



HAL
open science

Etude des mécanismes immunitaires des uvéites idiopathiques par une approche biologique et l'optique adaptative

Marie-Hélène Errera

► **To cite this version:**

Marie-Hélène Errera. Etude des mécanismes immunitaires des uvéites idiopathiques par une approche biologique et l'optique adaptative. Neurosciences [q-bio.NC]. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2016. Français. NNT : 2016PA066714 . tel-02401859

HAL Id: tel-02401859

<https://theses.hal.science/tel-02401859>

Submitted on 10 Dec 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Université Pierre et Marie Curie

Ecole doctorale ED 158 Cerveau, cognition, comportement
BC 32

*Laboratoire du Centre Hospitalier National des Quinze-Vingts, Paris / CIC 1423, Institut de
la Vision, Paris*

Etude des mécanismes immunitaires des uvéites idiopathiques par une approche biologique et l'optique adaptative

Par Marie-Hélène Errera

Thèse de doctorat de Neurosciences

Dirigée par les Professeurs José-Alain Sahel et Bahram Bodaghi

Présentée et soutenue publiquement le 23 Novembre 2016

Devant un jury composé de :

Pr Sylvain Fisson, rapporteur

Pr Michel Weber, rapporteur

Pr Jean-Michel Warnet, examinateur

Dr Françoise Baudouin, examinateur

Pr Isabelle Petropoulos, examinateur

Dr Coralie Bloch-Queyrat, examinateur

Pr Pablo Goldschmidt, examinateur

Remerciements

Monsieur le Président, Mesdames, Messieurs,

Je souhaite exprimer ma profonde reconnaissance aux membres du jury et à leurs collaborateurs qui me font l'honneur de cette soutenance de thèse.

A Mr Sahel je lui dis honnêtement que je lui dois tout, il m'a ouvert les portes de l'enseignement, de la pratique clinique au CHNO et dans ce vaste territoire de l'ophtalmologie dans lequel j'espère pouvoir progresser assidûment. Il m'a permis de créer une consultation d'uvéites au CHNO des Quinze-Vingts avec une totale liberté et cette responsabilité, le travail de recherche qui l'accompagne m'a rendue si heureuse ;

Et constamment, il me propose toujours de nouveaux objectifs, de nouvelles aventures professionnelles, je n'ai jamais le temps de me lasser, toujours des expériences passionnantes à découvrir dans son sillage....

Je suis très fière de vous avoir compté comme directeur de thèse, j'ai fait beaucoup de jaloux à ce sujet parmi mes collègues du CHNO et de l'IDV depuis 4 ans !

Au Professeur Bodaghi qui m'a accompagné tout au long de ces années en ne cessant de m'encourager, je suis fière d'appartenir à son équipe dans le cadre du DHU et qui me fait l'amitié et l'honneur de me diriger dans mes travaux de recherche depuis mes débuts. C'est auprès de lui, comme interne que j'ai découvert les uvéites qui constituent mon sujet de recherche clinique et scientifique favori. Les uvéites sont pour moi un jeu de piste, un cheminement scientifique en lien avec les collègues biologistes, internistes, infectiologues, rhumatologues... et tant de mystère étiologique et mécanistique associé ! Cette présente thèse essaie d'en percer les secrets. Tant de reconnaissance de la part des patients atteints de ces maladies chroniques et tant d'envie de les aider dans leur souffrance quotidienne. Ils comptent tellement sur nous !

Merci donc pour votre soutien sans faille, votre confiance et votre disponibilité.

Ce mémoire a bénéficié de sa lecture très attentive et de son expertise inestimable.

Je tiens à témoigner ma gratitude au Pr Warnet, membre de mes 3 jurys de soutenance de thèse. Il était déjà le président de mon premier jury il y a bien longtemps. En effet, ses critiques et ses remarques éclairées expertes ont largement contribué à améliorer ma thèse actuelle. Je le remercie d'avoir consacré une telle attention à mon travail, je me rappellerai avec un souvenir ému et reconnaissant, les séances de correction l'été à l'Observatoire ou au CIC. De plus, son amitié m'est extrêmement précieuse.

Je veux aussi remercier pour leur présence et leur aide dans ce travail le Professeur Sylvain Fisson qui m'a fait l'honneur de son expertise depuis le commencement de ce travail et le Docteur Françoise Baudouin qui me fait l'amitié de juger mon travail et d'apporter ses compétences dans le domaine de la biologie. Je suis très heureuse et chanceuse de pouvoir travailler avec elle par ses nouvelles fonctions de chef de service au laboratoire du CHNO.

Je tiens à exprimer mes plus sincères remerciements au Pr Michel Weber qui me fait l'honneur et le plaisir d'être rapporteur de mon travail de thèse. Ses commentaires et conseils sont précieux, notamment sur des problématiques d'inflammation oculaire ; je suis admirative de ses compétences scientifiques. Je lui suis vraiment très reconnaissante.

Je voudrais remercier tout particulièrement Pablo Goldschmidt qui m'a dirigé tout au long de ces 4 années de thèse sur l'analyse biologique de cette étude. Il a toujours été disponible, à l'écoute de mes nombreuses questions, nous a conseillé Ana et moi sur les aspects pratiques de manips biologiques, a participé activement à l'analyse des résultats et s'est toujours intéressé à l'avancée de mes travaux.

Les nombreuses discussions que nous avons eues ainsi que ses conseils sont pour beaucoup dans le résultat final de ce travail. Sa capacité d'analyse et son enthousiasme m'ont montré, tout au long de mon clinicat, que le monde de la recherche pouvait être un univers passionnant. Enfin, ses nombreuses relectures et corrections de cette thèse ont été très appréciables. Cette thèse lui doit beaucoup. Pour tout cela merci.

Le remercie le Pr Michel Paques de m'avoir dirigé lors de nombreux travaux. Il m'a tout d'abord permis de travailler dans son équipe sur l'imagerie en optique adaptative en me proposant un sujet passionnant, bien sûr, l'imagerie de l'uvéite ! Au cours de ce travail, il a souvent attiré mon attention sur certains problèmes de conception et m'a consacré beaucoup de temps.

Je tiens à remercier le Pr Labetoulle même s'il n'a pas pu être présent. Il a fait partie de mon comité de thèse de 2^e année et m'a prodigué de précieux conseils à cette occasion.

Merci à Ana Pratas qui est une experte dans les manips au labo, qui m'a enseigné ses techniques de dosage et à qui je souhaite un avenir radieux chez les britanniques, avant et après Brexit ! Sa rigueur est un exemple et son enthousiasme dans nos travaux communs ont été si agréables pendant ces années au laboratoire. Vous serez bien regrettée de ce côté de la Manche !

Bonne chance à elle maintenant pour sa thèse et je me réjouis que nous continuions nos études communes en épidémiologie.

