



Nantes
Université

IICiMed

MASTER SCIENCES DU MEDICAMENT
U.E. MICROBIOLOGIE - PATHOLOGIES

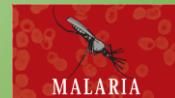
13 avril 2023

Physiopathologie du paludisme

Rose-Anne LAVERGNE
Biogliste, MCU-PH

Laboratoire de Parasitologie et Mycologie – Hotel Dieu
UR1155 / Département de Parasitologie et Mycologie – IRS2

rose-anne.lavergne@univ-nantes.fr

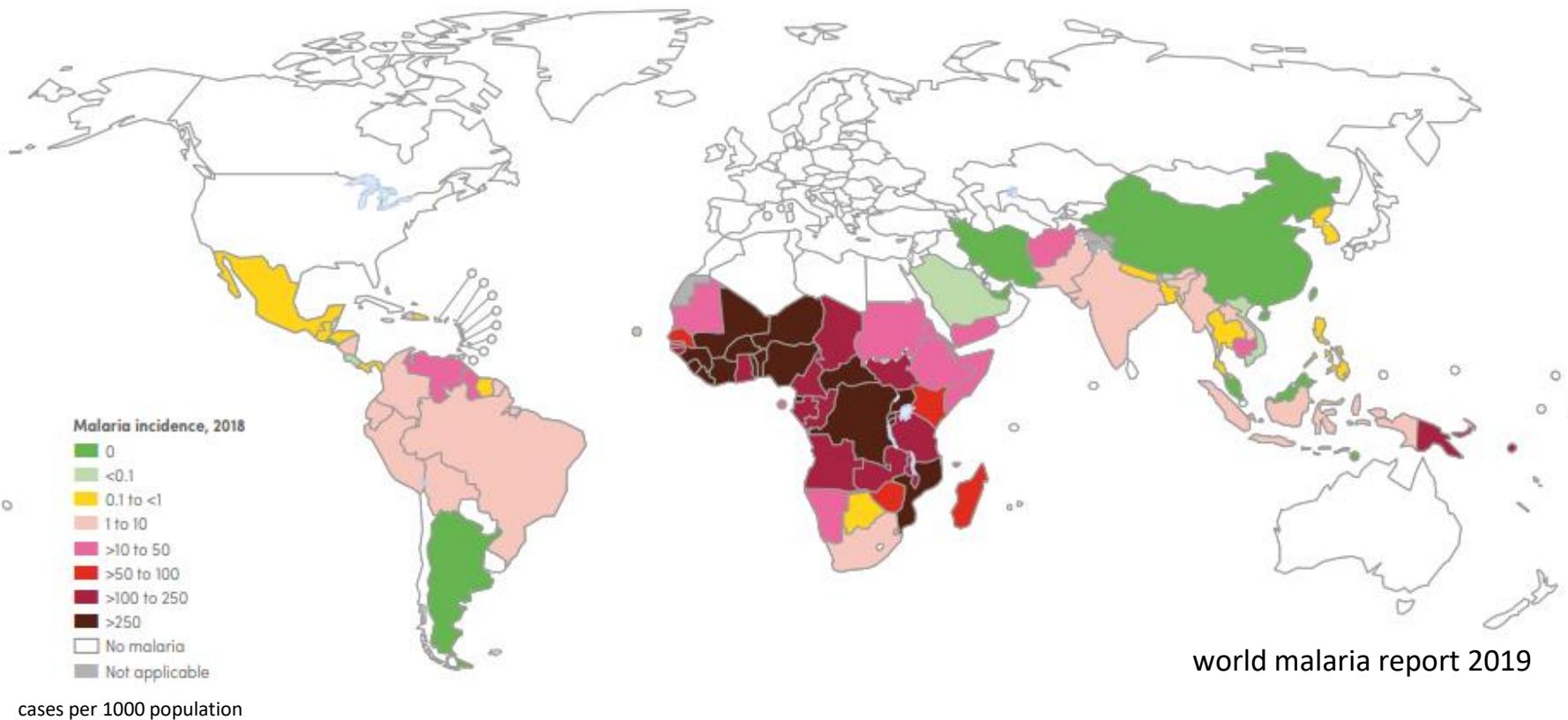


Introduction

Paludisme

- Parasitose
- Protozoaires du genre *Plasmodium*
- Transmission par piqûre d'un moustique, l'anophèle femelle → maladie vectorielle
- Potentiellement mortelle: 619 000 décès en 2021 (OMS)
- Concerne les populations vivant en zone d'endémie et les personnes se déplaçant en zone d'endémie

Répartition mondiale

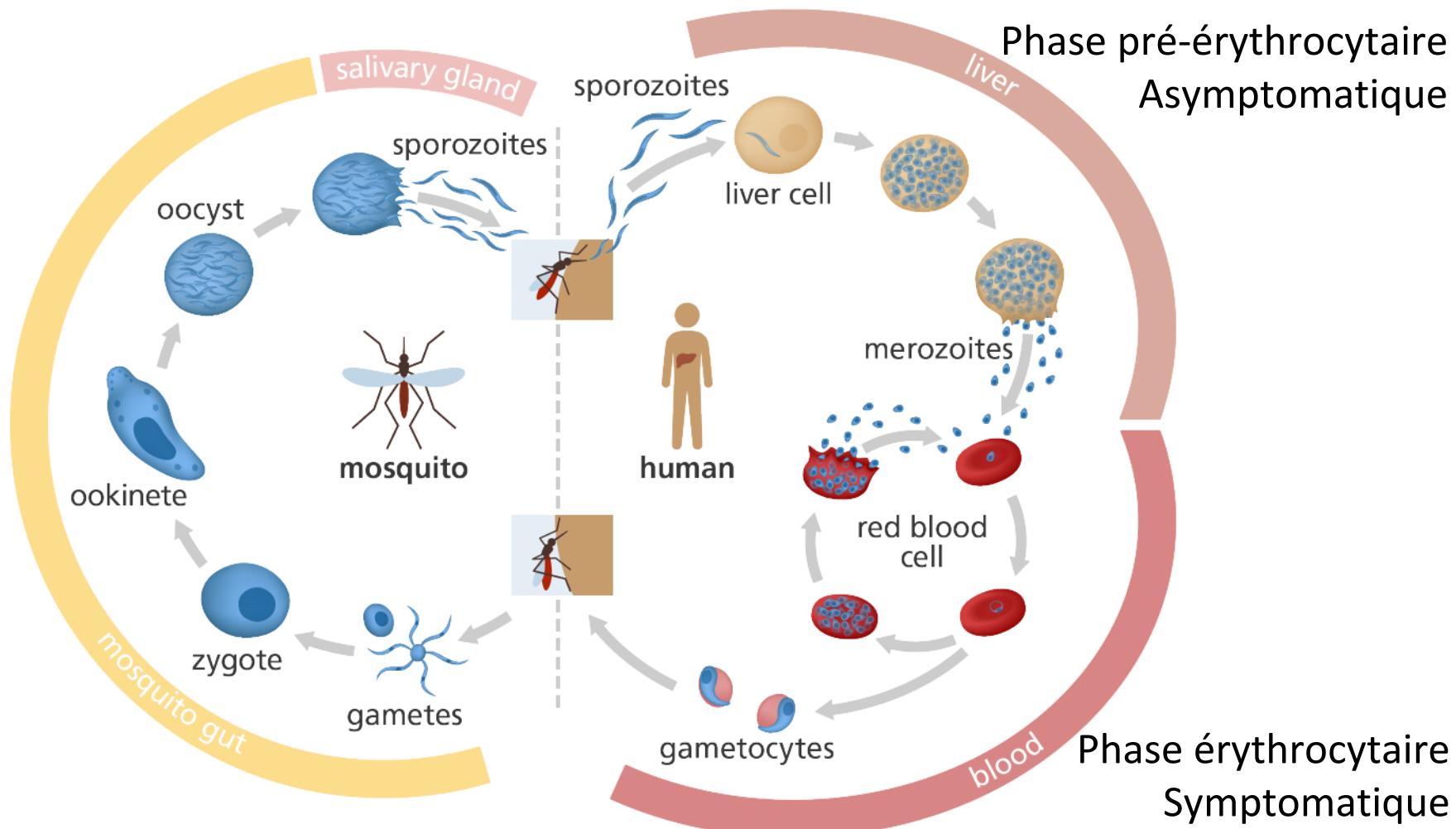


Première endémie parasitaire dans le monde
≈ ½ population mondiale exposée
241 million de cas en 2020 (OMS)

