preprints.org. <https://doi.org/10.20944/preprints202409.0132.v1>
- Godwini, R., Monicka, J. C., & Victoria, S. G. (2023). Solvation impact on the geometry and electrical properties of Flufenoxuron: A topological and spectral insight by DFT

- approach. *Journal of Molecular Liquids*, 391, 123231. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2023.123231>
- Harrison, D., Bock, M. G., Doedens, J. R., Gabel, C. A., Holloway, M. K., Lewis, A., Scanlon, J., Sharpe, A., Simpson, I. D., Smolak, P., Wishart, G., & Watt, A. P. (2022). Discovery and optimization of triazolopyrimidinone derivatives as selective NLRP3 inflammasome inhibitors. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 13(8), 1321–1328. <https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.2c00242>
 - Hayat, C., Subramanian, V., Alamri, M. A., Wong, L. S., Khalid, A., Abdalla, A. N., Afridi, S. G., Kumarasamy, V., & Wadood, A. (2024). Identification of new potent NLRP3 inhibitors by multi-level in-silico approaches. *BMC Chemistry*, 18(1), 76. <https://doi.org/10.1186/s13065-024-01178-3>
 - Hikal, W. M., Mahmoud, A. A., Said-Al Ahl, H. A. H., Bratovic, A., Tkachenko, K. G., Kačániová, M., & Rodriguez, R. M. (2021). Pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.), waste streams, characterisation and valorisation: An overview. *Open Journal of Ecology*, 11(9), 610–634. <https://doi.org/10.4236/oje.2021.119039>
 - Hikiş, P., & Bernasinska-Slomczewska, J. (2021). Beneficial properties of broméline. *Nutrients*, 13(12), 4313. <https://doi.org/10.3390/nu13124313>
 - Hong, J.-H., Kim, M.-R., Lee, B.-N., Oh, W.-M., Min, K.-S., Im, Y.-G., & Hwang, Y.-C. (2021). Anti-inflammatory and mineralization effects of broméline on lipopolysaccharide-induced inflammation of human dental pulp cells. *Medicina*, 57(6), 591. <https://doi.org/10.3390/medicina57060591>
 - Hu, P.-A., Hsu, M.-C., Chen, S.-H., Chen, C.-H., Kou, Y. R., Huang, J.-W., & Lee, T.-S. (2022). Broméline activates the AMP-activated protein kinase-autophagy pathway to alleviate hepatic lipid accumulation. *Journal of Food and Drug Analysis*, 30(3), 357–368. <https://doi.org/10.38212/2224-6614.3416>
 - Ilyas, S., Manan, A., Park, C., Jo, H.-G., & Lee, D. (2024). Harnessing the power of machine learning guided discovery of NLRP3 inhibitors towards the effective treatment of rheumatoid arthritis. *Cells*, 14(1), 27. <https://doi.org/10.3390/cells14010027>
 - Insuan, O., Janchai, P., Thongchuai, B., Chaiwongsa, R., Khamchun, S., Saoin, S., Insuan, W., Pothacharoen, P., Apiwatanapiwat, W., Boondaeng, A., & Vaithanomsat, P. (2021). Anti-inflammatory effect of pineapple rhizome broméline through downregulation of the NF- κ B- and

- MAPKs-signaling pathways in lipopolysaccharide (LPS)-stimulated RAW264.7 cells. *Current Issues in Molecular Biology*, 43(1), 93–106. <https://doi.org/10.3390/cimb43010008>
- Kansakar, U., Trimarco, V., Manzi, M. V., Cervi, E., Mone, P., & Santulli, G. (2024). Exploring the therapeutic potential of broméline: Applications, benefits, and mechanisms. *Nutrients*, 16(13), 2060. <https://doi.org/10.3390/nu16132060>
 - Kelley, L. A., Powell, H. R., & Sternberg, M. J. E. (2021). Le mieux est l'enemi du bon. Homology modelling with Phyre2 in a deep learning world. *Acta Crystallographica Section A Foundations and Advances*, 77(a2), C95–C95. <https://doi.org/10.1107/S0108767321095842>
 - Khalid, K., Irum, S., Ullah, S. R., & Andleeb, S. (2022). In-silico vaccine design based on a novel vaccine candidate against infections caused by *Acinetobacter baumannii*. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 28(1), 16. <https://doi.org/10.1007/s10989-021-10316-7>
 - Kuder, K. J. (2024). Docking foundations: From rigid to flexible docking. In A. A. Kaczor (Ed.), *Protein-protein docking* (Vol. 2780, pp. 3–14). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3985-6_1
 - Lavelle, E. C., & McEntee, C. P. (2024). Vaccine adjuvants: Tailoring innate recognition to send the right message. *Immunity*, 57(4), 772–789. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2024.03.015>
 - Lee, W., & Suresh, M. (2022). Vaccine adjuvants to engage the cross-presentation pathway. *Frontiers in Immunology*, 13, 940047. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.940047>
 - Lemos, R., Santos, P. H. D., & Rocha, A. (2023). Extração de informações de sequências e estruturas de proteínas. *BIOINFO*, 3(1), 12. <https://doi.org/10.51780/bioinfo-03-12>
 - Madkhali, J. Y., Hussein, R. H., & Alnahdi, H. S. (2023). Therapeutic effect of broméline and papain on intestinal injury induced by indomethacin in male rats. *International Journal of Health Sciences*, 17(5), 23–30.
 - Management Association, I. R. (Ed.). (2017). *Pharmaceutical sciences: Breakthroughs in research and practice*. IGI Global. <https://doi.org/10.4018/978-1-5225-1762-7>
 - Manan, N. A. A., Yousif, R. H., & Khairudin, N. A. (2020). Sequence analysis and comparative modelling of broméline from pineapple. *AIP Conference Proceedings*, 2267(1), 020018. <https://doi.org/10.1063/5.0027886>
 - Mathur, N., Sai Chandragiri, S., Sarita, Shandily, S., Mukeshbhai Santoki, K., Navinchandra Vadhavana, N., Shah, S., & Chandra, M. (2024). In silico docking: Protocols for computational

