RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة امحمد بوقرة- بومرداس-

UNIVERSITE M'HAMED BOUGARA - BOUMERDES

Faculté des sciences

Département de : Biologie

Projet de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de MASTER II

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologies

Spécialité : Biotechnologies et Pathologies Moléculaires

Thème:

L'évaluation des taux des cytokines sériques et monoxyde d'azote aux cours de manifestations de la maladie de Behçet

Réalisé par :

BENKHEROUF Romila Et RAHIL Rania

Soutenu le 23/09/2021 devant le jury composé de :

Mr. BENABDELKADER. T	MCA -UMBB	Président
Mr. BENMOULOUD. A	MCB -UMBB	Examinateur
Mr. MESSAOUDENE. D	MCB -UMBB	Promoteur
Mme. GHOZALI. N	DOC -UMBB	Co-Promoteur

Année universitaire : 2020/2021.

Remerciement

Nous remercions DIEU le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Nous remercions, en second lieu, le Mr MESSAOUDENE.D responsable du Master BPM à la faculté des sciences (UMBB), nos encadreurs et en tant que Directeur de mémoire, on vous doit notre passion pour l'immunologie depuis le début de notre cursus on vous remercie de nous avoir prodigué un enseignement profitable et une formation complète, recevez tout notre respect à la FSB.

Nous remercions Mr. BENABDELKADER. T et Mr. BENMOULOUD. A, Avec lesquelles vous avez bien voulu accepter d'examiner ce travail.

A Mme GHOZALI, Il nous est impossible de dire en quelques mots ce que nous vous devons, nous vous sommes très reconnaissants pour l'honneur que vous nous avez fait d'être notre Co-promotrice, pour tout le temps, le meilleur accueil que vous nous avez réservé, et les sacrifices que vous avez dû faire aux dépens de votre travail et de vos obligations professionnelles, ainsi que pour votre patience, votre disponibilité, vos encouragements inlassables, vos conseils, et vos remarques précieuses. Nous espérons avoir été à la hauteur de votre confiance et de vos attentes et pour leur immense générosité et pour leur aide qui nous ont été utiles dans les moments les plus difficiles. Nous vous souhaitons beaucoup de réussite.

Nos remerciements les plus sincères s'adressent à toute l'équipe des services de médecine interne et de neurologie à CHU Mustapha Bacha pour leur immense générosité, et avoir accordé l'avis favorable.

Nous adressons également nos remerciements à toutes personnes ayons contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire. Un remerciement particulier pour les ingénieures de laboratoire de biochimie-immunologie de FSB.

Nous adressons nos sincères remerciements à tous les patients ainsi que tous les sujets sains qui se sont portés volontaires et ont accepté de participer à notre étude. Nous espérons fortement que notre travail pourra contribuer un jour à alléger votre souffrance.

Remerciement pour notre équipe de BEHÇET

Nous remercions en premier lieu notre promotrice Mm Ghozali .NH qui a parfaitement supervisé l'avancement de notre travail.

Nous remercions tous les membres de notre équipe, pour ces sacrifices, efforts et ses honnêtetés de mener à bien et de réussir ce travail

Je souhait du succès a tous et le meilleur dans leur carrières

Dédicace

A mon très chère père « remdane mourad », que je souhaite qu'il soit présent avec moi, ton esprit toujours m'accompagne

A ma mère « Hassiba », A la fleur de ma vie, la femme qui a consacré son existence à bâtir la mienne, celle qui a toujours cru en moi et m'as toujours encouragé à réaliser mes rêves et à aller de l'avant.

A mes sœurs et mes frères : Taous, Fatima zohra et Elhachemi Lamine, mes confidentes, à celles que je considère comme mes meilleurs amies et qui me poussent toujours à donner le meilleur de moi-même.

A mes très chère grande-mère : Om saade et Horia qui n'ont jamais cessé de prier pour moi.

A mes tantes et oncles que je considère comme une seconde famille et qui ont toujours su me réconforter et m'encourager.

À Mme Ghozali qu'été plus qu'une Co-promotrice pour moi, qui nous a toujours considérées comme ses sœurs merci pour tous ce que vous avez donné.

A mes chères amies à celles avec qui j'ai partagé des moments inoubliables durant ces années d'étude entre fourire, en plein fatiguent et soirées de révision intensif.

Romila

Dédicace

J'ai l'honneur de dédicacer ce modeste travail de fin d'étude :

À l'être le plus cher à moi, À celle qui m'a donné la vie et qui a toujours été fière de moi, celle qui s'est sacrifiée pour moi et qui m'a apporté le soutien depuis mon tout premier pas, ma chère mère, Rachida.

C'est avec profonde gratitude et sincères mots, que je dédie ce modeste travail, A mon pilier, l'homme qui m'a apporté le soutien, ma fierté, mon très cher Père, Hamid.

A mes très chers frères Abdelghani, Mohamed, Aymen et ma très chère sœur Chaima.

A ma très chère grand-mère qui n'as jamais cessé de prier pour moi.

A tous mes oncles et mes tantes, mes cousins et mes cousines pour leur gentillesse et amour. Qu'Allah vous préserve et fasse que je sois toujours entourée de vous.

À mon binôme à qui je souhaite beaucoup de réussite.

A toutes mes amies avec qui j'ai vécu de très bon moments.

À Mme Ghozali qu'été plus qu'une Co-promotrice pour moi, qui nous a toujours considérées comme ses sœurs, merci pour tous ce que vous avez donné.

Et enfin à ceux qui ont fait partie de mon entourage, qu'ont toujours cru en moi, merci pour votre soutien. Et encore une fois, merci au bon dieu d'être arrivée là où je suis, Alhamdullilah.

Merci d'être toujours là pour moi.

Rania

SOMMAIRE

Liste des figures

Liste des tableaux

Abréviations

Introduction…….. **01**

Chapitre I : Généralités

I.1. Définition..... **02**

I.2. Historique……. **02**

I.3. Epidémiologie…….. **02**

I.4. Etiologie……... **04**

I.4.1. Facteurs génétiques…… **04**

I.4.2. Facteurs environnementaux……. **06**

I.5. Dysfonctionnement de la réponse immunitaire…….. **07**

I.5.1. Anomalies de la réponse innée……. **07**

I.5.1.1. Anomalies cellulaires…….. **07**

I.5.1.2. Anomalies moléculaires…….. **08**

I.5.2. Anomalies de la réponse adaptative……. **10**

I.5.2.1. Anomalies cellulaires…….. **10**

I.5.2.2. Anomalies moléculaires…….. **12**

I.6. Rôle des cytokines……... **12**

I.7. Manifestations cliniques……. **14**

I.8. Diagnostic…… **16**

I.9. Traitement…… **17**

Chapitre II : matériel et méthodes

II.1. Matériel…… **18**

II.2. Méthodes……. **18**

II.2.1. Dosage de NO par la méthode de GRIESS modifiée ……. **18**

II.2.2. Dosage des cytokines par ELISA…… **20**

II.3. Analyse statistique……. **23**

Chapitre III : Résultats Et Discussions

III.1. Résultats……. **25**

III.1.1. Répartition graphique des patients selon le sexe et l'âge…… **25**

III.1.2. Répartition graphique des patients selon les différentes manifestations cliniques… **26**

III.1.3. Etude des différents paramètres *in-vivo* …… **26**
III.1.3.1. Etude du taux de NO chez les patients atteints de la MB et chez les témoins sains…… **26**
III.1.3.2. Etude du taux d'IL-6 chez les patients atteints de la MB et chez les témoins sains…… **27**
III.1.3.3. Etude du taux d'IL-6R chez les patients atteints de la MB et chez les témoins sains…… **28**
III.1.3.4. Etude du taux d'IL-32 chez les patients atteints de la MB et chez les témoins sains…… **29**
III.1.3.5. Etude du taux d'IL-37chez les patients atteints de la MB et chez les témoins sains…… **31**
III.2. Discussion générale…….. **32**
Conclusion et perspectives……. **34**
Références bibliographiques
Annexes
Résumé

LISTE DES FIGURES

Figure 01	Répartition de la prévalence de la maladie de Behçet dans le monde	03
Figure 02	Gènes HLA, MIC et TNF.	05
Figure 03	Réaction chimique de la synthèse de NO.	09
Figure 04	Représentation d'un schéma hypothétique de la pathogénèse de la Maladie de Behçet.	13
Figure 05	Courbe étalon du dosage de NO.	19
Figure 06	Courbe étalon du dosage d'IL-6.	21
Figure 07	Courbe étalon du dosage d'IL-6R.	21
Figure 08	Courbe étalon du dosage d'IL-32.	22
Figure 09	Courbe étalon du dosage d'IL-37.	22
Figure 10	Schéma récapitulatif de la démarche expérimentale.	24
Figure 11	Répartition graphique des patients selon le sexe et l'âge.	25
Figure 12	Répartition graphique des patients selon l'âge.	25
Figure 13	Répartition graphique des patients selon les déférentes manifestations cliniques.	26
Figure 14	Taux de monoxydes d'azotes par méthode de GRIESS (**A) :** chez les patients atteints de la MB et chez les témoins sains (B**) :** aux cours de différentes manifestations et témoins sains.	27
Figure 15	Taux d'IL-6 par méthode d'ELISA (**A) :** chez les patients atteints de la MB et chez les témoins sains (**B) :** aux cours de différentes manifestations et témoins sains.	28
Figure 16	Taux d'IL-6R par méthode d'ELISA (**A):** chez les patients atteints de la MB et chez les témoins sains (**B) :** aux cours de différentes manifestations et témoins sains.	29
Figure 17	Taux d'IL-32 par méthode d'ELISA (**A) :** chez les patients atteints de la MB et chez les témoins sains (**B) :** aux cours de différentes manifestations et témoins sains	30
Figure 18	Taux d'IL-37 par méthode d'ELISA (A**) :** chez les patients atteints de la MB et chez les témoins sains (**B) :** aux cours de différentes manifestations et témoins sains.	31

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Tableau récapitulatif des conditions d'inclusion pour l'ISG, de l'ICBD et de l'ICBD Révisée…….. **16**

ABREVIATIONS

AINS	Anti-inflammatoire non stéroïdiens
CD	Cluster of Differentiation
CMH	Complexe majeur d'histocompatibilité
DO	Densité optique
EDTA	Éthylène Diamine Tétra Acétique
ELISA	Enzyme-Linked Immuno Sorbent assay
FME	fièvre méditerranéenne familiale
HCL	L'acide chlorohydrique
HLA	Human leucocyte antigen.
HSP	Heat shock proteins.
HSV	*Herpes simplex virus.*
ICAM	Inter Cellular Adhesion Molecule
Ig	Immunoglobulines.
LCR	Liquide céphalo-rachidien
LPS	Lipopolysaccharide
LT	Lymphocyte T
MAC	Macophages
MB	Maladie de Behçet.
MIC	Human MHC class I chain related
NADPH	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
NK	Natural killer.
NO	Nitrite Oxydase
NOS	Nitric oxide synthase
NOS1 / nNOS	NOS neuronale
NOS2 / iNOS	NOS inductible
NOS3 / eNOS	NOS endothéliale
PNN	Polynucléaires neutrophils
TH	Helper T
TGF	Transforming Growth Factor
TLR	Toll-Like Receptor.
TNF-α	Tumor necrosis factor alpha
Treg	Regulatory T cells.

Introduction

La maladie de Behçet (MB) est une vascularite systémique inflammatoire chronique évoluant par poussées et rémissions **(Kaklamani *et al*., 1998).** Caractérisée par un spectre diversifié de manifestations cliniques, notamment des aphtes buccaux récurrents, des uvéites, des lésions cutanées multiformes et des ulcérations génitales **(Sakane *et al*., 1999)**, d'atteintes neurologiques centrales, de thromboses veineuses et de lésions intestinales. Une prévalence élevée a été signalée en Extrême-Orient, au Moyen Orient et dans les pays méditerranéens **(Houman *et* Bel Fekia, 2014).**

La MB est caractérisé par de nombreux dysfonctionnements. En effet, le système endothélial, le système de coagulation mais surtout le système immunitaire qui est fortement affecté **(Alpsoy, 2016)**. Ces dérèglements sont reflétés par la modification des profils de production de considérables molécules impliquées dans la régulation de nombreuses fonctions physiologiques. Les cytokines sont produites généralement après stimulation par un signal activateur par une grande variété de cellules immunes et non immunes. Les lymphocytes T en général et la population Th1 en particulier participent à la pathogenèse de la MB **(Frassanito *et al*., 1999 ; Messaoudene et *al*., 2011)**. Les cytokines dont le TNF-α, l'IL-1, l'IL-6, l'IL-18 et l'IL-12 ont été retrouvés à des niveaux hautement élevés dans le sérum des patients atteints de MB**.**

De nombreux travaux portent actuellement sur l'interaction entre le système immunitaire et les différents organes touchés par la MB. Dans cette optique, L'objectif est d'étudié l'implication des cytokines inflammatoire IL-6, IL-6R, IL-32 et IL-37 et le monoxyde d'azote (NO) dans la pathogénèse de la maladie de Behçet. Pour cela, notre étude a comporté les points suivants :

1. Etude de la production *in- vivo* du monoxyde d'azote chez les patients atteints de la MB et les sujets sains.

2. Etude de la production *in-vivo* des cytokines inflammatoire IL-6/IL-6R, IL-32 et IL37 chez les patients atteints de la MB et chez les sujets sains.

3. Etude de la corrélation entre le niveau de production de ces paramètres et les différentes manifestations de la MB.

Chapitre I

Généralités

I 1. Définition

La maladie de Behçet est une pathologie auto inflammatoire multi systémique chronique d'étiologie inconnue **(Al Okaily, 2020*)***, elle se caractérise par des ulcérations aphteuses buccales et génitales, des atteints oculaire neurologique et digestive. Alors que divers types de tissus tels que les vaisseaux sanguins, la peau, les muqueuses et les articulations ou les poumons peuvent être affectés au cours de la maladie de Behçet **(Akman, 2008)**.

I.2.Historique

La maladie de behçet été décrit pour la première fois par Hippocrate il y a 2500 ans qui dans son œuvre « Epidemion » décrit une maladie endémique en Asie mineure **(Feigenbaum, 1956)**.

En 1931 Adamantiades ophtalmologiste grec décrit dans des revues ophtalmologiques françaises un cas d'iritis à hypopion accompagné d'ulcération buccale et génitale, d'une phlébite et d'une hydarthrose des genoux **(Said, 1997)**. Pour la première fois En 1937 le dermatologue turc Hulusi behçet Reconnue les principaux symptômes de cette maladie caractérisée par des ulcérations aphteuses, des déflexions des parties génitales et une atteinte ophtalmique aqueuse. Et il donne le nom maladie de behçet pour cette pathologie **(Cho *et al*., 2012)**.

En 1941 En France, Touraine un cadre nosologique nouveau intitulé « l'aphtose ». Décrit Dans un article intitulé « Aphtose Données récentes et synthèse » publié en 1955 quelques lignes sont consacrées à Behçet : « Les manifestations se combinent de la manière la plus variée ; la plus connue réunit une iritis récidivante à hypopion aux aphtoses buccogénitaux, c'est 'le syndrome de Behçet ' qui n'est qu'une forme clinique de l'aphtose ». La dénomination « Maladie de Behçet » ne s'imposa de façon définitive qu'après l'organisation d'un symposium international à Istanbul en 1977 **(M'Hamed, 2011).**

I.3. Epidémiologie

I.3.1. Distribution géographique

La distribution géographique de la MB est exceptionnelle d'une prévalence variée entre l'Asie de l'Est et les pays du bassin méditerranéen, la MB est plus large que celle circonscrite a la route de la soie .la Turquie est le pays avec la prévalence la plus élevée de 20 à 420 sujet /100000 habitants par rapport au d'autre pays d'Asie tels que le Japon, l'Iran, l'Iraq, la chine, la Corée et l'Arabie de saoudite à une prévalence de 13 à 20 cas /100000 habitants.

L'estimation de la prévalence en Europe variée entre 0.26 à 16 sujet /100000 habitants. En Amérique du nord la prévalence de la MB a été récemment estime à 5.2 cas /100000 habitants

pour le comté d'Olmsted dans le Minnesota et de 7/100000 habitants en Martinique .la survenue de la MB dans des populations d'Afrique Sub Saharienne n'a pas fait l'objet d'étude épidémiologique spécifique mais a été rapportée dans de petite séries de cas et observée dans une population multiethnique française **(Mahr *et* Maldini, 2014).** Au Maghreb, une prévalence élevée de cette maladie redoutée a été observée notamment en Algérie **(Djeraba *et al*., 2014)**. En Tunisie, la prévalence serait de 110/100 000 habitants **(Hamzaoui, 2001)** ; elle est fréquente au Maroc avec plus de 900 cas recensés entre 1977 et 2002 **(Janati, 2015).**

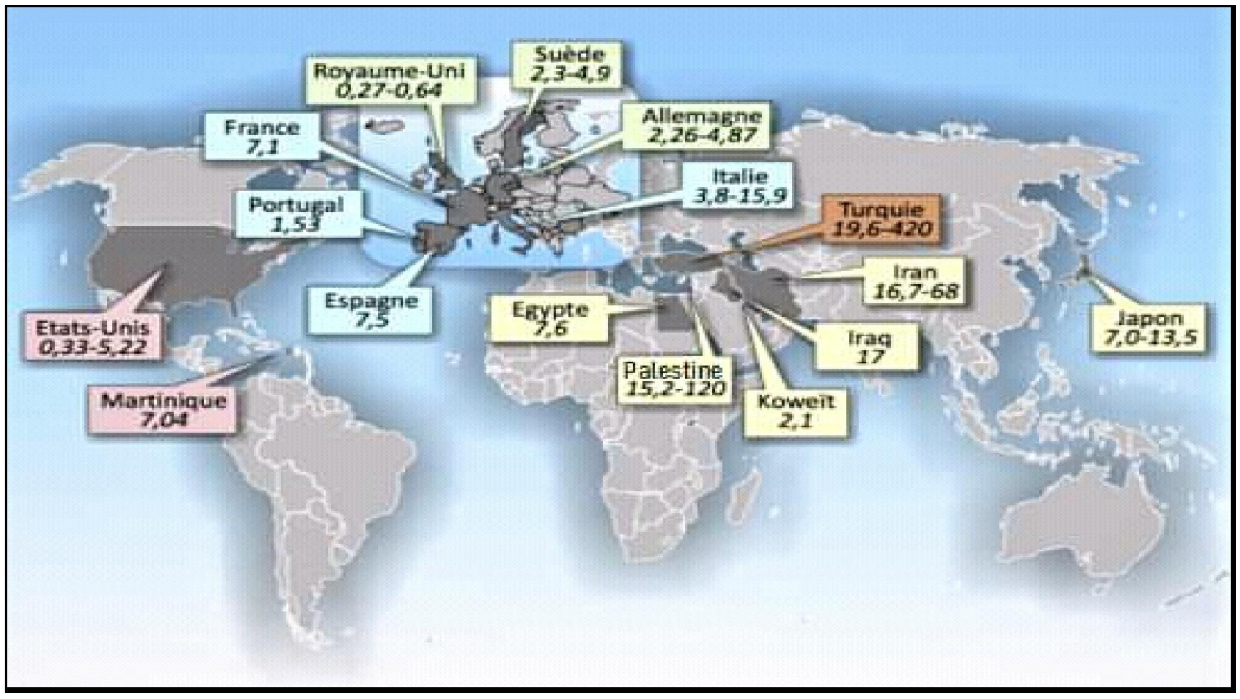

Figure 01. Répartition de la prévalence de la maladie de Behçet dans le monde.