Parasite

- Parasite unicellulaire
- Parasite des globules rouges = hématozoaires
- Cinq espèces pathogènes pour l'Homme
 - *Plasmodium falciparum*: 60 à 70% des décès
 - *Plasmodium vivax*
 - *Plasmodium ovale (curtisi et wallikeri)*
 - *Plasmodium malariae*
 - *Plasmodium knowlesi*

Cycle parasitaire

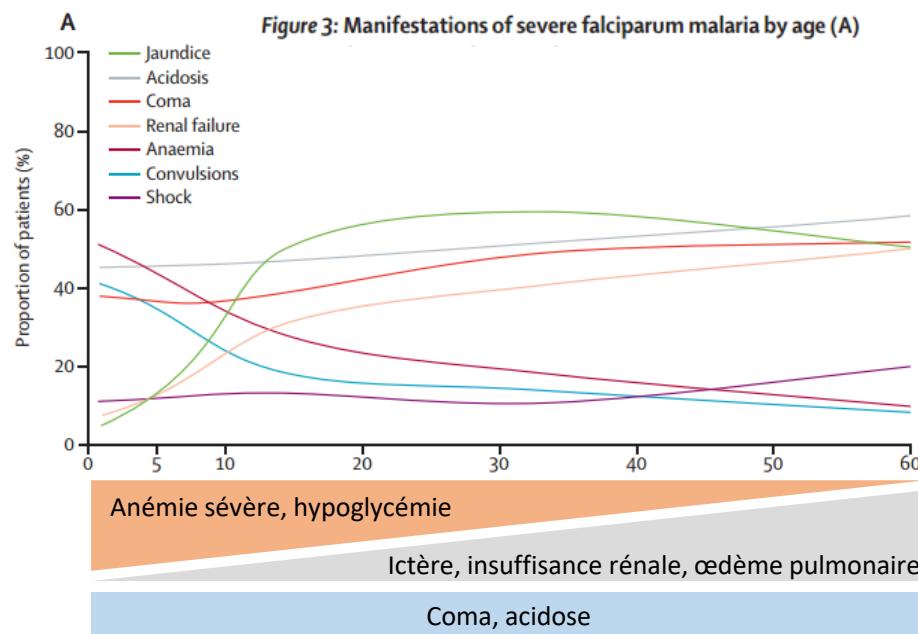


Le(s) paludisme(s)

- Accès palustre simple
- Accès grave: *P. falciparum* +++
- Accès de reviviscence: à partir d'hypnozoïtes (*P. ovale* et *P. vivax*)
- Rechute: souches résistantes ou traitement non adapté ou mal suivi
- Paludisme viscéral évolutif
- Splénomégalie tropicale idopathique ou hyperimmune

Paludisme grave

- Critères cliniques et biologiques définis par l'OMS
- *P. falciparum* (*P. vivax*, *P. knowlesi*)
- « Classifications » des accès graves en fonction de l'âge (zone d'endémie):



Qui fait un paludisme grave?

- <1 à 2% des accès palustres
- Peut survenir jusqu'à 48H après le début du traitement
- **Impossible de prévoir qui va faire un paludisme grave**
- Mais terrains à risque:
 - Absence d'immunité: voyageurs, enfants
 - Femmes enceintes, immunodéprimés

Qui fait un paludisme grave?

- <1 à 2% des accès palustres
- Peut survenir jusqu'à 48H après le début du traitement
- **Impossible de prévoir qui va faire un paludisme grave**
- Mais terrains à risque:
 - Absence d'immunité: voyageurs, enfants
 - Femmes enceintes, immunodéprimés

Compréhension du paludisme grave:

- Anticiper quel malade est susceptible de faire un paludisme grave
- Trouver des traitements innovants adjuvants aux traitements actuels

Modèles d'étude du paludisme

Modèles *in vitro*

- Souches de *Plasmodium*:
 - Adaptées à la culture *in vitro*
 - Isolats de patients
- Types cellulaires:
 - Choix du type cellulaire en fonction de l'interaction à étudier
 - Cellules endothéliales ↔ adhérence ; macrophages ↔ phagocytose
- Avantages:
 - Un seul phénomène étudié à la fois
 - Choix du stade parasitaire
 - Souche clonale
- Limites:
 - Nécessité de globules rouges et sérum
 - Éloigné de la réalité: absence de la réponse de l'hôte



Modèles *in vivo*

	Modèle murin	Modèle simien
Plasmodium	<i>P. berghei ANKA</i> (PbA): neuropaludisme <i>P. chabaudi chabaudi</i> : hyperparasitémie <i>P. vinckei</i> (<i>vinckei et petteri</i>) <i>P. yoelii</i> (<i>yoelii, killicki et nigeriensis</i>)	<i>P. coatneyi</i> <i>P. fragile</i> <i>P. knowlesi</i> <i>P. cynomolgi</i> : hypnozoïtes
Lignée/ espèce	C57BL/6, Swiss, CBA/J: sensible à PbA BALB/c: résistante à PbA	Rhesus Saïmiri



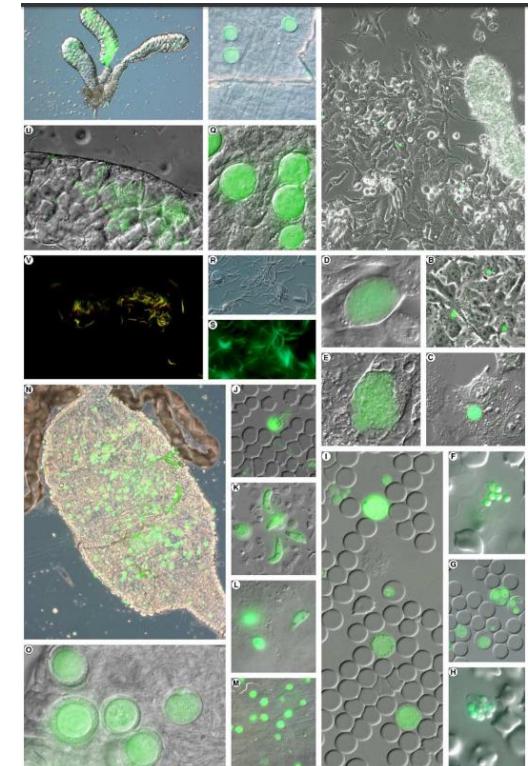
Modèles *in vivo*

- Avantages:

- Réponse de l'hôte = plus proche de la réalité
- Possibilité d'infection par des moustiques
- Isolats GFP (Green Fluorescent Protein): imagerie *in vivo*

- Limites:

- Phénomènes complexes
- Différences connues avec l'infection humaine
- Ethique



Franke-Fayard, Mol Biochem Parasitol 2004

Etudes chez l'Homme

- Souvent post-mortem
- Critères OMS difficiles à appliquer en zone d'endémie palustre:
 - *P. falciparum*
 - Mesure de la sévérité (anémie, lactates...)
 - Exclusion d'une autre cause susceptible d'être responsable de la sévérité

