



Nantes  
Université



MASTER SCIENCES DU MEDICAMENT  
U.E. MICROBIOLOGIE - PATHOLOGIES

11 avril 2024

# Physiopathologie du paludisme

Rose-Anne LAVERGNE  
Biologiste, MCU-PH

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

[rose-anne.lavergne@univ-nantes.fr](mailto:rose-anne.lavergne@univ-nantes.fr)

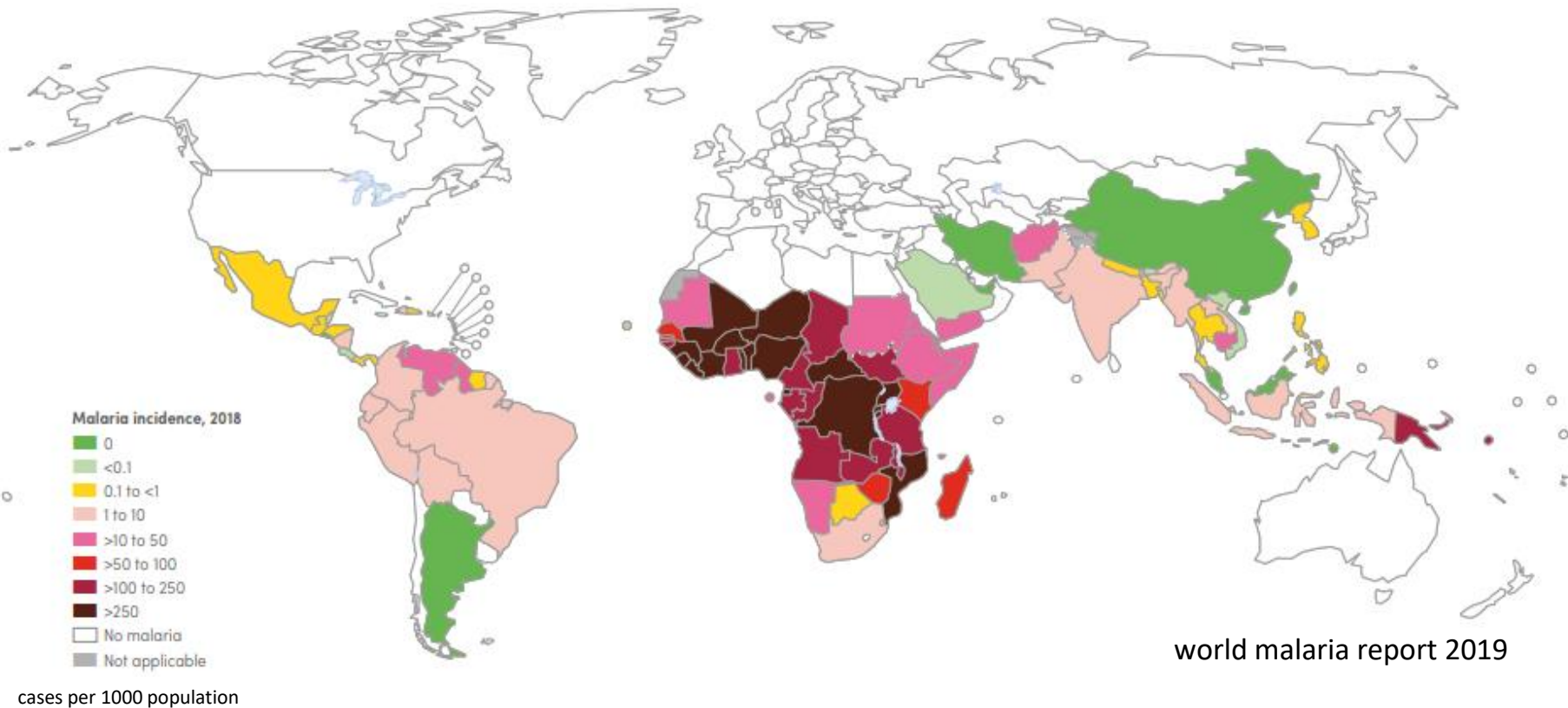


# Introduction

# Paludisme

- Parasitose
- Parasite du genre *Plasmodium*
- Transmission par piqûre d'un moustique, l'anophèle femelle → maladie vectorielle
- Potentiellement mortelle: 608 000 décès en 2022 (OMS)
- Concerne les populations vivant en zone d'endémie et les personnes se déplaçant en zone d'endémie