Les chiffres représentent des taux de prévalence pour 100 000 habitants et sont issus de 30 estimations publiées dans la littérature entre 1974 et 2013 **(Mahr *et* Maldini, 2014).**

I.3.2. Influence de l'âge et de sexe sur la MB

La MB touche essentiellement les adultes, l'âge moyen au début de la maladie se situe entre 22 et 31 ans, elle touche rarement les personnes de plus de 50 ans et les enfants. Le facteur de sexe dans cette pathologie est difficile à étudié et reste un sujet controverse. Les différentes manifestations de la MB varient chez les femmes et les hommes à des proportions différentes. Les études récentes montrent une répartition hommes/femmes assez équilibrée et l'incidence de la MB spécifique en fonction de sexe ne suggèrent pas d'inégalité claire. D'autre part, il a été montré que l'homme présente des formes plus sévères de la maladie **(Mahr *et* Maldini, 2014).**

I.4. L'étiologie

La MB est considérée comme une maladie complexe dont la survenue implique des facteurs génétiques et environnementaux.

I .4.1. Les facteurs génétiques

I .4.1.1. Gènes du complexe majeur d'histocompatibilité

Les gènes HLA du complexe majeur d'histocompatibilité(CMH), localisés sur le bras court du chromosome 6, codent un ensemble de molécules jouant un rôle crucial dans la présentation des antigènes aux LT **(Ohno *et al*., 1982)**. La région de CMH classe 1 comprend les gènes HLA-A, HLA-B et HLA-C ***(*Houman et Bel Feki, 2014).**

La susceptibilité à la maladie a été fortement associée à un polymorphisme du gène HLA-B et plus particulièrement le HLA-B51 **(Park *et al*., 2014 ; Morton *et al*., 2016).** La fréquence de l'antigène HLA-B51 varie de 40 à 80 % chez les malades, et deux à trois fois supérieure à celle observée chez les témoins, quelle que soit la prévalence de cet allèle dans la population générale **(Sakane et *al*., 1999).**

I.4.1.2. Gènes proches de HLA B

a. Les gènes MIC

Parmi les cinq gènes MIC (MICA à MICE), deux sont bien caractérisés : le gène MICA situé à 40 kb centromérique de HLA-B, et le gène MICB localisé à 110 kb de HLA-B (**Bauer *et al*., 1999**). L'interaction entre le récepteur DAP10 du MICA et le récepteur NKGD2 des cellules NK (complexe NKG2D–DAP10), agissant comme un signal de « danger » conduit à l'activation de la réponse immunitaire innée (NK) et adaptative (T CD8), déclenchant des mécanismes de cytotoxicité, sécrétion cytokinique et prolifération cellulaire qui conduisant à des lésions tissulaires (**Groh *et al*., 2001).**

b. Gène du TNF

Le TNFα est l'une des principales cytokines de la MB. Le gène du TNF est proche du locus HLA-B. Plusieurs polymorphismes de la région du promoteur du TNF sont connus. Dans une étude britannique portant sur 133 patients caucasiens comparés à 354 contrôles sains, l'allèle–1031C était fortement associé avec la MB **(Ahmad *et al*., 2003)**. Cette association était également trouvée chez des patients ne portant pas HLA-B*51 ou HLA-B*5701 suggérant qu'elle n'était pas liée à un déséquilibre de liaison entre l'allèle HLA-B*51 et l'allèle TNF-1031C. Le

polymorphisme du gène du TNF peut avoir une incidence sur la production de TNF qui augmente au cours de la MB (**Turan et *al*., 1997).**

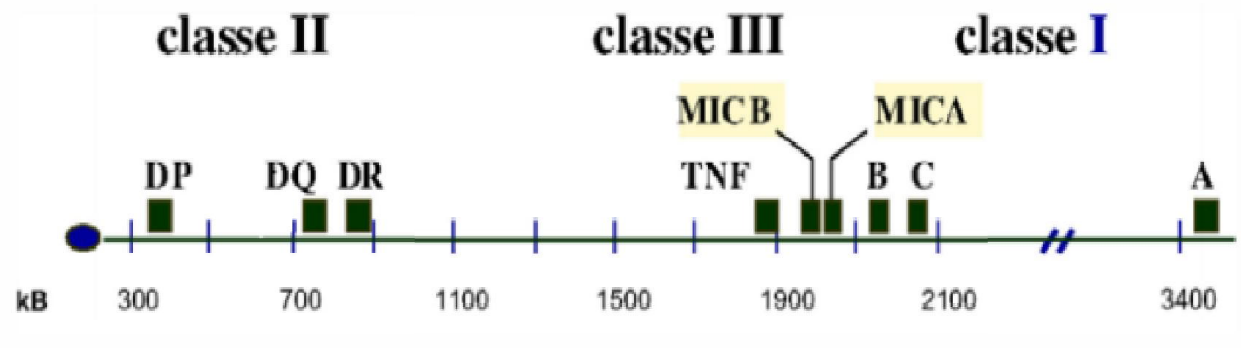

Figure 2. Gènes HLA, MIC et TNF **(Amoura *et al*., 2006).**

I.4.3. Autres gènes

a. Gène MEF

Ce gène est lié à la fièvre méditerranéenne familiale (FMF). La MB présente des similitudes épidémiologiques et anatomopathologiques avec la FMF qui ont conduit des auteurs à proposer que la MB pourrait appartenir au groupe des maladies auto-inflammatoires. L'allèle P706 du gène MEFV était significativement plus fréquent chez les patients atteints de MB (10,5 %) comparée aux chromosomes contrôles (1,6 % ; p= 0,01*) **(Gul *et al*., 2005).**

b. Gène ICAM

La molécule ICAM est une glycoprotéine de surface qui appartient à la superfamille des immunoglobulines. C'est une molécule d'adhérence intercellulaire. Elle interagit avec les molécules LFA-1 à la surface des lymphocytes et Mac-1 à la surface des macrophages et permet leur adhésion à l'endothélium vasculaire **(Verity *et al*., 2000*)***. Ce polymorphisme pourrait être impliqué dans l'augmentation des taux sériques de la protéine ICAM soluble observée au cours de la MB **(Uchio *et al*., 1999).**

c. Gène de l'IL1

L'IL1 induit des réponses immunes pro-inflammatoires, active les cellules endothéliales et induit l'expression de molécules d'adhésion. Une production accrue d'IL-1 a été rapportée au cours de la MB **(Hamzaoui *et al*., 1990).**

d. Gènes codant pour l'IL-10

Les IL-10 seraient moins présentes dans le sérum de personnes témoins que dans le sérum des patients atteints de la MB. Cela pourrait être dû à un polymorphisme du locus **(Talaat *et al*., 2014)**. Cette baisse de production d'IL-10 pourrait avoir un rôle dans la dysrégulation de l'immunité au cours de la MB **(Remmers *et al*., 2010 ; Houman et Bel Feki, 2014).**

e. Gènes codant pour L'IL-23/ l'IL23R

L'IL-23 est une cytokine pro-inflammatoire qui induit le développement des lymphocytes Th17 et stimule la production des IL-1, IL-6, IL-17 et TNFα. Ces cytokines constituent des acteurs dans l'étiopathogénie de la MB. Le récepteur de l'interleukine -23 exprimé à la surface membranaire des lymphocytes Th17 et des macrophages. Les polymorphismes au sein des gènes codant pour IL23R peuvent affecte leur fonction et être associés à la MB **(Remmers et *al*., 2010 ; Takeuchi et *al*., 2015).**

f. Gènes codant pour STAT4 Transducteur de signal et activateur de transcription4

Cette protéine est activée par des cytokines pro inflammatoires telles qu'IL-12 et IL-23 et impliquée dans la différenciation de lymphocytes T naïfs en lymphocytes Th1 et Th17. Le fait de posséder un allèle à risque de développer la maladie de Behçet pourrait contribuer à une différenciation excessive des lymphocytes T naïfs en lymphocytes Th17 et par la suite à une surproduction d'IL-17 **(Takeuchi et *al*., 2015).**

I.4.2. Facteurs environnementaux

A ce jour, il n'y a aucune certitude au sujet de l'implication de facteurs de risque infectieux dans le déclenchement d'un processus physiopathologique à l'origine de la maladie de Behçet. Certains virus et/ou bactéries pourraient cependant avoir un rôle.

a. Les infections virales

Des infections virales, en particulier celle par *le virus herpès simplex (HSV)*, *le cytomégalovirus* et l'Eps*tein Barr virus* ont été évoquées comme de possibles facteurs étiologiques **(Mumcu *et al*., 2007)**. Cette hypothèse était fondée sur une séroprévalence anti herpès virus accrue chez les malades, sur la mise en évidence de l'ADN des virus par amplification génomique dans les lésions muqueuses des patients et sur un modèle murin de MB induite par une infection par HSV. Le taux d'infection à HSV et des anticorps anti-HSV sériques étaient significativement plus élevés chez les patients avec MB que chez les témoins. Ces données

n'ont toutefois pas été confirmées et l'absence d'efficacité des thérapeutiques anti -herpès sur l'évolutivité de la maladie rend cette hypothèse peu plausible **(Sohn *et al*., 2001).**

b. Les infections bactériennes

L'induction d'aphtes buccaux par des angines ou par les soins dentaires a été notée depuis longtemps comme un facteur responsable de la MB. Cette hypothèse est basée sur plusieurs constatations **(Mizushima et *al*., 1988).** Plusieurs agents bactériens ont été étudiés telles que le *Streptocoque*, *les mycobactéries*, *Borrelia burgdorferi, Helicobacter pylori*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ou *Mycoplasma*. *Le streptocoque* en particulier *sanguis* a été le plus incriminé **(Mumcu et *al*., 2007)**. Le taux d'infection à *Streptococcus sanguis* et de ses anticorps était significativement plus élevé dont il provoque une réaction d'hypersensibilité chez les patients atteints de MB que chez des témoins sains **(Kaneko et *al*., 2008*).***

I.5. Dysfonctionnement de la réponse immunitaire

I.5.1. Anomalies de la réponse innée

I.5.1.1. Anomalies cellulaires

a. Hyperactivité des polynucléaires neutrophiles et monocytes

La réponse initiale de la réaction pathergique est médiée par les monocytes et les neutrophiles avec une accumulation rapide des neutrophiles au point de ponction de l'aiguille majoritairement est constituée d'un infiltrat de PNN. Il est bien établi que l'augmentation du chimiotactisme des PNN joue un rôle important dans la pathogénie de la MB **(Matsumara et Mizushima, 1975).**

b. Les cellules naturelles tueuses NK pour « Natural Killer »

Les cellules NK sont impliquées dans la pathogenèse de la MB. On distingue les NK de type 1 (NK-1) qui possèdent en fort taux le récepteur IL-12Rβ2 et qui sécrètent essentiellement l'INF-γ et l'IL-10 des NK de type 2 qui expriment faiblement le récepteur IL-12Rβ2 et sécrètent essentiellement IL-5 et IL-13. Une étude suggère que le rapport NK-1/NK-2 aurait une influence sur les poussées et rémissions de la MB via la modulation de l'expression des lymphocytes Th1 par les NK-2.

Les cellules NK CD69+ étant significativement accrue chez les patient attient de la MB en phase active en comparaison avec ceux en phase inactive et ou contrôle de plus plusieurs études génétiques ont rapportée l'association entre les gènes des KIR et les KLRC4 avec la MB **(Yamaguchi *et al*., 2010).**

c. Lymphocytes Tγδ

Ces lymphocytes jouent un rôle important comme première ligne de défense contre les micro-organismes. Des études récentes ont montré que LTγδ a un rôle important dans les lésions inflammatoires associées aux modèles expérimentaux dans la physiopathologie de la MB. Elles expriment des marqueurs d'activation comme CD25, CD69, et CD29 et produisent des cytokines inflammatoires favorisent l'activation de l'IL-17 et accélérer le développement de l'expérimentation auto-immune uvéite (EAU) **(Nian *et al*., 2011).**

I.5.1.2. Anomalies moléculaires

a. Rôle des protéines du choc thermique HSP

Les protéines du choc thermique, spécialement celles de 60 et 65 kDa sont des antigènes candidats potentiels comme initiateurs de l'apparition de la MB ou des poussées. HSP-60 est surexprimée dans les lésions cutanées actives de la MB. Sous l'effet du stress elle subit une redistribution tissulaire et se localise à la surface cellulaire. L'homologie de séquence (60 %) qui existe entre HSP60 humaine et HSP65 d'origine microbienne (notamment *streptococcique*) pourrait expliquer cette lympho prolifération **(Ergun *et al*., 2001)**. La réponse des cellules T vis-à-vis des HSP bactériennes pourrait entraîner secondairement, par réactivité croisée, la prolifération des cellules T auto-réactives vis-à-vis des HSP humaines **(Direskeneli *et al*., 2000)**. Cette réponse T anti-HSP peu spécifique, car elle est retrouvée également chez des sujets sains **(Saruhan-Direskeneli et *al*., 2001).** L'hypothèse du rôle des HSP dans la physiopathologie de la MB pose un problème qui est celui de la sélectivité des tissus. En effet, les molécules HSP sont exprimées par tous les tissus dans des conditions de stress, alors que la MB ne touche qu'un nombre limité de tissus **(Celet *et al*., 2000).**

b. Le monoxyde d'azote NO

Le monoxyde d'azote (NO) est un médiateur biologique libéré sous forme d'un radical libre dont la nature chimique est gazeuse. Il est considéré comme une molécule importante de signalisation **(Cadet *et al*., 2002 ; Omer *et al*., 2012)**. Le NO assure plusieurs fonctions physiologiques (vasodilatation, régulation du flux sanguin, neurotransmission) mais peut également intervenir dans des processus pathologiques **(Emmi, 2014).**

- **La biosynthèse du NO**

L'oxyde nitrique (NO) est produit à partir de la L-arginine par le NO synthétase (nNOS, iNos, eNOS) nécessite la présence du NADPH (nicotinamide adénine dinucléotide phosphate) et

plusieurs co-facteurs **(Mansuy *et al*., 1995)**, synthétisé en réponse à divers stimuli comme les infections, certaines cytokines (IFNγ) ou les lipopolysaccharides (LPS) **(Amoura *et al*., 2006).**

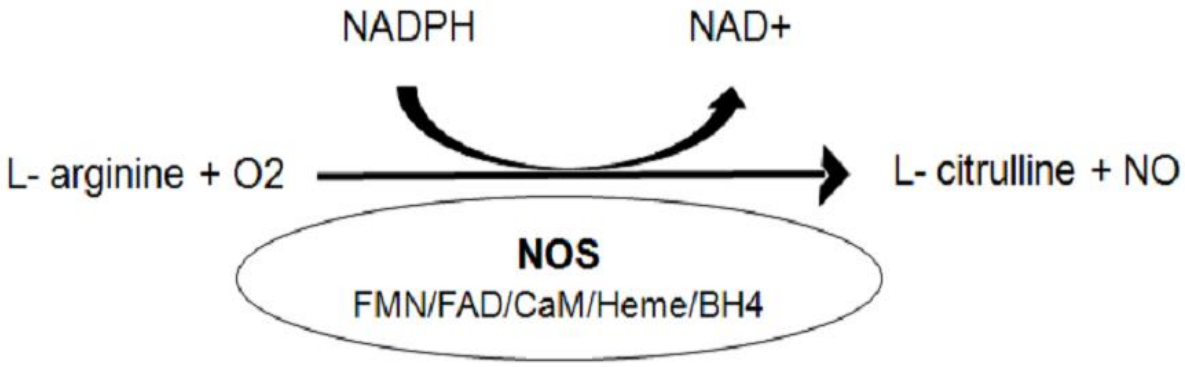

Figure 3. Réaction chimique de la synthèse de NO **(Mansuy *et al*., 1995).**

Le NO et la réponse inflammatoire Les cytokines générées par les cellules Th1 induisent la production de NO, ce dernier agit comme un facteur immun régulateur, régulant notamment la balance Th1/Th2 **(Van der Veen *et al*., 1999)**. Ses effets cytotoxiques fournissent une immunité non spécifique contre les agents infectieux **(Dugas *et al*., 1995 ; Drapier, 1996)**. Les taux physiologiques habituellement maintenus par les eNOS et nNOS **(Chen *et al*., 2017)**. Sa surproduction est étroitement liée à celle des cytokines pro-inflammatoires (IL-1, TNF-α et IFN-γ) **(Guenane *et al*., 2002 ; Belguendouz *et al*., 2011. ; Ider-Djaballah *et al*., 2012)**. Lorsque la réponse inflammatoire est adaptée à une infection l'expression de la iNOS est bénéfique et si par contre cette expression est associée à une exacerbation inflammatoires, elle est délétère et constitue un danger **(Dugas *et al*., 1995 ; Belguendouz et *al*., 2011).** L'activation de la voie NFK-B par les LPS via l'interaction avec le récepteur Toll-like-4 (TLR-4) induit l'activation des iNos et favorise la production de NO.

