RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة امحمد بوقرة - بومرداس -
UNIVERSITE M'HAMED BOUGARA - BOUMERDES -

Faculté des sciences

Département : Biologie

Projet de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de MASTER 2

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie et Pathologies Moléculaires

Thème :

Etude *in-vitro* de l'effet de gêne induit par le virus de l'Epstein Barr (EBI-3) sur les PBMC des patients atteints de la maladie de Behçet : Association avec les manifestations vasculaires

Présenté par :

AIT-IKHLEF Mohamed Anis, BELAIBOUD Amine Ryadh et SABOUR Abdelbasset

Soutenu le 20/07/2023 devant le jury composé de :

Mme. YSMAIL-DAHLOUK. L	MCB -UMBB	Présidente
Mr. BENMOULOUD. A	MCA -UMBB	Examinateur
Mme. GHOZALI. N	MAB -UMBB	Promotrice
Mr. MESSAOUDENE. D	MCB -UMBB	Co-promoteur

Année universitaire : 2022/2023

Remerciement

﴿وَأَن لَّيْسَ لِلإِنسَانِ إِلاَّ مَا سَعَى﴾

On remercie avant tout notre dieu miséricordieux qui nous a donné le courage et la force dont nous avions besoin pour réaliser ce modeste travail.

Nous avons l'honneur et le plaisir de présenter notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à notre promotrice **Dr. Nour El Houda Ghozali** *« MAB/UMBB » pour sa patience, sa compréhension, sa disponibilité, ces conseils, ces orientations et tous le temps qu'elle nous a consacré pour notre encadrement. Ces efforts ont était très précieux durant toutes la période de notre stage. Également, notre co-promoteur* **Dr. Djamel Messaoudene** *« MCB/UMBB » pour son soutien, encouragement et sa disponibilité durant la période du stage. Ainsi on remercie tous le personnel du laboratoire pédagogique (2.40) pour leur coopération et encouragement. Finalement, On exprime nos vifs et sincères remerciements à toute personne ayant participée de près ou de loin au bon déroulement de ce stage et à la réalisation de ce modeste travail.*

Nous tenons à remercier **Dr. YSMAIL-DAHLOUK** *« MCB/UMBB » présidente du jury, ainsi que* **Dr. BENMOULOUD** *« MCA/UMBB » examinateur d'avoir accepté d'être membre du jury.*

Dédicaces

Je remercie tout d'abord Dieu tout puissant de m'avoir donné le courage, la force et la patience d'achever ce modeste travail.

À ma Mère, ***Moussouni.Z***

Tu m'as donné la vie, la tendresse et le courage pour réussir Je t'offre ce modeste travail pour te remercier pour tes sacrifices et l'affection dont tu m'as entourée

À mon Père, ***Ali***

L'épaule solide, l'œil attentif compréhensif et la personne la plus digne de mon respect Aucune dédicace ne saurait exprimer mes sentiments, que Dieu te préserve et te procure santé et longue vie

A mes sœurs, ***Niama, Hadjer, Aya et Youmna*** *à mon soutien moral, qui me poussent toujours à donner le meilleur de moi-même.*

A mon frère, ***Haroun*** *Qui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études. Que Dieux les protège et leurs offre la chance et le bonheur.*

A tous les membres de ma famille, petits et grands Veuillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affection.

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

" La réussite sourit à ceux qui font les choses avec passion, pas avec raison"

Abdelbasset

Dédicaces

C'est avec profonde gratitude et sincères mots, que je dédie ce modeste travail de fin d'étude à mes ***chers parents****, ma sœur et mes* ***grands-parents*** *pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études, que dieu leur prête bonheur et longue vie. A mes chers trinômes* ***Abdelbasset*** *et* ***Anis*** *avec qui j'ai partagé d'excellents moments pendant ces annéess d'études universitaires. A tous mes proches* ***Amine, Abdennour, Rachid, Amar, Mehdi, Amine et Akram****. A tous mes amis* ***Mohammed, Abdelghani et Rafik*** *qui m'ont soutenue tout au long de cette aventure avec leurs conseils et bonne humeur. A toutes autres personnes m'ayant soutenue et encouragé.*

Amine Ryadh

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Chapitre I : La maladie de Behçet

I.1. Généralité sur la maladie de Behçet 2
I.1.1. Historique et définition 2
I.1.2. Epidémiologie 2
I.1.3. Etiopathologie 3
I.1.3.1. Facteurs environnementaux et infectieux 3
I.1.3.2. Facteurs génétiques 4
I.1.4. Immunopathologie 5
I.1.4.1. Dysfonctionnement de l'immunité innée 5
I.1.4.2. Dysfonctionnement moléculaire 6
I.1.4.3. Dysfonctionnement de l'immunité adaptative 7
I.1.4.4. Rôle des cytokines 9
I.1.5. Manifestations cliniques 10
I.1.6. Diagnostic 12
I.1.7. Traitement 13
I.2. La maladie de Behçet vasculaire (Angio-behçet) 14
I.2.1. Généralité 14
I.2.2. Epidémiologie 14
I.2.3. Manifestations cliniques 15
I.2.4. Physiopathologie 16
I.2.5. Diagnostic 17
I.2.6. Traitement 17
I.3. Le gène 3 induit par le virus Epstein-Barr (EBI-3) 18
I.3.1. Le virus Epstein-Barr (EBV) 18
I.3.2. Origine de l'EBI-3 18
I.3.3. Rôle de l'EBI-3 18
I.3.4. EBI-3 dans la maladie de Behçet 18

Chapitre II : Matériel et Méthodes

II.1. Matériel et réactifs 20
II.1.1. Matériel non biologique 20
II.1.2. Matériel chimique 21
II.1.3. Matériel biologique 21
II.2. Méthodes 22
II.2.1. Culture des cellules mononucléaires du sang périphérique (PBMCs) 22
II.2.2. Dosage de l'oxyde nitrique 22
II.2.3. Etude statistique 23

Chapitre III : Résultats et Discussion

III.1. Résultats 25
III.1.1. Description de la population 25
III.1.2. Résultats de l'étude *in-vivo* 27
III.1.3. Résultats de l'étude *in-vitro* 29
III.2. Discussion 36

Conclusion et Perspectives

IV.1. Conclusion 38
IV.2. Perspectives 39

Références bibliographiques 40

Annexes

Résumé

Liste des abréviations

AC: Anticorps.

ACK: Ammonium-Chloride-Potassium.

ADA : Adénosine Deaminase.

Ag : Antigène.

AINS : Anti-inflammatoires Non Stéroïdiens.

AND : Acide DésoxyriboNucléique.

ANOVA : Analyse de la Variance.

ARNm : Acide ribonucléique message.

ATB : Antibiotique.

CCR : *Chemokine Receptor.*

CD : *Cluster of Differentiation.*

CHU : Centre Hospitalier Universitaire.

CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité.

CO_2 : Carbone Dioxide.

CPA : Cellule Présentatrice de l'Antigéne.

EBI-3 : *Epstein Barr Induced proteine-3* (géne 3 induit par le virus Epstein Barr).

EBV : *Epstein - Barr virus* (Virus Epstein-Barr).

EDTA : Ethyléne DiamineTétraAcétique.

Fb: Fibrinogen.

G-CSF : *Granulocyte Colony-Stimulating Factor* (Facteur de stimulation des colonies de granulocytes).

H_2O_2 : Hydrogen peroxide.

HCL : *ydrogen Chloride* (Chlorure d'hydrogène).

HLA : *Humain Leucocyte Antigen* (Antigènes de Leucocyte Humain).

HSD : Hyper Sensibilité Digestive.

HSP: *Heat Shock Proteins* (Protéine du choc thermique).

HSV *:* *Herpes Simplex Virus* (Virus Herpés Simplex).

ICBD : *International Criteria for Behçet's Disease.*

IFN- α: Interferon alpha.

IFN-ɣ: Interferon Gamma.

Ig : Immunoglobulin.

IL : Interleukine.

iNOS: *inducible Nitric Oxide Synthase.*

IRM: Imagerie par Résonance Magnétique.

IS: Immunosuppresseur.

ISG: *International Study Group.*

JAK: Janus kinase.

KDa: KiloDalton.

LB: Lymphocyte B.

LCR : Liquide Céphalorachidien.

LT : Lymphocyte T.

MB : Maladie de Behçet.

NADPH : *Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate* (phosphate de di-nucléotide de l'adénine nicotinamide).

$NaNO_2$: Nitrite de Sodium.

NF-KB: *Nuclear Factor Kappa B.*

ng/mL: nanogramme/millilitre.

NK: *Natural Killer.*

NKreg: *regulatory Natural Killer.*

NO: *Nitric Oxide* (Oxyde Nitrique).

NO_2-: Nitrites résiduls.

ns: Non significative.

O_2- : Anion superoxyde.

OP: Ostéoporose.

P: P value.

PBMCs : *Peripheral Blood Mononuclear Cells* (Cellules Mononuclées du sang Périphérique).

PBS : *Phosphate-Buffered Saline* (tampon phosphate salin).

pg/mL: picogramme/millilitre.

PH : Potentiel hydrogène.

PNN : Polynucléaires Neutrophiles.

ROS : *Reactive Oxygen Species (espèces réactives en oxygène).*

Rpm: Rotation per minute.

RPMI: *Roswell Park Memorial Institute medium.*

SNC : Système Nerveux Central.

SNP : Système Nerveux Périphérique.

STAT: *Signal Transducer and Activator of Transcription.*

Th: *T helper*.

TNF: *Tumor Necrosis Factor* (Facteur de Nécrose Tumorale).

TNF-α : *Tumor Necrosis Factor alpha* (Facteur de Nécrose Tumorale alpha).

Treg: *T regulatory lymphocyte* (lymphocyte T régulatrice).

VEGF : *Vascular Endothelial Growth Factor* (Facteur de croissance endothélial vasculaire).

Liste des figures

Figure 1	La prévalence du syndrome de Behçet (Nombre de cas sur 100000 par pays)	**3**
Figure 2	La pathogenèse de la maladie de Behçet	**5**
Figure 3	La réponse immunitaire innée au cours de la MB	**7**
Figure 4	La réponse immunitaire adaptative au cours de la MB	**9**
Figure 5	Stratégie thérapeutique graduée dans la maladie de Behçet	**13**
Figure 6	Représentation schématique du rôle du fibrinogène modifié généré par les neutrophiles dans la formation de caillots de fibrine résistant à la plasmine	**17**
Figure 7	Cytokines de la famille IL-12, récepteurs et voies de signalisation IL-27 et IL-35	**19**
Figure 8	Schéma représentatif de la culture des PBMCs réalisée	**22**
Figure 9	Courbe étalon des nitrites résiduels NO2	**23**
Figure 10	Schéma récapitulatif de la démarche expérimentale	**24**
Figure 11	Répartition des patients selon le sexe	**25**
Figure 12	Répartition des patients selon les manifestations	**25**
Figure 13	Répartition des patients selon l'activité de la maladie	**26**
Figure 14	Répartition des patients selon leurs traitements	**26**
Figure 15	Les taux sériques du NO et EBI-3 chez les patients et les témoins	**27**
Figure 16	Les taux *in-vivo* chez les patients présentant des manifestations vasculaires et les autres manifestations et chez les témoins	**28**
Figure 17	Effet de l'EBI-3 sur la production de NO par les PBMCs des patients atteints de la MB	**29**
Figure 18	Effet de l'EBI-3 sur la production de NO par les PBMCs des Témoins sains	**30**
Figure 19	Effet de l'EBI-3 sur la production de NO produit par les PBMCs des patients avec atteinte vasculaire	**31**
Figure 20	La prolifération cellulaire des PBMCs après une culture de 24h du patient avec une atteinte vasculaire	**32**
Figure 21	Effet de l'EBI-3 sur la production de NO produit par les PBMCs des patients sans atteinte vasculaire	**33**
Figure 22	La prolifération cellulaire des PBMCs après une culture de 24h du patient sans atteinte vasculaire	**34**
Figure 23	Les taux sériques du NO chez les témoins vasculaires et les témoins non vasculaires	**35**

Liste des tableaux

Tableau I Critères de diagnostic de la maladie de Behçet selon l'ISG 1990 et ICBD 2013. **12**

Introduction

La maladie de Behçet (MB) se définit comme une maladie auto-immune vascularite inflammatoire multi-systémique d'étiologie inconnue, cette vascularite peut toucher les vaisseaux de toutes tailles dans de multiples organes, la MB touche principalement les adultes jeunes avec prédominance masculine **(Khemiss *et al*., 2022)**. Parmi les manifestations qui caractérisent la maladie de Behçet on retrouve les aphtes buccale et génitale récidivante associées à des atteintes oculaires, articulaires, cutanées, neurologiques, digestives et vasculaires **(Mejri *et al*., 2018)**.

Bien que l'étiopathogénie de la maladie de Behçet demeure inexpliquée, de nouvelles données suggèrent que la réaction inflammatoire au cours de la MB résulte d'une perturbation de l'homéostasie de la réponse immunitaire innée et adaptative chez des individus génétiquement prédisposés **(Houman et Bel Feki, 2014)**.

Les cytokines pro-inflammatoires et les lymphocytes T (LT) jouent un rôle important dans la physiopathologie de la MB. Ainsi, les approches immuno-modulatrices comme l'inhibition de la voie de signalisation du facteur de nécrose tumorale (TNF), Interleukine 1 (IL-1) ou de l'IL-6 ou de la diminution des LT. En parallèle le gène 3 induit par le virus Epstein-Barr (EBI-3) qui est une sous unité de l'IL-27 et l'IL-35 participe à la prolifération et la différenciation des lymphocytes B et T **(Wanvoegbe *et al*., 2019 ; Ning *et al*., 2019)**.

Dans ce contexte nous avons effectué notre recherche, qui a visé à analyser et à comparer les profils inflammatoires et le stress oxydatif chez un échantillon de patients atteints de la maladie de Behçet, en distinguant précisément ceux atteints des formes vasculaires et des formes non-vasculaires. Afin de mieux comprendre les différences entre les deux formes de la maladie et à identifier une empreinte moléculaire propre à l'atteinte vasculaire, nous avons établi le dosage de l'oxyde nitrique (NO).

L'intérêt de notre étude est de rechercher l'implication de l'EBI-3 dans la maladie de Behçet au cours des manifestations vasculaires et non-vasculaires cela est fait par l'étude de la prolifération des PBMCs en absence et présence d'EBI-3 ou de son anticorps, ainsi qu'un dosage du NO après 24h de mise en culture.

Dans notre recherche nous nous sommes intéressés à :

- La culture *in-vitro* des PBMCs avec et sans l'EBI-3 et l'anti-EBI-3,
- Etude de prolifération cellulaire après la culture par un microscope inversé,
- Dosage de NO après culture par la méthode de Griess modifiée.

Chapitre I

La maladie de Behçet

I.1. Généralité sur la maladie de Behçet

I.1.1. Historique et définition

Il y a 2500 ans, la première description des symptômes de la maladie de Behçet ont été communiquée par Hippocrate, dans son troisième livre des maladies endémiques. Diverses manifestations ont été décrites depuis cette époque, à la fin du 19^{éme} siècle et au début du 20^{éme} siècle ont eu les premières descriptions de la triade classique **(Feigenbaum, 1956 ; Cohen, 1978)**.

Le nom de l'affection a été attribué au dermatologue turc Hulusi Behçet en 1937, après l'observation d'un cas en 1924, un deuxième en 1930 et un troisième en 1936. Bien qu'Adamantiades l'ait soupçonnée dès 1931, alors que les premières descriptions remontent loin, le nom de la maladie de Behçet est celui retenue aujourd'hui par la pluparts des auteurs **(Behçet, 1937 ; Coulon et Piette, 1999)**.

La maladie de Behçet est une affection inflammatoire systémique chronique d'étiologie inconnue, pouvant atteindre les vaisseaux artériels ou veineux. Cette maladie est caractérisée par un spectre clinique large pouvant inclure des ulcérations génitales et buccales, les manifestations impliquée sont cutanée, articulaires, neurologiques centrale, digestives, oculaires et vasculaires **(Saadouli *et al.*, 2021)**.

I.1.2. Epidémiologie

Il est important de connaître les particularités épidémiologiques de la maladie de Behçet **(Figure 1)**, car cela peut influencer sur son diagnostic. La caractéristique la plus remarquable est la disparité géographique de la prévalence de la MB, qui est plus fréquente en Turquie, en Asie (Japon, Chine, Corée), au Moyen-Orient et en Afrique du nord. En Europe, la MB est plus répandue dans le sud plutôt que dans le nord, et elle est également rare en Amérique du nord. Bien que la maladie de Behçet soit souvent appelée « la maladie de la route de la soie » en raison de sa distribution géographique, cette appellation n'est probablement pas adaptée car la répartition géographique de la MB est plus large que la région allant de l'Asie de l'est au pourtour méditerranéen, un autre aspect épidémiologique clé de la maladie de Behçet est l'apparition précoce de la maladie. En effet le diagnostic est généralement posé relativement tôt dans la vie, avec un âge moyen d'environ 30 ans et la plupart des cas diagnostiqués entre 15 et 45 ans, avec une légère prédominance masculine **(Tugal-Tutkun *et al*., 2006)**.

Cette maladie est rare chez les enfants, mais peut survenir vers l'âge de 8 ans et touche autant les garçons que les filles. Les symptômes de la maladie peuvent apparaître progressivement et la maladie est souvent diagnostiquée après environ 6 ans d'évolution. Les enfants atteints de la maladie de Behçet ont une forte prédisposition génétique, avec une

agrégation familiale dix fois plus élevée que chez les adultes. Les garçons ont souvent des symptômes plus graves, tels que des lésions oculaires et vasculaires, tandis que les filles ont souvent des aphtes génitaux **(Tugal-Tutkun *et al.*, 2006)**.

