

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE M'HAMED BOUGARA BOUMERDES FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



PROJET DE FIN D'ETUDES

En vue de l'obtention du diplôme

De MASTER 2

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Spécialité : Biotechnologie et Pathologies Moléculaires

THÈME :

Etude de l'effet immunomodulateur de la nicotine dans un modèle expérimental de la maladie de Behçet

Présenté par : **BEGGAR Selma** & **LEFKI Rym**

Soutenu le : 26/10/2020, devant le jury composé de :

Mr NOURLA	MCB / UMBB	Président
Mme YSMAIL DAHLOUK .L	MAB / UMBB	Examinatrice
Mr MESSAOUEDENE .D	MCB / UMBB	Promoteur
Mme GHOZALI .N	Doctorante / UMBB	Co-promoteur

« Année universitaire 2019/2020 »

Remerciement

Louange à Dieu le tout miséricordieux qui nous a guidé et éclairci le chemin du savoir et nous a donné force et patience pour réaliser ce modeste travail.

Nous remercions naturellement nos encadreurs **Mr MESSAOUDENE**, Maitre de Conférences B à la faculté des sciences (UMBB), et en tant que Directeur de mémoire, on vous doit notre passion pour l'immunologie depuis le début de notre cursus on vous remercie de nous avoir prodigué un enseignement profitable et une formation complète, recevez tout notre respect.

Mme GHOZALI, doctorante à l'UMBB qui fut la première à nous faire découvrir le sujet qui a guidé notre mémoire, pour votre orientation éclairée, soutien moral, encouragements et efforts fournis, on vous remercie profondément.

Nos remerciements les plus sincères pour **Mme YSMAIL-DAHLOUK**, Maitre assistante A, de nous avoir fait l'honneur d'examiner notre travail, de participer à notre formation et d'avoir partagé votre savoir.

Nous remercions également **Mr NOURI**, Maitre de Conférences B à la faculté des sciences (UMBB) qui a accepté de présider le jury de soutenance, pour tout ce que vous avez pu nous apprendre ; veuillez trouver ici l'expression de notre profonde et sincère reconnaissance.

Nous tenons aussi à remercier :

L'ensemble des enseignants et personnels du département de biologie à la faculté des sciences UMBB.

Nos familles et amis, d'avoir créé une ambiance chaleureuse, pour votre soutien en cette période.

Toute personne qui nous a soutenues et encouragées pour la réalisation de ce mémoire, notre camaraderie et toute la promotion 2020 de biotechnologie et pathologie moléculaire.

A tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

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

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

À celles qui me conseillent, qui ont été présentes pour moi et avec qui j'ai vécu les hauts et les bas, à celles qui me complètent, Ma confidente sœur Asma et ma petite sœur adorée, Nourelhouda. Merci d'être toujours à mes cotes.

À ceux qu'ils m'ont chaleureusement encouragé et supporté tous le long de mon parcours, mes frères Rabah, Zakaria et Billel.

À ma très chère grand-mère et tante pour leur gentillesse et amour. Qu'Allah vous préserve et fasse que je sois toujours entourée de vous.

À mes très chères belles sœurs Huria et Aicha, a mes nièces et mes neveux Anes, Meriem, Lina, Ihsane et Ryan. Vous êtes ma source d'espoir et de joie.

À celle qui me comporte toujours dans son cœur, qui m'a donné tout l'amour et l'importance que je mérite, à ma meilleure Meriem.

À mes très chères copines Meriem, sabrine et Radia, avec qui j'ai vécu de très bon moments.

À Rym, mon binôme dans cette merveilleuse aventure qui a été toujours à la hauteur, qui a contribué coûte que coûte pour terminer ce travail partagé plein de réussite et du succès.

À Mme Ghozali qu'été plus qu'une co-promotrice pour moi, merci pour tous ce que vous avez donné.

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

Selma

Dédicace :

A ma famille, qui m'a doté d'une éducation digne, son amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui, à tous ceux qui ont cru en moi

A la mémoire de mes chers parents qui m'ont donné toutes les chances pour réussir, ce modeste travail est une reconnaissance pour leurs longues années de sacrifices et bienveillance, aucun mot ne saurait exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai toujours pour vous.

A ma sœur Selma, qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse qui transforme mon stress en tranquillité, pour son amour son soutien et sa confiance en moi

A celui qui m'a épaulé, soutenu et qui est fier de chaque pas de mon parcours mon précieux frère Amine.

A mon frère Anis je t'offre ce travail en témoignage de gratitude pour le courage et les leçons que tu m'as appris, mon profond respect.

Vous n'avez pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études que dieu vous protège

A la sœur que la vie nous a donné exemple de force, patience et pureté Hayet, mille mercis

Aux princesses Fatiha, Chiraz et Serine vous êtes ma force. Au petit bonhomme Mohammed Cherif merci pour chaque sourire, tu es ma joie et mon bonheur. Neveu et nièces je vous aime

Aux familles Lefki ,Iratni Chettouh, Draoui et Zeddigha avec l'expression de ma reconnaissance, vous êtes ma source d'espoir et de motivation

A tous les cousins voisins et amis que j'ai connu jusqu'à maintenant particulièrement mes chères copines pour leurs aide, encouragement et soutien

A Mme Ghozali pour tout effort temps conseil et encouragement fournis

Sans oublier mon binôme Selma pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet, toute la réussite et le succès pour toi

Rym

Liste des abréviations

AB: aphtose buccal	EIU: Endotoxin-Induced Uveitis
ABR: aphtose buccal récidivant	ELISA: dosage d'immunoabsorption par enzyme liée. <i>(enzyme linked immune sorbent assay)</i>
AC: anticorps	ESR: Vitesse de sédimentation <i>(erythrocyte sedimentation rate).</i>
ACh: acetylcholine	GM-CSF : facteur stimulant les colonies de granulocytes-macrophages
AECE antibody anti-endotheliale cells	HLA: antigène leucocytaire humain <i>(Human leukocyte antigen)</i>
AG: aphtose genitale	HSP: protein de choc thermique. <i>(heat shock protein)</i>
AgS: L'antigène S de L'arrestine	HSV: herpes simplex virus
AOPP: produit protéique d'oxydation avancé. <i>(advanced oxidation proteine product)</i>	ICAM: Molécule d'adhésion intercellulaire. <i>(Intercellular Adhesion Molecule).</i>
ARN: Acide ribonucléique	ICBD: Critères internationaux de la maladie de Behçet <i>(International Criteria for Behçet's disease).</i>
ARNm: Acide ribonucléique messenger	IFN : Interféron
CAP: voie anti0inflammatoire cholinergique	IFNγ/α: Interferon gamma/alpha.
CD: Cluster of Differentiation.	
CFA: adjuvant complet de Freund	
CMV: cytomegalovirus	
cNOS: NOS constitutive	
CPA : les cellules présentatrices d'antigène.	
EBV Epstein–Barr virus	

Ig: immunoglobuline

IKB: Inhibiteur kappa B.

IL: Interleukine.

IL-R: récepteur d'interleukine.

IRBP: Interphotoreceptor retinoid-binding protein's

ISG: International Study Group for Behçet's Disease.

JAK : Janus Kinases

LB: lymphocyte B

LCR: liquide céphalo-rachidien

LPS: LipoPolySaccharide

LT $\gamma\delta$: lymphocytes gamma-delta

MA; maladie d'alzheimer

MAPk: A mitogen-activated protein kinase

MB: Maladie de Behçet

MEFV: La protéine de la fièvre méditerranéenne

MICA : Séquence A liée au polypeptide du CMH classe I.

MP: maladie de parkinson.

nAChRs: Récepteurs nicotiques de l'acétylcholine0

NADPH: nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

NB: Neuro-Behçet

NBD: maladie de neurobehçet

(neurobehçet disease)

NF-kB: Facteur nucléaire de l'amplificateur du gène du polypeptide léger Kappa dans les cellules B.

(Nuclear Factor of Kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells)

NK: natural killer

NK-reg: regulator natural killer

NKT: Natural Killer T

NO: monoxide d'azote

NOS: nitrite oxidesynthase

NOS1 / nNOS: NOS neuronale

NOS2 / iNOS: NOS inductible

NOS3 / eNOS: NOS endothéliale

PBMC: Cellules mononuclées du sang périphérique.

PBS: Solution saline tamponnée au phosphate. *(Phosphate-buffered saline)*

PCR: polymerase chain reaction.

PI3k: Phosphoinositide 3-kinases

PNN: Polynucléaires Neutrophiles.

ROR γ t: Récepteur orphelin lié à l'acide rétinolique gamma t.

(Retinoicacid-related Orphan Receptor gamma t).

ROS: espèces réactives d'oxygène

rtPCR: réaction en chaîne par polymérase de transcription inverse

(reverse transcription polymerase chain reaction).

SEP : sclérose en plaque

SNC: Système nerveux central

SNP: Système nerveux périphérique

SNPs : Polymorphisme nucléotidique unique

SOC3: Suppresseur de la signalisation des cytokines3

SRV-CoV: SARS coronavirus 2.

STAT: Transducteur de signal et activateur de transcription.

(Signal Transducer and Activator of Transcription).

TCR : recepneur de cellule T.

TGF- β : Facteur de croissance transformant (*Transforming Growth Factor*)

TH: lymphocyte T helper

TLR: toll like receptor

TNF-R: recepneur de TNF.

TNF- α : Tumor Necrosis Factor α

TPM: tropomyosine.

Treg: lymphocyte T regulatrice

UAE: Uvéite auto-immune expérimentale.

VIH: Virus de l'immunodéficience humaine.

Liste des figures :

Figure 1 :La prévalence la maladie de Behçet dans le monde.....	04
Figure 2 :Schéma hypothétique de la pathogénicité de la maladie de Behçet.....	06
Figure 3 :Gènes HLA, MIC et TNF.....	08
Figure 4 :Rôle des cellules immunitaires innées dans la pathogenèse de la maladie.....	11
Figure 5 :Rôle des cellules T et des cytokines dans la pathogenèse de la maladie.....	14
Figure 6 :Réaction chimique de la synthèse de NO.....	16
Figure 7 :Schéma de la voie de signalisation TLR4.....	18
Figure 8 :Stratégie thérapeutique graduée dans la maladie de Behçet.....	22
Figure 9 :Structure chimique de la nicotine.....	25
Figure 10 :La voie cholinergique anti-inflammatoire.....	27
Figure 11 :Schéma explicatif des principaux protocoles expérimentaux.	31
Figure 12 :La démarche expérimentale.....	35
Figure 13 :Schéma récapitulatif de la démarche expérimentale.....	38
Figure 14 :Modulation des effets de la nicotine sur plusieurs cytokines au cours de la neuroinflammation.....	40
Figure 15 :Effet de la nicotine sur l'expression des cytokines inflammatoires	41
Figure 16 :Effet de la nicotine sur le TNF α et l'IL-1 β mesurée par ELISA.....	42
Figure 17 :Effet de la nicotine sur la production des cytokines et chimiokines	43
Figure 18 :La nicotine inhibe la production de NO et l'activité de NOS, et réduit l'expression d'iNOS.....	45
Figure 19 :Coupe histologique de rétine montrant l'effet de la nicotine sur l'uvéite induite par le LPS.....	46
Figure 20 :Graphe de l'effet de la nicotine sur l'uvéite induite par le LPS.....	47
Figure 21 :Histopathologie de la moelle épinière des souris avant et après traitement a la nicotine: démyélinisation.....	48

Liste des tableaux

Tableau1: Les différentes isoformes de NOS.....	annexes
Tableau2: Caractéristiques de 5 systèmes de classification de la maladie de Behçet.....	21

Sommaire

Liste Des Figures	
Liste Des Tableaux	
Introduction.....	1
Chapitre I: Généralités- La Maladie De Behcet	
I.1 Historique.....	3
I.2 Epidémiologie	3
I.3 Manifestations Cliniques De La Maladie De Behçet.....	4
I.3 .1. Atteintes Cutanéomuqueuses.....	4
I.3. 2. L'uvéïte.....	5
I.3.3 L'atteinte Articulaire	5
I.3.4 L'angiobehçet.....	5
I.3.5 L'atteinte Gastrointestinale.....	5
I.3.6 La Neurobehçet.....	5
I.4. Etiologie.....	6
I.4.1. La Prédilection Génétique.....	7
I.4.2. Facteurs Environnementaux Et Infectieux.....	9
I.4.3. Les Mécanismes Immunopathologiques	10
I.4.4. Anomalies De La Réponse Inflammatoires.....	15
I.4.4.1. Les Protéines Du Choc Thermique (HSP)	15
I.4.4.2. Le Monoxyde D'azote.....	16
I.5. Diagnostic	20
I.6. Traitement.....	22
Chapitre II: La Nicotine	
II.1. Définition.....	25
II.2. Les Sources De La Nicotine.....	25
II.3. Critères du choix de la nicotine	26

II.4. Propriétés Thérapeutiques	26
---------------------------------------	----

Chapitre III: Model Expérimental

III.1. L'induction De La Maladie.....	29
III.1. Le Virus Herpes Simples HSV	29
III.2. La protéine de choc thermique.....	30
III. 3. L'antigène S.....	30
III. 4. Tropomyosine.....	30

Chapitre IV: Méthodologie

IV.1. Présentation de l'étude.....	33
IV.2. Matériel.....	33
IV.3. Méthodes.....	33

Chapitre V: Résultats Et Discussion

V.1. Résultats.....	40
V.1.1. L'effet de la nicotine sur les marqueurs immunitaires.....	40
V.1.2. L'histologie	45
V.2. Discussion.....	49

Chapitre VI: Conclusion Et Perspectives.....53

Références Bibliographique.....	55
--	-----------

Introduction

La maladie de Behçet (MB) est une vascularite multi systémique chronique. C'est une maladie relativement rare mais universelle qui s'étend tout au long de la route de soie (**Mahr et al, 2014**), caractérisée cliniquement par une aphtose, le plus souvent bucco-génitale associées à des manifestations systémiques dont les plus fréquentes sont cutanées oculaires et articulaires, et les plus graves sont neurologiques, cardiovasculaire et intestinales (**Duffy 1990 ; Lie 1992**).

Bien que la physiopathologie de la MB demeure en grande partie obscure, il est bien établi qu'elle implique des facteurs infectieux, génétiques et des anomalies de l'immunité à la fois innées et adaptatives soulevant des interrogations sur la nature de la maladie, auto-inflammatoires, auto-immune ou plutôt au carrefour des deux.

Cette maladie, présente des caractéristiques cliniques qui semblent être principalement auto-inflammatoires (qui se traduit par une inflammation accrue au niveau des vaisseaux sanguins). De plus, cette association engendre la difficulté du diagnostic ainsi que la prise en charge des patients atteints.

Cependant, le traitement de la maladie repose principalement sur la corticothérapie, les immunosuppresseurs (**Greco et al.2018**) et la colchicine (**Balkan et al.2019**).

Par ailleurs, de récents travaux fondamentaux ont permis une meilleure compréhension de la maladie et ont conduit à l'identification de nouvelles stratégies thérapeutiques. (**Houman et al., 2014 ; Chambrun et al, 2012**).

Comme la maladie de Behçet est une maladie inflammatoire, le but du traitement repose donc sur la modulation de l'inflammation, la nicotine étant une molécule activatrice des récepteurs cholinergiques (inhibiteur de la voie NFκB) présente donc des propriétés anti-inflammatoires qui a fait preuve thérapeutique dans une panoplie de pathologies inflammatoires et constitue donc une piste de recherche prometteuse ce qui nous incite à tester son efficacité et pour la première fois dans un modèle expérimental (MB provoquée par la Tropymsine).

L'objectif de notre étude est donc de mettre en évidence l'effet anti-inflammatoire de la nicotine dans la maladie de Behçet par le dosage des marqueurs immunitaires à savoir IL-6, IL-6R IL-1β, TNFα, IL10, IL-37 et le NO, ainsi que son effet protecteur contre les lésions tissulaire de la rétine et du cerveau, en effectuant des coupes histologiques.

CHAPITRE I

Généralités

La maladie de Behçet

I.1.Historique

La maladie de Behçet existe depuis l'antiquité mais sans qu'elle soit correctement définie. La première description a été faite par Hippocrate il y a 2500 ans, qui dans son ouvrage "Epidemion" décrit une maladie endémique en Asie Mineure, caractérisée par des ulcères aphteux, des déflexions des parties génitales et une atteinte ophtalmique aqueuse de caractère chronique faisant perdre la vue à de nombreuses personnes (**Feigenbaum A, 1956**). Puis la maladie a été identifiée en 1930 par un ophtalmologiste grec, Benedictos Adamantiades, après l'apparition d'un cas de Iritis à hypopion récidivant, jusqu'au 20e siècle, 1937, où un dermatologue turc, Hulusi Behçet, avait donné son nom donc depuis qu'il a été identifié comme la maladie de Behçet (**Davatchi et al., 2015**).

I.2.Epidémiologie

La maladie de Behçet est universel, d'une prévalence variée et ubiquitaire qui s'étend de l'Asie à la Méditerranée en passant par la Turquie et l'Iran, d'où le nom de " la maladie de la route de la soie" donc ils ont supposé que l'agent étiologique de la MB a été véhiculé par cette ancienne route de marchands (**Figure 1**).

La MB est fréquente en Turquie, avec une prévalence estimée à 420 pour 100.000 habitants, ce qui rend la fréquence de la MB dans la Turquie la plus élevée par rapport aux autres pays. Pour les autres pays d'Asie tels que le Japon, les estimations suggèrent une prévalence entre 7-13,5-100 000. En Europe, la prévalence varie entre 0,27 et 15,9/100 000 habitants avec un taux croissant du Nord au Sud (**Mahr et al., 2014**).

La MB reste rare dans d'autres continents tel qu'en Amérique, en Afrique et en Australie. Au Maghreb, elle est de 110/100000 habitants en Tunisie et plus de 900/100000 au Maroc (**Bennouna-Biaz et al., 1995; Benamour et al., 1998**). Cependant, les données épidémiologiques en Algérie ne sont pas encore établies (**Ghembaza et al., 2017**).

Des différences de prévalence en fonction de l'origine ethnique suggèrent que le risque de la maladie reste élevé chez des personnes ayant migré d'une zone de forte prévalence vers une zone de faible prévalence. L'âge moyen d'apparition de la maladie se situe entre la 2ème et la 4ème décennie de la vie en effet les formes des sujets jeunes sont plus sévères.

Il y'a une prépondérance masculine dans la région méditerranéenne contrairement à l'extrême orient où les femmes sont beaucoup plus touchées mais présentent des formes moins sévères que les hommes (**Leonardo et al., 2015**).

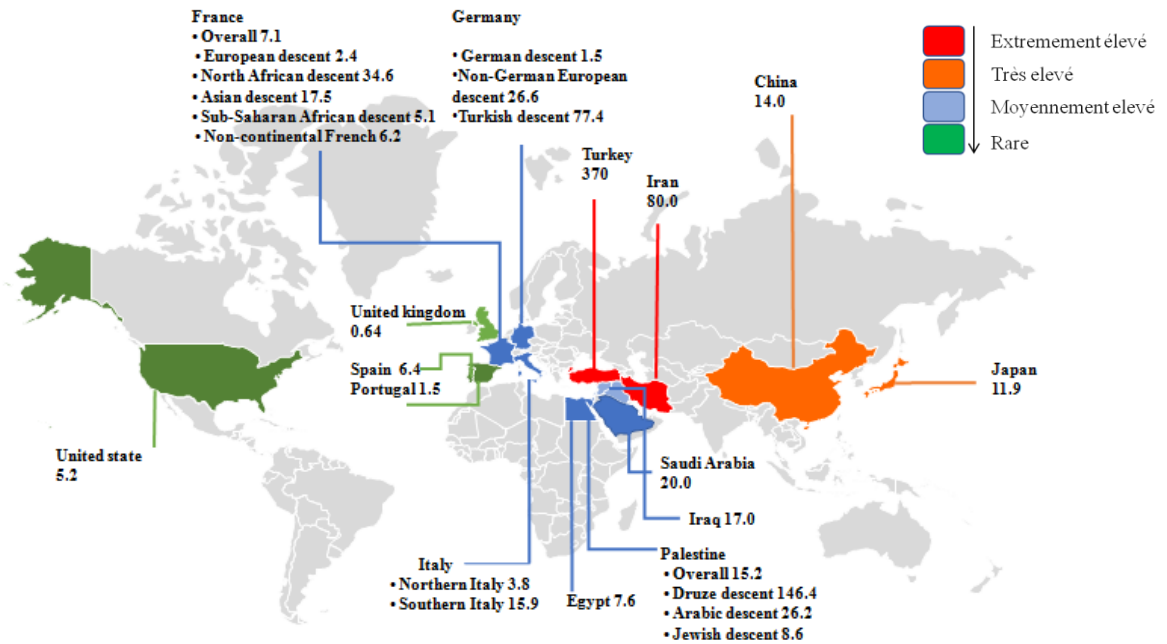


Figure 01 : La prévalence la maladie de Behçet dans le monde. Les chiffres représentent des taux de prévalence pour 100 000 habitants (Yazici et al., 2018, Adapté).