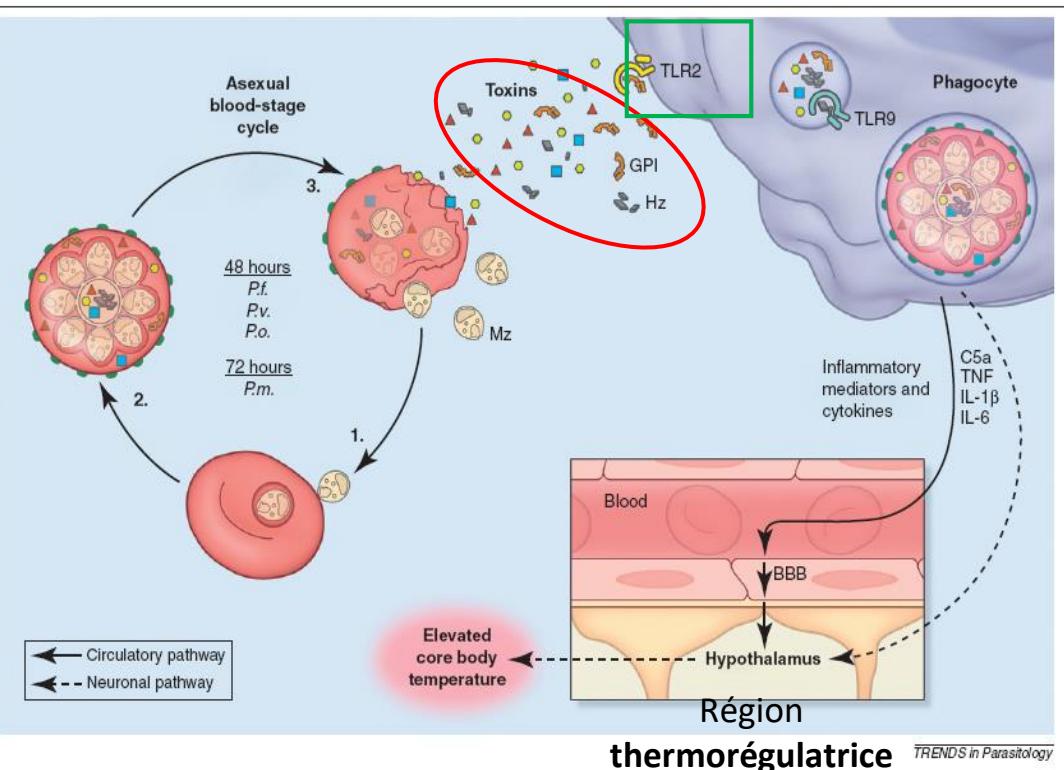
⇒ 7/31 d'enfants autopsiés et inclus pour un neuropaludisme n'avaient pas de signes histopathologiques de neuropaludisme mais présentaient une autre cause de décès

Taylor, *Nat Med*, 2004

Physiopathologie du paludisme

Fièvre

- Mécanisme:



Au cours du cycle érythrocytaire,
éclatement des hématoïdes



Libération de Glycosyl
PhosphatidylInositol (GPI), Hémozoine (Hz)



Libération cytokines et médiateurs de
l'inflammation



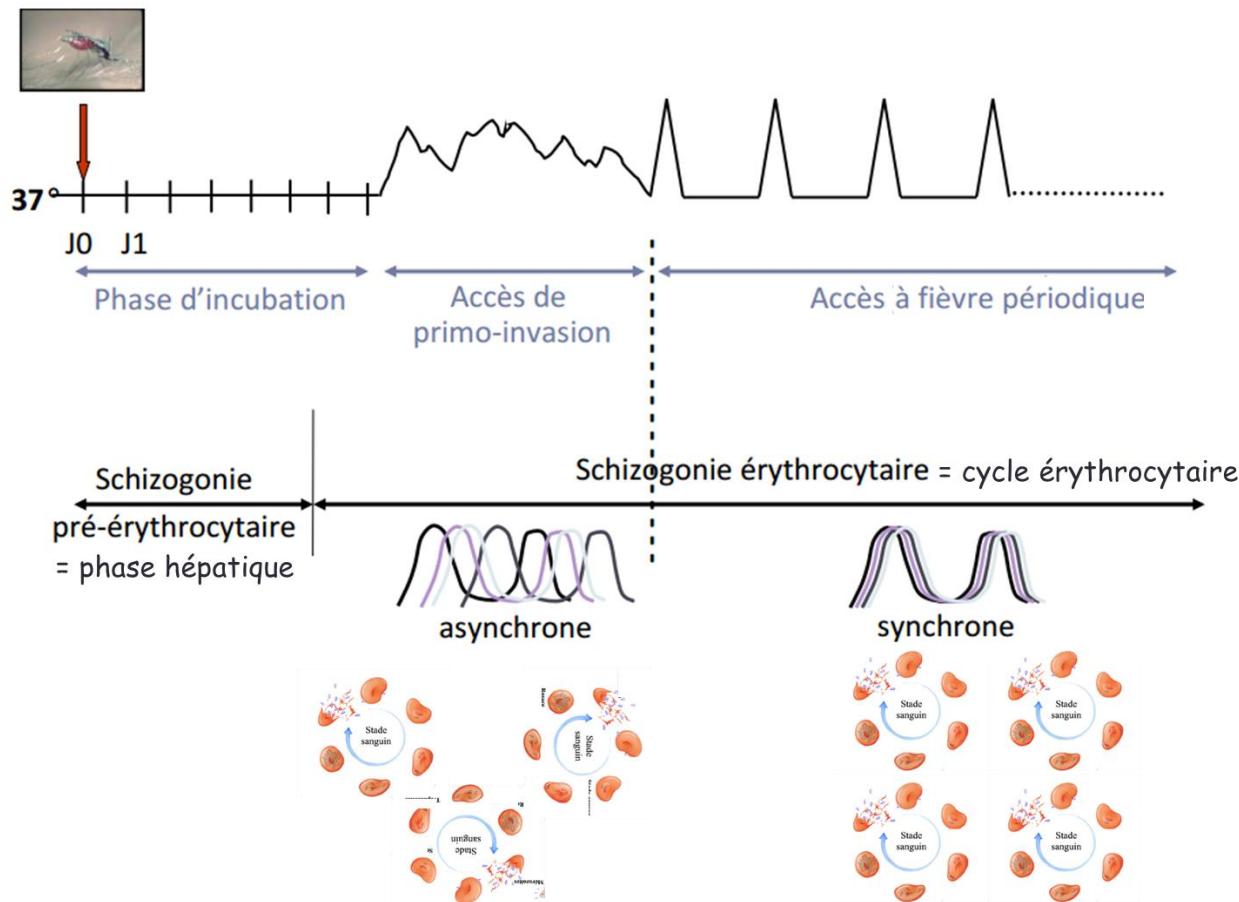
Action sur la région thermorégulatrice
de l'hypothalamus