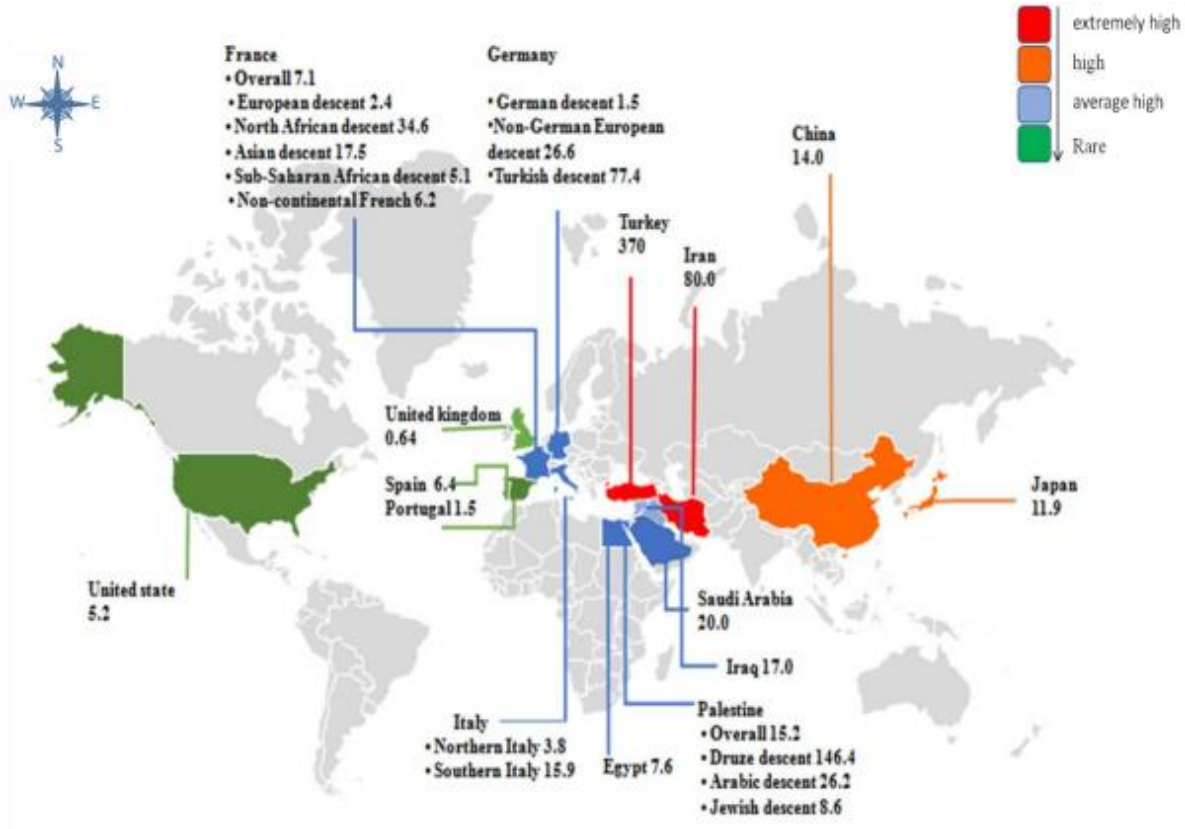

Figure 1. La prévalence de MB (Nombre de cas sur 100000 par pays) **(Yazici *et al.*, 2018).**

I.1.3. Etiopathologie

La base étiologique exacte de la maladie de Behçet reste toujours inconnue, bien que des facteurs environnementaux et génétiques jouent un rôle dans le développement de la maladie **(De Chambrun *et al., 2012*)**.

D'après des données épidémiologiques, qui présume que la maladie de Behçet est le résultat d'une réponse auto-immune qui peut être déclenchée par des agents infectieux ou des agents environnementaux chez les individus prédisposé génétiquement **(Zeidan *et al.*, 2016)**.

I.1.3.1. Facteurs environnementaux et infectieux

a. Facteurs environnementaux non infectieux

Certaines études suggèrent que le tabagisme peut affecter la manifestation de la maladie de Behçet, bien qu'il ne soit pas clair s'il est lui-même un facteur de risque de développement de la maladie. Deux études cas-témoins ont identifié une corrélation entre le manque de vitamine D et le risque de développer la MB, cependant, l'idée que la carence en vitamine D

soit une cause de la maladie est difficile à concilier avec le fait que la maladie est plus courante dans des zones ensoleillées. En outre, plusieurs études ont indiqué que les niveaux de sélénium qui est un antioxydant puissant est impliqué dans la neutralisation des radicaux libres, sont plus faibles chez les personnes atteintes de la maladie de Behçet par rapport aux sujets sains **(Mahr et Maldini, 2014)**.

b. Infection bactérienne

Plusieurs micro-organisme pathogènes ont été examinés, y compris des bactéries telles que le Streptocoque, les mycobactéries, *Borrelia burgdorferi*, *Helicobacter pylori*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et Mycoplasma. Le streptocoque, en particulier la variété Sanguis, est celui qui a été le plus souvent associé à la maladie de Behçet **(Doumbia *et al.*, 2023)**. Depuis longtemps, il a été observé une corrélation entre les angines, les soins dentaires et l'apparition d'aphtes buccaux **(Hadjimi *et al.*, 2022).** De plus, l'injection d'antigènes du Streptocoque peut provoquer une réaction d'hypersensibilité, voire des symptômes de la maladie de Behçet. Enfin, le taux d'infection par le Streptocoque Sanguis et d'anticorps contre cette bactérie était significativement plus élevé chez les patients atteints de la MB que chez les témoins **(Houman et Bel Feki, 2014)**.

c. Infection virale

Il a été suggéré que des infections virales, telles que celles causées par le virus herpès simplex (HSV), le cytomégalovirus et l'Epstein Barr virus (EBV), pourraient être des facteurs étiologiques potentiels **(Houman et Bel Feki, 2014)**.

I.1.3.2. Facteurs génétiques

Il existe deux catégories de gène impliqué dans la maladie de Behçet : les gènes qui se trouvent dans la zone du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) et les gènes qui ne s'y trouvent pas dans cette zone qui sont appelés les gènes non-CMH **(Balkan *et al.*, 2019)**.

a. Les gènes du CMH

Une association étroite entre le développement des antigènes des leucocytes humains HLA-B5 et la MB, la composition de HLA-B5 est hétérogène et comporte HLA-B51 et HLA-B52 **(Zeidan *et al.*, 2016)**.Une étude a était menée sur d'autres gènes du locus CMH, y compris des gènes du facteur de nécrose tumorale (TNF), mais leur implication demeure indéterminé car ils pourraient être activés par une cascade inflammatoire induite par la HLA-B51 **(Zeidan *et al.*, 2016)**.

b. Les gènes non-CMH

Le gène de l'IL-10 est situé sur le chromosome 1 et code une cytokine inhibitrice qui réduit la production de cytokines pro-inflammatoires et l'expression des molécules de co-

stimulation par les macrophages, ce qui diminue la réponse immunitaire. Des chercheurs ont découvert qu'un certain polymorphisme de ce gène était lié à une production réduite de l'IL-10 dans la maladie de Behçet, ce qui pourrait jouer un rôle dans la dysfonction de la réponse immunitaire lors de la maladie. D'autre part, l'IL-23 est une cytokine pro-inflammatoire qui stimule la production d'autres cytokines impliquées dans la pathogenèse de la MB, telles que l'IL-1, l'IL-6, l'IL-17 et le TNF-α. Des études ont révélés une association entre le polymorphisme du récepteur de l'IL-23 et la MB **(Houman et Bel Feki, 2014)**.

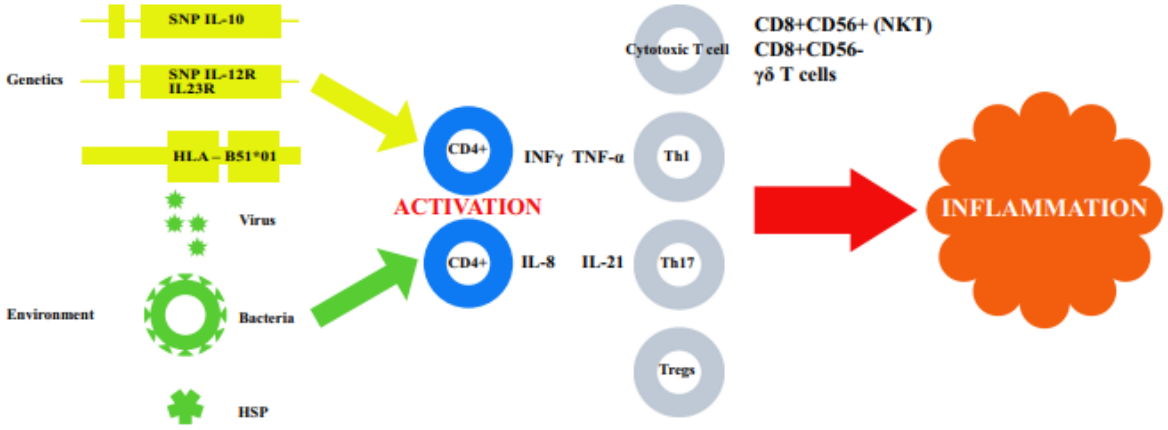

Figure 2. La pathogenèse de la maladie de Behçet **(Zeidan *et al.*, 2016).**

I.1.4. Immuno-pathologie

I.1.4.1. Dysfonctionnement de l'immunité innée

a. Hyperactivité des Polynucléaires Neutrophiles (PNN)

Afin de mieux comprendre le rôle des polynucléaires neutrophiles (PNN) dans la pathogénèse de la maladie de Behçet, de nombreuses études ont été effectuées depuis 1975. Il a été démontré que l'augmentation du chimiotactisme de ces PNN joue un rôle crucial dans ce processus **(Houman et Bel Feki, 2014)**.

Les altérations du stress oxydatif causées par les neutrophiles peuvent avoir une influence significative dans la formation de la MB. Les produits protéiques d'oxydation avancée peuvent être utilisés comme un indicateur pratique pour suivre l'évolution et la gravité de la maladie chez les individus atteints de la maladie **(Tong *et al.*, 2019)**.

b. Implication des Naturals Killers (NK)

Les cellules naturals killers (NK) peuvent être classées en différents types, tels que NK1, NK2, NK17, NKreg et NK22, selon les cytokines qu'elles sécrètent. Des récentes études ont montré que les cellules NK jouent un rôle important dans la domination Th1 chez

les patients atteints de la maladie de Behçet. En effet, la cytokine de type Th1, l'IFN-γ, inhibe la production de la cytokine IL-17 par les cellules Th17 **(Tong *et al.*, 2019)**.

c. Lymphocytes Tγδ

Les cellules Tγδ jouent un rôle important dans l'immunité des muqueuses en tant que première ligne de défense de l'hôte. Les chercheurs se sont penchés sur le rôle des LTγδ, car leur présence accrue a été observée dans les lésions muqueuses de la MB. Ils ont noté une accumulation des cellules Tγδ dans les zones d'inflammations de la maladie **(De Chambrun *et al.*, 2012)**. Enfin, il est à noter que des études expérimentales ont démontré que les LTγδ sont des activateurs puissants des lymphocytes Th1 et Th17 qui jouent un rôle essentiel dans la MB **(Mendoza-Pinto *et al.*, 2010 ; Houman et Bel Feki, 2014)**.

I.1.4.2. Dysfonctionnement moléculaire

a. Implication des protéines du choc thermique (HSP)

Les protéines du choc thermique (HSP) telles que les HSP de 60 et 65 KDa, pourraient être considérées comme des antigènes pouvant potentiellement déclencher l'apparition de la MB **(Amoura *et al.*, 2006)**. HSP 60/65 présentés par les cellules présentatrice de l'antigène (CPA) stimulent non seulement les cellules Tαβ, mais également les cellules Tγδ pendant la MB **(Shimizu *et al.*, 2012)**.

b. Oxyde nitrique NO

La maladie de Behçet se caractérise par une inflammation des vaisseaux sanguins et un dysfonctionnement des cellules endothéliales. Le NO qui est un composé oxygéné libre, est produit par les cellules endothéliales en réponse à des stimuli immunologiques, infectieux et inflammatoires tels que les cytokines l'INF-γ les lypopolysaccharides et l'endotoxine **(Evereklioglu, 2005).**

L'augmentation du NO a été rapportée au cours de la MB dans le sérum et le liquide synovial. Cette augmentation est en corrélation avec l'activité de la maladie, l'hyperproduction du NO favorise l'activation des PNN **(Houman et Bel Feki, 2014 ; Emmi *et al.*, 2014)**.

c. Stress oxydatif et radicaux libres

Au cours de la maladie de Behçet il y a une production excessive d'anion super-oxyde (O_2^-) et de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), ce qui entraîne une augmentation des radicaux libres et du stress oxydatif. L'activité des enzymes qui luttent contre le stress oxydatif, telles que le super-oxyde dismutase, la glutathion peroxydase et la catalase est réduite. Cette diminution est associée à une augmentation de l'activité de l'adénosine deaminase (ADA), ce qui est un indicateur d'activation des neutrophiles **(Türsen, 2011)**.

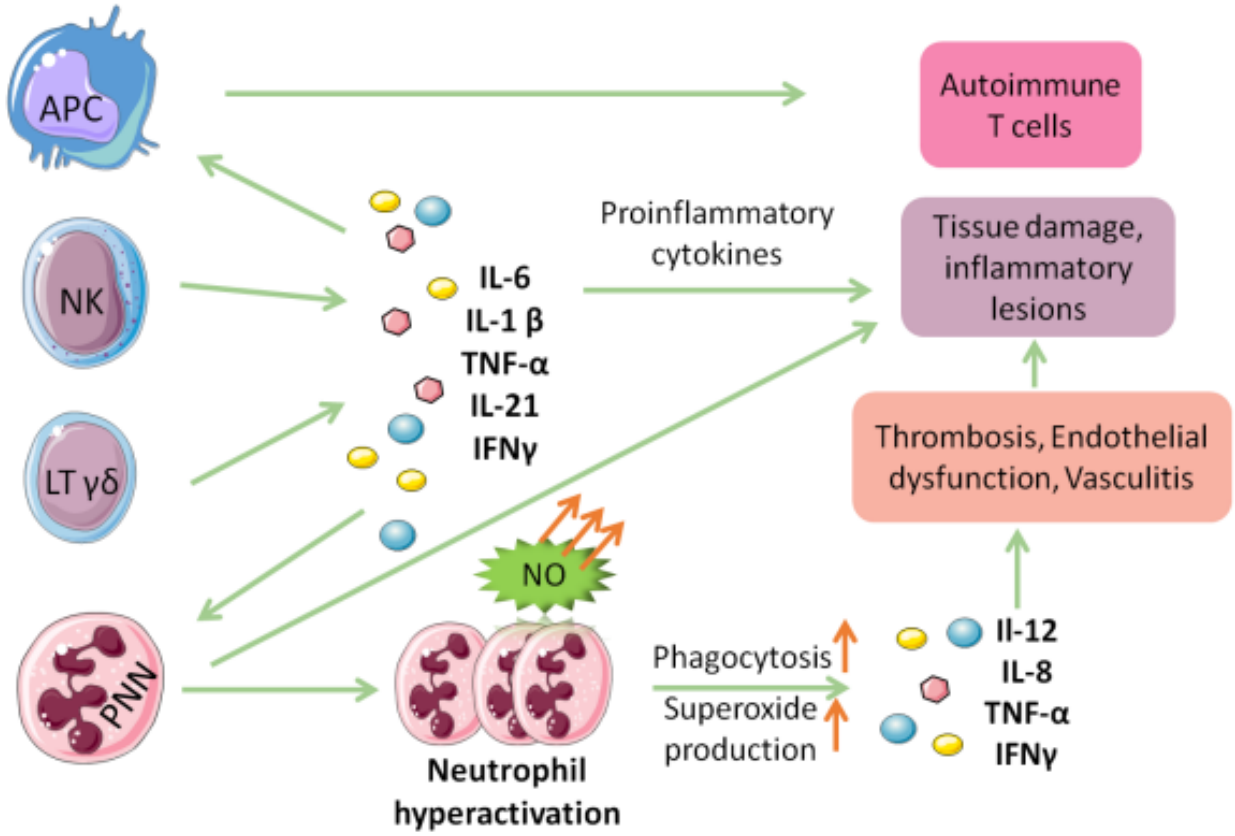

Figure 3. La réponse immunitaire innée au cours de la MB **(Ghozali, 2022)**

I.1.4.3. Dysfonctionnement de l'immunité adaptative

a. T helper 1 (Th1)

La réponse immunitaire Th1 joue un rôle important dans la pathogenèse de la MB. Les études précédentes ont révélé que dans la maladie de Behçet le rapport Th1/Th2 est en faveur des cellules Th1 **(Balkan *et al.*, 2019)**.

De plus les patients atteints de la MB présentent une prédominance des cytokines de type Th1, comme l'IL-12, IL-18 et INF-γ ont été détectées dans les cellules mononucléaires du sang périphérique (PBMCs) des patients avec MB active **(Tong *et al.*, 2019)**.

b. T helper 17 (Th17)

Bien que la MB ait déjà été considéré comme une maladie à médiation Th1, il est maintenant établi que les cellules Th17 jouent un rôle central dans le développement des maladies auto-immunes **(Disteldorf *et al.*, 2015)**.

Certains rapports ont suggéré que les cellules Th17 régulent l'inflammation et les maladies auto-immunes **(Tong *et al.*, 2019)**. D'autres études ont révélé que les patients atteints de la maladie de Behçet active présentaient un rapport Th17/Th1 sanguin périphérique était significativement plus élevé que celui des témoins en bonne santé **(Kim *et al.*, 2010 ; Aktas *et al.*, 2014)**.

c. T helper 22 (Th22)

Th22 sécrètent principalement l'IL-22 et le TNF-α et elles expriment des récepteurs de chimiokine CCR4, CCR6 et CCR10 **(Duhen *et al*, 2009)**.

Sugita et al, ont découvert la présence des clones des cellules Th22 dans le liquide aqueux des patients atteints de la MB avec uvéite active. Ces clones ont montré une production élevée d'IL-22 et de TNF-α mais aucune production des cytokines Th1 (IFN-γ) et Th17 (IL-17). De plus, des cellules T productrices d'IL-22 ont été isolées chez des souris atteintes d'uvéite auto-immune expérimentale. Ces résultats suggèrent que l'IL-22 joue un rôle essentiel dans l'implication oculaire de la MB **(Sugita *et al.*, 2013)**.

d. T régulatrice (Treg)

Les cellules T régulatrice jouent un rôle essentiel dans la protection de l'organisme contre l'auto-immunité, leur implication a été examinée de manière approfondie dans diverses maladies auto-immunes **(De Chambrun *et al.*, 2012)**.

Il y a une controverse concernant l'implication de Treg dans la MB. En effet, des études ont rapporté une augmentation de la fréquence des Treg dans le sang périphérique ou le liquide céphalorachidien (LCR) **(Hamzaoui *et al.*, 2011)**, tandis que d'autres ont observé une diminution de la circulation de Treg **(De Chambrun *et al.*, 2012)**.

e. Lymphocyte B (LB)

Bien que le nombre de lymphocytes B chez les patients atteints de la maladie de Behçet soit normal, plusieurs arguments suggèrent que l'immunité humorale participe à la physiopathologie de la MB. Les lymphocytes B des patients avec MB expriment des niveaux plus élevés des marqueurs d'activation tels que le CD13, CD33, CD80 et CD45RO **(Eksioglu-Demiralp *et al*., 1999)**.

Chez des patients souffrant de diverses pathologies inflammatoires, des anticorps dirigés contre leur propre organisme ont été détectés. Cependant la présence d'anticorps de type IgM semble spécifique à la MB. Parmi les antigènes identifiés comme cibles des immunoglobulines chez les patients atteints de la MB, on trouve l'alpha tropomyosine et l'antigène S (Ag–S) **(Amoura *et al*., 2006)**.