Je remercie le Dr Christine Chaumeil qui m'a permis de travailler et étudier dans son laboratoire aux CHNO dans des conditions très favorables. Je lui suis très reconnaissante.

Je remercie le Dr Emmanuel Héron et Neila Sedira, mes collaborateurs dans la consultation multidisciplinaire des uvéites. C'est un réel plaisir de travailler avec eux au quotidien, ils sont passionnés par leur travail, dévoués aux patients et j'apprends beaucoup de leur compétence médicale. Un grand merci !

Je remercie le Dr Coralie Bloch-Queyrat et le reste de l'équipe de l'URC-Avicenne dont Mr Marouane Boubaya et le Pr Vincent Levy qui ont toujours été depuis le début de ce projet, si présents, qui ont amélioré en apportant leur compétence et leur expérience, la méthodologie de cette étude depuis le début. Grâce à leur aide si précieuse, la présentation orale de cette thèse bénéficiera également d'une analyse biostatistique experte, ils ont modifié leur emploi du temps pour cela, qu'ils en soient ici remerciés. J'ai appris la rigueur de l'écriture des protocoles auprès d'eux et tout cela dans une ambiance très agréable. Je leur dis bien amicalement, un grand merci.

Que Gaël Orioux et Olivier Goureau reçoivent ici le témoignage de ma profonde reconnaissance pour m'avoir dirigé pendant mon Master sans quoi tout cela n'aurait pas été possible. Merci pour votre enseignement et la rigueur scientifique que vous enseignez.

Merci également à Florian Sennlaub et Xavier Guillonnet, c'est un vrai plaisir et un grand privilège de bénéficier de vos conseils et compétences.

Je remercie tous les thésards du CIC et l'IDV et les collègues du CIC pour la bonne ambiance de travail mais également pour les nombreux bons moments passés ensemble. Entre autres Edouard, Jonathan, Nacim, Christian, Céline, Dorothée, Nathalie, Bertrand, Amélie.....

Je remercie Messieurs Mark Westcott et Carlos Pavesio pour leur enseignement de l'inflammation oculaire pendant mon fellowship. J'ai appris mon métier d'uvéitologue auprès d'eux et leur amitié m'est extrêmement précieuse.

Enfin, je dis merci à tous à ceux qui m'ont aidé, de près ou de loin, à élaborer ma thèse et notamment mes sympathiques collègues des 15-20 : Sabrina Falah, Jonathan Benesty, Antoine Labbé, Raphaël Adam, Jad Akesbi, François Auclin, Raphaëlle Ores, Gaël Gendron, Patrick Loriau, Brivaël Le Du, Lyes Meziani qui ont inlassablement prélevé de l'humeur aqueuse à toute heure du jour et de la nuit pour m'aider à constituer la cohorte de patients contrôles pour le dosage des cytokines, je remercie également l'équipe dévouée du laboratoire de biologie des 15-20 et notamment Natalia Ermark, Lilia Merabet, Didier Gleize, Alfred Kobal, Laurence Batellier, Edgar Benveniste qui ont aliquoté et mis au congélateur des prélèvements à toute heure !!! Ils m'ont mille fois détesté quand j'arrivais avec une nouvelle PCA !

Je remercie les généreux donateurs pour avoir financé ce projet directement ou en oeuvrant pour celà : Mme Hélène Segara pour sa participation à Moneydrop et les bons souvenir passés à l'émission et à son concert, l'Association de patients Inflam'œil, la société pharmaceutique Allergan et Mr Edouard de Rothschild.

Merci à Isabelle et Charles-Henri pour leur aide précieuse le jour J de toutes ces thèses!

et je remercie ceux qui m'ont soutenu dans mes études.

LISTE DES ABREVIATIONS

Humeur aqueuse : AqH

Chemokine (C-C) ligand : CCL

Cellule présentatrice d'antigène : CPA

DAMPS : danger-associated molecular patterns

Épithélium pigmentaire rétinien : EPR

Fibroblast growth factor: FGF Basic

Flow Imaging Adaptative Optique: FIOA

Granulocyte-Colony Stimulating Factor: G-CSF

Granulocyte-macrophge colony-stimulating factor : GM-CSF

Humeur aqueuse : AqH

Hypoxia-inducible factor 1 alpha : HIF-1 α

Interleukine : IL

Interféron gamma : IFN- γ

IRBP : Interphotoreceptor retinoid-binding protein

Human T lymphotropic virus type I : HTLV1

leucine-rich repeat containing protein : NLRP3

Liquide céphalo-réchidien : LCR

Lymphocytes T régulateurs : L Treg

IFN γ -inducible 10-kd protein: IP10

IL-1 receptor antagonist: IL-1R α

Macrophage inflammatory protein 1: MIP-1

Monocyte chemoattractant protein-1 : MCP-1

Monokine induced by IFN γ : MIG

Regulated on activation, normal T cell expressed and secreted: RANTES

Nuclear factor-kappa B : NF-kB

PAMPS : pathogen-associated molecular patterns

Platelet-derived growth factor : PDGF-BB

T helper : Th

Tumor Necrosis Factor α : TNF α

Vascular endothelial growth factor : VEGF

Table des matières

Table des matières	6
I. INTRODUCTION.....	8
II. GENERALITES SUR LES UVEITES.....	11
II-1 : Définitions.....	11
II-2: Classification des uvéites	11
II-3: Place des uvéites idiopathiques	15
II-4: Les vascularites rétiniennes.....	16
II-5 : Immunologie. Physiopathologie des uvéites chez l'homme.	20
II-6: Profils cytokiniques des uvéites	31
II-7 : L'inflammasome dans les uvéites	39
III. OBJECTIFS.....	41
IV. METHODOLOGIE DES ETUDES	44
IV-1. Matériel.....	44
IV-2: Méthode d'analyses biologiques (dosage de cytokines, chimiokines).	49
IV-3. OPTIQUE ADAPTATIVE	51
IV-4. Plan d'étude	54
IV-5. Prélèvements.....	57
V. RESULTATS.....	59
VALIDATION DU RECOURS A L'OPTIQUE ADAPTATIVE DANS LES UVEITES	61
V-1. IMAGERIE DES VASCULARITES RETINIENNES EN OPTIQUE ADAPTATIVE.....	61
V-2. ETUDE DU SUIVI DES VASCULARITES RETINIENNES EN OPTIQUE ADAPTATIVE.....	68
V-3. ETUDE DES CYTOKINES (DU SERUM ET DE L'HUMEUR AQUEUSE) DANS LES VASCULARITES RETINIENNES.	86
V-3.1. PROFILS CYTOKINIQUES DU SERUM ET DE L'HUMEUR AQUEUSE DES PATIENTS CONTROLES	88
V-4. PROFILS IMMUNITAIRES DANS LES VASCULARITES RETINIENNES AU COURS DE LA TOXOPLASMOSE, LA MALADIE DE BEHCET ET LA SARCOIDOSE.....	90
V-4.1 : PROFILS CYTOKINIQUES DANS LES UVEITES AU COURS DE LA TOXOPLASMOSE, LA MALADIE DE BEHCET ET LA SARCOIDOSE.....	90
V-4.2 : PROFILS CYTOKINIQUES DANS UNE COHORTE D'UVEITES AU COURS DE LA TOXOPLASMOSE, LA MALADIE DE BEHCET ET LA SARCOIDOSE ET CORRELATION AVEC LEUR ASPECT EN OPTIQUE ADAPTATIVE.....	106
V-5. PROFILS IMMUNITAIRES DANS LES VASCULARITES RETINIENNES AU COURS DE LA SYPHILIS	110
V-5.1. PROFILS CYTOKINIQUES DANS LES VASCULARITES RETINIENNES AU COURS DE LA SYPHILIS	110
V-5.2 : PROFILS CYTOKINIQUES DANS UNE COHORTE D'UVEITES SYPHILITIQUES ET CORRELATION AVEC LEUR ASPECT EN OPTIQUE ADAPTATIVE.....	144
V-7. PROFILS IMMUNITAIRES DANS LES VASCULARITES RETINIENNES AU COURS DES UVEITES IDIOPATHIQUES.....	146
V-7.1: PROFILS CYTOKINIQUES DANS LES UVEITES IDIOPATHIQUES	146

