

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
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 de science

Département : 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 : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie et Pathologies Moléculaires

Thème:

L'étude *in-vitro* de l'effet de l'extrait d'*Ammodaucus leucotrichus* sur la production des marqueurs inflammatoires au cours de la maladie de Behçet

Réalisé par :

Mr HAMBLI Abderrahmane et Mr BOUCHAKOUR Adel

Soutenu le 18/11/2020 devant le jury composé de :

Mme. YSMAIL-DAHLOUK. L	MCB -UMBB	Présidente
Mme. ISSAAD. N	MAB -UMBB	Examinatrice
Mr. MESSAOUDENE. D	MCB -UMBB	Promoteur
Mme. GHOZALI. N	DOC -UMBB	Co-promotrice

Année universitaire : 2019/2020

Résumé

La Maladie de Behçet est une vascularite multi-systémique qui partage certains aspects avec des maladies qui se traduisent par un désordre auto-inflammatoire et auto-immun dont les principales manifestations sont les ulcérations buccales et génitales récurrentes et une atteinte oculaire. L'exacerbation de la réponse inflammatoire et l'hyper expression de certaines cytokines pro-inflammatoire nous pousse vers une prise en charge thérapeutique qui tend à atténuer la réponse immunitaire tout en réduisant les effets secondaires liées à ces traitements.

Dans cette étude on a proposé pour la première fois l'utilisation d'extrait de l'huile essentielle **d'*Ammodaucus leucotrichus*** pour ses propriétés anti-inflammatoires dans la stratégie thérapeutique de la MB. En effet plusieurs études ont démontré que les deux constituants majeurs de notre plante en l'occurrence le D-Limonène et le Perillaldehyde ont non seulement un effet anti-inflammatoire chacun, mais suggèrent en plus un effet synergique qui s'explique par l'inhibition des deux composés des voies de signalisations différentes, amplifiant par conséquent l'effet anti-inflammatoire.

Des études devraient être effectuées afin de démontrer la pertinence de ces résultats et l'efficacité de cette huile essentielle dans le traitement des maladies inflammatoires et dans la maladie de Behçet en particulier

SOMMAIRE

Liste des abreviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction01

Chapitre I : Rappels bibliographiques

Partie 01 : La maladie de Behçet

1. Historique et définition	03
2. Epidémiologie	03
2.1. Répartition géographique.....	03
2.2. Influence de l'âge et de sexe	03
3. Manifestations cliniques	04
3.1. Manifestations cutano-muqueuses	04
3.1.1. Aphtes buccaux récidivants	04
3.1.2. Ulcères génitaux	04
3.1.3. Manifestations cutanées	05
3.2. Atteinte oculaire	05
3.3. Atteinte articulaire	05
3.4. Atteinte neurologique	06
3.5. Atteinte digestive	06
3.6. Atteinte cardio-vasculaire	06
3.7. Autres atteintes	07
4. Etiopathogénie	07
4.1. Facteurs génétiques	07
4.1.1. Gènes du complexe majeur d'histocompatibilité (HLA-B51)	07
4.1.2. Gènes proches de HLA-B	08
4.1.2.1. Gènes MIC	08
4.1.2.2. Gènes TNF	08
4.1.3. Gènes en dehors du CMH	09
4.1.3.1. Gènes de l'IL-10.....	09
4.1.3.2. Gènes de l'IL-23R, IL-12RB2	09
4.1.3.3. Gènes de l'IL-1	09
4.1.4. Autres gènes	09
4.2. Facteurs environnementaux	10
4.2.1. Virus	10
4.2.2. Bactéries	10
5. Immunopathologie	11
5.1. Anomalies de la réponse inflammatoire	11
5.1.1. Rôle des protéines du choc thermique (HSP)	11
5.1.2. Rôle de l'oxyde nitrique (NO)	11
5.1.3. Stress oxydatif et radicaux libres	11

5.2. Anomalie des cellules impliquées dans la réponse innée	12
5.2.1. Hyperactivité des polynucléaires neutrophiles (PNN)	12
5.2.2. Les lymphocytes Gamma-Delta (LT $\gamma\delta$)	13
5.2.3. Les NK	13
5.3. Rôle des cytokines dans l'immunité adaptative	14
5.3.1. Cytokines pro-inflammatoires	14
5.3.2. Cytokines de type Th1	16
5.3.3. Cytokines de type Th2	17
5.3.4. Cytokines de type Th17	17
5.3.5. Cytokines de type Th22	18
5.4. Les lymphocytes T régulateurs	18
5.5. Immunité humorale	19
5.6. Auto-anticorps et auto-antigènes	19
6. Diagnostic	19
7. Traitement	20
7.1. Colchicine	21
7.2. La corticothérapie	21
7.3. Les immunosuppresseurs	21
7.4. Biothérapies	22
Partie 02 : <i>Ammodaucus leucotrichus</i>	24
1. Généralités	24
1.1. Les huiles essentielles	24
1.2. <i>Ammodaucus leucotrichus</i>	24
2. L'huile essentielle d'<i>Ammodaucus leucotrichus</i>	25
2.1. Composition chimique de l'huile essentielle d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i>	25
2.2. Activités biologiques et usages traditionnels	26
Chapitre II : Méthodologie	27
Chapitre III : Résultats et discussion	33
Chapitre IV : Conclusion	41
Références bibliographiques	42
Annexes	
Résumé	

Liste des abréviations :

ACK : Ammonium-Chloride-Potassium

AINS : Anti-inflammatoires Non Stéroïdiens

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

ARNm : Acide Ribonucléique Messenger

AZA : Azathioprine

CC : Corps Ciliaire

CCR : C-C Motif Chemokine Receptor

CD : Cluster of Differentiation

DO : Densité Optique

DSS : Dextran Sulfate Sodium

EAU : Experimental Autoimmune UVEITIS

EDTA : Éthylène Diamine Tétra Acétique

GM-CSF : Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor

GWAS : Genome-Wide Association Study

HE : Huile Essentielle

HLA : Humain Leucocyte Antigen

HRP : Horse Radish Peroxydase

HSP : Heat Shock Proteins

HSV : Herpes Simplex Virus

HUVEC : Human Umbilical Vein Endothelial Cell

ICAM : Inter Cellular Adhesion Molecule

ICBD : International Criteria for Behçet's Disease

IFN : Interferon

IL : Interleukine

iNOS : Nitric Oxide Synthase, The Inducible Isoform.

ISG : International Study Group

KTH : Kitasato-Tsurumizu-Hashimoto

LB : Lymphocytes B

LCS : Liquide Cérébro-Spinal

LDH : Lactate déshydrogénase

LPS : Lipopolysaccharide

LT : Lymphocytes T

MB : Maladie de Behçet

MIC : MHC Class I Chain related gene

MMP : Matrix metalloproteinases

NADPH : Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

NED : Naphtyl Ethylene di amine

NK : Natural Killer

NLRP3 : NOD-Like Receptor Pyrin domain containing

NO : Oxyde Nitrique

NOS : Nitric Oxide Synthase

PBMC : Peripheral Blood Mononuclear Cell

PBS : Phosphate-Buffered Saline

PGE2 : Prostaglandine E2

ROR γ t : Retinoic Acid Related Orphan Receptor (isoform)

Rpm : Rotation per minute

RPMI : Roswell Park Memorial Institute Medium

RT-qPCR : Reverse Transcriptase-PCR Quantitative

SA : Segment Antérieur

SD : Standard Deviation

SNP : Single-Nucleotide Polymorphism

SVF : Sérum de Veau Fœtal

TGF : Transforming Growth Factor

TLR : Toll-Like Receptor

TNF : Tumor Necrosis Factor

UV : Ultraviolet

VCAM : Vascular Cell Adhesion Molecule

Liste des figures

Figure 01 : La prévalence du syndrome de Behçet (Nombre de cas sur 100000 par pays)

Figure 02 : Aphtes buccaux chez un malade atteint de Behçet.

Figure 03 : Schéma récapitulatif des atteintes oculaires au cours de la maladie de Behçet

Figure 04 : Gènes HLA, MIC et TNF

Figure 05 : Le rôle des cellules innées dans la pathogénèse de la maladie de Behçet

Figure 06 : Rôle des cytokines dans la pathogénèse de la maladie de Behçet

Figure 07 : Régulation de la voie de l'IL-1 β

Figure 08 : Rôle de l'IL-12 dans la différenciation des LT naïfs vers le profile Th1

Figure 09 : Les étapes du « Pathergy test » faisant partie du diagnostic de la MB

Figure 10 : Stratégie thérapeutique graduée dans la maladie de Behçet

Figure 11 : *Ammodaucus leucotrichus* dans son environnement naturel

Figure 12 : Séparation des PBMC du sang par centrifugation en gradient de densité Ficoll-hypaque

Figure 13 : Culture des PBMC

Figure 14 : Effet inhibiteur du D-Limonène sur l'Oxyde Nitrique

Figure 15 : Effet inhibiteur du D-Limonène sur la PGE2

Figure 16 : Effet inhibiteur du D-Limonène sur l'expression d'iNOS et COX-2

Figure 17 : Effet inhibiteur du D-Limonène sur la production des cytokines pro-inflammatoires TNF α , IL-1 β et IL-6 par les RAW 264.7 macrophages

Figure 18 : L'impact du PA sur la régulation du niveau de transcription des gènes codant pour TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-17, TGF- β et MMP-9 dans les colons de souris atteintes de colite induite par le DSS

Figure 19 : L'AP module le taux de transcription des gènes codant pour les cytokines TNF- α , IL-1 β et IL-6 (A), les niveaux d'expression protéique du TNF- α (B) et la phosphorylation du NF- κ B et JNK (C) dans des macrophages RAW264.7

Figure 20 : Effet des huiles essentielles et leurs principaux composants dans la modulation de la réponse anti-inflammatoire

Liste des tableaux :

Tableau I : Tableau récapitulatif des conditions d'inclusion pour l'ISG, de l'ICBD et de l'ICBD révisée

Introduction

La maladie de Behçet (aussi connue sous le nom de syndrome de Behçet, grande aphtose de Touraine, syndrome d'Adamantiades-Behçet, syndrome oculo-muco-cutané de Behçet ou encore tri syndrome de Behçet) est une affection multi-systémique rare, chronique, évoluant par poussées. A ce jour, des incertitudes demeurent pour savoir s'il s'agit d'une maladie auto-immune ou d'une maladie auto-inflammatoire ou bien les deux.

Cette maladie peut toucher les vaisseaux de toutes tailles du système artériel et veineux. Elle se manifeste en particulier par une triade bouche-sexe-œil qui se caractérise par des ulcérations récidivantes buccales et génitales et des atteintes oculaires. On peut aussi noter, entre autres, des atteintes cutanées, articulaires, neurologiques et/ou vasculaires (**Yazici et al., 2018; Gül, 2019**). La maladie de Behçet touche aussi bien les femmes que les hommes. Ces derniers ont cependant davantage de complications (**Ideguchi et al., 2011**). Il existe dans la littérature diverses hypothèses étiopathogéniques. Certaines impliquent des facteurs génétiques, d'autres des facteurs environnementaux infectieux ou non infectieux. Il est possible qu'une combinaison de plusieurs facteurs soit à l'origine de cette affection (**Dalvi et al., 2012**), néanmoins, plusieurs études ont montré qu'à coté de plusieurs similitudes dans les caractéristiques cliniques, l'exacerbation de la réponse inflammatoire et l'hyper expression des cytokines pro-inflammatoires comme le TNF α , l'IL-6, l'IL-1 et l'IL-1 β chez les patients atteints de la MB sont des signatures capitales qui pourraient attribuer un concept d'« auto-inflammation » à la MB qu'elle partagerait avec d'autres pathologies auto-inflammatoires (**Chekaoui, 2019**).

Pour améliorer le pronostic, il est important de dépister rapidement la maladie lorsque les premiers symptômes se déclarent selon un diagnostic qui est avant tout clinique et d'utiliser un traitement adapté (**Devey, 2017**). La prise en charge thérapeutique de la MB dépend de sa sévérité, des facteurs pronostiques, et du type d'organes atteints. Le traitement vise à éviter la survenue de lésions irréversibles et à réduire ou supprimer le nombre des poussées qui retentissent sur la qualité de vie du patient (**Comarmond et al., 2014**).

Les traitements classiques (corticothérapie, immunosuppresseurs conventionnels) ne permettent pas toujours de contrôler la MB. Les nouvelles molécules immunomodulatrices, tels que les anti-TNF, ont transformé le pronostic de certaines formes sévères et/ou réfractaires de la MB, mais il faut rester vigilant sur leurs effets à long terme (infection, cancer).

Cette étude va servir à déterminer le rôle que pourrait jouer l'huile essentielle **d'*Ammodaucus leucotrichus*** dans les processus inflammatoires et proposer une approche dans la stratégie thérapeutique de la MB. Ceci est réalisé via l'exploration de l'effet immunomodulateur des deux

huiles essentielles des fleurs et des feuilles de la plante *Ammodaucus leucotrichus*, sur le taux de certains Marqueurs immunitaires chez des patients atteints de la maladie de behçet. Les Marqueurs immunitaires dosés sont :

- Protéines inflammatoires : IL-6, IL-6R, IL-1 β , TNF- α .
- Protéines anti-inflammatoires : IL-10 et IL-37.
- Monoxyde d'azote (NO).

Chapitre I : Rappels bibliographiques

Partie 01 : La maladie de Behçet

1. Historique et définition :

Les premiers symptômes de la maladie ont été observés dans l'Antiquité. La première description de ce qui est appelé à l'heure actuelle la MB a probablement été faite par Hippocrate il y a 2500 ans, qui, dans son œuvre *Epidemion*, décrit une maladie endémique en Asie mineure, caractérisée par des ulcérations aphteuses, des défluxions des parties génitales et une atteinte ophtalmique aqueuse de caractère chronique faisant perdre la vue à de nombreuses personnes. En 1930, un cas d'iritis à hypopion a été présenté par un ophtalmologue grec, Benediktos Adamantiades. C'est pourquoi la MB est aussi connue sous le nom de syndrome d'Adamantiades-Behçet. En 1937, le dermatologue turc Hulûsi Behçet est le premier à décrire en tant que réelle entité, la maladie de Behçet (**Davatchi et al., 2015**).

Actuellement la MB est définie comme une pathologie inflammatoire, chronique, multisystémique et récidivante. Elle est d'une étiologie obscure et incertaine. Cliniquement, la MB se caractérise par des lésions buccales, génitales, oculaires, épidermiques, articulaires, pulmonaires, digestives et neurologiques dont la fréquence diffère d'une manifestation à l'autre (**Direskeneli, 2001; Verity et al., 2003; Yazici et al., 2018**).

2. Epidémiologie :

2.1. Répartition géographique :

La répartition hétérogène de la MB dans le globe nous indique certaines prédispositions des populations à contracter la maladie. En effet, le syndrome de Behçet est souvent associé aux anciennes routes de la soie qui s'étendent des pays méditerranéens comme la Turquie passant par le moyen orient, l'Iran vers les pays d'extrême orient incluant le Japon et la Corée, où la prévalence de HLA-B5 est relativement haute comparé au reste du globe (**Figure 01**). Cela suggère que certains agents déclenchant de la maladie ainsi que des facteurs génétiques tels que HLA-B51 se sont dispersés tout au long de cette route (**Yurdakul, 2020**). Bien que les données épidémiologiques en Algérie ne soient pas encore établies (**Ghembaza et al., 2017**). La prévalence de la MB au Maghreb est de 110 par 100000 habitants en Tunisie et plus de 900 au Maroc (**Bennouna-Biaz et al., 1995; Benamour et al., 1998**).

2.2. Influence de l'âge et de sexe :

Il est à signaler que l'âge du début de la maladie se situe entre 19,5 et 35,7 ans (**Davatchi et al., 2010**). De plus, les atteintes de la maladie touchent les deux sexes mais leur gravité est liée au sexe masculin (**Ideguchi et al., 2011**).

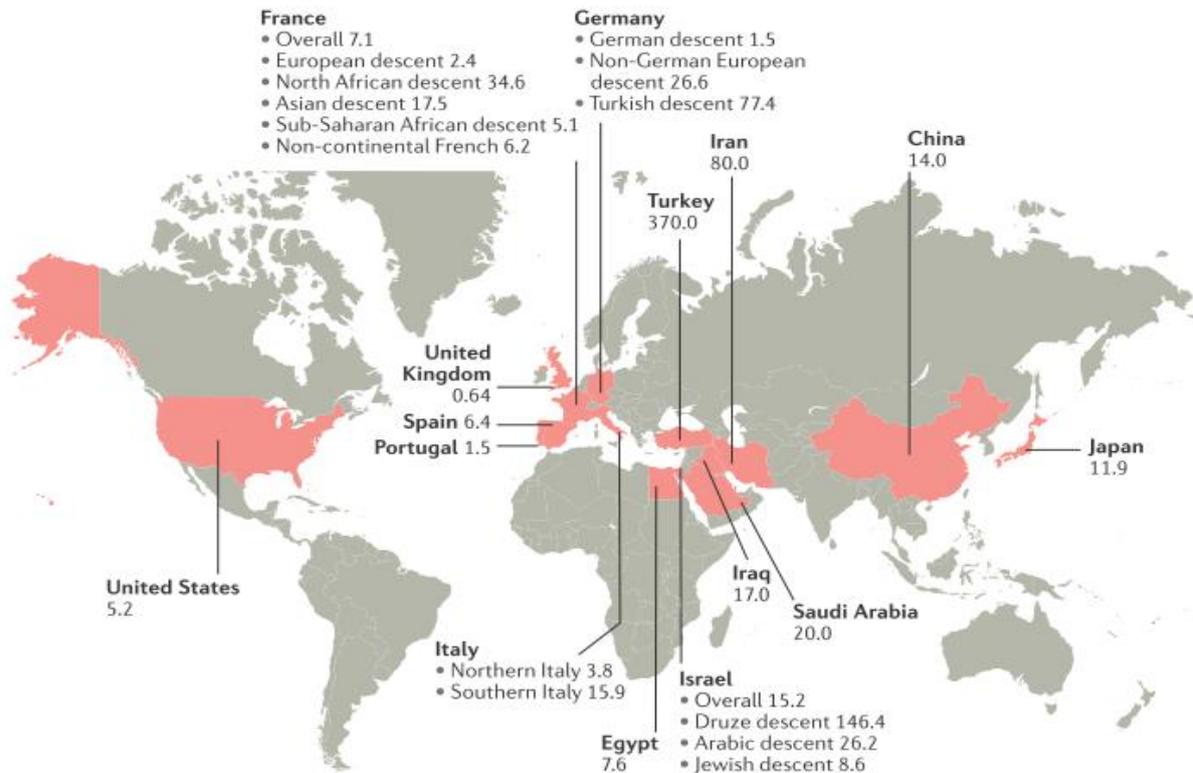


Figure 01 : La prévalence du syndrome de Behçet (Nombre de cas sur 100000 par pays)
(Yazici et al., 2018)

3. Manifestations cliniques :

3.1. Manifestations cutano-muqueuses :

3.1.1. 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 (plus de 95%). Ils constituent d'ailleurs le critère majeur de cette affection (cf. chapitre «diagnostic»). Ils peuvent toucher les gencives, la langue, les muqueuses labiales et buccales. 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 (**Voir figure 02 en annexe**) (Bettioli et al., 2020; Mat et al., 2013).

3.1.2. Ulcères génitaux :

Peuvent être douloureux et guérissent en 10 à 30 jours en l'absence d'une infection secondaire. Sont plus gros et plus profonds que les lésions buccales (Evereklioglu, 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 (**Alpsoy et al., 2003 ; Barnes et Yazici, 1999**).

Ces ulcérations sont souvent rondes à ovales, d'aspect perforé généralement recouvertes de fibrine ou de croûte jaunâtre (**Mat et al., 2006**). Elles sont retrouvées chez l'homme essentiellement sur le scrotum, plus rarement sur la verge ou dans l'urètre ; chez la femme sur la vulve, le vagin et le col utérin (**KONE-PAUT et al., 2019**).

3.1.3. Manifestations cutanées :

Affectent 38 à 99% des patients atteints de Behçet. Elles ont différentes formes; les plus fréquents sont: la pseudo-folliculite (Pustulose de Behçet), l'érythème noueux et le phénomène de la pathergie (**KONE-PAUT et al., 2019 ; Mendes et al., 2009 ; Gabay, 2008**).