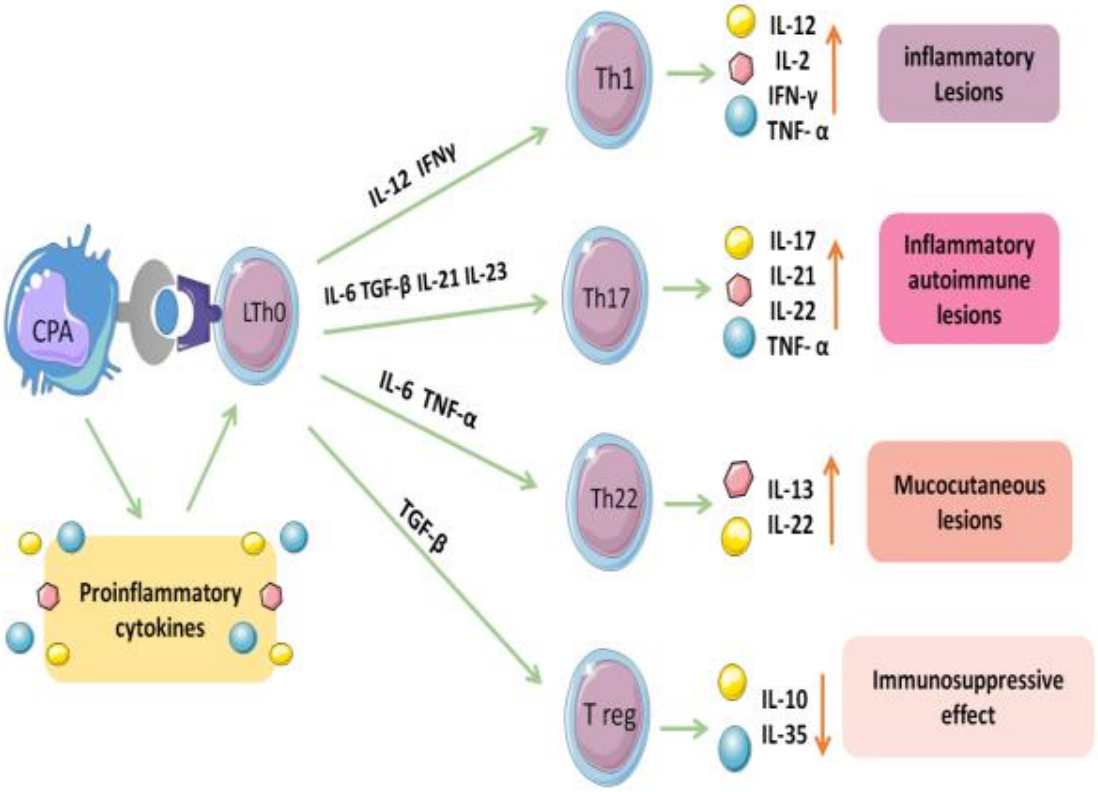

Figure 4. La réponse immunitaire adaptative au cours de la MB **(Ghozali, 2022)**

I.1.4.4. Rôle des cytokines

A. Les cytokines pro-inflammatoires

- Interleukine-1β (IL-1β)

Depuis 1990, des études ont observés une concentration élevée d'IL-1 dans les sérums des patients atteints de la maladie de Behçet **(Hamzaoui *et al.*, 1990)**. Dans une étude menée par Salih *et al*, il a été constaté que les patients atteints de la MB présentaient des niveaux significativement plus élevés d'IL-1β par rapport aux patients atteints d'ostéoporose (OP). L'IL-1β est principalement produit par des monocytes des macrophages et des cellules dendritiques dans une voie dépendante du NF-κB **(Zhou *et al.*, 2012 ; Ghozali *et al.*, 2021)**.

-Interleukine-6 (IL-6)

L'IL-6 est une cytokine pro-inflammatoire, principalement sécrétée par les mononucléaires, les phagocytes et les cellules T. Des études ont rapportés une corrélation entre l'élévation du niveau de l'IL-6 dans le LCR des patients atteints de neuro-Behçet et la progression à long terme de la maladie. Il a été suggéré que cette cytokine puisse servir de marqueur pour évaluer l'activité de la MB **(De Chambrun *et al.*, 2012)**.

De plus, Chang *et al* ont conclu à l'association entre le polymorphisme du gène codant pour l'IL-6 et la MB **(Houman et Bel Feki, 2014)**.

-Facteur de Nécrose Tumorale (TNF-α)

Le facteur de nécrose tumorale (TNF-α) est principalement produit par les monocytes, macrophages, cellules T, cellules B, neutrophiles, cellules naturel killer (NK) et les cellules endothéliales. Cette cytokine a été trouvée dans le liquide oculaire des patients atteints de la MB **(Tong *et al.*, 2019)**.

Son rôle principal se situe dans la phase aigüe de la réaction inflammatoire où il exerce un effet pro-inflammatoire. De plus, il stimule également indirectement la libération d'autres cytokines telles que l'IL-1, IL-6 et l'interféron β **(Houman et Bel Feki, 2014)**.

-Interleukine-32 (IL-32)

L'implication de l'IL-32 dans la maladie de Behçet n'est pas largement étudiée. Cependant, une étude a signalé une augmentation du taux de l'IL-32 chez les patients atteints de MB. En particulier il a été constaté que cette cytokine était plus susceptible d'augmenter chez les patients atteints d'arthralgie **(Ha *et al.*, 2018)**.

B. Les cytokines anti-inflammatoires

-Interleukine-10 (IL-10)

Dans une étude menée par Talaat *et al*, il a été observé une décroissance significative de cette cytokine anti-inflammatoire chez les patients atteints de la MB par rapport aux témoins sains **(Talaat *et al.*, 2019)**. La même étude a rapporté que l'IL-10 était encore plus faible chez les patients souffrant d'affections gastro-intestinales. Des résultats similaires ont été rapportés par Afkari *et al*, montrant une diminution significative du taux de l'IL-10 chez les patients atteints de la MB par rapport aux témoins sains **(Afkari *et al*, 2018)**.

D'autre part, il y a une étude qui n'a observée aucun changement important entre les patients et les témoins. Cependant, la même étude mentionne une régulation à la baisse de l'ARNm IL-10 dans les cellules B des patients atteints de la MB **(Yoon *et al.*, 2017)**.

-Interleukine-37 (IL-37)

Il a été signalé que le niveaux de l'IL-37 dans le sérum et le LCR ainsi que l'expression de l'ARNm sont significativement diminués chez les patients atteints de la MB **(Gholijani *et al.*, 2020)**. Des études ont révélé une corrélation négative entre l'IL-37 et les cytokines pro-inflammatoires notamment l'IL-6, IL-17, IL-21 dans le LCR des patients atteints de la MB **(Ben Dhifall *et al.*, 2019 ; Tong *et al.*, 2019)**.

I.1.5. Manifestations cliniques

La maladie de Behçet possède une variété de manifestations cliniques, les patients atteints de cette maladie peuvent se plaindre de divers symptômes selon le type et la sévérité de l'atteinte **(Desbois *et al.*, 2018)**.

Parmi les atteintes de la MB, des manifestations vasculaires, neurologiques, articulaires, gastro-intestinales, des ulcérations buccales et génitales récidivantes. L'apparition de la maladie survient habituellement au cours de la 3^{éme} décennie de la vie **(Fari Elfirdaous *et al.*, 2022 ; Bettiol *et al.*, 2020)**.

I.1.5.1. Atteintes cutanéomuqueuses

Les manifestations cutanéomuqueuses sont fondamentales pour poser le diagnostic positif de la MB, elles peuvent précéder, accompagner ou suivre les autres atteintes **(Mzabi *et al.*, 2018)**. Cette manifestation est cliniquement caractérisée par une aphtose buccale récidivante ou buccogénitale associée à des manifestations systémiques **(Gharbi *et al.*, 2015)**.

I.1.5.2. Atteintes oculaires

Les manifestations oculaires au cours de la maladie de Behçet sont particulièrement fréquentes 30 à 80% des cas. L'atteinte des vaisseaux de la rétine est appelées vascularite rétinienne, celle des zones antérieure ou postérieure de l'œil est nommée uvéite **(Saadouli *et al.*, 2021)**. Les symptômes de ces dommages oculaires incluent une vision floue, une diminution de la vue, une sensibilité accrue à la lumière (photophobie), douleur des yeux, des larmes et/ou une rougeur de la partie blanche de l'œil. Ces dommages sont sévères et ont le potentiel de causer une perte de la vision totale **(Ksiaa *et al.*, 2019)**.

I.1.5.3. Atteintes neurologiques

La neuro-Behçet et une combinaison de symptômes neurologiques qui peuvent survenir dans 5 à 30% des cas et qui sont sous formes de maux de têtes, de sclérose en plaques, de méningoencéphalite, d'accident vasculaires cérébral, faiblesse musculaire, l'épilepsie, la paralysie. Les lésions des vaisseaux au niveau du cerveau sont responsables de ces symptômes et peuvent causer des séquelles permanentes **(Noel *et al.*, 2014 ; Borhani-Haghighi *et al.*, 2020)**.

I.1.5.4. Atteintes articulaires

Cette atteinte peut survenir chez 45 à 60% des patients. L'oligoarthralgie est parmi les manifestations les plus fréquentes qui touchent les coudes, les genoux, les chevilles et les poignets. L'atteinte articulaire se caractérise par l'inflammation des cellules neutrophiles et mononucléaires dans le synovium (tissus mince qui tapisse toute la cavité articulaire) et les lésions de petits vaisseaux **(Zeidan *et al.*, 2016)**.

I.1.5.5. Atteintes gastro-intestinales

Au cours de la MB, l'atteinte gastro-intestinale est rare, elle survient chez 3 à 26% des patients **(Zeidan *et al.*, 2016)**. Vue la similitude des symptômes avec ceux d'autres maladies

inflammatoires chroniques de l'intestin, un problème de diagnostic se pose **(Fari Elfirdaous *et al.*, 2022)**.

I.1.5.6. Atteintes vasculaires

Les vaisseaux sanguins, les artères et les veines peuvent être affecté par la maladie de Behçet. L'atteinte vasculaire survient 3 à 16 ans après l'apparition de la maladie, et elle est plus fréquente chez les hommes et affecte souvent les veines, ce qui provoque une thrombose veineuse profonde chez 30 à 40% des cas. L'anévrisme des artères principales qui cause des infarctus, des saignements et des défaillances d'organes **(Zeidan *et al.*, 2016)**.

I.1.6. Diagnostic

En 1990, selon les critères de l'international Study Group (ISG) le diagnostic de la maladie de Behçet se faisait selon la présence simultanée de deux des résultats suivants en plus de l'aphte oral : les lésions cutanées, les atteintes oculaires et les ulcères génitaux **(Bulur et Onder, 2017)**. En 2014, ces critères ont été révisées par l'International Criteria for Behçet's Disease (ICBD), pour que la maladie soit retenue le patient doit être dotée d'un score ≥ 4 **(Francois *et al.*, 2020)**.

Tableau I : Critères de diagnostic de la maladie de Behçet selon l'ISG 1990 et ICBD 2013 **(Mahr et Maldini, 2014)**.

Système de classification / Eléments de classification	International Study Group (ISG) 1990	International Criteria for Behçet's Disease (ICBD) 2013
Aphtose buccale	Obligatoire	2 points
Aphtose génitale	Facultatif	2 points
Atteinte oculaire	Facultatif	2 points
Atteinte Cutanée	Facultatif	1 point
Test de pathergie positif	Facultatif	1 point
Atteinte vasculaire		1 point
Atteinte neurologique		1 point

I.1.7. Traitement

La plupart des formes bénignes d'atteinte majeure des organes sont suffisamment contrôlées par les immunosuppresseurs (IS) classique, en particulier l'azothioprine et mycophénolate mofetil. Des données comparatives montrent l'efficacité des IS classiques chez les patients atteints d'uvéite. Ainsi, ces immunosuppresseurs peuvent être utilisés dans les atteintes vasculaires, neurologiques et gastro-intestinales. Bien que les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), la colchicine et le traitement oral topique sont souvent suffisants pour soulager les manifestations cutanéomuqueuses et articulaires**.**

Selon d'autres données, il existe une surutilisation des anticorps ciblant les cytokines pro-inflammatoires, comme le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF α), les interlukines IL1, IL6, IL12 et IL17 pour d'autres troubles rhumatologiques, font partie des choix thérapeutiques dans la MB **(Alibaz-Oner *et al.*, 2021)**.

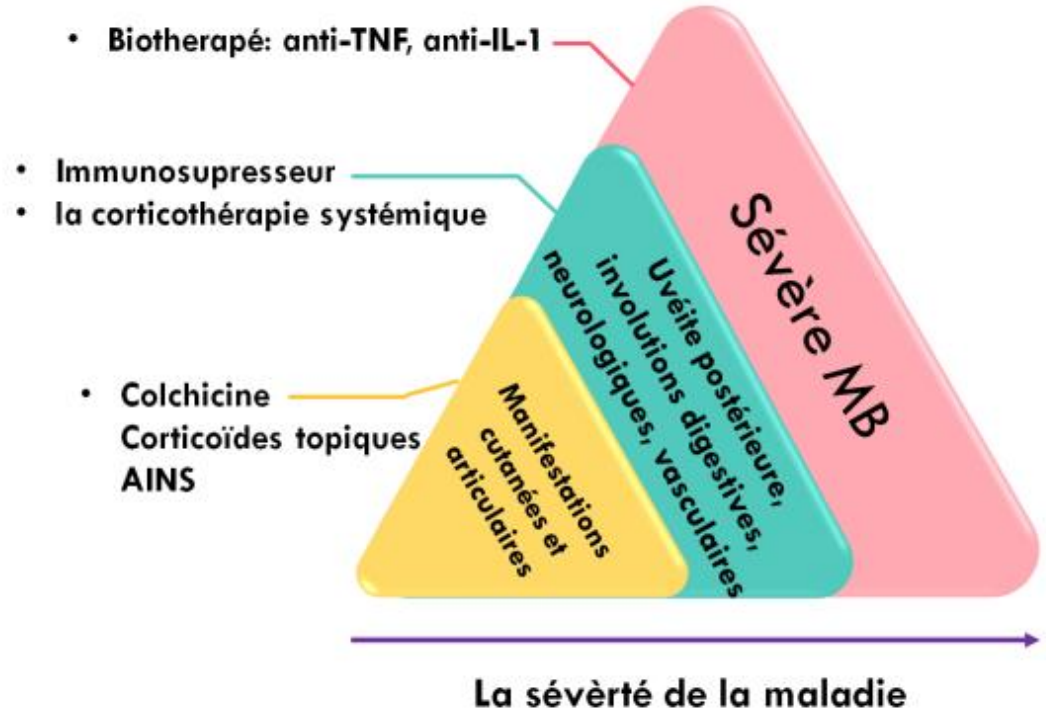

Figure 5. Stratégie thérapeutique graduée dans la maladie de Behçet **(Ghozali, 2022).**

I.2. La maladie de Behçet vasculaire (Angio-Behçet)

I.2.1. Généralité

La maladie de Behçet est toujours considérée comme un syndrome, car elle comprend un spectre large de phénotypes cliniques différents, parmi eux la maladie de Behçet vasculaire qui est aussi appelée Angio-Behçet, ses patients souffrent d'une thrombose inflammatoire chronique impliquant l'arbre veineux, ou l'arbre artériel rarement **(Emmi *et al.*, 2018)**.

En 1946, l'atteinte vasculaire a été signalée par Adamantiades moins de dix ans après la première description de la maladie **(Adamantiades *et al.*, 1946)**.

Dans l'atteinte vasculaire des cytokines telles que l'IL-1, IL-6, IL-8, IL-17 et TNF-α sont considérées comme des acteurs majeurs pour la pathogénèse de la MB. L'inflammation favorise les évènements thrombotiques par le dysfonctionnement endothélial, l'hyper-activation des plaquettes et l'expression accrue du facteur tissulaire (TF). En outre, il est possible que les composants coagulants tels que le fibrinogène, la thrombine, le facteur Xa et le facteur VIIa interagissent avec des récepteurs spécifiques (notamment les intégrines) présents sur les cellules du système immunitaire, ce qui pourrait entraîner une amplification de la cascade inflammatoire **(Emmi *et al.*, 2018)**.

I.2.2. Epidémiologie

La prévalence de l'atteinte vasculaire varie entre 5% et 50% dans différentes études basées sur la population. Une atteinte vasculaire a été observée dans 47 cas (5,6 %) chez 836 patients atteints de MB. D'autres études en Chine ont signalé une prévalence plus élevée, de 7,7 % à 20,1 % **(Zhang *et al.*, 2006; Fei *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2018)**. Parmi les 213 patients tunisiens, 64 (30 %) ont reçu un diagnostic de MB vasculaire **(Kechida *et al.*, 2019)**.Le sexe masculin est un facteur de risque bien connu pour les événements vasculaires majeurs en BD. Les hommes sont plus susceptibles d'avoir une atteinte vasculaire **(Sarica Kucukoglu *et al.*, 2006)**. La prévalence de la MB vasculaire chez les patients masculins et féminins était de 49,2 % et 5,6 %, respectivement, dans une population turque, et impliquait des veines ou des artères, ou les deux **(Kural-Seyahi *et al.*, 2003)**. Le pourcentage de patients de sexe masculin qui ont souffert de lésions vasculaires était de 80,9 % dans la groupe de Chen-Hong *et al*., les mêmes résultats ont été rapportés par Kechida *et al*., environ 81,25 % étaient de sexe masculin et 18,75 % de sexe féminin **(Kechida *et al.*, 2019)**., ce qui indique une sensibilité chez les mâles et concorde avec des recherches antérieures **(Sarica Kucukoglu *et al.*, 2003; Calamia *et al.*, 2011)**. Le sexe masculin était significativement associé à un risque plus élevé pour les deux variables de résultat **(Torgutalp *et al.*, 2022)**.

La période moyenne entre le diagnostic de MB et le début de l'atteinte vasculaire est d'environ 7 ans **(Yoshimi, 2019)**. Une étude réalisée au Japon a révélé que les lésions vasculaires se sont développées 2,2 ± 8,4 ans après le diagnostic de MB **(Ideguchi *et al.*, 2011)**. L'âge à l'atteinte vasculaire est d'environ (36,15 ± 9,52 ans). L'incidence de l'atteinte vasculaire chez les patients plus jeunes (< 50 ans) et plus (≥50 ans) était semblable, avec des ratios de 16,58 % (122/736) et 23,53 % (44/187) respectivement. Toutefois, chez les femmes, les patients plus jeunes étaient moins susceptibles d'avoir une atteinte vasculaire que les patients plus âgés (11,43 % contre 20 %) **(Chen *et al.*, 2018 ; Kechida *et al.*, 2019)**.

I.2.3. Manifestations cliniques

I.2.3.1. Manifestation veineuse

L'atteinte veineuse survient généralement au début de la maladie. En effet, 75 % des manifestations veineuses ont été signalées dans les cinq ans suivant le diagnostic de MB. Les patients ayant une atteinte veineuse présentent des caractéristiques cliniques particulières. Ils sont plus fréquemment de sexe masculin et ont des manifestations articulaires et oculaires moins fréquentes, alors qu'ils ont plus de complications gastro-intestinales, artérielles, cardiaques et neurologiques **(Tohmé *et al.*, 2003; Ketari Jamoussi *et al.*, 2009; Desbois *et al.*, 2014).**

I.2.3.2. Manifestation artérielle

L'atteinte artérielle, bien que beaucoup moins fréquente et affectant seulement une minorité des patients (4 à 17 %) **(Düzgün *et al.*, 2006 ; Alkaabi *et al.*, 2011 ; Saadoun *et al.*, 2012)**, est considérée comme une caractéristique vasculaire unique de la MB. En effet, cette affection est peut-être la seule maladie inflammatoire chronique qui cause des anévrismes pouvant toucher les artères périphériques, viscérales et pulmonaires **(Lakhanpal *et al.*, 1985)**. La présence d'une atteinte artérielle dans la MB est un facteur de risque très important qui influe à la fois sur la morbidité et sur la mortalité à long terme, en particulier lorsque des anévrismes pulmonaires surviennent **(Saadoun *et al.*, 2010)**.