# Répartition mondiale

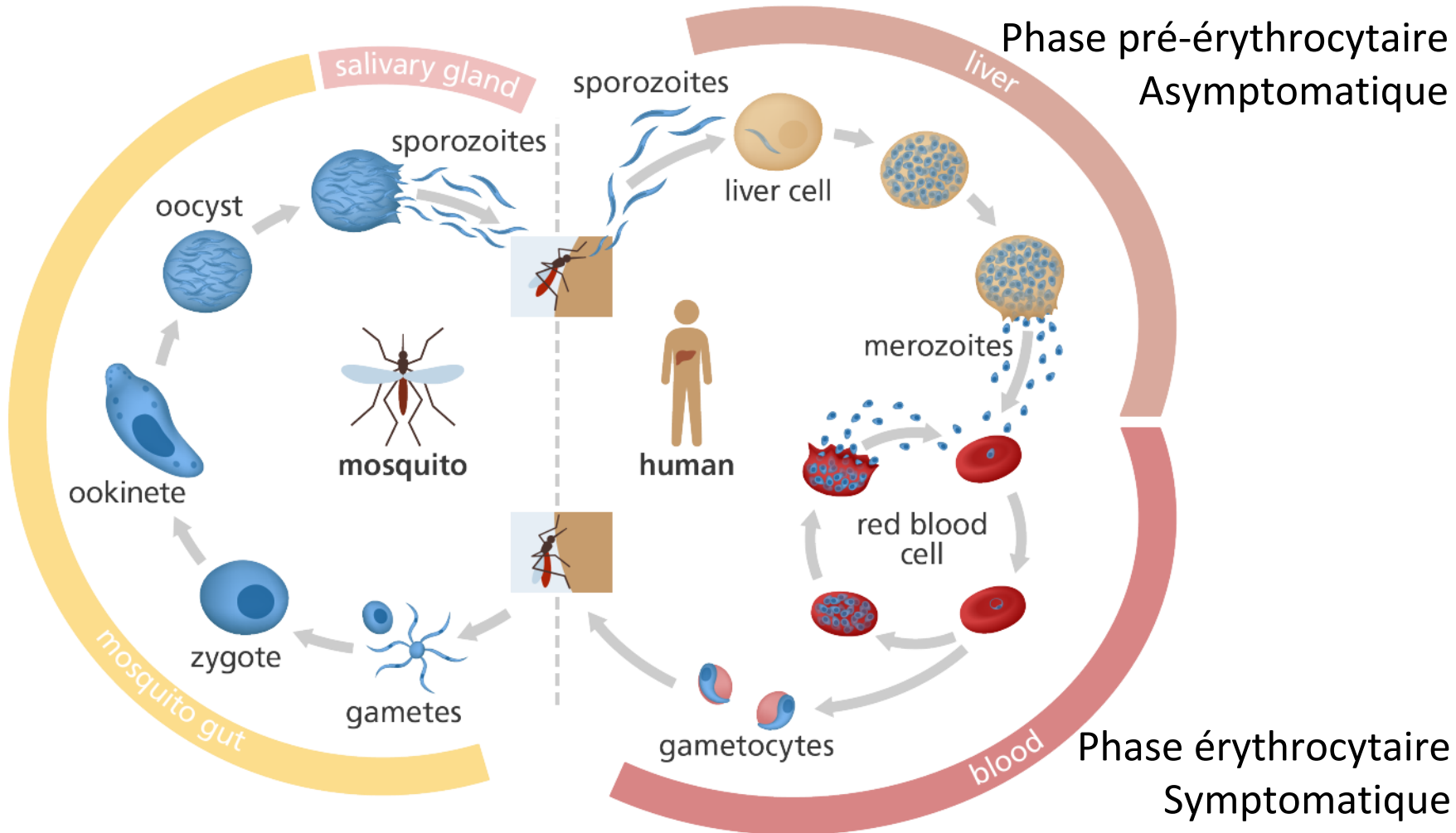


Première endémie parasitaire dans le monde  
≈ ½ population mondiale exposée  
249 million de cas en 2022 (OMS)

# 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

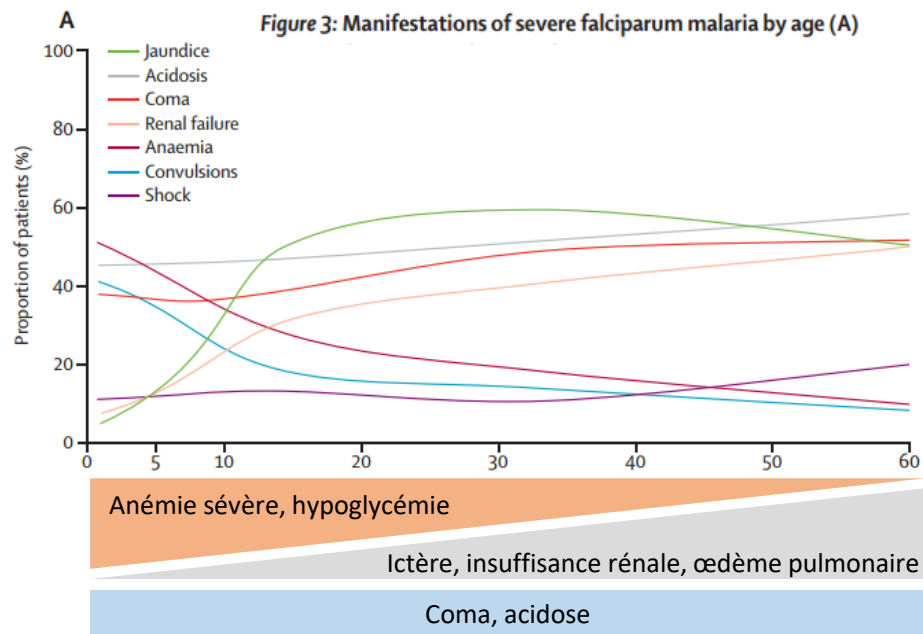


# Le(s) paludisme(s)

- 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

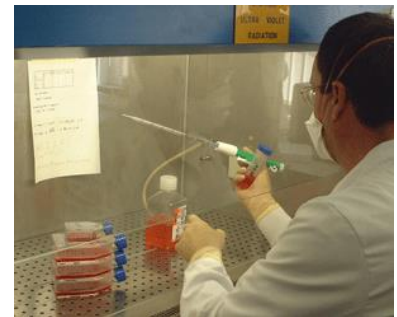
## Compréhension du paludisme grave:

- 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



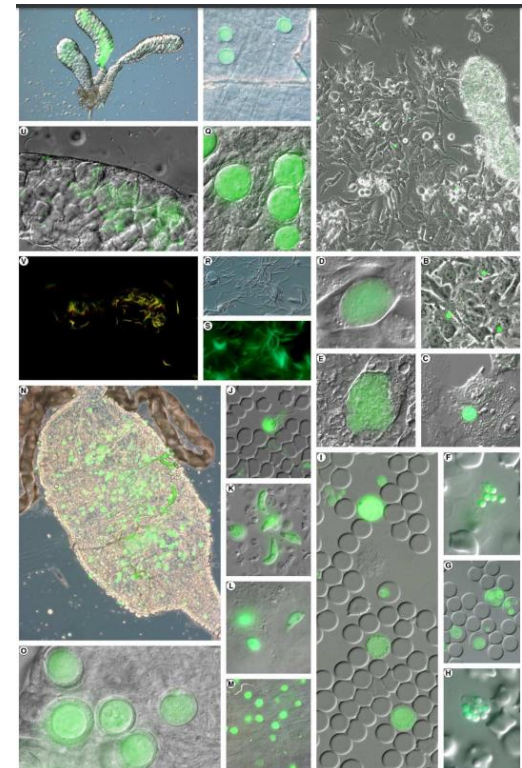
# Modèles *in vivo*

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



# 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

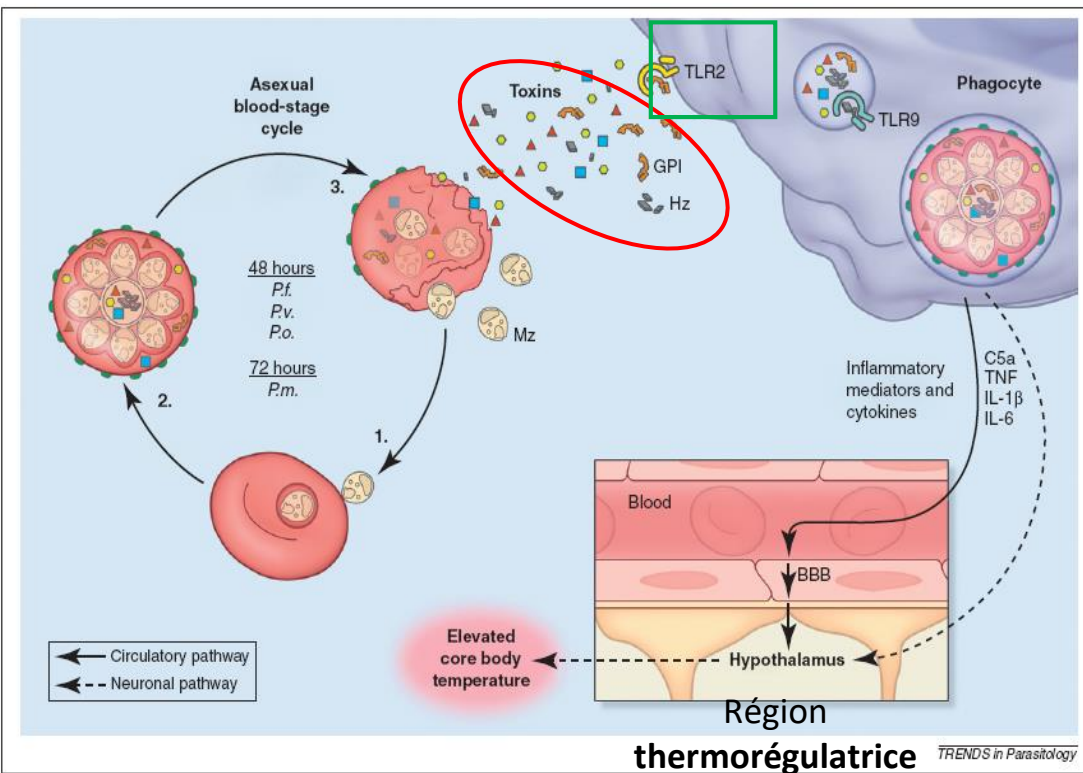
Taylor, *Nat Med*, 2004

# Physiopathologie du paludisme



# Fièvre

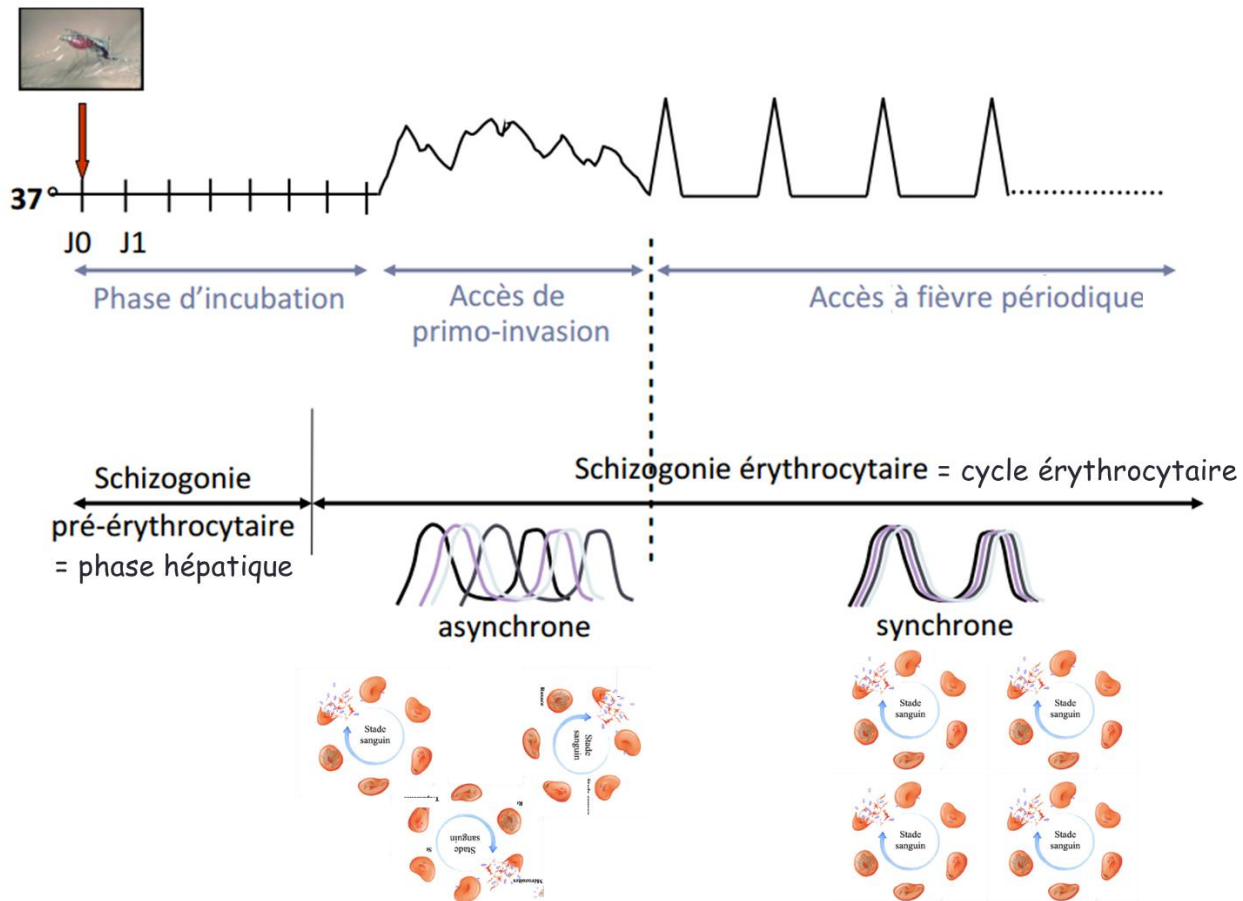
- Mécanisme:



Au cours du cycle érythrocytaire,  
éclatement des hématies  
↓  
Libération de Glycosyl  
Phosphatidylinositol (GPI), Hémotoine (Hz)  
↓  
Libération cytokines et médiateurs de  
l'inflammation  
↓  
Action sur la région thermorégulatrice  
de l'hypothalamus  
↓  
Fièvre

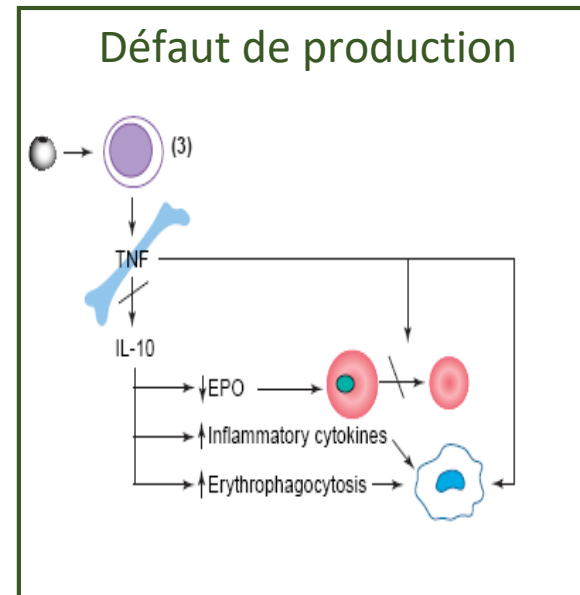
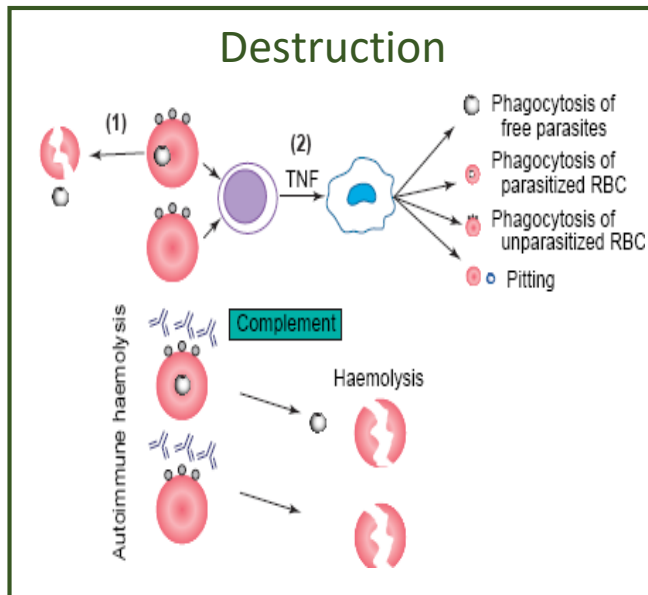
# Fièvre