Fièvre

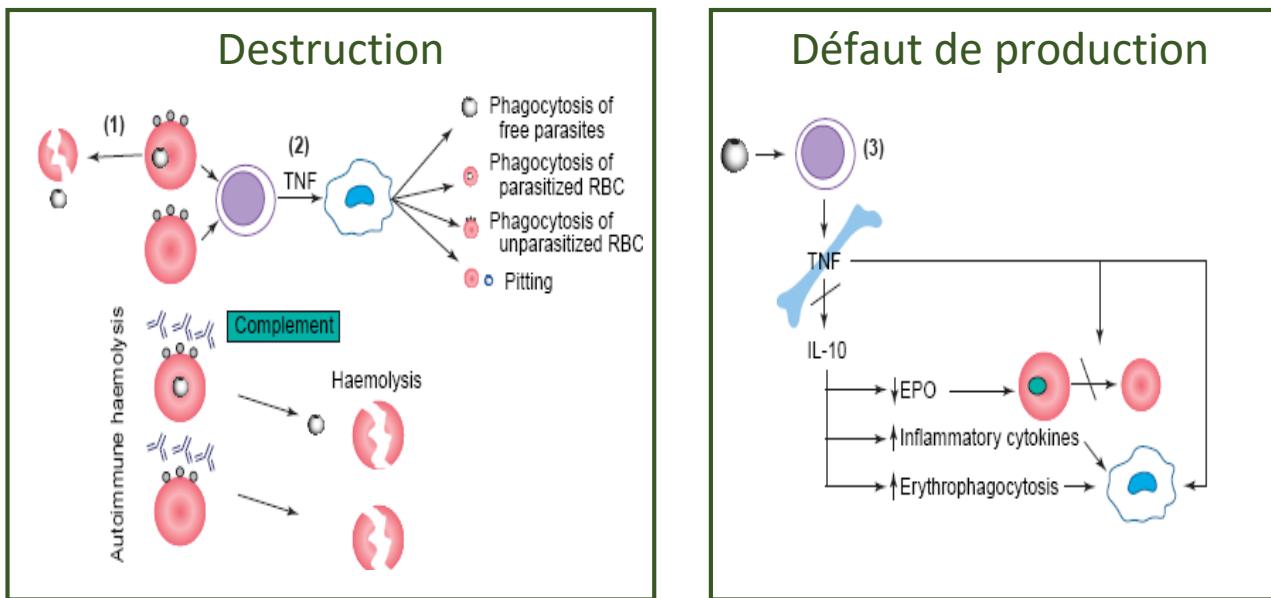
Fièvre

- Péodicité



Anémie

Multifactoriel



Key

- | | |
|-------------------|----------------------------------|
| Parasitized RBC | IgG |
| Unparasitized RBC | Haemolysed RBC |
| RBC precursor | Parasite-related antigen |
| Activated T cell | <i>P. falciparum</i> trophozoite |
| Macrophage | Bone marrow |

Menendez, *Parasitol Today*, 2000

Spécificité du paludisme grave

Plusieurs phénomènes conduisent au paludisme grave
Physiopathologie complexe!

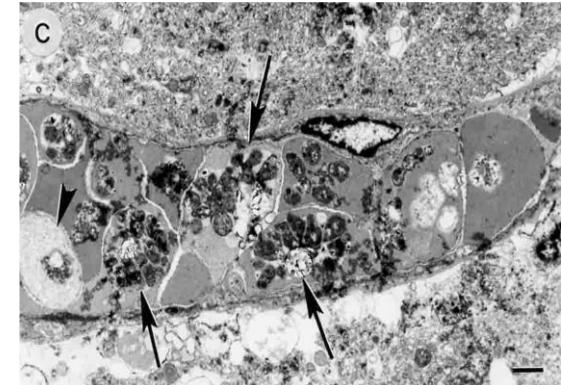
1. **Phénomène mécanique:** séquestration des érythrocytes parasités
2. **Réaction inflammatoire:** activation du système immunitaire à médiation cellulaire
3. **Rupture de la barrière hémato-encéphalique (BHE):** neuropaludisme

I- Phénomène mécanique

1- Cytoadhérence des érythrocytes parasités aux cellules endothéliales

- Observation microscopique: schizontes absents de la circulation sanguine périphérique
- Stades âgés localisés dans les capillaires profonds:
 - Cerveau
 - Poumons
 - Reins

Ex: capillaire cérébral



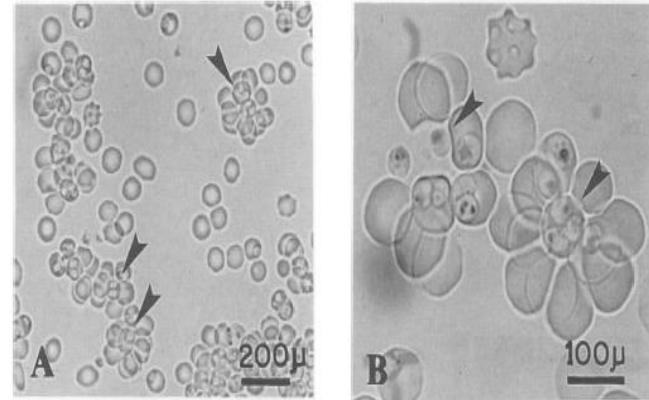
Hématies parasitées,
stade schizonte

Pongponratn, Am J Trop Med Hyg, 2003

→ Séquestration des stades âgés

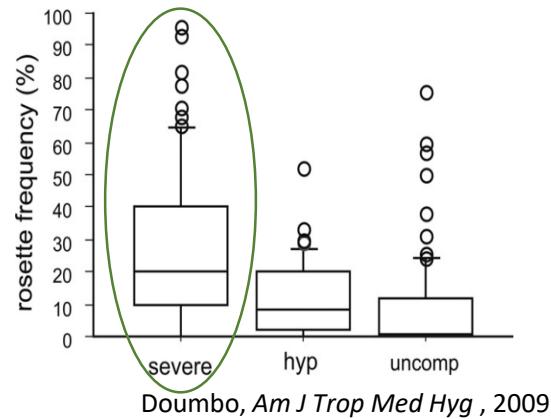
2- Phénomène de *Rosetting*

- Liaison d'un érythrocyte parasité à des érythrocytes sains



Udomsangpetch, *Infect Immun*, 1992

- Capacité à former des rosettes en fonction du type d'accès palustre:



Plus de rosetting au cours des paludismes graves

3- Phénomène de Clumping

- Liaison d'un érythrocyte parasité à d'autres érythrocytes parasités via des plaquettes
- Plaquettes jouent le rôle de pont entre les érythrocytes parasités