Les lésions artérielles sont plus fréquentes chez les sujets jeunes et masculins. Les principales maladies artérielles sont les anévrismes (45 à 70 %), les occlusions (36 à 80 %), et rarement la sténose (13 %) ou l'aortite (3 %) **(Ketari Jamoussi *et al.*, 2009 ; Mekouar *et al.*, 2012 ; Saadoun *et al.*, 2012)**. Les localisations principales sont aortiques, abdominales (11%) ou thoraciques (5%), fémorales (15%), pulmonaires (14%) et iliaques (14%).

D'autres endroits sont plus rares avec des lésions digestives, coronariennes et cérébrales, tandis que certaines séries ont signalé des fréquences significatives de thrombose artérielle

cérébrale **(Tohmé *et al*., 2003 ; Ketari Jamoussi *et al*., 2009)** et même des anévrismes cérébraux **(Calamia *et al*., 2011)**.

I.2.4. Physiopathologie

La physiopathologie de la thrombose est loin d'être bien comprise. Plusieurs études ont avancé le rôle du dysfonctionnement endothélial dans la genèse des lésions artérielles **(Protogerou *et al*., 2003)**. Certaines études ont révélé une augmentation de la rigidité artérielle chez les patients atteints de MB qui peut être liée à la dysfonction endothéliale et l'inflammation. Les facteurs impliqués dans les anomalies vasculaires dans la MB ont été étudiés. On croit que le facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGF) augmente chez les patients atteints de thrombose, particulièrement en phase aiguë **(Adler *et al*., 2012)**. Il pourrait conduire à une augmentation des substances vaso-actives conduisant à une thrombose et une inflammation vasculaire. Une exposition accrue au NO a également été mise en cause dans la pathogenèse de la formation de l'anévrisme et joue un rôle majeur dans l'inflammation, dans le même contexte, le NO, en particulier celui dérivé de l'iNOS, est une exigence clé pour le développement de l'anévrisme cérébral dans une étude modèle animale **(Fukuda *et al*., 2000 ; Johanning *et al*., 2001)**. De même, il a été démontré qu'une stimulation ou une activité NO accrue joue un rôle dans l'anévrisme de l'aorte abdominale, les extases des artères coronaires, les varices périphériques, les hémorroïdes et même le syndrome de congestion pelvienne **(Mitropoulos *et al*., 1996 ; Marumo *et al*., 1997 ; Fukuda *et al*., 2000 ; Johanning *et al*., 2001)**.

Il est clairement démontré que l'hyperactivité des neutrophiles cause des dommages aux organes **(Matsumura *et al*., 1975)** et que leur rôle dans le dysfonctionnement endothélial et l'inflammation vasculaire chez les patients atteints de MB est également bien démontré **(De Chambrun *et al*., 2012)**. Récemment, la capacité de la testostérone à activer les neutrophiles a été suggérée, ce qui explique en partie l'évolution plus agressive de la maladie chez les hommes **(Yavuz *et al*., 2016) (Figure 6)**. De plus, il a été démontré que le fibrinogène purifié était nettement carbonylé lorsqu'il était incubé avec des neutrophiles provenant de patients atteints de MB, mais pas avec des monocytes ou des lymphocytes provenant des mêmes patients. Cela s'est accompagné d'une augmentation significative de l'activité oxydase du phosphate de di-nucléotide de l'adénine nicotinamide (NADPH), qui n'était particulièrement évidente que dans la fraction neutrophile. Fait important, chez les patients de Behçet, l'ampleur de l'oxydation du fibrinogène semblait significativement corrélée avec les espèces réactives en oxygène (ROS) dérivées de neutrophiles **(Melikoglu *et al*., 2012)**. En effet, il a été démontré que la modification fibrinogène post-translationnelle et la sensibilité réduite à la

lyse de la plasmine, en raison de l'augmentation du stress oxydatif des leucocytes et de la génération de ROS principalement dérivés des neutrophiles **(Becatti *et al*., 2016)**.

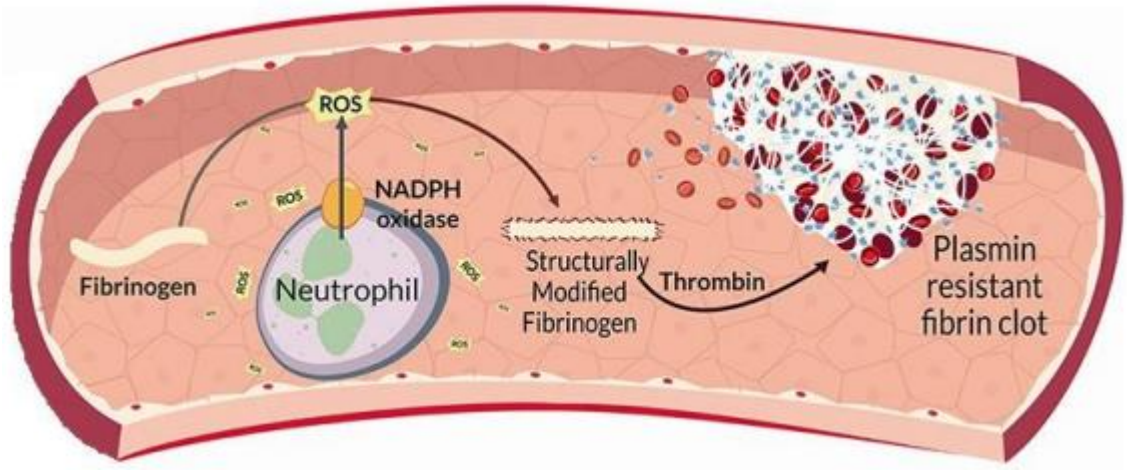

Figure 6. Représentation schématique du rôle du fibrinogène modifié généré par les neutrophiles dans la formation de caillots de fibrine résistant à la plasmine **(Emmi *et al*., 2019)**.

I.2.5. Diagnostic

Des manifestations vasculaires ont été ajoutées aux cinq critères ISG et ont été notées avec 1 point dans le système de pointage **(Mahr et maldini, 2014)**. Le diagnostic d'atteinte vasculaire est posé sur des patients présentant des signes cliniques de thrombose veineuse, d'anévrisme artériel et de sténose/occlusions artérielles ayant reçu un diagnostic de MB vasculaire. Le diagnostic est complété par des observations d'imagerie, y compris l'échographie, la tomodensitométrie et/ou l'angio-magnétique imagerie par résonance (IRM) **(Ateş *et al*., 2017 ; Lin *et al*., 2020)**. Ces nouveaux critères de classification a permis aux cliniciens de classer facilement les patients comme ayant une MB avec prédominance « vasculaire » événements cliniques, même en l'absence d'aphthose orale.

I.2.6. Traitement

Les affections vasculaires, loin d'être rares, sont particulièrement graves, rendant le pronostic de la maladie très dangereux. Dans de nombreux cas, ces symptômes nécessitent une gestion thérapeutique particulière et les stratégies de traitement les plus efficaces devraient être adaptées à une maladie vasculaire spécifique.

I.3. Le gène 3 induit par le virus Epstein-Barr (EBI-3)

I.3.1. Le virus Epstein-Barr (EBV)

Le virus Epstein-Barr (EBV), est le premier virus tumoral humain isolé, qui a été identifié en 1964 par le groupe d'Epstein dans une lignée cellulaire dérivée du lymphome de Burkitt. Membre de la famille des *Herpe sviridae*, est un virus largement répandu et omniprésent, qui cible principalement les lymphocytes, ce qui le classe dans la sous-famille des Gamma herpes virinae **(Epstein *et al.*, 1964)**.

L'EBV est un gamma herpes virus enveloppé à double brin d'ADN avec une capside icosaédrique et un tégument, il code une centaine de protéines impliquées dans la régulation de l'expression de gènes, la réplication de l'ADN et la modulation de la réponse immune **(Odumade *et al.*, 2011)**.

I.3.2. Origine de l'EBI-3

Le gène EBI-3 a été initialement découvert dans les LB en tant que gène induit par l'infection par l'EBV. Il code un récepteur cytokine de type 1 soluble de 34 kDa qui présente une similarité avec la sous-unité p40 de l'IL-12. L'EBI-3 est capable de former l'IL-27 lorsqu'il s'associe avec la sous-unité p28, et peut aussi former l'IL-35 lorsqu'il s'associe avec la sous-unité p35. Les gènes de l'EBI-3 sont présents chez les mammifères, les oiseaux, les reptiles et les poissons cartilagineux **(Secombes *et al.*, 2016)**.

I.3.3. Rôle de l'EBI-3

L'EBI-3 est impliqué dans l'activation des cellules T ainsi que dans la différenciation des cellules Th1, des cellules Th17 et des cellules T régulatrices (Treg). Il favorise également l'activation des cellules B et la production de cellules plasmatiques. De plus, nous avons observé que l'EBI-3 induit l'activation dépendante du temps de STAT3 dans les cellules T CD4+ et les cellules B. Ainsi, il pourrait jouer un rôle important dans les infections, l'inflammation et les troubles auto-immuns **(Ma *et al.*, 2019)**.

I.3.4. EBI-3 dans la maladie de Behçet

Le mécanisme par lequel l'EBI-3 est impliqué dans la pathogénèse de la maladie de Behçet reste obscur et mal élucidé. Une étude algérienne récente a démontré que cette cytokine est significativement élevée chez les patients atteints de Behçet avec manifestations vasculaires en comparant avec les patients sans manifestations vasculaires et les témoins **(Ghozali, 2022)**.

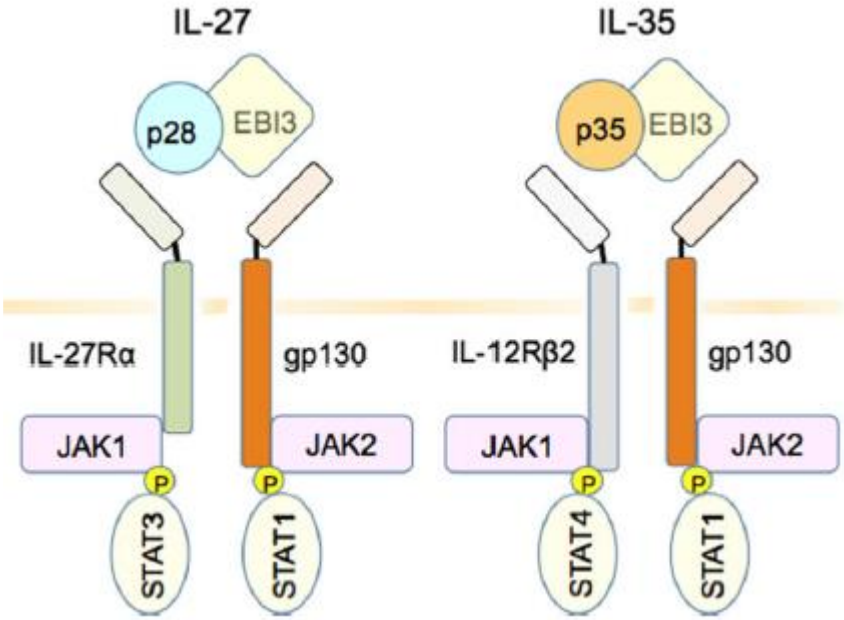

Figure 7. Cytokines de la famille IL-12, récepteurs et voies de signalisation IL-27 et IL-35. Cytokines de la famille IL-12, récepteurs et voies de signalisation. IL-27 et IL-35 sont hétérodimères et partagent les sous-unités et leurs récepteurs correspondants. La signalisation intracellulaire est assurée par l'activation de la famille Jak-STAT **(Choi *et al*., 2015)**.

Chapitre II

Matériel et Méthodes

Il s'agit d'une étude statistique de l'implication de l'EBI-3 dans la pathogenèse de la MB faite au niveau du laboratoire pédagogique 2.40, département de biologie, faculté des sciences, université M'hamed Bougara Boumerdes (UMBB) ; en collaboration avec le service de médecine interne du centre hospitalier universitaire (CHU) Lamine Debaghin (ex Maillot) Bab el Oued, service de médecine interne, et le service d'ophtalmologie du CHU Nefissa Hamoud (ex Parnet). Le travail a pris une durée de 3 mois (Mai – Juillet 2023).

L'étude a été portée sur 19 patients (14 hommes et 5 femmes) avec un groupe contrôle de 10 sujets qui est homogène en terme de sexe et d'âge avec les patients. Tous les participants (patients et témoins sains) ont remplis et signés une fiche de renseignement et de consentement avec la présence d'un médecin **(voir annexes).**

II.1. Matériel et réactifs

Toutes les manipulations ont été faites en respectant les conditions d'asepsie :

II.1.1. Matériel non biologique

- Béchers
- Barreaux magnétiques
- Cellule de Mallasses à double foyer
- Cuve pour spectrophotomètre
- Fioles jaugées
- Micropipette
- Embouts
- Eppendorfs
- Lamelles
- Plaques de culture à multi-puits (96 puits) en plastique
- Tubes EDTA et tubes secs
- Tubes Falcons
- Gants
- Blouse
- Masque
- Lunettes

II.1.2. Matériel chimique (Réactifs)

- **Phosphate-Buffered Saline (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.

- **Ammonium-Chlorure-Potassium (ACK)**

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

- **Le bleu de trypan**

C'est un colorant utilisé pour le test de viabilité cellulaire. Il permet de distinguer les cellules viables et non viables, en s'infiltrant dans les membranes plasmiques endommagées des cellules non viables les faisant apparaître en bleu.

- **Les réactifs de Griess Le Griess A**

Naphtyle éthylène diamine dihydrochloride, et le Griess B : le sulfanilamide, ont été utilisés pour le dosage des nitrites résiduels NO2 - dans les plasmas et les surnageants de cultures des PBMCs des patients et des contrôles. Les solutions de (Griess A 0.5%) et (Griess B 5%) ont été préparés dans le HCL à 20%.

- **NaNO2**

Utilisé pour la préparation de la gamme étalon des nitrites.

- **Roswell Park Memorial Institute medium (RPMI-1640)**

Le RPMI est un milieu utilisé en culture cellulaire. Il est traditionnellement utilisé pour la culture de cellules humaines ou de tissus isolés. Le RPMI-1640 complété par 10% de sérum de veau fœtal et 1% d'ATB (streptomycine et pénicilline).

II.1.3. Matériel biologique (échantillons et collecte du sang)

Les échantillons du sang ont été collectés dans des tubes EDTA, et placés immédiatement dans des glacières isothermes portatives pour préserver leurs intégrités biologiques durant le transport, car les qualités du sang commencent à diminuer quasiment dès le prélèvement. Une fois arrivés au laboratoire, les échantillons ont subis une centrifugation ; afin de récupérer le culot cellulaire pour effectuer des cultures, et le plasma a été conservé à -20°C pour des dosages ultérieurs.

II.2. Méthodes

II.2.1. Culture des cellules mononucléaires du sang périphérique (PBMCs)

Les PBMCs ont été isolées à partir du sang veineux de patients et de volontaires sains après centrifugation en gradient sur Ficoll et lavées deux fois avec 3 mL de (PBS), pH 7,2, en cas de contamination par des globules rouges, les culots cellulaires sont lavés avec 2 mL (ACK) pendant 2 minutes puis dilués avec du PBS. Les cellules sont ensuite diluées dans du RPMI complété. Elles ont ensuite été récoltés pour un test de viabilité avec du bleu de trypan puis suspendus en duplicate dans des plaques de 96 puits à fond rond à une densité de 106 cellules/mL. Les PBMCs ont été incubées pendant 24 heures à 37°C dans 5% de CO2.

Les cultures ont été réalisées comme ceci :

- **2 puits PBMCs naïfs** : témoins
- **2 puits PBMCs traités** : EBI-3 (100pg /mL)
- **2 puits PBMC traités** : EBI-3+ Anti EBI-3 (100ng/mL).

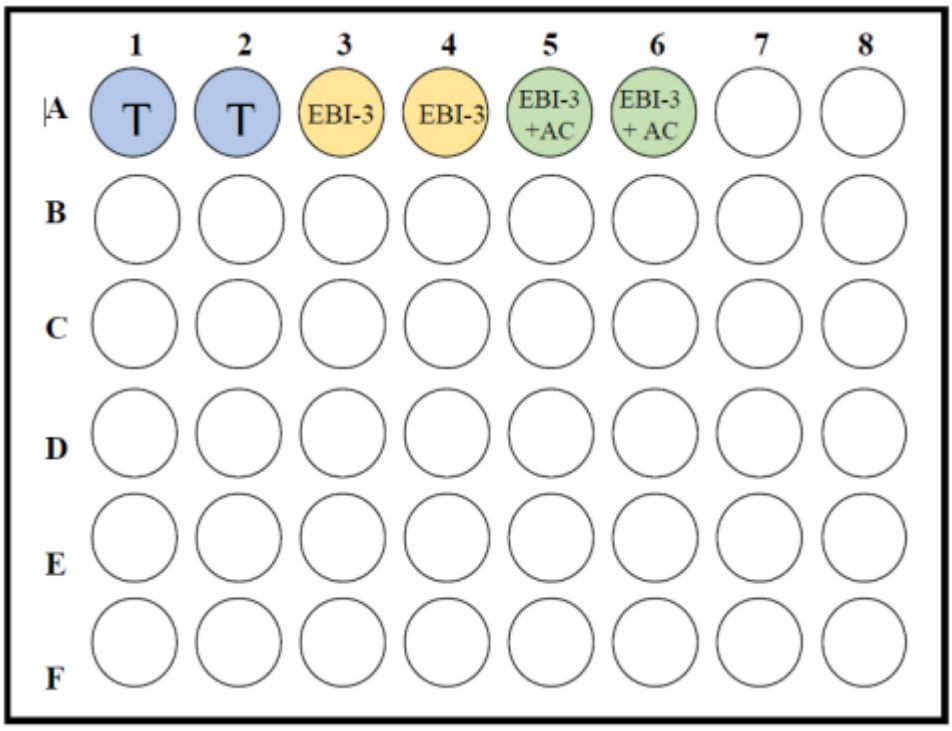

Figure 8. Schéma représentatif de la culture des PBMCs réalisée.

II.2.2. Dosage de l'oxyde nitrique

Les niveaux d'oxyde nitrique (NO) dans les surnageants ont été quantifiés en prenant la concentration de nitrite comme mesure de la production de NO, Le dosage des nitrites a été réalisé par méthode de Griess modifiée comme décrit par Touil-Boukoffa *et al* **(Touil-Boukoffa *et al*., 1998)**.

a. Principe

Il s'agit d'une réaction de diazotation, le nitrite forme un sel de diasonium avec le GRIESS B. Il est ensuite couplé avec le GRIESS A pour former un produit azophique chromophore qui absorbe fortement à 543 nm. Le réactif de Griess donne une coloration rose plus ou moins intense en fonction de la concentration de nitrite.

b. Mode opératoire

Le dosage s'effectue en ajoutant 50 µl de Griess B puis 50 µl de Griess A à 100µl de surnageant. Par la suite, on ajoute 800 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 doit être lue à une longueur d'onde de 543 nm sur le spectrophotomètre microlab 300 qui est proportionnelle à la coloration de nitrite dans l'échantillon. Une gamme étalon a été réalisée au préalable à partir d'une solution de NaNO2 à 500 µM. Les concentrations des nitrites résiduels ont été calculées par extrapolation sur la courbe obtenue.