V-7.2 : PROFILS CYTOKINIQUES DANS UNE COHORTE D'UVEITES IDIOPATHIQUES ET CORRELATION AVEC LEUR ASPECT EN OPTIQUE ADAPTATIVE.....	168
VI. DISCUSSION GENERALE.....	172
CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES.....	179
REFERENCES.....	182
Annexes.....	198
Liste des illustrations.....	200
Liste des tableaux.....	202
Résumé :.....	204

I. INTRODUCTION

Les uvéites sont définies comme une inflammation du tractus uvéal vasculaire dans l'œil, incluant l'iris, le corps ciliaire et la choroïde, cependant des structures adjacentes comme la rétine, le nerf optique, le vitré et la sclère peuvent également être affectées. De ce fait, en pratique toute inflammation intraoculaire endommageant la barrière hémato-oculaire est considérée comme faisant partie du même groupe de pathologies.

Les infections sont l'une des causes les plus fréquentes d'uvéite. Elles peuvent envahir le tissu oculaire directement ou résulter d'un processus inflammatoire. Les causes infectieuses des uvéites possibles sont la toxoplasmose, la tuberculose, la syphilis, mais également les virus comme le CMV, le VZV et l'HSV. Sauf exception, l'évaluation clinique des patients qui développent une uvéite ne montre pas d'invasion directe du pathogène dans l'œil. Les prélèvements d'AqH effectués dans l'œil lors d'une inflammation active vont permettre de retrouver des infiltrats inflammatoires comprenant des lymphocytes T, B et des macrophages. Ces analyses suggèrent des mécanismes actifs de régulation immunitaire, dont une apoptose des lymphocytes T induite par le FasLigand et une régulation de la fonction des cellules dendritiques par le cortisol.

Cependant la question est : qu'est-ce qui initie ces processus inflammatoires dans l'œil? Malgré l'absence d'infection évidente dans certaines de ces uvéites, des données expérimentales suggèrent un rôle central des produits bactériens, mais pas seulement. L'étude des mécanismes immunitaires dans les uvéites pourrait répondre à cette question.

Les uvéites sans étiologie retrouvée (ou uvéites idiopathiques) sont des pathologies intraoculaires inflammatoires potentiellement cécitantes, surtout lorsqu'elles touchent le segment postérieur de l'œil.

Le traitement des uvéites, mal codifié, consiste en une corticothérapie continue, et lorsqu'il existe une dépendance ou une résistance à la corticothérapie, ce traitement est utilisé en association ou remplacé par un traitement immunosuppresseur (mycophénolate mofétil, méthotrexate, azathioprine...) prescrit de façon empirique. Il n'existe aucun marqueur de diagnostic et de suivi clinique ou biologique permettant de choisir individuellement le traitement immunosuppresseur ou la biothérapie à utiliser dans ces affections. L'introduction d'agents biologiques comme les anti-TNF- α et l'IFN- γ constitue une approche thérapeutique

efficace pour les uvéites réfractaires. D'autres agents administrés par voie orale ou sous-cutanée (anti-IL1 β et anti-IL-6) ont fait l'objet d'essais cliniques au CHNO des Quinze-Vingts (multicentriques, internationaux) pour le traitement des uvéites non infectieuses, avec des résultats prometteurs pour les maladies auto-immunes systémiques. A ce jour, le choix rationnel de ces diverses biothérapies, non dénuées d'effets secondaires, n'est pas établi selon les différentes présentations cliniques des uvéites. Des patients atteints d'uvéites sont d'ailleurs réfractaires à certains de ces traitements. Le choix de nouvelles stratégies thérapeutiques nécessiterait une justification par un rationnel objectif et, à cet effet, l'identification des médiateurs spécifiques permettrait éventuellement de mieux cibler leur administration. Il est en effet raisonnable de penser que l'expression des cytokines et chimiokines est élevée au cours des uvéites idiopathiques. De plus, leur profil hétérogène peut être en lien avec leur variabilité anatomique et clinique.

Nous nous proposons de comparer, dans notre population, les profils cytokiniques obtenus dans les uvéites idiopathiques au spectre trouvé dans les uvéites infectieuses et autoimmunes (Behçet, sarcoïdose syphilitique et toxoplasmose). Nous utiliserons la méthodologie Luminex® spécialement calibrée et validée pour les microdosages de cytokines et chimiokines dans les liquides intraoculaires (microcytométrie en flux alliant l'utilisation de microsphères fluorescentes reconnaissant des peptides et une double lecture après excitation par deux lasers) [1].

Pour mieux étudier les mécanismes immunitaires mis en jeu lors d'une uvéite idiopathique, nous avons comparé les profils cytokiniques obtenus aux spectres observés dans des inflammations intraoculaires de diverses étiologies, infectieuses ou non. Un groupe de patients atteints de syphilis oculaire a été également étudié afin de servir de témoin positif et d'étudier cette pathologie peu explorée jusqu'alors au niveau immunologie intraoculaire.

Ces profils immunitaires ont ensuite été confrontés aux présentations cliniques et aux aspects retrouvés en optique adaptative.