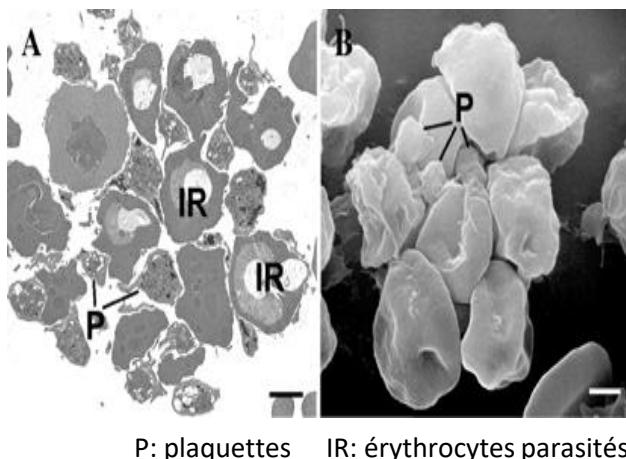


Table 1. Association of parasite phenotypes with disease severity

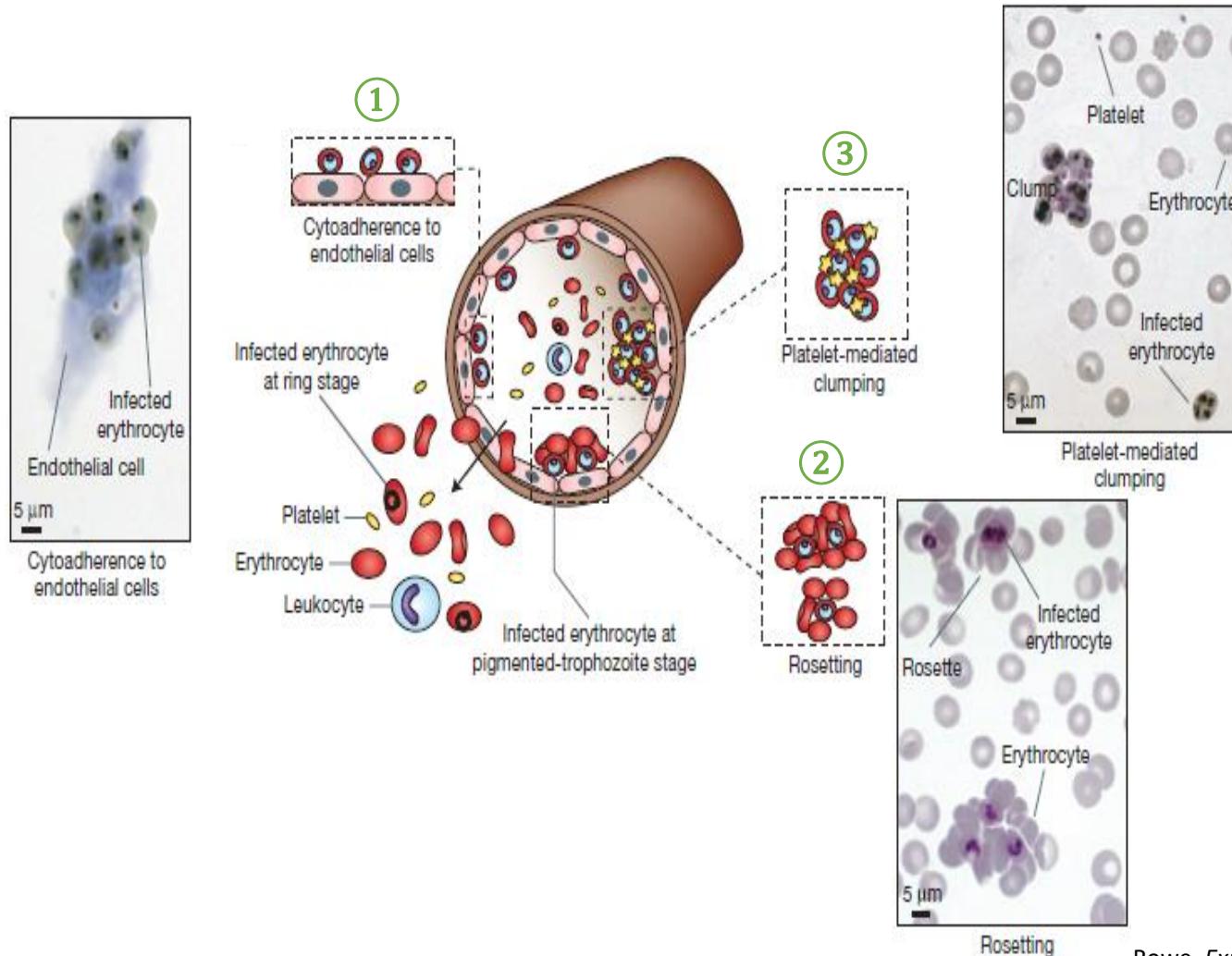
Parasite phenotype	Expression, %		P (severe vs. mild)
	Severe disease	Mild disease	
Clumping in PRP	10.6 (27.5–3.6)	4.3 (12.9–0.6)	0.004*
Platelet-mediated clumping	8.1 (19.6–2.5)	3.6 (10.8–0.0)	0.01*
			0.035**
Rosetting	6.5 (34.9–2.0)	4.1 (10.8–0.9)	0.02*
			0.054**

The median of the percentage of infected erythrocytes expressing the respective phenotype is given, followed in parentheses by the 75th to 25th percentiles. Comparisons were made by using Mann-Whitney *U* test (*) and by multinomial regression (**) (using SPSS Version 9.0 for Windows 95).

Pain, PNAS, 2000

→ Plus de clumping au cours des paludismes graves

Trois phénomènes majeurs...

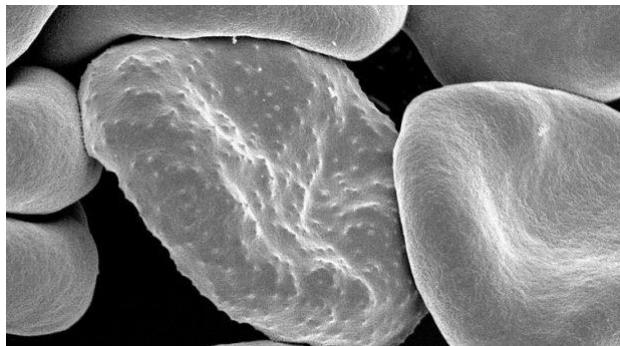


Rowe, *Expert Rev Mol Med* 2009

Quelles molécules impliquées?

4- Molécules de l'adhérence

- Molécules parasitaires exprimées à la surface des érythrocytes parasités: PfEMP1, KAHRP (Knob-Associated Histidine-Rich Protein), ...
- Localisées au niveau des **knobs**: protubérances à la surface des globules rouges parasités

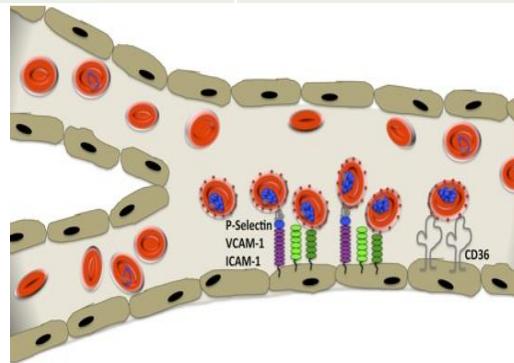


- *P. falciparum* erythrocyte membrane protein-1 **PfEMP-1**
 - Protéines de hauts poids moléculaires
 - Codées par la famille des gènes *var* du *Plasmodium*
 - Variations antigéniques = échappement au système immunitaire de l'hôte
 - Rôle important dans le cytoadhérence

4- Molécules de l'adhérence

- Récepteurs exprimés sur les cellules humaines:

Phénomène	Type cellulaire	Récepteur
Cytoadhérence	Cellules endothéliales	InterCellular Adhesion Molecule – 1 (ICAM-1), Endothelial Protein C Receptor (EPCR), CD36...
Rosetting	Érythrocytes non infectés	Complement Receptor 1 (CR1)...
Clumping	Plaquettes	P-sélectine...



- Expression au niveau des capillaires cérébraux mais pas uniquement

5- Conséquences de l'adhérence

- Bénéfique pour le parasite: maturation du parasite en évitant l'épuration par la rate
- Délétère pour l'hôte: **obstruction mécanique**

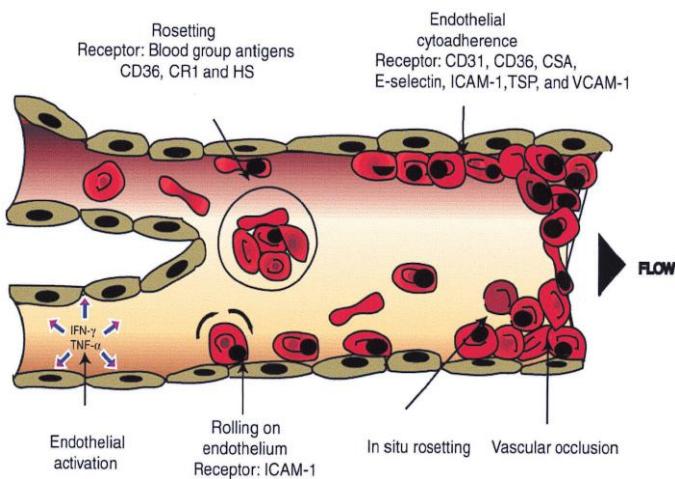


Illustration Dr Andreas Heddini

- Séquestration => activation des cellules endothéliales => surexpression des récepteurs => augmentation de l'adhérence: **amplification du phénomène**

II- Réaction inflammatoire

1- Accumulation de cellules de l'immunité

- Activation des cellules endothéliales
- Production locale de toxines:
 - **Glycosilphosphatidylinositol** (GPI) du parasite: permet l'ancrage de diverses molécules aux membranes cellulaires
 - **Hémozoïne**: Cristal issu de la dégradation de l'hémoglobine
 - **Histones**: effet extra-chromatine (localisation chromatine: régulation transcription)
- Recrutement et accumulation de leucocytes et plaquettes
- Activation de ces cellules
- Production de médiateurs pro-inflammatoires: cytokines, ROS, microvésicules membranaires, NO...