- exploration of molecular interactions. In Č. Podlipnik (Ed.), *Biomedical engineering* (Vol. 27). IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.1005527>
- Merk, H., Amran-Gealia, T., Finkelmeier, D., Kohl, C., Pichota, I., Stern, N., Rupp, S., Goldblum, A., & Burger-Kentischer, A. (2022). Human-based immune responsive in vitro infection models for validation of novel TLR4 antagonists identified by computational discovery. *Microorganisms*, *10*(2), 243. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10020243>
 - Muhammed, M. T., & Aki-Yalcin, E. (2023). Up-to-date developments in homology modeling. In I. J. D. Santos Nascimento (Ed.), *Applied computer-aided drug design: Models and methods* (pp. 116–135). BENTHAM SCIENCE PUBLISHERS. <https://doi.org/10.2174/9789815179934123010006>
 - Okayama, A., Cabral, H., & Gustavo Orlando, B.-R. (2023). Isolation and biochemical characterization of ananassains, cysteine peptidases from the fruits of *Ananas ananassoides*. *Current Chemical Biology*, *17*(3), 170–181. <https://doi.org/10.2174/2212796817666230801121826>
 - Pereira, I. C., Sátiro Vieira, E. E., De Oliveira Torres, L. R., Carneiro Da Silva, F. C., De Castro E Sousa, J. M., & Torres–Leal, F. L. (2023). Broméline supplementation and inflammatory markers: A systematic review of clinical trials. *Clinical Nutrition ESPEN*, *55*, 116–127. <https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2023.02.028>
 - Pérez, S., & Rius-Pérez, S. (2022). Macrophage polarization and reprogramming in acute inflammation: A redox perspective. *Antioxidants*, *11*(7), 1394. <https://doi.org/10.3390/antiox11071394>
 - Pérez-Regidor, L., Guzmán-Caldentey, J., Oberhauser, N., Punzón, C., Balogh, B., Pedro, J. R., Falomir, E., Nurisso, A., Mátyus, P., Menéndez, J. C., De Andrés, B., Fresno, M., & Martín-Santamaría, S. (2022). Small molecules as toll-like receptor 4 modulators drug and in-house computational repurposing. *Biomedicines*, *10*(9), 2326. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10092326>
 - Pezzani, R., Jiménez-García, M., Capó, X., Sönmez Güreer, E., Sharopov, F., Rachel, T. Y. L., Ntieche Woutouoba, D., Rescigno, A., Peddio, S., Zucca, P., Tsouh Fokou, P. V., Martorell, M., Gulsunoglu-Konuskan, Z., Ydyrys, A., Bekzat, T., Gulmira, T., Hano, C., Sharifi-Rad, J., & Calina, D. (2023). Anticancer properties of broméline: State-of-the-art and recent trends. *Frontiers in Oncology*, *12*, 1068778. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.1068778>