Les uvéites avec vascularites ont un aspect caractéristique en optique adaptative, technique qui permet d'agrandir l'image que nous avons des vaisseaux rétiens en précisant, de plus, les types anatomiques d'atteintes (artérielles ou veineuses), les variations de calibre vasculaire et les caractéristiques de parois vasculaires et des tissus adjacents. Les études histologiques rapportées dans la littérature décrivent des engainement périvasculaires

inflammatoires dans les uvéites (notamment dans la sarcoïdose), des amas cellulaires intrarétiniens et des modifications inflammatoires intravasculaires (dans la forme oculaire de la maladie de Behçet, par exemple). Nous chercherons en optique adaptative à préciser les caractéristiques spécifiques des vaisseaux enflammés dans les uvéites actives. Ces aspects ainsi définis seront alors comparés à nos résultats des cytokines du sérum et de l'humeur aqueuse afin de rechercher les corrélations entre profils cliniques en optique adaptative et profils immunitaires (chimiokines et cytokines) en biologie.

Après un rappel sur les uvéites, nous décrirons les aspects cliniques retrouvés en optique adaptative dans les uvéites avec vascularites rétiniennes. Nous présenterons ensuite nos travaux sur les dosages de cytokines et chimiokines dans les uvéites de diverses étiologies afin de les comparer à ceux des uvéites idiopathiques.

Nos résultats doivent nous permettre de dessiner des futures stratégies diagnostiques et thérapeutiques qui associent les présentations cliniques, les données de laboratoire et les traitements, ce qui sera discuté dans la dernière partie.

II. GENERALITES SUR LES UVEITES

II-1. Définitions

Le terme « uvéite » se rapporte classiquement à l'inflammation de l'uvée. L'uvée est située entre la sclérotique et la rétine, vascularisée, qui comprend l'iris, le corps ciliaire (élément anatomique auquel sont reliés les ligaments retenant le cristallin) et la choroïde.

Les uvéites sont potentiellement cécitantes et leur prévalence est de 115 pour 100 000 [2]. Elles représentent l'une des causes majeures de cécité dans le monde. Bien que l'uvéite soit localisée à l'œil, elle représente une manifestation d'une maladie systémique immunologique et est considérée comme faisant partie d'un continuum de maladies immunologiques [3]. Les uvéites seraient la cause de 10 à 20% des Handicaps visuels sévères aux USA et en Europe chez les patients en âge de travailler [4]. Elles peuvent être causées par des infections et/ou une autoimmunité. La proportion relative est liée à la géographie ; les uvéites causées par des maladies autoimmunes sont plus fréquentes dans les pays développés, alors que les uvéites infectieuses sont plus fréquentes dans les pays en voie de développement. Approximativement 70 à 90% des uvéites cécitantes dans les pays développés sont non infectieuses.

Classiquement, les uvéites comprennent 3 formes, les uvéites antérieures, intermédiaires et postérieures, les panuvéites étant l'association de ces 3 formes.

II-2. Classification des uvéites

Leur classification anatomique comporte les uvéites antérieures (situées en avant du cristallin ou iridocyclites), les uvéites intermédiaires (inflammation du vitré), les uvéites postérieures (inflammation de la rétine et/ ou de la choroïde) et les panuvéites lorsque l'inflammation concerne l'ensemble des structures intraoculaires. Il existe une classification internationale basée sur des critères anatomiques [critères de l'International Uveitis Study Group (IUSG) et critères SUN (Standardization of Uveitis Nomenclature), [5]], qui est la suivante: (1) uvéites intermédiaires (pars planite) (2) uvéites postérieures (choroïdite multifocale avec recherche négative pour la sarcoïdose ou la tuberculose, choroïdite ponctuée interne, chorioretinite serpiginieuse, chorioretinite pseudo-serpiginieuse, épithéliopathie en plaque, rétinocoroïdite non infectieuse, neurorétinite, vascularite rétiniennes artérielles et/ ou

veineuses non infectieuses c'est-à-dire vascularite non secondaire à un désordre dysimmunitaire) et panuvéites (inflammation de la chambre antérieure, du vitré, de la rétine et/ou de la choroïde).

Dans notre étude, nous nous sommes limitée aux formes intermédiaires, postérieures et aux panuvéites.

- **Les uvéites intermédiaires**

L'uvéite intermédiaire est définie anatomiquement par une inflammation intraoculaire qui touche l'humeur vitrée, la rétine périphérique et la pars plana. Il s'agit d'une forme d'uvéite fréquente notamment chez les enfants, avec une prévalence de 1,4/100 000 [6]. Généralement le début est insidieux avec des symptômes à type de vision floue et de myodésopsies ; la rémission spontanée est peu fréquente et transitoire. La perte de vision associée est secondaire à l'œdème maculaire cystoïde chronique ou au glaucome secondaire [7].

Le diagnostic d'uvéite intermédiaire idiopathique s'applique lorsqu'il n'y a pas de mise en évidence d'infection ; la pars planite se réfère à un sous-groupe d'uvéites chez lesquels sont décrits la formation concomitante de snowballs (ou « œufs de fourmis » en français) ou d'une exsudation au niveau de la pars plana (appelée « banquise »). Ce phénotype clinique se rencontre également dans des causes infectieuses d'uvéites dont la syphilis, la tuberculose, la borreliose oculaire de Lyme, la maladie des griffes du chat, la toxoplasmose, la maladie de Whipple, le virus Epstein-Barr, le virus HTLV1 et le VIH (virus d'immunodéficience humaine) [8]. De plus les uvéites intermédiaires sont souvent associées à de multiples maladies du spectre des maladies immunologiques auto-immune auto-inflammatoires, comme la sarcoïdose, la sclérose en plaque et les maladies inflammatoires type Crohn (ou « inflammatory bowel disease ») [9].

- **Les uvéites postérieures**

Les uvéites postérieures regroupent également les entités cliniques suivantes : rétinopathie, rétinite et vascularite rétinienne. Quand l'inflammation est prédominante au segment postérieur (rétine et choroïde), l'appellation uvéite postérieure est utilisée ; la fonction visuelle est alors affectée en raison de l'atteinte des photorécepteurs.

D'autres classifications se basent sur la répartition étiologique des uvéites selon 3 classes: les uvéites infectieuses (essentiellement herpétiques, mycotiques, ou associées à la tuberculose, à la toxoplasmose...), les uvéites associées à des pathologies générales et/ou dysimmunitaires (telles que la sarcoïdose, la maladie de Behçet, les spondylarthropathies, la polyarthrite

juvénile,...) et les formes idiopathiques, c'est-à-dire qui ne sont en lien ni avec un agent infectieux ni avec une pathologie dysimmunitaire et correspondent à 30 à 50% des uvéites.

De façon plus détaillée la classification de l'IUSG distingue :

- **Les uvéites postérieures et intermédiaires infectieuses.**

Elles regroupent les uvéites virales, du groupe Herpes (Herpes simplex, Varicelle-zona, Cytomegalovirus), du VIH, HTLV1 et la dengue ; les uvéites d'origine bactériennes : tuberculose, lèpre, syphilis, borreliose de Lyme, brucellose, chlamydie, rickettsiose, bartonellose, leptospirose et maladie de Whipple ; les uvéites d'origine fongique et parasitaire : toxoplasmose, histoplasme, candidose, toxocarose et onchocercose.