3.2. Atteinte oculaire :

L'atteinte oculaire affecte environ 50 % des patients et survient généralement entre 2 et 4 ans après le début de la maladie, mais elle pourrait également être la manifestation inaugurante de la maladie chez environ 10 à 20% des cas (**Comarmond et al., 2014; Tugal-Tutkun, 2009; Tugal-Tutkun et al. 2004; Kural-Seyahi et al, 2003**).

L'atteinte oculaire se caractérise par des poussées récidivantes d'uvéïte non granulomateuse qui peut s'associer à une vascularite rétinienne. Elle peut être antérieure, postérieure (la manifestation la plus fréquente et la plus grave) ou totale (panuvéïte) (**Voir figure 03 en annexe**) et peut même se manifester sous d'autres formes : neuropathie optique, paralysies des nerfs moteurs de l'œil, œdème papillaire avec hypertension intracrânienne par thrombose veineuse intracrânienne, papillite entraînant toujours une baisse de l'acuité visuelle et une atteinte du champ visuel (**KONE-PAUT et al., 2019; Comarmond et al., 2014; Saadoun et al., 2010; Gabay, 2008**).

3.3. Atteinte articulaire :

Elle est observée chez 40 à 71% des patients sous forme d'arthrite ou d'arthralgie. Elle est la première manifestation de la MB chez 11 à 34% des patients et peut apparaître plusieurs années avant d'autres symptômes. 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 aiguës et récurrentes (**Desbois et al., 2014; Yurdakul et Yazici, 2010**).

3.4. Atteinte neurologique :

Les manifestations neurologiques sont l'une des causes les plus graves de morbidité et mortalité à long terme. 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 entraînent progressivement une incapacité irréversible. Aux stades avancés, la démence se développe chez environ un tiers des patients : des troubles cognitifs en plus des changements de personnalité (**Oktem-Tanör et al., 1999; Kara et al., 2006; Sakane et al., 1999**)

3.5. Atteinte digestive :

Ressemblent aux lésions de la maladie de Crohn sur le plan macroscopique. L'inflammation et l'ulcération des muqueuses se produisent dans tout le tractus gastro-intestinal, plus fréquemment dans la partie iléo-caecale où elles ont une nette tendance à se perforer (**Kone-Paut et al., 2019; Yurdakul et Yazici, 2008**).

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 (**Bayraktar et al., 2000; Beales, 1998**).

3.6. Atteinte cardio-vasculaire :

Ces manifestations importantes surviennent chez 7 à 46% des patients et sont létales dans environ 20% des cas graves. Elles surviennent 3 à 16 ans après le début de la maladie (**Tursen et al., 2003; Sarica-Kucukoglu et al., 2006**).

Peuvent toucher à la fois des veines et des artères de différents diamètres et provoquent des thrombophlébites superficielles récurrentes et une thrombose veineuse profonde (30 à 40% des patients) (**Arai et al., 2006; Kural-Seyahi et al., 2003; Desbois et al., 2014**).

L'atteinte cardiaque se manifeste plus fréquemment par une thrombose intracardiaque suivie par une péricardite, une myocardite et d'autres manifestations coronariennes et valvulaires (**Geri et al., 2012**).

3.7. Autres atteintes :

D'autres manifestations peuvent être rencontrées tel que le syndrome myélodysplasique, des anomalies auditives et des troubles rénaux, en particuliers dans les zones géographiques ayant une faible incidence de la maladie et donc mal reconnue à cause du faible taux d'incidence (**Mat et al., 2013 ; Melikoglu et al., 2017**)

4. Etiopathogénie :

A ce jour, l'étiologie de la MB reste inconnue, et comme beaucoup de maladies inflammatoires ou auto immunes, elle est déclenchée par des facteurs exogènes chez des individus prédisposés génétiquement provoquant une perturbation de l'homéostasie de la réponse immunitaire innée et acquise (**Pay et al., 2007, Dalvi et al., 2012**).

4.1. Facteurs génétiques :

La MB apparaît souvent comme une maladie sporadique. Cependant, l'existence de cas familiaux (1/10 des cas), la prévalence élevée de la MB chez les jumeaux et leurs parents (surtout pour les cas pédiatriques) (**Masatlioglu et al., 2010**). L'observation de ces cas familiaux suggère fortement le rôle des facteurs génétiques dans cette pathologie.

4.1.1. Gènes du complexe majeur d'histocompatibilité (HLA-B51) :

Le gène ayant l'association génétique la plus forte avec la MB est le HLA-B51 (**Hughes et al., 2013**), faisant partie des gènes du CMH de classe I, dont l'allèle est localisée sur le chromosome 6p (**Figure 04**) et trouvée majoritairement chez les patients turcs et japonais (**Pay et al., 2007**).

La présence de HLA-B51 est retrouvée chez 80% des patients vivant dans les régions de «la route de la soie», alors qu'il est présent chez 13% de la population dans ces régions. La présence de l'HLA-B51 donne un risque relatif de développer la MB de 7,6 au Japon alors que ce risque est de 1,3 aux Etats-Unis (**Sakane et al., 1999**). Toutefois, l'antigène HLA-B51 ne reflèterait que 20% du risque relatif de développer la MB dans les formes familiales, ce qui suggère l'implication d'autres facteurs génétiques (**Gul et al., 2001**).

Enfin, un rôle du HLA-B51 dans l'hyperactivité des polynucléaires neutrophiles a été évoqué au cours de la MB (**Takeno et al., 1995**).

4.1.2. Gènes proches de HLA-B :

4.1.2.1. Gènes MIC :

La possibilité de l'association des gènes MIC (MHC Class I Chain related gene) du fait de leur proximité au locus HLA-B à la MB a été évoquée (**Mizuki et al., 1997**). Parmi les 5 gènes MIC (MICA à MICE) deux sont bien caractérisées, MICA et MICB qui présentent entre eux plus de 90% d'homologie de séquence mais qui ne partagent que 20 à 35% homologie avec le HLA (**Figure 04**).

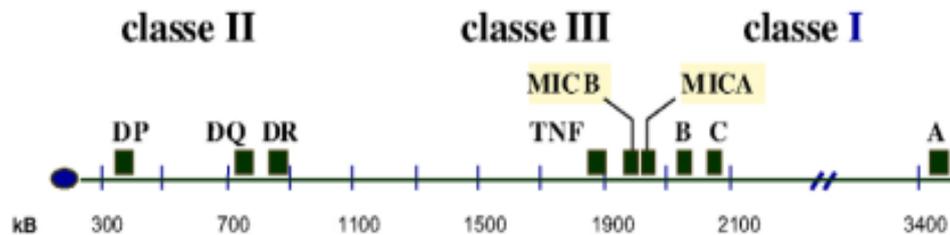


Figure 04 : Gènes HLA, MIC et TNF (**Amoura et al., 2006**).

Les gènes MICA et MICB codent un polypeptide de 383 acides aminés fortement glycosylé, dont la structure générale est similaire à celle d'une chaîne lourde α du CMH de classe I (**Amoura et al., 2006**).

Le ligand de MICA est le récepteur de type C-lectine NKG2D des cellules NK (**Bauer et al., 1999**). Leur interaction a pour conséquence l'activation des LT cytotoxiques et NK, déclenchement des mécanismes de cytotoxicité, sécrétion cytokinique et la prolifération cellulaire.

L'hypothèse qui prévaut est celle d'un effet combiné entre les allèles MICA6 et B5, les peptides de certains allèles MICA6 présentés au sein du HLA-B51 pourraient provoquer une réponse cytotoxique (**Yasuoka et al., 2004**). Le gène MICB en revanche ne semble pas associé à la maladie de Behçet (**Hughes et al., 2005**).

4.1.2.2. Gènes du TNF (Tumor Necrosis Factor) :

Plusieurs études ont révélé l'implication du $\text{TNF}\alpha$ qui est une cytokine pro-inflammatoire dans la pathogénie de la MB. Le gène du $\text{TNF}\alpha$ est situé à proximité du locus HLA-B (**Figure 04**), et selon 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**).

Le polymorphisme du gène du $\text{TNF}\alpha$ pourrait influencer la production de $\text{TNF}\alpha$ qui est augmentée au cours de la MB (**Turan et al., 1997**), mais aucune des récentes études

pangénomiques GWAS (Genome Wide Association Study) n'a confirmé une quelconque association entre la MB et un polymorphisme particulier du gène du TNF (**Remmers et al., 2010 ; Mizuki et al., 2010**).

4.1.3. Gènes en dehors du CMH :

4.1.3.1. Gène de l'IL-10 :

L'IL-10 est une cytokine inhibitrice ayant une puissante activité suppressive sur les cytokines pro-inflammatoires. Elle inhibe la production de cytokines par les cellules Th1 ainsi que l'expression des molécules de co-stimulation par les macrophages, tout en augmentant la production de médiateurs anti-inflammatoires ce qui entraîne une diminution des réponses immunitaires.

Remmers et ses collaborateurs, ont démontré qu'un polymorphisme particulier de ce gène localisé sur le chromosome 1 était associé à une diminution de la production de l'IL-10 dans la MB (**Remmers et al., 2010**).

4.1.3.2. Gènes de IL-23R-IL-12RB2 :

IL-23 est une cytokine pro-inflammatoire hétérodimérique qui stimule la prolifération de Th17 et la production des cytokines inflammatoires telles que IL-1, IL-6, IL-17 et TNF α (**Iwakura et al., 2006**). Un polymorphisme du récepteur de l'IL-23 a été associé à la MB dans deux grandes études GWAS (**Remmers et al., 2010 ; Mizuki et al., 2010**).

4.1.3.3. Gènes de l'IL-1 :

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. Les deux allèles IL-1A-889C et IL-1B+5887T étaient liés statistiquement avec la MB dans une population turque adulte (**Karasneh et al., 2003 ; Coskun et al., 2005**).

4.1.4. Autres gènes :

Plusieurs gènes codant pour des cytokines, chemokines et récepteurs de type TLR, ICAM, MMP-2-9, protéines du stress oxydative ont été étudiés au cours de la MB avec des résultats contradictoires (**De Chambrun et al., 2012 ; Houman et al., 2004**).

4.2. Facteurs environnementaux

4.2.1. Virus :

Plusieurs infections virales de la famille Herpes ont été mis en évidence dès 1937 par Behçet et incriminés dans la genèse des lésions muqueuses de la maladie, en particulier celle par le virus herpès simplex (HSV) (Lee et al., 1996 ; Tojo et al., 2003), le cytomégalo virus (De Chambrun et al., 2012 ; Houman et al., 2004), l'Epstein Barr virus (Sun et al., 1996), et virus de la varicelle (Sun et al., 1998).

Les taux d'infection à HSV et des anticorps anti-HSV sériques étaient significativement plus élevés chez les patients avec MB que chez les contrôles, de plus l'ARN de l'HSV-1 et HSV-2 a été détecté dans les cellules mononuclées sanguine et de lésions cutanées au cours de la MB (Tojo et al., 2003). L'absence d'efficacité des thérapies anti herpès sur l'évolutivité de la maladie rend cette hypothèse virale dans la genèse de la MB peu plausible (Amoura et al., 2006).

4.2.2. Bactéries :

La flore microbienne orale a été suspectée au cours de la MB suite à sa présence constante dans les aphtes buccaux. Il a été constaté que l'incidence de la maladie est élevée chez les sujets ayant une hygiène bucco-dentaire déficiente (Amoura et al., 2006).

Nombreuse bactéries ont été étudiées dont les streptocoques, mycobactéries, *Borrelia burgdorferi*, *Helicobacter pylori*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ou *Mycoplasma* (Houman et al., 2014).

Selon Mumcu G et ses collaborateurs, *Streptococcus sanguis* a été le plus incriminé dans le déclenchement de la MB (Mumcu et al., 2007) dont les taux d'anticorps était significativement élevé chez les sujets malades que chez les témoins sains (Kaneko et al., 2008). L'antigène du *Streptococcus sanguis* KTH-1, induit la production des cytokines pro-inflammatoires comme le TNF- α , l'IFN γ l'IL-6 et l'IL-8 suite à l'activation des LT des malades, notamment les LT $\gamma\delta$ (Hirohata et al., 1992 ; Mochizuki et al., 1994).

5. Immunopathologie

5.1. Anomalies de la réponse inflammatoire :

5.1.1. Rôle des protéines du choc thermique (HSP) :

Les HSP sont des protéines produites par les cellules suite un à stress comme la chaleur, l'infection, l'hypoxie et UV. Elles assurent une fonction chaperonne moléculaire qui préviennent la dégradation et la dénaturation des protéines intracellulaires ainsi que l'activation des LT.

Une augmentation de l'expression de HSP60/65 et taux élevés d'anticorps anti-HSP60/65 ont été constatés chez les patients atteints de la MB (**Tasçi et al., 1998, Ergun et al., 2001**).

HSP-60 est un ligand des récepteurs Toll-Like 2 et 4 et considéré comme un signal de danger et provoquerait une réponse inflammatoire rapide avec production d'IL6, IL12, IL15, TNF α , l'expression de molécules d'adhésion comme la E-selectine, VCAM et ICAM et une réponse immune de type Th1 (**Direskeneli et al., 2003, Imamura et al., 2005**), et capable de stimuler la prolifération des lymphocytes LT $\gamma\delta$ au cours de la MB (**Pervin et al., 1993**). Enfin, HSP-60 pourrait activer le gène MICA via la régulation des heat shock responsive elements codés dans la région promotrice des gènes MIC (**Groh et al., 1996**).

5.1.2. Rôle de l'oxyde nitrique (NO)

Le NO est un médiateur important impliqué dans l'inflammation de l'uvéa. Une augmentation des concentrations de NO a été rapportée au cours de la MB, dans le sérum, les érythrocytes le liquide synovial et l'humeur aqueuse. Cette augmentation est corrélée avec l'activité de la MB (**Amoura et al., 2006**).

L'augmentation de NO intratissulaire inhiberait la migration des polynucléaires neutrophiles présents au sein des lésions de la MB entraînant la persistance in situ de ces cellules activées.

5.1.3. Stress oxydatif et radicaux libres :

Au cours de la MB, notamment active, il existe une production excessive de l'anion superoxyde (O_2^-) et de l'eau oxygénée (H_2O_2) provoquant une augmentation des radicaux libre et du stress oxydatif (**Chambers et al., 2001**). L'activité des enzymes chargées de lutter contre le stress oxydatif comme la superoxyde dismutase, le glutathion peroxydase 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, hyperréactifs et capables de produire des dommages tissulaires. (**Amoura et al., 2006**).

5.2. Anomalie des cellules de l'immunité innée :

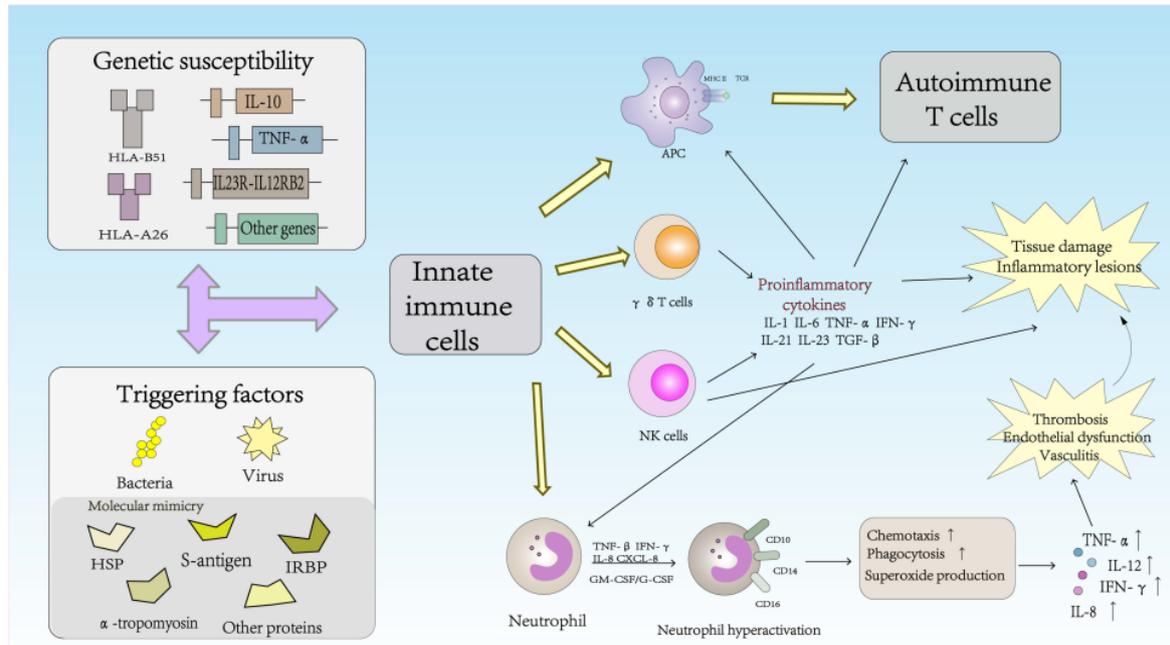


Figure 05 : Le rôle des cellules innées dans la pathogénèse de la maladie de Behçet (Tong *et al.*, 2019).

5.2.1. hyperactivité des polynucléaires neutrophiles (PNN) :

Les PNN jouent un rôle vital dans la réponse immunitaire innée et sont la première ligne de défense contre toute infection, et leur rôle a été bien établi dans la pathogénie de la MB (Houman *et al.*, 2014). En plus du nombre élevé et le chimiotactisme accru, l'hyperactivité des PNN se manifeste par :

- Hyperproduction des radicaux libres oxygénés dérivés de la NADPH oxydase qui d'une part causent des lésions tissulaire et d'une autre part, ils maintiennent les PNN dans le même site en inhibant leurs migrations causant une persistance in situ de ces cellules activées (Becatti *et al.*, 2016).
- Une majoration de l'adhésion endothéliale et une activité phagocytaire accrue. Une analyse histologique a montré que les artères et les veines sont infiltrées causant des dysfonctions au niveau de l'endothélium vasculaire (Kobayashi *et al.*, 2001) et des thromboses chez 25% des patients de la MB (Pineton *et al.*, 2012).

5.2.2. Les lymphocytes Gamma-Delta (LT $\gamma\delta$) :

Les $LT\gamma\delta$ jouent un rôle important dans la régulation de la réponse auto-immune, elles représentent entre 0.5 à 5% les lymphocytes T du sang périphérique et produisent de multiples cytokines pro-inflammatoires en présence de facteur de croissance et de cytokines (**Tong et al., 2019**). Des études récentes ont montré un effet activateur des Th17 par les $LT\gamma\delta$ dans les lésions inflammatoires des modèles expérimentaux de maladie auto-immune accélérant ainsi le développement d'une uvéite auto-immune expérimentale (EAU) (**Nian et al., 2011**).

l'association des $LT\gamma\delta$ avec la MB a été constaté avec une forte expression du CD69, et expression accrue de $IFN-\gamma$ et $TNF-\alpha$ (**Tong et al., 2019**).

5.2.3. Les NK :

Les cellules NK constituent une composante essentielle de l'immunité innée. Selon la densité du marqueur CD56, on peut les classer en deux 2 groupes :

- $CD56^{low} CD16^{+}$: Caractérisé par une forte activité cytotoxique (non spécifique) contre les cellules tumorales et cellules infectées via la libération des perforines et granzymes, mais une faible production de cytokines ;
- $CD56^{high} CD16^{-}$: NK régulateur, du fait d'un taux faible de cytotoxicité et une production de haut niveau de cytokines telles que : $IFN-\gamma$, Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor (GM-CSF) et chemokines (**Tian et al., 2012**).

Hasan et ses collaborateurs, ont reporté une diminution significative du nombre de cellules NK dans le sang périphérique des patients de la MB comparé à des contrôles sains (**Hasan et al., 2017**). Phénomène expliqué par la migration de ces cellules vers les sites inflammatoires via la production de cytokine de Type Th1 telle qu' $IFN-\gamma$ qui a un effet inhibiteur sur la réponse Th17, orientant par conséquent la balance vers le profil Th1 (**Kucuksezer et al., 2015**).