I.3. Manifestations cliniques

La MB se caractérise par différentes manifestations clinique dont certains sont dites majeurs ou prédominante et d'autres sont dites mineurs ou rare (Djaballah-Ider, 2018).

I.3.1.L'atteinte cutanéomuqueuse

Les ulcérations buccales sont généralement les premières ainsi que les plus fréquentes les symptômes apparaissent chez 97.5% des cas, mais elles ne sont pas systématiquement présentes. Ils constituent d'ailleurs le critère obligatoire de la MB. Ces aphtes peuvent être uniques ou multiples et peuvent toucher les gencives, la langue, les muqueuses labiales et buccales (Zuber et al., 2008 ; Davatchi F et al., 2016).

Les ulcérations génitales semblent être les secondes manifestations qui apparaissent elles touchent 65.7% des patients atteints de la maladie, et elles sont douloureuses et laissent des cicatrices après la guérison (Davatchi et al., 2016 ; Djaballah-Ider, 2018).

Les lésions cutanées touchent 64.6% des patients, on les retrouve sous forme des papules ou pustules, des lésions de type acnéique, des pseudo-folliculites, des érythèmes noueux, des ulcères, et des lésions nécrotiques (Zeidan, et al., 2016).

I.3.2.L'uvéïte

L'atteinte oculaire a été rapportée chez 58.1% des patients atteints, elle est plus fréquente et plus sévère chez les hommes que chez les femmes. Les lésions oculaires peuvent toucher la chambre antérieure « uvéïte antérieure à hypopion » et/ou la chambre postérieure « uvéïte postérieure » (Zeidan et al., 2016 ; Davatchi et al., 2016).

Les patients avec des lésions oculaires ont des symptômes variables, incluant une vision trouble, des douleurs oculaires, une photophobie, une larmoiement exagéré, une rougeur oculaire (Zuber et al., 2008).

I.3.3. L'atteinte articulaire

Elles touchent 47 à 69% des patients atteints de la maladie de Behçet et elle peut précéder de plusieurs années les autres manifestations. Les atteintes articulaires se caractérisent par de l'arthralgie, de la mono arthrite ou de la polyarthrite. Les articulations les plus touchées sont les genoux, suivis des poignets, des chevilles et des coudes (Mason et al., 1969 ; Zeidan et al., 2016).

I.3.4. L'angio-Behçet

L'ensemble des manifestations vasculaires au cours de la MB est appelé angio-Behçet. Elle affecte 7 à 49 % de patients dont la comparaison du sexe révèle une majorité masculine (Chekaoui, 2019). Les thromboses veineuses sont observées dans près de 30 % des cas. L'atteinte artérielle (thrombose, sténose, anévrisme) est plus rare (2 à 7 %) mais constitue un facteur pronostique péjoratif (Comarmond et al., 2014) et peuvent mener à des crises cardiaque ou des saignements de différents organes (Zeidan et al., 2016).

I.3.5. L'atteinte gastro-intestinale

Appelé aussi l'entéro-Behçet, elle touche 7% des patients atteints de la MB. Les principaux signes cliniques sont à type de douleur abdominale, diarrhées ou hémorragies digestives. Ces manifestations présentent beaucoup de similarité avec les maladies inflammatoires de l'intestin, la maladie de Crohn en particulier le diagnostic différentiel de la MB et la maladie de Crohn repose sur les autres manifestations associées, en particulier les lésions cutanéomuqueuses. (Wechsler et al., 2005 ; García-Palenzuela et al., 2012 ; Davatchi et al., 2016).

I.3.6. La neuro-Behçet

L'atteinte neurologique touche 2-44% des patients selon la population étudiée et elle semble être plus fréquente dans les pays du Moyen-Orient et des pays méditerranéens, cette atteinte apparaît en moyenne 5 ans après les premiers symptômes de la maladie chez

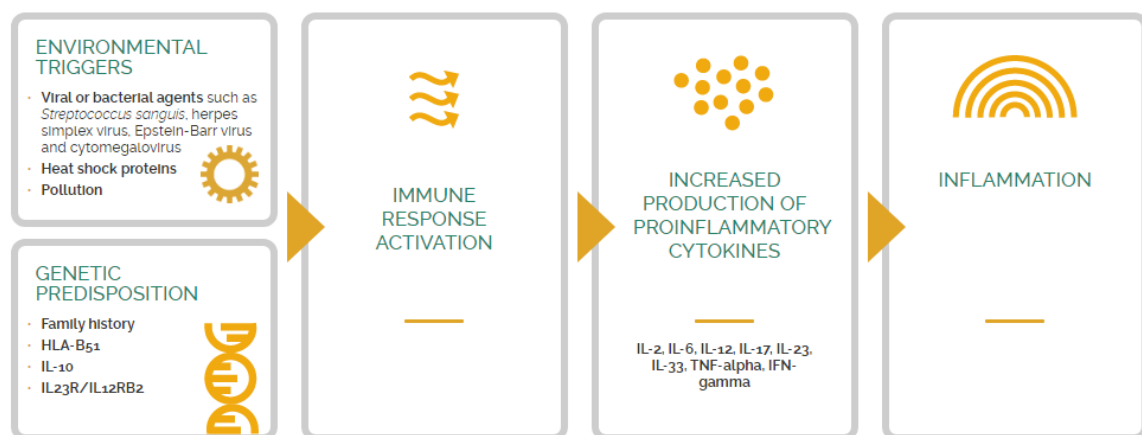
l'adulte mais elle est associée à une haute morbidité sur le long terme et à une mortalité estimé à 5-10% (; **Wechsler et al.,2005 ; Zeidan et al., 2016**).

Le système nerveux central (SNC) est plus impliqué (90% des cas) que le système nerveux périphérique (SNP) qui est très rare, elle peut être classé en trois types: Primaire, dans laquelle l'implication neurologique est directement due à la MB et est appelée NBD (neuro-Behçet disease) qui présente deux formes parenchymateuse (dans 80% des cas), et non parenchymateuse. Secondaire, dans lequel les manifestations neurologiques sont le résultat de complications neurologiques secondaires à une atteinte systémique de la MB. Ou tertiaire, dues aux thérapies utilisées pour manifestations systémiques, c'est à dire neurotoxicité du système nerveux central.

Des symptômes comportementaux et psychotiques, appelés «neuro-psycho-Behçet», peuvent être observés au cours de la MB. Les fonctions cognitives sont également susceptibles d'être affectées (**Siva et al., 2001 ; Siva et al., 2009**).

I.4.Étiologie

La MB est apparu depuis des siècles, mais son étiopathologie demeure inexplicée. L'hypothèse la plus répandue est qu'une réponse inflammatoire importante est élicitée par un ensemble de facteurs environnementaux tels que les agents infectieux sur un terrain génétiquement prédisposé capable d'induire des anomalies de la réponse inflammatoire et de la réponse immunitaire (**Amoura et al., 2006 ; Houman et al., 2014**) (figure2).



HLA, human leukocyte antigen; IFN, Interferon; IL, Interleukin; TNF, tumor necrosis factor.

Figure 2 : Schéma hypothétique de la pathogénicité de la maladie de Behçet.

(<https://www.behcetsconnection.com/about-behcets>)

I.4.1 La prédisposition génétique

La susceptibilité génétique a été suggérée par rapport à l'existence des antécédents familiaux, ainsi que la prépondérance de la maladie dans le bassin méditerranéen (**Piram et al., 2014**).

I.4.1.1. Gène HLA (Human Leukocyte Antigen)

Des études antérieures ont montré qu'une certaine prédisposition immunogénétique est présente dans le développement de la maladie de Behçet, qui est étroitement associée à HLA-B51. Selon une étude faite par Z. Amoura et son équipe, la fréquence de l'antigène HLA-B51 varie de 40 à 80 % chez les personnes atteintes, trois fois supérieure à celle observée chez les témoins, quelle que soit la prévalence de cet allèle dans la population générale. Cependant, une analyse des populations japonaise, grecque, espagnole et italienne, indique que la distribution des sous-types B 51 chez les malades est exactement la même que chez les sujets contrôles (**Amoura et al., 2006**), ainsi d'autres études récentes ont signalé une diminution de la fréquence de HLA B51 dans une population japonaise (**Chambrun et al., 2012**), de là on déduit que l'implication du gène HLA B51 dans la maladie de Behçet n'est pas un facteur de susceptibilité direct .

I.4.1.2. Gène du TNF (Tumor necrosis factor)

Le TNF α est une des cytokines pro-inflammatoires majeures de la MB. L'association entre la MB et Le polymorphisme de la région promotrice de TNF a été confirmée chez des patients japonais, de façon qu'il peut y avoir deux allèles dans le site promoteur: TNF* B1 et TNF* B2, qui sont associés à une production élevée de TNF par les monocytes et sont plus répandus chez les patients MB (**Verity et al., 1999**).

I.4.1.3. Gène MICA

Les mutations des gènes MIC (de MIC-A à MIC-E), codant pour des protéines qui présentent une faible homologie avec les molécules HLA classiques (20 à 35 %), sont à l'origine d'une reconnaissance anormale des protéines d'HLA par le système immunitaire (**Deng et al., 2018**). Il a été suggéré qu'un déséquilibre de liaison entre l'allèle MICA-A6 ou MICA-A9 et HLA-B51 est une des causes de l'augmentation du risque de développer la maladie de Behçet (**Hughes et al., 2005**) (**Figure 3**).

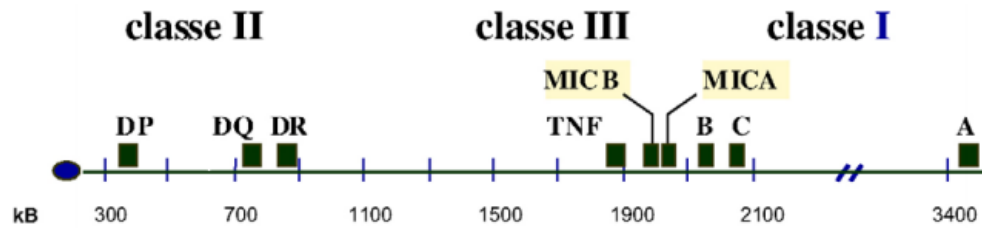


Figure 3: Gènes HLA, MIC et TNF (Amoura et al., 2006).

I.4.1.4. Autre gènes

a. Gène MEFV

Des études récentes ont suggéré que les mutations du gène codant pour La protéine de la fièvre méditerranéenne (MEFV) pourraient agir comme modificateurs dans la maladie de Behçet (Deng et al., 2018).

b. Gène d'IL 10

Les polymorphismes dans le gène codant a l'IL 10, une cytokine anti-inflammatoire, ou son promoteur peuvent entraîner des modifications dans ces fonctions immunitaires, en contrôlant l'activité des LT, les NK, et même l'activité des macrophages (Wakefield et al., 1992).

ces polymorphismes sont associés à une expression réduite de cette cytokine anti-inflammatoire chez les personnes atteintes de la MB par rapport au témoins (Remmers et al., 2010).

c. Gène codants pour l'IL 1 et l'IL 6

Les interleukines 1 et 6 sont des cytokines pro-inflammatoires majeurs chez les patients atteints de la MB et elles sont considérées comme des principaux médiateurs inflammatoires sécrétés par les leucocytes menant au développement de la maladie (Chekaoui et al., 2018 ; Karasneh et al., 2003).

Il s'est avéré que les polymorphismes du gène IL-6 jouent un rôle dans les maladies inflammatoires et auto-immunes chroniques. Dans une étude portant sur une population coréenne une augmentation des taux plasmatiques d'IL-6 et une expression accrue de l'ARNm d'IL-6 ont été observées chez des patients porteurs de l'allèle IL6 vntr *C (Chang et al., 2005).

d. Gène ICAM

ICAM est une glycoprotéine de surface appartient à la famille des immunoglobulines, L'hyper expression de cette molécule d'adhésion intracellulaire pourrait contribuer au recrutement des neutrophiles (**Amoura et al., 2006**).

e. STAT 4

L'association entre le STAT4 et la MB a été signalée pour la première fois dans une population chinoise (**Hou et al., 2012**). Cette analyse a été ensuite reproduite dans des populations coréenne, turque, et iranienne (**Ortiz et al., 2014**) et elle a révélé la présence d'un SNP dans le STAT4, rs897200 qui pourrait jouer un rôle dans la pathogenèse de la MB à cause d'une expression accrue de gène de STAT4 et une hausse production de l'IL 17 (**Hou et al., 2012**).

I.4.2. Facteurs environnementaux et infectieux

I.4.2.1. L'infection bactérienne

Plusieurs agents infectieux ont été étudiés, dont les bactéries telles que le *Streptocoque*, les *Mycobactéries*, *Helicobacter pylori*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ou *Mycoplasme*. Le *Streptocoque*, en particulier *sanguis*, a été le plus incriminé (**Mumcu et al., 2007**). Cet agent infectieux est impliqué dans le déclenchement et l'entretien des poussées de la maladie. Cette hypothèse est basée sur plusieurs constatations tels que la récurrence des aphtes buccaux suite aux infections oto-rhino-laryngologiques, l'induction d'une réaction d'hypersensibilité lors de l'injection d'extraits d'antigènes streptococciques et intradermiques et surtout la diminution de la fréquence et de l'intensité des poussées d'aphtoses lors de l'utilisation d'une prophylaxie anti streptococcique au long cours (**Calgüneri et al., 1996**).

I.4.2.2. L'infection virale

Des infections virales, en particulier celle par le virus herpès simplex (HSV), le cytomégalovirus (CMV) et l'Epstein Barr virus (EBV) ont été évoquées comme de possibles facteurs étiologiques (**Mumcu et al., 2007**). Les taux d'infection à HSV et des anticorps anti-HSV sériques étaient plus élevés chez les patients avec MB que chez les contrôles (**Tojo et al., 2003**).

I.4.3.les mécanismes immunopathologiques

I.4.3.1 rôle des cellules immunitaires innées

A. Les neutrophiles

Les neutrophiles chez les patients atteints présentent une activation intrinsèque élevée et participent généralement à une infiltration périvasculaire des lésions (**Eksioglu et al., 2001**). Les anomalies du stress oxydatif médiées par les neutrophiles peuvent jouer un rôle important dans la pathogenèse de la MB, et les produits protéiques d'oxydation avancés (AOPP), peuvent être un marqueur utile pour surveiller la progression et la gravité de l'activité de la maladie chez les patients atteints (**Yazici et al., 2004**). La dysfonction endothéliale et l'inflammation vasculaire des neutrophiles sont parmi les facteurs déclencheurs de la thrombose chez les patients atteints de MB (**Chambrun et al., 2012**).

b. Les NK (Natural killer)

Les NK occupent une position clé à l'interface entre immunité innée et immunité adaptative et selon le profil cytokinique sécrété et les récepteurs exprimés on reconnaît les NK1, NK2, NK17, NKreg et NK22. Il a été récemment rapporté que les cellules NK jouent un rôle important dans la dominance Th1 chez les patients MB, et la cytokine IFN γ de type Th1 est connue pour inhiber les cellules Th17 de produire la cytokine IL-17. En raison de l'effet inhibiteur de l'IFN- γ , la fonction dominante des cellules NK1 a été augmentée, et une sécrétion accrue d'IFN- γ peut inhiber les cellules NK2, NK17 et NKreg chez les patients MB (**Tong et al., 2019 ; Zhang et al., 2006**). Par ailleurs, les résultats de l'étude de Yamaguchi suggère que le rapport NK-1/NK-2 contrôle l'expression de la MB (poussé/rémission) à travers la modulation de la réponse Th1 /Th2 (**Yamaguchi et al., 2010**).

c. LT $\gamma\delta$ (lymphocytes gamma-delta)

Les lymphocytes $\gamma\delta$ font partie de la première ligne de défense contre les micro-organismes et le maintien de la croissance et l'intégrité de tissu épithéliale (**Amoura et al., 2006**).

Des études récentes ont montré que Les lymphocytes T $\gamma\delta$ jouent un rôle important dans les lésions inflammatoires associées aux modèles expérimentaux de maladies auto-immunes. Les lymphocytes T $\gamma\delta$ activées favorisent la production de l'IL-17 et accélère le

développement de l'uvéïte auto-immune expérimentale (EAU) (Nian *et al.*, 2011), confirmé ensuite par Houman *et al.* sur des modèles expérimentaux, les lymphocytes $T\gamma\delta$ participe à l'activation des lymphocytes Th1 et Th17 qui ont un rôle important dans la MB (Houman *et al.*, 2014).

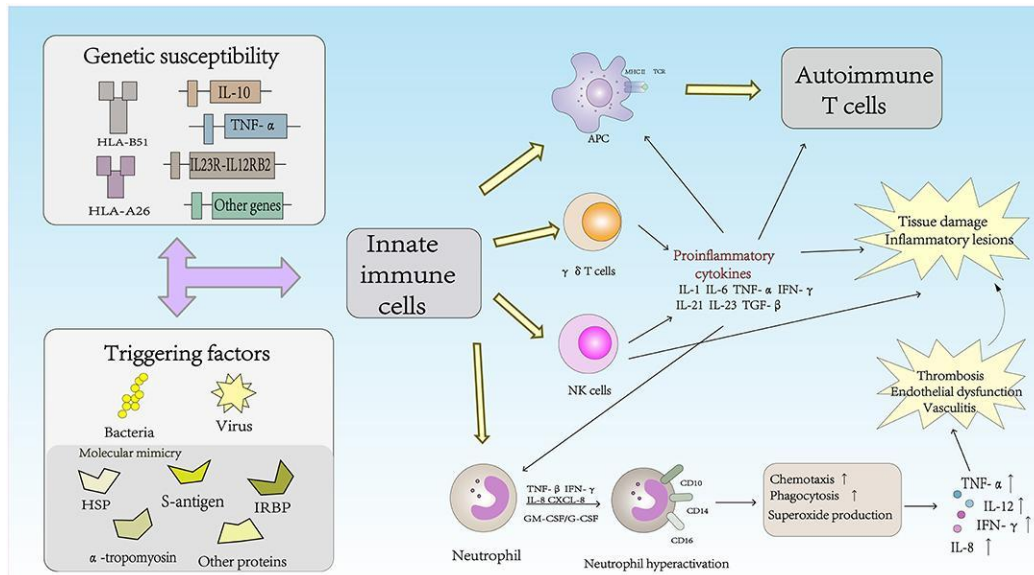


Figure 4: Le rôle des cellules immunitaires innées dans la pathogenèse de la maladie de Behçet (Tong *et al.*, 2019).

I.4.3.2. Rôle des cytokines

Les cytokines sont des médiateurs solubles de nature protéique ayant un large spectre d'actions sur une variété de cellules cibles et du fait que la maladie de Behçet est une vascularite multi-systémique (processus inflammatoire). Il est actuellement admis que la réponse immunitaire au cours de la MB est essentiellement de type Th1 et Th17 (Houman *et al.*, 2014).

On retrouve de majeurs cytokines pro-inflammatoires menant au développement de la maladie pour lequel plusieurs études se sont intéressées l'IL-1, l'IL-6 et le TNF- α y font partie, ces cytokines sont présentes dans le liquide oculaire de patients atteints de MB et sont considérées comme les principaux médiateurs inflammatoires (Houman *et al.*, 2014 ; Tong *et al.*, 2019) (figure 5).