- **Les uvéites postérieures et intermédiaires non infectieuses avec manifestations extraophtalmologiques** (dont les pathologies dysimmunitaires). Elles sont associées à : HLA B27, entérocolopathies inflammatoires, polyarthrite rhumatoïde, arthrite chronique juvénile, maladie de Behçet, maladie de Vogt-Koyanagi-Harada, sarcoïdose, sclérose en plaque, néphrite tubulo-interstitielle et granulomatose avec polyangéite.

- **Les uvéites postérieures et intermédiaires non infectieuses sans manifestations extraophtalmologiques :**

rétinohoroïdites de type «birdshot» (ou inflammation granulomateuse chronique de la choroïde et de la rétine avec une forte association à l'antigène HLA A29) et le syndrome des « taches blanches évanescents » (rare, avec remaniement maculaire et inflammation du nerf optique).

- **Les uvéites postérieures et intermédiaires idiopathiques isolées.**

Les uvéites d'étiologies indéterminées sont probablement d'origine auto-immune.

- **Les pseudo-uvéites.**

Celles-ci désignent des pathologies qui ressemblent cliniquement aux uvéites comme les lymphomes oculaires. L'atteinte oculaire des lymphomes malins non hodgkinien (LNH) peut être lié à une atteinte primitive, le lymphome oculaire et cérébral primitif (ou PIOL pour Primary Intra Ocular Lymphoma), ou être secondaire à la diffusion métastatique de cellules malignes d'un lymphome ganglionnaire, ou plus rarement être secondaire à un lymphome B

de la zone marginale de bas grade de malignité (lymphome de type MALT). Le diagnostic repose sur la présence dans le vitré de cellules lymphomateuses. L'un des éléments d'orientation est la ponction de chambre antérieure (et/ou de vitré) pour doser l'IL-10. Cette cytokine est sécrétée de façon massive par les lymphocytes tumoraux et est donc retrouvée à des taux élevée (>50 pg/mL par la technique ELISA) dans la chambre antérieure. Le dosage de l'IL-6 et le rapport IL10/IL-6>1 dans le cas des lymphomes est également utile pour le diagnostic différentiel avec une uvéite infectieuse ou auto-immune.

Cette maladie est de diagnostic difficile en raison du peu de spécificité de ses signes cliniques ou paracliniques, surtout lorsque la localisation est exclusivement oculaire ce qui explique un retard diagnostique fréquent.

- **Définition des paramètres de diagnostic clinique dans notre pratique clinique (voir Méthodes)**

- uvéite intermédiaire ou pars planite avec hyalite (vitré : site principal de l'inflammation), « banquise inférieure » et/ou formation de condensations vitréennes en « œufs de fourmis » survenant en l'absence d'infection associée ou de maladie systémique,
- uvéite postérieure (ou panuvéite).

Tableau I. Standardisation de la classification des uvéites par phénotype clinique.

choroïdite multifocale	coexistence de taches blanches chorio-rétiniennes actives et de taches atrophiques pigmentées cicatricielles.
choroïdite ponctuée interne (PIC)	idem que précédemment mais lésions localisées au pôle postérieur.
épithéliopathie en plaques	plaques multiples confluentes, multicylindriques du pôle postérieur au niveau de l'épithélium pigmentaire et de la choroïde. Réaction inflammatoire vitréenne parfois associée. Possiblement un processus inflammatoire secondaire à un syndrome infectieux puisque souvent associé à un syndrome pseudogrippal.
choroïdite serpiginieuse	pathologie inflammatoire d'origine choroïdienne d'étiologie inconnue, se distinguant par des lésions de l'épithélium pigmentaire rétinien, de la choriocapillaire et de la choroïde à début papillaire et avec des contours géographiques de dissémination centrifuge.

choroïdite pseudoserpigineuse	idem que précédemment mais à début péripapillaire.
choriorétinite	inflammation de la rétine et de la choroïde (diagnostic clinico-angiographique).
neurorétinite	association d'oedème papillaire et d'une étoile maculaire
vascularites rétiniennes artérielles et/ou veineuses	caractérisés par des engainements blanchâtres segmentaires focaux ou disséminés autour des vaisseaux rétinien, mieux visualisés lors d'une angiographie à la fluorescéine par diffusion pariétale de produit de contraste.

Toutes ces formes sont caractérisées par un infiltrat cellulaire inflammatoire observable à la lampe à fente. La chambre antérieure de l'œil est remplie d'un infiltrat de leucocytes dont le comptage permet de mesurer un score inflammatoire, ensuite comparé avec un système standard de cotation [5].

Les exsudats de protéines peuvent entraîner une opacification des milieux oculaires, cotée comme « flare » pour l'AqH et « haze » pour le vitré. Les anomalies rétiniennes et choroïdiennes sont souvent localisées, avec des zones d'infiltrats dans le tissu vasculaire inflammatoire. Cette évaluation clinique est complétée par des tests d'imagerie rétinienne comme l'angiographie à la fluorescéine qui peut aider à déterminer le niveau d'activité inflammatoire dans les tissus rétinien et choroïdien, et donc la nécessité de traitement. Des avancées récentes dans les techniques d'imagerie ont permis de générer des moyens d'examen de la rétine *in vivo* en haute résolution qui approchent les moyens histologiques chez les patients uvéitiques. Parmi ces récentes imageries, se trouve l'optique adaptative (FIOA).

II-3. Place des uvéites idiopathiques

L'uvéite auto-immune peut faire partie d'un syndrome systémique auto-immun touchant de multiples tissus, comme la maladie de Behçet, la sarcoïdose systémique, et la maladie de Vogt-Koyanagi-Harada. Dans d'autres maladies, l'œil peut être la seule cible comme dans l'uvéite idiopathique, la rétinochoroïdopathie de type « birdshot » (caractérisée par de multiples petites lésions inflammatoires distribuées sur la rétine et dans la choroïde) et l'ophtalmie sympathique. L'association de la rétinochoroïdopathie de type « birdshot » à l'antigène protéine S rétinien est bien établie [10]. Bien que de récents rapports aient démontré une déviation immune systémique dans cette pathologie, cliniquement, elle reste isolée au niveau oculaire [11], [12].

De plus, des cas familiaux d'uvéites intermédiaires idiopathiques et d'autres maladies auto-immunes suggèrent que les variants communs génétiques et/ou un agent commun environnemental sont probablement la cause de maladies auto-immunes. Une des hypothèses serait qu'un agent infectieux (virus ou bactérie) activerait systématiquement les lymphocytes T autoréactifs chez des patients génétiquement prédisposés. Les mécanismes par lesquels ces lymphocytes interviennent sont probablement une imitation moléculaire ou une activation non spécifique des lymphocytes T autoréactifs qui sont localisés dans l'œil, induisant une maladie inflammatoire chronique récidivante [13], [14].