Dans la maladie de Behçet, plusieurs études ont rapporté une augmentation de la production du NO dans le sérum aqueux des patients **(Evereklioglu *et al*., 2002 ; Guenane, 2002)**. Cette augmentation de NO intracellulaire inhiberait la migration des polynucléaires neutrophiles présents au sein des lésions de la MB, entrainant la persistance in situ de ces cellules activées. Ce dysfonctionnement de la synthèse du NO est expliqué par un polymorphisme du gène (iNOS) **(Kozak, 2003 ; Hamzaoui *et al*., 2005).**

b. Stress oxydatif et radicaux libres

Il existe une production excessive de l'anion superoxide (O2-) et de l'eau oxygénée (H2O2) provoquant une augmentation des radicaux libre et du stress oxydatif a été observée, Au cours de

la MB **(Chambers *et al*., 2001)**. D'autre part L'activité des enzymes chargées de lutter contre le stress oxydatif comme la superoxyde dismutase, le glutathion peroxidase et la catalase est diminuée. Cette diminution est corrélée avec une augmentation de l'activité de l'adénosine désaminase (ADA), marqueur d'activation des polynucléaires neutrophiles **(Erkilic *et al*., 2003)**. Les polynucléaires neutrophiles seraient de ce fait moins bien régulés, hyperactifs et capables de produire des dommages tissulaires **(Amoura *et al*., 2006).**

I.5.2. Anomalies de la réponse adaptative

I.5.2.1. Anomalies cellulaires

I.5.2.1.1. L'implication de Th1

Les cellules Th1 qui produisent IFN-γ activent les macrophages, qui sont responsables de l'immunité à médiation cellulaire contre les agents pathogènes intracellulaires et sont associés à de nombreuses maladies auto-immunes spécifiques d'organes, y compris la MB **(El-Asrar *et al*., 2011).**

IL-18 est une cytokine pro-inflammatoire qui joue un rôle important dans la réponse immunitaire des cellules Th1. Elle favorise la différenciation des Th0 en Th1 plutôt qu'en Th2. Une élévation considérable du taux sérique d'IL-18 a été notée chez des patients avec MB. **(Zhou et *al*., 2011).**

IL-12 s'est avérée élevée dans le sang périphérique des patients atteints de MB et corrélée à l'activité de la maladie **(Frassanito et *al*., 1999)**. Par conséquent, il est suggéré que l'IL-12 joue un rôle central dans les mécanismes immunitaires de la maladie **(Chambrun et *al*., 2012).**

I.5.2.1.2. L'implication de Th2

Parmi toutes les cytokines de type Th2 (IL-4, IL-5, IL-10, IL-13) seules quelques-unes ont fait l'objet des études dans le cadre de la MB **(touil boukefa *et al*., 2015)**. Les taux de production de ces cytokines sont généralement retrouvés à des niveaux faibles **(Frassanito *et al*., 1999; Mantas *et al*., 1999)**. Cependant certains travaux ont rapporté l'élévation *ex-vivo* du taux de production de certaines cytokines de type Th2: l'IL-4 et l'IL-13 suggérant l'existence d'un profil mixte Th1/Th2 au cours de la MB **(Raziuddin *et al*., 1998).**

I.5.2.1.3. L'implication de Th17

Des études récentes ont montré que la balance Th17 / Th1 et la balance Th17 / Treg sont importantes dans la régulation de l'inflammation chez les patients atteints de MB active. Le rapport Th17 / Th1 est plus élevé chez les patients que chez les témoins sains **(Kim et *al*., 2010).**

I.5.2.1.4. L'implication de Th22

Des lymphocytes T CD4+ prélevés du sang périphérique de patients atteints de MB se différentiaient *in- vitro* en Th22 en présence de l'IL-6 et TNF- α et sécrètent principalement IL-22 et TNF-α favorise l'inflammation et associée à des maladies auto-immunes et expriment les récepteurs de chimiokine CCR4, CCR6 et CCR10. De plus, des lymphocytes T produisant de l'IL-22 ont été retrouvés chez un modèle murin de MB avec uvéite expérimentale auto-immune. Ces données suggèrent que l'IL-22 jouerait un rôle clé dans l'atteinte oculaire de la MB **(Sugita S *et al*., 2013).**

I.5.2.1.5. L'implication de Treg

Au cours de la MB des études ont abouti à des résultats contradictoires. Certaines ont rapporté une augmentation de la fréquence des Treg dans le sang périphérique ou le LCR **(Hamzaoui *et al* .,2011)**, tandis que d'autres études ont trouvé une diminution de la proportion de ces cellules . **Geri *et al*** ont constaté que les Treg activés (CD45RACD25) étaient particulièrement diminués chez les patients. Les Tregs chez ces patients MB étaient capables d'inhiber les cellules effectrices ce qui signifie qu'ils étaient fonctionnels **(2011).**

I.5.2.1.6. Les lymphocytes B

Bien que Le nombre normal des lymphocytes B chez les patients ne suffit pas pour négliger le rôle de l'immunité à médiation humorale au cours de la MB **(Ekşioğlu *et al*., 1999 ; Amoura *et al*., 2006)**. Les lymphocytes B des patients avec MB expriment des niveaux élevés de marqueurs d'activation tels que le CD13, CD33, CD80 et CD45RO **(Eksioglu-Demiralp *et al*., 1999)**. Des anticorps ont été retrouvés chez des patients ayant une autre pathologie inflammatoire, mais la présence d'IgM paraît spécifique de la MB. L'alpha-tropomyosine et l'AgS sont des antigènes reconnus par les immunoglobulines des patients atteints de MB **(Amoura *et al*., 2006).**

I.5.2.2. Anomalies moléculaire

I.5.2.2.1. Auto anti corps

Les auto-anticorps sont fréquemment rapportés dans les maladies auto-immunes, avec un rôle pathogène démontré pour certains d'entre eux. Plusieurs auto-anticorps ont été étudiés dans la MB sans résultat probant **(Cervera *et al*., 1994 ; Direskeneli *et al*., 1995)**. Les anticorps anti-cellules endothéliales (AECA) ont été les plus étudiés. Ils sont présents dans 18 à 50 % des cas, mais ne sont pas spécifiques de la MB et leur corrélation avec l'activité de la maladie et les lésions vasculaires reste spéculative. Plusieurs auto-anticorps ont été étudiés concernant la MB, Les résultats ne sont pas concluants **(Houman et Bel Feki, 2014).**

I.6. Rôle des cytokines

I. 6.1. Les cytokines pro inflammatoire

IL-6 est la principale cytokine impliquée dans la synthèse des protéines de la phase aiguë de l'inflammation. Elle intervient aussi dans la chronicisation de celle-ci, via en particulier une action directe sur les lymphocytes T et les lymphocytes B. Elle induit le recrutement des PNN au niveau des sites inflammatoires et active la production des cellules endothéliales **(Houman et Bel Feki, 2014).**

Il y aurait une corrélation entre le taux sérique d'anticorps des IL-6 et l'activité de la MB ainsi qu'à l'atteinte neurologique. Il y aurait une association entre le polymorphisme du gène codant pour l'IL-6 et la MB **(Chang *et al*., 2005).**

IL-32 est une cytokine pro-inflammatoire impliquée dans plusieurs maladies inflammatoires chroniques, produit par les cellules épithéliales et immunitaires telles que LT, les Monocytes et les NK. Elle peut stimuler la production de diverses chimiokines et cytokines pro-inflammatoires, IL-32 jeux un rôle dans le développement d'un certain nombre de maladie auto-immunes y'a compris la MB **(Cagnard et *al*., 2005 ; Jung *et al*., 2011).**

I. 6.2. Les cytokines anti inflammatoire

IL-37 est la seule cytokine anti inflammatoire de famille de l'interleukine-1 (IL-1). Elle joue un rôle dans l'immunité innée en limitant la production de cytokines inflammatoires ainsi que dans l'immunité acquise en augmentant les cellules T régulatrices (T-reg) et en inhibant l'activation de la maturation des cellules dendritiques **(Dinarello *et al*., 2016)**. L'IL-37 est exprimée dans diverses cellules et tissus normaux tels que les NK, les cellules B stimulées, les monocytes, les kératinocytes de la peau, les cellules épithéliales, les ganglions lymphatiques, le thymus, les poumons, le côlon, l'utérus et la moelle osseuse **(Tong *et al*., 2019).**

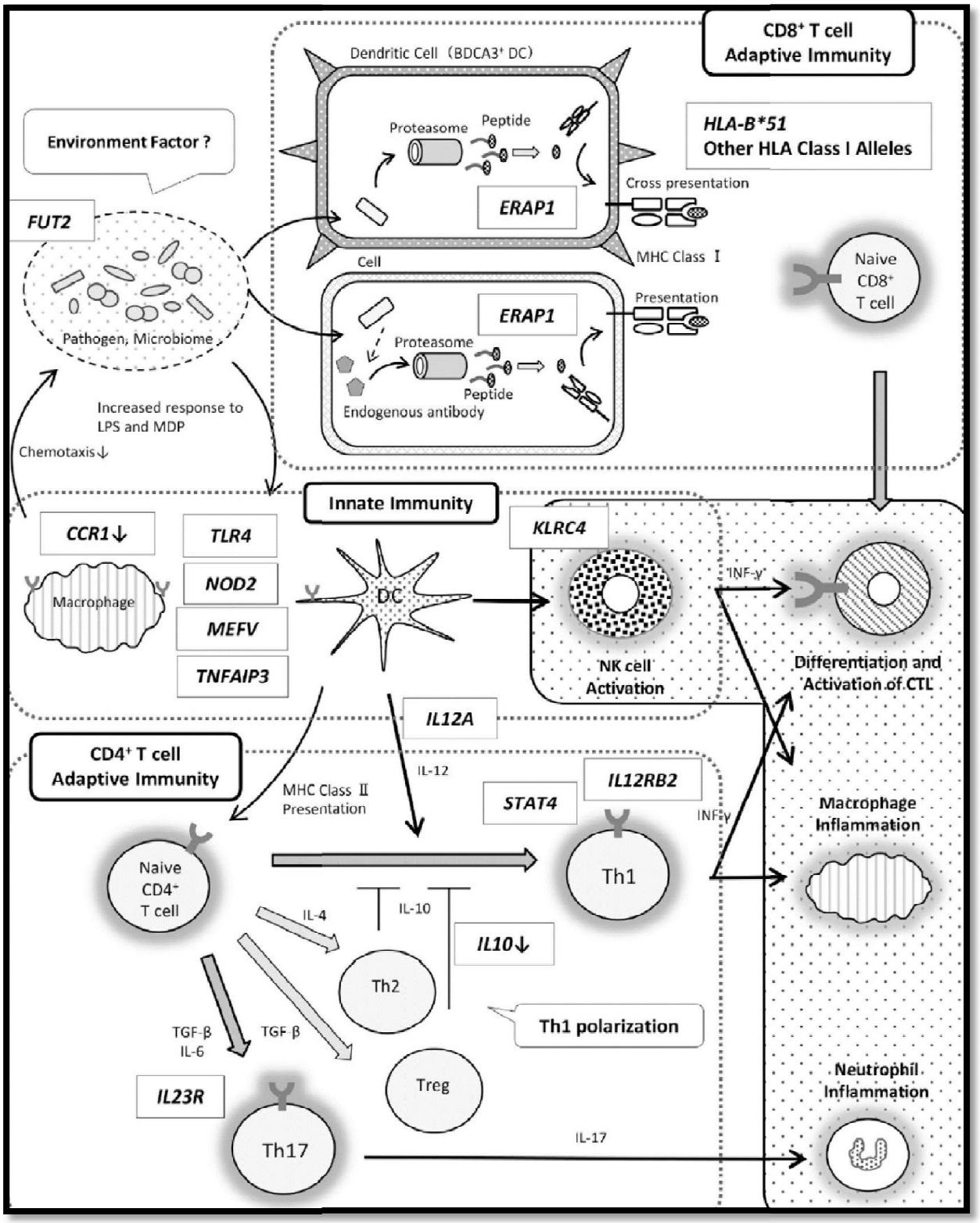

Figure 4. Représentation d'un schéma hypothétique de la pathogénèse de la Maladie de Behçet **(Takeuchi *et al*.,2015).**

I.7. Manifestations cliniques

I.7.1. Manifestations cutanéo-muqueuses

I.7.1.1. Aphtes buccaux récidivants

Les aphtes buccaux récidivants constituent en général un symptôme initial et sont mis en évidence pratiquement chez tous les patients à un moment donné de leur évolution. Ils constituent d'ailleurs le critère obligatoire de cette affection. Ils peuvent toucher les gencives, la langue, les muqueuses labiales et buccales **(Jean-Philippe *et al*., 2008)**. La lésion typique est ronde, comportant un bord érythémateux et bien délimité, avec une surface couverte d'une pseudomembrane blanche-jaunâtre, correspondant à de la fibrine **(Mat *et al*., 2013).**

7.1.2. Ulcères génitaux

Des ulcérations aphteuses similaires à celles trouvées dans la bouche se produisent également sous forme de lésions génitales, le plus souvent sur le scrotum et la vulve Le pénis, la muqueuse périnéale et vaginale peuvent également être impliqués, mais sont beaucoup moins fréquents **(Lipschitz, 1963).** Ils sont douloureux et en général plus étendus et plus profonds que les ulcères buccaux **(Everekliogl**u**, 2005)**. Selon l'ordre d'apparition, ils sont la deuxième manifestation la plus fréquemment observée survenant dans environ 80 à 90 % des cas et ressemblent à leurs homologues oraux **(Barnes *et* Yazici, 1999 ; Alpsoy *et al*., 2003)**. Ces ulcérations sont souvent rondes à ovales, d'aspect perforé généralement recouvertes de fibrine ou de croûte jaunâtre **(Mat *et al*., 2006).**

I.7.1.3. Manifestations cutanées

De plus, des lésions cutanées sont souvent présentes et récurrentes chez les patients atteints de MB **(Kaklamani et *a*l., 2003)**. Très variées se voient dans 70 % des cas. Elles comprennent par ordre décroissant de fréquence, l'hypersensibilité cutanée aux effractions cutanées (80 à 100 %), les lésions pustuleuses spontanées (60 %), les lésions d'érythème noueux (30 à 40 %) **(Dilsen *et al*., 1993).**

I.7.2. Atteinte oculaire

La perte de vision est l'une des manifestations les plus fréquentes et l'une des plus graves de la MB. Les lésions oculaires peuvent toucher L'uvéite antérieure et postérieure, ainsi que la vascularite rétinienne peuvent entraîner une perte de vision chez environ 25 % des patients **(Muhaya et *al*., 2000)**, mais elle apparaît en général après les ulcérations orales. Les patients avec des lésions oculaires ont des symptômes variables, incluant des douleurs oculaires, une photophobie, une lacrimation exagérée, une rougeur oculaire ***(*Jean-Philippe *et al., 2008).***

I.7.3. Atteinte articulaire

Elle est observée chez 40 à 71% des patients sous forme d'arthrite ou d'arthralgie. Les genoux, les poignets, les chevilles et les coudes sont plus souvent touchés tandis que l'implication des petites articulations des mains et des pieds est moins courante. Les manifestations articulaires sont généralement aigües et récurrentes **(Yurdakul *et* Yazici, 2010 ; Desbois *et al*., 2014).**

I.7.4. Atteinte neurologique

Les manifestations neurologiques sont l'une des causes les plus graves de morbidité et mortalité à long terme, elles sont observées dans 20 à 40 % des cas. Parmi celles-ci, les atteintes cérébrales parenchymateuses (80% des patients), les thromboses du sinus dural, les vascularites artérielles et les méningites aseptiques et Plus rarement une méningoencéphalite, une atteinte des nerfs périphériques et des problèmes psychiatriques **(Akman-Demir *et al*., 1999 ; Calikoglu *et al*., 2001)**. Ces symptômes sont associés à des exacerbations de la maladie et entrainent progressivement une incapacité irréversible **(Oktem-Tanör *et al*., 1999 ; Sakane *et al*., 1999; Kara *et al*., 2006).**

I.7.5. Atteinte digestive

L'atteinte gastro-intestinale survient chez 3 à 26% des patients et varie selon les populations. Elle est beaucoup plus fréquente au Japon qu'au Moyen-Orient et dans la région méditerranéenne. L'inflammation et l'ulcération des muqueuses se produisent dans tout le tractus gastro-intestinal. **(Zeidan *et al*., 2016)**. Les symptômes peuvent varier d'une légère gêne gastro-intestinale à des symptômes plus graves comme des saignements, une fistule ou perforation incluant aussi l'anorexie, des vomissements, une dyspepsie, une diarrhée ou une méléna ***(*Beales, 1998 ; Bayraktar *et al*., 2000).**

I.7.6. Atteinte vasculaire

La maladie veineuse est plus fréquente que l'atteinte artérielle elle touche les vaisseaux sanguins de tailles et de types différents, et sa prévalence peut représenter 14 % à 39 % des patients atteints de MB. Selon les études les thromboses veineuses profondes sont la forme la plus courante d'atteinte vasculaire dans la MB est une maladie grave qui peut affecter de nombreux différents sites comprenant la veine cave inférieure, la veine cave supérieure, l'artère pulmonaire, les vaisseaux supra-hépatiques et les cavités cardiaques **(Calamia et *al*., 2011).**

I.8. Diagnostic

Il n'y a aucun test de laboratoire spécifique de la MB et le diagnostic de cette affection repose principalement sur une base clinique. Divers critères ont été utilisés et la plupart d'entre eux dépendent fortement des manifestations muco-cutanées **(Alpsoy, 2016)**, parmi ces derniers, les critères de l'International Study Group (ISG) et l'International Criteria for Behçet's disease (ICBD). Les critères ISG et ICBD sont appropriés comme outils de diagnostic pour la maladie de Behçet mais la sensibilité et la précision de l'ICBD est supérieurs aux critères ISG **(Delnabi *et al.*, 2017).**

Tableau I: Tableau récapitulatif des conditions d'inclusion pour l'ISG, de l'ICBD et de l'ICBD Révisée **(Devey, 2017).**

Systèmes de classification / **Eléments de classification**	**International : study group :ISG(1990)**	**International Criteria for Behçet 's Disease: ICBD (2006)**	**Revised international Criteria for Bahçet's disease: ICBD révisée (2014)**
Aphtose buccale	Obligatoire	1 point	2 point
Aphtose genitale	Facultatif	2 points	2 points
Atteinte oculaire	Facultatif	2 points	2 points
Atteinte cutanée	Facultatif	1 point	1 point
Test de pathergie positif	Facultatif	1 point	1 point
Atteinte vasculaire		1point	1 point
Atteinte neurologiue			1 point

Test de pathergie (pathergy test)

Le test de pathergie est un test simple consiste à piquer l'avant-bras du malade avec une petite aiguille stérile et à observer la réaction 24 à 48 heures plus tard. L'apparition d'une pustule avec une aréole (cercle) rouge traduisant l'inflammation confirme le diagnostic. Bien qu'un test de

pathergie positif est utile dans le diagnostic de la MB, seule une minorité des patients de Behçet démontrer le phénomène pathergique **(Kutlubay *et al*., 2017).**

I.9. Traitement

De nombreux schémas thérapeutiques différents ont été essayés dans la MB, avec des succès variables. Le nombre de thérapies proposées témoigne peut-être du fait qu'aucune n'est universellement efficace pour traiter cette maladie. Le traitement de la MB est un travail en cours et mieux considéré comme un art où les schémas thérapeutiques sont adaptés de manière créative aux circonstances individuelles des patients.