- les cytokines Th1

Diverses études ont prouvé l'existence d'un déséquilibre de la balance Th1/Th2 en faveur d'une orientation Th1 et que les fréquences de ces cellules ainsi que leurs cytokines telles que IL-2, IL-12, IL-18 et IFN- γ , étaient significativement élevés chez les patients atteints de MB (**Aridogan et al., 2003 ; Ahn et al., 2006 ; Houman et al., 2014**).

El Asrar et al. a signalé que le niveau d'IFN γ dans l'humeur aqueuse des patients MB était significativement élevée, en effet cette molécule joue un rôle primordiale dans l'activation et le maintien de la réponse inflammatoire (**El Asrar et al., 2011**). Il s'est avéré aussi que des niveaux élevés d'IL-12 dans le sérum des patients atteints de MB la rend une cytokine Th1 clé (**Djaballah-ider, 2018**). En parallèle l'IL-18 participe en grande partie à la production d'IFN- γ et stimule indirectement les cellules T à sécréter IL-12 et IFN- γ cela suggère que l'IL-18 est impliquée dans la pathogenèse de la MB (**Zhou et al., 2012**). Ce qui soutient le fait que les cytokines de type Th1 sont étroitement liées à la maladie.

- Les cytokines Th2

Il a été rapporté que les cytokines Th2 étaient significativement présentes dans la MB. Premièrement. Des niveaux significatifs en IL-4 ont été constatés chez 56,5 % des patients présentant une uvéite dans le cadre d'une MB (**Touil et al., 2006**). Par ailleurs, une autre étude de Belguendouz et al a suggéré que l'augmentation de l'IL-4 pourrait réguler à la baisse l'expression du NO, antagonisent l'effet de l'IFN γ , ce qui suggère que l'IL10 semble avoir un rôle protecteur (**Belguendouz et al., 2011**).

- Les cytokines Th17

Il est connu que la MB est dominée par la réponse Th1 mais une accumulation de preuves a illustré le rôle des cellules Th17 qui produisent essentiellement l'IL-17, IL-21, et IL-23 pour moduler l'inflammation et l'auto-immunité (**Singh et al., 2014**). Les niveaux d'expression des cellules Th17 et des cytokines apparentées ont été signalés chez les personnes atteintes.

Premièrement, Chi et al. ont constaté que les fréquences des cellules Th17, de leurs cytokines et le facteur de transcription ROR γ t étaient significativement plus élevés chez les patients MB actifs que chez les patients MB en rémission (**Chi et al., 2008 ; Nanke et al., 2018**). Ces cellules et leurs cytokines associées semblent jouer un rôle majeur dans la

pathogénèse de la maladie en induisant l'inflammation chronique et l'activation des polynucléaires neutrophiles (**Touil-Boukoffa et al., 2015**).

De plus, Geri et al ont constaté que l'IL-21 jouait un rôle important dans la MB, par l'activation des Th17 et l'inhibition des Treg. Ils ont également montré que des cellules productrices d'IL-21 et d'IL-17A étaient présentes dans le LCR de patients avec atteinte neurologique active (**Geri et al., 2011 ; Houman et al., 2014**).

Donc les cellules Th1 et Th17 sont liées à l'inflammation active dans la MB, et l'équilibre Th1 / Th17, l'équilibre Th17 / Treg et l'axe IL-17, 23 jouent un rôle important dans les réponses inflammatoires et pathologiques (**Tong et al., 2019**).

- Les cytokines Th22

En présence d'IL-6 et de TNF- α , les LT CD4 + naïf se différencient en cellules Th22 qui sécrètent principalement IL-22 une cytokine qui favorise l'inflammation et TNF- α .

Sugita et al ont mis en évidence des clones de Th22 au niveau de l'humeur aqueuse de patients atteints d'une MB avec uvéite active. Ces clones produisaient des taux élevés d'IL-22 et de TNF- α (**Sugita et al., 2013**).

Cependant, d'autres études ont suggéré que le niveau d'IL-22 dans le surnageant des PBMC stimulées chez les patients MB avec uvéite active était plus élevé que chez les patients sans uvéite ou chez les témoins normaux et que le niveau d'IL-22 était associé à la gravité de vascularite rétinienne (**Tong et al., 2019**).

- Les Cellules T régulatrices (Treg) et leurs cytokines

Les L Tregs jouent un rôle central dans le contrôle de la tolérance immunitaire et le maintien de l'homéostasie immunitaire (**Campbell et al., 2011 ; Sawant et al., 2014**).

les fonctions immunosuppressives des cellules Treg ont été identifiées, qui sont principalement médiées par la sécrétion de cytokines telles que IL-10, IL-35 et TGF- β (**Li et al., 2015 ; Tong et al., 2019**).

Une étude a montré que les lymphocytes T régulateurs activés étaient moins nombreux chez les patients que chez les sujets sains. Néanmoins, ces Tregs étaient capables d'inhiber les cellules effectrices ce qui signifie qu'ils étaient fonctionnels (**Houman et al., 2014**).

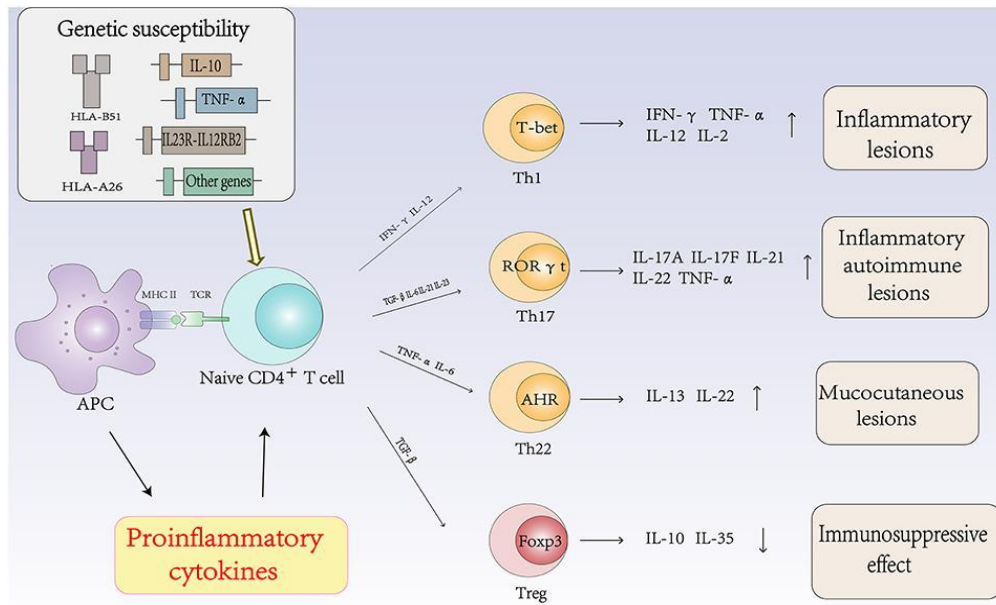


Figure 5: Le rôle des cellules T et des cytokines dans la pathogénèse de la maladie de Behçet. (Tong *et al.*, 2019).

I.4.3.3. Lymphocytes B

Le nombre normal des lymphocytes B chez les patients ne suffit pas pour négliger le rôle de l'immunité à médiation humorale au cours de la MB, à cause de la production de différents isotypes des immunoglobulines et des auto anticorps au cours de cette pathologie. Les lymphocytes B des patients avec MB expriment des niveaux élevés de marqueurs d'activation tels que les marqueurs myéloïdes CD13, CD33, et les CD80 et CD45RO*, avec une sécrétion accrue d'immunoglobulines par le biais de plusieurs mécanismes (Ekşioğlu *et al.*, 1999 ; Amoura *et al.*, 2006).

Des anticorps ont été retrouvés chez des malades ayant une autre pathologie inflammatoire, mais la présence d'IgM paraît spécifique de la MB. L'alpha-tropomyosine et l'AgS sont des antigènes reconnus par les immunoglobulines des patients atteints de MB (Amoura *et al.*, 2006).

I.4.3.4. Auto-antigènes

Les autoantigènes, *via* le mimétisme moléculaire, jouent un rôle clé dans le développement de la MB. Plusieurs auto-antigènes ont été observés, notamment les protéines de choc thermique (HSP), l'antigène S, la protéine de liaison aux rétinoïdes interphotorécepteurs (IRBP), α -tropomyosine, et $\alpha\beta$ -cristallin. Grâce à l'étude de l'homologie de séquences entre les protéines M de la paroi cellulaire streptococcique et la tropomyosine, des épitopes

immunologiques partagés ont été révélés. La similitude entre cette protéine de surface streptococcique et la tropomyosine suggère que le mimétisme moléculaire peut conduire à l'inflammation observée dans le MB *via* l'induction d'une immunoréaction à la tropomyosine. En effet, une immunoréaction à l'antigène S et à l'IRBP, qui sont des auto-antigènes spécifiques de la rétine, a été suggérée comme étant impliquée dans la pathogenèse de la MB (**Tong et al., 2019**).

I.4.3.5. Auto-anticorps

Dans la MB plusieurs auto-AC ont été étudiés pour démontrer leur rôle pathogène mais aucun résultat n'était convaincant. Les plus étudiés sont les anticorps anti cellules endothéliales (AECE) malgré que leurs corrélation avec les activités de la maladie en particulier l'atteinte vasculaire reste hypothétique (**Kapsimali et al., 2010 ; Chambrun et al., 2012**).

D'autres auto-AC ont été recherchés tels que les AC anti α – tropomyosin qui ont été observés chez 26,6% des patients MB ayant une uvéite postérieure, et plein d'autres (**Mor et al., 2002**).

I.4.4. Anomalies de la réponse inflammatoire

I.4.4.1. Les protéines du choc thermique HSP (Heat Choc Proteins)

Les HSP sont une classe de protéines hautement conservées retrouvées dans les microorganismes et les tissus des mammifères. Elles sont exprimées suite à un état de stress tel que la chaleur, ou les infections. Elles constituent aussi des antigènes puissants pour l'activation lymphocytaire T. La famille des HSP60 comprend la HSP65 (65 kDa) qui est commune à plusieurs microorganismes qui correspond à 60% la protéine humaine HSP60 (60 kDa), qui est principalement exprimée au sein des mitochondries (**Lehner et al., 1997**).

HSP60 agirait comme signal de danger et provoquerait une réponse inflammatoire rapide avec production de cytokines et des molécules d'adhésion. Quatre peptides du HSP65 mycobactérien et leurs homologues au niveau de HSP60 humain, sont capables de stimuler la prolifération des lymphocytes T au cours de la MB, ce qui pourrait entraîner secondairement, par réactivité croisée, une prolifération de cellules T auto-réactives vis-à-vis des HSP60 humaines (**Pervin et al., 1993**).

I.4.4.2. Le monoxyde d'azote (NO)

Le monoxyde d'azote, NO est une molécule endogène, paracrine, dotée d'une forte activité vasodilatatrice. Le NO est considéré comme un excellent messager intercellulaire sous l'état dissous grâce à sa solubilité et sa capacité de diffusion à travers les membranes biologiques. cette molécule joue un rôle primordiale dans la réponse immunitaire antiparasitaire, antibactérienne ainsi contre les cellules tumorales (Mansuy et al., 1995 ; Vadon-Le Goff et al., 1998).

a. La biosynthèse du NO

le NO est formé suite à l'oxydation de son précurseur la L-arginine *via* les NO synthases (NOS) (figure 5) qui nécessite la présence du NADPH (nicotinamide adénine dinucléotide phosphate) et plusieurs co-facteurs (Mansuy et al., 1995).

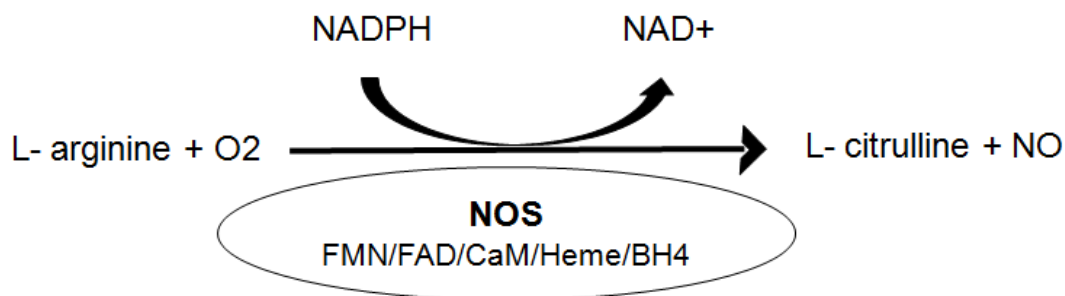


Figure 6: réaction chimique de la synthèse de NO (Mansuy et al., 1995).

le FAD (flavine adénine dinucléotide), le FMN (flavine mononucléotide), la BH₄ (tétrahydrobioptérine), la FMN et le FAD servent de transporteurs d'électrons tandis que le hème et la BH₄ (des cofacteurs) catalysent la réaction de la L-arginine et L'O₂ qui s'accompagne de la production de la L-citrulline.

b. les NO Synthases (isoformes) : (Tableau 1, voir annexes)

Il existe trois isoformes de NOS d'une localisation génomique, et distribution cellulaire différente ainsi que leurs fonctions biochimiques, mais ils ont en commun la production du NO, il s'agit de :

- La NOS neuronal (nNOS ou NOS1) isolée des cellules neuronales.

- La NOS endothéliale (eNOS ou NOS3) isolée des cellules endothéliales.

les deux isoformes sont à expression constitutive et dont l'activation est dépendante du calcium.

- La NOS inductible (iNOS ou NOS2) dont l'expression de cette isoforme macrophagique est normalement absente à l'état quiescent, ne se manifeste qu'après stimulation par exemple par des LPS bactériens et les cytokines (**Djaballah-Ider et al., 2018**).

c. l'activation de NOS

l'activation de la synthèse de NO dépend du type cellulaire, et son surproduction, indépendamment des concentrations intracellulaires de calcium, est due à iNOS qui peut entraîner des effets protecteurs ou dommageables (**Bogdan et al., 2001**).

L'expression de l'iNOS dans les macrophages est activée par des inducteurs particuliers, ce qui participe dans la pathogenèse des maladies inflammatoire, y compris la MB. Elle est d'abord régulée et modulée par des récepteurs cellulaire telles que les récepteurs TLR et le CD14, ce dernier qui est le récepteur du lipopolysaccharide (LPS) joue un rôle essentiel dans les réponses pro-inflammatoires des monocytes et des macrophages *via* l'activation de la voie NFkB. le CD14 a deux formes distinctes; mCD14 (forme ancrée au GPI) et sCD14 (CD14 soluble). Le mCD14 est censé avoir un effet direct sur la simulation LPS *via* l'interaction avec le récepteur Toll-like-4 (TLR-4). D'autre part, le IFN- γ active l'iNOS *via* l'activation de la voie de signalisation Jak-STAT qui par la suite augmente l'induction d'iNOS et la production de NO (**Figure 6**) (**Aktan 2014 ; Belguendouz et al. 2015**).

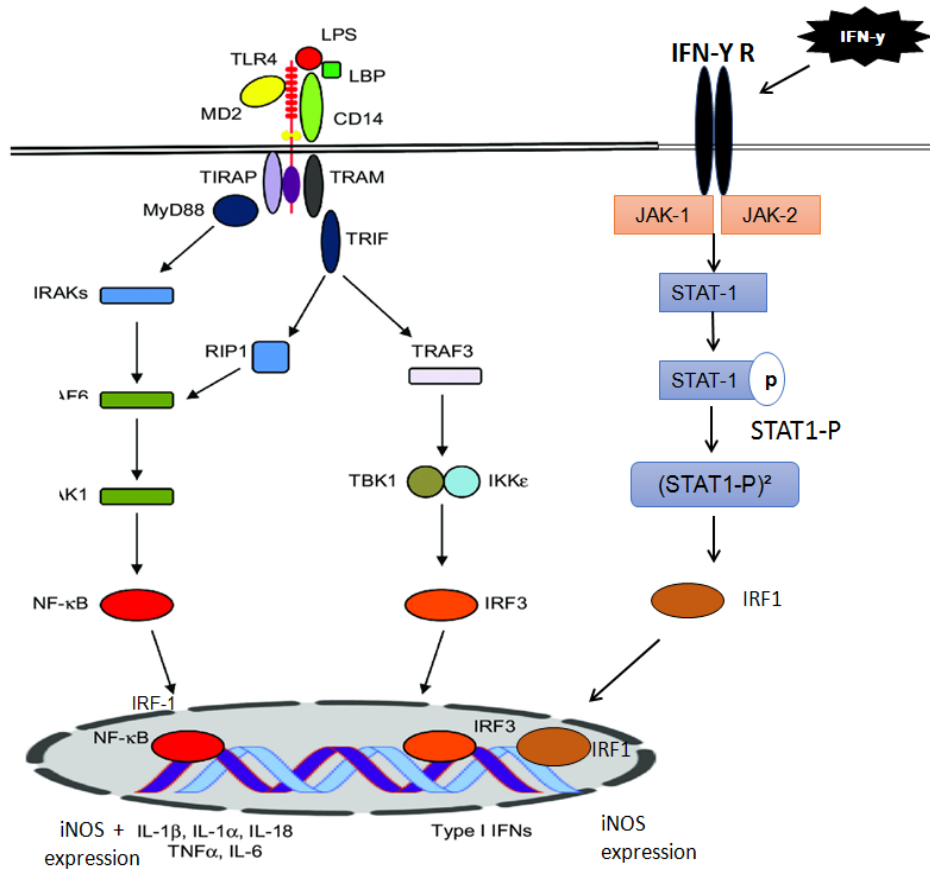


figure 7: schéma de la voie de signalisation TLR4 (Mortellaro et al., 2015, adapté).

Des recherches récentes montrent que la biosynthèse du NO *via* l'isoforme iNOS est régulée principalement au niveau transcriptionnel, mais également aux niveaux post-transcriptionnel, traductionnel et post-traductionnel par des modifications sur la stabilité des protéines, la dimérisation, la phosphorylation, la liaison au cofacteur et la disponibilité du substrat (l'oxygène et la L-arginine) l'inhibition d'iNOS peut être bénéfique pour le traitement des maladies inflammatoires (Aktan 2014).

c. implication physiopathologiques du NO

L'oxyde nitrique est directement ou indirectement impliqué dans pratiquement toutes les opérations cellulaires, les avantages du NO se concentrent principalement sur le système cardiovasculaire mais cela a aussi un impact sur d'autres systèmes. En effet, le NO produit par l'eNOS exerce un effet vasodilatateur, donc il va diminuer la tension artérielle en élargissant les vaisseaux sanguins. De plus, l'oxyde nitrique peut interférer avec le processus de coagulation du sang en inhibant l'agrégation plaquettaire et la prolifération

des cellules du muscle lisse vasculaire, ce qui lui rends un régulateur homéostatique important et lui permet de surveiller l'athérosclérose (**Ignarro et al., 2017**).

Le NO produit par la nNOS agit comme un neurotransmetteur dans le SNC ou il régule la plasticité synaptique, le cycle veille-sommeil, la neurosécrétion, et les processus de reproduction, et dans le SNP ou il intervient dans la relaxation non adrénergique et non cholinergique des muscles lisses dans les voies gastro-intestinales et urogénitales. (**Calabrese et al., 2007**).

Par ailleurs, dans les réponses immunitaires et inflammatoires le NO est synthétisé massivement par le système monocyte/macrophage ainsi que les neutrophiles suite à une stimulation de la iNOS par les cytokines pro-inflammatoires. Le NO est doté donc des capacités bactéricides, fongicides, antiparasitaires, et anti-tumoraux (**Vadon-le Goff et al., 1998**). Des études récentes ont démontrés que le NO généré par l'oxyde nitrique synthase inductible peut même inhibe le cycle de réplication du SRV CoV (**Akerström et al., 2005**).

De plus, le NO participe à l'immuno-régulation par rapport à sa concentration, si il se trouve à un faible taux il agit comme un signal d'activation et protège de nombreuses cellules de l'apoptose, par contre quand il se trouve dans un taux élevé il réagit comme une molécule immunorégulatrice autocrine ou paracrine, régulant notamment le balance Th1/Th2 et induisant des effet cytotoxique et apoptotique (**Lahmar-Belguendouz et al., 2009**).