- Périodicité



# 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!

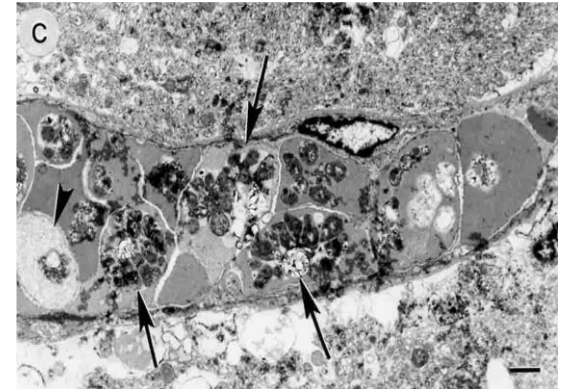
1. **Phénomène mécanique**: séquestration des érythrocytes parasités
2. **Réaction inflammatoire**: activation du système immunitaire à médiation cellulaire
3. **Rupture de la barrière hémato-encéphalique (BHE)**: neuropaludisme

# 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

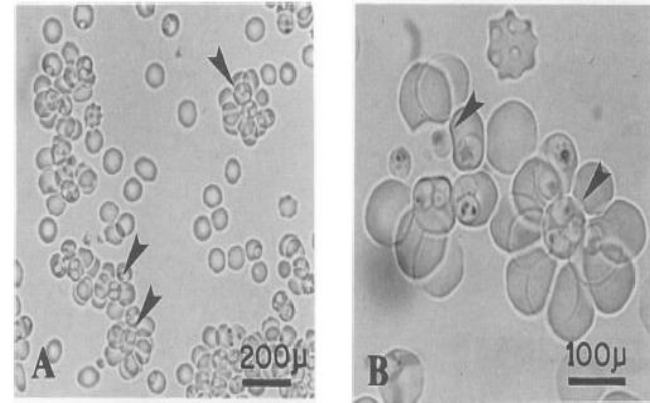
Pongponratn, *Am J Trop Med Hyg*, 2003



Séquestration des stades âgés

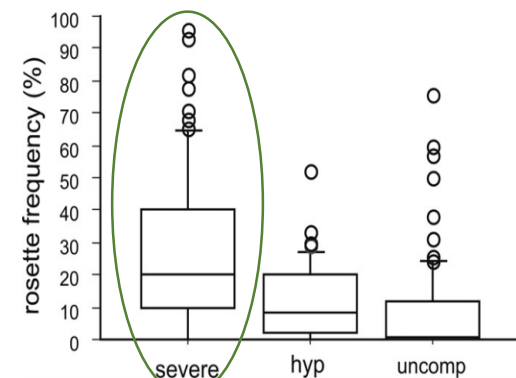
## 2- Phénomène de *Rosetting*

- 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:



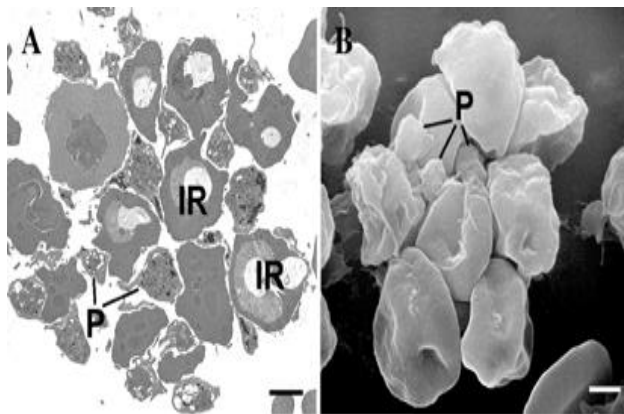
Doumbo, *Am J Trop Med Hyg*, 2009



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



P: plaquettes IR: 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**

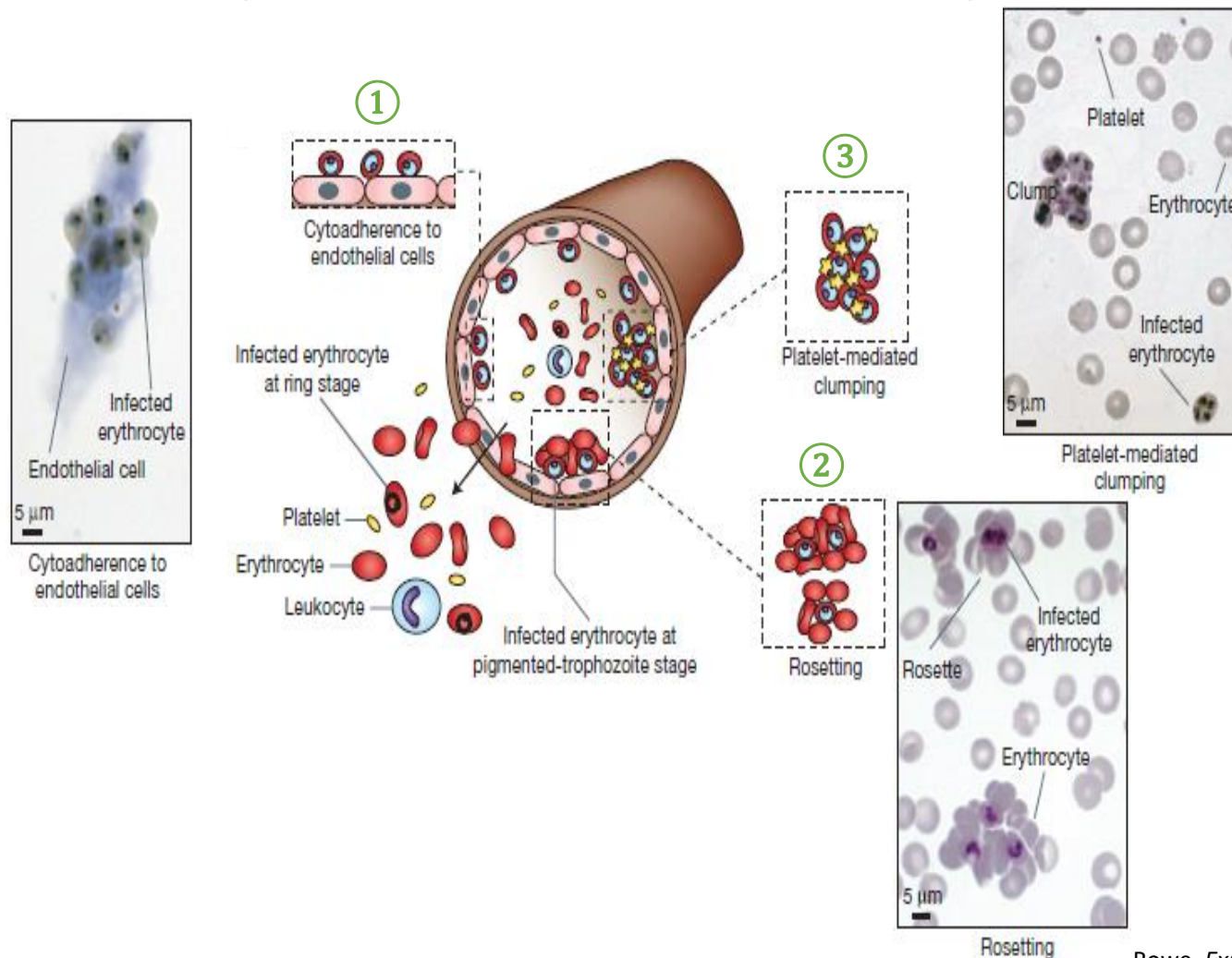
The median of the percentage of infected erythrocytes expressing the respective phenotype is given, followed in parentheses by the 75th to 25th percentiles. Comparisons were made by using Mann–Whitney *U* test (\*) and by multinomial regression (\*\*) (using spss Version 9.0 for Windows 95).

Pain, *PNAS*, 2000

➔ Plus de clumping au cours des paludismes graves



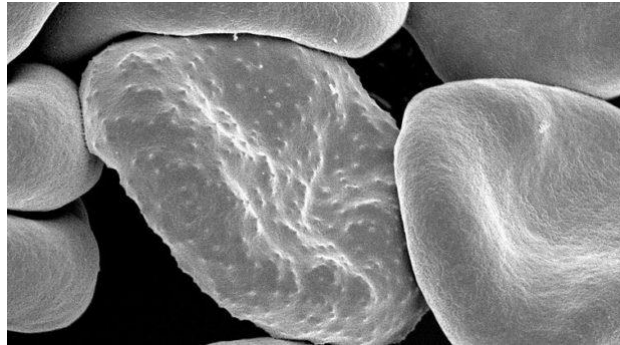
# Trois phénomènes majeurs...



Quelles molécules impliquées?

# 4- Molécules de l'adhérence

- Molécules parasites 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

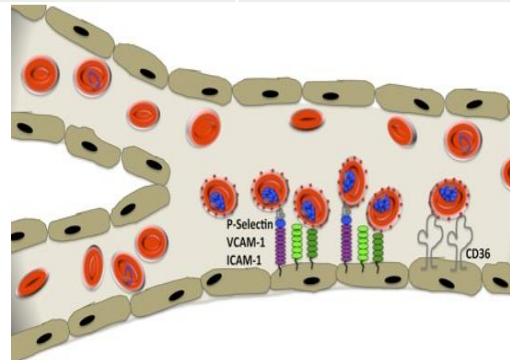


- *P. falciparum* erythrocyte membrane protein-1 **PfEMP-1**
  - Protéines de hauts poids moléculaires
  - Codées par la famille des gènes *var* du *Plasmodium*
  - Variations antigéniques = échappement au système immunitaire de l'hôte
  - Rôle important dans le cytoadhérence

# 4- Molécules de l'adhérence

- Récepteurs exprimés sur les cellules humaines:

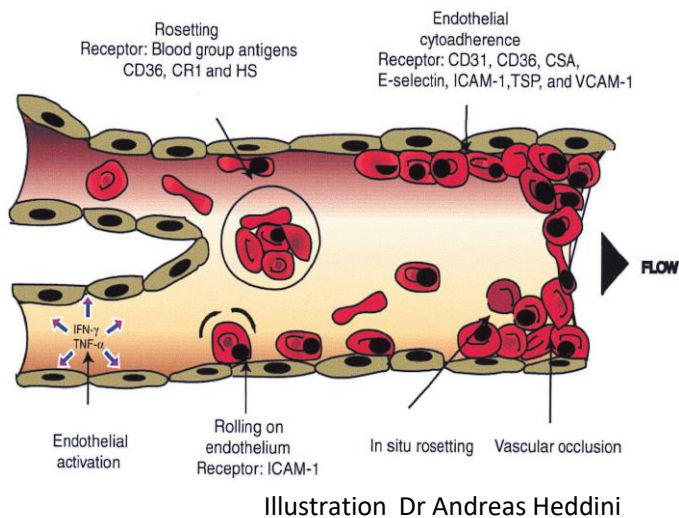
Phénomène	Type cellulaire	Récepteur
Cytoadhérence	Cellules endothéliales	InterCellular Adhesion Molecule – 1 (ICAM-1), Endothelial Protein C Receptor (EPCR), CD36...
Rosetting	Érythrocytes non infectés	Complement Receptor 1 (CR1)...
Clumping	Plaquettes	P-sélectine...



- 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**



- Diminution du flux sanguin
- Diminution de la perfusion tissulaire  
=> hypoxémie => production acide lactique
- Diminution de l'élimination des déchets toxiques  
=> dommages tissulaires

- 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- $\alpha$ :
  - Taux en TNF- $\alpha$  plus élevés en cas de paludisme grave
  - Activation des cellules endothéliales
  - Augmentation de l'expression des récepteurs impliqués dans l'adhérence
- Interferon- $\gamma$
- Lymphotoxine (LT)
- Interleukine-1, Interleukine-6
- ...