Selon Erten et ses collaborateurs, les NK peuvent être classées en NK1, NK2, NKreg et NK17 selon le type de cytokines secrétées, et à cause de l'effet inhibiteur de $IFN-\gamma$, Cosan et al, ont reporté un avantage pour la classe NK1 et une diminution des autres classes, créant un rapport NK1 et NK2 qui joue un rôle dans le contrôle de la réponse Th1 ou Th2, et dans la même étude il a été suggéré que les NK joueraient un rôle dans la rémission des patient de la MB via une polarisation vers le profile NK2 qui régule la réponse Th1 (**Yamaguchi et al., 2010**).

5.3. Rôle des cytokines dans l'immunité adaptative

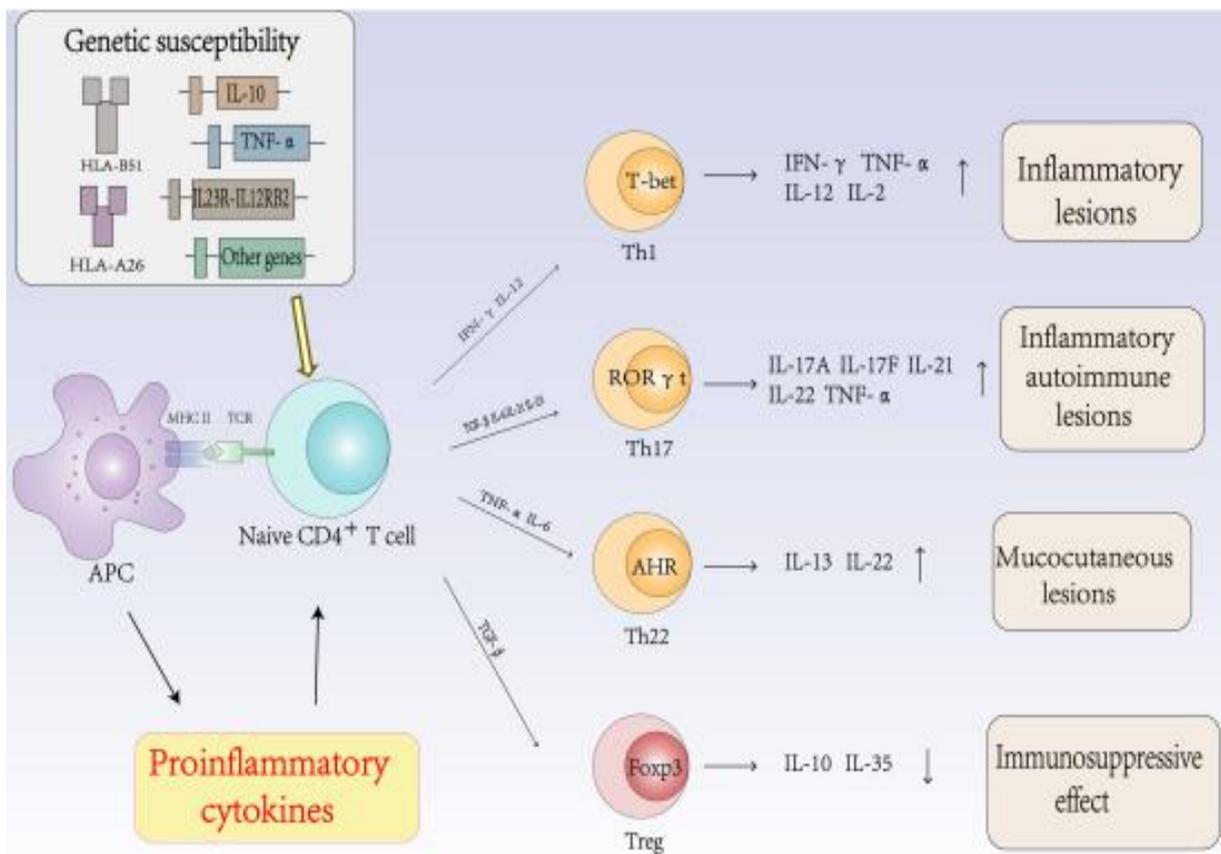


Figure 06 : Rôle des cytokines dans la pathogénèse de la maladie de Behçet (Tong et al., 2019).

5.3.1. Cytokines pro-inflammatoires

5.3.1.1. La famille des IL-1 :

La famille IL-1 est un groupe de cytokines majeures de l'immunité innée et de l'inflammation. Ces cytokines sont produites par les monocytes/macrophages et cellules dendritiques sous forme de précurseurs qui sont activés par clivage protéolytique par la calpaine pour IL-1 α et la caspase 1 pour les autres (Robert, 2010). Cette activation se déroule au niveau d'un édifice appelé « inflammasome » au niveau duquel se produit l'autoprotéolyse de la procaspase 1 en caspase active (Robert, 2010 ; Thornberry et al., 1992) (Figure 07).

Dans la MB, un taux élevé d'IL-1 a été noté dès 1990 (Hamzaoui et al., 1990), des taux sériques d'IL-1 β et d'IL 18 élevés chez ces malades (Hamzaoui et al., 2002). Une étude plus récente révèle des taux élevés d'IL-1 dans le liquide synovial des patients atteints de la MB ayant développé une arthrite (Pay et al., 2006). Des polymorphismes génétiques comme des mutations au niveau du NLRP3, des SNPs l'IL-1 α -889C et l'IL-1 β +5887T ont été associés à un risque élevé de contracter la maladie (Zhou et al., 2012) (Hatemi et al., 2015)

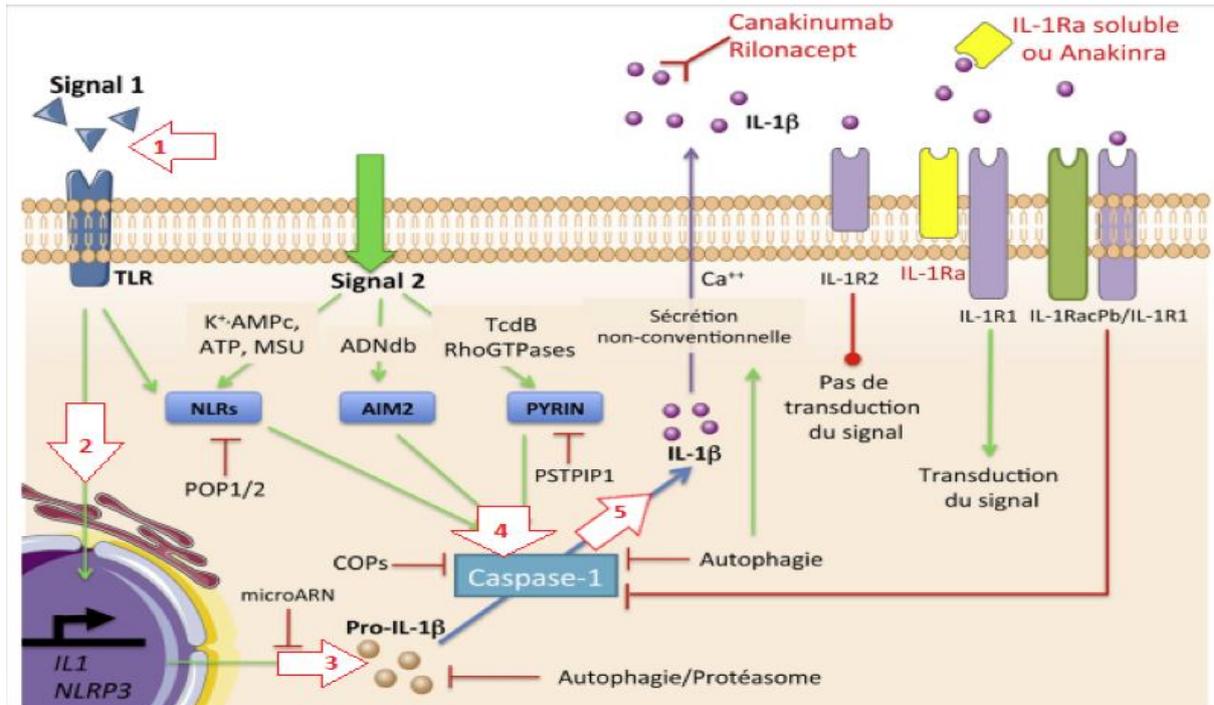


Figure 07 : Régulation de la voie de l'IL-1 β . 1 : 1^{er} signal fixation du ligand sur le récepteur TLR (Toll Like Receptor). 2 : pré activation de la voie l'IL-1 β . 3 : transcription des gènes de l'IL-1 et le NLRP3 (NOD-Like Receptor Pyrin domain containing 3). 4 : 2^{ème} signal : activation de l'inflammasome. 5 : activation des caspase-1 et clivage de la Pro-IL-1 β en l'IL-1 β (Jamilloux et al., 2016).

5.3.1.2. TNF α (Tumor Necrosis Factor) :

Le TNF α joue un rôle dans la synthèse des protéines de la phase aigüe de l'inflammation, régulation des leucocytes, déclenche la fièvre, l'apoptose, cachexie et l'inflammation en vue de combattre la cancérogénèse et la réplication virale en déclenchant la libération IL-1,6 et IFN β (Houman et al., 2014) Le rôle du TNF α dans la pathogénie de Behçet a été abordé depuis les années 1990, et son implication a été fortement étayée via l'efficacité des agents anti TNF comme traitement dans cette pathologie (Misumi et al., 2003).

5.3.1.3. IL-6 :

Chez les patients atteints d'un neuro-Behçet, des taux anormalement élevés de l'IL-6 dans le liquide cérébro-spinal (LCS) ont été reportés, d'après l'étude d'Akman-Demir et al, LCS IL-6 pourrait être considéré comme un marqueur du neuro Behçet (Akman-Demir et al., 2008). De plus Chang et al, ont conclu à l'association entre le polymorphisme du gène de l'IL-6 et la MB (Chang et al., 2005).

5.3.2. les cytokines de Type Th1 :

Les taux élevés de l'IL-2, 12, 18 et IFN- γ indiquent une polarisation vers le profil Th1 et par conséquent un déséquilibre de la balance Th1/Th2 dans la MB (Aridogan *et al.*, 2003 ; Ahn *et al.*, 2006).

Des études ont trouvé des taux élevés des cellules Th1 par détection de son facteur de transcription qui est le T-bet chez les malades de la MB comparés aux sujets sains (Aridogan *et al.*, 2003 ; Ahn *et al.*, 2006).

5.3.2.1. IL-12 et IFN γ :

IL-12 est une cytokine pro-inflammatoire produite par les macrophages, cellules dendritiques et les Lymphocytes B (LB), elle induit la production d'IFN- γ en jouant un rôle important dans la différenciation de Th₀ vers Th1 et forme un lien entre l'immunité innée et adaptative (**Figure 08**)

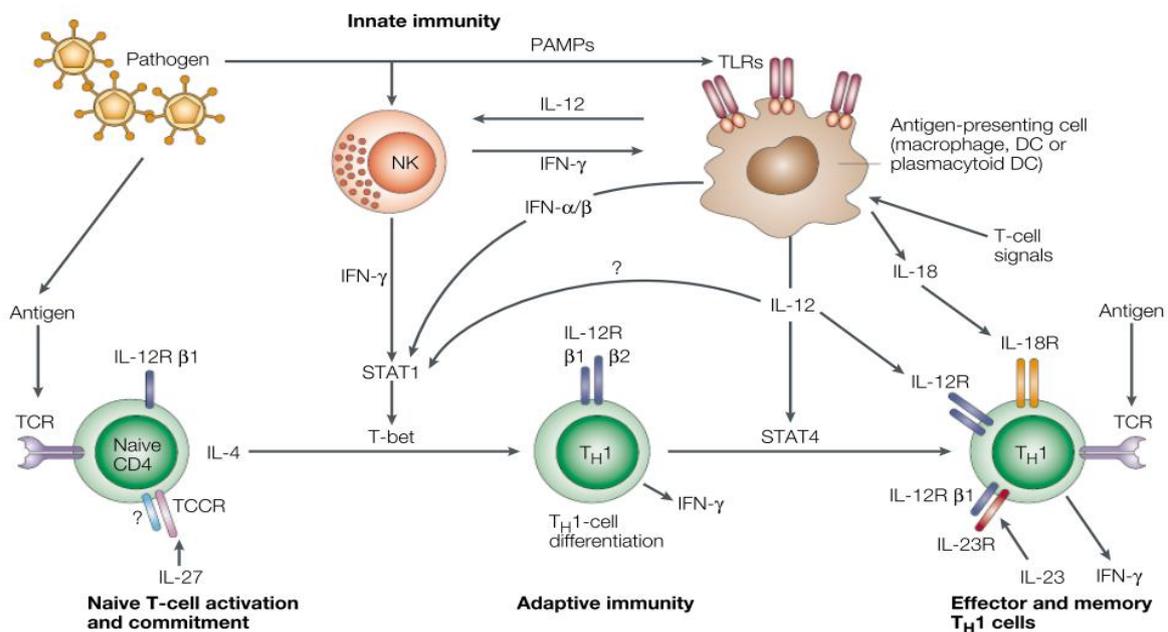


Figure 08 : Rôle de l'IL-12 dans la différenciation des LT naïfs vers le profile Th1 (Trinchieri *et al.*, 2003)

Des taux élevés de IFN- γ ont été reportés par dans l'humeur aqueuse des patients avec un Behçet atteint d'uvéïte par rapport à ceux atteint d'uvéïte causé par une autre maladie (El-Asrar *et al.*, 2011 ; Ahn *et al.*, 2006). de même Zhou et al ont retrouvé des taux élevés d'IL-12 chez les patients MB souffrant d'uvéïte (Zhou *et al.*, 2012). De plus deux principales GWAS turques et japonaise, suggèrent que des SNPs au niveau du gène du récepteur de l'IL-12 est un facteur déclenchant de

la MB, néanmoins, la majorité de ces études sur l'IL-12 ne sont pas statistiquement significatifs, par conséquent son rôle dans la MB reste limité (**De Chambrun et al., 2012**).

5.3.2.2. IL-18 :

Outre l'élévation des taux sériques de l'IL-18 chez les patients avec MB, une corrélation avec l'élévation des taux de TNF a été observée, suggérant indirectement que les cytokines de type Th1 jouent un rôle prépondérant dans la maladie (**Zhou et al., 2012**).

5.3.3. Cytokines de type Th2 :

Parmi toutes les cytokines de type Th2 (IL-4, IL-5, IL-10, IL-13) seules quelques-unes ont fait l'objet d'étude dans le cadre de la MB. C'est le cas de l'IL-4 ou une augmentation de sa production a été observée, reflétant un profil mixte Th1 et Th2 (**Touil-Boukoffa et al., 2015**), ainsi que l'IL-10 avec une augmentation des taux sériques comparables à ceux de IFN- γ chez les patients avec une MB (**Ben Ahmed et al., 2004**). Le rôle de l'IL-10 reste néanmoins à préciser, et dans ce contexte Belguendouz et al ont suggéré un effet antagoniste de l'IL-10 vis-à-vis de IFN- γ en réduisant l'expression de NO (**Belguendouz et al., 2011**).

5.3.4. Cytokines de type Th17 :

En dépit du fait que la MB a été considérée comme une maladie à médiation Th1, Th17 joue un rôle cruciale dans le processus inflammatoire de cette maladie en favorisant le recrutement et l'activation des PNN, en effet, Tong et al, ont constaté un nombre élevé de cellules Th17 en mesurant le facteur de transcription ROR γ t dont le taux est élevé chez les patients MB (**Tong et al., 2019**).

5.3.4.1. IL-17A :

Hamzaoui et al ont démontré que le pourcentage des cellules Th17 ainsi que l'IL-17A est augmenté chez les patients atteint de MB, ils ont aussi remarqué que cette cytokine pourrait induire l'expression de l'ARNm des molécules d'adhésion (ICAM-1, VCAM-1 et E-cadhérine) au niveau des cellules endothéliales de veine de cordon ombilical (HUVECs) (**Hamzaoui et al., 2011**).

5.3.4.2. IL-21 :

Suite à l'étude de la nature des cellules T et les cytokines dans le sang périphérique, LCR des patients atteint de la MB, un effet activateur de l'IL-21 sur les Th17 et inhibiteur sur les Treg a été observé (**Geri et al., 2011**). Wang et al, ont reporté que le développement de EAU est lié à la

production de l'IL-21 et IL-2 par les LT de la rétine, suggérant ainsi une corrélation entre l'IL-21 et les maladies auto-immunes, Behçet inclus (**Wang et al., 2011**).

5.3.4.3. IL-23 :

Jouant un rôle dans production de l'IL-17, l'expansion et la survie des Th17, IL-23 est impliquée dans la pathogénèse de la MB (**Tong et al., 2019**). En effet, des taux élevés de l'IL-23 dans le PBMC des patients MB ont été reportés (**Sonmez et al., 2018**), et cet axe IL-17/23 joue un rôle significatif dans la médiation de la réponse inflammatoire dans la MB (**Tong et al., 2019**).

5.3.5. Cytokines de type Th22 :

Les Th22 sont une nouvelle population de T helpers distinctes de celles connues et qui se caractérisent par la production de l'IL-22 et TNF α et expriment les récepteurs des chimiokines CCR4, CCR6, and CCR10, (**Duhen et al., 2009**), Sugita et al ont mis en évidence des clones de Th22 dans l'humeur aqueuse des patients de la MB atteint d'uvéite active. Ces clones produisaient des taux élevés d'IL-22 et de TNF α , mais pas de cytokine de type Th1 (IFN γ) et Th17 (IL-17) (**Sugita et al., 2013**). De plus les LT produisant de l'IL-22 ont été retrouvés chez un modèle murin de MB avec EAU. ces données suggèrent que l'IL-22 jouerait un rôle clé dans l'atteinte oculaire de la MB (**Sugita et al., 2013**).

5.4. LT régulateurs :

Elles jouent un rôle central dans le contrôle de la tolérance et le maintiens de l'homéostasie immunitaire, et se caractérisent par l'expression des cytokines immunosuppressives (IL-10, IL-35, et TGF- β) (**Li et al., 2015**). L'implication des Treg dans le Behçet est controversée, en effet, leurs études au cours de la MB ont abouti à des résultats contradictoires, certaines études ont rapporté une augmentation de la fréquence des Treg dans le sang périphérique ou le LCR, tandis que d'autres ont trouvé une diminution de ces dernières (**Geri et al., 2011**).

5.5. Immunité humorale :

Plusieurs arguments suggèrent que l'immunité humorale joue un rôle dans la maladie de Behçet, telle que la forte expression des marqueurs d'activation (CD13, CD33, CD80 et CD45Ro) (**Eksioglu-Demiralp et al., 1999**), des anticorps anti cellules endothéliales dont les anticorps anti α -enolase, qui intervient dans la fibrinolyse (**Lee et al., 2003**) et anticorps anti alpha-tropomyosine chez les patients atteint d'une uvéite postérieure de la MB (**Mahesh et al., 2005**).

5.6. Auto-anticorps et auto-antigène :

Plusieurs auto-anticorps ont été étudiés au cours de la MB sans résultat probant, c'est le cas des anticorps anti cellules endothéliales, les anticardiolipines, les anti-cytoplasmes des PNN (ANCA), les anti- α tropomyosin, les anti-kinectine...etc (**Geri et al., 2011**).

Pour expliquer les lésions oculaires de la MB, une hypothèse a été émise sur la réactivité croisée entre certains peptides dérivés des molécules HLA de classe I et l'antigène S rétinien (AgS), en effet, dans des conditions inflammatoires et dans l'uvéite de Behçet une réponse cellulaire T contre AgS a été observée, l'augmentation de l'expression des molécules HLA accompagnée d'une dégradation accrue de ces antigènes, qui seraient présentés et activeraient des LT dirigés contre ces peptides, et par réactivité croisée, ces LT réagiraient contre l'AgS et lyseraient les cellules rétiniennes (**De Smet et al., 2000**).

6. Diagnostic :

Il faut rappeler que le diagnostic de la MB est purement clinique, vu qu'aucun marqueur biologique n'est pathognomonique de cette maladie. Depuis 1946, différentes classifications sur la maladie de Behçet ont vu le jour. Il en existe actuellement 17 (**Devey, 2017**).

- En 1990, les critères de l'International Study Group (ISG) ont été créés par sept pays dans le but d'arriver à un consensus pour le diagnostic de la maladie de Behçet.
- En 2006, une nouvelle classification voit le jour : l'International Criteria for Behçet's disease (ICBD). Issue de la collaboration de vingt-sept pays, cette classification vise à harmoniser les critères d'inclusion des personnes atteintes de maladie de Behçet dans les études et cela, avec de meilleures sensibilités et exactitude que celles de l'ISG.
- En 2014, la classification de l'ICBD est révisée.