Les uvéites idiopathiques immunologiques constituent un groupe hétérogène d'affections aujourd'hui classables sur la seule base anatomique de l'atteinte (antérieure, intermédiaire et/ou postérieure). Le caractère « idiopathique » est établi par défaut après élimination d'une origine infectieuse.

Le caractère idiopathique de l'uvéite est donc un diagnostic d'élimination lorsque le bilan clinique et biologique (y compris l'imagerie) complémentaire s'est révélé non contributif et l'examen ophtalmologique est non pathognomonique d'une entité particulière. En pratique, le diagnostic et la classification des uvéites nécessitent une étape d'investigations cliniques et paracliniques et une synergie entre équipe de médecine interne et les ophtalmologistes. Les investigations nécessaires sont réalisées dans le cadre du soin courant.

Cette prise en charge est maintenant très bien codifiée et est homogène dans les centres spécialisés pour la prise en charge des uvéites. Elle comprend :

- une expertise ophtalmologique,
- des examens paracliniques (détaillés plus loin),
- et dans les formes graves d'uvéites, c'est-à-dire : baisse d'acuité visuelle $<5/10^e$, inflammation majeure de segment antérieur et/ou postérieur, hypertension oculaire, la réalisation d'un prélèvement intraoculaire (AqH ou vitré, plus rarement) à visée microbiologique.

Ce prélèvement peut être utilisé dans le cadre de la recherche immunologique pour avoir accès aux liquides intraoculaires en cause, permettant d'identifier et de quantifier certains des désordres biologiques locaux au cours des uvéites.

II-4. Les vascularites rétiniennes

- **Démographie, aspect clinique et diagnostique**

Une vascularite rétinienne isolée complique approximativement 3% des uvéites, mais en comptant les uvéites associées à une maladie systémique, leur prévalence passe à 10% avec une incidence annuelle de 1 à 2 pour 100 000. Les diagnostics sous-jacents dans les vascularites rétiniennes sont la maladie de Behçet, la sarcoïdose, la sclérose en plaques (SEP), l'arthrite rhumatoïde, les maladies inflammatoires intestinales (MICI), mais également les causes infectieuses : tuberculose, syphilis, borréliose oculaire, toxoplasmose, virus du groupe Herpes....

Les vascularites rétiniennes font partie du tableau clinique des inflammations du segment postérieur avec les chorioretinites, l'œdème maculaire et l'œdème papillaire. Les vascularites rétiniennes touchent surtout les veines avec une distribution périphérique, centrale ou proche du nerf optique au niveau du fond d'œil. Les signes les plus fréquents sont un engainement vasculaire ou un « manchon » autour du vaisseau visible à l'examen du fond d'œil. Ce manchon est lié secondaire à l'interruption des jonctions serrées endothéliales dans les capillaires rétiniens formant la barrière hémato-rétinienne interne. Les exsudats et les cellules inflammatoires infiltrantes peuvent s'agglomérer entre les péricytes et la *glia-limitans* de la paroi des vaisseaux dans l'espace de Virchow-Robin donnant un aspect caractéristique d'engainement, segmentaire ou confluent. Les vascularites se compliquent soit d'une fuite exsudative soit d'une occlusion de la lumière vasculaire et ces séquelles sont responsables des symptômes de la maladie ; la fuite entraîne un œdème rétinien et des occlusions veineuses, des hémorragies intrarétiniennes, des nodules cotonneux (arrêt du flux axoplasmique dans les zones d'ischémie des fibres nerveuses) et possiblement un œdème de la tête du nerf optique. L'occlusion veineuse peut conduire à une non-perfusion capillaire avec ischémie et néovascularisation rétinienne secondaire, à une hémorragie intravitréenne, un glaucome néovasculaire et une perte visuelle en résultant.

Les vascularites sont bilatérales dans la plupart des cas et des études ont montré que 35% des patients avec uvéites développent une cécité ou un handicap visuel. Dans une série de 53 patients avec vascularite idiopathique, 28% ont présenté une baisse d'acuité visuelle de $<1/10^e$ dans au moins un œil ; les pronostics visuels les plus sévères sont rencontrés lorsque les vascularites sont compliquées d'occlusions vasculaires avec ischémie rétinienne. Leur atteinte peut entraîner une vision floue, indolore, des scotomes et des myodésopsies (par hémorragie ou infiltration leucocytaire dans le gel vitréen) ou, au contraire, rester asymptomatique si elle touche seulement la vascularisation périphérique.

- **Aspect clinique et histologique des vascularites selon leur étiologie**

La difficulté d'obtenir des spécimens de tissu ou des biopsies des structures internes de l'œil explique que notre connaissance de l'origine pathologique des vascularites rétinienne provient exclusivement des observations cliniques, des études post-nécropsiques ou post-mortem. Malheureusement, ces dernières n'explorent la physiopathologie de ces maladies que lorsqu'elles sont déjà à un stade tardif ou chronique. Les modèles expérimentaux sont eux aussi utiles pour les études histopathologiques et immunopathologiques.

- **La sarcoïdose**

L'atteinte ophtalmique, généralement une uvéite antérieure ou postérieure, dans la sarcoïdose touche 26% des patients atteints de cette maladie. La vascularite rétinienne de la sarcoïdose a un aspect assez typique de périphlébite (atteinte veineuse) caractérisée par une exsudation périvasculaire (ou périphlébite en « taches de bougie »).

Les rapports de pathologie oculaire décrivent un granulome non caséux fait de macrophages, de cellules épithélioïdes, de cellules géantes avec des lymphocytes autour. Au pôle postérieur, la rétine peut être affectée comme la pars plana, le nerf optique et la choroïde. L'atteinte vasculaire est caractérisée par un infiltrat lymphocytaire et histiocytaire et quelques vaisseaux occlus par des granulomes [15]. Une observation montre l'interruption des jonctions serrées vasculaires rétinienne par une atténuation et une fenestration de l'endothélium veinulaire [16]. Gass a documenté les exsudats périvasculaires et le sang ainsi que de nombreux nodules de cellules épithélioïdes centrés autour des vaisseaux sanguins rétiniens avec l'extension de quelques nodules en pré-rétiniens dans le vitré [17]. Ces aspects correspondent aux signes cliniques d'engainement en « taches de bougie » et aux « œufs de fourmis pré-rétiniens ». De plus, une prolifération fibrovasculaire allant de la rétine au vitré a été décrite.

- **La maladie de Behçet**

La maladie de Behçet est une pathologie multisystémique d'étiologie inconnue caractérisée par des ulcères oraux et génitaux, une uvéite et une atteinte vasculaire, gastro-intestinale, neurologique et musculo-squelettique. L'immunité innée et adaptative jouent un rôle dans cette maladie avec diverses cytokines pro-inflammatoires impliquées dans les voies pathogéniques responsables de lésions tissulaires.