En outre, l'oxyde nitrique participe dans la pathogenèse de plusieurs maladies auto-immunes et auto-inflammatoires, une diminution ou un excès de sa production dans un endroit inapproprié provoque un dysfonctionnement endothéliale qui pourrait être à l'origine de nombreuses maladies (**Vadon-Le Goff et al., 1998**).

l'interaction du NO avec certaines espèces réactives d'oxygène, tels que l'anion superoxyde pour former des espèces comprenant des radicaux peroxydinitrite ou hydroxyle peuvent s'avérer encore plus la toxicité et peuvent causer de nombreuses altérations cellulaires *via* la peroxydation lipidique et la nitration des protéines au cours de l'uvéite auto-immune expérimentale (UAE) (**Arroul-Lammali et al., 2012**).

Du même, l'implication du NO dans la MB a été rapportée dans plusieurs études, comme par exemple l'étude de Belguendouz et son équipe, ou ils ont signalé une production excessive du NO et des cytokines pro-inflammatoires dans le sérum, le liquide synovial et l'humeur aqueuse (**Belguendouz et al., 2008**). Il existe plusieurs hypothèses explicatives du dysfonctionnement du NO au cours de la maladie de Behçet, le polymorphisme du gène de eNOS était associé à une sensibilité MB dans une population italienne dont il peut influencer la libération du NO endothéliale (**Salvarani et al., 2007**). D'une autre part, le taux élevé du NO a été associé à une stimulation accrue de la NOS2 par les cytokines pro-inflammatoires ou les cytokines Th1 tels que l'IFN- γ , ce qui contribue au développement du processus inflammatoire au cours de l'uvéïte de Behçet active (**Belguendouz et al., 2011**).

I.5. Diagnostic

Le diagnostic de la maladie de Behçet repose sur les symptômes cliniques essentiellement, et cela est dû à l'absence des marqueurs biologiques pathogéniques ou des signes spécifiques qui permettent sa distinction aux autres maladies inflammatoires (**Davatchi et al., 2015**).

Aucune maladie n'a jamais incité à autant de critères de diagnostics que la MB. Depuis 1946 quinze types de classifications différentes ont été proposés. En 1990, les critères présentés par l'International Study Group of Behçet Disease (ISG) sont imposés comme les plus utilisés dans les études épidémiologiques. Ces critères reposent sur l'existence des ulcérations buccales répétitives (au moins 3 fois dans un an) comme un critère majeur, associés au moins à 2 critères mineurs tels que les ulcérations génitales récurrentes, les lésions oculaires, les lésions cutanées et le test pathergique positif (**tableau 02**) (**Criteria for diagnosis of Behçet's disease ; maher et al. 2014**).

Une nouvelle classification a été mise: l'International Criteria for Behçet's Disease (ICBD). Issue de la collaboration de vingt-sept pays, cette classification vise à harmoniser les critères d'inclusion des personnes atteintes de maladie de Behçet dans les études et cela, avec de meilleures sensibilité et exactitude que celles de l'ISG (**Davatchi et al., 2012 ; Davatchi et al., 2015**) (**Tableau 2**), les manifestations vasculaires ont été ajoutées aux 5 critères ISG, et les lésions aphteuses génitales et les lésions oculaires ont plus de valeur diagnostique que les autres, ils obtiennent chacun 2 points. Les autres éléments obtiennent chacun un point. Un patient doit obtenir 3 points ou plus pour être diagnostiqué / classé comme ayant une MB. En 2014 ces critères ont été révisés, dont au moins 4 points sont

nécessaires et a l'avantage de comprendre dans ces critères les manifestations neurologiques (Tableau2) (Davatchi et al., 2007).

Tableau 2:Caractéristiques de 5 systèmes de classification de la maladie de Behçet
(maher et al. 2014 Adapté)

System de classification Variable	International Study Group : ISG (1990)	International Criteria for Behçet's Disease:ICBD (2006)	Revised International Criteria for Behçet's Disease:ICBD révisée (2013)
Aptose buccale (AB)	Obligatoire	1 point	2 points
Aptose genitale (AG)	Facultatif	2 points	2 points
Atteinte oculaire	Facultatif	2 points	2 points
Atteinte cutane	Facultatif	1 point	1 point
Test de pathergie positif	Facultatif	1 point	1 point
Atteinte vasculaire	/	1 point	1 point
Atteinte neurologique	/	/	1 point
Conditions de remplissage des critères	AB et au moins 2 items facultatifs	3 points ou plus	Au moins 4 points
Sensibilité	77,5%	98,3%	96,8%
Spécificité	99,2%	96,2%	97,2%

I.6. Traitement

La prise en charge thérapeutique de la maladie de Behçet diffère selon la sévérité de celle-ci, les facteurs pronostiques et selon le type d'organes atteints (**figure7**). En général, le traitement a pour but d'éviter la survenue de lésions irréversibles (oculaires ou neurologiques), Réduire ou supprimer le nombre de poussées et de contrôler les lésions cutanéomuqueuses et articulaires (**Comarmond et al., 2014**).

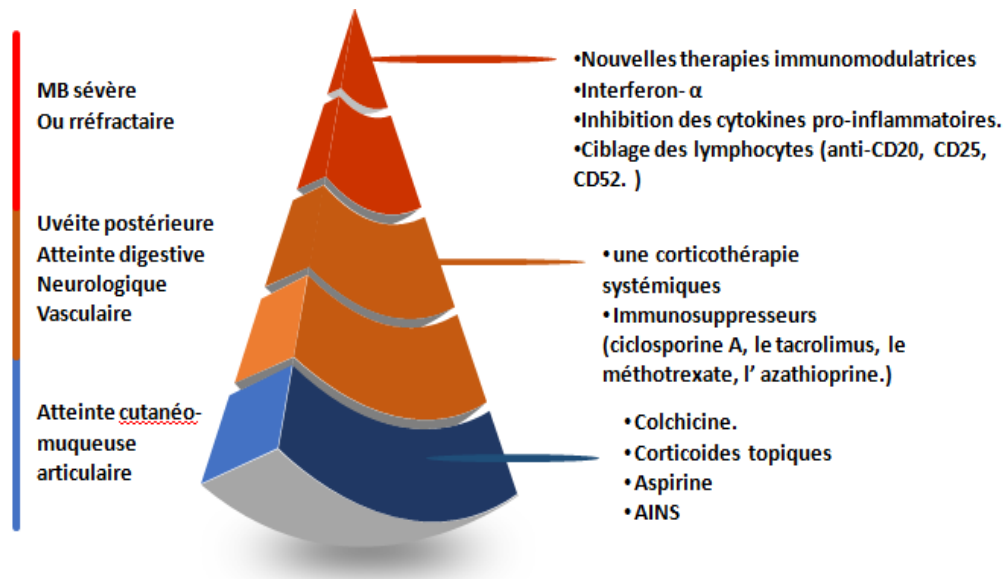


Figure 8: Stratégie thérapeutique graduée dans la maladie de Behçet (**Cacoub et al., 2014**, adaptée).

Le traitement de la maladie repose principalement sur la corticothérapie, les immunosuppresseurs (**Greco et al., 2018**) et la colchicine (**Balkan et al., 2019**). Cependant, le traitement conventionnel n'est pas fonctionnel dans tous les cas de la MB; c'est pourquoi d'autres mécanismes devraient être proposés pour moduler l'inflammation. Un de ces mécanismes qui a été découvert ces dernières décennies est la voie anti-inflammatoire cholinergique (CAP). Cette voie est considérée comme une stratégie thérapeutique prometteuse pour surveiller l'inflammation (**Andersson et al., 2012**). Les récepteurs cholinergiques sont exprimés dans les cellules immunitaires et leur stimulation a des effets modulateurs sur la réponse immunitaire. Les effets anti-inflammatoires sont généralement médiés par les récepteurs nicotiniques cholinergiques (**De Rosa et al., 2009 ; Hoover et al., 2017**) Le rôle de la nicotine dans la MB a été étudié.

Chapitre II

La nicotine

II.1. Définition

L'isolement et l'extraction de composés médicinaux à partir de sources végétales et leur caractérisation sont une pratique courante depuis un passé récent mais la plupart de ces produits naturels ont été signalés sans rapportés leurs propriétés biologiques ce qui exige un réel besoin de tests biologiques fiables capables de détecter un large spectre d'activités pharmacologiques dans les différentes plantes. La nicotine ou 3-(1-méthyl-2-pyrrolidinyl)pyridine (**Figure 8**) est l'un des produits les plus étudiés ce dernier temps, c'est un analogue de l'acétylcholine, neuromédiateur bien connu pour son action sur les neurones du système nerveux central où elle se lie à des récepteurs bien spécifique appelés les récepteurs cholinergiques nicotiques (**nAChRs**). Cette interaction module plusieurs fonctions comme par exemple les fonctions dopaminergiques et la production de facteurs neuroprotecteurs (**Zaid et al., 2012 ; La nicotinothérapie 2017**).

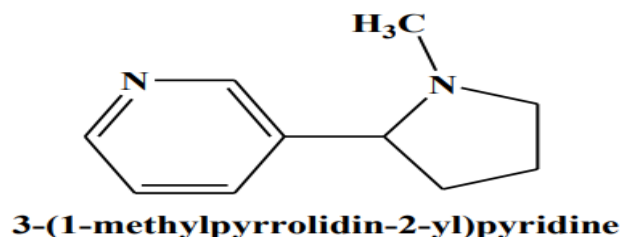


Figure 9: Structure chimique de la nicotine.

II.2. Les sources de la nicotine

La nicotine est un alcaloïde présent dans la famille des solanacées, principalement dans le tabac (*Nicotiana tabacum*) où la substance peut représenter jusqu'à 5% du poids total des feuilles de la plante (entre 30 et 60 mg), et elle est présente en plus petites quantités d'aubergine (*Solanum melongena*), de tomate (*Solanum lycopersicum*), de pomme de terre (*Solanum tuberosum*), de chou-fleur (*Brassica oleracea var. botrytis*) et de certaines fougères comme *Lycopodium obscurum* (**Seigmund et al., 1999**).

La biosynthèse de la nicotine est possible aussi dans des laboratoires spécialisés dans la production de la nicotine synthétique. La principale différence est que la nicotine synthétique a été produite en utilisant les mêmes produits chimiques qui contiennent de la nicotine mais pas de tabac, en anglais est la 'non tobacco nicotine' (NTN) (**Civilini et al., 1999 ; HiLIQ**).

II.3. Pourquoi la nicotine ?

Bien que cette molécule soit le majeur composant de la cigarette, plusieurs recherches scientifique se sont basé sur cette dernière afin de prouver ses effets thérapeutiques et avantages et ce choix a été basé sur:

- La disponibilité de la molécule ainsi que la facilité d'obtention depuis les différentes sources citées précédemment.
- Propriétés chimiques bien définies.
- Mécanisme d'action sur les récepteurs nicotiniques connu.
- Une piste de recherche prometteuse de traitements révolutionnaires pour les maladies neurodégénératives.

II.4. Propriétés thérapeutiques

L'utilisation de la nicotine dans les stratégies thérapeutiques dépend des conditions, des caractéristiques et du déroulement propre de chaque essai. Des études précliniques et cliniques suggèrent que la nicotine pourrait avoir un effet bénéfiques en diminuant l'incidence et / ou la gravité de plusieurs maladies, y compris la sclérose en plaque, la polyarthrite rhumatoïdes, la colite ulcéreuse, la maladie de Parkinson (MP), certaines formes de maladie d'Alzheimer (MA), le diabète de type I et la maladie de Behçet (**Piao et al., 2009 ; Gomes et al., 2018**).

Cet alcaloïde est alors un médicament approprié qui se fixe aux récepteurs nicotiniques omniprésents qui existent sous plusieurs formes, chacun ayant une localisation et une fonction spécifiques. Les recherches sur la diversité des récepteurs cholinergiques centraux nicotiniques illustrent la complexité des effets de la nicotine sur différents neurotransmetteurs du cerveau (**Deneris et al., 1991**).

L'une des premières découvertes à l'appui du potentiel anti-inflammatoire de la nicotine était l'observation que la nicotine altérait à la fois la réponse immunitaire humorale et cellulaire et produit une réponse modifiée qui se caractérise par une diminution de l'inflammation (**figure 9**), une diminution de la réponse d'anticorps et une réduction de la signalisation médiée par les récepteurs des lymphocytes T. Ces effets proviennent probablement de l'impact direct de la nicotine sur les lymphocytes T. La nicotine affecte

également le développement des lymphocytes B et contrôle leurs survie *via* les mêmes récepteurs (Piao *et al.*, 2009).

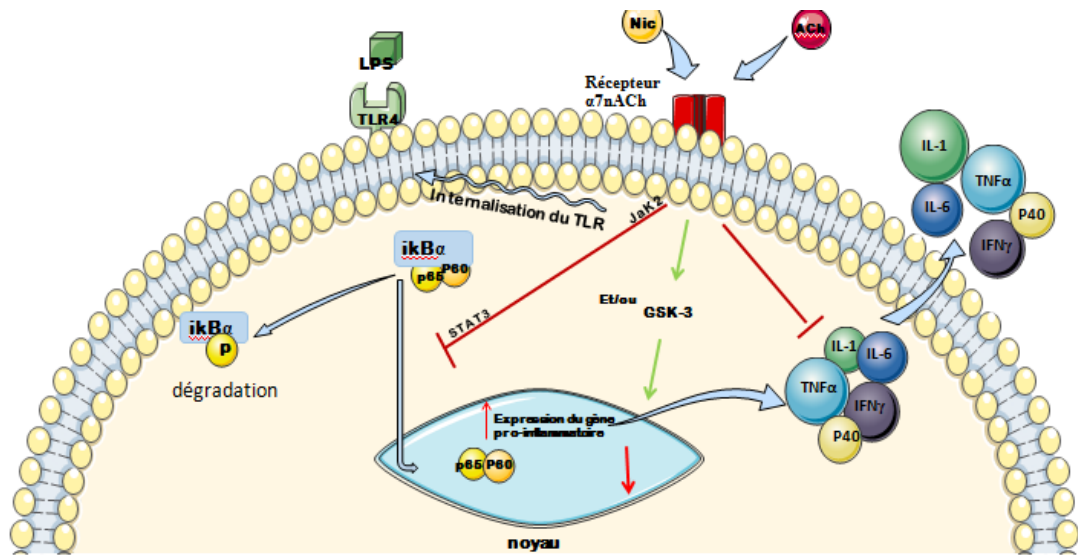


Figure 10: La voie cholinergique anti-inflammatoire (Scott, D *et al.*, 2006. Adapté)

Chapitre III

Le model

expérimental

Le modèle expérimental est considéré comme une étape importante et nécessaire dans la compréhension de tout type de pathologies et dans l'avancement de la plupart des domaines de recherche. De nombreux chercheurs ont essayé de développer un modèle animal à utiliser dans la MB, on trouve des essais faisant intervenir des porcs, des rats, ou même des souris (**Baharav et al., 2006**). Ces derniers peuvent être divisés en fonction du paradigme étiologique proposé.

III.1.L'induction de la maladie

Comme cité auparavant, la maladie de Behçet est multifactorielle ce qui rend son induction dans un modèle expérimentale possible de plusieurs manières: en utilisant des facteurs environnementaux, des bactéries, des virus, la tropomyosine ou l'antigène S (**Figure 10**).

III.1.1. Le virus Herpès simplex HSV

Dans la description historique de la MB par Hulusi Behçet en 1937 il a été proposé que le syndrome pourrait être causé par une infection virale. Pendant de nombreuses décennies, des efforts ont été faits pour confirmer cette hypothèse. Les résultats de nombreuses données recueillies sur l'importance du VHS dans la MB, l'expression de l'ADN viral et les essais thérapeutiques anti herpétiques, sont controversés (**kaneko et al., 1997**). En 1998, Sohn et al. ont signalé que l'inoculation de 10⁶ pfu de HSV de type I dans le lobe de l'oreille de souris ICR a produit une maladie de type MB chez environ 50 % des animaux, y compris des ulcères génitaux et buccaux, des lésions cutanées et oculaires, de l'arthrite et des troubles gastro-intestinaux (**sohn et al., 1998**).

III.1.2. La protéine de choc thermique

La protéine de choc thermique (HSP) a également été impliquée dans la pathogenèse de plusieurs maladies auto-immunes anthropiques et induites expérimentalement comme la MB, à la fois comme antigènes cibles et comme chaperons intracellulaires impliqués dans la liaison peptidique aux antigènes HLA (**Yildirim, 2012**).

Lehner et al. (**Lehner et al., 1997**) ont signalé que l'uvéite pourrait être induite chez des rats Lewis par 4 peptides dérivés de la séquence des mycobactéries 65 kD hsp, qui stimulent spécifiquement les lymphocytes TCR $\gamma\delta$ chez les patients présentant des peptides dérivés de MB et de 65 kD hsp chez les humains. Les rats Lewis des groupes Lehner ne présentaient qu'un seul symptôme oculaire. Les symptômes de MB chez les patients sont

multiples, chroniques ou récurrents. Donc si des symptômes supplémentaires apparaissent chez des rats Lewis stimulés par peptide dérivé de HSP, ce modèle animal serait plus utile (Yildirim, 2012).

III.1.3. L'antigène S

L'arrestine ou Ag-S rétinienne est une protéine immunologique séquestrée existant principalement dans la région des photorécepteurs de la rétine. Il est utilisé pour l'induction du modèle classique d'uvéite auto-immune expérimentale. Parmi d'autres patients avec uvéite, Les sérums de patients à MB contenaient des AC dirigés contre l'Ag-S et leurs cellules T ont été activées par cette protéine. Cette dernière partage une homologie avec une séquence conservée dans les molécules HLA-B (aa 125-138) d'une grande importance (Baharav et al. 2006). Des travaux antérieurs ont montré que L'immunisation avec l'Ag-S ou la protéine de liaison aux rétinoïdes interphotorécepteurs (IRBP) provoque une uvéorétinite auto-immune expérimentale qui ressemble à certaines conditions d'uvéite humaines (Yildirim, 2012).

III.1.4. La tropomyosine

Les tropomyosines sont une famille de protéines exprimées dans les muscles ainsi que dans les cellules non musculaires, y compris les cellules épithéliales, les fibroblastes et les plaquettes (Mahesh et al., 2005).

Plusieurs études ont rapporté l' α -tropomyosine (TPM) comme un auto-antigène induisant un auto-anticorps dans les sérums de patients atteints de MB (Baharav et al., 2006 ; Touri et al., 2018).

Mor et coll. (Mor et al., 2002) ont également rapporté que l'immunisation des rats Lewis avec de l' α -TPM peut induire une uvéite. Ce modèle TPM partage certaines caractéristiques cliniques de la MB et a le potentiel de devenir un modèle expérimental utile. (Mahesh et al., 2005; Baharav et al., 2006).

Pour choisir un modèle animal, il faut qu'il réponde aux plusieurs critères, une similitude avec la maladie humaine en termes de symptomatologie, physiopathologie et réponse aux traitements. Il faut qu'il montre aussi une reproductibilité: un taux élevé de réponse à l'induction de la maladie chez les animaux ainsi qu'une homogénéité de l'apparition et des manifestations de la maladie entre les animaux (Figure 11).

Le modèle tropomyosine dans les rats devrait répondre aux critères cités ci-dessous, il a également été réalisé dans différentes études (Touri *et al.*, 2018 ; Mahesh *et al.*, 2005) ce qui le rends un modèle idéal et réalisable.