Les conditions de remplissage des critères de classification sont (**Tableau I**) :

- Pour l'ISG : avoir une aphtose buccale récidivante et au moins 2 items facultatifs
- Pour ICBD : avoir au moins 3 points
- Pour ICBD révisée : au moins 4 points sont nécessaires

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: ICB (2006)	Revised International Criteria for Behçet's Disease: ICB (révisée) (2014)
Aptose buccale	Obligatoire	1 point	2 points
Aptose génitale	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		1 point	1 point
Atteinte neurologique			1 point

Le test pathergique correspond à l'apparition d'une papule ou pustule dans les 24 h à 48 h suivant une injection (**Figure 09**). Il est positif chez 60% à 70% des cas en Turquie et au Japon, mais est rarement présent en Europe ou en Amérique du Nord (**Kutlubay et al., 2017**)

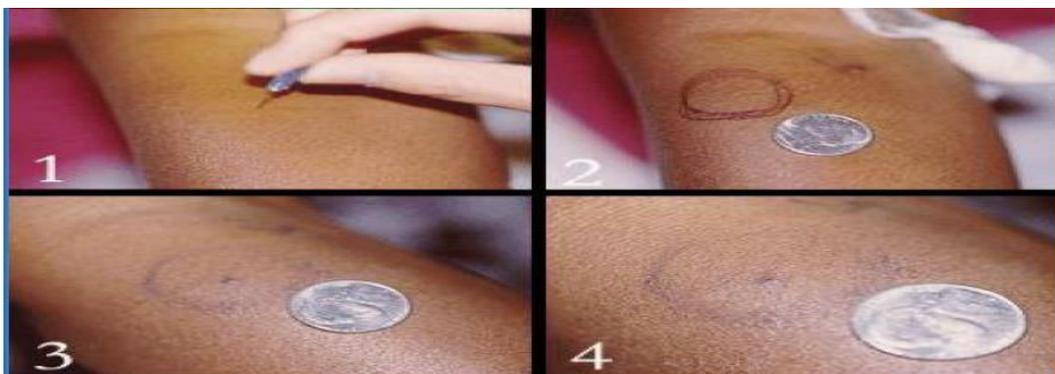


Figure 09 : Les étapes du « Pathergy test » faisant partie du diagnostic de la MB (**Kutlubay et al., 2017**).

7. Traitement

La prise en charge thérapeutique de la MB dépend de sa sévérité, des facteurs pronostiques, et du type d'organes atteints (**Figure 10**). Le traitement vise à éviter la survenue de lésions irréversibles, notamment oculaires ou neurologiques, à réduire ou supprimer le nombre des poussées et à contrôler les lésions cutanéomuqueuses et articulaires retentissant sur la qualité de vie.

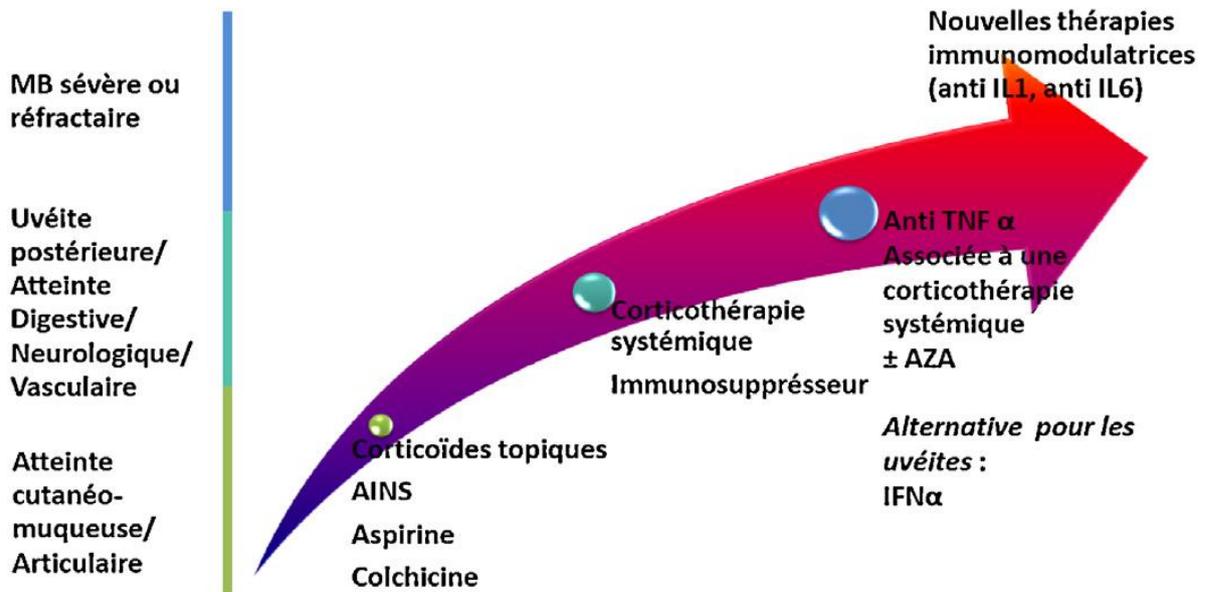


Figure 10 : Stratégie thérapeutique graduée dans la maladie de Behçet. AZA : Azathioprine ; IFN α : interféron-alpha ; anti-IL-1 : inhibiteur de l'interleukine 1 ; anti-IL-6 : inhibiteur de l'interleukine 6 ; AINS : anti-inflammatoires non stéroïdiens ; TNF α : Tumor Necrosis Factor alpha. (Comarmond *et al.*, 2014).

7.1. Colchicine :

La colchicine est le médicament le plus fréquemment et largement utilisé pour traiter l'aphtose orale ou génitale, les lésions papulo-pustuleuses et les arthralgies (Comarmond *et al.*, 2014), c'est est un immuno-modulateur qui agit en inhibant le chimiotactisme des PNN par dépolymérisation de leurs microtubules cytoplasmiques (Otmani, 2009).

7.2. La corticothérapie :

Les corticoïdes sont couramment utilisés dans la MB pour leurs effets anti-inflammatoires et immunosuppresseurs non sélectifs à forte doses et sont prescrits dans presque toutes les formes de la MB seules ou en association avec d'autres médicaments (Comarmond *et al.*, 2014).

7.3. Les immunosuppresseurs :

Sont souvent associés à une corticothérapie à cause de leurs délais d'action, ils préviennent les rechutes et facilitent le sevrage cortisonique, mais comportent des risques quant aux différentes infections, myelosuppression et une oncogénicité à long terme (Comarmond *et al.*, 2014).

Parmi les immunosuppresseurs utilisés on peut citer : l'Azathioprine, Méthotrexate, Ciclosporine et Tacrolimus.

7.4. Biothérapies :

Les cytokines pro-inflammatoires, et les lymphocytes T ont un rôle important dans la physiopathologie de la MB. Ainsi, les approches immunomodulatrices des biomolécules comme l'inhibition de certaines voies de signalisations, ou la déplétion en lymphocytes T sont des options thérapeutiques intéressantes (**Chekaoui, 2019**). Parmi ces biomolécules, on trouve :

7.4.1. Interféron alpha (IFN α):

L'IFN α est une cytokine qui possède des effets antiviraux, anti-angiogéniques, antiprolifératifs et immuno-modulateurs. Il est utilisé dans les cas résistants aux corticoïdes et aux immunosuppresseurs. (**Chekaoui, 2019**). L'IFN α est efficace sur les aphtes oraux et génitaux, les lésions pustuleuses (**Gabay, 2008**) de même que sur l'atteinte oculaire sévère de la MB ou il a considérablement amélioré le pronostic visuel (**Deuter et al., 2010**).

7.4.2. Anti TNF α :

Les anti TNF- α sont des anticorps qui inhibent la liaison du TNF α à son récepteur, et par conséquent, neutralisent ses actions biologiques délétères (**Chekaoui, 2019**).

L'efficacité des anti-TNF α (l'Infliximab® et l'Adalimumab®) est caractérisée par un délai d'action rapide et une importante épargne cortisonique. Son utilisation dans la littérature intervenait principalement chez des patients résistants aux immunosuppresseurs conventionnels (**Comarmond et al., 2014**).

7.4.3. Anti IL-1 :

Ces molécules ont prouvé leur efficacité dans le traitement de la MB. Leur action se résume soit dans l'inhibition compétitive de la liaison d'IL-1 à son récepteur de type I (IL-1RI) comme l'Anakinra® (**Emmi et al., 2016; Fabiani et al., 2017**), ou par l'inhibition directe d'IL-1 β comme le Canakinumab® (**Gül A, 2015**).

7.4.4. Anti-IL-6

Le Tocilizumab®, un anticorps humanisé anti-récepteur à l'IL-6, n'a actuellement l'AMM que dans les formes modérées à sévères de polyarthrite rhumatoïde active, mais il pourrait constituer une option thérapeutique dans la MB réfractaire suite à son utilisation avec succès chez 3 cas de MB avec méningo-encéphalites ou uvéites (**Comarmond et al., 2014**).

7.4.5. Thérapie ciblant les lymphocytes :

Parmi les anticorps monoclonaux qui ont eu un résultat, mais peu significatif on peut citer :

- Rituximab® est un anticorps anti-CD20 qui déplete les lymphocytes B, son efficacité a été observée dans quelques cas de MB avec des lésions oculaires sévères et vascularite rétinienne résistante au traitement conventionnel (**Davatchi et al., 2010**) ;
- L'Alemtuzumab® est un anticorps anti-CD52 dont l'action principale est la déplétion en lymphocytes T, une rémission a été constaté chez 72% des 18 patients traités (**Comarmond et al., 2014**).

En depis de l'efficacité avérée de la moajorité des biomédicaments quant à la diminution de l'activité du système immunitaire, désactivation des voies de signalisations, et modération des inflammations, leur utilisation dans les maladies auto immunes et inflammatoires dont le Behçet exposent les patients à de nombreux effets secondaires et risques infectieux et néoplasiques a long terme, sans oublié les cas réfractaires qui sont résistants à ces thérapies.

Un besoin alternative est né afin de trouver de nouvelles stratégies thérapeutiques dépourvues d'effets secondaires, Contrairement aux médicaments conventionnels qui cherchent à isoler les molécules, les plantes représentent un ensemble de substances qui travaillent en synergie, et c'est justement cette addition de substances qui est à l'origine de leurs nombreuses propriétés, Nous pourrions aller jusqu'à dire que les plantes sont faites pour nous soigner puisque certaines molécules végétales possèdent une affinité naturelle avec les récepteurs de nos cellules offrant ainsi une alternative sérieuse à la panoplie thérapeutique déjà mise en place

Chapitre I : Rappels bibliographiques

Partie 02 : Ammodaucus leucotrichus

1. Généralités

1.1. les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des substances odorantes et très volatiles et sont extraites à partir d'une plante aromatique et par de nombreuses méthodes. Elles sont des mélanges complexes, généralement formés de nombreux constituants, généralement liquides, mais parfois solides.

Selon son type, diverses parties de la plante peuvent être utilisées pour l'isolement des huiles essentielles : fruits, graines, bourgeons et fleurs, feuilles et tiges, racines, écorce ou bois (**Ríos, 2016**).

Il existe une forte variabilité de la composition chimique des plantes aromatiques due à de nombreux facteurs, autres que les facteurs génétiques, on peut distinguer l'existence des races distinctes dans une même espèce, en plus, d'autres facteurs récemment découverts ayant la capacité de modifier la composition chimiques des huiles essentielles, comme le climat, les précipitations ou l'origine géographique de la plante (**Ríos, 2016**).

1.2. *Ammodaucus leucotrichus*

Petite plante médicinale et aromatique appartenant à la famille des *Apiaceae*. Elle est annuelle et communément répartie dans les pays sahariens et subsahariens d'Afrique du Nord s'étendant jusqu'en Égypte et en Afrique tropicale, où elle est décrite comme une plante endémique (**Louail et al., 2016; Velasco-Negueruela et al., 2006**). De ce genre, la seule espèce à l'état sauvage en Algérie est *Leucotrichus Coss & Dur* subsp *leucotrichus* (**Quezel et Santa, 1963**). Une autre sous-espèce a été décrite dans les îles Canaries par Bultrán qui était *leucotrichus Coss & Dur* subsp. *Nanocarpus* (**Velasco-Negueruela et al., 2006**).

Cette espèce est une petite plante annuelle de 10 à 12 cm avec des tiges dressées, rameuses, finement striées, feuilles très divisées, le fruit est un diachène de 6–10 mm de long et recouvert de poils blancs soyeux denses, les fleurs blanches, à cinq pétales libres, sont regroupées en ombelles composées de deux à quatre branches (**Dahmane et al., 2017; Quezel et Santa, 1963**). Elle est appelée «Kamune es sufi ou akâman» dans la plupart des pays d'Afrique du Nord, tandis qu'en Algérie, elle est communément appelée «Moudrayga » et connu sous le nom de « Cumin chevelu » en français et « Hairy cumin » en anglais (en raison des poils blancs soyeux et denses qui recouvrent les fruits) (**Manssouri et al., 2016; Sebaa et al., 2018; Velasco-Negueruela et al., 2006**) (**Figure 11**).



Figure 11 : *Ammodaucus leucotrichus* dans son environnement naturel (Idm'hand et al., 2020).

2. L'huile essentielle d'*Ammodaucus leucotrichus*

2.1. Composition chimique de l'huile essentielle d'*Ammodaucus leucotrichus*

Plusieurs études ont ciblé la composition chimique de l'huile essentielle d'*Ammodaucus leucotrichus* entre autres : **Muckensturm et al., 1997**, **Velasco-Negueruela et al., 2006** qui ont révélé la présence de deux composants majeurs, le périllaldéhyde et le limonène. Cela est en accord avec les résultats de **Dahmane et al., 2017** qui ont analysé la composition chimique de deux huiles essentielles extraites des fruits de la même plante (*Ammodaucus leucotrichus*) mais provenant de deux origines différents en Algérie. En effet, le périllaldéhyde et le limonène étaient les deux composants les plus abondants avec un taux de (60.1% et 37.5%) et (6.9% et 29.2%) respectivement et pour chaque huile des deux origines.

De même, **Halla et al., 2018** ont souligné que l'activité antioxydante, antibactérienne et également anti-inflammatoire sont liées à la présence de ces deux composants majeurs, le périllaldéhyde et le limonène.

Le périllaldéhyde, est largement utilisé dans l'industrie des arômes, de la parfumerie, des cosmétiques et de l'industrie pharmaceutique. De plus, le périllaldéhyde a le potentiel de préserver la qualité et la sécurité des produits frais et des aliments (**Sun et al., 1998**) et d'augmenter l'activité antioxydante dans les tissus des fruits traités (**Jin et al., 2012**).

2.2. Activités biologiques et usages traditionnels

Les tests menés sur des souris par **Mohammedi et al., 2018** ont montrés que l'administration orale de l'huile essentielle d'*A. leucotrichus* à des doses allant jusqu'à 200 mg/kg (dose maximale tolérée) s'est avérée non toxique. On avait obtenu des DL50 (quantité de produit chimique qui peut tuer environ 50% de la population) qui varient, selon la localisation géographique de la plante, entre 520 et 570 mg/kg.

Comparée à la dexaméthasone (contrôle positif); l'huile essentielle d'*Ammodaucus Leucotrichus* a été testée sur des macrophages RAW 264.7 stimulés avec un lipopolysaccharide pour la production du médiateur inflammatoire (NO) et a montré une forte activité anti inflammatoire. La capacité de l'huile essentielle étudiée à inhiber la sécrétion de cytokines dans les cellules RAW 264.7, peut être due à la teneur élevée en périlladéhyde et en limonène (**Halla et al., 2018**).

De même, les huiles essentielles ont exercé un large spectre antibactérien suite aux expériences réalisées par **Dahmane et al., 2017** qui ont évalué les activités antibactériennes de l'huile essentielle acquise à partir des fruits d'*Ammodaucus leucotrichus*.

Une forte activité antioxydante de l'huile essentielle d'extrait méthanolique de fruits d'*Ammodaucus leucotrichus* a été démontrée aussi par **Sebaa et al., 2018**.

Plusieurs études, entre autres : **El-Haci et al., 2014 ; El-Ouady et Eddouks, 2019 ; IdmHand et al., 2020; Sadaoui et al., 2018 ; Gherraf et al., 2017 ...** etc; ont ciblé l'huile essentielle d'*Ammodaucus leucotrichus* pour ses propriétés bioactives et ont évalués d'autres activités biologiques à savoir les activités antibactériennes, antifongiques, antidiabétiques, anticholinestérases et cytotoxiques. Celui-ci est dû probablement aux différentes enquêtes ethnopharmacologiques qui se sont focalisées sur la plante. En effet, plusieurs études en Algérie et au Maroc ont noté l'utilisation traditionnelle de différentes parties de cette plante selon diverses préparations et à des fins médicinales différentes, entre autres le traitement des maladies gastriques et les troubles digestifs (douleurs à l'estomac, indigestion, diarrhée, vomissements, spasmes et coliques, vers intestinaux, constipation), l'asthme, l'arthrite rhumatoïde, le diabète, les allergies, le rhume, la pression artérielle et les douleurs thoraciques (**Halla et al., 2018; Mouderas et al., 2019; El Youbi et al., 2016**). Selon (**Kabbaj et al., 2012**), ses fruits sont même utilisés sous forme de poudre mélangée avec du miel par quelques populations indigènes au Maroc pour traiter le cancer des poumons.

Chapitre II

Méthodologie

1. Matériel

1.1. Matériel biologique :

Il s'agit d'une étude qui devrait concerner quarante patients atteints de MB (26 hommes et 14 femmes). Des échantillons de sang devraient être récupérés de chaque patient au niveau du service de médecine interne du CHU Mustapha Bacha, Alger. Chaque patient doit remplir les critères de classification et l'activité clinique de la maladie devrait être évaluée par le clinicien au moment du prélèvement. Notre expérience devrait inclure aussi un groupe contrôle constitué de 35 sujets sains volontaires (23 hommes et 12 femmes). Tous les participants (patients et témoins sains) devraient participer dans cette étude, devraient donner leur consentement éclairé.

1.2. Matériel non biologiques :

- **Le milieu de culture :**

Le Roswell Park Memorial Institute (RPM 1640, Sigma-Aldrich, France) est enrichi par l'addition de la L-Glutamine (2mM), 5% de sérum de veau foetal (SVF) inactivé, 10 IU/ml de pénicilline et de 100 µg/ml de streptomycine. Ce milieu est destiné à la culture des cellules mononucléaires du sang périphérique (PBMCs).

- **PBS :**

C'est un tampon phosphate salin dont la concentration des sels est identique à celle du corps humain. Il sert à rincer les cellules lorsqu'il faut enlever toute trace du milieu.

- **Ficoll :**

C'est un milieu de centrifugation à gradient de densité utilisé pour séparer des cellules mononucléaires du sang périphérique.

- **ACK :**

C'est un tampon de lyse des globules rouges. Permet une lyse optimale des érythrocytes, avec un effet minimal sur les lymphocytes.

- **Bleu de trypan :**

C'est un colorant utilisé fréquemment pour la numération cellulaire. Il permet la coloration des cellules mortes en bleu et ainsi les distinguer des cellules vivantes qui ont la capacité de le relarguer après son infiltration.

2.1. NaNO₂ :

Utilisé pour la préparation de la gamme étalon des nitrites.

2. Méthodes :

2.1. Prélèvement sanguin :

5ml de sang par tube EDTA devraient être prélevés sur des malades et des témoins sains. Les échantillons devraient être directement transportés dans des récipients isothermes et conservés au laboratoire à une température de 4°C.

2.2. Isolement des PBMC

2.2.1. Principe

Les PBMC sont purifiées par une méthode standard qui consiste à l'utilisation de la centrifugation en gradient de densité Ficoll-Hypaque. Les globules rouges et les polynucléaires étant plus denses que le Ficoll vont sédimenter au fond du tube contrairement aux lymphocytes et autres cellules mononucléaires qui se rassemblent en un anneau opaque surnageant au-dessus du Ficoll.