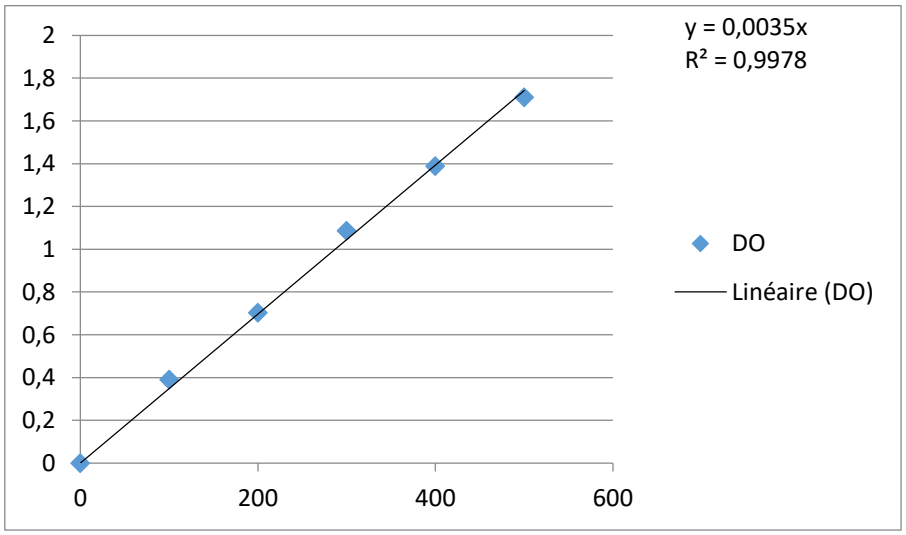

Figure 9. Courbe étalon des nitrites résiduels NO2.

II.2.3. Etude statistique

Les analyses statistiques ont été effectuées par le Logiciel GraphPad (Prism 8.0.1) pour Windows. Les normalités ont été testées par Chapiro-Wilk afin de choisir le test statistique qui convient.

Les comparaisons des groupes ont été effectuées avec Kruskal-walis. Sinon. Des analyses de corrélation ont été effectuées avec le test de corrélation de Spearman. ANOVA (un facteur) et suivi par le test HSD Tukey post Hoc pour comparer les groupes. Le niveau de significativité statistique a été déterminé à une valeur $p < 0.05$. Les résultats ont été exprimés en moyenne ± écart type.

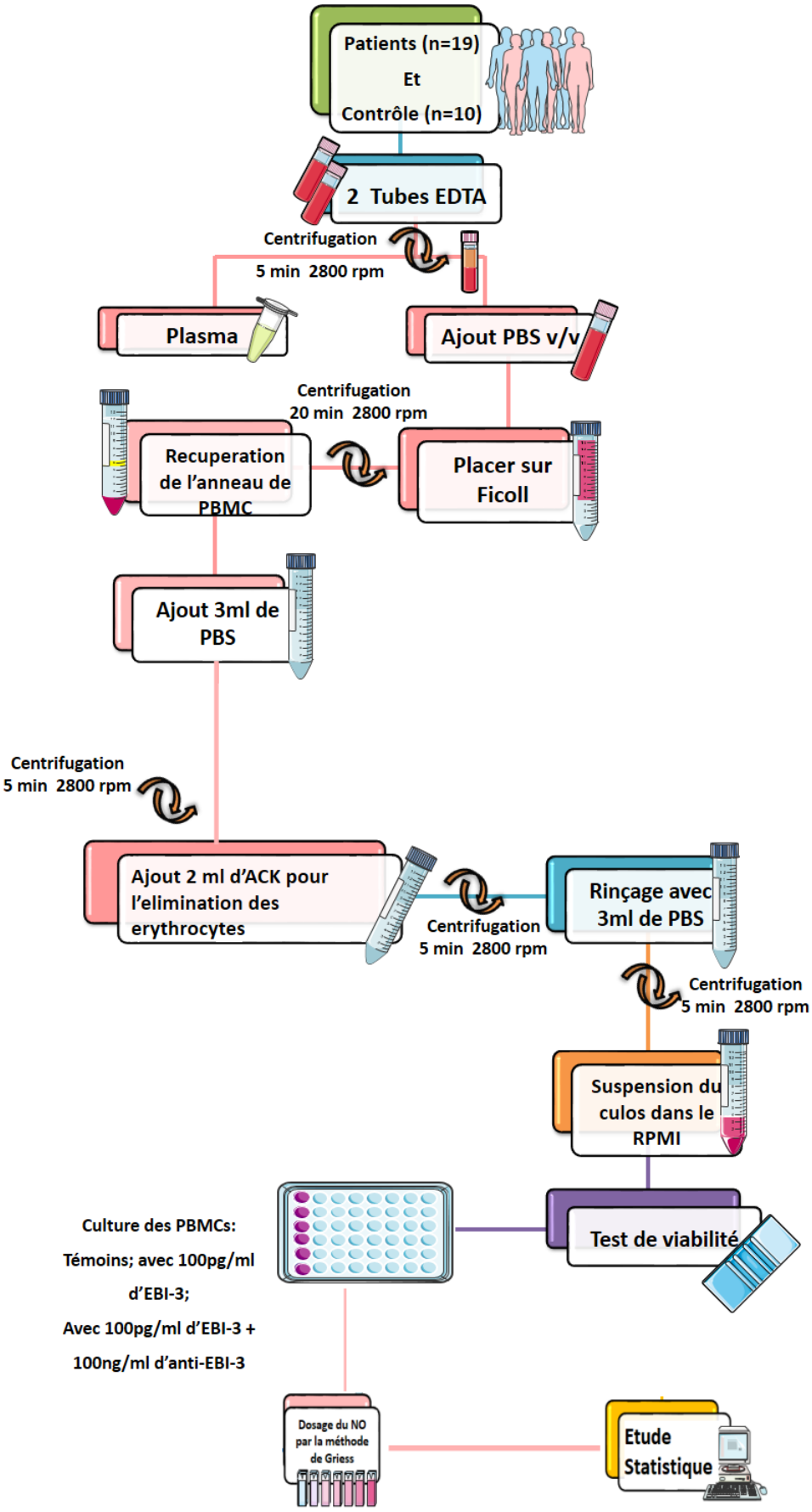

Figure 10. Schéma récapitulatif de la démarche expérimentale.

Chapitre III

Résultats et Discussion

III.1. Résultats

III.1.1. Description de la population

III.1.1.1. Selon le sexe

Notre série comporte 14 hommes et 5 femmes soit respectivement 73.68% et 26.32%. Le sexe ratio-global est estimé à 2.8. On constate que les hommes sont plus touchés par la MB que les femmes **(Figure 11)**.

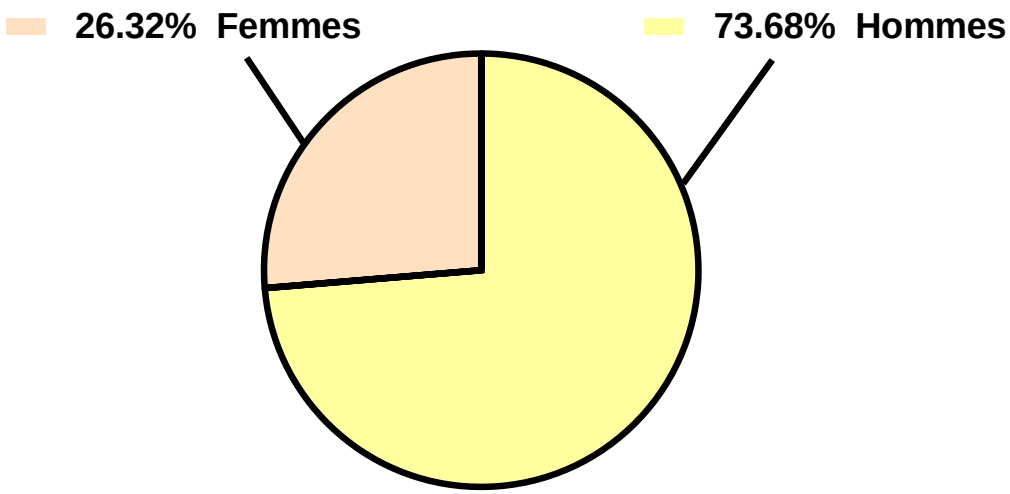

Figure 11. Répartition des patients selon le sexe.

III.1.1.2. Selon les manifestations

Différentes manifestations ont été marquées chez les patients pris en charge. Les manifestations les plus observées sont buccales et oculaires, suivies par les manifestations articulaires et génitales. Ensuite vasculaires et cutanée. Enfin, les manifestations digestives, pulmonaires et neurologiques **(Figure 12)**.

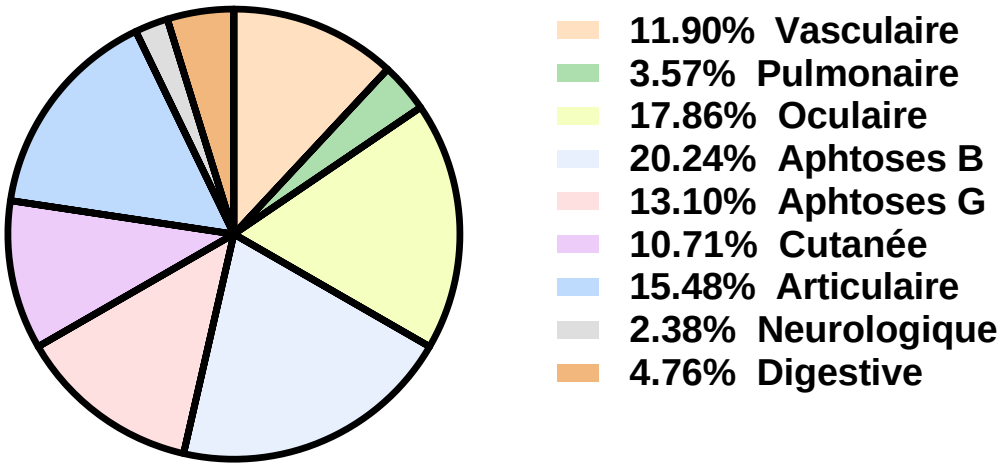

Figure 12. Répartition des patients selon les manifestations.

III.1.1.3. Selon l'activité

Dans notre population, on avait 4 patients ont été en phase active et 15 patients en phase de rémission soit respectivement 21.05% et 78.95% **(Figure 13)**.

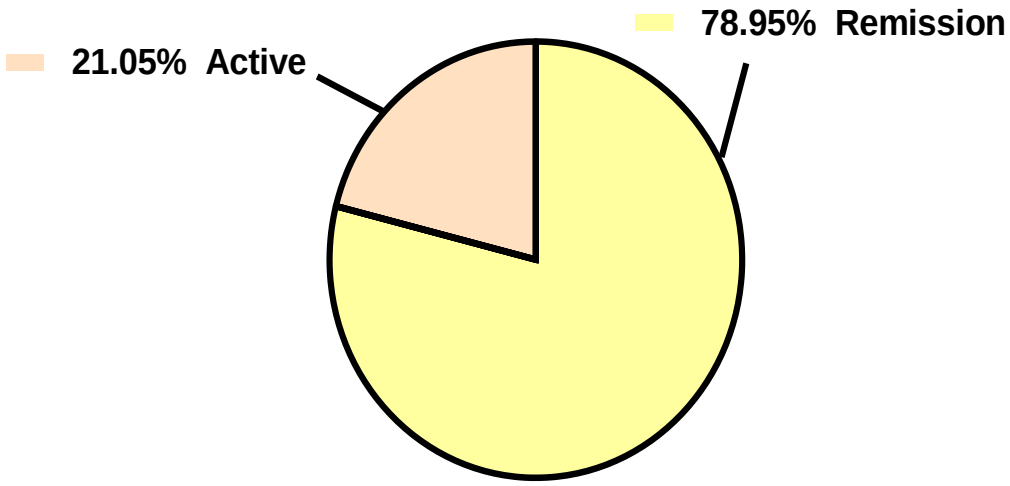

Figure 13. Répartition des patients selon l'activité de la maladie

III.1.1.4. Selon les traitements

Dans notre population, 31.71% de nos patients prennent de la colchicine, 26.83% prennent des immunosuppresseurs, 21.95% prennent des corticoïdes et 19.51% prennent des anticoagulants **(Figure 14)**.

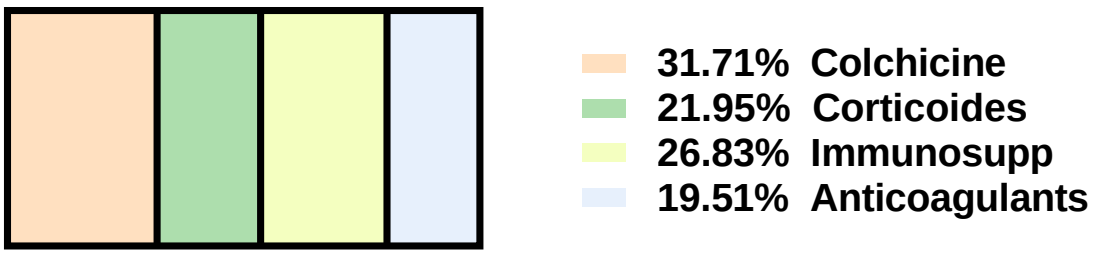

Figure 14. Répartition des patients selon leurs traitements.

III.1.2. Résultats de l'étude *in-vivo*

En ce qui concerne les résultats *in-vivo*, ils ont été extraits depuis la thèse de doctorat de notre promotrice Dr. NourElHouda Ghozali **(Ghozali, 2022)** sous le titre : study of innate immune dysfunctions during Behçet's disease different clinical manifestations : prognosis and therapeutic impact.

III.1.2.1. Dosage des taux du NO et de l'EBI-3 chez les patients atteints de la MB et chez les témoins sains

Dans cette étude il a été observé que les taux sériques du NO (P<0.0001) et de l'EBI-3 été hautement élevés significativement chez les patients atteints de la MB par rapport aux témoins sains (P=0.0004). Mais, lors de la comparaison des taux sériques du NO et de l'EBI-3 chez les patients, il a été remarqué que les taux de l'EBI-3 été plus élevés que les taux du NO **(Figure 15)**.

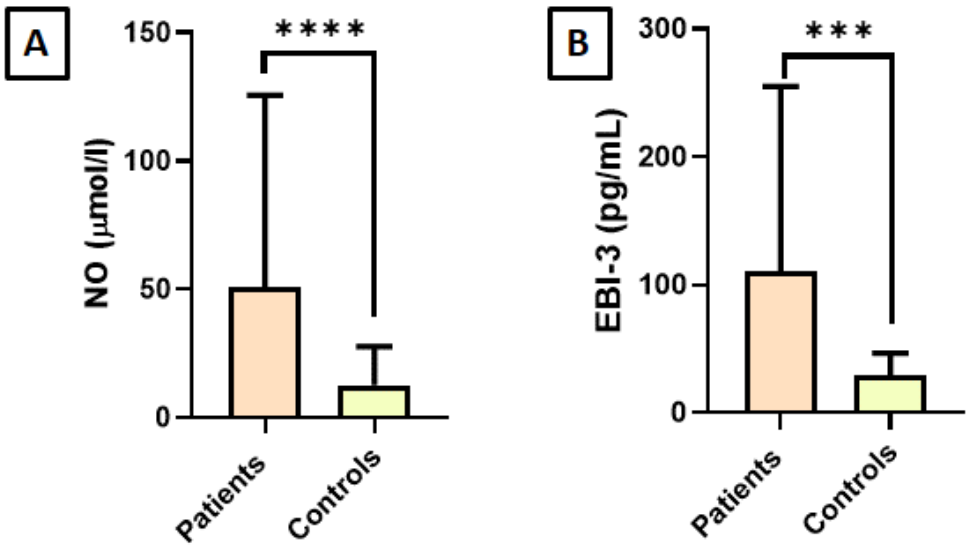

Figure 15. Les taux sériques du **A** : NO et **B** : EBI-3 chez les patients et les témoins. **** = différence significative P<0.0001, *** = différence significative P<0.001. Les données sont exprimées en moyenne et en écart type.

III.1.2.2. Évaluation des taux du NO et de l'EBI-3 au cours des différentes manifestations

Les résultats ont montré que les taux sériques du NO été significativement élevés dans toutes les manifestations de la MB comparés aux témoins (P<0.0001). En outre, les taux sériques de l'EBI-3 ont montré une différence significative seulement chez les patients avec manifestations vasculaires (P=0.0002). Une différence importante a été marquée en comparant les taux de l'EBI-3 chez les angio-behçet par rapport aux autres manifestations (P=0.0114) **(Figure16)**.

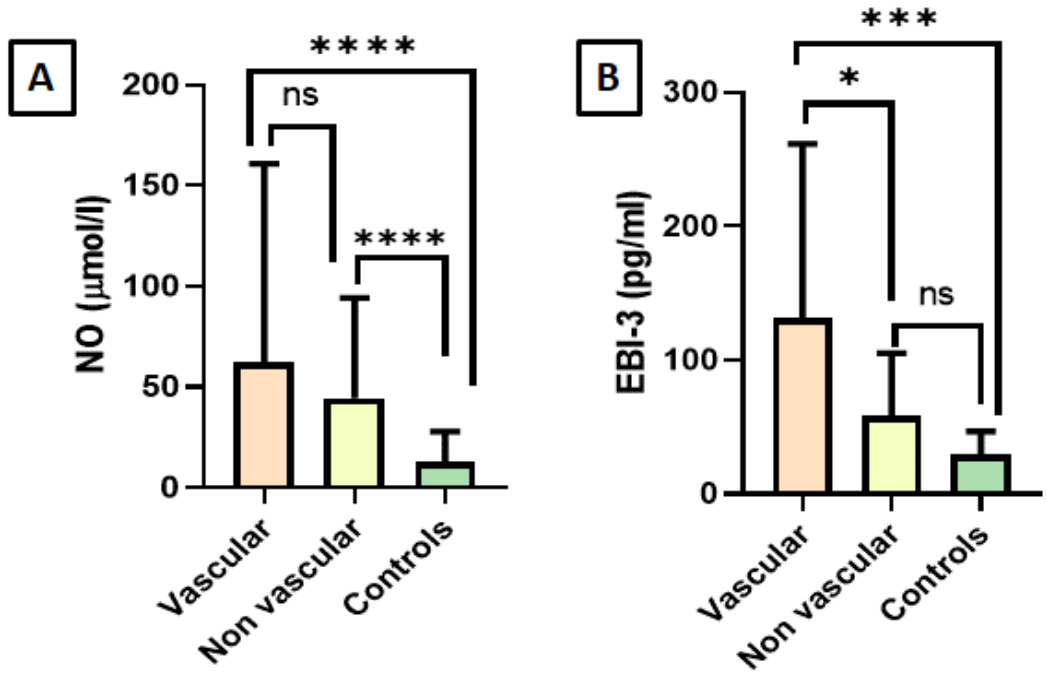

Figure 16. Les taux *in-vivo* chez les patients présentant des manifestations vasculaires et les autres manifestations et chez les témoins. **A** : NO, ns = différence non significative. **B** : l'EBI-3, ns = différence non significative P>0.05, **= P<0.01, *** = différence significative P<0.001, ****= différence significative P<0.0001. Les données sont exprimées en moyenne et en écart type.