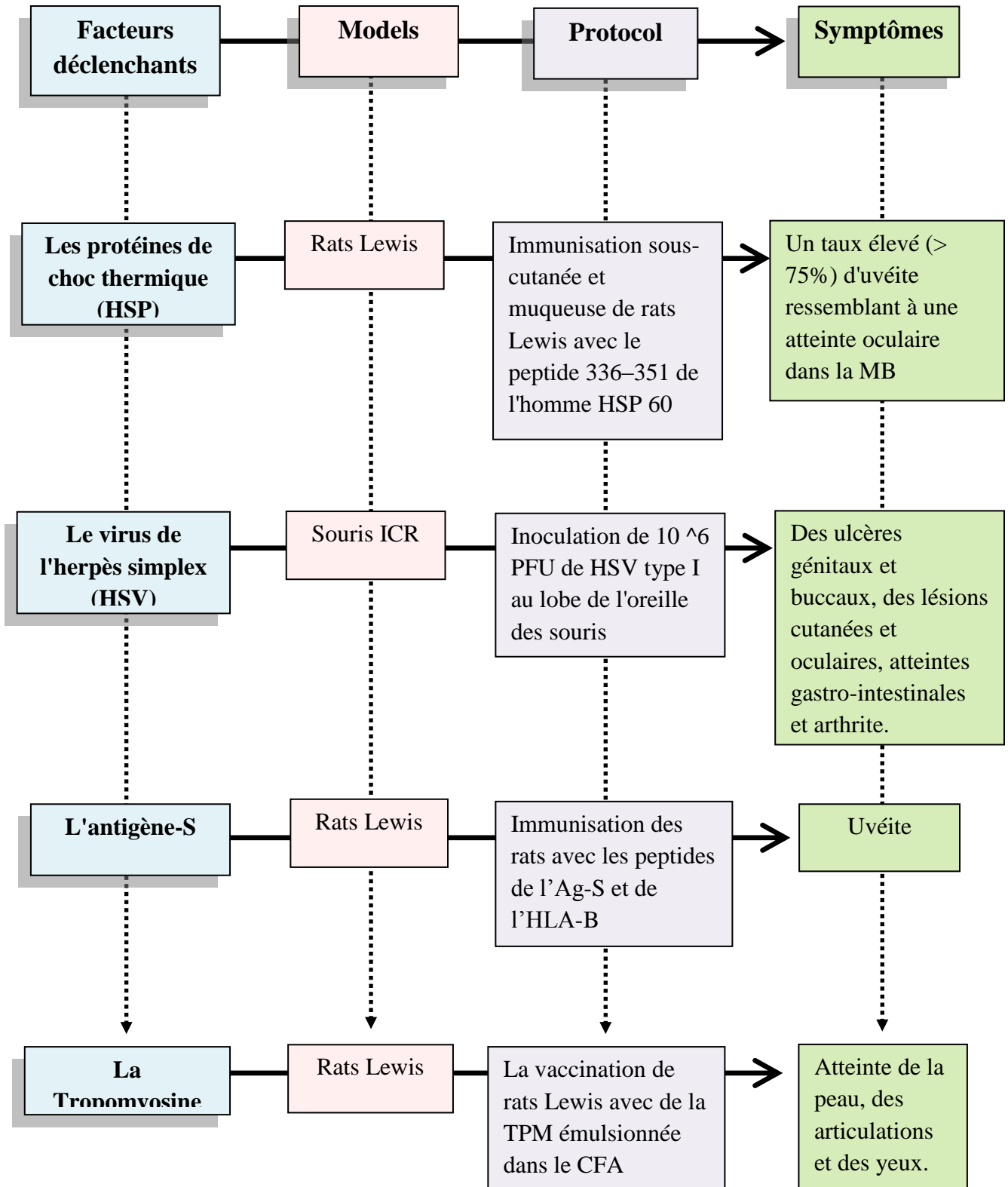


Figure 11: Schéma explicatif des principaux protocoles expérimentaux dans l'induction de la maladie de Behcet (Baharav *et al.*, 2006, adapté).

Chapitre IV

Méthodologie

La non réalisation du travail pratique s'est imposé malheureusement suite a l'épidémie du Covid-19 que le monde a connu, mais pour donner suite a notre projet nous avons illustré la méthodologie qu'on allait suivre et nous avons aussi rapporté des résultats d'autres étude du même but mais sur d'autres pathologies inflammatoires qui ont été réalisées.

IV.1. Présentation de l'étude

A la lumière des études déjà réalisés sur l'effet de la nicotine dans les différentes maladies inflammatoires, dont le métabolisme ressemble à ce de la maladie de Behçet, nous obtiendrons des connaissances sur l'effet anti-inflammatoire de cette molécule et son impact thérapeutique sur la MB pour la première fois en faisant une synthèse des résultats obtenues.

IV.2. Matériel

IV.2.1. Matériel biologique

Soixante-dix rats mâles de la rase Wistar pesant 180 à 200 g devrait être utilisés dans cette étude. Les animaux devrait être fournis par l'animalerie de notre faculté des sciences (Mhamed bouguerra boumerdes). Ils devraient être exposés à un cycle lumière / obscurité de 12 h à température ambiante avec un accès libre à la nourriture et à l'eau. L'étude devrait être approuvée par le comité de déontologie et d'éthique de l'Agence thématique de recherche en sciences de la santé (ATRSS) anciennement Agence nationale de développement de la recherche en santé (ANDRS). Code: N ° 43-ANDRS-2011.

- Extrait de la nicotine

Sel de tartrate de nicotine d'hydrogène de la marque Sigma Aldrich avec un minimum de pureté de 98% TLC d'un poids moléculaire de 462,41 g/mol.

- Numéro : N5260-25G-sigma.
- Formule : C₁₀H₁₄N₂.

IV.3. Méthodes

IV.3.1. Préparation de la Tropomyosine

En premier lieu, la TPM devrait être préparé et purifié avant de l'utiliser dans le modèle expérimental en suivant les étapes suivantes:

L' α -Tropomyosine devrait être préparée à partir de muscle de poulet selon la méthode rapportée par Lin et al. (Lin et al., 1985), avec de légères modifications (Touri et al., 2018).

En premier temps, 20 g de muscle devraient être hachés et homogénéisés dans 200 ml de tampon A [Tris 10 mM, pH 8,0, KCl 0,1 M, EGTA 2 mM, dithiothréitol 2 mM (DTT)] à 4 ° C. Après centrifugation à 10000 x g pendant 10 min, le précipité obtenu devrait être extrait deux fois à chaque fois avec 200 ml de tampon B (10 mM Tris, pH 8, 1 M KCl, 2 mM EGTA et 2 mM DTT) pendant 1 h à 4 ° C. Les surnageants devraient être recueillis après centrifugation à 10 000 x g pendant 10 min, puis rassemblés et bouillis pendant 10 min. Après avoir été refroidis sur glace et centrifugés à 12 000 xg pendant 10 min, les surnageants contenant de la tropomyosine devraient être fractionnés à 35 et 55% avec du sulfate d'ammonium. L'extrait de tropomyosine final devrait dialyser intensivement contre (Tris 10 mM, pH 8,0, DTT 0,2 mM et EDTA 2 mM).

IV.3.2. Protocole expérimental

- un groupe de rats (n=10) devrait être immunisé dans la patte arrière droite avec 100 μ g de TPM en adjuvant complet de Freund (CFA) (Sigma-Aldrich, USA).
 - Ce modèle a été utilisé pour tester les effets thérapeutiques de la nicotine.
 - la dose optimal utilisée de la nicotine devrait être à 1.5mg/kg par rapport à la littérature (Yu et al., 2011 ; wang D. et al., 2019).
- Groupe préventif (n = 10): les rats devraient recevoir un prétraitement quotidien de la nicotine (1.5 mg / kg) pendant 5 jours consécutifs avant l'immunisation avec la TPM.
- Groupe curatif (n = 10): 5 jours après l'injection de TPM (selon l'apparition des symptômes), les rats devraient être traités par la nicotine (1.5 mg / kg) pendant 9 jours.
- Groupe nicotine (n =10): les rats (non induits) devraient recevoir une injection quotidienne de la nicotine (1.5mg / kg) pendant 9 jours consécutifs.
- Groupe CFA (n = 10): les rats devraient recevoir une seule injection de 100 μ l de CFA + PBS (1: 1 v / v) dans la patte arrière droite.
- Groupe témoin (n = 10): les rats devraient recevoir 100 μ l de tampon phosphate salin (PBS) dans la patte arrière droite.

- Groupe préventif + curatif (n=10): les rats devraient recevoir un prétraitement quotidien de la nicotine (1.5 mg / kg) pendant 5 jours consécutifs avant l'immunisation avec la TPM. Ensuite, 5 jours après l'injection de TPM, les rats devraient être traités par la nicotine (1.5 mg / kg) pendant 9 jours.
- le sacrifice des rats devrait avoir lieu le 14ème jours (**Figure12**).

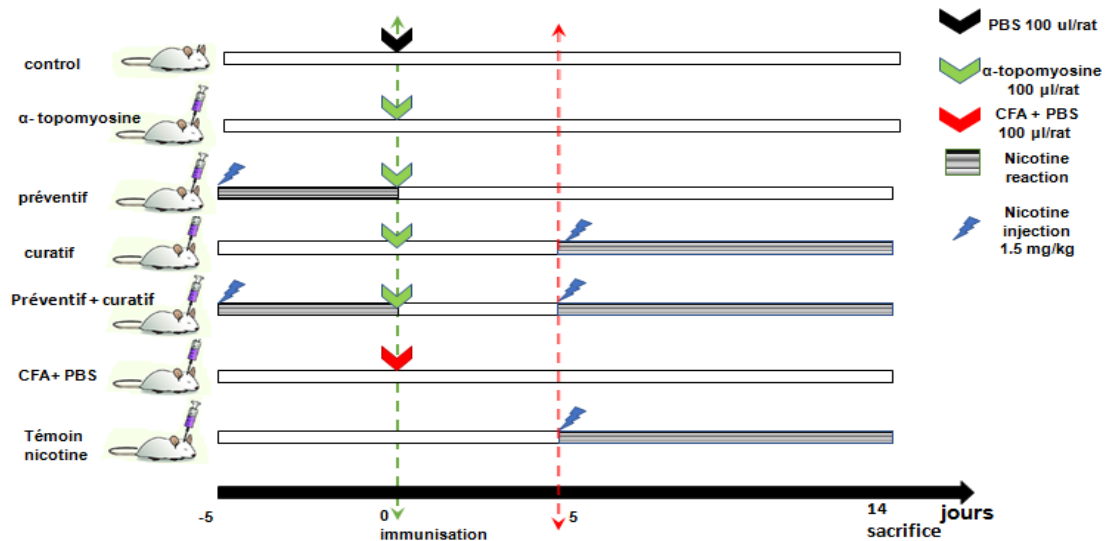


Figure 12: La démarche expérimentale.

IV.3.3. Les méthodes de dosage

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

La production de NO dans les liquides biologiques est indirectement déterminée en mesurant le taux des nitrites résiduels issus de dégradation oxydative de NO.

a.1. Principe

Le principe de méthode de Griess modifiée tels que décrite par Pr. Touil-Boukoffa (**Touil-Boukoffa et al., 1998**) s'agit d'une réaction de diazotation, elle consiste à la formation d'un sel de diasonium suite au couplage du nitrite avec le sulfanilamide du Griess B. le sel est ensuite couplé avec une amine « N-(1-naphtyl) éthylène diamine » (Griess A) pour former un produit azophique chromophore qui absorbe fortement à 543 nm. Le réactif de Griess donne une coloration rose plus ou moins intense en fonction de la concentration de nitrite.

a.2. Mode opératoire (Touil-Boukoffa et al., 1998)

- Le dosage devrait être effectué en ajoutant 25 µl de Griess B puis 25 µl de Griess A à 50µl de plasma ou de surnageant de culture.
- Par la suite, on ajoute 400 µl d'eau distillée. Le mélange devrait être homogénéisé par le vortex puis incubé dans l'obscurité pour 20 min
- Ensuite le mélange devrait être centrifugé pendant 5 min à une vitesse de 6000 rpm. La densité optique devrait être lue à une longueur d'onde de 540 nm sur le spectrophotomètre microlab 300 qui est proportionnelle à la coloration de nitrite dans l'échantillon.
- Une gamme étalon devrait être réalisée au préalable à partir d'une solution de NaNO₂ à 500 µM.
- Les concentrations des nitrites résiduels devraient être calculées par extrapolation sur une courbe standard.

b. Dosage de cytokines par ELISA

b.1. Principe

L'évaluation de la production des cytokines pro et anti-inflammatoire devrait être réalisé en utilisant un kit de test ELISA Sandwich (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay). Elle est une méthode immunochimique qui met en œuvre successivement deux anticorps qui sont généralement spécifiques de l'antigène d'intérêt. Dans un premier temps, une plaque de microtitration est recouverte par des AC primaires qui permettent la capture des Ag recherchés. La présence des antigènes dans l'échantillon analysé est alors détectée grâce à des anticorps secondaires spécifiques couplés à une enzyme. Ces derniers sont révélés par leur activité enzymatique après le rajoute du substrat qui provoque l'apparition d'un produit jaune révélant la présence éventuelle des antigènes.

b.2. Mode opératoire

Le sacrifice des rats devrait être fait dans le 14eme jour. Tout d'abords, une ponction cardiaque devrait être faite pour récupérer le sang. Le sérum est ensuite séparé du sang par une centrifugation. La production de certaines cytokines devrait être quantifiée dans le sérum (IL-6, IL-6R IL-1β, TNFα, IL10 et IL-37). Il s'agit d'un dosage de type ELISA sandwich. Dans des puits d'une microplaque de microtitration recouverts d'un premier anticorps monoclonal anti-cytokine, les sérums sont distribués à raison de 100µl/puits. Après 2h d'incubation à température ambiante, 100µl d'anticorps biotinylés ainsi que 100µl de

streptavidine couplée à la peroxydase ont été ajoutés aux différents puits. Une deuxième incubation pendant 30 mn à température ambiante suivie d'un lavage doit être effectuée. L'activité enzymatique est révélée par addition du substrat de l'enzyme couplé à un chromogène (100µl/puits). L'absorbance est lue à 450 nm par spectrophotométrie, l'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en cytokines présentes dans l'échantillon. La concentration en cytokines de chaque échantillon doit être déterminée par extrapolation sur une courbe standard.

c. Préparation des coupes histologiques

c.1. Principe

La réalisation des coupes histologiques des témoins et des rats traités à la nicotine est considérée comme une étape importante pour voir l'effet thérapeutique de la nicotine sur les lésions oculaires et celles de cerveau.

La préparation des coupes histologiques se déroulait en plusieurs étapes:

- **La fixation au formol 10%:** pour la conservation morphologique des structures tissulaires et cellulaires.
- **L'inclusion en paraffine:** Les tissus doivent passer par une série de solvants organiques (alcool, xylène) qui déshydratent et dissolvent les graisses figurées intra tissulaires. Le bloc de paraffine permettait de rigidifier le tissu en orientant le fragment dans le sens de la coupe. La coupe au microtome servait à réaliser une coupe très fine (5 microns). La coupe doit être déposée et étalée sur une lame en verre.
- **La coloration** permet de colorer spécifiquement les différentes structures tissulaires et cellulaires. Les colorants utilisés sont l'hématoxyline (qui met en évidence les noyaux en bleu) et l'éosine (qui met en évidence le cytoplasme en rouge).

Les coupes colorées doivent être ensuite protégées par une lamelle de verre. Les lames peuvent être alors examinées au microscope.

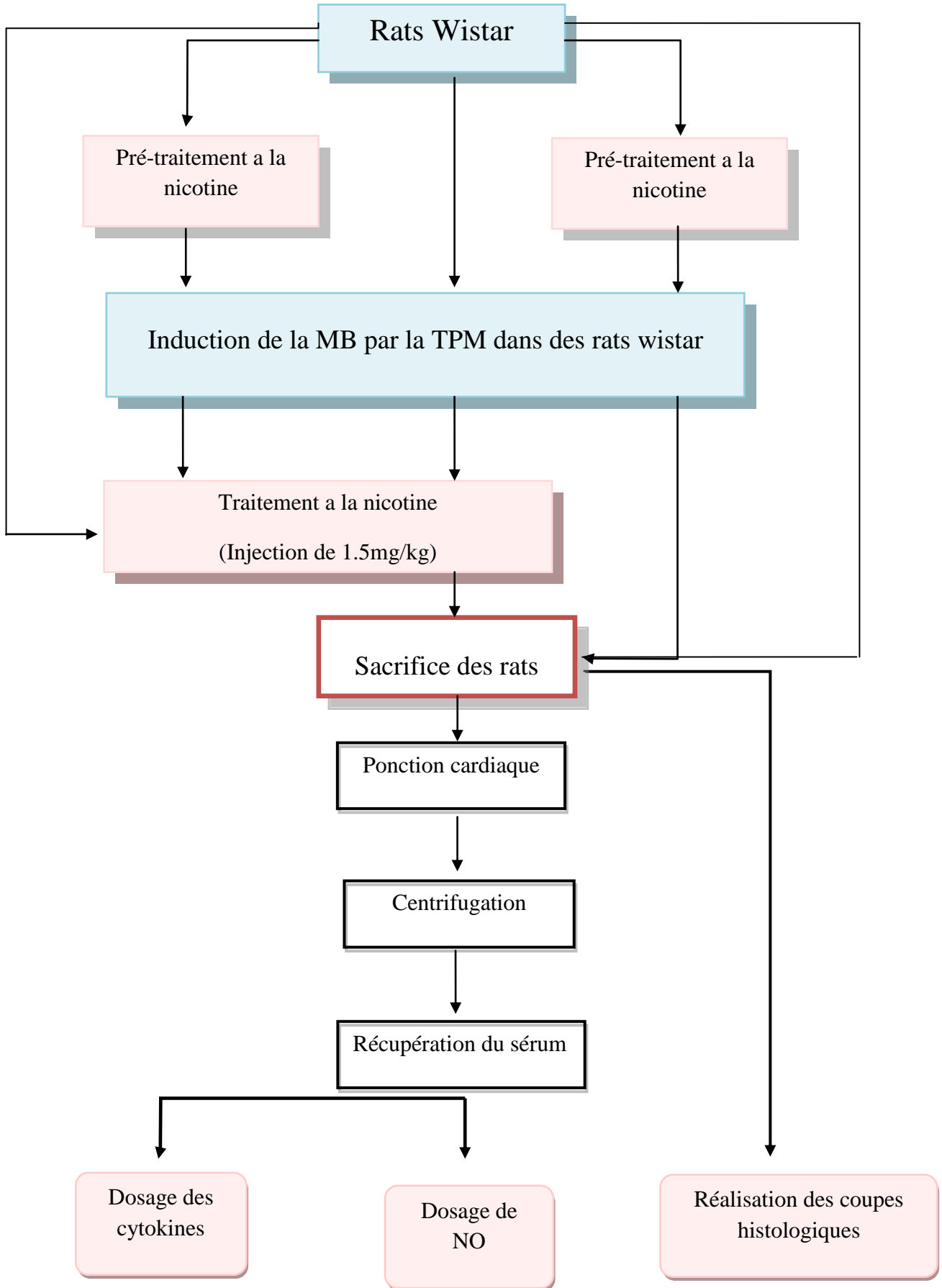


Figure 13 : Schéma récapitulatif de la démarche expérimental.

Chapitre V

Résultats et

Discussion

Selon l'hypothèse proposée, nos résultats devrait montrer l'effet modulateur de la Nicotine sur la synthèse des cytokines pro et anti-inflammatoires ainsi que le monoxyde d'azote (NO). Pour cela une synthèse des résultats d'une panoplie de recherches du même objectif dans d'autres pathologies ont été rapportés ci-dessous.

V.1. Résultats

V.1.1. Effet de la nicotine sur l'expression des marqueurs immunitaires

V.1.1.1. L'effet de la nicotine sur l'expression des cytokines

Afin d'étudier les effets de la nicotine, un agoniste des récepteurs ACh, sur la production de cytokines *in vitro*, Priya Revathikumar et al. Ont mis en culture des astrocytes foetaux humains stimulés avec de l'IL-1 β et traités simultanément avec de la nicotine à différentes concentrations (1, 10 et 100 μ M). Les surnageants cellulaires ont été collectés pour le profilage des cytokines par ELISA et le test multiplex MesoScale (**Revathikumar et al,2016**).

Les résultats ont montré que le traitement à la nicotine limite de manière dépendante la production de cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-6 (60,5 \pm 3,3,% d'inhibition)(**fig14A**), l'IL-1 β (42,4 \pm 1,7,% d'inhibition) (**fig14B**) et TNF- α (68,9 \pm 7,7,% d'inhibition) (**fig14C**) par les astrocytes humains activés (**Figure 14**).