L'inflammation oculaire (de forme antérieure non granulomateuse ou postérieure) constitue l'un des signes majeurs permettant le diagnostic de cette maladie. On la rencontre dans 66 à 73% des cas. La vascularite rétinienne est généralement occlusive, touchant

préférentiellement les veines mais une occlusion des artères apparaît ensuite dans l'évolution de la maladie.

Les comptes rendus d'anatomo-pathologie font état d'une gliose extensive de la rétine avec décollements et avec parfois des membranes fibrovasculaires présentes à leur surface dans des yeux où la maladie était déjà avancée comme en témoigne une néovascularisation du segment antérieur. Une infiltration lymphocytaire est prédominante, associée à un manchon périvasculaire observé cliniquement [18]. Des aspects similaires en histopathologie ont montré une infiltration lymphocytaire des vaisseaux rétiniens (veines et veinules) et des espaces périvasculaires. Des zones d'atrophie et de désorganisation de la rétine associés à des oblitérations inflammatoires de veinules dans les tissus rétiniens et choroïdiens eux-mêmes, ont été décrits. Ces aspects sont associés aux périphlébites occlusives conduisant à l'ischémie rétinienne dans cette maladie Behçet [19]. L'étude des infiltrats lymphocytaires montrent qu'ils sont composés principalement de CD4+ T helper cells, avec peu de lymphocytes T CD8+ ou B [20]. De plus, une augmentation des molécules d'adhésion cellulaire sur l'endothélium vasculaire a été retrouvée [20], [21].

- **La sclérose en plaques (SEP), uvéite intermédiaire et pars planite**

L'œil est un organe qui peut être atteint dans la SEP. En effet, 45% des cas présentent une atrophie du nerf optique, généralement secondaire à une neuropathie optique [22]. Trente six pour cent des patients présentent également une vascularite rétinienne à l'examen clinique [23]. La présence de la vascularite rétinienne ne serait pas corrélée à l'activité de la SEP. L'aspect clinique le plus typique est une périphlébite périphérique, souvent associé à une inflammation de la pars plana et du vitré, une triade souvent appelée pars planite ou uvéite intermédiaire. Les signes de la SEP sont souvent transitoires et asymptomatiques mais peuvent être également plus sévères en cas de vascularite occlusive, d'ischémie rétinienne et de néovascularisation. Le lien entre pars planite et SEP est fort, car 48% des patients avec une pars planite ont des lésions de démyélinisation à l'IRM cérébrale [24]. L'examen anatomo-pathologique de 47 cas de SEP a montré que l'atrophie optique était la plus commune des manifestations oculaire (45% des cas), des périphlébites rétiniennes asymptomatiques et du nerf optique étaient retrouvées également (9 et 12% des cas, respectivement). Un infiltrat lympho-plasmatique segmentaire périveineux touchant les veines rétiniennes des territoires postérieur et antérieur a été retrouvé avec des caractéristiques granulomateuses. Un dépôt d'IgG dans la paroi des veines dans certains cas de périphlébites rétiniennes avec quelques

IgA et IgM a été trouvé [25]. D'autres études concluent également à une forte corrélation entre la présence de périphlébites rétiniennes et les lésions vasculaires cérébrales de la SEP [26].

II-5. Immunologie. Physiopathologie des uvéites chez l'homme.

Le déclenchement des uvéites auto-immunes chez l'homme serait dû à l'activation périphérique de lymphocytes par des stimuli microbiens et microenvironnementaux ayant des épitopes communs avec les tissus rétiniens. Les lymphocytes reconnaissant ainsi les antigènes rétiniens auraient un rôle central et les macrophages, cellules présentatrices d'antigènes et productrices de cytokines et chimiokines, induiraient directement des lésions rétiniennes lorsqu'ils infiltrent l'œil. Ces lésions sont induites par chimiotactisme lors de la libération *in situ* de cytokines.

La libération intraoculaire de cytokines et chimiokines aurait donc un rôle majeur dans la pathogenèse et la persistance de l'inflammation oculaire, jusqu'à entraîner la cécité.

En effet, il a été prouvé que :

- les macrophages, cellules présentatrices d'antigènes et productrices de cytokines/ chimiokines sont cytotoxiques pour les cellules de la rétine ;
- les lymphocytes CD4⁺ effecteurs autoréactifs sont responsables de la pathogenèse des désordres inflammatoires et autoimmuns comme lors de : la sclérose en plaque, l'arthrite rhumatoïde, la maladie de Crohn et les uvéites. Les cellules CD4⁺ naïves se différencient en sous-effecteurs selon la nature de l'environnement dans lequel l'exposition à l'antigène intervient. Plusieurs phénotypes de lymphocytes T effecteurs ont été décrits, comme les lymphocytes Th1, Th2, Th17, et plus récemment les Th9.

Les cytokines majeures impliquées dans les uvéites correspondraient au sous-type lymphocytaire Th1 comme l'IFN- γ . L'IL-4, produite par le phénotype Th2, serait régulatrice. D'autres seraient également impliquées avec un rôle pathogène ou cytoprotecteur: l'IL-6, l'IL-8, le CCL2 [27], [28], l'IL-1 β , l'IL-2, l'IL-13, le TNF α . et l'IL-10 [29]. Chaque entité Th nécessite des cytokines particulières et des facteurs de transcription pour sa différenciation et sa fonction et chaque Th possède sa propre signature cytokinique reliée à sa fonction effectrice. Les cytokines pro-inflammatoires produites par les cellules non-T sont également critiques en déterminant la lignée de choix des Th différenciés (fig 1).

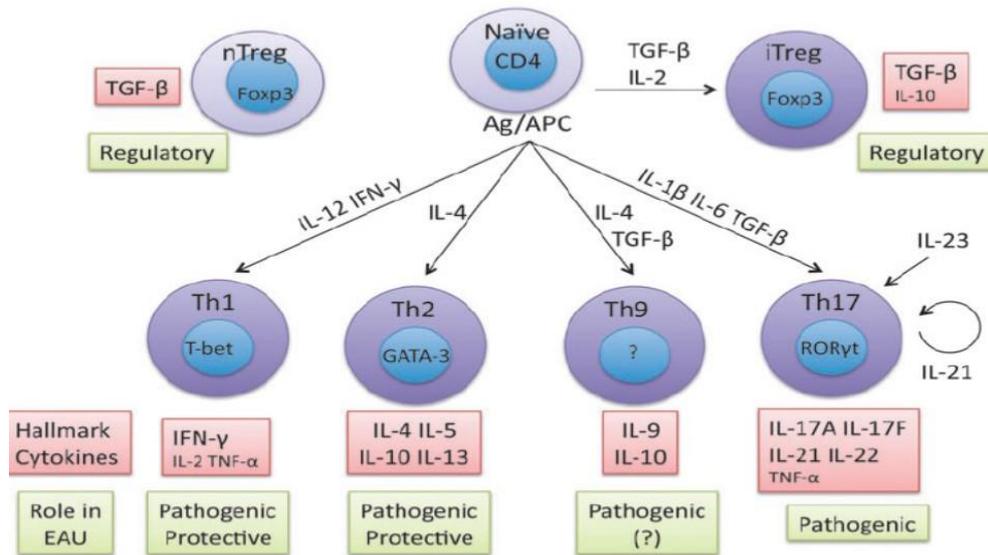


Figure 1 : Cytokines et différenciation des lignées des lymphocytes effecteurs T associés avec les uvéites, d'après (Horai et Caspi, 2011).