III.1.3. Résultats de l'étude *in-vitro*

III.1.3.1. L'effet de l'EBI-3 sur la production du NO chez les contrôles sains

Dans le groupe des contrôles sains, aucune différence significative n'a été marquée **(Figure 17)**. L'EBI-3 a diminué la production du NO chez les PBMCs traités avec EBI-3 par rapport aux PBMCs naïfs, en outre aucune différence n'a été observée dans les PBMCs traités par EBI-3 + Anti EBI-3 par rapport aux PBMCs naïfs (P>0.05) **(Figure 17)**.

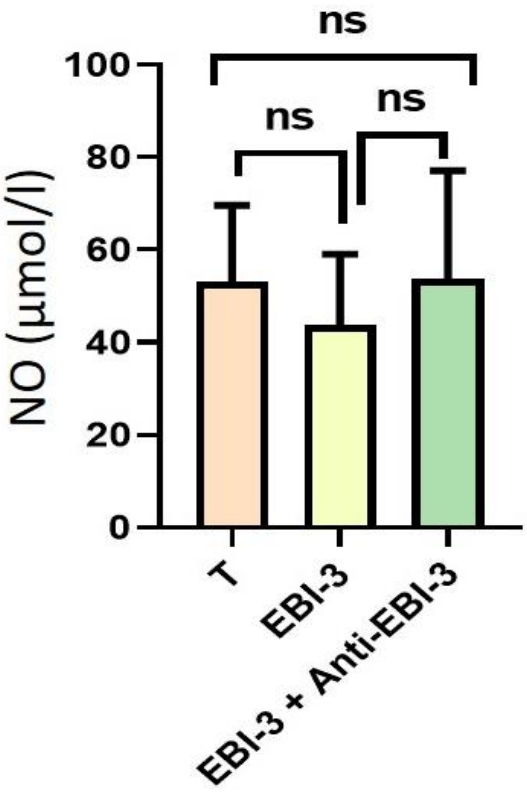

Figure 17. Effet de l'EBI-3 sur la production de NO par les PBMCs des Témoins sains, ns= no significant difference. Données exprimées en moyenne et écart-type. [EBI-3]= 100 pg/mL, [Anti-EBI-3] = 100 ng/mL.

III.1.3.2. L'effet de l'EBI-3 sur la production du NO chez les patients atteints de la maladie de Behçet

Dans notre étude, aucune différence significative de la production du NO par les PBMCs des patients atteints de la MB n'a été marquée **(Figure 18)**. En comparant la production du NO chez les PBMCs naïfs (témoins) des patients avec la production du NO chez les PBMCs traités par l'EBI-3, une légère augmentation non significative a été remarquée. Une légère augmentation non significative de la production du NO chez les PBMCs traités avec l'EBI-3 + Anti EBI-3 par rapport aux PBMCs traités avec EBI3 seulement et PBMCs naïfs a été observée **(Figure 18)**.

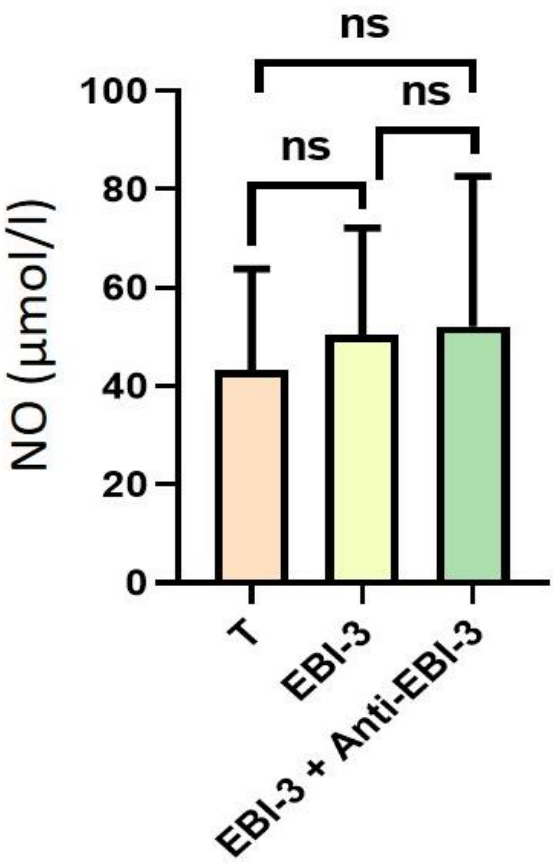

Figure 18. Effet de l'EBI-3 sur la production de NO par les PBMCs des patients atteints de la MB, ns= no significant difference P>0.05. Données exprimées en moyenne et écart-type. [EBI-3]= 100 pg/mL, [Anti-EBI-3] = 100 ng/mL.

III.1.3.3. L'effet de l'EBI-3 chez les patients avec atteinte vasculaire

a. Sur la production du NO

Dans le groupe des patients avec une atteinte vasculaire **(Figure 18)**, l'EBI-3 a augmenté la production du NO chez les PBMCs des patients par rapport aux PBMCs naïfs (P= 0.0117). De plus, les PBMCs traités par l'EBI-3 + anti-EBI-3 ont montré une diminution significative par rapport à ceux traités (P= 0.0117). De manière intéressante, aucune différence significative dans la production du NO par les PBMCs naïfs et les PBMCs traités par l'EBI-3+Anti EBI3 n'a été observée **(Figure 19)**.

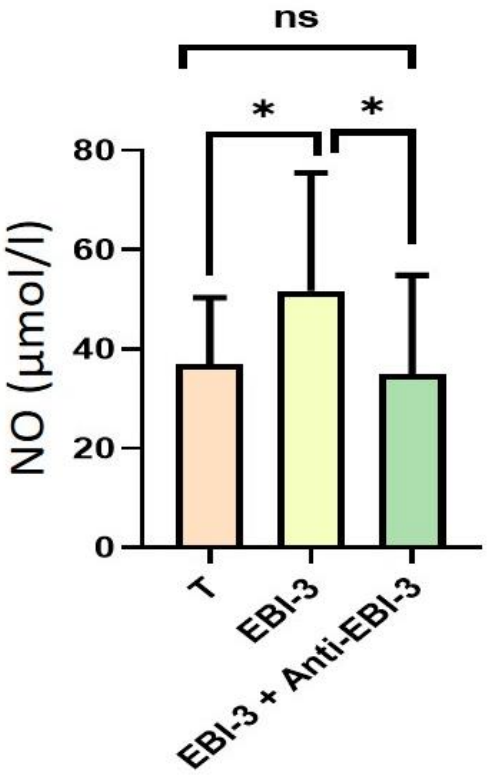

Figure 19. Effet de l'EBI-3 sur la production de NO produit par les PBMCs des patients avec atteinte vasculaire, ns= no significant difference, *: Significatif p=0.0195. Data sont exprimés en moyenne et écart-type. [EBI-3]= 100 pg/mL, [Anti-EBI-3] = 100 ng/mL

b. Sur la prolifération cellulaire des PBMCs

Une prolifération cellulaire importante des PBMCs a été observée lorsqu'ils ont été traités par l'EBI-3 par rapport aux témoins (milieu de culture seulement) cette prolifération a été moins importante voire proche à la prolifération des PBMC témoins, dans les puits avec EBI-3 + Anti-EBI-3. Les photos ont été prises après une observation directe des plaques de culture après 24h à l'aide d'un microscope inversé **(Figure 20)**.

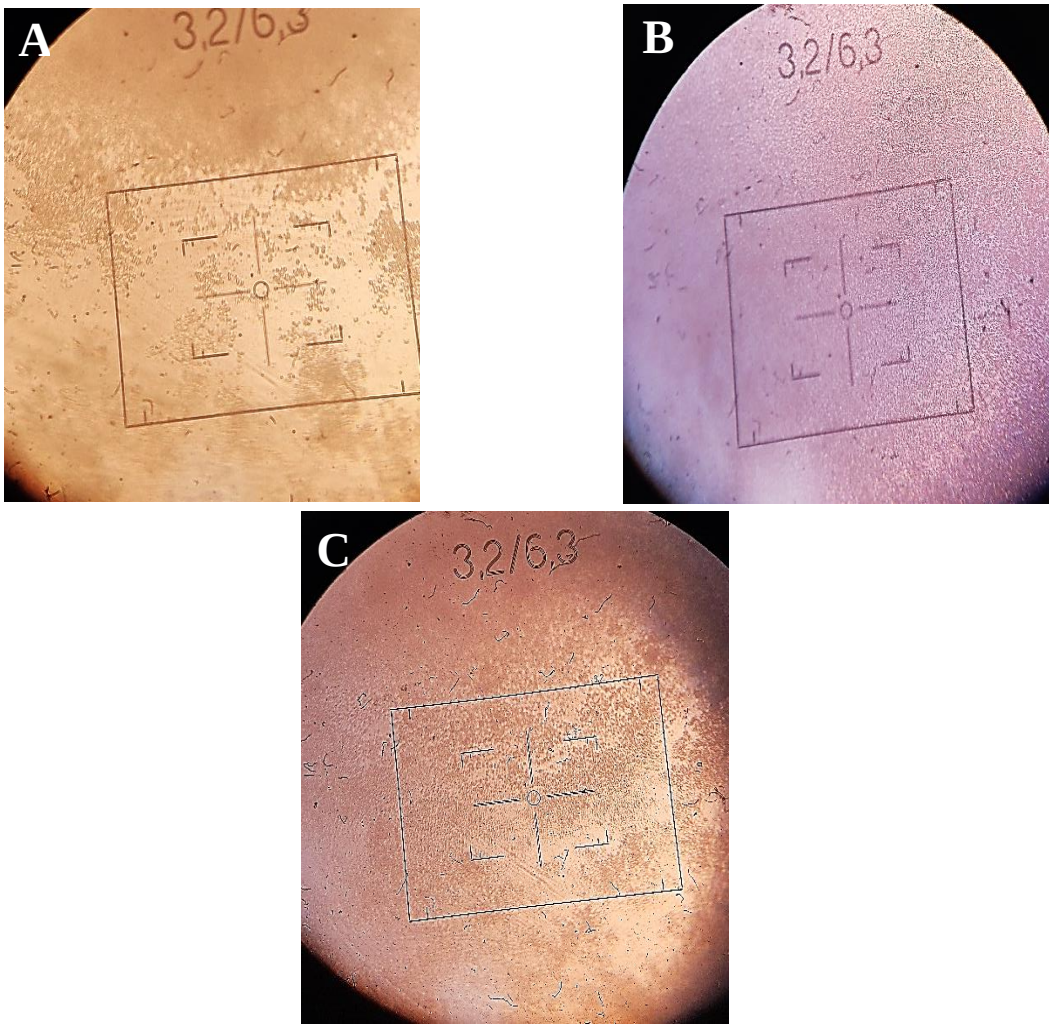

Figure 20. La prolifération cellulaire des PBMCs après une culture de 24h du patient avec une atteinte vasculaire, l'observation a été effectuée à l'aide d'un microscope inversé. **(A) :** Les PBMCs cultivés avec le milieu de culture seul, **(B) :** Les PBMC cultivées avec l'EBI-3 seule, **(C) :** Les PBMCs cultivés avec EBI-3 et l'anti EBI-3.

III.1.3.4. L'effet de l'EBI-3 chez les patients sans atteinte vasculaire

a. Sur la production du NO

Nous avons divisé nos patients en deux groupes afin d'examiner l'effet de l'EBI-3 sur les PBMCs des patients avec et sans atteinte vasculaire **(Figure 21)**.

Lors de la séparation des patients, nos données ont montré que l'EBI-3 n'a pas diminué la production du NO chez les patients sans atteinte vasculaire ($p > 0.05$). La neutralisation de l'EBI-3 par son AC a augmenté la production du NO dans cette catégorie de patients (sans atteinte vasculaire) d'une manière importante ($p = 0.0195$) **(Figure 21)**.

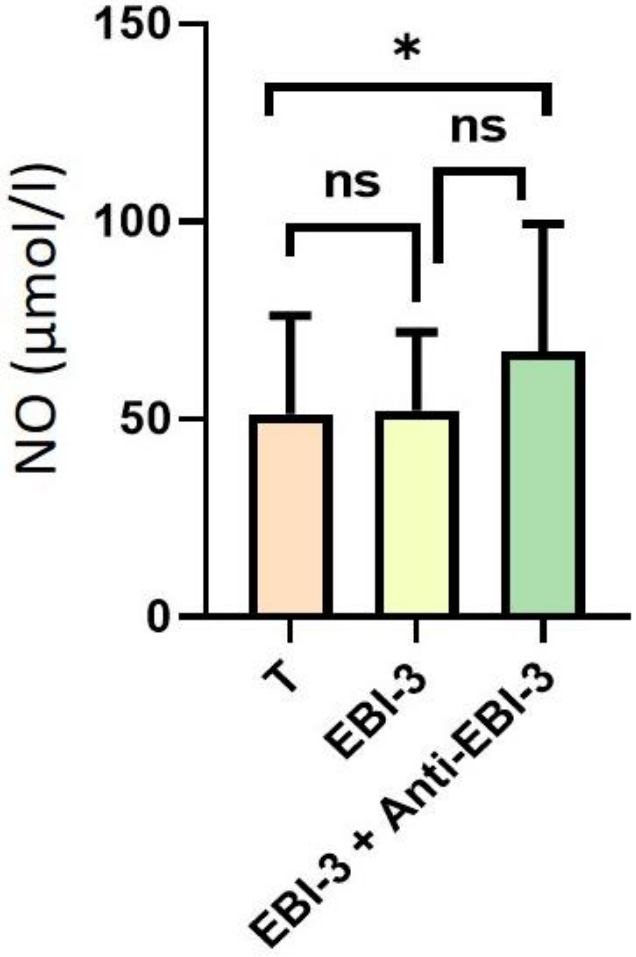

Figure 21. Effet de l'EBI-3 sur la production de NO produit par les PBMCs des patients sans atteinte vasculaire, ns= no significant difference, *: Significatif p=0.0195. Data sont exprimés en moyenne et écart-type. [EBI-3]= 100 pg/mL, [Anti-EBI-3] = 100 ng/mL.

b. Sur la prolifération cellulaire des PBMCs

Une prolifération cellulaire importante des PBMCs a été observée lorsqu'ils ont été traités par l'EBI-3 par rapport aux témoins (milieu de culture seulement) et à ceux avec EBI-3 + Anti-EBI-3. Les photos ont été prises après une observation directe des plaques de culture après 24h à l'aide d'un microscope inversé **(Figure 22)**.

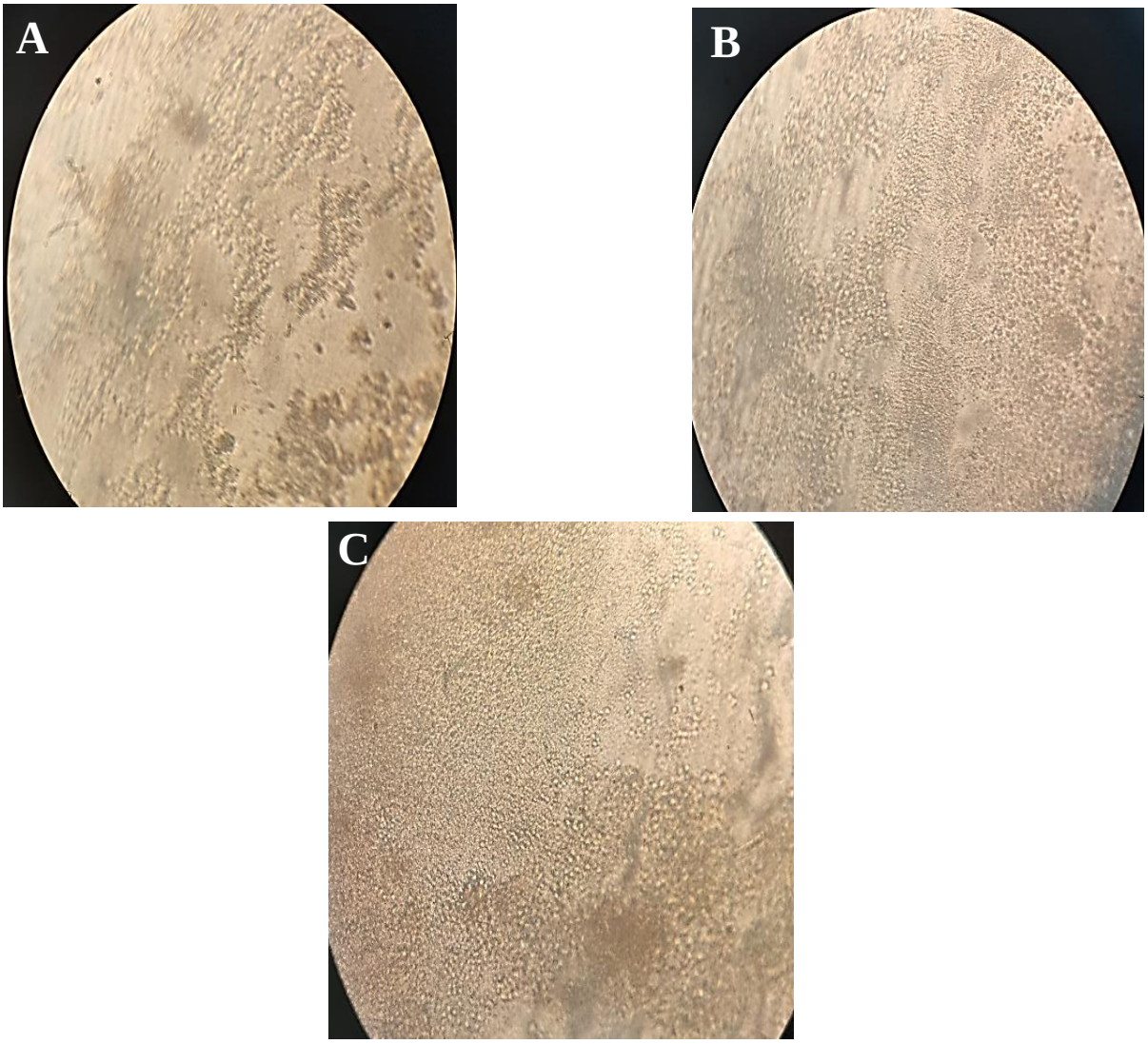

Figure 22. La prolifération cellulaire des PBMCs après une culture de 24h du patient sans atteinte vasculaire, l'observation a été effectuée à l'aide d'un microscope inversé. **(A) :** Les PBMCs cultivés avec le milieu de culture seul, **(B) :** Les PBMC cultivées avec l'EBI-3 seule, **(C) :** Les PBMCs cultivés avec EBI-3 et l'anti EBI-3.

III.1.3.5. Comparaison entre l'effet de l'EBI-3 sur le taux de production du NO au cours des différentes manifestations (vasculaire *Vs* non vasculaire)

Dans le but de confirmer l'effet différentiel de l'EBI-3 sur la production du NO selon le type de manifestation à savoir vasculaire et non vasculaire.

De manière importante le test de ANOVA à deux facteurs a révélé une différence significative entre les deux manifestations p= 0.0146, ce qui confirme l'effet différentiel de la cytokine testée **(Figure 23)**.