Réponse inflammatoire locale et systémique

2- Cytokines pro-inflammatoires

- Tumor Necrosis Factor- α :
 - Taux en TNF- α plus élevés en cas de paludisme grave
 - Activation des cellules endothéliales
 - Augmentation de l'expression des récepteurs impliqués dans l'adhérence
- Interferon- γ
- Lymphotoxine (LT)
- Interleukine-1, Interleukine-6
- ...

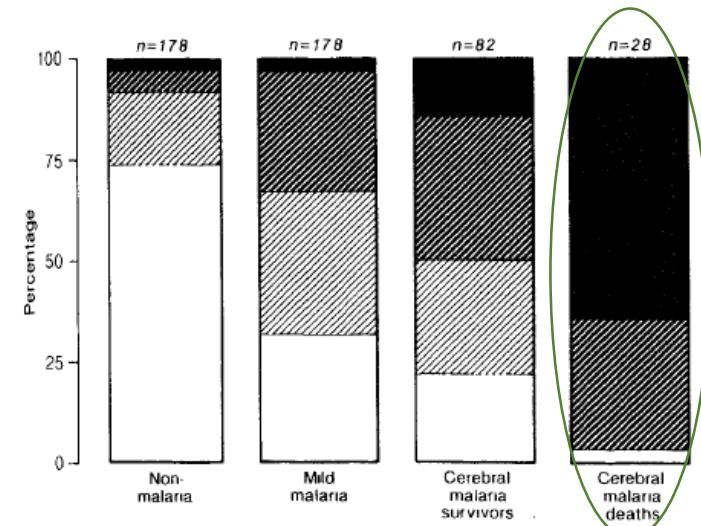


Fig 1—Frequency distribution of plasma TNF levels measured within 4 h of presentation.

TNF (pg/ml) ■ > 250; ▒ 50–250; ▓ 10–50; □ < 10.

Kwiatkowski, *Lancet*, 1990

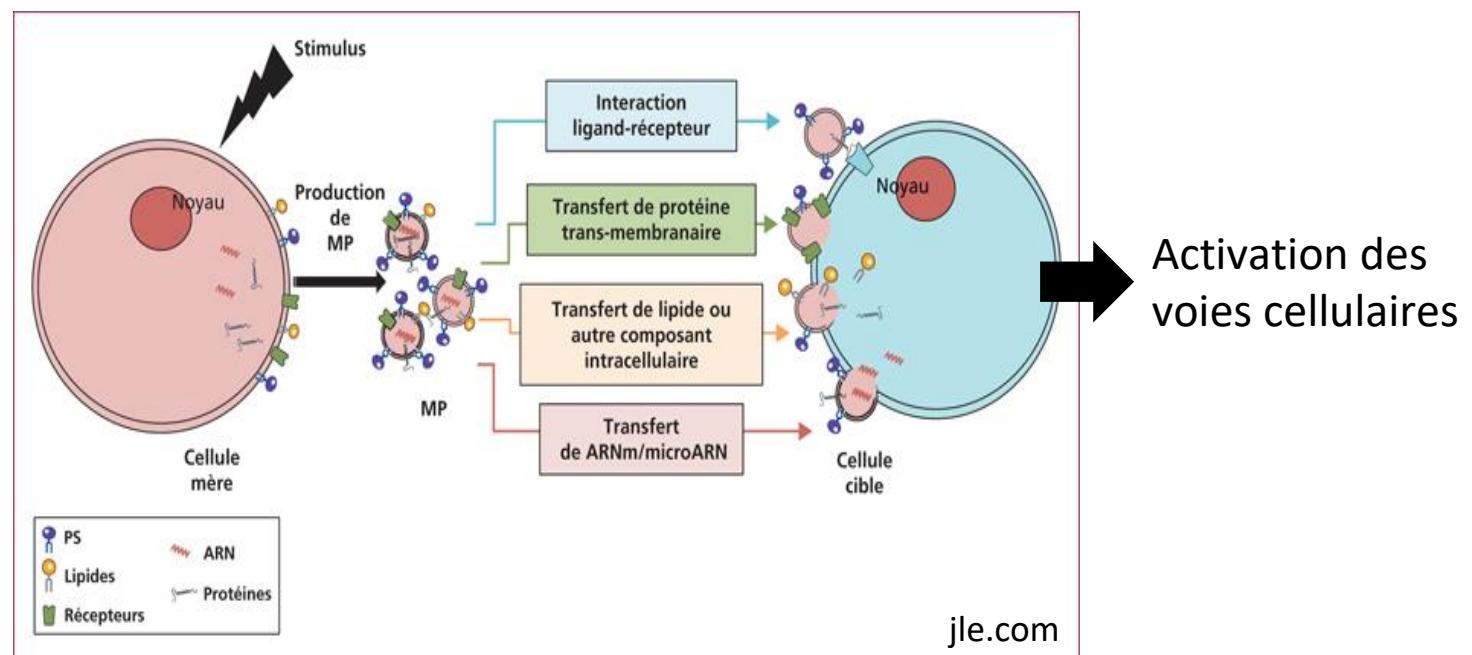
Mandala, *Vaccine Immunol* 2017



Réponse pro-inflammatoire excessive au cours du paludisme sévère

3- Les microvésicules membranaires

- = microparticules
- Eléments issus du remodelage cellulaire au cours de processus physiologiques ou pathologiques