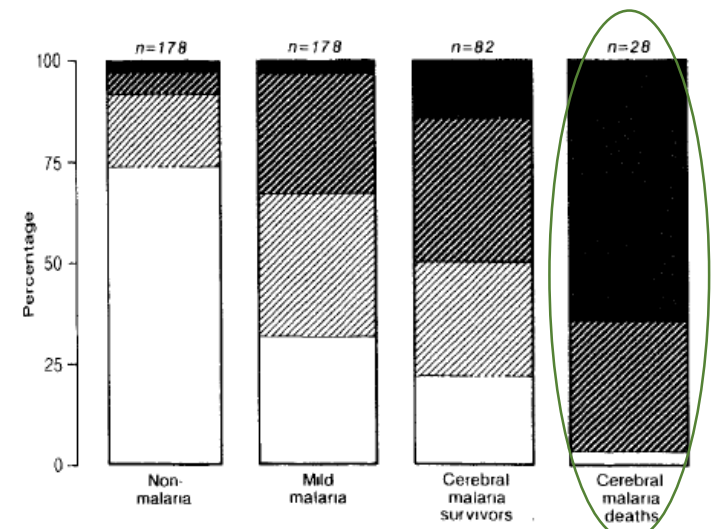


Fig 1—Frequency distribution of plasma TNF levels measured within 4 h of presentation.

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

Kwiatkowski, *Lancet*, 1990

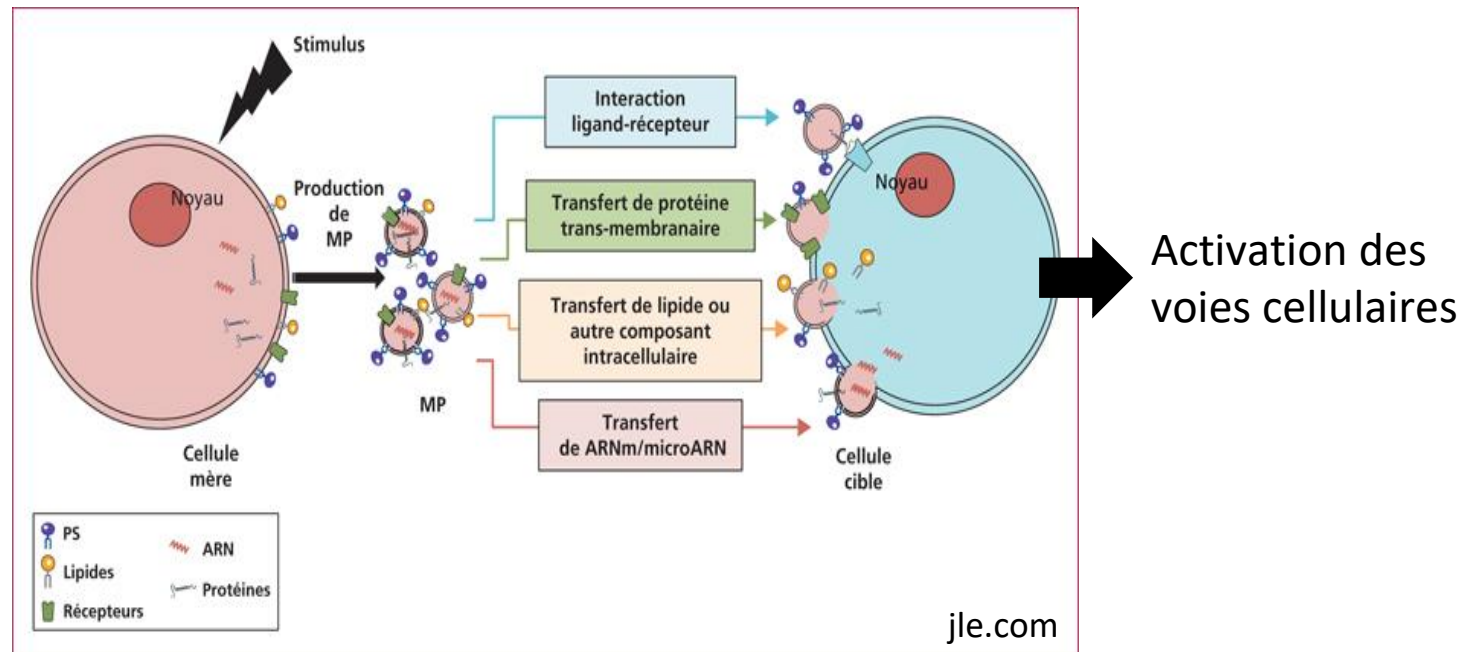
Mandala, *Vaccine Immunol* 2017



Réponse pro-inflammatoire excessive au cours du paludisme sévère

# 3- Les microvésicules membranaires

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



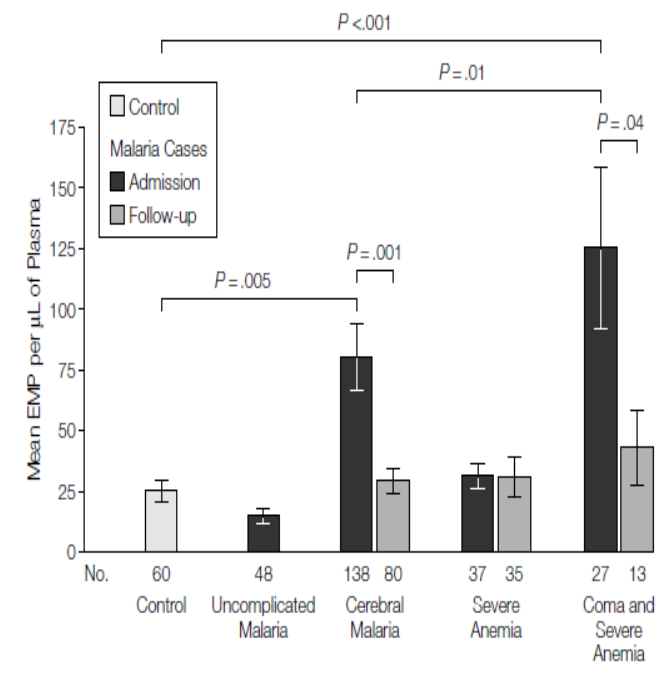
- Participation à la signalisation intercellulaire