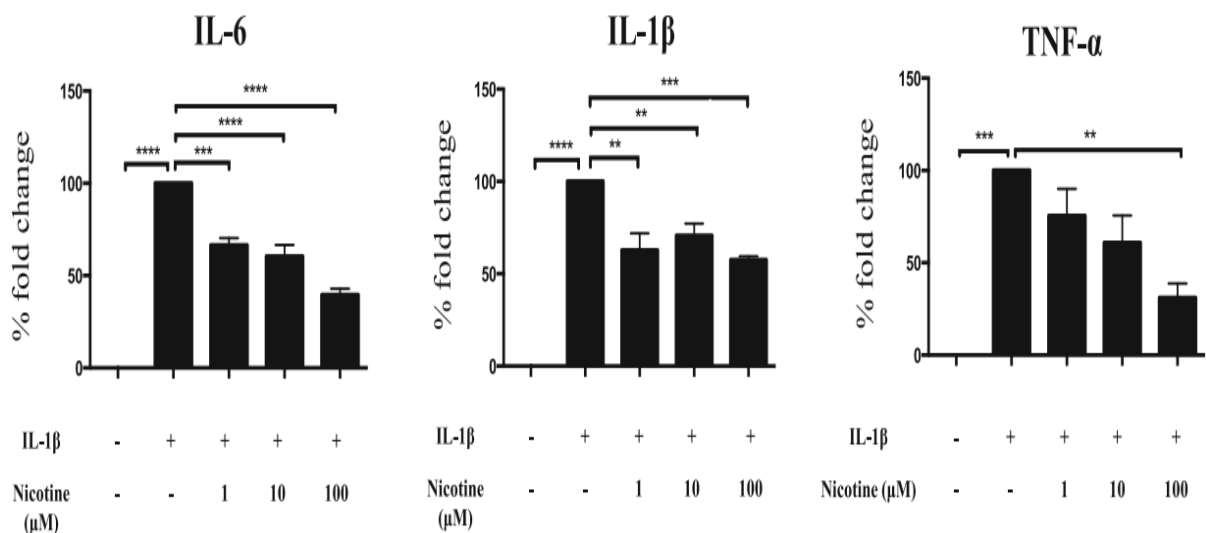


Figure 14: Modulation des effets de la nicotine sur plusieurs cytokines au cours de la neuroinflammation (**Revathikumar et al,2016**).

Cela confirme les résultats précédents de David A Scott (**figure 15**). Afin d'exploiter la voie anti-inflammatoire nicotinique pour le traitement des maladies inflammatoires épithéliales qui ont trouvé que la nicotine inhibe la libération de plusieurs cytokines (TNF, IL-1 β , IL-6) sous le contrôle de la NF- κ B. Les cellules ont été prétraitées avec de la nicotine (100 ng / mL) pendant 2h puis stimulées avec du LPS purifié (0 à 1 x 10⁴ ng / mL) pendant 24 h. Les surnageants ont été récoltés par centrifugation et les niveaux de cytokines pro-inflammatoires ont été déterminés par ELISA (**Scott, D et al. 2006**).

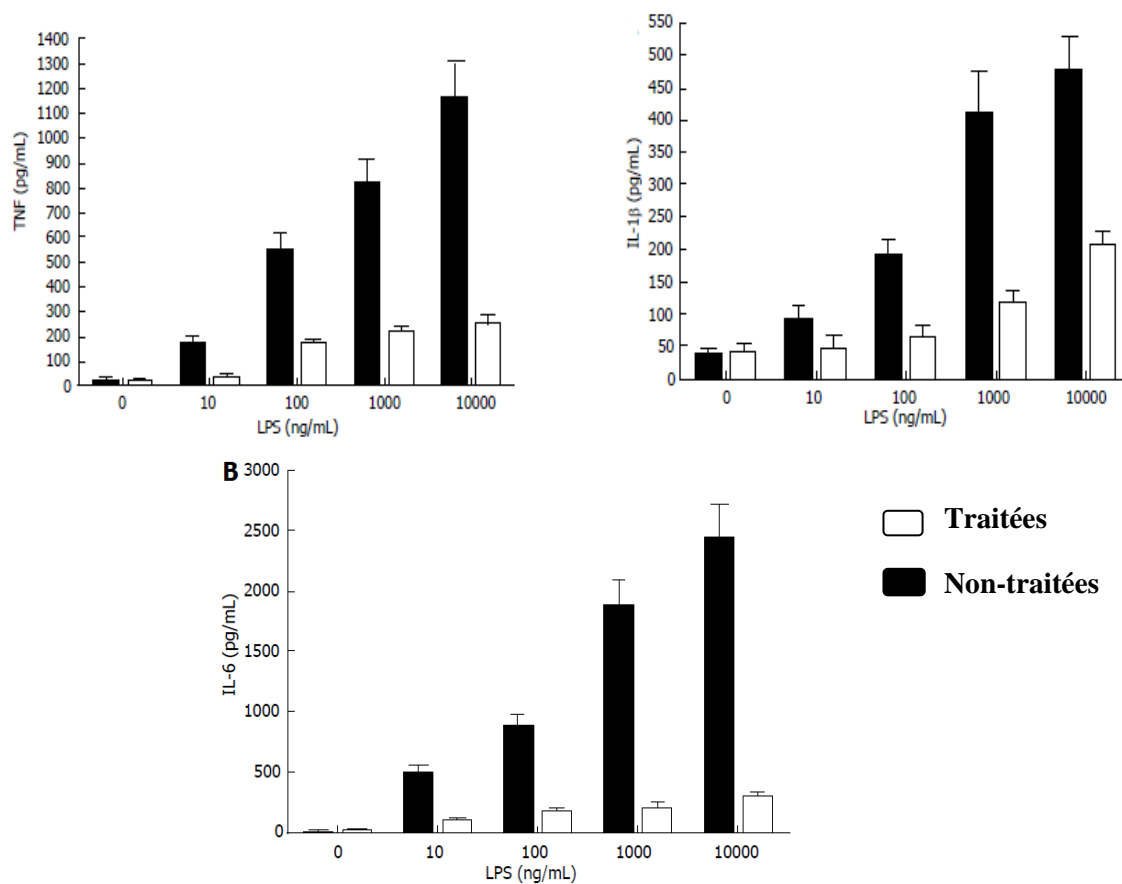


Figure15: l'effet de la nicotine sur l'expression des cytokines inflammatoires (**Scott, D et al.2006**).

Une autre étude plus récente (2019) réalisé par Dewei Wang et al. (**Wang, D et al. 2019**) pour démontrer les effets neuroprotecteurs de La nicotine en atténuant la production locale de cytokines inflammatoires après une lésion par écrasement des nerfs sciatiques du rat (**figure 16**) mais selon Zai-long chi et al. la nicotine n'a pas inhibé la libération de la cytokine anti-inflammatoire IL-10 (**Zai-long chi et al., 2007**) (**figure 17**).

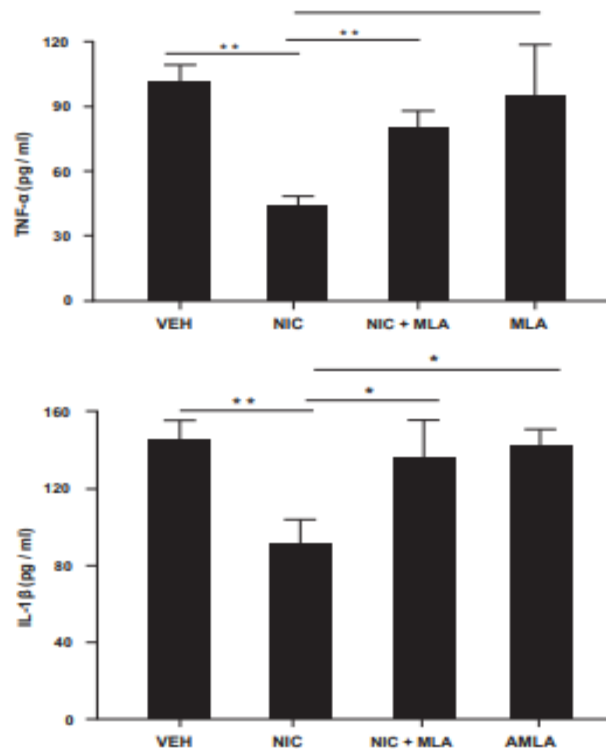


Figure 16: Effet de la nicotine sur le TNF α et l'IL-1 β mesurée par ELISA le jour 1 après une lésion du nerf sciatique (Wang, D et al. 2019).

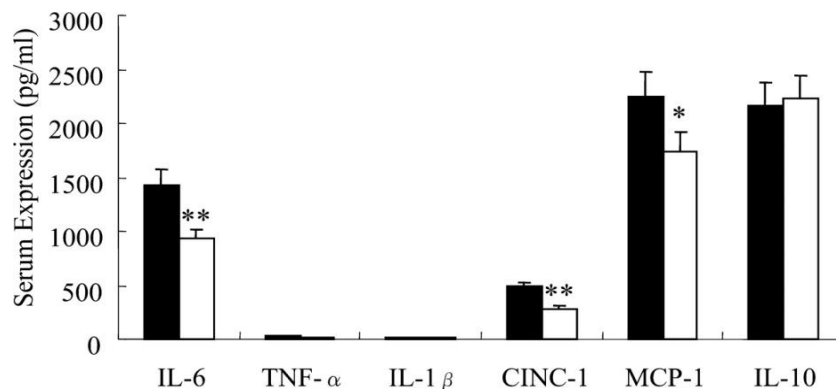


figure 17: Effet de la nicotine sur les cytokines et chimiokines 24h après l'injection de LPS et de la nicotine (Zai-long chi et al., 2007).

V.1.1.2. L'effet de la nicotine sur l'expression d'iNOS et la production de monoxyde d'azote

Afin d'étudier l'effet thérapeutique de la nicotine dans la maladie d'Alzheimer, Qiang Liu, et al ont mesuré et quantifié l'activité de NOS et le taux de production de NO dans le cerveau de souris transgéniques âgées de neuf mois traitées avec du saccharose ou de la nicotine plus du saccharose pendant 5 mois (Qiang Liu, et al. 2007).

La figure 18 (A-B) montre que la nicotine provoque une diminution significative de la production de NO et de l'activité NOS dans le cerveau, en particulier dans le cortex et l'hippocampe. Ils ont ensuite examiné par RT-PCR en temps réel et Western blot la production réduite de NO et l'activité enzymatique NOS qui sont attribuables à l'expression du gène iNOS. Les niveaux d'ARN (Figure 18C) et de protéine (Figure 18D) d'iNOS sont tous deux diminués par le traitement à la nicotine.

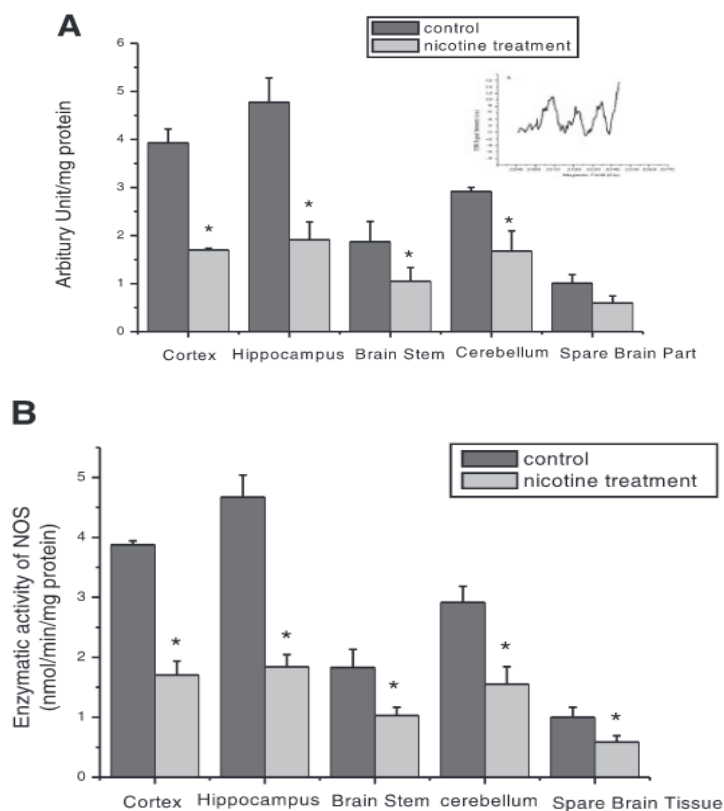


Figure 18 (A-B) : la nicotine diminue la production de NO et l'activité de NOS dans le cerveau, en particulier dans le cortex et l'hippocampe. (Qiang Liu et al. 2007).

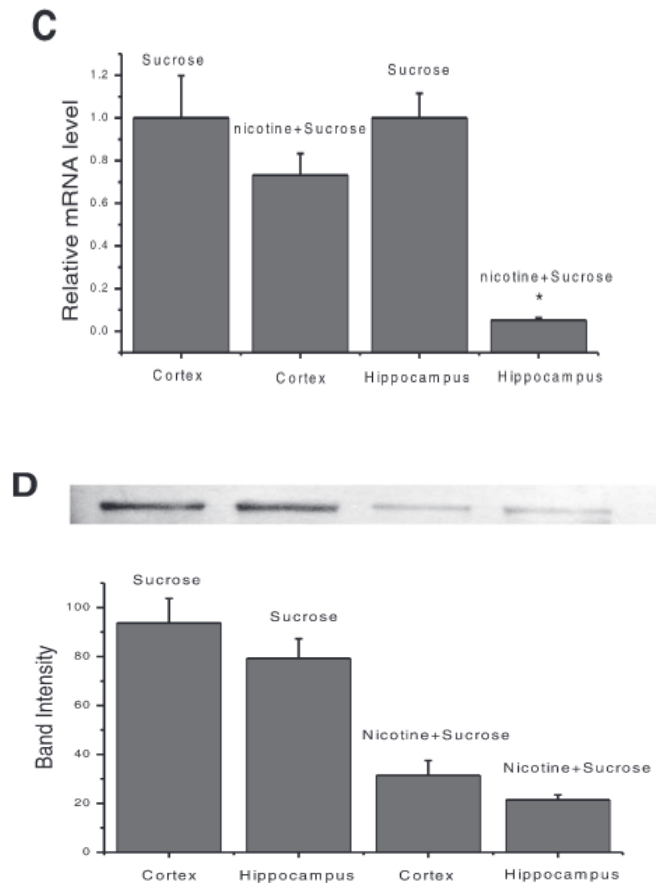


Figure 18 (C-D): La nicotine réduit l'expression d'iNOS (Qiang Liu, *et al.* 2007).

V.1.2. L'histologie

V.1.2.1. Effet de la nicotine sur les lésions du segment antérieur de l'œil

Dans le but d'étudier l'effet de la nicotine sur l'uvéite induite par l'endotoxine (EIU) chez le rat et le mécanisme moléculaire sous-jacent. Zai-Long Chi *et al.* ont réalisé des coupes histologiques de 6 µm d'épaisseur et les colorées à l'hématoxyline et à l'éosine. Aucune inflammation n'a été observée chez les rats traités par la nicotine seule (**figure 19B**). Cependant, une inflammation sévère a été trouvée dans la chambre antérieure et postérieure 24 heures après l'administration du LPS (**Fig. 19C**). Des réductions significatives de l'inflammation ont été observées dans les yeux de rats traités avec de la nicotine (2 mg / kg) injectée simultanément avec le LPS (**Fig. 19D**) (Zai-long chi *et al.*, 2007).

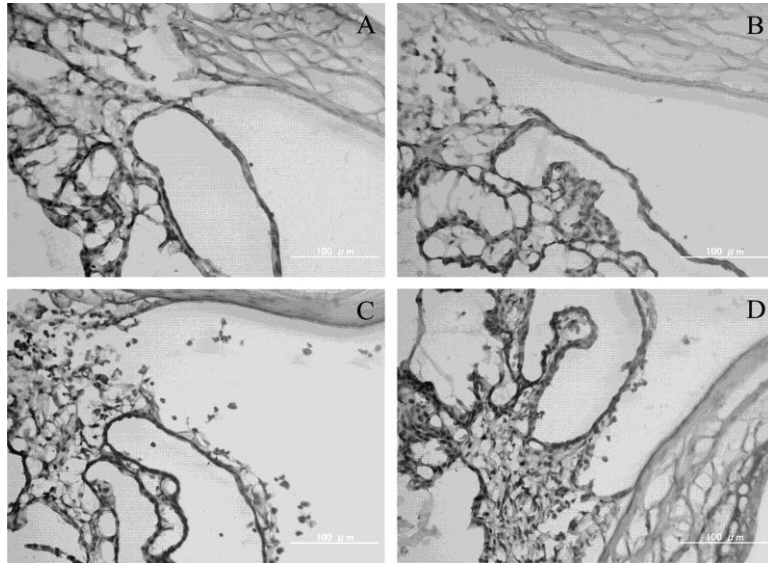


Figure 19: Coupe histologique de rétine montrant l'effet de la nicotine sur l'uvéite induite par le LPS (Zai-long chi et al., 2007).

L'effet de la nicotine sur l'uvéite induite par le LPS été aussi mesuré. En observant Les scores cliniques (**Figure 20A**) et la teneur en protéines de l'humeur aqueuse (**Figure 20B**) après injection de nicotine et de LPS (les instants sont indiqués). L'évaluation du score clinique et l'échantillonnage aqueux ont été effectués à 0, 6, 12, 18, 24, 30 et 36 heures après l'injection de LPS. La nicotine a été injectée en même temps que l'administration de LPS. Moyenne \pm ET (n = 4 paires d'yeux). * P <0,05; ** P <0,01 par rapport à l'injection de LPS.

Ils ont déduit que la nicotine a amélioré les scores cliniques et diminué la teneur en protéines et le nombre de cellules chez les rats atteints d'EIU (Zai-long chi et al., 2007)

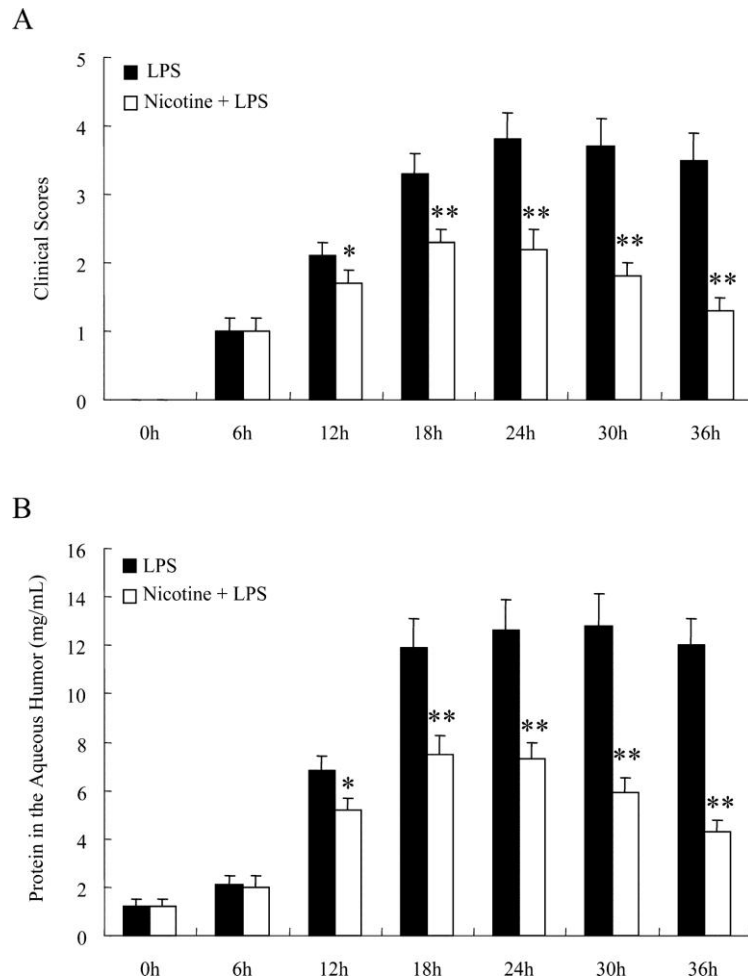


Figure 20: l'effet de la nicotine sur l'uvéite induite par le LPS (Zai-long chi et al., 2007).

V.1.2.2. Effet de la nicotine sur les lésions inflammatoire du SNC

En suivant le Protocol standard de l'histologie, la moelle épinière des souris des groupes témoin et nicotine ont été prélevées à la phase chronique de la maladie (Encéphalomyélite auto-immune expérimentale (EAE)) (jour 30) et analysées par Eran Nizri et son équipe qui ont montré une préservation de tissus après traitement à la nicotine avec une diminution de la démyélinisation, de l'infiltration de microglies et une réduction des dommages (**Figure 21**) (Nizri et al., 2009).