- Piehl, D. W., & Burley, S. K. (2024). Parallel delivery of experimentally determined structures and computed structure models at RCSB protein data bank (RCSB PDB, RCSB.ORG). *Biophysical Journal*, 123(3), 280a. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2023.11.1746>
- Rajan, P. K., Dunna, N. R., & Venkatabalasubramanian, S. (2022). A comprehensive overview on the anti-inflammatory, antitumor, and ferroptosis functions of broméline: An emerging cysteine protease. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 22(5), 615–625. <https://doi.org/10.1080/14712598.2022.2042250>
- Rodríguez-Morales, P., & Franklin, R. A. (2023). Macrophage phenotypes and functions: Resolving inflammation and restoring homeostasis. *Trends in Immunology*, 44(12), 986–998. <https://doi.org/10.1016/j.it.2023.10.004>
- Rossini, S., & Dimitrov, J. D. (2021). Evaluation of binding kinetics and thermodynamics of antibody–antigen interactions and interactions involving complement proteins. In L. T. Roumenina (Ed.), *The complement system* (Vol. 2227, pp. 237–247). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1016-9_21
- Santana Romo, F. M., Morales Ortíz, M. J., Carreño Otero, A. L., Vizúete Fiallos, G. E., & Peñaherrera Veintimilla, J. L. (2024). Descripción físico-química teórica y computacional de los complejos enzima-ligando de la proteína bromelina reportada mediante difracción de Rayos X. *Revista de Investigación Talentos*, 11(1), 1–14. <https://doi.org/10.33789/talentos.11.1.193>
- Sehgal, S. A., Tahir, R. A., & Waqas, M. (2021). *Quick guideline for computational drug design (Revised Edition)*. BENTHAM SCIENCE PUBLISHERS. <https://doi.org/10.2174/97898149986971210101>
- Sharma, A., Kumar, L., Malhotra, M., Singh, A. P., & Singh, A. P. (2024). *Ananas comosus* (pineapple): A comprehensive review of its medicinal properties, phytochemical composition, and pharmacological activities. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 14(5), 148–157. <https://doi.org/10.22270/jddt.v14i5.6557>
- Sharma, G., & Vimal, A. (2023). Broméline: An enzyme expanding its horizon from food to pharmaceutical industry. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 24(14), 1715–1726. <https://doi.org/10.2174/1389201024666230331115338>
- Siebenmorgen, T., Saremi Nanji, Y., & Zacharias, M. (2024). Refinement of docked protein-protein complexes using repulsive scaling replica exchange simulations. In A. A. Kaczor

- (Ed.), *Protein-protein docking* (Vol. 2780, pp. 289–302). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3985-6_15
- Sobolev, O., Afonine, P., Moriarty, N., Hekkelman, M., Joosten, R., Perrakis, A., & Adams, P. (2020). Zero Ramachandran outliers does not guarantee a “good” model. *Acta Crystallographica Section A Foundations and Advances*, 76(a1), a24–a24. <https://doi.org/10.1107/S0108767320099754>
 - Su, T., Li, X., Yang, M., Shao, Q., Zhao, Y., Ma, C., & Wang, P. (2020). Autophagy: An intracellular degradation pathway regulating plant survival and stress response. *Frontiers in Plant Science*, 11, 164. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00164>
 - Tacias-Pascacio, V. G., Castañeda-Valbuena, D., Tavano, O., Murcia, Á. B., Torrestina-Sánchez, B., & Fernandez-Lafuente, R. (2023). Peptides with biological and technofunctional properties produced by broméline hydrolysis of proteins from different sources: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 253, 127244. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.127244>
 - Tallei, T., Fatimawali, F., Yelnetty, A., Niode, N., Kusumawaty, D., Idroes, R., Celik, I., & Emran, T. (2024). Unveiling the immunomodulatory mechanisms of pineapple metabolites: A multi-modal computational analysis using network pharmacology, molecular docking, and molecular dynamics simulation. *Journal of Advanced Biotechnology and Experimental Therapeutics*, 7(1), 1. <https://doi.org/10.5455/jabet.2024.d01>
 - Umar, S., H. S., S. F., Aldi, Y., & Badriyya, E. (2023). The effect of broméline microcapsul formulation on leukocyte and tnf- α level in male white mice induced by h5n1 vaccine. *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 15, 20. <https://doi.org/10.22159/ijap.2023.v15s1.03>
 - Van Noort, C. W., Honorato, R. V., & Bonvin, A. M. J. J. (2021). Information-driven modeling of biomolecular complexes. *Current Opinion in Structural Biology*, 70, 70–77. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2021.05.003>
 - Varilla, C., Marcone, M., Paiva, L., & Baptista, J. (2021). Broméline, a group of pineapple proteolytic complex enzymes (*Ananas comosus*) and their possible therapeutic and clinical effects. A summary. *Foods*, 10(10), 2249. <https://doi.org/10.3390/foods10102249>