2.2.2. Mode opératoire :

Après une centrifugation pendant 5 min à 2800 rpm, le plasma devrait être récolté soigneusement dans des eppendorfs et congelé à -20°C pour d'autres intérêts.

Par la suite 4 ml des culots cellulaires dilués à raison de 1:1 avec une solution saline tamponnée au phosphate (PBS) ; devraient être rigoureusement versés sur 2 ml de Ficoll dans un tube conique de 15 ml et centrifugés à 2800 rpm pendant 20 minutes (**Figure 12**). L'anneau blanc contenant les PBMCs devrait être récolté et soumis par la suite à plusieurs lavages au PBS (PH=7.4) et l'ACK (sert à éliminer les globules rouges) et des centrifugations à 2800 rpm pendant 5 min. Le culot des PBMC obtenu devrait être maintenu dans un volume de RPMI 1640 à 10% de SVF.

2.3. Evaluation de la viabilité des PBMC :

Il est impératif de procéder à un test de viabilité avant de lancer la culture cellulaire, ceci permettra la détermination de la viabilité des cellules et leur énumération.

2.3.1. Principe :

L'énumération et la viabilité cellulaire est évaluée par le bleu de trypan qui est un colorant d'exclusion capable de pénétrer dans toutes les cellules. Les cellules mortes se colorent en bleu contrairement aux cellules vivantes ayant la capacité de l'expulser immédiatement et qui vont apparaître brillantes au microscope (**Aroussia et al., 2015**).

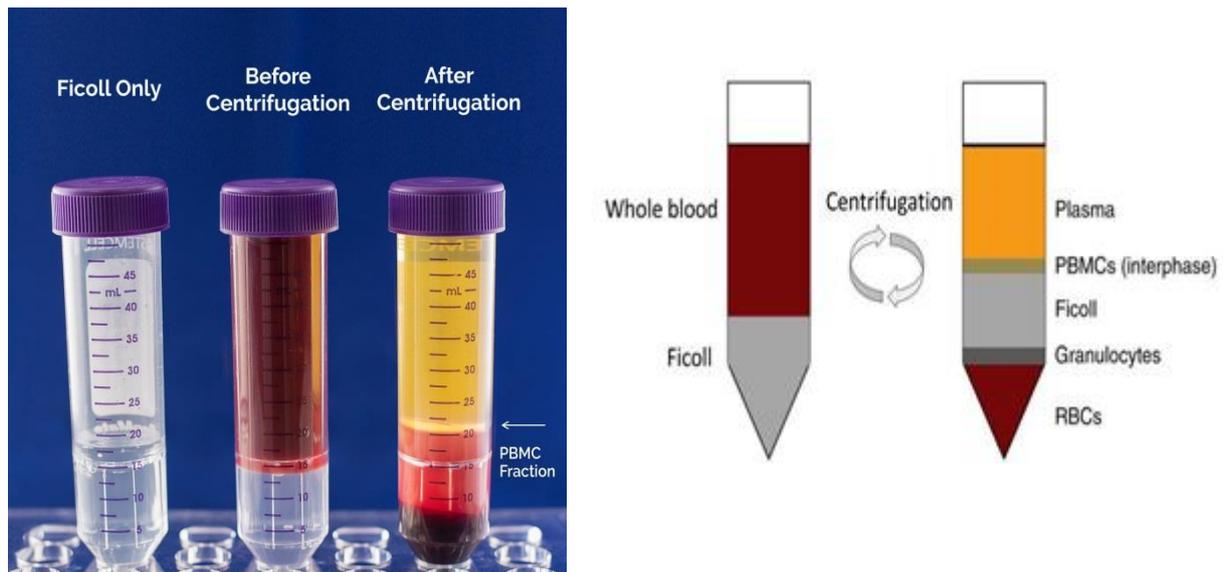


Figure 12 : Séparation des PBMC du sang par centrifugation en gradient de densité Ficoll-hypaque

2.3.2. Mode opératoire :

10 µl de suspension cellulaire à tester sont ajoutés à 10 µl de bleu de trypan (0.2%). À l'aide d'une micropipette, la suspension est déposée entre lame et cellule de Malassez.

Afin d'obtenir une suspension cellulaire à une concentration finale de 10^6 cellules/ml on doit ajouter à la suspension cellulaire un certain volume de milieu de culture qui est déduit selon la formule suivante :

$$\text{Nombre de cellules} = (M \times d) \times 10^5$$

Avec :

- M : moyenne des cellules vivantes observées au microscope
- d : facteur de dilution = 1/dilution

Seules les cultures dont la viabilité est supérieure à 98% sont lancées pour l'étude. Les PBMC doivent être mises en culture dans le RPMI 1640 additionné de 5% de sérum de veau fœtal (SVF).

Deux types d'huiles essentielles (HE extraites de la même plante devraient être testés, l'HE des fruits et celle des fleurs. Différentes concentrations de l'HE devraient être préparées avec du DMSO.

Les cultures doivent être réalisées comme ceci :

- Plaque de puits N°01 (tester l'effet de l'Huile essentielle des fleurs de la plante :

PBMC témoins seuls

PBMC + DMSO

PBMC + HE des fleurs 0.16 µl/ml, DMSO 1%.

PBMC + HE des fleurs 0.32 µl/ml, DMSO 1%.

PBMC + HE des fleurs 0.64 µl/ml, DMSO 1%.

PBMC + HE des fleurs 1.28 µl/ml, DMSO 1%.

- Plaque de puits N°02 (tester l'effet de l'huile essentielle des feuilles de la plante): la même composition que celle utilisée pour la première plaque, seule l'huile essentielle devrait être changée.

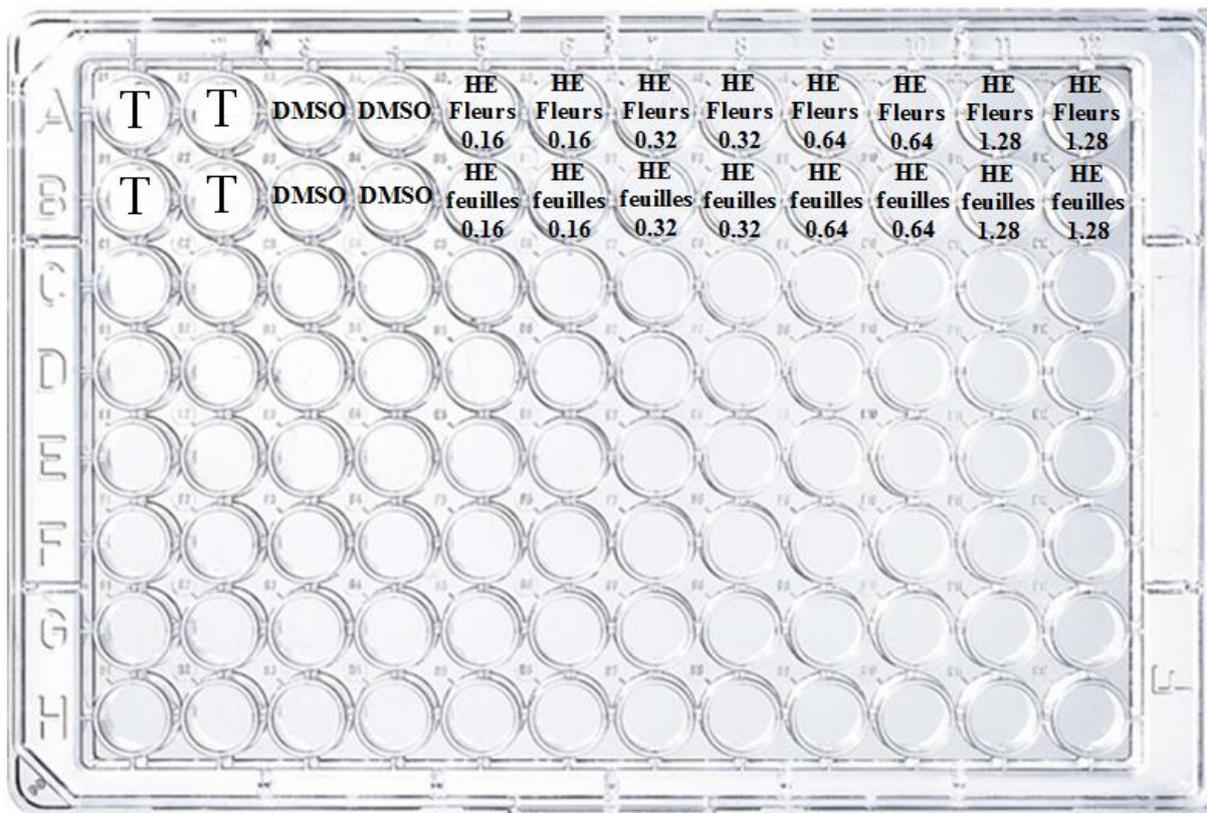


Figure 13 : Répartition des échantillons au niveau de la microplaque à 96 puits

La culture devrait être effectuée en double sur des micro-plaques de 96 puits avec un volume de 200 µl/puit (**Figure 13**). Après 24 h d'incubation à 37°C dans une atmosphère humide à 5% de

CO₂, les suspensions cellulaires seront centrifugées et les surnageants des cultures seront utilisés pour le dosage des cytokines et du NO.

2.4. Dosage de monoxyde d'azote par la méthode de GRIESS modifiée :

Le NO est mesuré de façon indirecte en quantifiant un de ses métabolites physiologiquement stable, les nitrites résiduels et qui reflète le taux de NO produit par les NOS.

2.4.1. Principe :

Le principe du dosage des nitrites se base sur la méthode de Griess modifiée (**Touil-Boukoffa et al, 1998**). C'est une réaction de diazotation qui commence par l'action des nitrites sur la sulfanilamide en milieu acide et formation d'un sel de diazonium et se poursuit par la réaction de ce dernier sur le Naphtyl Ethylene di amine en milieu chlorhydrique (pH<2).

Le composé final est d'une coloration rose d'une intensité dépendante de la concentration des nitrites dans le milieu qui peut donner lieu à un dosage spectrométrique à une longueur d'onde de 543 nm.

2.4.2. Mode opératoire :

Le dosage devrait être effectué en ajoutant 25 µl de Griess B puis 25 µl de Griess A à 50µl de surnageant de culture. Par la suite, on ajoute 400 µl d'eau distillée. Le mélange est homogénéisé par le vortex puis incubé dans l'obscurité pour 15 min, en suite le mélange est centrifugé pendant 5 min à une vitesse de 6000 rpm.

La densité optique (DO) doit être lue à une longueur d'onde de 543 nm sur le spectrophotomètre qui est proportionnelle à la coloration de nitrite dans l'échantillon. Une gamme étalon devrait être réalisée au préalable à partir d'une solution de NaNO₂ à 500 µM. Les concentrations des nitrites résiduels devraient être calculées par extrapolation sur la courbe obtenue.

2.5. Dosage de cytokines par ELISA :

2.5.1. Principe :

Cette technique consiste à isoler un antigène que l'on cherche à doser (cytokines dans notre cas) entre deux anticorps (un anticorps de capture et un autre de détection) qui lui sont spécifiques mais reconnaissent des épitopes différents. Et visualiser par la suite, la réaction antigène-anticorps grâce à une réaction enzymatique colorimétrique. L'enzyme (généralement une biotine) fixée au préalable sur l'anticorps de détection libère une enzyme HRP (Horse Radish Peroxydase) de son

complexe streptavidine-HRP. Le substrat de l'HRP devrait être ajouté pour être converti en un produit détectable en lecture de DO.

2.5.2. Mode opératoire :

La production de certaines cytokines devrait également être quantifiée dans les surnageants de cultures de PBMC (IL-6, IL-6R, IL-1 β , TNF α , IL10 et IL-37). Il s'agit d'un dosage de type ELISA sandwich (Enzyme-linked immunosorbent assay). Dans des puits d'une microplaque de microtitration recouverts d'un premier anticorps monoclonal anti-cytokine, devraient être incubés: le standard, les plasmas et les surnageants de culture de PBMC à raison de 100 μ l/puits. Après 2h d'incubation à température ambiante, 100 μ l d'anticorps biotinylé ainsi que 100 μ l de streptavidine couplée à la peroxydase devraient être ajoutés aux différents puits. Une deuxième incubation pendant 30mn à température ambiante suivie d'un lavage devrait être effectuée. L'activité enzymatique devrait être révélée par addition du substrat de l'enzyme couplé à un chromogène (100 μ l/puit). L'absorbance devrait être lue à 450nm par spectrophotométrie, l'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en cytokines présentes dans l'échantillon. La concentration en cytokines de chaque échantillon devrait être déterminée par extrapolation sur une courbe standard.

2.6. Etude statistique

Nos résultats devraient être exprimés en moyenne \pm standard de déviation (SD) et analysés statistiquement par GraphPad prism ANOVA et test T. Les différences statistiques seront considérées comme significatives si les valeurs p sont inférieures à 0,05.

Chapitre III

Résultats et discussion

Selon l'hypothèse proposée, nos résultats et pour la première fois, devraient montrer l'effet modulateur de l'huile essentielle d'*Ammodaucus leucotrichus* sur la synthèse des cytokines pro et anti-inflammatoires ainsi que le monoxyde d'azote (NO) au cours de la maladie de Behçet. Pour cela une synthèse des résultats d'une panoplie de recherches du même objectif dans d'autres pathologies ont été rapportés ci-dessous.

1. Résultats :

1.1. D-Limonène inhibe la production de NO médiée par les LPS :

Afin d'évaluer l'impact du D-Limonène sur le iNOS, le taux de NO a été mesuré dans un milieu de RAW 264.7 macrophages stimulé par un le LPS (1 µg/ml). Le D-Limonène a été ajouté au milieu a des doses croissantes (0.01%, 0.02%, 0.04%) ainsi que le 2-amino-4-méthylpyridine comme témoin positif (20 µM) et la dexaméthasone (20 µM) puis incubé pendant 24h (**Figure 14**). La cytotoxicité a été déterminée par l'utilisation de la méthode LDH

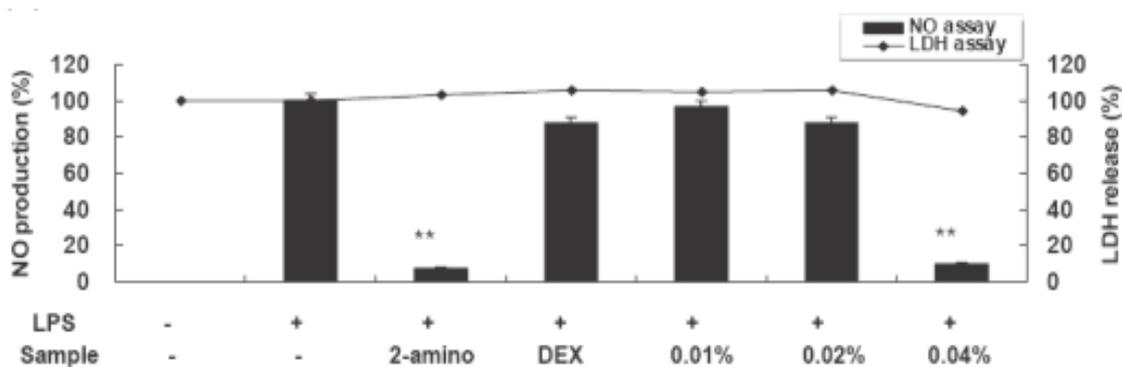


Figure 14 : Effet inhibiteur du D-Limonène sur l'Oxyde Nitrique. **** $P < 0.01$ (Yoon et al., 2010).**

Le D-Limonene a inhibé la production de NO d'une manière dose dépendante, et sans avoir un effet négatif sur la viabilité des cellules a des doses jusqu'à 0.04% comme l'atteste le dosage de la LDH.

Ces résultats suggèrent que l'effet sur la production de NO n'est pas le résultat d'une cytotoxicité en prenant comme témoin positif le 2-amino-4-méthylpyridine qui a pour rôle l'inhibition de la production de NO, et la dexaméthasone, un corticostéroïde a effet anti-inflammatoire mais qui n'affecte pas la production de NO (Yoon et al., 2010)

1.2. D-Limonène diminue la production des PGE₂ induite par les LPS

La PGE₂ a été mesurée dans le surnageant de la culture des RAW 264.7 macrophages stimulés par le LPS (1 µg/ml) pendant 18 h en présence du D-Limonène. On a suivi le même Protocole que la 1^{ère} expérience, et la concentration en PGE₂ a été déterminée par ELISA (**Figure 15**)

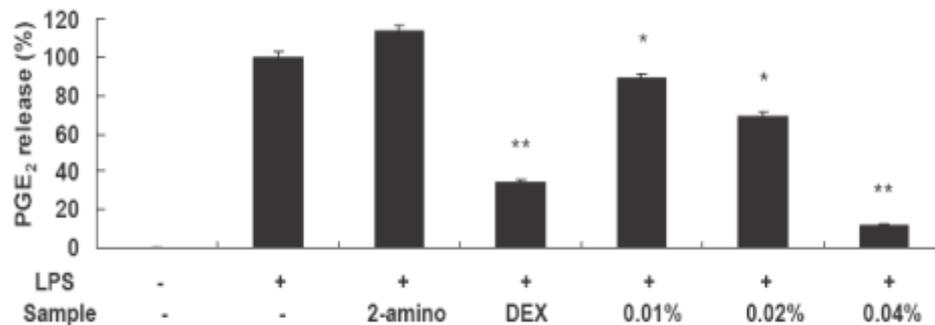


Figure 15 : Effet inhibiteur du D-Limonène sur la PGE₂. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$

(Yoon *et al.*, 2010).

Tandis que la production des PGE₂ est quasiment nulle chez les macrophages non stimulés, le LPS provoque sa production. Un effet inhibiteur significatif de la dexaméthasone (20 µM) a été constaté, qui en parallèle est assez marqué et dose dépendant du D-Limonène (0.04%) sur la production des PGE₂ (Yoon *et al.*, 2010).

1.3. D-Limonene inhibe l'expression d'iNOS et COX-2 stimulés par le LPS :

Dans le but d'élucider le mécanisme auquel le D-Limonène inhibe la production du NO, l'expression des protéines iNOS a été investiguée.

RAW 264.7 macrophages (10⁶ cellules/ml) ont été pré-incubés pendant 18h avant stimulation par LPS (1 µg/ml) en présence de D-Limonène (0.01%, 0.02%, 0.04%), 2-amino-4-méthylpyridine (20 µM) et la dexaméthasone (20 µM) pendant 24h. Les niveaux protéiques d'iNOS et COX-2 ont été déterminés par Western blot. (**Figure 16**)

Une forte expression des protéines iNOS a été observée après stimulation par LPS, mais en présence du D-Limonène dans les cultures stimulées par le LPS on constate une inhibition dose dépendante de l'expression d'iNOS, qui corrèle avec les données de la (**Figure 14**) quant à l'inhibition du NO induit par l'iNOS. Pareil pour l'expression de COX-2, on remarque une inhibition dose dépendante par le D-Limonène, ce qui corrobore les résultats de la (**Figure 15**) qui se traduit par une diminution de la production de la PGE₂ (Yoon *et al.*, 2010).

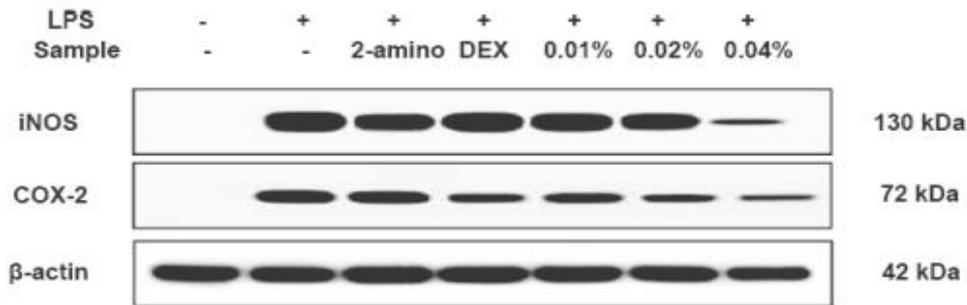


Figure 16 : Effet inhibiteur du D-Limonène sur l'expression d'iNOS et COX-2 (Yoon et al., 2010)

1.4. D-Limonene inhibe la production de cytokines par les macrophages :

Afin d'évaluer l'effet D-Limonene sur la production des cytokines pro-inflammatoires ($TNF\alpha$, $IL-1\beta$ et $IL-6$), les macrophages RAW 264.7 ont été stimulés par le LPS (1 $\mu\text{g/ml}$) pendant 24h en présence de doses croissantes de D-Limonene (0.01%, 0.02%, 0.04%), les surnageants ont été collectés et les concentrations de cytokines ont été mesurées par ELISA (**Figure 17**).