# 3- Les microvésicules membranaires

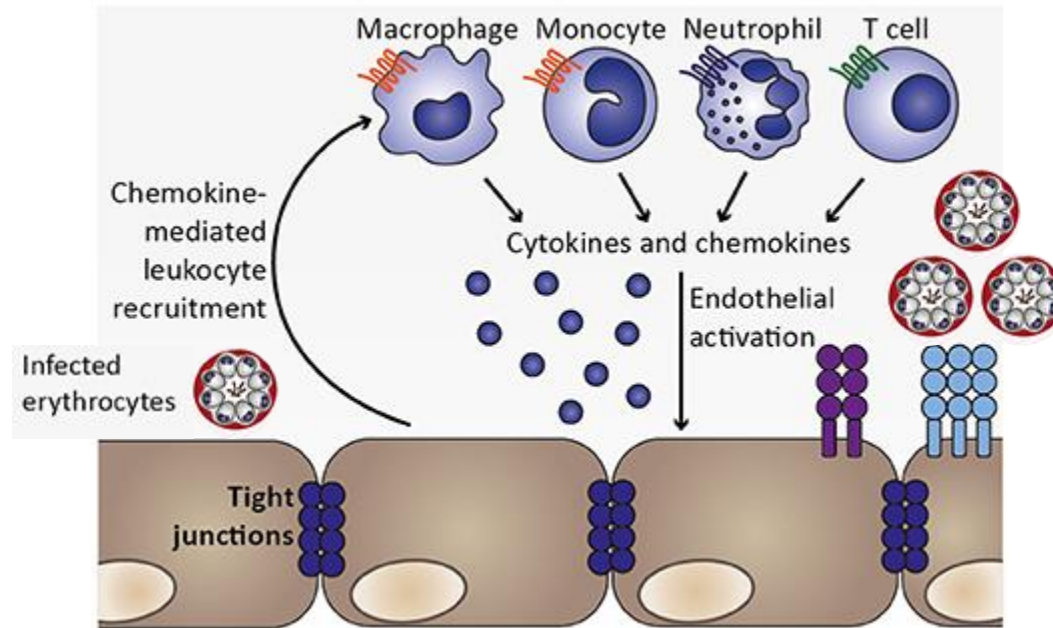
- TNF $\alpha$  favorise la formation de microvésicules membranaires
- A partir des cellules endothéliales, plaquettes, globules rouges parasités, monocytes...
- Augmentation du nombre de microvésicules circulantes au cours du neuropaludisme
- Conséquences:
  - Effet pro-inflammatoire
  - Altération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



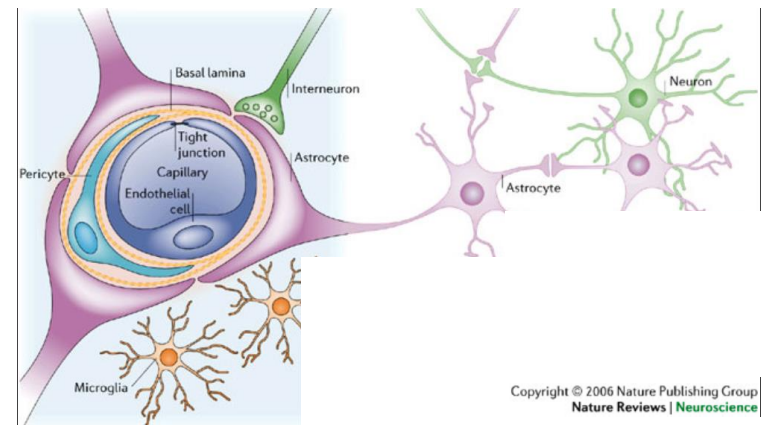
D'après Dunst, *Front Cell Infect Microbiol* 2017

➔ Inflammation locale et activation des cellules endothéliales

# III- Rupture de la barrière hémato-encéphalique

# 1- Rôle de la BHE

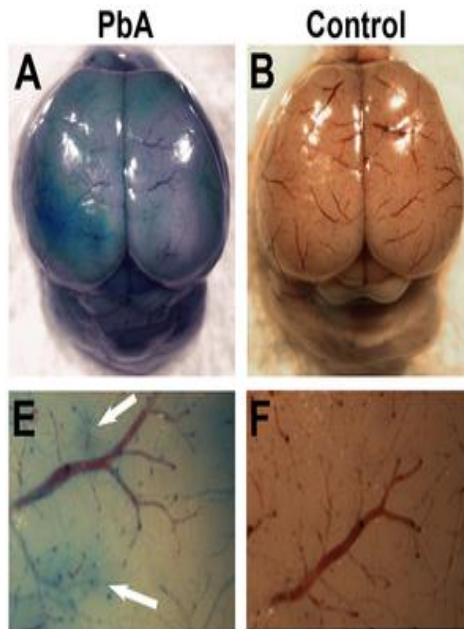
- Barrière protectrice
- « Tight junction »: jonctions cellulaires serrées = filtre
  - Passage intercellulaire limité
  - Nutriments activement transportés
- Péricytes, cellules gliales et astrocytes
  - Protection neuronale
  - Homéostasie cérébrale



# 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

Table 2. Associations of MRI and EEG Abnormalities with Death in Patients with Retinopathy-Positive Cerebral Malaria.<sup>a</sup>

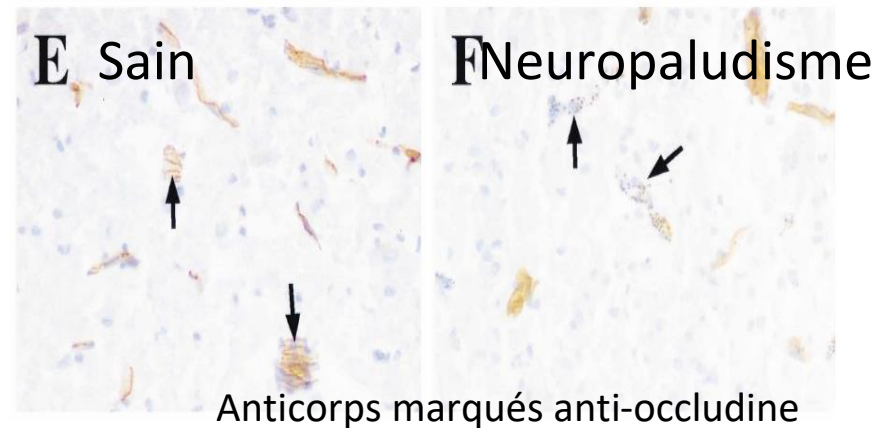
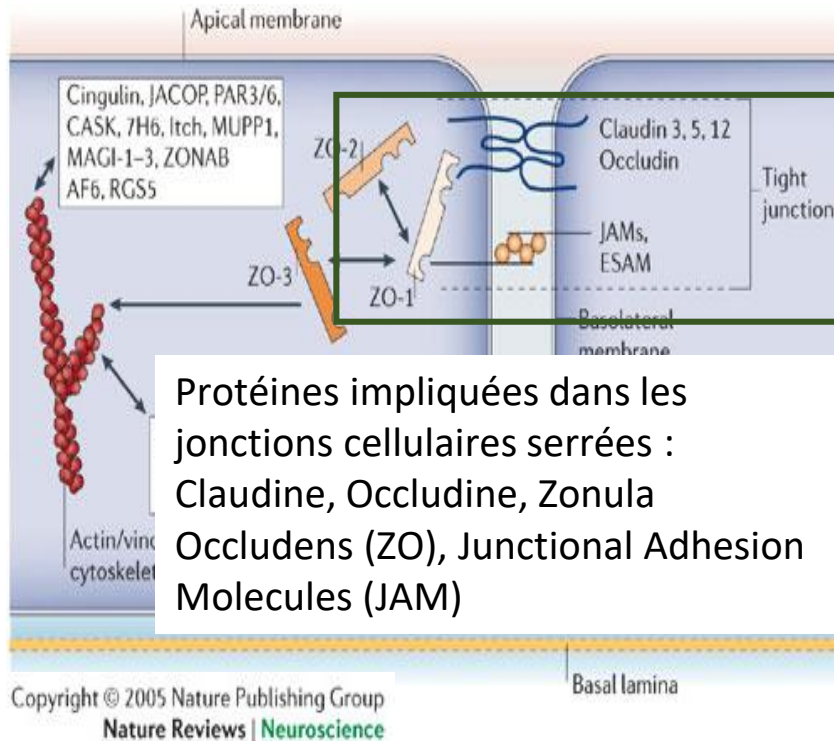
Finding on MRI or EEG	Patients Who Survived (N=143)	Patients Who Died (N=25)	Single Covariate Regression Analysis		Multiple Regression Analysis <sup>†</sup>	
			Odds Ratio (95% CI)	P Value <sup>‡</sup>	Odds Ratio (95% CI)	P Value <sup>‡</sup>
<b>Abnormality on MRI</b>						
<b>Brain-volume indicator</b>						
Severely increased brain volume (no.) <sup>§</sup>	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