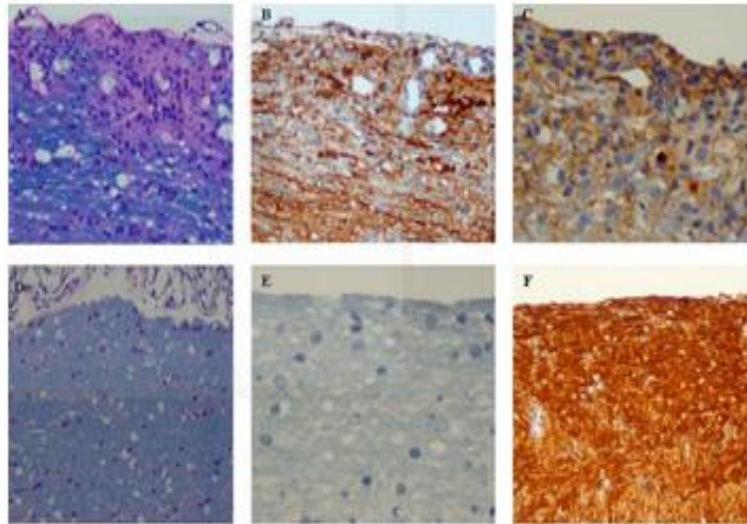


Figure 21 : Histopathologie de la moelle épinière des souris traité ou non traité a la nicotine (Nizri et al., 2009).

(A – C, Groupe non traité; D – F, groupe traité à la nicotine. (A et D) Démyélinisation, (B et E) Infiltration de la microglie, (C et F) Dommages des axons).

V.2. Discussion générale

De nombreuses preuves suggèrent que la nicotine peut avoir des propriétés anti-inflammatoires.

Notre objectif était de tester pour la première fois l'effet de la nicotine comme stratégie thérapeutique pour la maladie de Behçet dans le modèle animal, comprendre son impact comme molécule anti-inflammatoire et de délimiter les mécanismes immunologiques modulatrices sous-jacents à ces effets.

Plusieurs propriétés pharmacologiques de la nicotine dans une variété de maladies inflammatoires ont été prouvées dans les recherches proposées ci-dessus.

Différentes études ont mis en évidence que les leucocytes humains, murins et même ceux des rats expriment à leurs surface les récepteurs nicotiques cholinergiques ($\alpha 7nAChR$) qui sont largement exprimés dans le SNC et le SNP (**Sharma et al., 2002 ; Wan et al., 2003**), et leur activation endogène par l'acétylcholine ou exogène par la nicotine, résulte un effet anti-inflammatoire qui se traduit principalement par une diminution de la production des cytokines pro-inflammatoires, en particulier TNF- α provenant des monocytes (**Parrish et al., 2008**) et IL-1, et l'IL-6 provenant de macrophages par un effet inhibiteur de l'activation de NF- κB (**Sugano et al., 1998**). Il a été démontré que l'exposition chronique à la nicotine peut conduire à une régulation positive des récepteurs $\alpha 7nAChR$, des études sur le cerveau des rats et des souris exposés à plusieurs reprises à la nicotine ont montré une augmentation des récepteurs nicotiques (**Brown et al., 2013 ; Melroy-Greif et al., 2016**).

Afin d'exploiter la voie anti-inflammatoire nicotinique pour le traitement des maladies inflammatoires épithéliales, David A Scott et Michael Martin ont démontré, dans une étude *in vitro*, que la nicotine se lie aux récepteurs alpha-7 nAChR qui se trouve sur certains types de cellules immunitaires, ces récepteurs peuvent agir comme suppresseurs et régulateurs du système immunitaire en diminuant la libération des cytokines pro-inflammatoires par les macrophages et les monocytes. La phosphorylation ultérieure du facteur de transcription STAT3 et SOCS3 connues de leur capacité d'interagir avec la voie NF κB aboutit à l'inhibition de l'expression des gènes codant pour IL-1, IL-6, et de TNF mais n'affecte pas la voie anti-inflammatoire y compris l'IL-10 (**Scott et al., 2006**), ce qui été en concordance avec des résultats trouvés par Revathi Kumar et Wang D dans des études *in vivo* (**Revathikumar et al., 2016 ; Wang, D et al., 2019**).

La phase active de la MB est souvent associée à une augmentation des marqueurs inflammatoires dont le NO (**Belguendouz et al., 2011; Messaoudene et al., 2011 ; Djeraba et al., 2014**). Une étude faite par Qiang Liu et al a rapporté que la nicotine inhibe la production de NO et l'activité NOS, et réduit l'expression d'iNOS dans un modèle murin de la maladie d'Alzheimer (**Liu, et al., 2007**). Ces chercheurs suggèrent que la nicotine en tant qu'un agoniste cholinergique active les nAChR, puis prévient la neurotoxicité *via* un nouveau mécanisme anti-inflammatoire et celui-là en inhibant les voies de progression de la neuro-dégénérescence. Qiang liu et ces collaborateurs ont mentionné une voie de signalisation par laquelle la nicotine peut également inhiber la neurodégénérescence, c'est *via* l'activation de 7nAChR par MAPK / NF-κB. Ces données suggèrent que la nicotine active les nAChRs, puis empêche la neurotoxicité après un traitement à long terme à la nicotine qui active la sous-unité 7 de récepteur nAChR et inhibe l'accumulation et le dépôt de plaques néritiques (Aβ) dans l'hippocampe (**Liu, et al., 2007**). Ce mécanisme peut fournir une nouvelle façon d'interféré avec l'inflammation pour le traitement de la MA.

Une rémission des lésions ainsi qu'une restitution des tissus a été clairement observés après traitement à la nicotine ce qui signifie que cette molécule a un impact positifs sur les lésions qui résultent de l'inflammation. Après la réalisation des coupes histologiques, Zai-Long Chi *et al.* n'ont observé aucune inflammation chez les rats traités par la nicotine. Tandis qu'une inflammation sévère a été trouvée dans la chambre antérieure et postérieure 24 heures après l'administration du LPS (**Zai-long chi et al., 2007**).

EranNizri et son équipe ont montré une préservation de tissus après traitement à la nicotine avec une diminution de la démyélinisation, de l'infiltration de microglies et une réduction des dommages (**Nizri et al., 2009**).

La production des cytokines pro-inflammatoires dans les cellules immunitaires innées est médiée par la voie NF-κB. En effet la nicotine se lie aux récepteurs alpha-7 nAChR ce qui empêche ou inhibe la dégradation de IκB, cette protéine inhibitrice masque le signal de localisation nucléaire de NF-κB et empêche ainsi sa translocation et son activation dans les monocytes et les macrophages. Des éléments de preuve antérieurs ont démontré que la nicotine inhibe la translocation de la protéine NFκB stimulée par la LPS, il a également été trouvé que la nicotine augmente la phosphorylation de la protéine PI3K et de l'AKT, qui abaisse l'activation de la protéine NFκB dans les macrophages (**Teng, P et al., 2019**).

Malgré toutes ces études sur la nicotine, son effet direct dans la maladie de Behçet n'a pas été encore étudié. L'utilisation de cette molécule peut offrir un résultat clinique bénéfique, et ainsi fournir une stratégie thérapeutique valable pour les troubles inflammatoires. Ce qui nous a orienté à proposer de tester son efficacité dans un modèle animal.

Subramanyam RV a suggéré dans une étude faite en 2011 qu'il existe une relation entre la disparition des aphtoses buccales et la consommation du tabac et que plus précisément la nicotine peut avoir un rôle protecteur sur l'apparition des aphtes et a trouvé évidemment que l'incidence des aphtoses buccales récidivantes (ABR) est plus faible chez les personnes qui fument. Ainsi, la nicotine et ses métabolites peuvent provoquer une immunosuppression entraînant une diminution de la réponse inflammatoire et empêchant l'apparition des ABR (**Subramanyam RV, 2011**).

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

Conclusion et perspectives

VI. Conclusion et perspectives

Notre mémoire a pour but d'étudier l'effet immunomodulateur de la nicotine dans un modèle animal Behçet, en se demandant si cette molécule peut conférer une stratégie thérapeutique en limitant la production de marqueurs inflammatoires tels que l'IL-6, TNF α , et l-IL-1 β et l'altération des taux sérique de NO.

Il a fallu donc chercher et rapporter des études dont on a prouvé le rôle immunomodulateur de cette molécule et illustrer son rôle thérapeutique dans diverses pathologies inflammatoires qui présentent un dysfonctionnement similaire à la maladie de Behçet ; et par moyen d'analyse de ces résultats il est clairement constaté que la nicotine diminue le taux sérique des cytokines citées ci-dessus ainsi que la production du NO qui ont été mesurés sans et avec la nicotine.

A partir de ce constat, l'essai de cette molécule dans le model expérimental de la maladie de Behçet aurait pu donner de positifs résultats suivant un protocole bien défini.

Il convenait alors de s'intéresser à adopter cette stratégie thérapeutique et prouver son efficacité dans un model expérimental et il serait pertinent de :

- Réalisation d'une immunohistochimie afin doser l'NLRP3.
- L'administration de la nicotine et le tryptophane simultanément.
- Passer à l'examen bactériologique pour tester l'effet antimicrobien de la nicotine sur le microbiote buccal des patients avec MB.
- Passer à l'essai clinique de la nicotine.

Références bibliographiques

A

Ahn, J. K., Yu, H. G., Chung, H., & Park, Y. G. (2006). Intraocular cytokine environment in active Behçet uveitis. *American journal of ophthalmology*, 142(3), 429-434.

Åkerström, S., Mousavi-Jazi, M., Klingström, J., Leijon, M., Lundkvist, Å., & Mirazimi, A. (2005). Nitric oxide inhibits the replication cycle of severe acute respiratory syndrome coronavirus. *Journal of virology*, 79(3), 1966-1969.

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

AMOURA, Z., GUILLAUME, M., CAILLAT-ZUCMAN, S., WECHSLER, B., & PIETTE, J.C. (2006). Physiopathologie de la maladie de Behçet. *La Revue de Médecine Interne*, 27(11), 843–853.

Andersson, U., & Tracey, K. J. (2012). Reflex principles of immunological homeostasis. *Annual review of immunology*, 30, 313-335.

Aridogan, B. C., Yildirim, M., Baysal, V., Inaloz, H. S., Baz, K., & Kaya, S. (2003). Serum levels of IL-4, IL-10, IL-12, IL-13 and IFN-gamma in Behçet's disease. *The Journal of dermatology*, 30(8), 602-607.

Arroul-Lammali, A., Djeraba, Z., Belkhelfa, M., Belguendouz, H., Hartani, D., Lahlou-Boukoffa, O. S., & Touil-Boukoffa, C. (2012). Early involvement of nitric oxide in mechanisms of pathogenesis of experimental autoimmune uveitis induced by interphotoreceptor retinoid-binding protein (IRBP). *Journal français d'ophtalmologie*, 35(4), 251-259.

B

Baharav, E., Weinberger, A., & Mor, F. (2006). Experimental models of Behçet's disease. *Drug Discovery Today: Disease Models*, 3(1), 11-14.

Balkan, E., Bilen, H., Keles, S., Pirim, I., Akdeniz, N., & Eyerci, N. (2019). Effect of Colchicine on Th1 and Th17 Cytokines, Cytokine Receptors, and Chemokine Gene Expression Profiles in Behçet's Disease: Gene expression in behçet patients. *Trends Journal of Sciences Research*, 4(2), 39-47.

Belguendouz, H., Lahmar-Belguendouz, K., Messaoudene, D., Djeraba, Z., Otmani, F., Hakem, D., ... & Touil-Boukoffa, C. (2015). Cytokines modulate the “immune-metabolism” interactions during Behçet disease: effect on arginine metabolism. *International Journal of Inflammation*, 2015.

Belguendouz, H., Lahmar-Belguendouz, K., Messaoudene, D., Djeraba, Z., Otmani, F.,

- Hakem, D., ... & Touil-Boukoffa, C. (2015). Cytokines modulate the "immune-metabolism" interactions during Behçet disease: effect on arginine metabolism. *International Journal of Inflammation*, 2015.
- Belguendouz, H., Messaoudene, D., Hartani, D., Chachoua, L., Ahmedi, M. L., Lahmar-Belguendouz, K., ... & Touil-Boukoffa, C. (2008). Effect of corticotherapy on interleukin-8 and-12 and nitric oxide production during Behçet and idiopathic uveitis. *Journal Français d'Ophtalmologie*, 31(4), 387-395.
- Belguendouz, H., Messaoudene, D., Lahmar, K., Ahmedi, L., Medjeber, O., Hartani, D., ... & Touil-Boukoffa, C. (2011). Interferon- γ and nitric oxide production during Behçet uveitis: immunomodulatory effect of interleukin-10. *Journal of Interferon & Cytokine Research*, 31(9), 643-651.
- Belguendouz, H., Messaoudene, D., Lahmar, K., Ahmedi, L., Medjeber, O., Hartani, D., ... & Touil-Boukoffa, C. (2011). Interferon- γ and nitric oxide production during Behçet uveitis: immunomodulatory effect of interleukin-10. *Journal of Interferon & Cytokine Research*, 31(9), 643-651.
- Benamour.S, Chaotic.L ,Zero.Lb. Study Of 673 Cases Of Behç Et's Disease .Program And Abstracts, Milano:Prex,1998:232.
- Bennouna-Biaz.F, Senouci.K, Hassen.B, Heid.E, Lazrek.B. (1995) La Maladie De Behçet, Profil Epidémiologique. Maghreb Médical, 290:30-2.
- Calabrese, V., Mancuso, C., Calvani, M., Rizzarelli, E., & Butterfield, D. A. (2007). A. STELLA. Nitric oxide in the central nervous system: neuroprotection versus neurotoxicity. *Nat Rev Neurosci*, 8, 766-775.
- Campbell, D. J., & Koch, M. A. (2011). Phenotypical and functional specialization of FOXP3+ regulatory T cells. *Nature Reviews Immunology*, 11(2), 119-130.
- Chang, H. K., Jang, W. C., Park, S. B., Han, S. M., Nam, Y. H., Lee, S. S., ... & Lee, H. S. (2005). Association between interleukin 6 gene polymorphisms and Behçet's disease in Korean people. *Annals of the rheumatic diseases*, 64(2), 339-340.
- Chekaoui, A. (2019). *Etude des mécanismes de régulation des réponses auto-inflammatoires impliquées au cours de la maladie de Behçet" impact pronostique et thérapeutique"* (Doctoral dissertation).
- Chekaoui, A., Lahmar, K., Belguendouz, H., Mazari, F., Terahi, M., Hakem, D., ... &

Touil-Boukoffa, C. (2018). Increased IL-1 β levels are associated with an imbalance of "oxidant/antioxidant" status during Behçet's disease. *European Cytokine Network*, 29(3), 95-102.

C

Chi, W., Zhu, X., Yang, P., Liu, X., Lin, X., Zhou, H., ... & Kijlstra, A. (2008). Upregulated IL-23 and IL-17 in Behçet patients with active uveitis. *Investigative ophthalmology & visual science*, 49(7), 3058-3064.

Chi, Z. L., Hayasaka, S., Zhang, X. Y., Cui, H. S., & Hayasaka, Y. (2007). A cholinergic agonist attenuates endotoxin-induced uveitis in rats. *Investigative ophthalmology & visual science*, 48(6), 2719-2725.

Civilini, M., Domenis, C., Sebastianutto, N., & de Bertoldi, M. (1997). Nicotine decontamination of tobacco agro-industrial waste and its degradation by micro-organisms. *Waste management & research*, 15(4), 349-358.

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

D

Davatchi, F. (2012). Diagnosis/classification criteria for Behcet's disease. *Pathology research international*, 2012.

Davatchi, F., Chams-Davatchi, C., Shams, H., Nadji, A., Faezi, T., Akhlaghi, M., ... & Shahram, F. (2016). Adult Behcet's disease in Iran: analysis of 6075 patients. *International journal of rheumatic diseases*, 19(1), 95-103.

Davatchi, F., Sadeghi Abdollahi, B., Chams-Davatchi, C., Shahram, F., Shams, H., Nadji, A., ... & Ashofteh, F. (2015). The saga of diagnostic/classification criteria in Behcet's disease. *International journal of rheumatic diseases*, 18(6), 594-605.

de Chambrun, M. P., Wechsler, B., Geri, G., Cacoub, P., & Saadoun, D. (2012). New insights into the pathogenesis of Behcet's disease. *Autoimmunity reviews*, 11(10), 687-698.

de Chambrun, M. P., Wechsler, B., Geri, G., Cacoub, P., & Saadoun, D. (2012). New insights into the pathogenesis of Behcet's disease. *Autoimmunity reviews*, 11(10), 687-698.

De Rosa, M. J., Dionisio, L., Agriello, E., Bouzat, C., & del Carmen Esandi, M. (2009). Alpha 7 nicotinic acetylcholine receptor modulates lymphocyte activation. *Life sciences*, 85(11-12), 444-449.

Deneris, E. S., Connolly, J., Rogers, S. W., & Duvoisin, R. (1991). Pharmacological and functional diversity of neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Trends in pharmacological sciences*, 12, 34-40.

Deng, Y., Zhu, W., & Zhou, X. (2018). Immune regulatory genes are major genetic factors to behcet disease: systematic review. *The open rheumatology journal*, 12, 70.

Djaballah-Ider, F., Djeraba, Z., Chemli, M., Dammene-Debbihe, N., Lounis, D., Belguendouz, H., ... & Touil-Boukoffa, C. (2018). Influence of corticosteroid therapy on IL-18 and nitric oxide production during Behçet's disease. *Inflammopharmacology*, 26(3), 725-735.

Djeraba, Z., Boumedine, K., Arroul-Lammali, A., Otmani, F., Belguendouz, H., & Touil-Boukoffa, C. (2014). Ex vivo immunomodulatory effect of all-trans-retinoic acid during Behçet's disease: a study in Algerian patients. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 36(1), 78-86.

E

Ekşioğlu-Demiralp, E., Kibaroglu, A., Direskeneli, H., Yavuz, S., Karsli, F., Yurdakul, S., ... & Akoglu, T. (1999). Phenotypic characteristics of B cells in Behçet's disease: increased activity in B cell

subsets. *The Journal of rheumatology*, 26(4), 826-832.

El-Asrar, A. M. A., Struyf, S., Kangave, D., Al-Obeidan, S. S., Opdenakker, G., Geboes, K., & Van Damme, J. (2011). Cytokine profiles in aqueous humor of patients with different clinical entities of endogenous uveitis. *Clinical Immunology*, 139(2), 177-184.

F-

FATIMA, L. D. (2018). *Etude de la réactivité de la synapse cellulaire lymphocytes B-lymphocytes T impliquée dans l'évolution et le maintien de la chronicité de l'inflammation au cours de la maladie de Behçet: Rôle des cytokines et du monoxyde d'azote* (Doctoral dissertation, Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene).

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

G

García-Palenzuela, R., Gil, J. G., Arias, M. V., & Bobo, M. T. (2012). Actualización de la enfermedad de Behçet. A propósito de 2 casos en atención primaria. *SEMERGEN-Medicina de Familia*, 38(1), 33-39.

Geri, G., Terrier, B., Rosenzweig, M., Wechsler, B., Touzot, M., Seilhean, D., ... & Klatzmann, D. (2011). Critical role of IL-21 in modulating TH17 and regulatory T cells in Behçet disease. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 128(3), 655-664.

Ghembaza, M., Bouabdallah, N., Lounici, A. (2017). Behçet Disease In Western Algeria. *Medecine Et Sante Tropicales*; 27: 101-104

Gomes, J. P., Watad, A., & Shoenfeld, Y. (2018). Nicotine and autoimmunity: The lotus' flower in tobacco. *Pharmacological research*, 128, 101-109.

Greco, A., De Virgilio, A., Ralli, M., Ciofalo, A., Mancini, P., Attanasio, G., ... & Lambiase, A. (2018). Behçet's disease: New insights into pathophysiology, clinical features and treatment options. *Autoimmunity reviews*, 17(6), 567-575.

H

Hoover, D. B. (2017). Cholinergic modulation of the immune system presents new approaches for treating inflammation. *Pharmacology & therapeutics*, 179, 1-16.