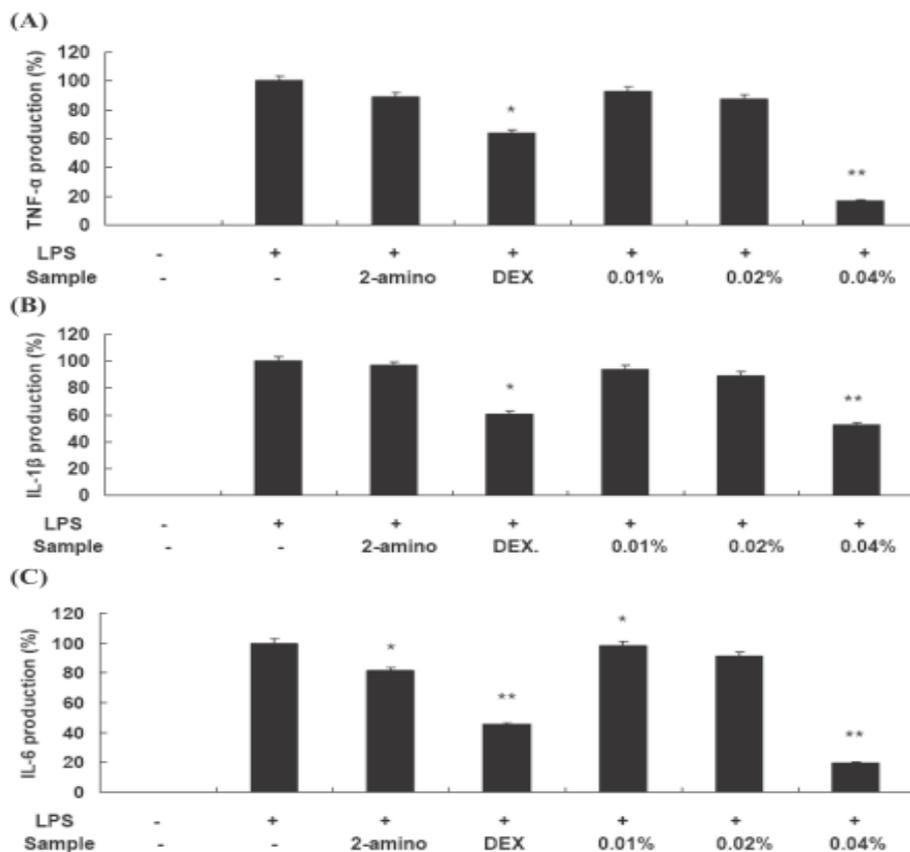


Figure 17 : Effet inhibiteur du D-Limonène sur la production des cytokines pro-inflammatoires $TNF\alpha$, $IL-1\beta$ et $IL-6$ par les RAW 264.7 macrophages. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ (Yoon et al., 2010).

Une fois le LPS administré une production des cytokines $TNF\alpha$, $IL-1\beta$ et $IL-6$ par les RAW 264.7 macrophages été constatée. L'effet de la dexaméthasone sur le milieu a réduit approximativement la production de ces cytokines de 40 à 50%. Un effet inhibiteur dose dépendant similaire est constaté par le D-Limonène avec une inhibition à dose maximale (0.04%) qui varie de 50% pour $IL-1\beta$, et presque de 80% pour le $TNF\alpha$ et $IL-6$ (Yoon *et al.*, 2010).

1.5. L'impact du PA sur la régulation transcriptionnelle des gènes codant pour le $TNF-\alpha$, $IL-1\beta$, $IL-6$, $IL-17$, $TGF-\beta$ et $MMP-9$

Des souris ont reçu par voie orale l'eau distillée ou des solutions aqueuses contenant 50, 100 ou 200 mg/kg de PA une fois par jour pendant 17 jours (appelés PA50, PA100 et PA200, respectivement). Dans le même temps, la colite a été induite par 2% (p/v) DSS des jours 8 à 17. Des souris saines qui ont reçu de l'eau distillée seulement (ni DSS ni PA), ont servi de témoins. Le 17^{ème} jour après le début des tests, les souris ont été euthanasiées et l'ARN total a été isolé à partir des côlons afin d'effectuer une RT-qPCR (Reverse Transcriptase-PCR Quantitative) (Uemura *et al.*, 2018) (Figure 18).

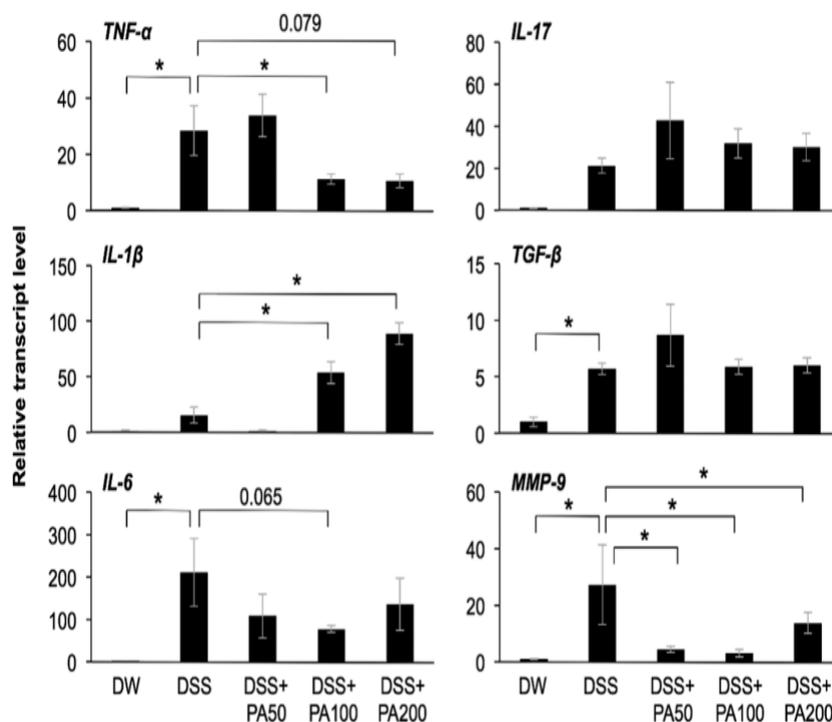


Figure 18 : L'impact du PA sur la régulation du niveau de transcription des gènes codant pour $TNF-\alpha$, $IL-1\beta$, $IL-6$, $IL-17$, $TGF-\beta$ et $MMP-9$ dans les côlons de souris atteintes de colite induite par le DSS. * $P < 0.05$ (Uemura *et al.*, 2018).

L'expérience a montré que le DSS a augmenté les niveaux d'expression des gènes pour les cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-6), MMP-9 et une cytokine anti-inflammatoire (TGF- β). Les niveaux d'expression du TNF- α , de l'IL-6 et de la MMP-9, induits par le DSS, ont diminué d'une façon plus importante, dans les colons PA100 par rapport à ceux observés chez les souris DSS. En revanche, l'IL-1 β et l'IL-17 étaient plus fortement exprimées dans les côlons des souris traitées avec le PA qu'avec le DSS (Uemura *et al.*, 2018).

1.6. Effet anti-inflammatoire du PA sur les macrophages

Pour examiner l'effet anti-inflammatoire de l'AP sur les macrophages, des cellules RAW264.7 ont été prétraitées avec du PA à différentes concentrations et exposées ensuite à un milieu avec ou sans LPS. (A) Les niveaux de transcription de TNF- α , IL-1 β et IL-6 ont été déterminés par la RT-qPCR ; (B) Les concentrations extracellulaires de protéines TNF- α ont été déterminées par ELISA ; et (C) Le NF- κ B phosphorylé (p-NF- κ B) et le JNK (p-JNK) ont été analysés par Western Blot. L'actine a servi de contrôle (Uemura *et al.*, 2018) (Figure 19)

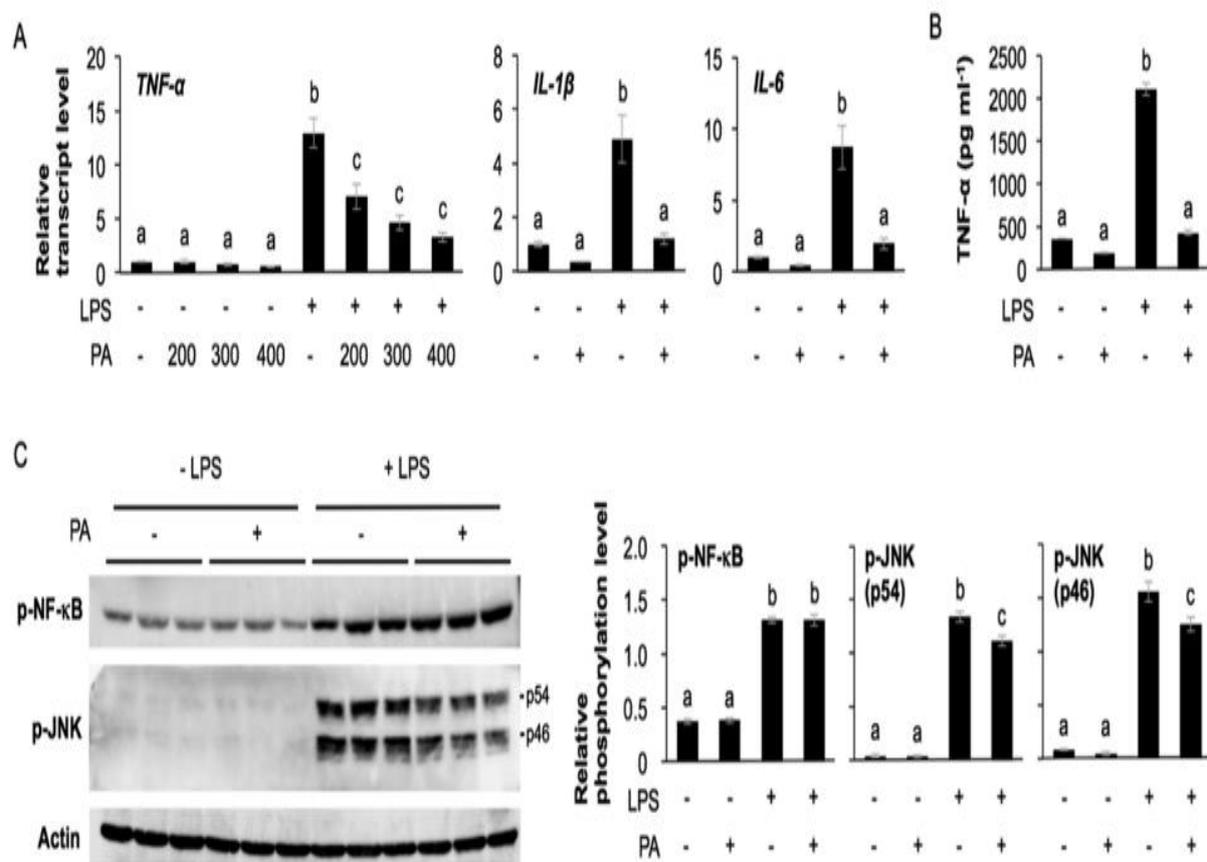


Figure 19 : L'AP module le taux de transcription des gènes codant pour les cytokines TNF- α , IL-1 β et IL-6 (A), les niveaux d'expression protéique du TNF- α (B) et la phosphorylation du NF- κ B et JNK (C) dans des macrophages RAW264.7 (Uemura *et al.*, 2018).

L'expérience a démontré une diminution du taux d'expression de l'ARNm du TNF- α dans les cellules prétraitées avec du PA sachant que l'application du PA seul n'induit aucune transcription des gènes de cytokines pro-inflammatoires évalués. La concentration inhibitrice maximale IC50 du PA a été estimée à 171.7 μ M approximativement, résultat en accordance avec l'augmentation du taux d'expression du TNF- α dans les cellules traitées par 300 μ M de PA. Une diminution significative du taux de transcription des gènes codant pour les cytokines : IL-1 β et IL-6 et ainsi du niveau de phosphorylation des gènes JNK (p54 et p46), ont été enregistrées contrairement au niveau de phosphorylation du NF- κ B qui n'a pas été affecté (Uemura *et al.*, 2018).

2. Discussion :

Dans cette étude nous avons exposé l'implication des deux composants essentiels de notre plante, en l'occurrence D-Limonène et le Perillaldehyde dans le processus anti-inflammatoire via une régulation des cytokines des macrophages.

Après exposition au LPS, les macrophages RAW 264.7 ont affiché une forte production de cytokines pro-inflammatoires et médiateurs inflammatoires. Le D-Limonène à des doses non toxiques (0.04%) a réduit drastiquement la production des cytokines : TNF α , IL-1 β et IL-6 et également les médiateurs NO et la PGE₂.

D'un côté, le D-Limonène a inhibé l'expression de l'iNOS et COX-2, sachant que l'iNOS et COX-2 interviennent dans la production du NO et les prostaglandines respectivement (médiateurs très important dans le processus inflammatoire) (Miguel, 2010). Ces résultats suggèrent que le D-Limonène exerce une régulation négative des médiateurs inflammatoires en agissant sur l'expression des iNOS et COX-2 dans les macrophages RAW 264.7 activés. Cependant, même si l'effet anti-inflammatoire du D-Limonène a été identifié, son mécanisme d'action sous-jacent devrait être évalué dans de prochaines études.

Sachant que, les voies de signalisations NF- κ B joue un rôle clé dans l'activation des macrophages ainsi que la régulation de l'expression des enzymes et cytokines pro-inflammatoires, ajoutant à cela l'ensemble des résultats cités ci-dessus, il est possible que l'effet inhibiteur du D-Limonène implique l'inhibition de la voie de signalisation NF- κ B sans écarter l'implication d'autres facteurs de transcription (Yoon *et al.*, 2010) (Figure 20)

D'un autre côté, le traitement par le PA a également provoqué une régulation négative de l'expression du TNF- α et de l'IL-6 induite par le LPS dans les cellules RAW264.7 (figures 5A et

5B). Souvent, l'activation transcriptionnelle de ces gènes est médiée à la fois par la signalisation NF- κ B et la signalisation MAPK (Li *et al.*, 2010).

Contrairement au D-Limonène, le prétraitement des cellules RAW264.7 avec le PA a entraîné de manière inattendue une diminution de la phosphorylation de JNK (p54 et p46) mais pas de NF- κ B p65 (Figure 19), ni des états de phosphorylation de ERK 1/2 et p38, deux autres membres de MAPK (données non présentées). Cela suggère que la suppression de la cascade de signalisation induite par le LPS dans les macrophages RAW264.7 pourrait être due à l'inhibition de l'activation de JNK par le PA, et par conséquent ; la régulation de l'expression des cytokines pro-inflammatoires dans ces cellules. L'ensemble de ces résultats réunis, pourrait refléter que le PA et le D-Limonène, pourraient avoir des effets anti-inflammatoires complémentaires et synergiques. Selon Halla *et al.*, 2018 la capacité de l'huile essentielle d'*A leucotricus* à inhiber la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires dans le macrophages RAW 264.7 peut être due à sa teneur élevée en PA et en D-Limonène

Selon (Miguel, 2010), l'activité anti-inflammatoire des huiles essentielles a été fortement corrélée avec la présence du PA et du Limonène. Cette importante activité anti-inflammatoire, pourrait être expliquée par l'effet complémentaire et synergique de ces deux composants majeurs : le PA d'un côté qui agit sur le taux de phosphorylation de JNK, et le Limonène d'un autre côté qui agit sur les cascades de signalisation MAPK et NF- κ B ; sans écarter la possibilité que cette activité pourrait être expliquée aussi par un effet synergique entre plusieurs composants de l'huile essentielle y compris le PA et le Limonène.

Etant donné que son rôle dans la MB reste toujours mal étudié, les chercheurs doivent faire des études approfondies et ciblées afin de déterminer son rôle ainsi que son effet sur la production des marqueurs inflammatoires, et pour avoir plus d'informations sur ces effets différentiels.

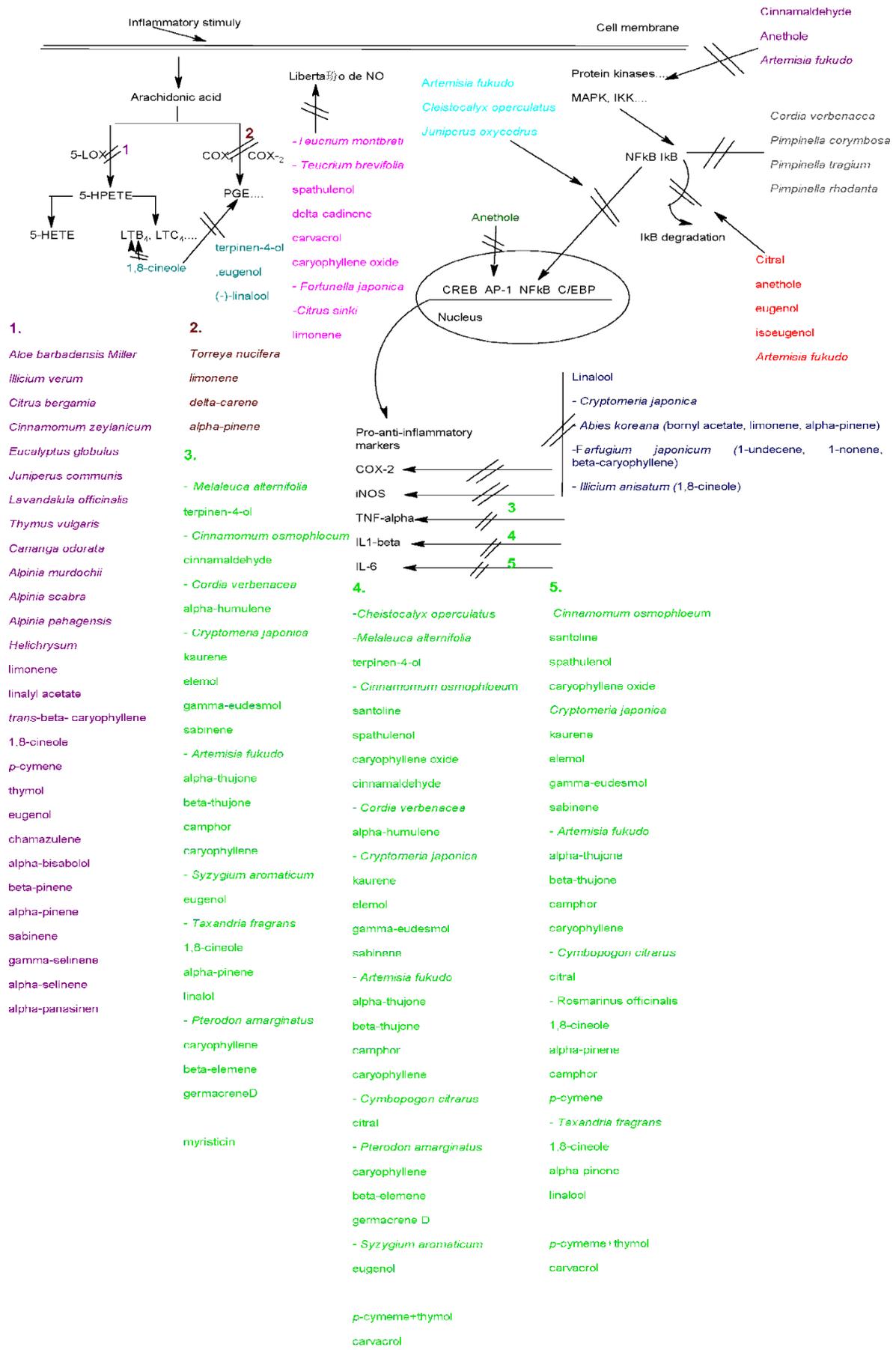


Figure 20: Effet des huiles essentielles et leurs principaux composants dans la modulation de la réponse anti-inflammatoire (Miguel, 2010)

Conclusion

Conclusion :

En conclusion, l'huile essentielle d'*A. leucotrichus* a été étudiée pour ses diverses activités biologiques entre autres, anti-inflammatoire. On suggère que cette activité est due aux effets des deux composants majeurs de l'huile essentielle (le PA et le Limonène) qui ont des mécanismes d'action différents mais qui pourraient être complémentaires.