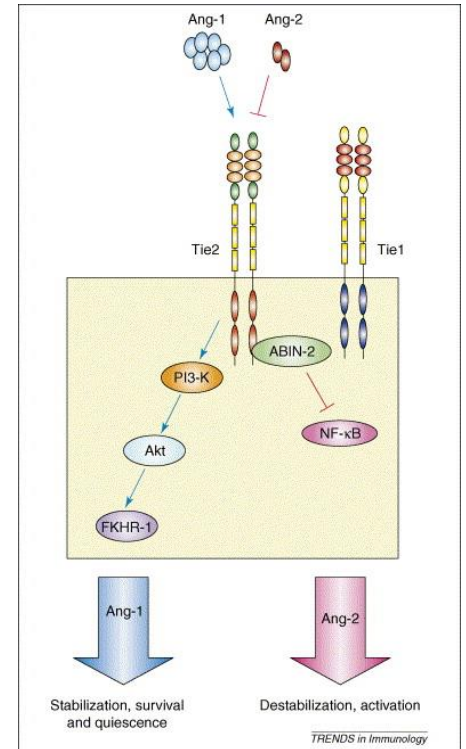
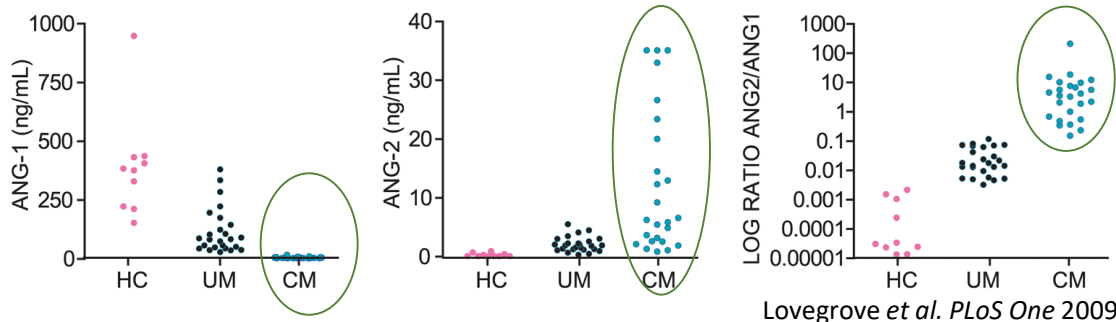


Diminution de l'expression des molécules impliquées dans les jonctions cellulaires serrées au cours du neuropaludisme

=> perméabilité de la BHE

# 4- Système angiopoïétines-Tie2

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



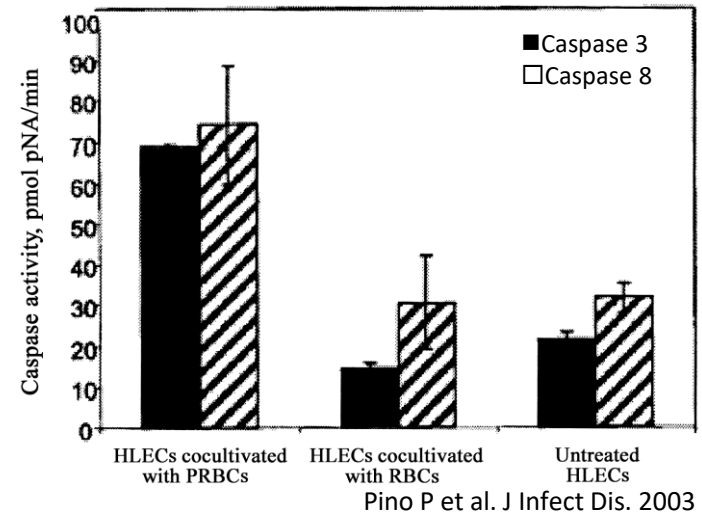
Fiedler et al. Trends Immunol 2009



Ratio angiopoïétine 2 / angiopoïétine 1 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



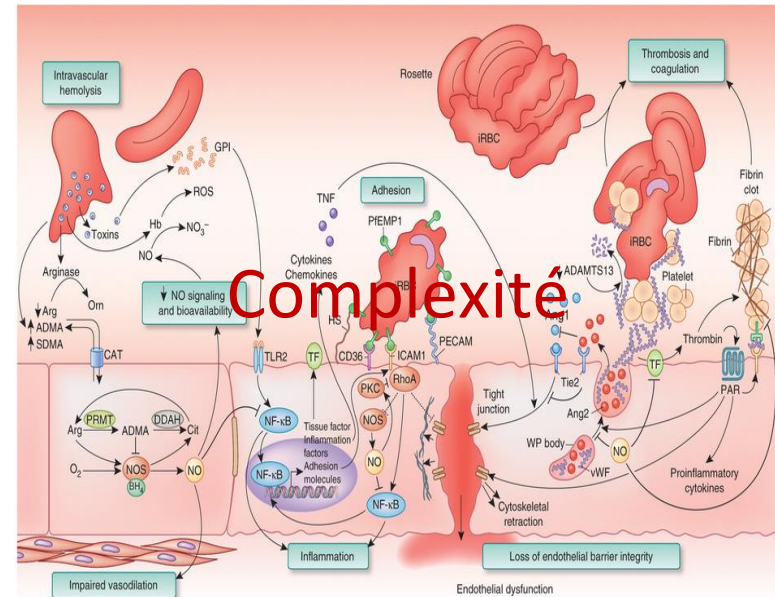
Induction de l'apoptose des cellules endothéliales  
Perméabilité de la BHE



# 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 2024**

25 April 2024

© WHO / Fanjan Combrink  
Portrait of Grace and her daughter  
Beauty with community health worker  
Wezzie outside Grace's home in rural  
Lilongwe, Malawi. Beauty had just  
received her third dose of malaria  
vaccine.  
Credits