Bien que la colchicine, les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et les traitements topiques corticoïdes soient souvent suffisants pour contrôler les manifestations cutanéomuqueuses et articulaires, une stratégie d'emblée plus agressive avec des immunosuppresseurs est justifiée pour traiter les manifestations sévères qui mettent en jeu le pronostic vital ou fonctionnel, telles que l'uvéite postérieure, la vascularite rétinienne, les atteintes vasculaire, neurologique et gastro-intestinale **(Comarmond *et al*., 2014).**

Chapitre II

Matériel Et Méthodes

II.1. Matériel

Ce travail s'agit d'une étude descriptive effectuée entre février et juin 2021 au niveau de laboratoire de biochimie-immunologie au sien de l'université M'hamed Bougara Boumerdes, département de biologie, dans le cadre du protocole de collaboration avec les services de médecine interne et de neurologie de centre hospitalo-universitaire de Mustapha Bacha.

Patients et témoins

Les 97 patients inclus dans notre étude ont répondu aux critères diagnostiques internationaux de la MB. Les données cliniques générales ont été standardisées à l'aide d'un questionnaire établi par un médecin lors de la consultation d'inclusion. Nous avons recueilli : l'âge au moment de l'inclusion, le sexe, les manifestations cliniques présentées depuis le début de la maladie, les signes d'activité de la maladie présents à l'inclusion, la prise d'une corticothérapie ou d'un immunosuppresseur. Par ailleurs, des sujets sains qui ne présentent aucune inflammation sont inclus dans notre étude entant que témoins. Tous les sujets de l'étude doivent donner un consentement éclairé avant le prélèvement sanguin. **(Voir annexe)**

Récupération du plasma

Les échantillons sanguins ont été prélevés à partir des patients et des témoins sains dans des tubes EDTA ou héparines puis acheminé immédiatement au laboratoire à +4°c, après une centrifugation à 2800 rpm pendant 5 min, les sérums sont récupérés dans des éppendorfs puis congelés à -20°c jusqu'à l'utilisation.

II.2. Méthodes

II.2.1. Dosage du NO par la méthode de GRIESS modifiée

Le NO est mesuré de façon indirecte en quantifiant un de ses métabolites physiologiquement stable.

Principe

Le dosage des nitrites est réalisé par méthode de GRIESS modifiée **(Touil-Boukoffa *et al.*, 1998)**. Il s'agit d'une réaction de diazotation; le nitrite forme un sel de diasonium avec le sulfanilamide du GRIESS B. Il est ensuite couplé avec une amine « N-(naphtyl) éthylène diamine » (GRIESS A) pour former un produit azophique chromophore qui absorbe fortement à 543 nm. Le

réactif de GRIESS donne une coloration rose plus ou moins intense en fonction de la concentration de nitrite

Dosage

Le dosage de NO dans les échantillons doit être effectué par le mélange de 100µl de sérum avec 50 µl de GRIESS B (Sulfanilamide 5% dans du HCl à 20%) et 50 µl du réactif GRIESS A (5% de N-naphthyl éthylène diamine dans du HCl à 20%) et le volume final sera complété avec 800 µl d'eau distillée. Une incubation des échantillons pendant 15 min à l'obscurité doit être effectuée. Par la suite, une centrifugation de 5 minutes est réalisée à 4000 rpm. La lecture DO est faite à une longueur d'onde de 543 nm. Une gamme étalon a été réalisé au préalable à partir d'une solution de NaNo2 à 500 µm. Les concentrations des nitrites résiduels ont été calculées par extrapolation sur la courbe obtenue **(Figure 05).**

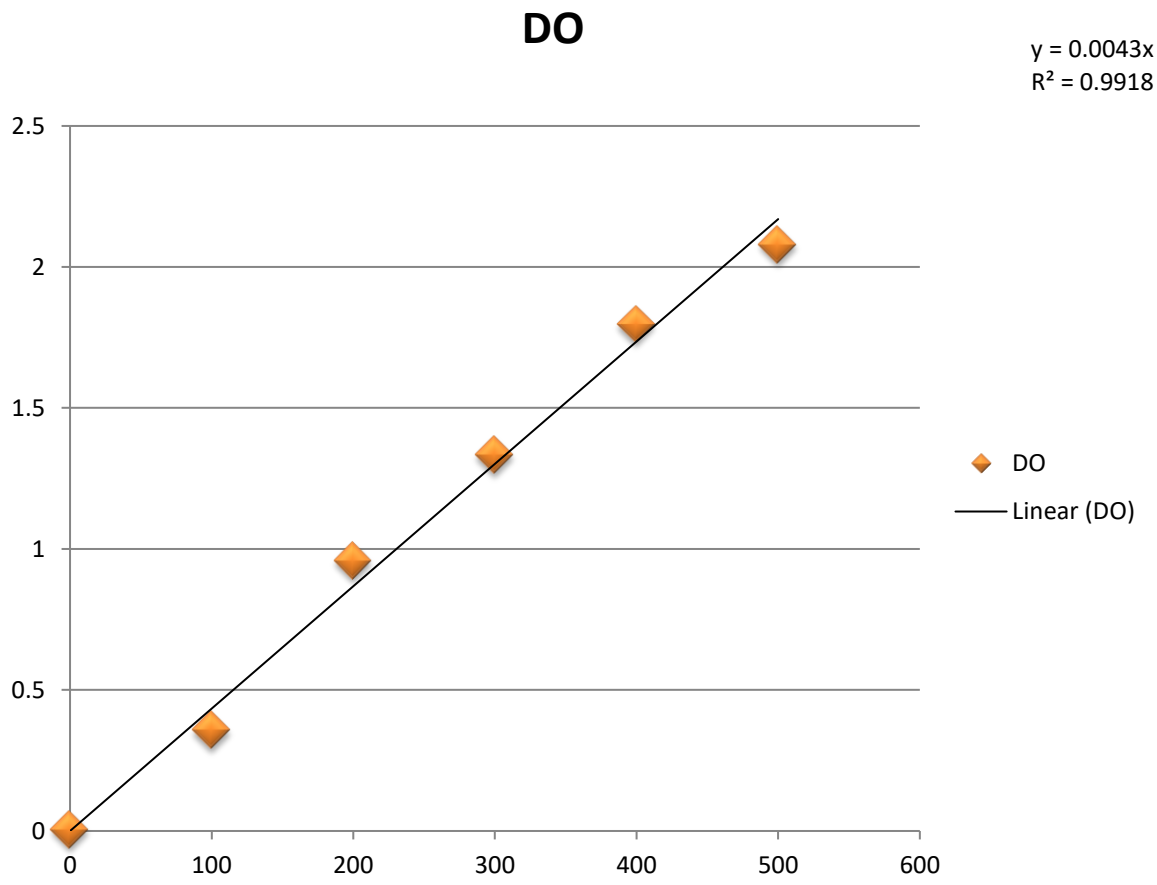

Figure 05. Courbe étalon du dosage de NO.

II.2.2. Dosage des cytokines par ELISA

Principe

Il s'agit d'un dosage ELISA de type sandwich (Immunotech-Coulter, Marseille, France). Une technique de dosage immuno-enzymatique. Dans les puits d'une plaque de microtitration recouverts d'un premier anticorps monoclonale anti-cytokine où sont incubés les échantillons à doser et les standards ainsi que le deuxième anticorps couplé à la peroxydase. Après incubation l'activité enzymatique est révélée par le substrat chromogène. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en cytokines présentes dans l'échantillon ou le standard.

Dosage

Nous avons utilisé un kit avec une microplaque 96 puits à fond plat. Le dosage est réalisé selon les instructions de fabrication.

Les microplaques ont été sensibilisées (caoting) avec 100ml/puits de l'anticorps de capture diluée. Les plaques puis incubé toute la nuit à température ambiante. Ensuite, 200 µl du tampon de lavage ont été ajoutés dans chaque puits. Après 3 lavages, les microplaques ont été inversées sur un papier propre pour éliminer les bulles d'air. Ensuite, les sites non spécifiques ont été bloqués en ajoutant 300 µl de solution de saturation dans chaque puits et les microplaques ont été incubées à température ambiante pendant 2h. Cette étape a été suivie par 3 lavages. 100 µl de l'échantillon ou du standard ont été ajoutés aux puits. Les plaques ont été ensuite recouvertes avec un papier film et incubées pendant 2h à température ambiante. 03 autres lavages ont été réalisés puis 100 µl de la solution de détection ont été ajoutés aux puits. Les plaques ont été recouvertes avec de papier film et incubées pendant 2h à une température ambiante avant de les laver 3 fois. Ensuite, 100 µl de la solution « streptavidineHRP » ont été ajoutés dans chaque. La plaque est recouverte de papier aluminium et incubée pendant 20 min à température ambiante et à l'obscurité.

Après 03 autres lavages, 100 µl de la solution substrat ont été ajoutés dans chaque puits. Les plaques ont été recouvertes avec de papier aluminium et mises en incubation pendant 20 min à température ambiante à l'obscurité. Enfin, la solution stop a été ajoutée à un volume de 50 µl dans chaque puits. La densité optique est lue à 450 nm à l'aide d'un lecteur de plaque. Les concentrations de l'IL-6, l'IL-6R, IL-32 et IL-37 sont calculées par extrapolation à partir des courbes étalons **(Figure 06, 07, 08 et 09 respectivement).**

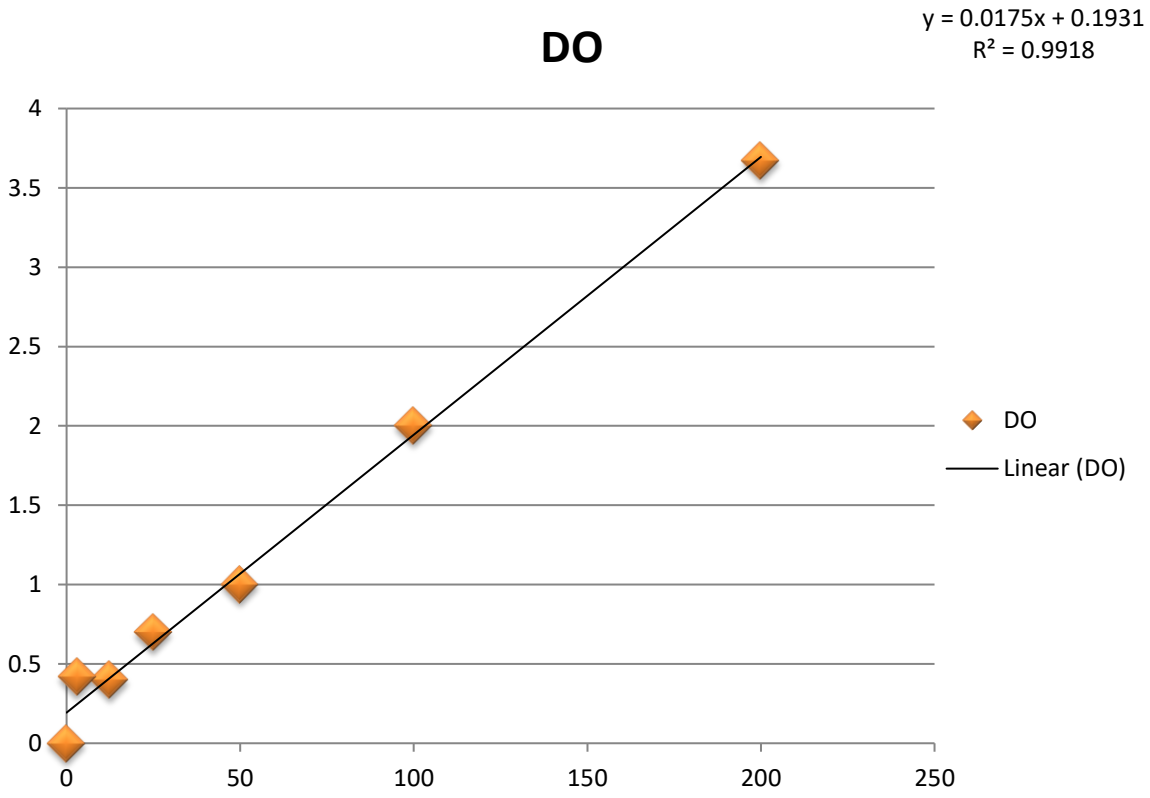

Figure 06. Courbe étalon du dosage d'IL-6.

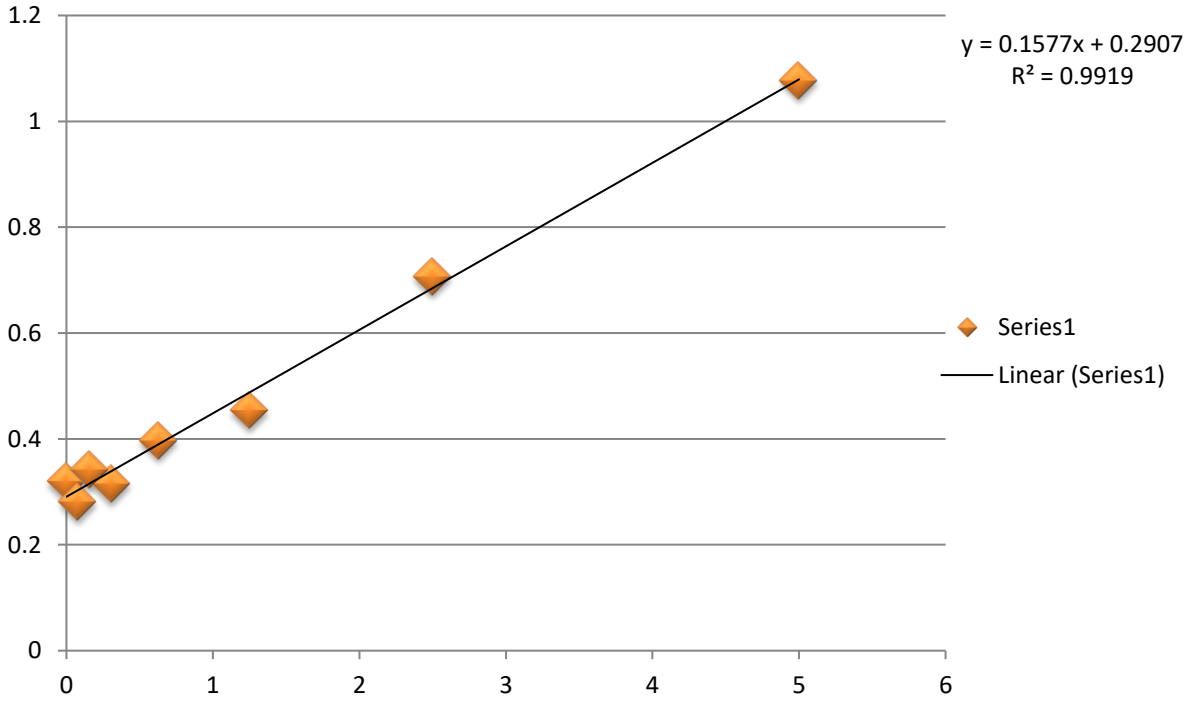

Figure 07. Courbe étalon du dosage d'IL-6R.