De ce fait, cette activité anti-inflammatoire devrait montrer des résultats prometteux dans le traitement des maladies inflammatoires telles que la maladie de behçet, sachant que les huiles essentielles peuvent représenter une source non couteuse pour de nouveaux traitements. Cependant, des études devraient être effectuées afin de démontrer la pertinence de ces résultats et l'efficacité de cette HE dans le traitement de la maladie de behçet.

Références Bibliographiques

A

Ahmad, T., Wallace, GR., James, T., Neville, M., Bunce, M., Mulcahy-Hawes, K. et al. (2003). Mapping the HLA association in Behçet's disease: a role for tumor necrosis factor polymorphisms?. *Arthritis Rheum*, 48, 807–13.

Ahn, JK., Yu, HG., Chung, H., Park, YG. (2006). Intraocular cytokine environment in active Behçet uveitis. *Am J Ophthalmol*, 142, 429–34.

Akman-Demir, G., Tüzün, E., İçöz, S., Yeşilot, N., Yentür, SP., Kürtüncü, M., et al. (2008). Interleukin-6 in neuro-Behçet's disease: association with disease subsets and long-term outcome. *Cytokine*. 44:373–6.

Akman-Demir, G., Serdaroglu, P., Tasçi, B. (1999). Clinical patterns of neurological involvement in Behçet's disease: evaluation of 200 patients. *The Neuro-Behçet Study Group. Brain*, 122, 2171–82.

Bettiol, A., Prisco, D., Emmi, G. (2020). Behçet: the syndrome, *Rheumatology*, 59, 101–107.

Alpsoy, E., Donmez, L., Bacanlı, A., et al. (2003). Review of the chronology of clinical manifestations in 60 patients with Behçet's disease. *Dermatology*, 207, 354–6.

Amoura, Z., Guillaume, M., Caillat-Zucman, S., Wechsler, B., Piette, JC. (2005). Pathophysiology of Behçet's disease. *Rev Med Interne*, 27, 843–853.

Arai, Y., Kohno, S., Takahashi, Y., Miyajima, Y., Tsutusi, Y. (2006). Autopsy case of neuro-Behçet's disease with multifocal neutrophilic perivascular inflammation. *Neuropathology*, 26(6), 579–585.

Aridogan, BC., Yildirim, M., Baysal, V., Inaloz, HS., Baz, K., Kaya, S. (2003). Serum levels of IL-4, IL-10, IL-12, IL-13 and IFN-gamma in Behçet's disease. *J Dermatol*, 30, 602–7.

B

Barnes, CG., Yazici, H. (1999). Behçet's syndrome. *Rheumatology*, 38, 1171–4.

Bauer, S., Groh, V., Wu, J., Steinle, A., Phillips, JH., Lanier, LL. et al. (1999). Activation of NK cells and T cells by NKG2D, a receptor for stress-inducible MICA. *Science*, 285, 727–9.

Bayraktar, Y., Ozaslan, E., Van Thiel D.H. (2000). Gastrointestinal manifestations of Behçet's disease. *J Clin Gastroenterol*, 30(2), 144–154

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

Becatti M, Emmi G, Silvestri E, Bruschi G, Ciucciarelli L, Squatrito D, et al. (2016). Neutrophil activation promotes fibrinogen oxidation and thrombus formation in Behçet disease. *Circulation*, 133:302–11.

Belguendouz, H., Messaoudène, D., Lahmar, K., Ahmedi, L., Medjeber, O., Hartani, D., Lahlou-Boukoffa, O., Touil-boukoffa, C. (2011). Interferon- γ and Nitric Oxide Production During Behçet Uveitis: Immunomodulatory Effect of Interleukin-10. *Journal of Interferon & Cytokine Research*, 31(9), 643–651.

Ben Ahmed, M., Houman, H., Miled, M., Dellagi, K., Louzir, H. (2004). Involvement of chemokines and Th1 cytokines in the pathogenesis of mucocutaneous lesions of Behçet's disease. *Arthritis Rheum*, 50, 2291–5.

Benamour, S., Zeroual, B., Alaoui, F. (1998). Joint manifestations in Behçet's disease. A review of 340 cases. *Revue du rhumatisme (English ed.)*, 65, 299-307.

Bennouna-Biaz, F., Ait Ourhrouil, M., Senouci, K., Hassam, B., Heid, E., Lazrek, B. (1995). Maladie de Behçet. Profil épidémiologique. *Maghreb médical*, 290, 30-32.

C

Calikoglu, E., Onder, M., Cosar, B., et al. (2001). Depression, anxiety levels and general psychological profile in Behçet's Disease. *Dermatology*, 203, 238-240.

Chambers, JC., Haskard, DO., Kooner, JS. (2001). Vascular endothelial function and oxidative stress mechanisms in patients with Behçet's syndrome. *J Am Coll Cardiol*, 37, 517-20.

Chang, HK., Jang, WC., Park, SB., Han, SM., Nam, YH., Lee, SS. et al. (2005). Association between interleukin 6 gene polymorphisms and Behçet's disease in Korean people. *Ann Rheum Dis*, 64, 339-40.

Chekaoui, A. (2019). Etude des mécanismes de régulation des réponses auto-inflammatoires impliquées au cours de la maladie de Behçet : impact pronostique et thérapeutique.

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

Coskun, M., Bacanli, A., Sallakci, N., Alpsoy, E., Yavuzer, U., Yegin, O. (2005). Specific interleukin-1 gene polymorphisms in Turkish patients with Behçet's disease. *Exp Dermatol*, 14, 124-9.

D

Dahmane, D., Dob, T., Krimat, S., Nouasri, A, Metidji, H. & Ksouri, A. (2017). Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils of medicinal plant *Ammodaucus leucotrichus* from Algeria, *Journal of Essential Oil Research*, 29:1, 48-55.

Dalvi SR, Yildirim R, Yazici Y. (2012). Behçet's Syndrome. *Drugs*. 72 :2223-2241.

Davatchi F, Sadeghi Abdollahi, B, Chams-Davatchi C, et al. (2015). The saga of diagnostic/classification criteria in Behçet's disease. *Int J Rheum Dis*. Jul ;18(6):594 -605.

Davatchi, F., Shams, H., Rezaipoor, M., Sadeghi-Abdollahi, B., Shahram, F., Nadji, A., et al. Rituximab in intractable ocular lesions of Behçet's disease; randomized single-blind control study (pilot study). *Int J Rheum Dis* 2010;13(3):246-52.

De Chambrun, MP., Wechsler, B., Geri, G., Cacoub, P., Saadoun, D. (2012). New insights into the pathogenesis of Behçet's disease. *Autoimmun Rev*, 11, 687-98.

De Smet, MD., Dayan, M. (2000). Prospective determination of T-cell responses to S-antigen in Behçet's disease patients and controls. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 41, 3480-4.

Desbois, A., Rautou, P., Biard, L., Belmatoug, N., Wechsler, B., Resche-Rigon, M. et al. (2014). Behçet's disease in Budd-Chiari syndrome. *Orphanet J Rare Dis* 9(1), 104.

Deuter, CME., Zierhut, M., Möhle, A., Vonthein, R., Stöbiger, N., Kötter, I. (2010). Long-term remission after cessation of interferon-treatment in patients with severe uveitis due to Behçet's disease. *Arthritis Rheum*, 62(9), 2796-805.

Devey, D. (2017). La maladie de Behçet : connaissances actuelles et prise en charge au cabinet dentaire. *Chirurgie*. dumas-01558131.

Direskeneli, H., Saruhan-Direskeneli, G. (2003). The role of heat shock proteins in Behçet's disease. *Clin Exp Rheumatol*, 21, S44-8.

Direskeneli, H. (2001). Behçet's disease: infectious aetiology, new autoantigens, and HLA-B51. *Annals of the rheumatic diseases*, 60, 996-1002.

Duhen, T., Geiger, R., Jarrossay, D., Lanzavecchia, A., Sallusto, F. (2009). Production of interleukin 22 but not interleukin 17 by a subset of human skin-homing memory T cells. *Nat Immunol*, 10, 857.

E

Eksioglu-Demiralp, E., Kibaroglu, A., Direskeneli, H., Yavuz, S., Karsli, F., Yurdakul, S., et al. (1999). Phenotypic characteristics of B cells in Behçet's disease: increased activity in B cell subsets. *J Rheumatol*, 26, 826-32.

El-Asrar, AMA., Struyf, S., Kangave, D., Al-Obeidan, SS., Opendakker, G., Geboes, K. et al. (2011). Cytokine profiles in aqueous humor of patients with different clinical entities of endogenous uveitis. *Clin Immunol*, 139, 177-84.

El-Haci, IA., Bekhechi, C., Atik-Bekkara, F., Mazari, W., Gherib, M., Bighelli, A., Casanova, J., Tomi, F. (2014). Antimicrobial activity of *Ammodaucus leucotrichus* fruit oil from Algerian Sahara. *Nat Prod Commun*, 9(5), 711-2.

El-Ouady, F., Eddouks, M. (2019). Glucose lowering activity of aqueous *Ammodaucus leucotrichus* extract in diabetic rats. *Cardiovasc Haematol Disord Drug Targets*, 19, 1-8.

El-Youbi, A. E. H., Ouahidi, I., El Mansouri, L., Daoudi, A., & Bousta, D. (2016). Ethnopharmacological Survey of Plants Used for Immunological Diseases in Four Regions of Morocco. *European Journal of Medicinal Plants*, 13(1), 1-24.

Emmi, G., Talarico, R., Lopalco, G., Cimaz, R., Cantini, F., Viapiana, O., Olivieri, I., Goldoni, M., Vitale, A., Silvestri, E. (2016). Efficacy and safety profile of antiinterleukin-1 treatment in Behçet's disease: a multicenter retrospective study. *Clinical rheumatology*, 35, 1281-1286.

Ergun, T., Ince, U., Eksioglu-Demiralp, E., Direskeneli, H., Gurbuz, O., Gürses, L., et al. (2001). HSP 60 expression in mucocutaneous lesions of Behçet's disease. *J Am AcadDermatol*, 45, 904-9.

Erkilic, K., Evereklioglu, C., Cekmen, M., Ozkiris, A., Duygulu, F., Dogan, H. (2003). 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 Inflamm*, 12, 107-16.

Evereklioglu, C. (2005). Current concepts in the etiology and treatment of Behçet disease. *Surv Ophthalmol*, 50(4), 297-350.

F

Fabiani, C., Vitale, A., Emmi, G., Lopalco, G., Vannozzi, L., Guerriero, S., Gentileschi, S., Bacherini, D., Franceschini, R., Frediani, B. (2017). Interleukin (IL)-1 inhibition with anakinra and canakinumab in Behçet's disease-related uveitis: a multicenter retrospective observational study. *Clinical rheumatology*, 36, 191-197.

G

Gabay, C. (2008). Syndrome de Behçet. *Rev Med Suisse*, 4, 728-33.

Geri, G., Terrier, B., Rosenzweig, M., Wechsler, B., Touzot, M., Seilhean, D. et al. (2011). Critical role of IL-21 in modulating TH17 and regulatory T cells in Behçet disease. *J Allergy Clin Immunol*, 128, 655-64.

Geri, G., Wechsler, B., Thi Huong D. L. et al. (2012). Spectrum of cardiac lesions in Behçet disease: a series of 52 patients and review of the literature. *Medicine* (Baltimore), 91(1), 25–34

Ghembaza, M., Bouabdallah, N., Lounici, A. (2017). Behçet disease in Western Algeria. *Medecine et sante tropicales*, 27, 101-104.

GHERRAF, N., ZELLAGUI, A., KABOUCHE, A., LAHOUEL, M., SALHI, R., RHOUATI, S. (2017). Chemical constituents and antimicrobial activity of essential oils of *Ammodaucus leucotricus*. *Arab J Chem*, 10, S2476–8.

Groh, V., Bahram, S., Bauer, S., Herman, A., Beauchamp, M., Spies, T. (1996). Cell stress-regulated human major histocompatibility complex class I gene expressed in gastrointestinal epithelium. *Proc Natl Acad Sci USA*, 93, 12445–50.

Gul, A., Hajeer, AH., Worthington, J., Ollier, WE., Silman, AJ. (2001). Linkage mapping of a novel susceptibility locus for Behçet's disease to chromosome 6p22-23. *Arthritis Rheum*, 44, 2693-6.

Gül, A. (2015). Pathogenesis of Behçet's disease: autoinflammatory features and beyond. *Seminars in immunopathology*. Springer, 413-418.

H

Halla, N., S A. Heleno, A. S., Costa, P., Fernandes, P. I., Calhelha, C. R., Boucherit, K., Rodrigues, E. A., Ferreira, C.F.R. I., Barreiro, M. F. (2018). Chemical profile and bioactive properties of the essential oil isolated from *Ammodaucus leucotrichus* fruits growing in Sahara and its evaluation as a cosmeceutical ingredient. *Industrial Crops and Products*, 119, 249-254.

Hamzaoui, K., Bouali, E., Ghorbel, I., Khanfir, M., Houman, H., Hamzaoui, A. (2011). Expression of Th-17 and ROR γ t mRNA in Behçet's Disease. *Med Sci Monit*, 17, 227–34.

Hamzaoui, K., Hamza, M., Ayed, K. (1990). Production of TNF-alpha and IL-1 in active Behçet's disease. *J Rheumatol*, 17, 1428–9.

Hamzaoui, K., Hamzaoui, A., Guemira, F., Bessioud, M., Hamza, M., Ayed, K. (2002). Cytokine profile in Behçet's disease patients. Relationship with disease activity. *Scand J Rheumatol*, 31, 205–1.

Hasan MS, Ryan PL, Bergmeier LA. (2017). Circulating NK cells and their subsets in Behçet's disease. *Clin Exp Immunol*, 188, 311–22.

Hatemi, G., Seyahi, E., Fresko, I., Talarico, R., Hamuryudan, V. (2015). Behçet's syndrome: a critical digest of the 2014–2015 literature. *Clin Exp Rheumatol*, 33, S3–14.

Hirohata, S., Oka, H., Mizushima, Y. (1992). Streptococcal-related antigens stimulate production of IL6 and interferon-gamma by T cells from patients with Behçet's disease. *Cell Immunol*, 140, 410–9.

Houman, H., Hamzaoui, A., Ben Ghorbal, I., Khanfir, M., Feki, M., Hamzaoui, K. (2004). Abnormal expression of chemokine receptors in Behçet's disease: relationship to intracellular Th1/Th2 cytokines and to clinical manifestations. *J Autoimmun*, 23, 267–73.

Houman, M.H., Bel Feki, N. (2014). Pathophysiology of Behçet's disease. *La Revue de médecine interne*, 35, 90–96.

Hughes, EH., Collins, RW., Kondeatis, E., Wallace, GR., Graham, EM., Vaughan, RW., et al. (2005). Associations of major histocompatibility complex class I chain-related molecule polymorphisms with Behçet's disease in Caucasian patients. *Tissue Antigens*, 66, 195–9.

Hughes, T., Coit, P., Adler, A., Yilmaz, V., Aksu, K., Düzgün, N., et al. (2013). Identification of multiple independent susceptibility loci in the HLA region in Behçet's disease. *Nat Genet*, 45, 319–24.

I

IDM'HAND, E., MSANDA, F. & CHERIFI, K. (2020). Medicinal uses, phytochemistry and pharmacology of *Ammodaucus leucotrichus*. *Clin Phytosci*, 6, 6.

Imamura, Y., Kurokawa, MS., Yoshikawa, H., Nara, K., Takada, E., Masuda, C., et al. (2005). Involvement of Th1 cells and heat-shock protein 60 in the pathogenesis of intestinal Behçet's disease. *Clin Exp Immunol*, 139, 371–8.

KONE-PAUT, I., BARETE, S., BODAGHI, B., DEIVA, K., DESBOIS, A-C., GALEOTTI, C., GAUDRIC, J., KAPLANSKI, G., MAHR, A., NOEL, N., PIRAM, M., TRAN, T.A., WECHSLER, B., SAADOUN, D. (2019). Protocole national de diagnostic et de soins sur la maladie de Behçet.

Iwakura, Y. & Ishigame, H. (2006). The IL-23/IL-17 axis in inflammation. *J. Clin. Invest*, 116, 1218–1222.

J

Jacques Robert. (2010). signalisation cellulaire et cancer. *Springer-Verlag*

Jamilloux, Y. et al. (2016). Interleukine-1, inflammasome et maladies auto-inflammatoires. *Rev Med Interne*.

JIN, P., WU, X., XU, F., WANG, X., WANG, J. AND ZHENG, Y. (2012). Enhancing antioxidant capacity and reducing decay of Chinese bayberries by essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 60: 3769-3775.

K

Kabbaj, F., Meddah, B., Cherrah, Y., Faouzi, E. (2012). Ethnopharmacological profile of traditional plants used in Morocco by cancer patients as herbal therapeutics. *Phytopharmacology*, 2(2), 243-256.

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

Kara, B., Somer, A., Pişkin, S., Aydınli, N., Salman, N., Yalçın, I. (2006). Neuro-Behçet syndrome presenting as acute meningeal syndrome. *J Infect*, 52, e120–e123.

Karasneh, J, Hajeer, AH, Barrett J, Ollier WE, Thornhill M, Gul A. (2003). Association of specific interleukin 1 gene cluster polymorphisms with increased susceptibility for Behçet's disease. *Rheumatology (Oxford)*, 42, 860–4.

Kobayashi, M., Ito, M., Nakagawa, A., Matsushita, M., Nishikimi, N., Sakurai, T. et al. (2001). Neutrophil and endothelial cell activation in the vasa vasorum in vasculo-Behçet disease. *Histopathology*, 36, 362–71.

Kucuksezer, UC., Aktas-Cetin, E., Bilgic-Gazioglu, S., Tugal-Tutkun, I., Gul, A., Deniz, G. (2015). Natural killer cells dominate a Th-1 polarised response in Behçet's disease patients with uveitis. *Clin Exp Rheumatol*, 33, S24–9.

Kural-Seyahi, E., Fresko, I., Seyahi, N., Ozyazgan, Y., Mat, C., Hamuryudan, V. et al. (2003). The long-term mortality and morbidity of Behçet syndrome: a 2-decade outcome survey of 387 patients followed at a dedicated center. *Medicine*, 82(1), 60–76.

L

Lee, KH., Chung, HS., Kim, HS., Oh, SH., Ha, MK., Baik, JH., et al. (2003). Human alpha-enolase from endothelial cells as a target antigen of anti-endothelial cell antibody in Behçet's disease. *Arthritis Rheum*, 48, 2025 – 35.

Lee, S., Bang, D., Cho, YH., Lee, ES., Sohn, S. (1996). Polymerase chain reaction reveals herpes simplex virus DNA in saliva of patients with Behçet's disease. *Arch Dermatol Res*, 288, 179 – 83.

Li, Z., Li, D., Tsun, A., Li, B. (2015). FOXP3 + regulatory T cells and their functional regulation. *Cell Mol Immunol*, 12, 558–65.

Li, X.; Jiang, S.; Tapping, R. I. (2010). Toll-like receptor signaling in cell proliferation and survival Cytokine, 49, 1 – 9.

Louail, Z., Kameli, A., Benabdelkader, T., Bouti, K., Hamza, K., & Krimat, S. (2016). Antimicrobial and antioxidant activity of essential oil of *Ammodaucus leucotrichus* Coss. & Dur. seeds. *Journal of Materials and Environmental Science*, 7(7), 2328–2334.

M

Mahesh, SP., Li, Z., Buggage, R., Mor, F., Cohen, IR., Chew, EY., et al. Alphatropomyosin as a self-antigen in patients with Behçet's disease. *Clin Exp Immunol*, 140, 368 – 75.

Manssouri, M., Znini, M., El Harrak, A., Majidi, L. (2016). Antifungal activity of essential oil from the fruits of *Ammodaucus leucotrichus* Coss. & Dur., in liquid and vapour phase against postharvest phytopathogenic fungi in apples. *J Essent Oil Bear Pl*, 6(05), 131–6.