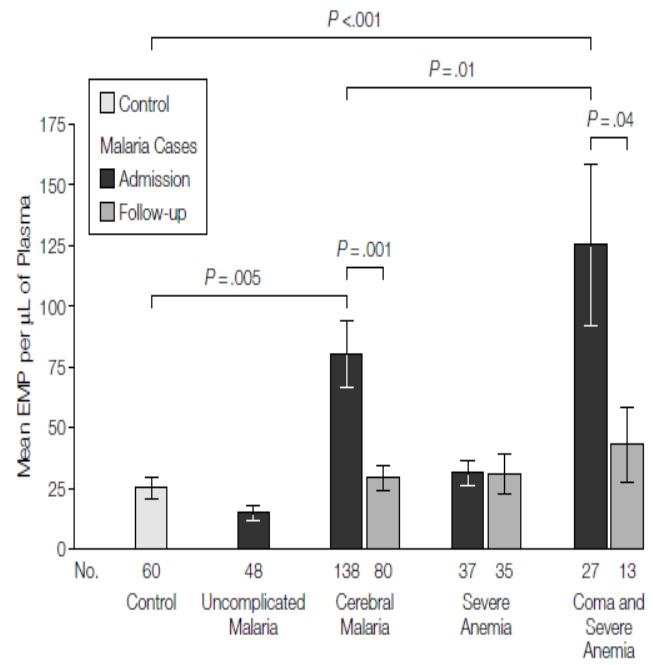


- Participation à la signalisation intercellulaire

3- Les microvésicules membranaires

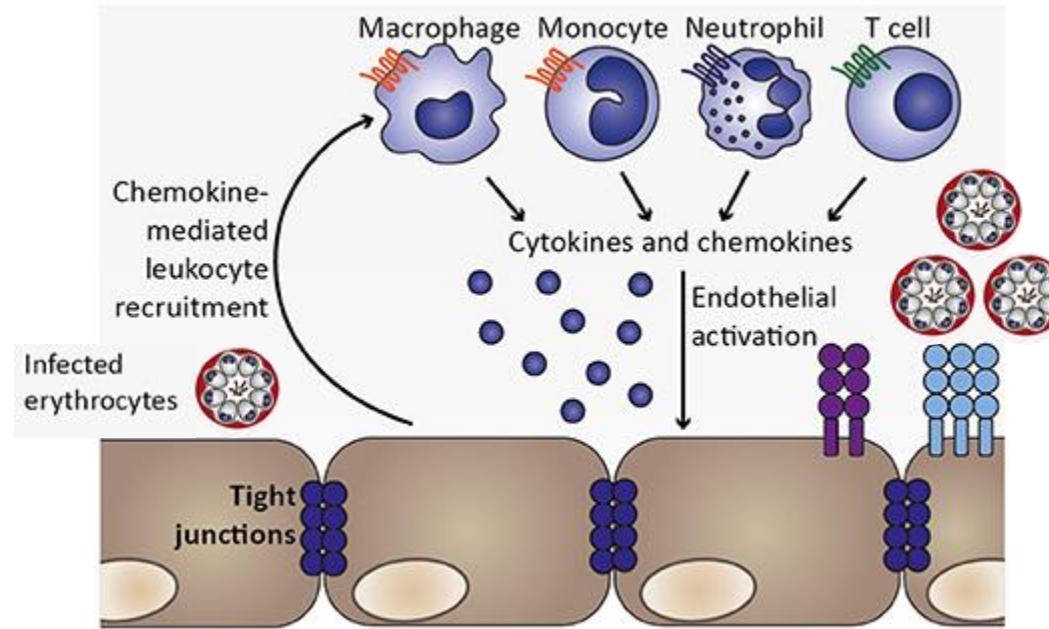
- TNF α favorise la formation de microvésicules membranaires
- A partir des cellules endothéliales, plaquettes, globules rouges parasités, monocytes...
- Augmentation du nombre de microvésicules circulantes au cours du neuropaludisme
- Conséquences:
 - Effet pro-inflammatoire
 - Altération des cellules endothéliales

Figure. Numbers of Endothelial Microparticles (EMPs) in Plasma of Patients With Malaria, at Admission and at Follow-up Days 19-21



Combes, JAMA, 2004

4- Boucle d'amplification du phénomène



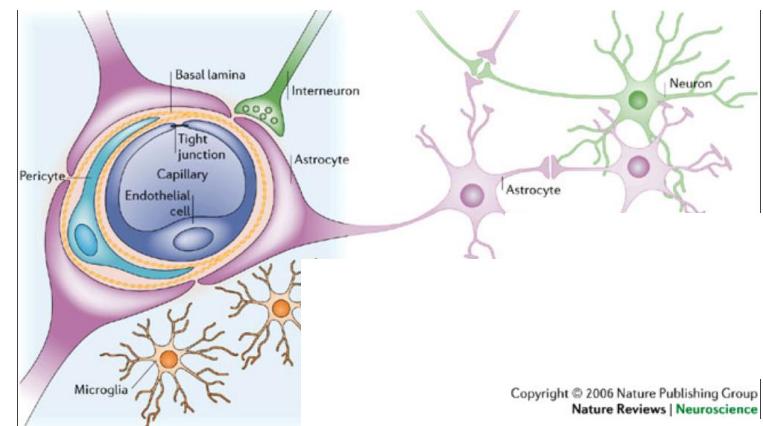
D'après Dunst, *Front Cell Infect Microbiol* 2017

→ Inflammation locale et activation des cellules endothéliales

III- Rupture de la barrière hémato-encéphalique

1- Rôle de la BHE

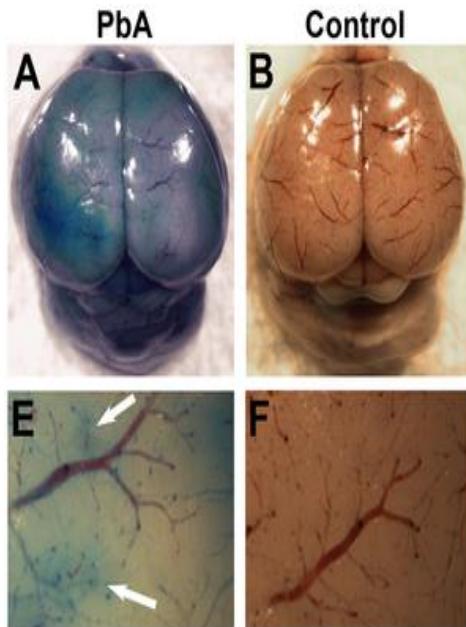
- Barrière protectrice
- « Tight junction »: jonctions cellulaires serrées = filtre
 - Passage intercellulaire limité
 - Nutriments activement transportés
- Péricytes, cellules gliales et astrocytes
 - Protection neuronale
 - Homéostasie cérébrale



2- Les observations

Modèle murin

- Test au Bleu d'Evans



Nacer et al., PLoS Pathog, 2012

Etudes chez l'Homme

- Patients atteints de neuro-paludisme
- Comparaison sévérité de l'œdème cérébral en fonction évolution

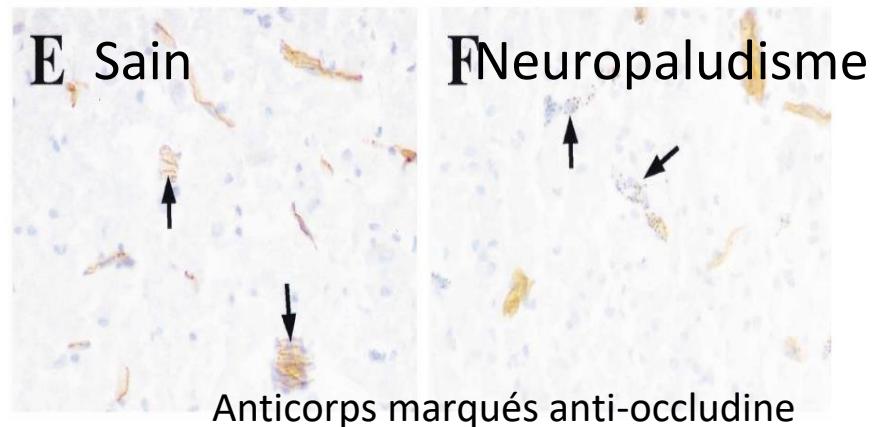
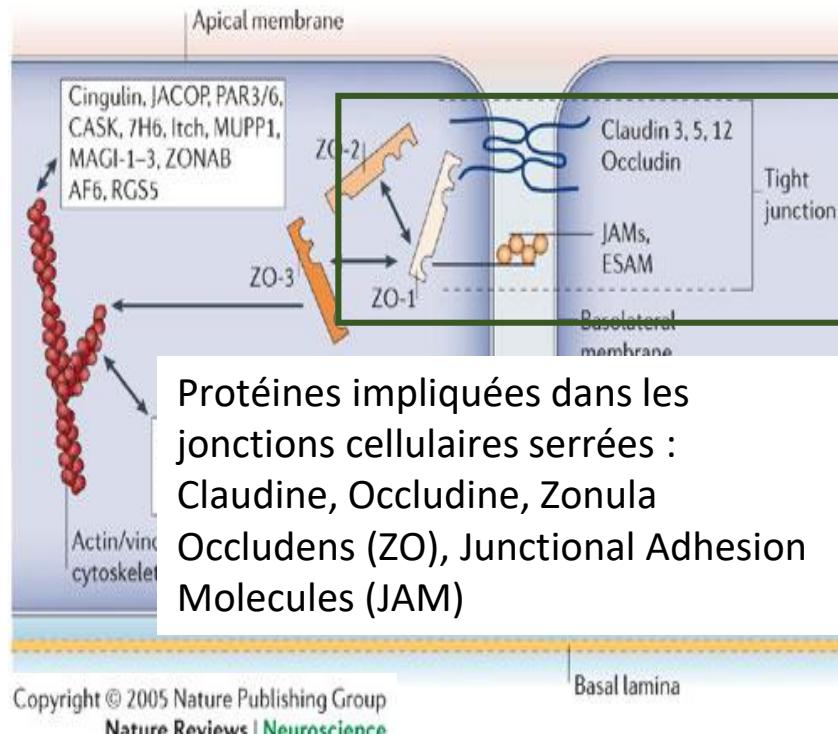
Finding on MRI or EEG	Patients Who Survived (N=143)		Patients Who Died (N=25)		Single Covariate Regression Analysis		Multiple Regression Analysis†	
	Odds Ratio (95% CI)	P Value‡	Odds Ratio (95% CI)	P Value‡	Odds Ratio (95% CI)	P Value‡	Odds Ratio (95% CI)	P Value‡
Abnormality on MRI								
Brain-volume indicator								
Severely increased brain volume (no.)§	39	21	14.0 (4.5–43.4)	<0.001	7.5 (2.1–26.9)	<0.001		