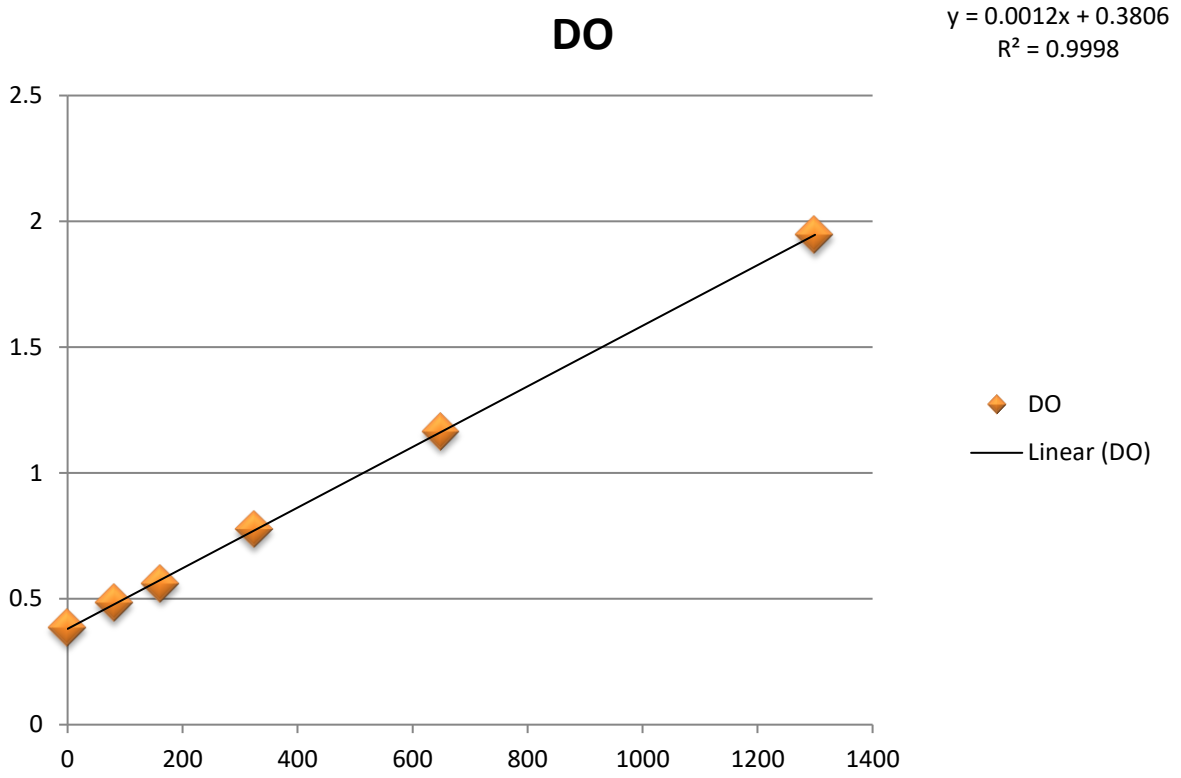

Figure 08. Courbe étalon du dosage d'IL-32.

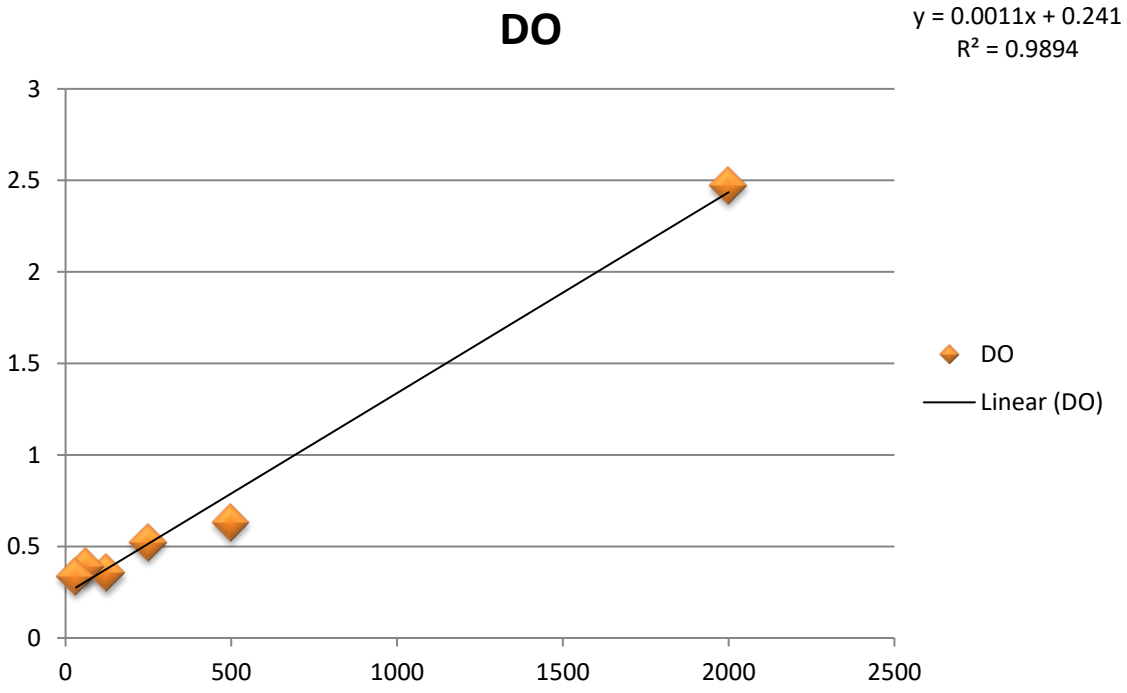

Figure 09. Courbe étalon du dosage d'IL-37.

II.3. Analyse statistique

L'analyse statistique des résultats obtenus a été effectuée à l'aide du logiciel prisme8. Le test de shapiro-wilk a été appliqué pour vérifier la normalité des différentes variables. Les comparaisons ont été analysées par les tests non paramétriques mann witney et kruskall Wallis, nos résultats sont jugés significatifs lorsque $p < 0,05$.

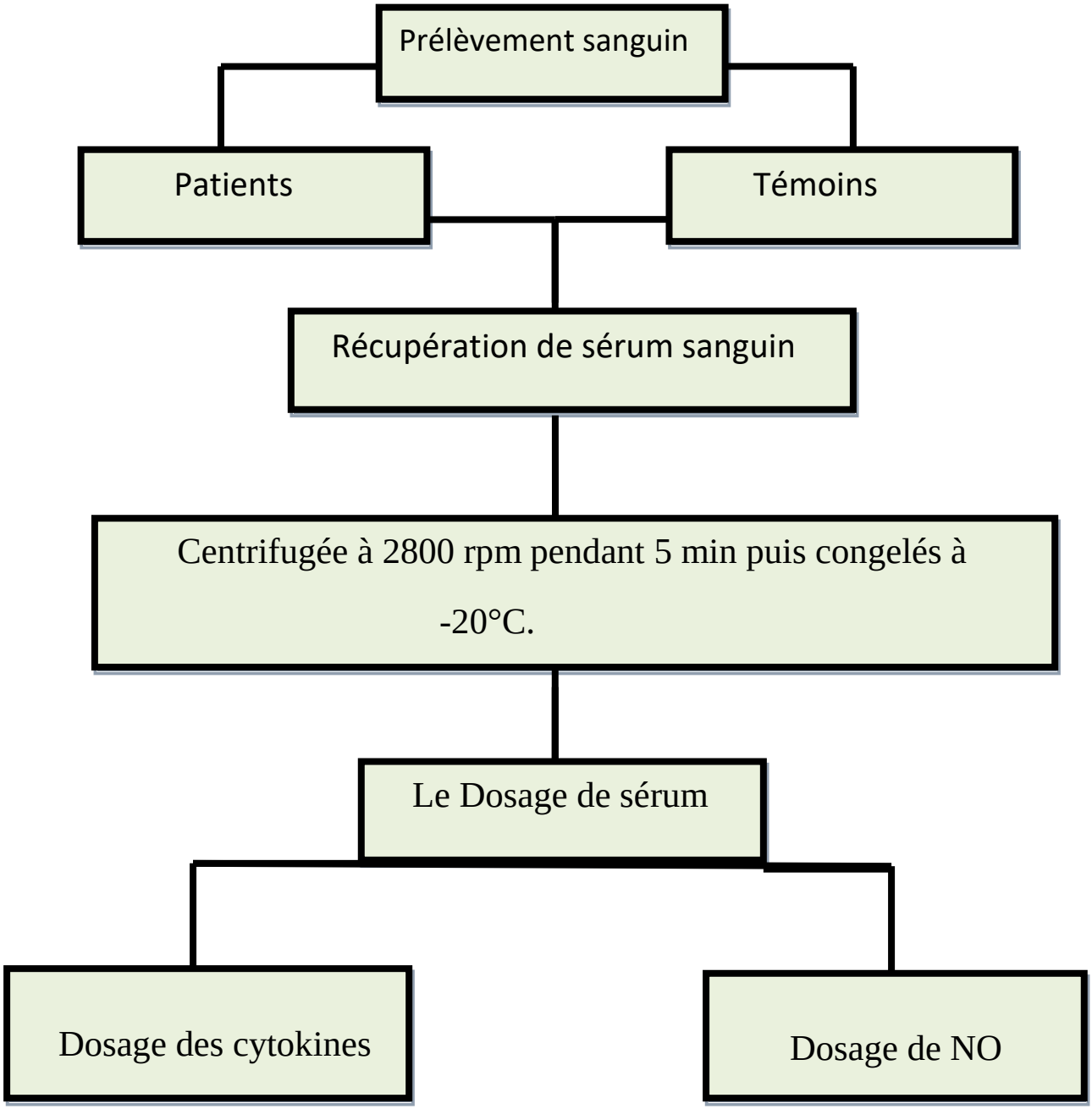

Figure 10. Schéma récapitulatif de la démarche expérimentale**.**

Chapitre III

Résultats Et Discussion

III .1. Résultats

III.1.1. Répartition graphique des patients selon le sexe et l'âge.

La représentation graphique selon le sexe montré que la maladie Behçet est plus fréquente chez les hommes 65,98% que les femmes 34,02% **(Figure 11).** La maladie de Behçet s'exprime de l'âge moyen entre 15 à 75 ans. A travers notre étude basée sur la population algérienne, nous remarquons que la MB se manifeste chez les adultes jeunes et débute après l'âge de 15 ans, l'âge maximum est de 75 ans. La tranche d'âge [30-45] ans représente le pic de fréquence le plus élevé avec un pourcentage de 38,14% **(Figure 12).**

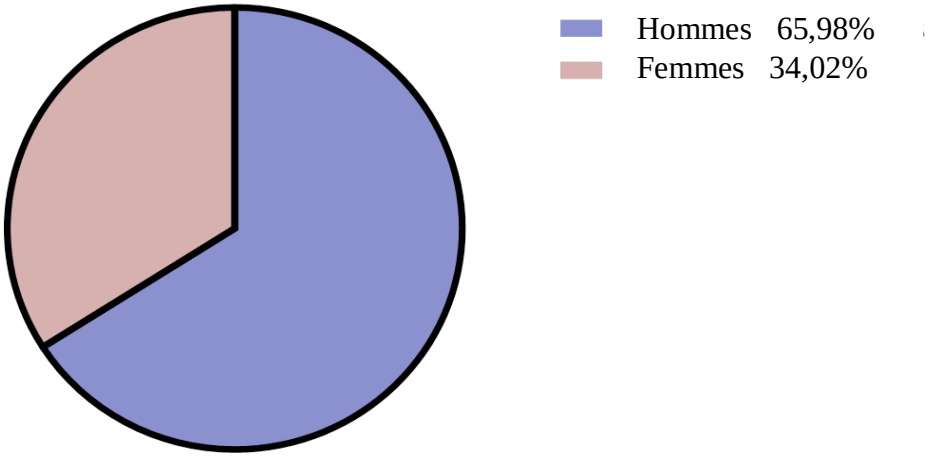

Figure 11. Répartition graphique des patients selon le sexe.

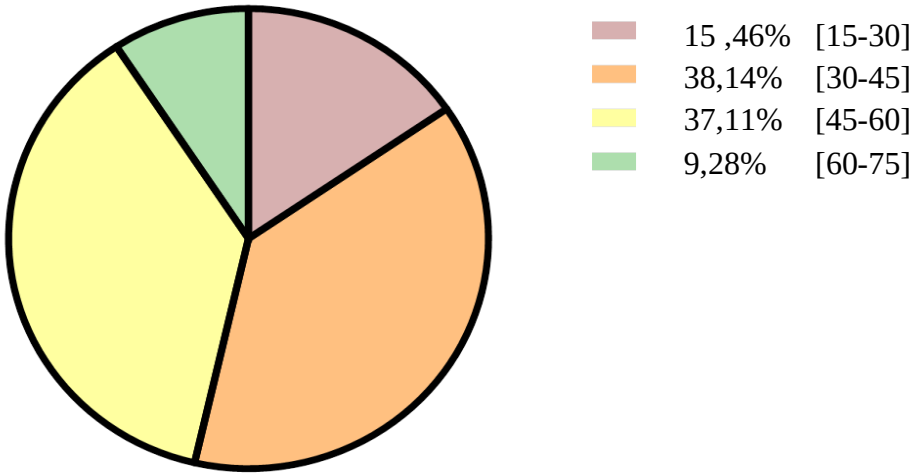

Figure 12. Répartition graphique des patients selon l'âge.

III.1.2. Répartition graphique des patients selon les différentes manifestations cliniques

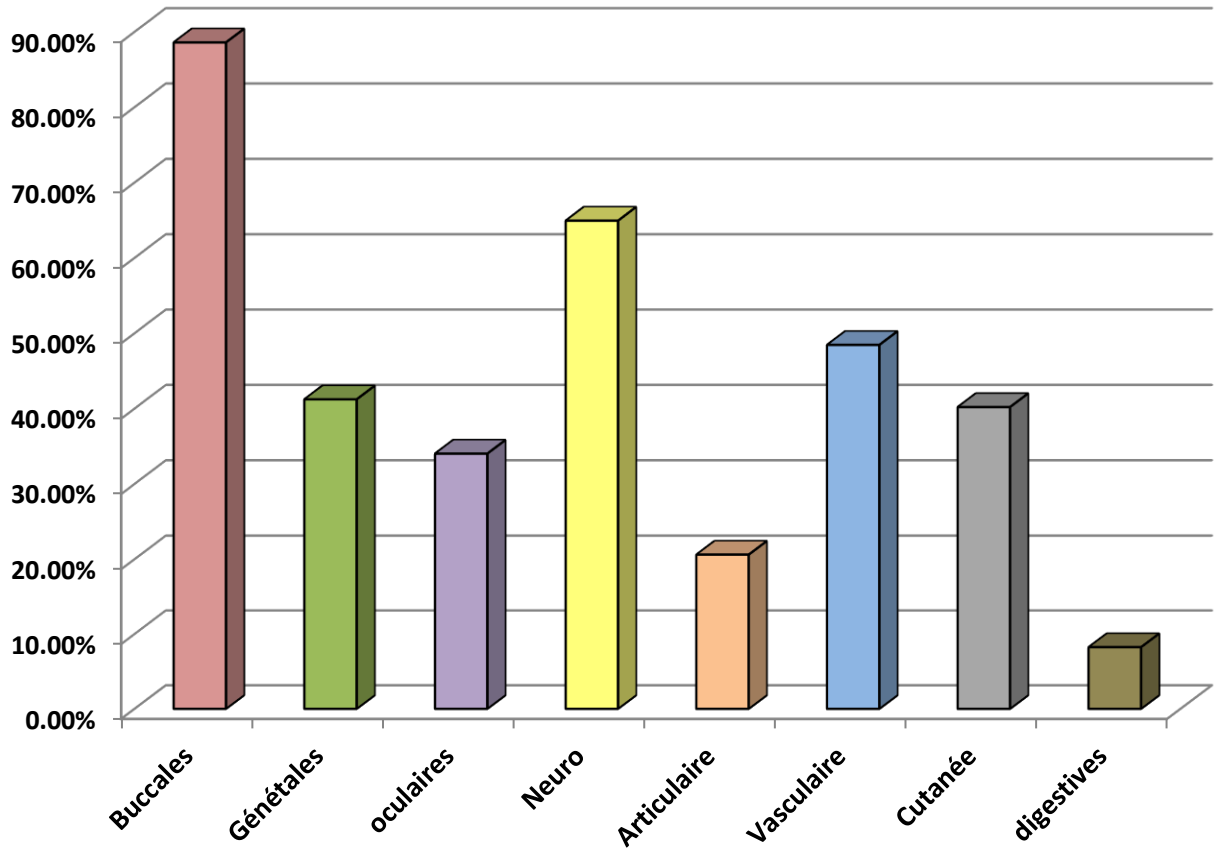

Figure 13. Répartition graphique des patients selon les différentes manifestations cliniques.

III.1.3. Etude des différents paramètres *in-vivo*

Nous avons estimé les taux de NO et ainsi que les marqueurs immunitaires IL-6/IL-6R, IL-32 et IL-37 au niveau plasmatique.