Masatlioglu, S., Seyahi, E., Tahir-Turanli, E., et al. (2010). A twin study in Behçet's syndrome. *Clin Exp Rheumatol*, 28(Suppl. 60), S62–6.

Mat, C., Yurdakul, S., Sevim, A., Özyazgan, Y., Tüzün, Y. (2013). Behçet's syndrome: facts and controversies. *Clin Dermatol*, 31(4), 352-361.

Mat CM Goksugur, N., Engin, B., Yurdakul, S., Yazici, H. (2006). The frequency of scarring after genital ulcers in Behçet's syndrome: a prospective study. *Inter J Dermatol*, 45, 554–556.

Mendes, D., Correia, M., Barbedo, M., Vaio, T., Mota, M., Goncalves, O., Valente, J. (2009). Behçet's disease a contemporary review. *J Autoimmun*, 32(3–4), 178–188.

Miguel, M.G. (2010). Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: a short review. *Molecules*, 15 (12), 9252–9287.

Misumi, M., Hagiwara, E., Takeno, M., Takeda, Y., Inoue, Y., Tsuji, T., et al. (2003). Cytokine production profile in patients with Behçet's disease treated with infliximab. *Cytokine*, 24, 210–8.

Mizuki, N., Meguro, A., Ota, M., Ohno, S., Shiota, T., Kawagoe, T., et al. (2010). Genome wide association studies identify IL23R-IL12RB2 and IL10 as Behçet's disease susceptibility loci. *Nat Genet*, 42, 703–6.

Mizuki, N., Ota, M., Kimura, M., Ohno, S., Ando, H., Katsuyama, Y., et al. (1997). Triplet repeat polymorphism in the transmembrane region of the MICA gene: a strong association of six GCT repetitions with Behçet disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 94, 1298 – 303.

Mochizuki, M., Suzuki, N., Takeno, M., Nagafuchi, H., Harada, T., Kaneoka, H., et al. (1994). Fine antigen specificity of human $\gamma\delta$ T cell lines (V gamma 9+) established by repetitive stimulation with a serotype (KTH-1) of a Gram-positive bacterium, *Streptococcus sanguis*. *Eur J Immunol*, 2, 1536–43.

Mohammedi, H., Idjeri-Mecherara, S., Menaceur, F., Azine, K & Hassani, A. (2018). Chemical Compositions of Extracted Volatile Oils of *Ammodaucus leucotrichus* L. Fruit from Different Geographical

Regions of Algeria With Evaluation of its Toxicity, Anti-inflammatory and Antimicrobial Activities. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 21:6, 1568-1584

Mouderas, F., Lahfa, F.B., Mezouar, D. et al. (2020). Valorization and identification of bioactive compounds of a spice *Ammodaucus leucotrichus*. *ADV TRADIT MED (ADTM)* 20, 159–168.

Muckensturm, B., Diyani, F., Le Nouen, D., Fkih-Tetouani, S. and J.P. (1997). Reduron, Ammolactone, a guaianolidee from a medicinal plant. *Ammodaucus leucotrichus*. *Phytochemistry*, 44, 907–910.

Mumcu, G., Inanc, N., Yavuz, S., Direskeneli, H. (2007). The role of infectious agents in the pathogenesis, clinical manifestations and treatment strategies in Behçet's disease. *Clin Exp Rheumatol*, 25, 27–33.

N

Nian, H., Shao, H., O'Brien, RL., Born, WK., Kaplan, HJ., Sun, D. (2011). Activated $\gamma\delta$ T cells promote the activation of uveitogenic T cells and exacerbate EAU development. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 52, 5920–7.

O

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

Otmani, F. (2009). Maladie de Behçet: les nouvelles thérapeutiques. *La Revue de médecine interne*, S243-S252.

P

Pay, S., Erdem, H., Pekel, A., Simsek, I., Musabak, U., Sengul, A., et al. (2006). Synovial proinflammatory cytokines and their correlation with matrix metalloproteinase-3 expression in Behçet's disease. Does interleukin-1beta play a major role in Behçet's synovitis?. *Rheumatol Int*, 27, 608–13.

Pay, S., Simsek, I., Erdem, H., et al. (2007). Immunopathogenesis of Behçet's disease with special emphasize to the possible role of antigen presenting cells. *Rheumatol Int*, 27, 417-424.

Pervin, K., Childerstone, A., Shinnick, T., Mizushima, Y., van der Zee, R., Hasan, A., et al. (1993). T cell epitope expression of mycobacterial and homologous human 65-kilodalton heat shock protein peptides in short-term cell lines from patients with Behçet's disease. *J Immunol*, 151, 2273–82.

Pineton de Chambrun, M., Wechsler, B., Geri, G., Cacoub, P., Saadoun, D. (2012). New insights into the pathogenesis of Behçet's disease. *Autoimmun Rev*, 11, 687–98.

Q

QUEZEL, P., SANTA, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II, CNRS, Paris, 659.

R

Remmers, EF., Cosan, F., Kirino, Y., Ombrello, MJ., Abaci, N., Satorius, C., et al. (2010). Genome wide association study identifies variants in the MHC class I, IL10 and IL-23R- IL12RB2 regions associated with Behçet's disease. *Nat Genet*, 42, 698–702.

RÍOS, JOSE-LUIS. (2016). Chapter 1 - Essential Oils: What They Are and How the Terms Are Used and Defined. *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety, Academic Press*, 3-10.

S

- Saadoun D., Cassoux, N., Wechsler, B., Boutin, D., Terrada, C., Lehoang, P., Bodaghi, B., Cacoub, P. (2010). Manifestations oculaires de la maladie de Behçet. *La Revue de médecine interne*, 31, 545–550.
- Sadaoui, N., Bec, N., Barragan-Montero, V., Kadri N, Cuisinier, F., Larroque, C., Arab, K., Khettal, B. (2018). The essential oil of Algerian *Ammodaucus leucotrichus* Coss. & Dur and its effect on the cholinesterase and monoamine oxidase activities. *Fitoterapia*, 130:1 – 5.
- Sakane, T., Takeno, M., Suzuki, N., Inaba, G. (1999). Behçet's disease. *N Engl J Med*, 341, 1284-91.
- Sarica-Kucukoglu, R., Akdag-Kose, A., Kayabali, M. et al. (2006). Vascular involvement in Behçet's disease: a retrospective analysis of 2319 cases. *International Journal of Dermatology*, 45, 919–921.
- Sebaa, A., Marouf, A., Kambouche, N., Derdour, A. (2018). Phytochemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of *Ammodaucus leucotrichus* fruit from Algerian Sahara. *Orient J Chem*, 34(1), 519.
- Sonmez, C., Yucel, AA., Yesil, TH., Kucuk, H., Sezgin, B., Mercan, R., et al. (2018). Correlation between IL-17A/F, IL-23, IL-35 and IL-12/-23 (p40) levels in peripheral blood lymphocyte cultures and disease activity in Behçet's patients. *Clin Rheumatol*, 10, 2797–804.
- Sugita S, Kawazoe Y, Imai A, Kawaguchi T, Horie S, Keino H, et al. (2013). Role of IL-22- and TNF-alpha producing Th22 cells in uveitis patients with Behçet's Disease. *J Immunol*, 190, 5799–808.
- Sun, A., Chang, JG., Chu, CT., Liu, BY., Yuan, JH., Chiang, CP. (1998). Preliminary evidence for an association of Epstein-Barr virus with pre-ulcerative oral lesions in patients with recurrent aphthous ulcers or Behçet's disease. *J Oral Pathol Med*, 27, 168 – 75.
- Sun, A., Chang, JG., Kao, CL., Liu, BY., Wang, JT., Chu, CT., et al. (1996). Human cytomegalovirus as a potential etiologic agent in recurrent aphthous ulcers and Behçet's disease. *J Oral PatholMed*, 25, 212 – 8.
- SUN, L.F., TANG, M.Y. AND WANG, H.W. (1998). Synthesis of a kind of superior sweetness perillartine. *Fine Chemicals*. 15: 30-32.

T

- Takeno M, Kariyone A, Yamashita N, Takiguchi M, Mizushima Y, Kaneoka H, et al. (1995). Excessive function of peripheral blood neutrophils from patients with Behçet's disease and from HLA-B51 transgenic mice. *Arthritis Rheum*, 38, 426–33.
- Uemura, T., Yashiro, T., Oda, R., Shioya, N., Nakajima, T., Hachisu, M., Kobayashi, S., Nishiyama, C. and Arimura, G. (2018). Intestinal Anti-Inflammatory Activity of Perillaldehyde. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66 (13), 3443-3448.
- Taşçi, B., Direskeneli, H., Serdaroglu, P., Akman-Demir, G., Eraksoy, M., Saruhan-Direskeneli, G. (1998). Humoral immune response to mycobacterial heat shock protein protein (HSP)65 in the cerebrospinal fluid of neuro-Behçet patients. *Clin Exp Immunol*, 113, 100–4.
- Thornberry, NA., Bull, HG., Calaycay, JR., Chapman, KT., Howard, AD., Kostura, MJ., et al. (1992). A novel heterodimeric cysteine protease is required for interleukin-1 betaprocessing in monocytes. *Nature*, 356, 768–74.
- Tian, Z., Gershwin, ME., Zhang, C. (2012). Regulatory NK cells in autoimmune disease. *J Autoimmun*, 39, 206–15.

Tojo, M., Zheng, X., Yanagihori, H., Oyama, N., Takahashi, K., Nakamura, K., et al. (2003). Detection of herpes virus genomes in skin lesions from patients with Behçet's disease and other related inflammatory diseases. *Acta Derm Venereol*, 83, 124 – 7.

Tong, B., Liu, X., Xiao, J., & Su, G. (2019). Immunopathogenesis of Behçet's Disease. *Frontiers in Immunology*, 10, 665.

Touil-Boukoffa, C. ; Messaoudène, D.; Belguendouz, H. ; Mézioug, D. ; Amri, M. ; Raza, H.; (2015). Cytokines : Immunité et immunopathologie. *Alger : Office des publications universitaires*, p88.

Trinchieri G. (2003). Interleukin-12 and the regulation of innate resistance and adaptive immunity. *Nat. Rev. Immunol.* 3, 133–146.

Tugal-Tutkun, I. (2009). Behçet's uveitis. *Middle East Afr J Ophthalmol*, 16, 219–224.

Tugal-Tutkun, I., Onal, S., Altan-Yaycioglu, R., Huseyin Altunbas, H., Urgancioglu, M. (2004). Uveitis in Behçet disease: an analysis of 880 patients. *Am J Ophthalmol*, 138, 373–80.

Turan, B., Gallati, H., Erdi, H., Gurler, A., Michel, BA., Villiger, PM. (1997). 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 Rheumatol*, 24, 128 – 32.

U

Uemura, T., Yashiro, T., Oda, R., Shioya, N., Nakajima, T., Hachisu, M., Kobayashi, S., Nishiyama, C. & Arimura G. (2018). Intestinal Anti-Inflammatory Activity of Perillaldehyde. *J. Agric. Food Chem*, 66, 3443–3448

V

VELASCO-NEGUERUELA, A., PEREZ-ALONSO, M.J., PEREZ DE PAZ, P.L., PALA-PAUL, J., SANZ, J. (2006). Analysis by gas chromatography–mass spectrometry of the volatiles from the fruits of *Ammodaucus leucotrichus* subsp. *leucotrichus* and subsp. *nanocarpus* grown in North Africa and the Canary Islands. *Journal of Chromatography A*, 1108(2), 273-275.

Verity, D., Wallace, G., Vaughan, R., Stanford, M., 2003. Behçet's disease: from Hippocrates to the third millennium. *British Journal of Ophthalmology*, 87, 1175-1183.

Vigers, G.P., Anderson, L.J., Caffes, P., Brandhuber, B.J. (1997). Crystal structure of the type-I interleukin-1 receptor complexed with interleukin-1 β . *Nature*, 386, 190.

W

Wang L., Yu CR., Kim HP., Liao W., Telford WG., Egwuagu CE., et al. (2011). Key role for IL-21 in experimental autoimmune uveitis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 108 (23), 9542-9547.

Y

Yamaguchi, Y., Takahashi, H., Satoh, T., Okazaki, Y., Mizuki, N., Takahashi, K., et al. (2010). Natural killer cells control a T-helper 1 response in patients with Behçet's disease. *Arthritis Res Ther*, 12:R80.

Yasuoka H., Okazaki Y., Kawakami Y., Hirakata M., Inoko H., Ikeda Y. et al. (2004). Autoreactive CD8+ cytotoxic T lymphocytes to major histocompatibility complex class I chain-related gene A in patients with Behçet's disease. *Arthritis Rheum*, 50, 3658–62.

Yazici, H., Seyahi, E., Hatemi, G., & Yazici, Y. (2018). Behçet syndrome: a contemporary view. *Nature Reviews Rheumatology*, 14(2), 107–119.

Yoon, WJ., Lee, NH., Hyun, CG. (2010). Limonene suppresses lipopolysaccharide-induced production of nitric oxide, prostaglandin E2, and pro-inflammatory cytokines in RAW 264.7 macrophages. *J Oleo Sci*, 59(8), 415-21.

Yurdakul, S., Yazici, Y. (2010). Locomotor system disease in Behçet's syndrome. In: Yazici Y, Yazici H, eds: Behçet's syndrome. New York: Springer, 149-63.

Yurdakul S. (2020) Epidemiology of Behçet Syndrome and Regional Differences in Disease Expression. In: Yazici Y., Hatemi G., Seyahi E., Yazici H. (eds) Behçet Syndrome. Springer, Cham, 21-35.

Z

Zhou ZY., Chen SL., Shen N, Lu Y. (2012). Cytokines and Behçet's disease. *Autoimmun Rev*, 11, 699–704.

Annexes



Figure 02 : Aphthes buccaux chez un malade atteint de Behçet (Bulur et Onder, 2017).

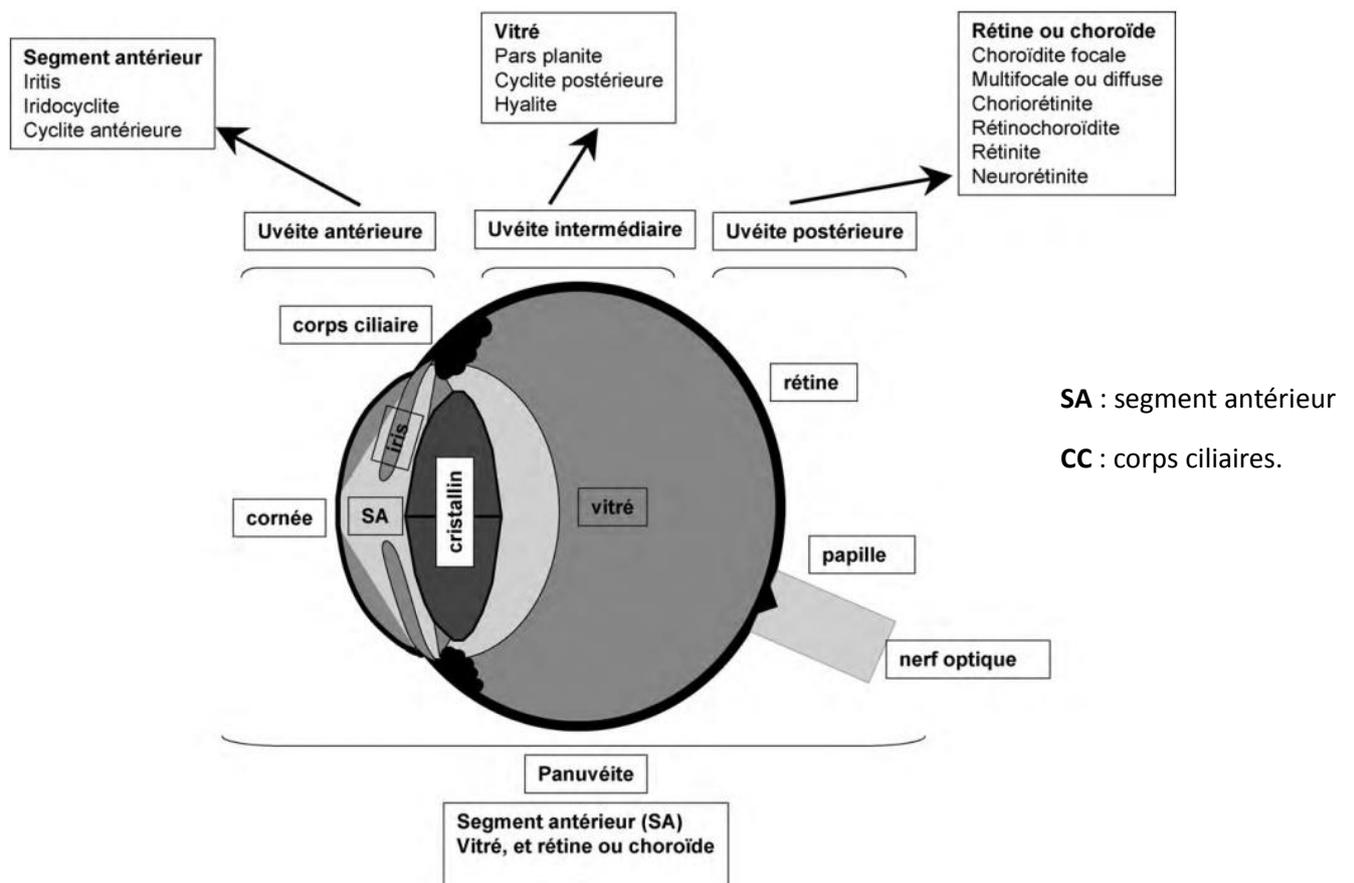


Figure 03 : Schéma récapitulatif des atteintes oculaires au cours de la maladie de Behçet. SA : segment antérieur ; CC : corps ciliaires (Saadoun *et al.*, 2010).

Résumé

ملخص

مرض "بهجت" هو التهاب أوعية متعدد الأنظمة يشترك في بعض الملامح مع الأمراض التي تعرف بالتهاب ذاتي واضطراب في المناعة الذاتية، حيث تكون أهم الأعراض متمثلة في تقرحات متكررة على مستوى الفم والأعضاء التناسلية والتهابات على مستوى العين. التفاقم الحاد للتهابات والتعبير المفرط لبعض السيتوكينات المهيجة للتهابات يدفعنا نحو العناية العلاجية المركزة التي تحاول إضعاف الاستجابة المناعية مع تقليل الآثار الجانبية التي يمكن أن تحدثها هذه العلاجات.

في هذه الدراسة، قمنا -لأول مرة- باقتراح استخدام مستخلص الزيت العطري أموداكوس لوكوتريكوس لخصائصه المضادة للتهابات في الاستراتيجية العلاجية لمرض "بهجت". في الواقع، هناك عدة دراسات منها دراسات أثبتت أن المركبين الأساسيين للنباتنا المختارة، ونقصد بهما كلا من د-ليمونان و بيريلالديهيد، يتمتعان ليس بخاصية مضادة للتهابات فقط، ولكن إضافة إلى ذلك، يملكان تأثيرا داعما يفسر من خلال تثبيط المكونات لمختلف مسارات التنبيه، وهو ما يؤدي إلى مضاعفة تأثير مضادات الالتهاب. لذلك يجب إجراء دراسات لإثبات نجاعة هذه النتائج وفعالية هذا الزيت العطري في علاج الأمراض الالتهابية وفي مرض "بهجت" على وجه الخصوص.

Abstract

Behçet's disease (BD) is a multisystemic vasculitis disease, which shares some features with diseases belonging to the autoinflammatory and autoimmune disorders panel and whose main manifestations are recurrent oral and genital ulcers and eye damage.

The exacerbation of the inflammatory response and the hyper expression of certain pro-inflammatory cytokines pushes us towards therapeutic management that tend to attenuate the immune response and reducing the side effects associated with these treatments.

In this study, the use of essential oil extracted from *Ammodaucus leucotrichus* was proposed for the first time for its anti-inflammatory properties in the therapeutic strategy of Behçet disease. Indeed, several studies have shown that the two major components of our plant, D-Limonene and Perillaldehyde not only have an anti-inflammatory effect each, but in addition suggest a synergistic effect which is explained by the inhibition of different signaling pathways by the two components, and consequently amplifying the anti-inflammatory effect.

Studies should be carried out to demonstrate the relevance of these results and the effectiveness of this essential oil in the treatment of inflammatory diseases and in Behçet's disease in particular