- Wang, Y., Zhang, S., Li, H., Wang, H., Zhang, T., Hutchinson, M. R., Yin, H., & Wang, X. (2020). Small-molecule modulators of toll-like receptors. *Accounts of Chemical Research*, 53(5), 1046–1055. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.9b00631>
- Yildiz, M. (2024). Computational analysis of interactions between drugs and human serum albumin. *Journal of Molecular Recognition*, 37(6), e3105. <https://doi.org/10.1002/jmr.3105>
- Yoshida, Y., Iuchi, S., & Sato, H. (2021). A quantum chemical model for a series of self-assembled nanocages: The origin of stability behind the coordination-driven formation of transition metal complexes up to [M₁₂L₂₄]²⁴⁺. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 23(2), 866–877. <https://doi.org/10.1039/D0CP04755D>
- Zacharias, M. (2022). Computational protein–protein docking. In V. Helms & O. V. Kalinina (Eds.), *Protein interactions* (1st ed., pp. 53–76). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9783527830503.ch4>
- Zhang, C.-Y., Liu, S., Sui, Y.-X., & Yang, M. (2025). Nucleotide-binding domain, leucine-rich repeat, and pyrin domain-containing protein 3 inflammasome: From action mechanism to therapeutic target in clinical trials. *World Journal of Gastrointestinal Oncology*, 17(2). <https://doi.org/10.4251/wjgo.v17.i2.100094>
- Zhu, J.-Y., Liu, Q., Jiang, X.-N., Zheng, X.-H., Wang, L., Hao, Q., & Wang, C.-S. (2023). From bonds to interactions: Comprehensive molecular characterization via polarizable bond-dipole approach. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 25(43), 29867–29880. <https://doi.org/10.1039/D3CP04060G>
- Zulfat, M., Alkhatibi, H. A., Alreemi, R. M., Alamri, M. A., Khalid, A., Abdalla, A. N., & Wadood, A. (2024). In-silico identification of potential peptide inhibitors to disrupt NLRP3 inflammasome complex formation by blocking NLRP3-ASC pyrin-pyrin interactions. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 1–12. <https://doi.org/10.1080/07391102.2024.2444417>

Résumé : Cette étude vise à explorer les interactions moléculaires potentielles entre la bromélaïne, une enzyme protéolytique extraite de l'ananas, et le domaine PYD de l'inflammasome NLRP3, un acteur clé de l'immunité innée. Une approche de docking moléculaire in silico a été utilisée pour analyser les modes de liaison potentiels et identifier les résidus clés impliqués dans l'interface protéique. Les résultats révèlent des modes de liaison distincts avec des affinités prédites dans la gamme nanomolaire, suggérant une interaction stable et spécifique. Bien que préliminaires, ces conclusions ouvrent la voie à de nouvelles stratégies thérapeutiques ciblant NLRP3 dans le contexte des maladies inflammatoires chroniques. Des études in vitro et in vivo, sont nécessaires pour valider ces interactions, évaluer l'impact de la bromélaïne sur la production de cytokines inflammatoires et confirmer son efficacité dans des modèles précliniques.

Mots clés : Inflammasome, broméline, NLRP3, Immunomodulation, Docking moléculaire.

Abstract: This study aims to explore the potential molecular interactions between broméline, a proteolytic enzyme extracted from pineapple, and the PYD domain of the NLRP3 inflammasome, a key player in innate immunity. An in silico molecular docking approach was used to analyze potential binding modes and identify key residues involved in the protein interface. The results reveal distinct binding modes with predicted affinities in the nanomolar range, suggesting a stable and specific interaction. While these findings are preliminary, they open new avenues for therapeutic applications targeting NLRP3 in the context of chronic inflammatory diseases. Further in vitro and in vivo studies are necessary to assess the impact of broméline on the production of inflammatory cytokines and confirm its efficacy in preclinical models.

Keywords: Inflammasome, Bromelain, NLRP3, Immunomodulation, Molecular Docking.

ملخص : هدف هذه الدراسة إلى استكشاف التفاعلات الجزيئية المحتملة بين البروميلين، وهو إنزيم محلل للبروتين مستخلص من الأناناس و ، ومجال PYD في جسيم التهاب NLRP3، وهو لاعب رئيسي في المناعة الفطرية. تم استخدام نهج إرساء جزيئي في السيليكو لتحليل أنماط الارتباط المحتملة وتحديد البقايا الرئيسية المشاركة في واجهة البروتين. تكشف النتائج عن أنماط ربط متميزة بتقارب متوقع في نطاق النانومتر، مما يشير إلى تفاعل مستقر ومحدد. على الرغم من أن هذه النتائج أولية ، إلا أنها تفتح آفاقاً جديدة للتطبيقات العلاجية التي تستهدف NLRP3 في سياق الأمراض الالتهابية المزمنة. تعد الدراسات المخبرية وفي الجسم الحي ضرورية للتحقق من صحة هذه التفاعلات، وتقييم تأثير البروميلين على إنتاج السيتوكينات الالتهابية وتأكيدها في النماذج قبل السريرية.

الكلمات المفتاحية: التهاب، البروميلين، NLRP3 ، تعديل المناعة .