III.1.3.1. Etude du taux de NO chez les patients atteints de la MB et chez les témoins sains

Les taux globaux de monoxydes d'azotes plasmatique chez les patients atteints de la MB étaient hautement significatifs par rapport aux témoins sains (P <0,0001) **(Figure 14A).**

Les patients ont été groupés selon les manifestations majeures qu'ils présentent (oculaire, vasculaire et neurologique). Les résultats statistiques ont montré un taux élevé de NO chez les trois

catégories en comparant aux témoins, par contre aucune différence n'a été marquée entre les manifestations **(Figure 14B).**

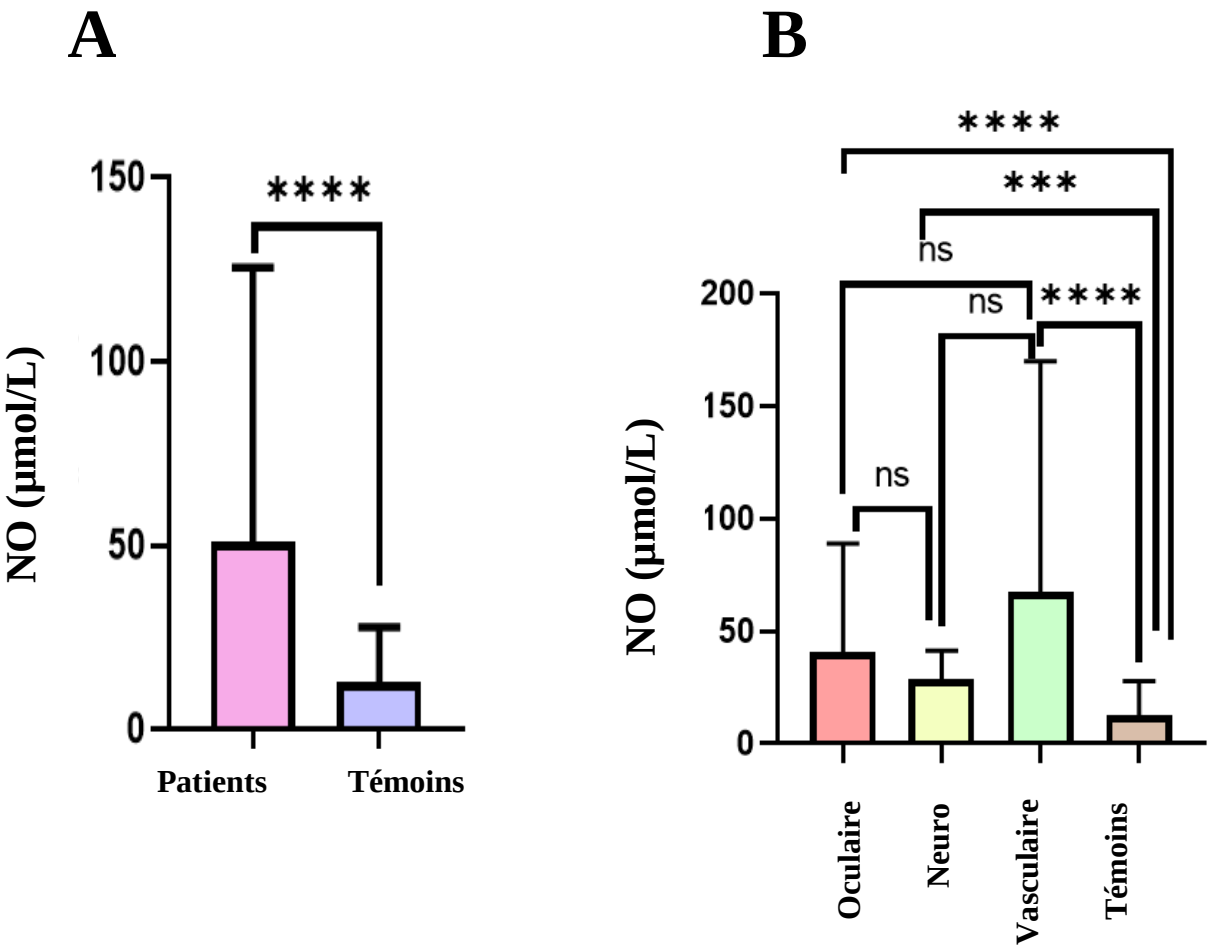

Figure 14. Taux de monoxydes d'azotes par méthode de GRIESS **(A) :** chez les patients atteints de la MB et chez les témoins sains **(B) :** aux cours de différentes manifestations et témoins sains.

ns= non significatif p>0.05, ***= différence significative p<0.0005, ****= p<0.0001. Les résultats sont présentés par moyenne et écart type.

III.1.3.2. Etude du taux de l'IL-6 chez les patients atteints de la MB et chez les témoins sains

L'analyse statistique d'IL-6 montre une augmentation significative chez les patients atteints de la MB par rapport aux sujets sains (P <0,0001) **(Figure 15A).**

Les résultats statistiques ont montré un taux élevé d'IL-6 chez les trois catégories en comparant aux témoins, par contre aucune différence n'a été marquée entre les manifestations **(Figure 15B).**

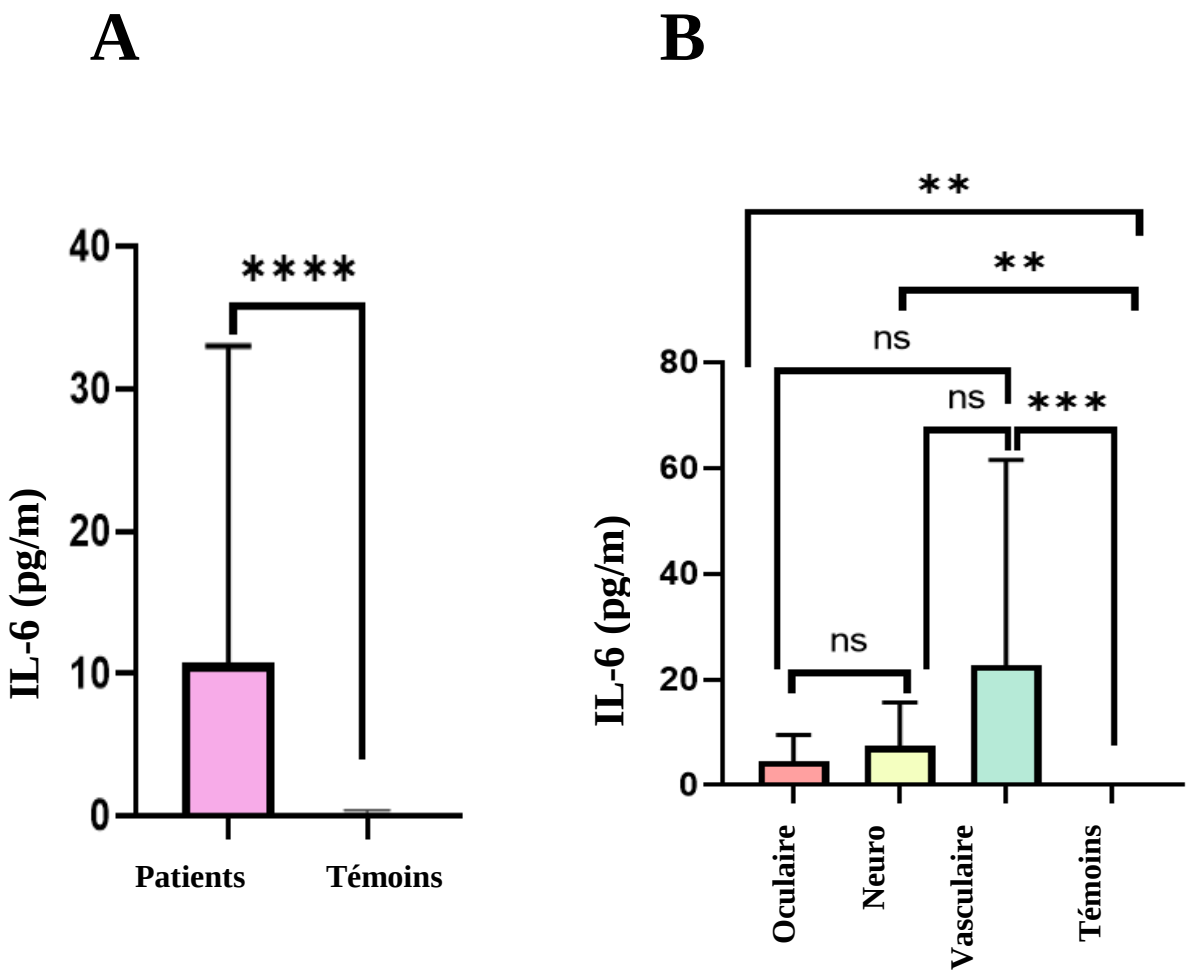

Figure 15. Taux d'IL-6 par méthode d'ELISA **(A) :** chez les patients atteints de la MB et chez les témoins sains **(B) :** aux cours de différentes manifestations et témoins sains.

ns= non significatif p>0.05, **= différence significative p<0.005, ***=p<0.0005, ****= p<0.0001. Les résultats sont présentés par moyenne et écart type.

III.1.3.3. Etude du taux de l'IL-6R chez les patients atteints de la MB et chez les témoins sains

Les patients présents un taux légèrement réduits d'IL-6R comparant aux témoins, par contre cette réduction n'été pas significative **(Figure 16A).**

Les résultats de comparaison de différentes catégories de manifestations ont confirmé que les patients atteints de la MB ne présente pas un taux élevé d'IL-6R comparant aux témoins et entre les trois catégories de manifestations **(Figure 16B).**

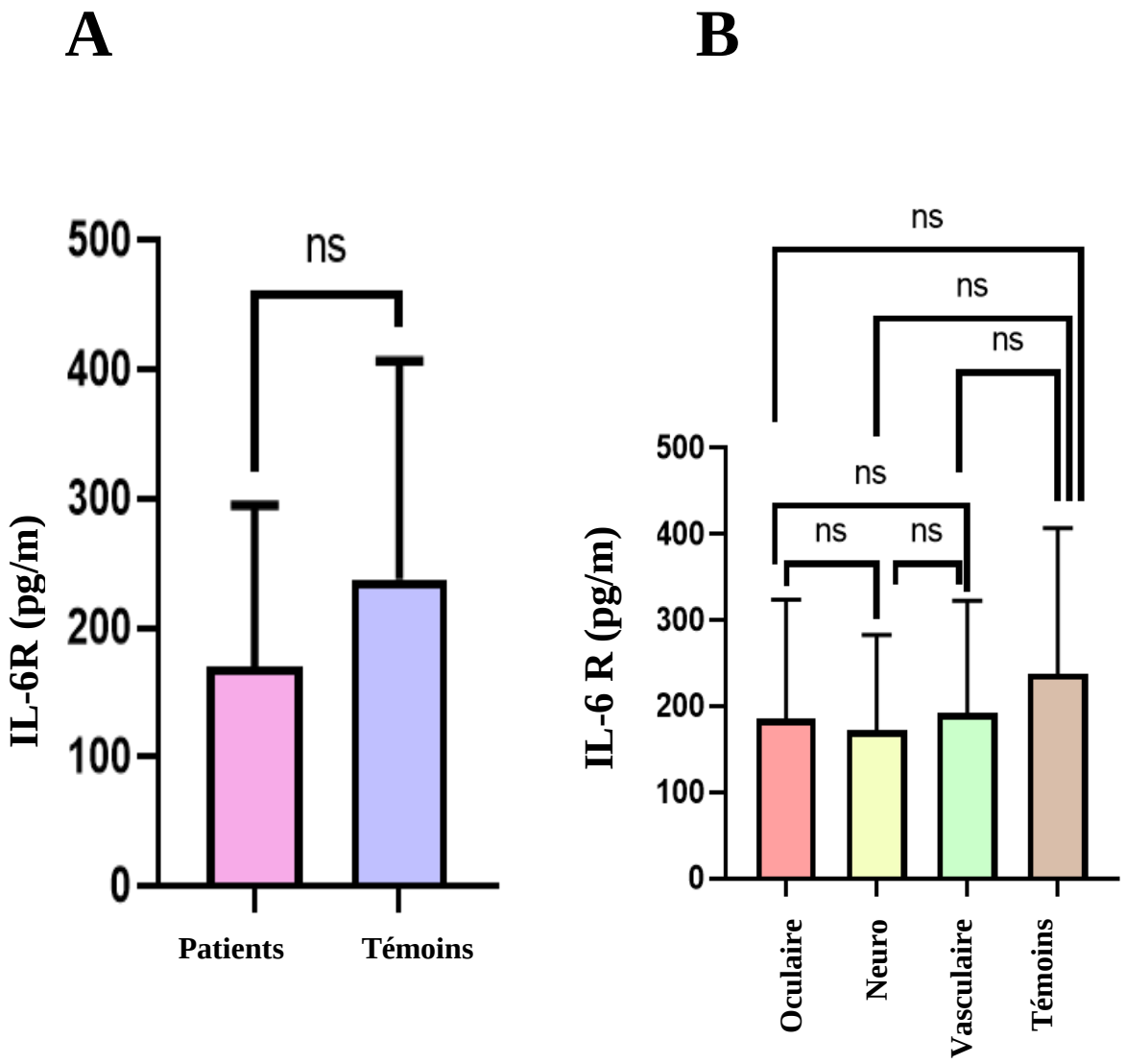

Figure 16. Taux d'IL-6R par méthode de ELISA **(A) :** chez les patients atteints de la MB et chez les témoins sains **(B) :** aux cours de différentes manifestations et témoins sains.

ns = non significatif p>0.05. Les résultats sont présentés par moyenne et écart type.

III.1.3.4. Etude du taux de l'IL-32 chez les patients atteints de la MB et chez les témoins sains :

D'après l'étude statistique on observe une différence significative entre les patients atteints la MB et les témoins sains avec un taux de P= 0.0062 **(Figure 17A).**

Le taux d'IL-32 est plus important chez les patients par rapport aux témoins, les data ont montré une différence significative entre les patients avec manifestations oculaires (P= 0.0430) et

neurologiques (P=0.0356) respectivement et avec les témoins, cette augmentation été plus prononcée chez les patients avec des manifestations vasculaires avec un P=0.0063, par contre aucune différence a été marquée entre les manifestations **(Figure 17B).**

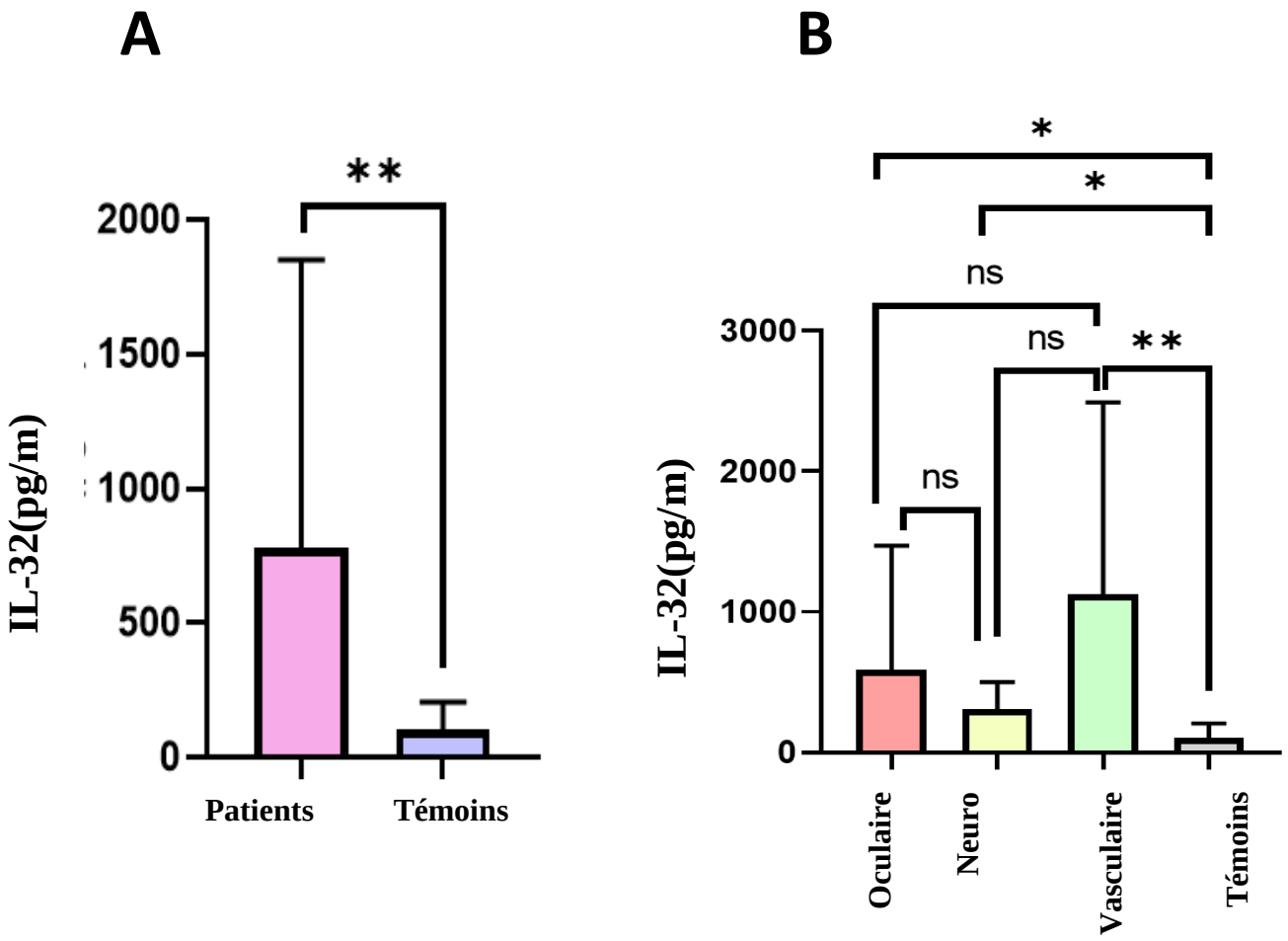

Figure 17. Taux d'IL-32 par méthode de ELISA **(A) :** chez les patients atteints de la MB et chez les témoins sains **(B) :** aux cours de différentes manifestations et témoins sains.

ns= non significatif, *= différence significative p<0.05, **= p<0.005. Les résultats sont présentés par moyenne et écart type.