Seydel, N Engl J Med 2015



Perméabilité de la BHE au cours du neuropaludisme

3- Jonctions cellulaires serrées

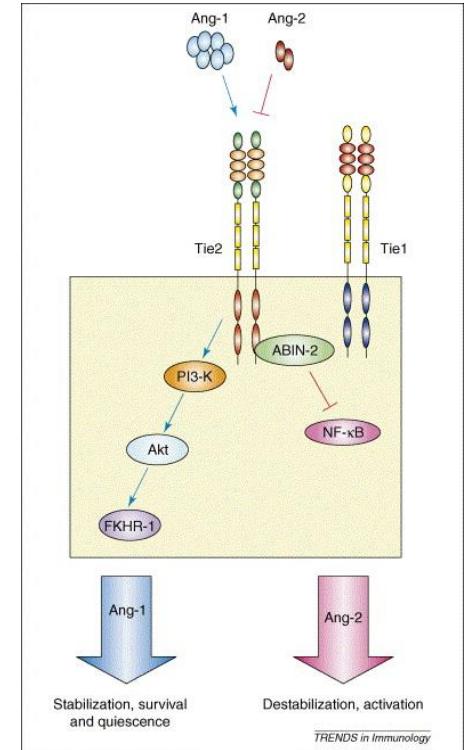
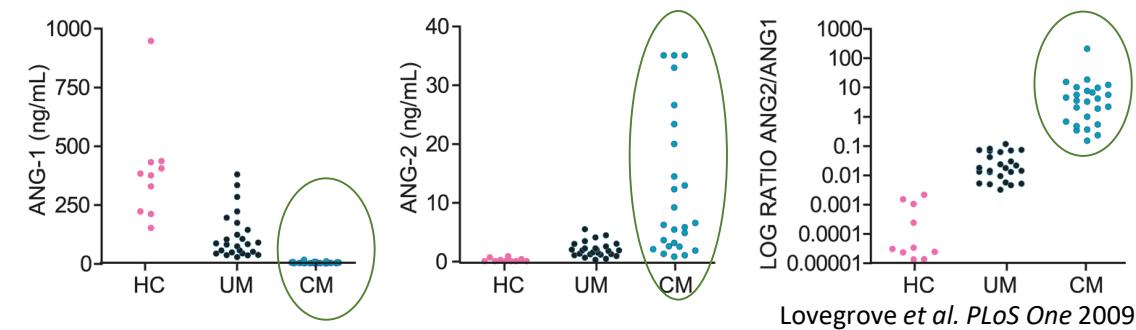


Brown, Am J Trop Med Hyg, 2001

Diminution de l'expression des molécules impliquées dans les jonctions cellulaires serrées au cours du neuropaludisme
=> perméabilité de la BHE

4- Système angiopoïétines-Tie2

- Angiopoéitine-1: stabilise l'endothélium
 - Inhibition apoptose
 - Réduction expression des récepteurs cellulaires
 - Augmentation de l'expression des jonctions cellulaires
- Angiopoéitine-2: déstabilisation de l'endothélium
 - Augmentation de la perméabilité vasculaire
 - Activation des cellules endothéliales

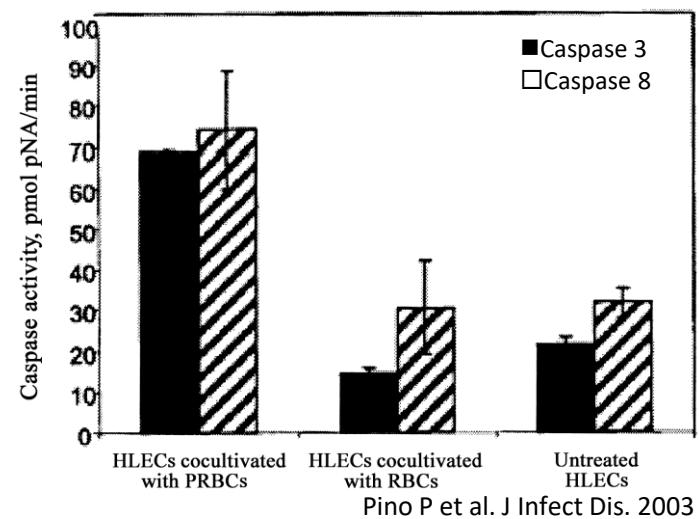


Fiedler et al. Trends Immunol 2009

Ratio angiopoïétine 1 / angiopoïétine 2 augmenté au cours du neuropaludisme => perméabilité de la BHE

5- Apoptose des cellules endothéliales

- Interaction hématies parasitées et cellules endothéliales
⇒ augmentation de l'activité des caspases (protéases impliquées dans l'apoptose)
- Interaction par cytoadhérence, contact direct ou par des facteurs solubles



Biteghe Bi Essone *BMC Infect Dis* 2017

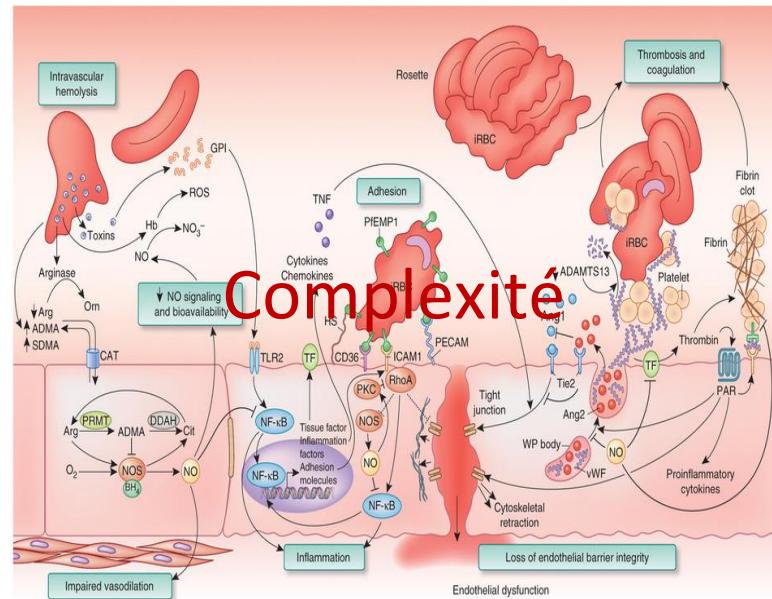


Induction de l'apoptose des cellules endothéliales
Perméabilité de la BHE

Pour conclure

La physiopathologie du paludisme grave...

- Plusieurs phénomènes complexes s'ajoutent et sont liés
- Beaucoup d'hypothèses...
 - Parfois opposées
 - Modèles dépendants
- Hypothèses fortes:
 - Séquestration
 - Inflammation
 - Rupture de la barrière hémato-encéphalique





World Malaria Day 2023

25 April 2023

Mwangi Kirubi, PMI Impact Malaria
Credits