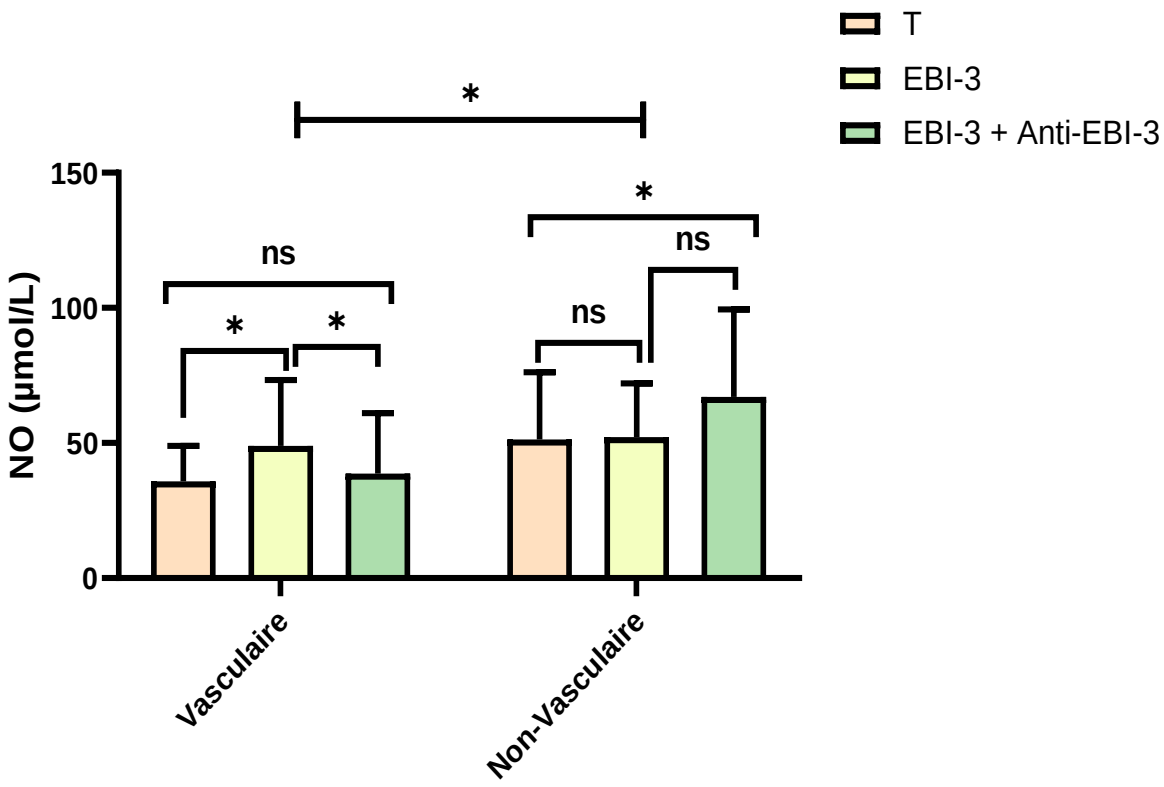

Figure 23. Les taux sériques du NO chez les témoins vasculaires et les témoins non-vasculaires

III.2. Discussion

La maladie de Behçet (MB) est une affection inflammatoire systémique dont la cause exacte n'est pas encore entièrement comprise. On la considère souvent comme une maladie génétiquement prédisposée qui peut être déclenchée par un agent infectieux ou un traumatisme. Ces déclencheurs peuvent entraîner une activation du système immunitaire, déclenchant ainsi une inflammation et l'apparition de symptômes cliniques **(Van der Houwen *et al*., 2022)**. La première cause de morbidité et de mortalité chez les patients atteints de la MB, présentant une vascularite, est les anévrismes suivies par la thrombose **(Yücel *et al*., 2020)**.

Le gène-3 induit par le virus Epstein-Barr (EBI-3) est une glycoprotéine sécrétée, elle se lie à la p28 pour créer l'interleukine-27 (IL-27) ou à l'IL-12p35 pour former l'IL-35. Les deux IL-27 et IL-35 ont des propriétés immunosuppressives, et en particulier, l'IL-35 a été associée à la fonction suppressive des lymphocytes T régulateurs (Treg) **(Tong *et al*., 2010)**.

La synthèse de l'oxyde nitrique (NO) à partir de la L-arginine est assurée par l'oxyde nitrique synthase inductible (iNOS) par l'activation de facteur nucléaire inductible, dont le NFκB **(Aktan, 2004)**. La production de NO est déclenchée en réponse à divers stimuli tels que les infections, certaines cytokines (IFNγ) ou les lipopolysaccharides. Ce composé joue un rôle crucial en tant que médiateur dans le processus inflammatoire de l'uvée. Des études ont révélé une augmentation des niveaux de NO dans différents compartiments biologiques lors de la maladie de Behçet. Cette augmentation est étroitement liée à l'activité de la MB. La hausse du NO à l'intérieur des tissus inhibe la migration des polynucléaires neutrophiles présents dans les lésions de la maladie **(Amoura *et al*., 2006)**.

Notre étude a pour objectif de démontrer pour la première fois l'implication de l'EBI-3 dans la pathogenèse de la maladie de Behçet. Dans ce contexte, nous avons exploré *in-vivo* et *in-vitro* le taux du NO ainsi que la concentration de l'EBI-3.

Selon la littérature, Les taux plasmatiques de NO sont plus élevés chez les patients atteints de la MB comparant aux témoins sains **(Chekaoui *et al*., 2018)**. Le NO est produit par l'iNOS en réponse à différentes endotoxines et cytokines pro-inflammatoires comme le TNF-α et l'IL-6 **(Dawson *et al*., 1960)**. Ces observations précédentes rejoignent nos résultats qui ont révélés que les taux du NO étaient significativement élevés au cours de toutes les manifestations de la maladie. Ce qui confirme l'implication de cette molécule dans la pathogenèse de la MB.

En outre, l'étude de Ghozali **(2022)** a rapporté que l'EBI-3 est corrélé avec des manifestations vasculaires ; une augmentation significative des taux de cette cytokine a été

observée chez les patients vasculaires en comparaison aux témoins. De là l'EBI-3 a été suggérée pour la première fois comme un marqueur potentiel de l'implication vasculaire dans la MB. Sur la base de ces résultats, nous avons cherché à comprendre les mécanismes par lesquels cette cytokine pourrait contribuer au développement des manifestations vasculaires. Dans ce contexte, nous avons exploré l'effet *in vitro* de l'EBI-3 sur la production d'oxyde nitrique par les PBMCs des patients avec et sans manifestations vasculaires. De plus, étudier l'effet de la cytokine sur la prolifération des cellules immunitaires à savoir les lymphocytes.

Nos résultats ont montré que l'EBI-3 a entraîné une augmentation significative de la production du NO chez les patients avec manifestations vasculaires. Cet effet était inversé après l'ajout de l'anticorps anti-EBI-3. En revanche, une régulation négative de la production du NO par l'EBI-3 dans le sous-groupe des patients sans atteintes vasculaires a été notée, par contre une augmentation significative du NO a été observée chez les PBMC traités avec EBI-3 et son anticorps, qui signifie une neutralisation de son effet. Ces données indiquent que l'EBI-3 pourrait exercer un effet différentiel dans la maladie de Behçet selon les manifestations. Cet effet pourrait être dû à l'inhibition ou l'activation par l'EBI-3 des voies de signalisation impliquées dans la synthèse du NO, telles que la voie STAT1/IRF1 qui est activée par l'IFN-γ **(Kim *et al*., 2017).**

Il a été suggéré que EBI-3 pourrait favoriser l'activation des cellules T helper et B et leur différenciation *via* la voie de signalisation gp130-STAT3. EBI-3 pourrait jouer un rôle important sur la différenciation des lymphocytes T et B, et donc dans l'infection, l'inflammation et les troubles auto-immuns. De plus, l'EBI-3 seule pouvait efficacement promouvoir la division des cellules B/T et la différenciation des cellules Th1, Th17, Treg et LB plasmatiques. Ces résultats indiquent que l'EBI-3 favorise la division et la différenciation des cellules Th et B **(Ma *et al*., 2019).**

De manière intéressante, nos résultats ont montré une prolifération importante des PBMC des patients vasculaires après 24h de traitement avec l'EBI-3 en comparaison avec les PBMC naïfs. Par contre, la prolifération a été contrôlée après l'ajout de l'anticorps anti-EBI-3. Au contraire, l'EBI-3 a diminué la prolifération des PBMC chez les patients sans atteintes vasculaires.

L'ensemble de ces résultats suggèrent pour la première fois que l'EBI-3 pourrait favoriser l'atteinte vasculaire et peut être considéré comme un marqueur pronostique de la manifestation vasculaire de la maladie de Behçet. De plus, ces données suggèrent que l'EBI-3 a un effet différentiel tout dépond la manifestation et elle est impliquée dans la régulation de la production du NO par la régulation de la prolifération cellulaire.

Conclusion Et Perspectives

IV.1. Conclusion

Notre étude (*in-vitro*) n'a pas montré de différences significatives lors de la comparaison entre l'effet de l'EBI-3 chez les patients et les contrôles, mais a mis en évidence par contre une augmentation significative de la production du NO par les cellules mononucléaires du sang périphérique (PBMCs) chez les patients avec atteinte vasculaire et au contraire une diminution significative du NO chez les patients sans atteinte vasculaire. Ainsi, nous avons pu observer une prolifération cellulaire importante après traitement par l'EBI-3 chez les patients présentant une atteinte vasculaire. Ces résultats nous permettent de suggérer que l'existence d'un effet pro-inflammatoire de l'EBI-3 chez les patients avec atteintes vasculaires, mais un effet anti-inflammatoire chez les patients sans atteintes vasculaire, faisant de l'EBI-3 un marqueur pronostique de la manifestation vasculaire de la maladie de Behçet.

IV.2. Perspectives

Nos travaux ont principalement été restreints par la taille limitée de l'échantillon étudié, ainsi que par le manque de diversité des atteintes vasculaires observées et le temps limité qui nous a empêchés d'étudier un éventail plus large de paramètres. Les perspectives en vue pour cette étude restent donc :

- ✓ l'élargissement du groupe d'étude
- ✓ l'élargissement de gamme de molécules étudiées (cytokines).
- ✓ la réalisation d'autres études approfondis afin de définir les mécanismes d'actions de l'EBI-3 sur PBMCs des patients avec atteinte vasculaire (voie de signalisations).
- ✓ Effet de l'EBI-3 sur les différentes cellules dendritiques.

Références Bibliographiques

A

Adamantiades, B. (1946). La thrombophlébite comme quatrième symptôme de l'iritis récidivante à hypopyon. In Annales d'oculistique ,179 (3),143-148.

Adler, S., Baumgartner, I., Villiger, P. M. (2012). Behçet's disease: successful treatment with infliximab in 7 patients with severe vascular manifestations. A retrospective analysis. Arthritis care research, 64(4), 607-611.

Afkari, B., Babaloo, Z., Dolati, S., Khabazi, A., Jadidi-Niaragh, F., Talei, M., et al., (2018). Molecular analysis of interleukin-10 gene polymorphisms in patients with Behçet's disease. Immunology letters, 194, 56-6.

Afshin, B., Kardeh, B., Banerjee, S., Golnaz, Y., Safari, A., Sahraian , M., Shapiro, L. (2020). Neuro-Behçet's disease An update on diagnosis differential diagnoses and treatment. Multiple sclerosis and related disorders, 39, 101-106.

Aktan F. (2004). iNOS-mediated nitric oxide production and its regulation. Life Sci, 75(6),639-653.

Aktas Cetin, E., Cosan, F., Cefle, A., Deniz, G. (2014). IL-22-secreting Th22 and IFN-γ-secreting Th17 cells in Behçet's disease. Modern rheumatology, 24(5), 802-807.

Alibaz-Oner, F., Direskeneli, H. (2021). Advances in the treatment of Behçet's Disease. Current rheumatology reports.

Alkaabi, J. K., Pathare, A. (2011). Pattern and outcome of vascular involvement of Omani patients with Behcet's disease. Rheumatology international, 31(6), 731-735.

Amoura, Z., Guillaune, M., Caillat-zucman, S., Wechsler, B., Piette, J. (2006). Phsiopathologie de la maladie de Behçet. La revue de médecine intere, 27, 843-853.

Ateş, A., Torgutalp, M., Okatan, E., Uslu, E., Dinçer, B., Yayla, E., et al., (2017). FRI0315 Clinical characteristics of vascular involvement in behcet's disease.

B

Balkan, E., Eyerci, N., Keles, S., Bilen, H., Akdeniz, N., Pirim, I. (2019). Effect of Colchicine on Th1 and Th17 Cytokines, Cytokine Receptors, and Chemokine Gene Expression Profiles in Behçet's Disease. Trends Journal of Sciences Research, 2, 39-47.

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(3), 302-311.

Behçet, H. (1937). Classics in Rheumatology. Dermatologische Wochenschrift, 36, 1152-1157.

Ben Dhifallah, I., Borhani-Haghighi, A., Hamzaoui, A., Hamzaoui, K. (2019). Decreased Level of IL-37 Correlates Negatively with Inflammatory Cytokines in Cerebrospinal Fluid of Patients with Neuro-Behcet's Disease. Iranian Journal of Immunology, 16(4), 299-310.

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

Borhani-Haghighi, A., Kardeh, B., Banerjee, S., Golnaz, Y., Safari, A., Sahraian, M.A., Shapiro, L. (2020). Neuro-Behçet disease: An update on diagnosis, differential diagnoses and treatment. Multiple sclerosis and related disorders, 39, 101906.

Bulur, I., Onder, M. (2017). Behçet disease: New aspects. Clinics in dermatology, 5, 421-434.

C

Calamia, K. T., Schirmer, M., Melikoglu, M. (2011). Major vessel involvement in Behçet's disease: an update. Current opinion in rheumatology, 23(1), 24-31.

Chekaoui, A., Lahmar, K., Belguendouz, H., et al. (2018). Increased IL-1β levels are associated with an imbalance of "oxidant/antioxidant" status during Behçet's disease. Eur Cytokine Netw, 29(3),95-102.

Chen, Y., Cai, J. F., Lin, C. H., Guan, J. L. (2019). Demography of vascular Behcet's disease with different gender and age: an investigation with 166 Chinese patients. Orphanet journal of rare diseases, 14(1), 1-7.

Choi, J., Leung, P. S., Bowlus, C., & Gershwin, M. E. (2015). IL-35 and autoimmunity: a comprehensive perspective. Clinical reviews in allergy & immunology, 49(3), 327-332.

Cohen, L. (1978). Etiology, pathogenesis and classification of aphthous stomatitis and Behcet's syndrome. Journal of Oral Pathology & Medicine, 7(6), 347-352.

Coulon, J., Piette, E. (1999). Aphtes, aphtose buccale récidivante et maladie de Behçet. Encyclopédie médico-chirurgicale, 10, 22-50.

D

Dawson, R. F., Solt, M. L., & Christman, D. R. (1960). Nicotine and its botanical sources. Annals of the New York Academy of Sciences, 90(1), 7-12.

De Chambrun, M., Wechsler, B., Geri, G., Cacoub, P., Saadoun, D. (2012). New insights into the pathogenesis of Behçet's disease. Autoimmunity Reviews, 11, 687-698.

Desbois, A. C., Wechsler, B., Cluzel, P., Helft, G., Boutin, D., Piette, J. C., et al., (2014). Cardiovascular involvement in Behçet's disease. La Revue de medecine interne, 35(2), 103-111.

Desbois, A-C., Terrada, C., Cacoub, P., Bodaghi, B., Saadoun, D. (2018). Les manifestations oculaires de la maladie de Behçet. La revue de médecine interne

Disteldorf, E. M., Krebs, C. F., Paust, H. J., Turner, J. E., Nouailles, G., Tittel, A., et al., (2015). CXCL5 drives neutrophil recruitment in TH17-mediated GN. Journal of the American Society of Nephrology, 26(1), 55-66.

Doumbia, A., Diakité, Y., Camara, S., Touré, M., Cissé, K., Touré, S., Traoré, M.,Traoré, O. (2023). Un cas de maladie de Behçet chez le sujet noir a sikasso, mali. Mali Médicale, 88, 62-64.

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. Nature immunology, 10(8), 857-863.

Düzgün, N., Ateş, A., Aydintu , O. T., Demir, Ö., Ölmez, Ü. (2006). Characteristics of vascular involvement in Behçet's disease. Scandinavian journal of rheumatology, 35(1), 65-68.

E

Eksioglu-Demiralp E, Kibaroglu A, Direskeneli H, Yavuz S, Karsli F,Yurdakul S, et al., (1999). Phenotypic characteristics of B cells in Behcet’s disease: increased activity in B cell subsets.Journal Rheumatol ,26,826-832.

Emmi, G., Becatti, M., Bettiol, A., Hatemi, G., Prisco, D., Fiorillo, C. (2019). Behçet's syndrome as a model of thrombo-inflammation: the role of neutrophils. Frontiers in immunology, 10, 1085.

Emmi, G., Bettiol, A., Silvestri, E., Di Scala, G., Becatti, M., Fiorillo, C., Prisco, D. (2018). Vascular Behçet’s syndrome an update. Internal and Emergency medicine, 14, 645-652.

Emmi, L. (2014). Behcet’s Syndrome: From Pathogenesis to Treatment. Springer-Verlag Italia, 227P.

Epstein, M.A., Achong, B.G., Barr, Y.M. (1964). Virus particles in cultured lymphoblasts from Burkitt’s lymphoma. Lancet ,1 ,702- 3.

Erkan, F., Gül, A., Tasali, E. (2001). Pulmonary manifestations of Behçet's disease. Thorax, 56(7), 572-578.

Evereklioglu, C. (2005). Current concepts in the etiology and treatment of Behçet Disease.survey of ophthalmology, 4, 297-350.

F

Fari Elfirdous, S., khibri, H., Ammouri, W., Raghouni, M., Naima, M., Mouna, M., Harmouch, H., Adnaoui, M., Tazi Merzalek., Z. (2022). L'atteinte digestive au cours de la maladie de Behçet. La revue de médecine interne, 43, 527-542.

Fei, Y., Li, X., Lin, S., Song, X., Wu, Q., Zhu, Y., et al., (2013). Major vascular involvement in Behçet's disease: a retrospective study of 796 patients. Clinical rheumatology, 32(6), 845-852.

Feigenbaum, A. (1956). Description of Behçet's syndrome in the Hippocratic third book of endemic diseases. The British journal of ophthalmology, 40(6), 355.

Francois, J., Moulinet, T., Neiter, E., Ehrardt, A., Conart, J., Angioi-Duprez, K. (2020). Article - Maladie de Behçet : description et analyse d'une série rétrospective monocentrique française de 51 patients. Elsevier.

Fukuda, S., Hashimoto, N., Naritomi, H., Nagata, I., Nozaki, K., Kondo, S., et al., (2000). Prevention of rat cerebral aneurysm formation by inhibition of nitric oxide synthase. Circulation, 101(21), 2532-2538.

G

Gaigne, L., Piperoglou, C., Banzet, N., Ghellab, L., Vély, F., Schleinitz, N., Ebbo, M. (2022). Anticorps anti-cytokines quel impact Clinique en pathologie humaine ? Anti-cytokine autoantibodies : Review of the literature. La revue de médecine interne, 9, 528-536.

Gharbi, E., Larbi, T., El Ouni, A., Bouslema, K., Hamzaoui, S., M'rad, S. (2015). Les manifestations dermatologiques de la maladie de Behçet. La revue de médecine interne, 36, 76-185.

Gholijani, N., Daryabor, G., Yazdani, M. R., Vazani, N., Shabbooei, B., Zahed, M., et al., (2020). Serum interleukin-37 (IL-37) and its gene polymorphism in Iranian Behcet's disease patients: Association with disease manifestations and activity. Meta Gene, 26, 100794.