III.1.3.5. Etude du taux de l'IL-37 chez les patients atteints MB et chez les témoins sains

L'étude statistique montre une différence non significative entre les patients atteints de la MB et les témoins sains **(Figure 18A).**

Les taux sériques chez les trois catégories de patients (oculaire, vasculaire et neurologique) ont montré une différence non significative par comparaison aux sujets sains et entre les trois catégories de manifestations **(Figure 18B).**

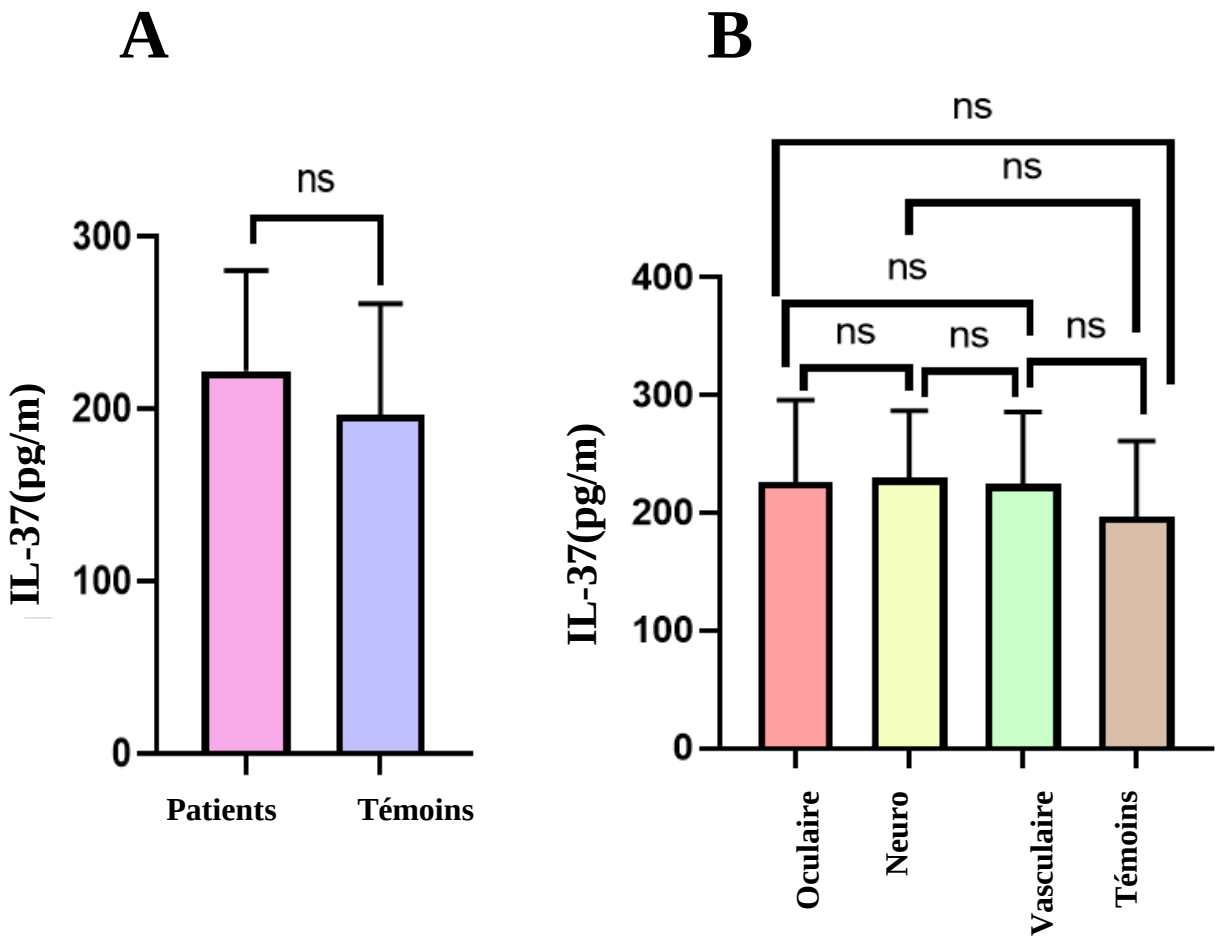

Figure 18. Taux d'IL-37 par méthode de ELISA **(A) :** chez les patients Atteints de la MB et chez les témoins sains **(B) :** aux cours de différentes manifestations et témoins sains.

ns= non significatif p>0.05. Les résultats sont présentés par moyenne et écart type.

III.2. Discussion générale

La maladie de Behçet est considérée comme un désordre inflammatoire chronique et multi systémique, sa cause exacte fait l'objet de recherches intenses. Pour cela notre étude a portée sur le dosage des marqueurs inflammatoires à savoir le NO, IL-6/IL-6R, L'IL-32 et la cytokine Anti-inflammatoire IL-37.

III.2.1. Selon le plan épidémiologique

Le sexe masculin est nettement plus touché par rapport au sexe féminin, cette prédominance masculine est variable selon les pays, et elle est observée surtout dans les pays du Moyen Orient et en Afrique du nord **(Piette, 2002**). En Tunisie, la prédominance masculine est retrouvée dans toutes les séries avec un sex-ratio H/F entre 2,75 et 3 **(Hamza, 1990 ; Hamza et meddbed, 1996)**. Les séries des pays du Moyen-Orient présentent un sex-ratio entre 3 et 5.

La prédominance masculine semble stable au fil des années dans le bassin méditerranéen **(Zouboulis *et al*., 2003)**. Les formes féminines se singularisent par leur survenue plus tardive et leur caractère moins sévère que les formes masculines **(Fahsi, 1994)**. Ces résultats sont en accorde avec nos résultats qui montre que la MB est plus fréquente chez les hommes 65.98% que les femmes 34.02%.

III.2.2. Selon le plan clinique

Nous constatons à travers notre étude que la fréquence la plus élevée correspond aux patients présentant des manifestations buccales (88%) et neurologiques (64%). D'après **Akman-Demir *et al***, Les manifestations neurologiques sont l'une des causes les plus graves de morbidité et mortalité à long terme **(1999)**. Les autres patients montrent un pourcentage modéré pour les malades touchés par une inflammation des vaisseaux (Angio-Behçet) se situent à une fréquence de 48%, génitales (40%), cutanéomuqueuse (39%), et oculaires de 31%, des résultats conclus que la perte de vision est l'une des manifestations les moins fréquentes et l'une des plus graves de la MB **(Muhaya *et al*., 2000)**. Alors que Les taux les plus faibles sont représentés par les autres formes : articulaires (19%) sont généralement aigües et récurrentes **(Yurdakul *et* Yazici, 2010)**, et digestives (8%).

III.2.3. Selon le plan biologique

Nous avons exploré *in-vivo* le taux du NO ainsi que Le taux des marqueurs immunitaires. Il faut rappeler que les espèces radicalaires oxydatives peuvent endommager les cellules et les tissus, soit directement par leur toxicité, ou bien en s'associant avec d'autres radicaux libres générés par les cellules phagocytaires activées comme le NO **(Belguendouz *et al*., 2011 ; Ahmedi *et a*l., 2016).**

Nos résultats ont montré une augmentation hautement significative de taux de la production du NO au niveau du plasma des patients atteints de la MB à déférents manifestations oculaire, vasculaire et neurologique par rapport aux sujets sains. Ce Là suggère l'implication de ces marqueurs dans la pathogenèse de la MB. Ces résultats ont en accorde avec les travaux précédents de **(Belguendouz *et al*., 2015).**

Nous avons souligné dans notre étude une forte production d'IL-6 chez les patients atteints de la MB comparée à celle des contrôles. Cette augmentation a été maintenue dans les trois manifestations étudiées. Ces résultats corroborent avec ceux émis par **(Yuko yamakawa *et al*., 1993)**. Ils sont montré chez les patients atteints de la MB une production significativement élevée. L'amélioration de la synthèse d'IL-6 dans la maladie de Behçet pourrait jouer un rôle déterminant dans la promotion de diverses manifestations inflammatoires.

Le taux d'IL-6R est moindre chez les patients par rapport aux témoins, ça pourrait être expliquer par la saturation des sites de récepteurs par le ligand qui est l'IL-6. Les données des études faites par notre équipe suggèrent que l'IL-6R peut être un agent protecteur contre les thromboses et l'absence de cette molécule chez les patients cause des problèmes de modulation de l'inflammation.

Les taux sériques d'IL-32 étaient significativement élevés chez les patients atteints de la MB que chez les témoins, Ces résultats suggèrent que l'IL-32 peut jouer un rôle mineur dans la pathogenèse de la MB. Ces résultats ont en accorde avec les résultats de **You-Jung HA *et al*** qui suggèrent que l'IL-32 pourrait contribuer à une partie de l'immunopathogenèse de la MB **(2017).**

La quantification d'IL-37 chez nos patients et les témoins montre une déférence non significative. Ces résultats être en accorde avec des études précédentes qui montre une expression anormale de l'IL-37 dans les maladies auto-immunes, y compris la MB, et une analyse fonctionnelle a montré que l'expression de l'IL-37 est négativement corrélée avec le développement et la pathogenèse de la MB **(Tong, B *et al*., 2019).**

Conclusion et perspectives

Conclusion

Dans notre étude, nous avons pu établir des différences entre les paramètres inflammatoires au cours de la MB et aux cours des manifestations oculaire, neurologiques et vasculaires.

L'exploration des marqueurs immunitaires, à savoir le NO, l'IL-6 et l'IL-32 a montré une augmentation significative. Cette augmentation a été observée chez les trois catégories de patients. Nos résultats ont confirmé l'implication du NO, IL-6 et IL-32 dans la pathogenèse de la MB. Mais elles ne peuvent pas être considérées comme un marqueur de pronostique. Les autres marqueurs inflammatoires, à savoir, l'IL-6R et l'IL-37, ont montré des réponses différentes. Nos résultats suggèrent que ces deux cytokines ne sont pas impliquées dans la pathogenèse de la maladie.

En perspective, nous proposons de

- Etudier l'impacte de la trans-signalisation IL-6/IL-6R au cours de différentes manifestations de la MB.
- Dosage des autres marqueurs inflammatoires dans le but de déterminer un marqueur de pronostique.

Annexes

Fiche de renseignement

N° d'identification : ..... Date : .....

Nom : .....
Prénom : .....
Date de naissance : .....
Adresse (Willaya d'origine) : .....
Sexe : .....
N° de téléphone : .....

Hospitalisé ☐ Externe ☐

Service : .....
CHU : .....

Début de symptomatologie : .....
Signes cliniques majeurs : .....

.....

.....

.....

.....

Activité de la maladie :

.....

Antécédent familial :

.....

Traitement : ..... début de prise : .....

.....

Examen HLA : .....

Observations :

Fumeur : Oui ☐ Non ☐

Autres maladies :

Remarques

.....

.....

.....

.....

.....

CONSENTEMENT

Relatif aux échantillons biologiques de patients pour la constitution d'une Collection Biologique pour une recherche sur la Maladie de Behçet

Je soussigné(e),

Nom (Majuscules): ..... Prénom: .....

Date de naissance: .....

Considérant disposer des informations qui me permettent de prendre ma décision, donne mon accord pour:

Point 1: **de pouvoir utiliser pour des activités de recherche concernant ma maladie des restes d'échantillons biologiques existants (sang, moelle osseuse, tissus, liquides biologiques, etc...) concernant que les laboratoires pourraient déjà avoir dans leurs congélateurs.**

Point 2: **de pouvoir conserver le volume restant des échantillons biologiques qui seront recueillis dans le cadre de ma prise en charge habituelle (sang, moelle osseuse, tissus, liquides biologiques, etc...), une fois les analyses prescrites par mon médecin réalisées par le laboratoire.**

Point 3: **un prélèvement sanguin effectue hors de ma prise en charge habituelle dans le cadre de la recherche**.

J'ai bien compris que des données personnelles, cliniques et biologiques, seront associées aux échantillons conservés. J'accepte que les données enregistrées à l'occasion des recherches puissent faire l'objet d'un traitement informatisé codé sans mention du nom et du prénom.

Après avoir discuté librement et obtenu réponse à toutes mes questions, j'accepte librement et volontairement de participer à cette collection biologique, dans les conditions précisées selon les consentements donnés ci-dessus.

Fait à ....., le____/____/_____

Signature

Références Bibliographiques

A……

- A. Desbois, P. Rautou, L. Biard, N. Belmatoug, B. Wechsler, M. Resche-Rigon, et al., Behçet's disease in Budd-Chiari syndrome. Orphanet J Rare Dis, 9(1) (2014) 104.
- A. El-Asrar, S. Struyf, D. Kangave, S. Al-Obeidan, G. Opdenakker, K. Geboes, Profils de cytokines dans l'humeur aqueuse de patients présentant diérentes entités cliniques d'uvéite endogène. Clin Immunology, 139 (2011) 177–84.
- A. Gul, Behcet's disease as an autoinflammatory disorder. Curr Drug Targets Inflammatory Allergy, 4 (2005) 81–3.
- A. Mahr, C. Maldini, Épidémiologie de la maladie de Behçet. Rev Médecine Interne, 35 (2) (2014) 1–9.

B……

- B. Celet, G. Akman-Demir, P. Serdaroglu, SP. Yentur, B. Tasci, JM. Van Noort, et al., Anti-αβ-crystallin immunoreactivity in inflammatory nervous system diseases. J Neurol, 247 (2000) 935–9.
- B. Dugas, P. Debré, S. MOnocada, Nitric oxide a vital poison inside the immune reponse and inflammatory network,Res. Immunology, 14 (1995) 64-70.
- B. Kara, A. Somer, S. Pis¸kin, N. Aydınlı, N. Salman, I. Yalçın, Neuro-Behçet syndrome presenting as acute meningeal syndrome. J Infect, 52 (2006) e120–e123.
- B. Lipschitz, Uber eine eigenortige Geschwursform des weiblichen Genitales (ulcus vulvae acutum). Arch Dermatol Syphilol, (1963) 114:363.
- B. Tong, X. Liu, J. Xiao, Guanfang Su. Immunopathogenesis of Behcet's Disease. Front Immunology, 10 (2019) 665.
- B. Turan, H. Gallati, H. Erdi, A. Gurler, BA. Michel, PM. Villiger, Systemic levels of the T cell regulatory cytokines IL-10 and IL-12 in Behçet's disease: soluble TNF-75 as a biological marker of disease activity. J Rheumatology, (1997) 128–32.

C……

- C. Comarmond, B. Wechsler, P. Cacoub, D. Saadoun, Traitement de la maladie de Behçet. La Revue de médecine interne, 35(2) (2014) 126-138.

- C. Everekliogl u, Current concepts in the etiology and treatment of Behçet disease. Surv Ophthalmol, 50(4) (2005) 297-350.
- C. Everekliogl u, H. Er, Y. Türköz, M. Çekmen, Serum levels of TNF-α, sIL2R, IL-6, and IL-8 are increased and associated with elevated lipid peroxidation in patients with Behçet's disease. Mediators of inflammation. 11(2) (2002) 87-93
- C. Mat, N. Goksugur, B. Engin, S. Yurdakul, H. Yazici, The frequency of scarring after genital ulcers in Behçet's syndrome: a prospective study. Inter J Dermatology, 45 (2006) 554–556.
- C. Mat, S. Yurdakul, A. Sevim, Y. Özyazgan, Y. Tüzün, Behçet's syndrome: facts and controversies. Clinque Dermatology, 31(4) (2013) 352-361.
- C. Touil-Boukoffa, B. Bauvois, J. Sanceau, B. Hamrioui, J. Wietzerbin, Production of nitric oxide (NO) in human hydatidosis : relationship between nitrite production and interferon-gamma levels, Biochimie, 80 (8-9) (1998) 739-744.
- C. Touil-Boukoffa, D. Messaoudène, H. Belguendouz, D. Mézioug, M. Amri, H. Rafa, Cytokines : Immunité Et Immunopathologie. Alger : Office Des Publications Universitaires, (2015) (88 P).
- C. Van der Veen, B. Handjiski, R. Paus, S. Muller-Rover, M. Maurer, S. Eichmuller, L. Mecklenburg, Acomprehensive guide for the recognition and classifucation of distinct stages of hair gollicle morphogenesis, Joirnal of Inverstigave Dermatology, 113 (1999) 523-532.
- C. Zouboulis, Epidemiology of Adamantiades-Bahçet's disease. Ann Med I nterne (Paris), 150 (1999) 488-988.
- C.A. Dinarello, C. Nold-Petry, M. Nold, M. Fujita M, S. Li, S. Kim, P. Bufler, Suppression of innate inflammation and immunity by interleukin-37. Eur J Immunology 46(5) (2016) 1067–1081.
- CG. Barnes, H. Yazici, Behçet's syndrome. Rheumatology, 38 (1999) 1171–4.

D……

- D. Devey, La maladie de Behçet : connaissances actuelles et prise en charge au cabinet dentaire. Chirurgie. Dumas, 01 (2017) 558-131.
- D. Mansuy, JL. Boucher, B. Clement, On the mechanism of nitric oxide formation upon oxidative cleavage of C N (OH) bonds by NO-synthases and cytochromes P450. Biochimie, 77(7-8) (1995) 661-667.
- D. Messaoudene, H. Belguendouz, ML. Ahmedi, T. Benabdekader, F. Otmani, et al., Ex vivo effects of flavonoïds extracted fromArtemisia herba alba on cytokines and nitric

oxide production in Algerian patients with Adamantiades-Behçet's disease. J Inflammatory (Lond), (2011) 8:35.

- DH. Verity, RW. Vaughan, E. Kondeatis, W. Madanat, H. Zureikat, F. Fayyad et al., Intercellular adhesion molecule-1 gene polymorphisms in Behcet's disease. Eur J Immunogenet, 27 (2000) 73–6.

E……

- E. Alpsoy, Behcet's disease: A comprehensive review with a focus on epidemiology, etiology and clinical features and management of mucocutaneous lesions. Journal of Dermatology. 43 (2016) 620–632.
- E. Alpsoy, L.Donmez, A. Bacanli, et al., Review of the chronology of clinical manifestations in 60 patients with Behçet's disease. Dermatology, 207 (2003) 354–6.
- E. Calikoglu, M. Onder, B. Cosar, et al., Depression anxiety levels and general psychological profile in Behçet`s Disease. Dermatology, 203 (2001) 238-240.
- E. Eksioglu-Demiralp, A. Kibaroglu, H. Direskeneli, S. Yavuz, F. Karsli, S. Yurdakul, et al., Phenotypic characteristics of B cells in Behcet's disease: increased activity in B cell subsets. J Rheumatology, 26 (1999) 826–32.
- E. Uchio, T. Matsumoto, SI. Tanaka, S. Ohno, Soluble intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), CD4, CD8 and interleukin-2 receptor in patients with Behcet's disease and Vogt-Koyanagi-Harada's disease. Clin Exp Rheumatology, 17(1999) 179–84.
- EF. Remmers, F. Cosan, Y. Kirino et al., Genome-wide association study identifies variants in the MHC class I, IL10, and IL23R-IL12RB2 regions associated with Behçet's disease. Nat Genet, 42 (8) (2010) 698–702.
- E. Alpsoy, Behcet's disease: A comprehensive review with a focus on epidemiology, etiology and clinical features and management of mucocutaneous lesions. Journal of Dermatology. 43 (2016) 620–632.
- E. Alpsoy, L.Donmez, A. Bacanli, et al., Review of the chronology of clinical manifestations in 60 patients with Behçet's disease. Dermatology, 207 (2003) 354–6.
- E. Calikoglu, M. Onder, B. Cosar, et al., Depression anxiety levels and general psychological profile in Behçet`s Disease. Dermatology, 203 (2001) 238-240.