Horai, R., & Caspi, R. R. (2011). Cytokines in autoimmune uveitis. *Journal of Interferon & Cytokine Research*, 31(10), 733-744.

Hou, S., Yang, Z., Du, L., Jiang, Z., Shu, Q., Chen, Y., ... & Kijlstra, A. (2012). Identification of a susceptibility locus in

STAT4 for Behçet's disease in Han Chinese in a genome-wide association study. *Arthritis & Rheumatism*, 64(12), 4104-4113.

Houman, M. H., & Feki, N. B. (2014). Physiopathologie de la maladie de Behçet. *La Revue de médecine interne*, 35(2), 90-96.

Houman, M. H., & Feki, N. B. (2014). Physiopathologie de la maladie de Behçet. *La Revue de médecine interne*, 35(2), 90-96.

Houman, M. H., & Feki, N. B. (2014). Physiopathologie de la maladie de Behçet. *La Revue de médecine interne*, 35(2), 90-96.

<https://mssociety.ca/research-news/article/ms-society-funded-study-shows-that-nicotine-reduces-the-invasion-of-harmful-immune-cells-into-the-brain-in-mice-with-an-ms-like-disease>

<https://www.pourlascience.fr/sd/neurosciences/nicotine-contre-parkinson-11043.php>

[HiLIQ - Wholesale Vape Juice , Best Nicotine Salt for sale, Cheap nicotine base, Buy vape juice nicotine wholesale](#)

I

International Team for the Revision of the International Criteria for Behçet's Disease (ITR-ICBD), Davatchi, F., Assaad-Khalil, S., Calamia, K. T., Crook, J. E., Sadeghi-Abdollahi, B., ... & Al-Dalaan, A.

(2014). The International Criteria for Behçet's Disease (ICBD): a collaborative study of 27 countries on the sensitivity and specificity of the new criteria. *Journal of the european Academy of Dermatology and Venereology*, 28(3), 338-347.

International Study Group for Behçet's Disease. Criteria for diagnosis of Behçet's disease. *Lancet* 1990; 335:1078-80

Ignarro L, Freeman B. *Nitric Oxide*.

London (UK): Elsevier; 2017

K

Kaneko, F., Oyama, N., & Nishibu, A. (1997). Streptococcal infection in the pathogenesis of Behcet's disease and clinical effects of minocycline on the disease symptoms. *Yonsei medical journal*, 38, 444-454.

Kapsimali, V. D., Kanakis, M. A., Vaiopoulos, G. A., & Kaklamanis, P. G. (2010). Etiopathogenesis of Behçet's disease with emphasis on the role of immunological aberrations. *Clinical rheumatology*, 29(11), 1211-1216.

Karasneh, J., Hajeer, A. H., Barrett, J., Ollier, W. E. R., Thornhill, M., & Gul, A. (2003). Association of specific interleukin 1 gene cluster polymorphisms with increased susceptibility for Behcet's disease. *Rheumatology*, 42(7), 860-864.

L

Lahmar-Belguendouz, K., Belguendouz, H., Hartani, D., Lahlou-Boukoffa, O. S., Djeraba, Z., Lammali, A., & Touil-Boukoffa, C. (2009). Effets délétères des dérivés stables du monoxyde d'azote, marqueur inflammatoire des uvéites, sur les différentes tuniques de l'œil de bœuf en culture. *Journal français d'ophtalmologie*, 32(4), 247-256.

Lehner, T. (1997). The role of heat shock protein, microbial and autoimmune agents in the aetiology of Behçet's disease. *International reviews of immunology*, 14(1), 21-32.

Leonardo, N. M., & McNeil, J. (2015). Behçet's disease: is there geographical variation? A review far from the Silk Road. *International journal of rheumatology*, 2015.

Li, Z., Li, D., Tsun, A., & Li, B. (2015). FOXP3+ regulatory T cells and their functional regulation. *Cellular & molecular immunology*, 12(5), 558-565.

Lie, J. T. (1992). Vascular involvement in Behçet's disease: arterial and venous and vessels of all sizes. *Journal of rheumatology*, 19(3), 341-343.

Lin, J. J. C., Helfman, D. M., Hughes, S. H., & Chou, C. S. (1985). Tropomyosin

isoforms in chicken embryo fibroblasts: purification, characterization, and changes in Rous sarcoma virus-transformed cells. *The Journal of cell biology*, 100(3), 692-703.

Liu, Q., Zhang, J., Zhu, H., Qin, C., Chen, Q., & Zhao, B. (2007). Dissecting the signaling pathway of nicotine-mediated neuroprotection in a mouse Alzheimer disease model. *The FASEB Journal*, 21(1), 61-73

M

Mahesh, S. P., Li, Z., Buggage, R., Mor, F., Cohen, I. R., Chew, E. Y., & Nussenblatt, R. B. (2005). Alpha tropomyosin as a self-antigen in patients with Behçet's disease. *Clinical & Experimental Immunology*, 140(2), 368-375.

Mahr, A., & Maldini, C. (2014). Épidémiologie de la maladie de Behçet. *La Revue de Médecine Interne*, 35(2), 81-89.

Mansuy, D., Boucher, J. L., & Clement, B. (1995). On the mechanism of nitric oxide formation upon oxidative cleavage of C N (OH) bonds by NO-synthases and cytochromes P450. *Biochimie*, 77(7-8), 661-667.

Mason, R. M., & Barnes, C. G. (1969). Behçet's syndrome with arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 28(2), 95.

Messaoudene, D., Belguendouz, H., Ahmedi, M. L., Benabdekader, T., Otmani, F., Terahi, M., ... & Touil-Boukoffa, C. (2011). Ex vivo effects of flavonoïds extracted from *Artemisia herba alba* on cytokines and nitric oxide production in Algerian patients with Adamantiades- Behçet's disease. *Journal of Inflammation*, 8(1), 35.

Montes-Cano, M. A., Conde-Jaldón, M., García-Lozano, J. R., Ortiz-Fernández, L., Ortego-Centeno, N., Castillo-Palma, M. J., ... & Solans, R. (2013). HLA and non-HLA genes in Behçet's disease: a multicentric study in the Spanish population. *Arthritis research & therapy*, 15(5), R145.

Mor, F., Weinberger, A., & Cohen, I. R. (2002). Identification of alpha-tropomyosin as a target self-antigen in Behçet's syndrome. *European journal of immunology*, 32(2), 356-365.

Mor, F., Weinberger, A., & Cohen, I. R. (2002). Identification of alpha-tropomyosin as a target self-antigen in Behçet's syndrome. *European journal of immunology*, 32(2), 356-365.

Mumcu, G., Inanc, N., Yavuz, S., & Direskeneli, H. (2007). The role of

infectious agents in the pathogenesis, clinical manifestations and treatment strategies in Behcet's disease. *Clinical and experimental rheumatology*, 25(4 Suppl 45), S27-33.

N

Nanke, Y., Yago, T., & Kotake, S. (2017). The role of Th17 cells in the pathogenesis of Behcet's disease. *Journal of clinical medicine*, 6(7), 74.

Nian, H., Shao, H., O'Brien, R. L., Born, W. K., Kaplan, H. J., & Sun, D. (2011). Activated $\gamma\delta$ T cells promote the activation of uveitogenic T cells and exacerbate EAU development. *Investigative ophthalmology & visual science*, 52(8), 5920-5927.

Nizri, E., Irony-Tur-Sinai, M., Lory, O., Orr-Urtreger, A., Lavi, E., & Brenner, T. (2009). Activation of the cholinergic anti-inflammatory system by nicotine attenuates neuroinflammation via suppression of Th1 and Th17 responses. *The Journal of Immunology*, 183(10), 6681-6688.

O

O'Duffy, J. D. (1990). Vasculitis in Behcet's disease. *Rheumatic diseases clinics of North America*, 16(2), 423-431.

Parrish, W. R., Rosas-Ballina, M., Gallowitsch-Puerta, M., Ochani, M., Ochani, K., Yang, L. H., ... & Chavan, S.

(2008). Modulation of TNF release by choline requires $\alpha 7$ subunit nicotinic acetylcholine receptor-mediated signaling. *Molecular medicine*, 14(9), 567-574.

P

Pervin, K., Childerstone, A., Shinnick, T., Mizushima, Y., Van der Zee, R., Hasan, A., ... & Lehner, T. (1993). T cell epitope expression of mycobacterial and homologous human 65-kilodalton heat shock protein peptides in short term cell lines from patients with Behcet's disease. *The Journal of Immunology*, 151(4), 2273-2282.

Piao, W. H., Campagnolo, D., Dayao, C., Lukas, R. J., Wu, J., & Shi, F. D. (2009). Nicotine and inflammatory neurological disorders. *Acta Pharmacologica Sinica*, 30(6), 715-722.

Piram, M., & Koné-Paut, I. (2014). Maladie de Behcet de l'enfant. *La Revue de médecine interne*, 35(2), 121-125.

R

Remmers, E. F., Cosan, F., Kirino, Y., Ombrello, M. J., Abaci, N., Satorius, C., ... & Aglar, O. (2010). Genome-wide association study identifies variants in the MHC class I, IL10, and IL23R-IL12RB2 regions associated with Behcet's disease. *Nature genetics*, 42(8), 698-702.

S

- Salvarani, C., Pipitone, N., Catanoso, M. G., Cimino, L., Tumiati, B., Macchioni, P., ... & Boiardi, L. (2007). Epidemiology and clinical course of Behçet's disease in the Reggio Emilia area of Northern Italy: A seventeen-year population-based study. *Arthritis Care & Research: Official Journal of the American College of Rheumatology*, 57(1), 171-178.
- Sawant, D. V., & Vignali, D. A. (2014). Once a Treg, always a Treg?. *Immunological reviews*, 259(1), 173-191.
- Scott, D. A., & Martin, M. (2006). Exploitation of the nicotinic anti-inflammatory pathway for the treatment of epithelial inflammatory diseases. *World journal of gastroenterology: WJG*, 12(46), 7451.
- Sennequier, N., & Vadon-Le Goff, S. (1998). Biosynthèse du monoxyde d'azote (NO): mécanisme, régulation et contrôle. *MS. Médecine sciences*, 14(11), 1185-1195.
- Sharma, G., & Vijayaraghavan, S. (2002). Nicotinic receptor signaling in nonexcitable cells. *Journal of neurobiology*, 53(4), 524-534.
- Singh, R. P., Hasan, S., Sharma, S., Nagra, S., Yamaguchi, D. T., Wong, D. T., & Hossain, A. (2014). Th17 cells in inflammation and autoimmunity. *Autoimmunity reviews*, 13(12), 1174-1181.
- Siva, A., & Saip, S. (2009). The spectrum of nervous system involvement in Behçet's syndrome and its differential diagnosis. *Journal of neurology*, 256(4), 513.
- Siva, A., Kantarci, O. H., Saip, S., Altintas, A., Hamuryudan, V., Islak, C., ... & Yazici, H. (2001). Behçet's disease: diagnostic and prognostic aspects of neurological involvement. *Journal of neurology*, 248(2), 95-103.
- Sohn, S. (1997). Etiopathology of Behçet's disease: herpes simplex virus infection and animal model. *Yonsei medical journal*, 38(6), 359-364.
- Subramanyam, R. V. (2011). Occurrence of recurrent aphthous stomatitis only on lining mucosa and its relationship to smoking—A possible hypothesis. *Medical Hypotheses*, 77(2), 185-187.
- Sugano, N., Shimada, K., Ito, K., & Murai, S. (1998). Nicotine inhibits the production of inflammatory mediators in U937 cells through modulation of nuclear factor-kB activation. *Biochemical and biophysical research communications*, 252(1), 25-28.

T

- Tojo, M., Zheng, X., Yanagihori, H., Oyama, N., Takahashi, K., Nakamura, K., &

Kaneko, F. (2003). Detection of herpes virus genomes in skin lesions from patients with Behçet's disease and other related inflammatory diseases. *Acta dermatovenereologica*, 83(2).

Tong, B., Liu, X., & Xiao, J. (2019). Guanfang Su. *Immunopathogenesis of Behcet's Disease. Front Immunol*, 10, 665.

Touri, K., Belguendouz, H., Medjeber, O., Djeraba, Z., Lahmar, K., & Touil-Boukoffa, C. (2018). Propolis modulates NOS2/arginase-1 pathway in tropomyosin-induced experimental autoimmune uveitis. *Inflammopharmacology*, 26(5), 1293-1303.

Touil-Boukoffa, C. ; Messaoudène, D.; Belguendouz, H. ; Mézioug, D. ; Amri, M. ; Raza, H.; (2015). Cytokines : Immunité Et Immunopathologie. Alger : Office Des Publications Universitaires, 88 P.)

V

Verity, D. H., Marr, J. E., Ohno, S., Wallace, G. R., & Stanford, M. R. (1999). Behçet's disease, the Silk Road and HLA-B51: historical and geographical perspectives. *Tissue antigens*, 54(3), 213-220.

W

Wakefield D, Lloyd A. (1992) The role of cytokines in the pathogenesis of inflammatory eye disease. *Cytokine*. 4:1-5. doi: 10.1016/1043-4666(92)90028-P

Wang, H., Yu, M., Ochani, M., Amella, C. A., Tanovic, M., Susarla, S., ... & Al-Abed, Y. (2003). Nicotinic acetylcholine receptor $\alpha 7$ subunit is an essential regulator of inflammation. *Nature*, 421(6921), 384-388.

Wechsler, B., Du-Boutin, L. T., & Amoura, Z. (2005). Behçet's disease. *La Revue du praticien*, 55(3), 239-246.

Wu, Z., Zhang, S., Li, J., Chen, S., Li, P., Sun, F., ... & Li, Y. (2015). Association between MEFV mutations M694V and M680I and behçet's disease: a meta-analysis. *PLoS One*, 10(7), e0132704.

Y

Yamaguchi, Y., Takahashi, H., Satoh, T., Okazaki, Y., Mizuki, N., Takahashi, K., ... & Kuwana, M. (2010). Natural killer cells control a T-helper 1 response in patients with Behcet's disease. *Arthritis research & therapy*, 12(3), 1-9.

Yazici, C. E. V. A. T., Köse, K., Caliş, M., DemİR, M., Kirnap, M. E. H. M. E. T., & Ateş, F. (2004). Increased advanced oxidation protein products in Behcet's disease: a new activity marker?. *British Journal of Dermatology*, 151(1), 105-111.

Yazici, H., Akokan, G., Yalçın, B., & Müftüoğlu, A. (1977). The high prevalence of HLA-B5 in Behçet's disease. *Clinical and experimental immunology*, 30(2), 259.

Z

Zeidan MJ, Saadoun D, Garrido M, Klatzmann D, Six A, Cacoub P. [en ligne]. Behçet's disease physiopathology: a contemporary review. *Autoimmun Highlights*. Déc 2016;7(1), [consulté le 22/02/16]. Disponible sur: <http://link.springer.com/10.1007/s13317-016-0074-1>

Zhang, C., Zhang, J., & Tian, Z. (2006). The regulatory effect of natural killer cells: do "NK-reg cells" exist. *Cell Mol Immunol*, 3(4), 241-254.

Chi, Z. L., Hayasaka, S., Zhang, X. Y., Cui, H. S., & Hayasaka, Y. (2007). A cholinergic agonist attenuates endotoxin-induced uveitis in rats. *Investigative ophthalmology & visual science*, 48(6), 2719-2725. Zhou, Z. Y., Chen, S. L., Shen, N., & Lu, Y. (2012). Cytokines and Behcet's disease. *Autoimmunity reviews*, 11(10), 699-704.

Zuber, P. J., Bart, P. A., Leimgruber, A., & Spertini, F. (2008). Maladie de Behçet: d'Hippocrate aux antagonistes du TNF-alpha. *Revue médicale suisse*, 4(154), 1045-1054.

Résumé

Résumé

La maladie de Behçet est une maladie inflammatoire et auto-immune multi-systémique dont l'étiologie reste mal définie, mais essentiellement associée à un dérèglement du système immunitaire. Cependant, le traitement de la maladie repose principalement sur la corticothérapie et les immunosuppresseurs, en raison de leurs effets indésirables d'autres stratégies thérapeutiques sont proposées. Diverses recherches étaient menées afin d'illustrer l'effet immunomodulateur de la nicotine dans plusieurs maladies comme la sclérose en plaques, le lupus, l'Alzheimer dans lesquelles il est prouvé que la nicotine réduit l'activité des cellules immunitaires et la sécrétion des cytokines pro inflammatoires tels que l'IL-6 TNF α , et l-IL-1 β ainsi que l'altération des taux sériques de NO en ciblant la voie de signalisation NF κ B. Ces résultats fournissent des preuves et des perspectives prometteuses qui pourront mettre en avant l'efficacité de cette molécule dans la maladie de Behçet en l'étudiant dans un modèle expérimental.

Mots clés: Maladie de behçet (MB). Nicotine. Voie NF κ B. Model experimental.

Abstract

Behçet's disease (BD) is an inflammatory and autoimmune chronic multi-systemic disease with an etiology that's still poorly defined. The mentioned disease is essentially associated with the dysfunction of the immune system. However, the treatment of the disease relies mainly on corticosteroid therapy and immunosuppressants, due to their side effects from other proposed treatment strategies. Various researches were carried out to illustrate the immunomodulatory effect of nicotine in several diseases such as multiple sclerosis, lupus, and Alzheimer disease, in which it is proven that nicotine reduces the activity of immune cells and the secretion of pro-inflammatory cytokines such as IL-6 TNF α , and l-IL-1 β as well as alteration of serum NO levels by targeting the NF κ B signaling pathway. These results provide promising evidence and perspectives that can highlight the efficacy of this molecule in Behçet's disease, which promoted us to study it as an immunomodulatory molecule in an experimental model.

Keywords: Behçet disease (MB). Nicotine. NF κ B pathway. Experimental model.

المخلص

يعد مرض بهجت من أمراض المناعة الذاتية ذات الخصائص الالتهابية و المستهدفة لعدة أعضاء داخل جسم الإنسان. لم يعرف بعد السبب الرئيسي أو السبب الأول لهذا المرض لكن ربط هذا الأخير بعدم فاعلية الجهاز المناعي. أما بالنسبة للعلاج فهو يعتمد أساساً على الستيرويدات القشرية و مثبطات المناعة التي تقلل من الالتهاب، كما أن الفهم الجيد للاختلال الوظيفي و آلية هذا المرض يمكن أن يوفر طرق علاجية أفضل بأقل آثار جانبية. قد أجري عدد من الدراسات بخصوص هذا الموضوع لشرح آثار التعديل المناعي الخاص بالنيكوتين في أمراض مختلفة مثل التصلب اللويحي مرض الذئبة و الزهايمر حيث تم إثبات أن النيكوتين يقلل من عمل الخلايا المناعية و يؤثر في إفراز السيبتوكينات المؤيدة للالتهابات مثل , IL-6, TNF α , IL-1 β كما أنه يغير في مستويات أكسيد الأزوت (NO) عن طريق استهداف مسار NF κ B. تقدم هذه النتائج أدلة ووجهات نظر واعدة و جد مبشرة حول فعالية النيكوتين في مرض بهجت مما شجعنا على تسليط الضوء عليها كمادة لها خاصية التعديل المناعي في نموذجنا التجريبي.

الكلمات المفتاحية: مرض بهجت. النيكوتين. مسار NF κ B. نموذج تجريبي.

Les annexes

Tableau 1: les différentes isoformes des NOS (Sennequier et al., 1998 Adapté).

Isoformes	nNOS /NOS1	iNOS / NOS2	eNOS /NOS3
Localisation chromosomique	12q24.2	17cen-q12	7q35-36
Spécificité	neurone	Macrophage	cellules endothéliale
masse moléculaire	150 kDa	130 kDa	135 kDa
Activité	constitutive et stimuable	Inductible	Constitutive et stimuable
fonction du produit NO	neurotransmetteur	Bactéricidie Tumoricide	EDRF (endothelium-derived relaxing factor)
cofacteur Ca²⁺ / Calmodulin	dépendante	Indépendante	Dépendante
cofacteurs FAD, FMN, NADPH	Dépendante	Dépendante	Dépendante
Effecteurs membranaires	acides amines neuro-exciteurs	lipopolysaccharides interférons interleukine 1	acétylcholine bradykinine serotonin-ATP