Ghozali, N. (2022). Study of innate immune dysfunctions during Behçet's disease different clinical manifestations: prognosis and therapeutic impact (Diplome de doctorat 3ème cycle en Biotechnologie). Université de M'hamed Bouguara, Boumerdes, 167.

Ghozali, N., Belguendouz, H., Messaoudene, Dj., Hadjimi, Z., Ihammichene, S., Chekaoui,A., Benchabane,S., Terahi,M., Kediha, I., Ali Pacha, L., Touil-Boukoffa, Ch. (2021). In-vitro immunomodulatory effects of nicotine on Nitric Oxide, interleukin 1β and interleukin 37 production in human peripheral blood mononuclear cells (PBMC) from patients with Behçet disease. International Immunopharmacology, 101, 180-189.

H

Ha, Y. J., Park, J. S., Kang, M. I., Lee, S. K., Park, Y. B., Lee, S. W. (2018). Increased serum interleukin-32 levels in patients with Behçet's disease. International journal of rheumatic diseases, 21(12), 2167-2174.

Hamzaoui, K. (1990). Production of TNF-alpha and IL-1 in active Behcet's disease. Journal Rheumatol, 17, 1428-1429.

Hamzaoui, K., Haghighi, A.B., Ben Ghorbel, I., Houman, H. (2011). RORC and Foxp3 axis in cerebrospinal fluid of patients with Neuro-Behçet's Disease. Journal of Neuroimmunology ,233, 249-253.

Houman, M., Bel Feki, N. (2014). Physiopathologie de la maladie de Behçet. La Revue de médecine interne, 35,90-96.

I

Ideguchi, H., Suda, A., Takeno, M., Ueda, A., Ohno, S., Ishigatsubo, Y. (2011). Characteristics of vascular involvement in Behçet's disease in Japan: a retrospective cohort study. Clin Exp Rheumatol, 29(4), 47-53.

J

Johanning, J. M., Franklin, D. P., Han, D. C., Carey, D. J., Elmore, J. R. (2001). Inhibition of inducible nitric oxide synthase limits nitric oxide production and experimental aneurysm expansion. Journal of vascular surgery, 33(3), 579-586.

K

Kawakami, T., Ohashi, S., Kawa, Y., Takahama, H., Ito, M., Soma, Y., Mizoguchi, M. (2004). Elevated serum granulocyte colony-stimulating factor levels in patients with active phase of sweet syndrome and patients with active behcet disease: implication in neutrophil apoptosis dysfunction. Archives of Dermatology, 140(5), 570-574.

Kechida, M., Salah, S., Kahloun, R., Klii, R., Hammami, S., Khochtali, I. (2019). Cardiac and vascular complications of Behçet disease in the Tunisian context: clinical characteristics and predictive factors. Advances in Rheumatology, 58.

Ketari Jamoussi, S., Chaaba, H., Ben Dhaou, B., Boussema, F., Kochbati, S., Cherif, O., Rokbani, L. (2009). Atteinte Artérielle au cours de la Maladie de Behçet.: à propos de 7 cas. La Tunisie Medicale, 87(9), 583-588.

Ketari Jamoussi, S., Chaaba, H., Ben Dhaou, B., Kochbati, S., Boussema, F., Cherif, O., Rokbani, L. (2009). Atteinte veineuse au cours de la Maladie de Behçet.: à propos de 28 cas. La Tunisie Medicale, 87(12), 829-833.

Khemiss, M., Hajjaj, S., Blouza, I., Beji, M. (2022). Manifestations orales de la maladie de Behçet. La Tunisie medicale, 04, 303-308.

Kim, J., Park, J. A., Lee, E. Y., Lee, Y. J., Song, Y. W., Lee, E. B. (2010). Imbalance of Th17 to Th1 cells in Behçet's disease. Clin Exp Rheumatol, 28(4 Suppl 60), S16-9.

Ksiaa, I., Abroug, N., Kechida, M., Zina, S., Jelliti, B., Khochtali, S., Attia, S., Khairallah, M. (2019). Œil et maladie de Behçet. Journal français d'ophtalmologie, 42, 626-641.

Kural-Seyahi, E., Fresko, I., Seyahi, N., Ozyazgan, Y., Mat, C., Hamuryudan, V., Yurdakul, S., Yazici, H. (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, 60-76.

L

Lakhanpal, S., Tani, K., Lie, J. T., Katoh, K., Ishigatsubo, Y., Ohokubo, T. (1985). Pathologic features of Behçet's syndrome: a review of Japanese autopsy registry data. Human pathology, 16(8), 790-795.

Lin, C. H., Luo, D., Ma, H. F., Shen, Y., Zou, J., Guan, J. L. (2020). Clinical characteristics and factors influencing the prognosis of Behçet's disease complicated with vascular involvement. Vasa.

Liu, Z., Wang, Y., Wang, Y., Ning, Q., Zhang, Y., Gong, C., et al., (2016). Dexmedetomidine attenuates inflammatory reaction in the lung tissues of septic mice by activating cholinergic anti- inflammatory pathway. International immunopharmacology, 35, 210-216.

M

Ma, N., Fang, Y., Xu, R., Zhai, B., Houi, C., Wang, X., Jiang, Z., Wang, L., Liu, Q., Han, G., Wangi, R. (2019). Ebi3 promotes T and B-cell division and differentiation via STAT3. Molecular Immunology, 107, 61-70.

Mahr, A., Maldini, C. (2014). Épidémiologie de la maladie de Behçet. La Revue de médecine interne, 35 ,81-89.

Marumo, T., Schini-Kerth, V. B., Fisslthaler, B., Busse, R. (1997). Platelet-derived growth factor– stimulated superoxide anion production modulates activation of transcription factor NF-κB and expression of monocyte chemoattractant protein 1 in human aortic smooth muscle cells. Circulation, 96(7), 2361-2367.

Matsumura, N., Mizushima, Y. (1975). Leucocyte movement and colchicine treatment in Behcet's disease. The Lancet, 306(7939), 813.

Mejri, M., Said, F., Khanfir, M., Chelly, I., Haouet, S., Habib, H. (2018). Ulcérations des extrémités : une manifestation inhabituelle de la maladie de Behçet. La revue de médecine interne.

Mekouar, F., Elomri, N., Elqatni, M., Taberkant, M., Ghafir, D., Sekkach, Y. (2012). A painful swelling of the tigh. La Revue de medecine interne, 33(3), 162-164.

Melikoglu, M. A., Kacar, C., Cort, A., Yucel, G., Aslan, M. (2012). Oxidases and oxygenases in regulation of neutrophil redox pathways in Behçet's disease patients. Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry, 27(1), 12-17.

Mendoza-Pinto,C., Garcia-Carrasco,M., Jiménez-Hernandez,M., Jiménez-Hernandez, C., Riebeling-Navarro,C., et al., (2010). Etiopathogenesis of Behçet's disease. Autoimmunity Reviews, 9, 241-245.

Mitropoulos, D., Deliconstantinos, G., Zervas, A., Villiotou, V., Dimopoulos, C., Stavrides, J. (1996). Nitric oxide synthase and xanthine oxidase activities in the spermatic vein of patients with varicocele: a potential role for nitric oxide and peroxynitrite in sperm dysfunction. The Journal of urology, 156(6), 1952-1958.

Mzabi, A., Daada, S., Ben Hassine, I., Ben fredj, F., Anoun, J., Kermani, M., Rezgui, A., Nouira, R., Laouani Kechrid, C. (2018). Manifestations cutanéomuqueuses de la maladie de Behçet à propos de 80 cas. La revue de médecine interne, 39, 103-235.

N

Ning, Ma., Ying, F., Ruonan, X., Bing, Z., Chunmei, H., Xiaoqian, W., Zhenyu, J., Liang, W., Qilin, L., Gencheng, H., Renxi, W. (2019). Ebi3 promotes T and B-cell division and differentiation via STAT3. Molecular Immunology, 107, 61-70.

Noel, N., Drier, A., Wechsler, B., Piette, J-C., De Paz, R., Dormont, D., Cacoub, P., Saadoun, D. (2014). Manifestations neurologiques de la maladie de Behçet. La revue de médecine interne, 35, 112-120.

P

Protogerou, A., Lekakis, J., Stamatelopoulos, K., Aznaouridis, K., Karatzis, E., Ikonomidis, I., et al., (2004). Arterial wall characteristics in patients with Adamantiades-Behcet's disease. In Adamantiades-Behçet's Disease (pp. 399-404). Springer, Boston, MA.

S

Saadouli, D., Lahmar, A., Ben Mansour,K., El Afrit, N., Yahyaoui, S., El Afrit, M.(2021). Les manifestations oculaires au cours de la maladie de Behçet. Journal français d'ophtalmologie, 44, 196-202.

Saadoun, D., Wechsler, B. (2012). Behçet's disease. Orphanet journal of rare diseases, 7(1), 1-6.

Saadoun, D., Wechsler, B., Desseaux, K., Huong, D. L. T., Amoura, Z., Resche-Rigon, M., Cacoub, P. (2010). Mortality in Behçet's disease. Arthritis Rheumatism, 62(9), 2806-2812.

Sarica-Kucukoglu, R., Akdag-Kose, A., Kayabalı, M., Yazganoglu, K. D., Disci, R., Erzengin, D., Azizlerli, G. (2006). Vascular involveme3nt in Behçet's disease: a retrospective analysis of 2319 cases.

Secombes, C., Wang, T., Bird, S. (2016). Chapter 5 vertebrate cytokine and their evolution. The Evolution of the immune system, 87-150.

Shimizu, J., Izumi, T., Suzuki, N. (2012). Aberrant Activation of Heat Shock protein 60/65 reactive T cells in patients with Behçet's Disease. Autoimmune Diseases.

Sugita, S., Kawazoe, Y., Imai, A., Kawaguchi, T., Horie, S., Keino, H., et al., (2013). Role of IL-22-and TNF-α-Producing Th22 Cells in Uveitis Patients with Behçet's Disease. The Journal of Immunology, 190(11), 5799-5808.

T

Talaat, R. M., Sibaii, H., Bassyouni, I. H., El-Wakkad, A. (2019). IL-17, IL-10, IL-6, and IFN-γ in Egyptian Behçet's disease: correlation with clinical manifestations. European cytokine network, 30, 15-22.

Tohmé, A., Aoun, N., El-Rassi, B., Ghayd, E. (2003). Manifestations vasculaires de la maladie de Behçet : 18 observations dans une cohorte de 140 malades. Revue du Rhumatisme, 70(9), 766-722.

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

Tong, H., Miyazaki, Y., Yamazaki, M., Hara, H., Waldmann, H., Hori, S., Yoshida., H. (2010). Exacerbation of delayed-type hypersensitivity responses in EBV-induced gene-3 (EBI-3) - deficient mice. Immunology letters, 128, 108-115.

Torgutalp, M., Eroglu, D. S., Sezer, S., Yayla, M. E., Karatas, G., Yurteri, E. U., et al., (2022). Analysis of vascular involvement in 460 patients with Behçet's syndrome: Clinical characteristics and associated factors. Joint bone spine, 89(2), 105277.

Touil-Boukoffa, C., Bauvois, B., Sancéau, J., Hamrioui, B., Wietzerbin, J. (1998). Production of nitric oxide (NO) in human hydatidosis: relationship between nitrite production and interferon-γ levels. Biochimie, 80(8-9), 739-744.

Tugal-Tutkun, I., Guney-Tefekli, E., Urgancioglu, M. (2006). Results of interferon-alfa therapy in patients with Behçet uveitis. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol, 244, 1692-5.

Tursen, U. (2011). Pathophysiology of the Behçet's Disease. Pathology Research International.11P.

V

Van der Houwen, TB., Van Hagen, PM., Van Laar JAM. (2022). Immunopathogenesis of Behçet's disease and treatment modalities. Semin Arthritis Rheum,52:151956.

W

Wanvoegbe, FA., Turcu, A.,Bach, B.,Devilliers, H.,Muller, G.,Deschasse, C.,Besancenot, JF.,Bron,A., Bielefeld, P. (2019). Recours à la biothérapie dans la prise en charge de la maladie de Behçet dans un service de médecine interne. La revue de médecine interne, 40, 570-573.

Y

Yavuz, S., Akdeniz, T., Hancer, V., Bicakcigil, M., Can, M., Yanikkaya-Demirel, G. (2016). Dual effects of testosterone in Behcet's disease: implications for a role in disease pathogenesis. Genes Immunity, 17(6), 335-341.

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

Yoon, J. Y., Lee, Y., Yu, S. L., Yoon, H. K., Park, H. Y., Joung, C. I., et al., (2017). Aberrant expression of interleukin-10 and activation-induced cytidine deaminase in B cells from patients with Behçet's disease. Biomedical reports, 7(6), 520-526.

Yoshimi, R. (2019). The diagnosis and management of vasculo-Behçet's disease. Internal Medicine, 1657-18.

Yücel, Ç., Omma, A., Sertoğlu, E., Sezer, S., Turhan, T., Özgürtaş, T. (2020). Evaluation of atherogenic laboratory markers in Behçet's disease patients with vascular involvement. Archives of medical science, 16(3), 531.

Z

Zaidi, A., Green, L. (2019). Physiology of haemostasis. Anaesthesia and Intensive Care Medicine, 20(3), 152-158.

Zeidan, M.J., Saadoun, D., Garrido, M., Klatzmann, D., Six, A., Cacoub, P. (2016). Behçet's disease physiopathology: a contemporary review. Autoimmun Highlights.

Zhang, Z., PENG, J., HOU, X., DONG, Y. (2006). Clinical manifestations of Behcet's disease in Chinese patients. APLAR Journal of Rheumatology, 9(3), 244-247.

Zhou, Z. Y., Chen, S. L., Shen, N., Lu, Y. (2012). Cytokine and Behçet's Disease. Autoimmunity Reviews, 11, 699-704.

Annexes

Annexe 1 : Fiche de renseignement

Fiche de renseignement

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

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

Hospitalisé ☐ Externe ☐

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

Début de symptomatologie : .....

Signes cliniques majeurs : .....

.....

.....

Signes cliniques le jour de prélèvement : .....

.....

.....

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

.....

Examen HLA : .....

COVID-19 : Oui ☐ Non ☐ test PCR ☐ test antigénique ☐

test sérologique ☐

Observations :

Fumeur : Oui ☐ Non ☐

Autres maladies :

.....

.....

.....

.....

.....

Remarques

Annexe 2 : Consentement en langue française

CONSENTEMENT

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

Je soussigné(e),

Nom (Majuscules):..... Prénom:.....

Date de naissance: .....

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

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

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

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

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

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

Fait à ....., le____/____/_____

Signature

Annexe 3 : Consentement en langue arabe

موافقة

متعلقة بجمع عينات بيولوجية من المرضى المصابين
بمرض بهجت لهدف القيام بأبحاث علمية

أنا الموقع (ة) أسفله،

اللقب:..... .... الاسم:.....

تاريخ الميلاد: .....

نظرا لحصولي على المعلومات اللازمة التي تسمح لي باتخاذ قراري، و بكامل قواي العقلية و إرادتي المنفردة أوافق موافقة تامة على:

النقطة 1: **إمكانية استخدام بقايا العينات البيولوجية الموجودة بالفعل في ثلاجات المختبرات (الدم ، الأنسجة والسوائل البيولوجية ، إلخ ...) في الأنشطة البحثية المتعلقة بمرضي.**

النقطة 2: **إمكانية الاحتفاظ ببقايا العينات البيولوجية التي سيتم جمعها كجزء من علاجي المعتاد (الدم ، الأنسجة ، والسوائل البيولوجية ، وما إلى ذلك) ، بمجرد إجراء التحليلات التي وصفها طبيبي من قبل المختبر .**

النقطة 3: **إمكانية أخذ عينة من الدم خارج نطاق رعايتي المعتادة, و ذلك في سياق البحث** .

أفهم أن البيانات الشخصية والسريرية والبيولوجية سترتبط بالعينات المخزنة , و أوافق على أن يتم تسجيلها دون ذكر الاسم و اللقب.

بعد أن ناقشت بحرية وحصلت على إجابات لجميع أسئلتي ، أوافق بحرية وطواعية على المشاركة في هذه المجموعة البيولوجية ، وفقًا للشروط المحددة الواردة أعلاه.

حُرر في ..... ، بتاريخ ...../ ..... / .....

التوقيع

ملخص:

الهدف من هذا العمل هو البحث عن تأثير EBI-3 على مرض بهجت، مع التركيز على اللذين يعانون من التهابات الأوعية، وذلك من خلال الملاحظة تحت المجهر لتأثيرها على تكاثر الخلايا أحادية النواة للدم المحيطي للمرضى اللذين يقدمون هذا النوع من الأعراض بعد زراعة خلوية، بغياب EBI-3، في وجوده وفي وجوده مع الجسم المضاد له في آن واحد، من ثمّ معاينة أكسيد النيتريك في المادة الطافية لهذه الزراعات الخلوية بتقنية Griess المعدّلة. النتائج المتحصل عليها أظهرت اختلافا بارزا لتأثير EBI-3 بين المجموعة التي تعاني من التهابات الأوعية والمجموعة التي لا تعاني منها، لوحظ من خلال تكاثر الخلايا وكذا إنتاج مهم لأكسيد النيتريك عند المعالجة بـ EBI-3 للخلايا أحادية النواة للدم المحيطي عند مجموعة المرضى اللذين يعانون من التهابات الأوعية، جاعلا إياه علامة تنبؤية محتملة لهته الإصابات.

الكلمات المفتاحية: مرض بهجت، التهابات الأوعية الدموية، أكسيد النيتريك، EBI-3.

Résumé :

Le travail actuel a pour but de rechercher l'implication de l'EBI-3 dans la maladie de Behçet, en se focalisent sur ceux présentant des formes vasculaires, ceci a était fait par l'observation sous microscope de son effet sur la prolifération des cellules mononucléaires du sang périphérique (PBMCs) des patients présentant les formes vasculaires après culture cellulaire ; en absence d'EBI-3, en sa présence et en la présence d'EBI-3 et de l'anticorps anti-EBI-3 simultanément, puis par le dosage du NO dans le surnageant de ces cultures par la méthode de Griess modifiée. Les résultats obtenus ont permis de démontrer une variation significative de l'effet de l'EBI-3 entre les formes vasculaires et non-vasculaires, observée par une prolifération cellulaire ainsi qu'une production de NO plus importantes lors du traitement par EBI-3 des PBMCs des patients avec atteinte vasculaire, faisant de lui un éventuel marqueur pronostique de cette atteinte.

Mots clés : Maladie de Behçet, EBI-3, Angio-Behçet, Oxyde nitrique.

Abstract :

The current work aims to investigate the involvement of EBI-3 in Behçet disease, focusing on those with vascular forms, this was done by microscopically observing its effect on the proliferation of peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) in patients with vascular forms after cell culture; in the absence of EBI-3, in its presence and in the presence of EBI-3 and the anti-EBI-3 antibody simultaneously, then by the determination of NO in the supernatant of these cultures by the modified Griess method. The results obtained showed a significant variation in the effect of EBI-3 between vascular and non-vascular forms, observed by cell proliferation as well as a production of higher NO during EBI-treatment.3 of the PBMCs of patients with vascular involvement, making him a potential prognostic marker of this involvement.

Keywords : Behçet's disease, EBI-3, Angio-Behçet, Nitric Oxide.