- E. Eksioglu-Demiralp, A. Kibaroglu, H. Direskeneli, S. Yavuz, F. Karsli, S. Yurdakul, et al., Phenotypic characteristics of B cells in Behcet's disease: increased activity in B cell subsets. J Rheumatology, 26 (1999) 826–32.
- E. Uchio, T. Matsumoto, SI. Tanaka, S. Ohno, Soluble intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), CD4, CD8 and interleukin-2 receptor in patients with Behcet's disease and Vogt-Koyanagi-Harada's disease. Clin Exp Rheumatology, 17(1999) 179–84.
- EF. Remmers, F. Cosan, Y. Kirino et al., Genome-wide association study identifies variants in the MHC class I, IL10, and IL23R-IL12RB2 regions associated with Behçet's disease. Nat Genet, 42 (8) (2010) 698–702.

F……

- F. Kaneko, N. Oyama, H. Yanagihori, E. Isogai, K. Yokota, K. Oguma, The role of streptococcal hypersensitivity in the pathogenesis of Behçet's Disease. Eur J Dermatology,18 (2008) 489–98.

G……

- G. Akman-Demir, E. Tuzumm, S. Içoz , N. Yesilot, Sp. Yentur, M. kurtuncu, et al., Interleukin-6 in neuro-Behçet's disease. association with disease subsets and long-term outcome. Cytokine. 44(3) (2008) 373-6.
- G. Akman-Demir, P. Serdaroglu, B. Tasci, Modèles cliniques d'implication neurologique dans la maladie de Behcet: évaluation de 200 patients. The Neuro-Behcet Study Group. Cerveau. 122(Point 11) (1999) 2171–2182.
- G. Geri, B. Terrier, M. Rosenzwajg, B. Wechsler, M. Touzot, D. Seilhean, et al., Critical role of IL-21 in modulating TH17 and regulatory T cells in Behçet disease. J Allergy Clin Immunology,128 (2011) 655–64.
- G. Mumcu, N. Inanc, S. Yavuz, H. Direskeneli, The role of infectious agents in the pathogenesis, clinical manifestations and treatment strategies in Behçet's disease. Clin Exp Rheumatology, 25 (2007) 27–33.
- G. Saruhan-Direskeneli, B. Celet, E. Eksioglu-Demiralp, Direskeneli H. Human, HSP 60 peptide responsive T cell lines are similarly present in both Behcet's disease patients and healthy controls. Immunol Lett, 79(2001) 203–8.

H……

- H. Belguendouz, D. Messaoudène, K. Lahmar, L. Ahmedi, O. Medjeber, D. Hartani, O. LahlouBoukoffa, C. Touil-boukoffa, Interferon-γ and Nitric Oxide Production During Behçet Uveitis: Immunomodulatory Effect of Interleukin-10. Journal of Interferon & Cytokine Research, 31(9) (2011) 643–651.
- H. Belguendouz, K. Lahmar-Belguendouz, D. Messaoudene, Z. Djeraba, F. Otmani, D. Hakem, C. Touil-Boukoffa, Cytokines Modulate the « ImmuneMetabolism » Interactions during Behçet Disease: Effect on Arginine Metabolism. International Journal of Inflammation, (2015) 241-738.
- H. Direskeneli, E. Eksioglu-Demiralp, S. Yavuz, T. Ergun, T. Shinnick, T. Lehner, et al., T cell responses to 60/65 kDa heat shock protein derived peptides in Turkish patients with Behçet's disease. J Rheumatology, 27 (2000) 708–13.
- H. Direskeneli, G. Keser, D. D'Cruz, MA. Khamashta, T. Akoglu, H. Yazici, et al., Anticorps anticellules endothéliales, prolifération endothéliale et antigène du facteur von Willebrand dans la maladie de Behçet. Clin Rheumatol, 14 (1995) 55–61.
- H. Guenane, D. Hartani, L. Chachoua, OS. Lahlou-Boukoffa, F. Mazari, C. Touil-Boukoffa, Production of Th1/Th2 cytokines and nitric oxide in bahçet's uveitis and idiopathic uvetis, Journal français d'ophtalmologie, 29(2) (2006) 146-152.
- H. Guenane, Immunoréactivité des patients (isotype IgG) et recherche des cytokines. (2002).
- H. Nian, H. Shao, RL. O'Brien, WK. Born, HJ. Kaplan, D. Sun, Activé γδ Les cellules T favorisent l'activation des cellules T uvéitogènes et exacerbent le développement de l'EAU. Investissez Ophthalmol Vis Sci, 52 (2011) 5920–7.
- HK. Chang, W. Jang, S. Park, et al., Association between interleukin 6 gène polymorphisms and Behcet's disease in Korean people. Ann Rheum Dis, 64(2) (2005) 339–40

I……

- IL. Beales., Gastrointestinal involvement in Behçet's syndrome. Am J Gastroenterol, 93(12) (1998) 2633.

J……

- J. Cadet, S. Bellon, M. Berger, A. Bourdat, T. Douki, V. Duarte, S. sayvaigo, Recent aspects of oxidative DNA damage : guanine lesions, measurement and substrate specificity of DNA repair glycosylase. Biological chemistry, 383 (6) (2002) 933-943.

- J. Kim, JA. Park, EY. Lee, YJ. Lee, YW. Song, EB. Lee. Déséquilibre des cellules Th17 à Th1 dans la maladie de Behcet. Clin Exp Rheumatol, 28 (4 Suppl. 60) (2010) S16–9.
- JC. Chambers, DO. Haskard, DO. Kooner, Vascular endothelial function and oxidative stress mechanisms in patients with Behçet's syndrome. J Am Coll Cardiol, 37 (2001) 517–20.

K……

- K. Chen, R. Wang, M. Utiyama, E. Sumita, T. Zhao, Syntax-directed attention for neural machine translation. arXiv preprint arXiv, 1711 (2017) 04231.
- K. Erkilic, C. Evereklioglu, M. Cekmen, A. Ozkiris, F. Duygulu, H. Dogan, Adenosine deaminase enzyme activity is increased and negatively correlates with catalase, superoxide dismutase and glutathione peroxidase in patients with Behçet's disease: original contributions/clinical and laboratory investigations. Mediators Inflammatory, 12 (2003) 107–16.
- K. Hamzaoui, A. Borhani Haghighi, IB. Ghorbel, H. Houman, RORC and Foxp3 axisin cerebrospinal fluid of patients with neuro-Behcet's dis ease. J Neuro immunology 233(2011) 249–53.
- K. Hamzaoui, A. Hamzaoui, F. Guemira, et al., Cytokine profile dans la maladie de Behçet, relation avec l'activité de la maladie. Scand J Rheumatology, 31(2002) 205–10.
- K. Hamzaoui, M. Hamza, K. Ayed, Production of TNF-alpha and IL-1 in active Behcet's disease. J Rheumatology, 17 (1990)1428–9.
- KT. Calamia, M. Schirmer, M. Melikoglu, L'implication des vaisseaux majeurs dans la maladie de Behçet : une mise à jour. Curr Opin Rheumatol, 23(1) (2011) 24–31.

L……

- L. Emmi, Behcet's Syndrome: From Pathogenesis to Treatment. Springer-Verlag Italia, (2014) 227P.
- LT. Morton, D. Situnayake, GR. Wallace, Genetics of Behçet'sdisease. Curr Opin Rheumatology 28 (2016) 39-44.

M……

- M. Hamza, S. Meddeb, Behçet's disease in Tunisia. Revue Rhumatology, 63 (1996) 538.

- M. Muhaya, S. Lightman, E. Ikeda et al., La maladie de Behçet au Japon et en GrandeBretagne : une étude comparative. Ocul Immunol Inflamm. 8 (2000) 141-148.
- M.Takeuchi, DL. Kastner, EF. Remmers, The immunogenetics of Behçet's disease: A comprehensive review. J Autoimmun, 64 (2015) 137–48.
- MA. Frassanito, R. Dammacco, P. Cafforio, F. Dammacco, Th1 polarization of the immune response in Behçet's disease: aputative pathogenetic role of interleukin-12. Arthritis Rheumatology, 42 (1999) 1967—74.
- MH. Houman, N. Bel Feki, Physiopathologie de la maladie de Behçet. Rev Médecine Interne. 35 (2) (2014) 90–6.
- MJ. Zeidan, D. Saadoun, M. Garrido, D. Klatzmann, A. Six, P. Cacoub, Behcet's disease physiopathology: a contemporary review. Autoimmun Highlights; 7 (4) (2016) 12.
- MP. Chambrun, B. Wechsler, G. Geri, P. Cacoub, D. Saadoun, New insights into the

pathogenesis of Behçet's disease. Autoimmun Rev, 11(2012) 687–98.

N……

- N. Dilsen, M. Koniçe, O. Aral, L. Öcal, M. Inanç, A. Gül, Comparative study of the skin pathergy-test with blunt and sharp needles in Behçet's disease: confirmed specificity but decreased sensitivity with sharp needles. Ann Rheum Dis, 52 (1993) 823-825.
- N. Matsumara, Y. Mizushima, Leukocyte movement and colchicine treatment in Behçet's disease. Lancet, (1975) 2:813.

O……

- O. Oktem-Tanör, B. Baykan-Kurt, IH. Gürvit, G. Akman-Demir, P. Serdaroğlu, Neuropsychological follow-up of 12 patients with neuro-Behçet disease. J Neurol, 246(2) (1999) 113-9.

R……

- R. Cervera, M. Navarro, A. Lopez-Soto, MC. Cid, J. Font, J. Esparza, et al., Anticorps contre les cellules endothéliales dans la maladie de Behcet : hétérogénéité de liaison cellulaire et association avec l'activité clinique. Ann Rheum Dis, 53 (1994) 265–7.

- RM. Talaat, ME. Ashour, IH. Bassyouni, AA. Raouf, Polymorphisms of interleukin 6 and interleukin 10 in Egyptian people with Behcet's disease. Immunobiology, 219(8) (2014) 573–82.

S……

- S. Bauer, V. Groh, J. Wu, A. Steinle, JH. Phillips, L. Lanier, et al., Activation of NK cells and T cells by NKG2D. a receptor for stress-inducible MICA. Science, 285 (1999)727–9.
- S. Ohno, M. Ohguchi, S. Hirose, H. Matsuda, A. Wakisaka, M. Aizawa, Close association of HLA-Bw51 with Behçet's disease. Arch Ophthalmol, 100 (1982) 1455–8.
- S. Sohn, ES. Lee, HJ. Kwon HJ, SI. Lee, D. Bang, S. Lee, Expression of Th2 cytokines decreases the development of and improves Behcet's diseaselike symptoms induced by herpes simplex virus in mice. J Infect Dis, 183 (2001) 1180–6.
- S. Sugita, Y. Kawazoe, A. Imai, T. Kawaguchi, S. Horie, H. Keino et al., Role of IL-22- and TNF-producing Th22 cells in uveitis patients with Behçet's Disease. J Immunology, 190 (2013) 5799–808.
- S. Yurdakul, Y. Yazici, Locomotor system disease in Behçet's syndrome. In: Yazici Y, Yazici H, eds: Behçet's syndrome. New York: Springer, (2010) 149-63.
- S.B. Cho, Z. Zheng, K.J. Ahn, M.J. Choi, S. Cho, D.Y. Kim, H.S. Lee, D. Bang, Serum IgA reactivity against GroEL of Streptococcus sanguinis and human heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2⁄B1 in patients with Behcet disease. British Journal of Dermatology, 168 (2012). pp977–983.

T……

- T. Ahmad, GR. Wallace, T. James, M. Neville, M. Bunce, K. Mulcahy-Hawes, et al., Mapping the HLA association in Behçet's disease: a role for tumor necrosis factor polymorphisms Arthritis Rheum. 48 (2003) 807–13.
- T. Ergun, U. Ince, E. Eksioglu-Demiralp, H. Direskeneli, O. Gurbuz, L. Gurses, et al., HSP 60 expression in mucocutaneous lesions of Behcet's disease. J Am Acad Dermatology, 45 (2001) 904–9.
- T. Sakane, M. Takeno, N. Suzuki, G. Inaba, Behçet's disease. N Engl J Med, 341(1999) 1284-91.

U……

- UC. Park, TW. Kim, HG. Yu HG, Immunopathogenesis of ocularBehc¸et's disease. J Immunol Res, (2014)653-539.

V……

- V. Groh, R. Rhinehart, J. Randolph-Habecker, MS. Topp, SR. Riddell, T. Spies, Costimulation of CD8alphabeta T cells by NKG2D via engagement by MIC induced on virus infected cells. Nature Immunology, 2 (2001) 255–60
- VG. Kaklamani, A. Tzonou, N. Markomichelakis, S. Papazoglou, PG. Kaklamanis. The effect of smoking on the clinical features of Adamantiades-Behçet's disease. Adv Exp Med Biology, 528 (2003) 323–7.
- VG. Kaklamani, G. Vaiopoulos, PG. Kaklamanis, Behçet's disease. Semin Arthritis Rheumatology, 27 (1998) 197-217.

Y……

- Y. Bayraktar, E. Ozaslan, D.H. Van Thiel., Gastrointestinal manifestations of Behçet's disease. J Clin Gastroenterol, 30(2) (2000) 144–154
- Y. Mizushima, T. Matsuda, K. Hoshi, S. Ohno, Induction of Behçet's disease symptoms after dental treatment and streptococcal antigen skin test. J Rheumatology 15(1988) 1029–30.
- Y. Yamaguchi, H. Takahashi, T. Satoh et al., Natural killer cells control à T-helper 1 response in patients with Behçet's disease. Arthritis Res Ther. 12(3) (2010) R80.

Z……

- Z. Amoura., M. Guillaume, S. Caillat-zucman, B. Wechsler, J.C Piette, Physiopathologie de la maladie de Behçet. La Revue de Médecine Interne. 27(11) (2006) 843–853.
- Z. Djeraba, F. Benlabidi, F.Z. Djaballah-Ider, O. Medjeber, A. Arroul-Lammali, H. Belguendouz, F. Otmani, C. Touil-Boukoffa, Vitamin D status in Algerian Behçet's disease patients: an immunomodulatory effect on NO pathway. Immunopharmacology and Immunotoxicology, 7 (2017) 243-250.
- Z. Jean-Philippe, B. Pierre-Alexandre, Annette Leimgruber, François Spertini ; Maladie de Behçet : d'Hippocrate aux antagonistes du TNF-α. Rev Med Suisse, 4 (2008) 1045-1054

- Z. Kutlubay, Y. Tüzün, R. Wolf, The Pathergy Test as a Diagnostic Tool. Skinmed, 15(2) (2017) 97-104.
- ZY. Zhou, SL. Chen, N. Shen, Lu Y, Cytokines and Behçet's disease. Autoimmun Rev, 11 (2012) 699– 704.

Résumé

ملخص

مرض بهجت هو مرض مزمن متعدد الالتهابات الذاتية. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم تدخل عمل المحددات الالتهابية خلال مظاهر مختلفة من تطور مرض بهجت. وعلى ذلك تم اجراء اختبار للسيتوكينات الالتهابية وهي NO و IL- 6 / IL- 6R و IL- 32 والسيتوكينات المضادة للالتهابات IL-37 بتقنية GRIESS و ELISA على مصل 97 مريضاً .تؤكد النتائج مشاركة NO و IL- 6 و IL- 32 في التسبب في المرض، ومن ناحية أخرى لوحظ انخفاض في مستوىR 6 -IL و IL-37 في المرضى مقارنة مع الشواهد، هذه النتائج تشير إلى أن هذه السيتوكينات لا تشارك في التسبب في مرض بهجت .وعلى هذا النحو يجب إجراء مزيد من الدراسات لتوضيح علامات الفحص.

الكلمات المفتاحية: مرض بهجت ,انترلوكين-6, انترلوكين- 6R , انترلوكين -32,انترلوكين-37,اوكسيد نتريك

Résumé

La maladie de Behçet est une pathologie auto inflammatoire multi systémique chronique. L'objectif de cette étude était d'évaluer l'implication des marqueurs inflammatoire au cours de déférentes manifestations de la MB. Un dosage des marqueurs inflammatoire a était effectuer à savoir NO, IL-6/IL-6R, IL-32 et la cytokine Anti-inflammatoire IL-37 par la méthode de GRIESS et ELISA au niveau de sérums du 97 patients. Les résultats confirme l'implication du NO, IL-6 et IL-32 dans la pathogenèse de la maladie, par contre une réduction de taux d'IL-6R et IL-37 était observe chez les patient en comparent aux témoins, ces résultats suggère que ces cytokines sont pas impliquées à la pathogenèse de la MB. D'autres études devraient être effectuées pour élucider les marqueurs de pronostique.

Mots clés : La maladie de behçet, Oxyde Nitric, Interleukin -6, Interleukin -6R, Interleukin -32, Interleukin -37.

Abstract

Behçet's disease is a chronic multisystemic auto-inflammatory disease. The aim of this study was to assess the involvement of inflammatory markers during different manifestations of BD. An assay of the inflammatory markers namely NO, IL-6 / IL-6R, IL-32 and the anti-inflammatory cytokines IL-37 by the method of GRIESS and ELISA in the sera of 97 patients. Results confirm the involvement of NO, IL-6 and IL-32 in the pathogenesis of the disease, on the other hand a reduction in the level of IL-6R and IL-37 was observed in the patients compared to the controls, these results suggests that these cytokines are not involved in the pathogenesis of BD. Further studies should be performed to elucidate prognostic markers.

Kays words: Bahçet disease, Nitric Oxyde , Interleukin -6, Interleukin -6R, Interleukin -32, Interleukin -37.