- **Régulation de la réponse inflammatoire de l'œil**

L'œil est un site de privilège immunitaire. L'environnement oculaire a évolué pour limiter la réponse immune locale et les réponses inflammatoires et ainsi préserver sa transparence et sa fonction neurosensorielle. La première ligne de défenses entre le système immunitaire et l'œil est représentée par la barrière hématorétinienne efficace et un peu par un système de drainage lymphatique direct dans le globe oculaire qui fonctionne si l'œil est intact [30]. S'il existe une brèche (en cas de traumatisme physique de l'œil et dans le cas où les cellules immunitaires sanguines entrent dans l'œil), le microenvironnement oculaire immuno-inhibiteur, composé de diverses molécules solubles et liées aux cellules, pénètre dans l'œil pour prendre le contrôle (repréciser). La barrière hémato-rétinienne est alors altérée et les leucocytes et lymphocytes (Th1 et Th17) sont recrutés depuis la circulation sanguine ainsi que des cytokines inflammatoire qui amplifient l'inflammation provoquant une uvéite (fig 2) [30].

La majorité des modèles d'uvéites expérimentales sont médiées par les sous-types lymphocytaires CD4+ Th1 (IFN-γ, IL-12 et TNF-α) et Th17 (IL-17, IL-21, IL-22, and IL-23) [27], [28], [31]–[33].

Les 3 barrières du privilège immunitaire sont résumées dans le tableau II :

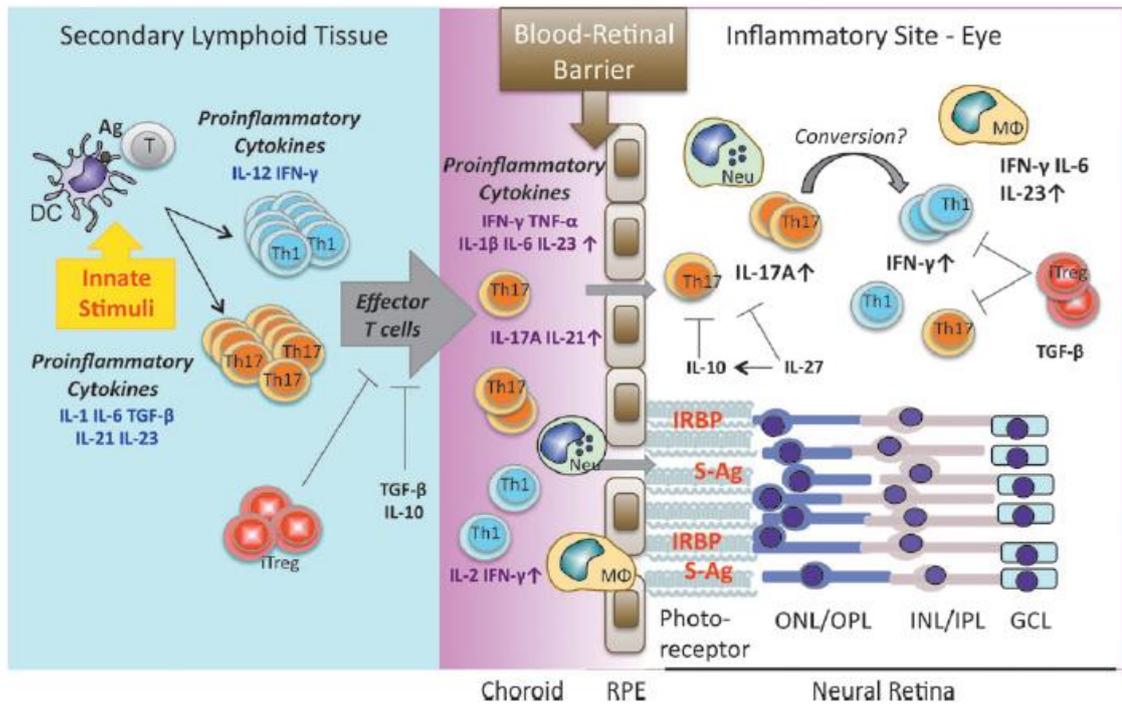


Figure 2 : Schéma des cytokines dans la pathogenèse de l'uvéite. La présentation de l'antigène en périphérie stimule l'activation des lymphocytes T, leur différenciation et leur expansion clonale. RPE : retinal pigment epithelium ; ONL : outer nuclear layer ; OPL : outer pexiform layer ; INL : inner nuclear layer ; IPL : inner plexiform layer ; GCL : ganglion cell layer. D'après (Horai and Caspi, 2011).

Si l'inflammation se développe, l'œil va provoquer des mécanismes systémiques régulateurs. C'est ainsi que la barrière hémato-oculaire peut être perméable aux lymphocytes T activés dans des conditions d'inflammation; l'œil doit alors contrôler la réaction inflammatoire qu'ils entraînent, afin de préserver sa fonction neurosensorielle. Une caractéristique particulière de la chambre antérieure est la réponse immunitaire atténuée à des greffes allogéniques ou « déviation » de la réponse immune vis-à-vis d'antigènes présents dans la chambre antérieure (mais aussi le vitré et l'espace sous-rétinien), baptisée *anterior chamber associated immune deviation* (ACAID) ; c'est un mécanisme de tolérance qui peut limiter les dommages. Elle favorise une réponse cellulaire CD8⁺ cytotoxique et une réponse humorale produisant des anticorps ne fixant pas le complément et limitant au contraire la réponse de type hypersensibilité retardée et la production d'anticorps fixant le complément. Ce phénomène de déviation a été évoqué dans l'uvéite expérimentale auto-immune chez l'animal (UAE) induite par l'injection systémique de l'Interphotoreceptor Binding Protein (IRBP), où l'injection préalable de l'antigène dans la chambre antérieure protège de la survenue de l'UAE.

L'ACAID est organisée selon un axe oculo-splénique. Les cellules dendritiques et les macrophages oculaires présents au niveau du corps ciliaire et de l'iris captent l'antigène puis migrent dans la circulation systémique avant de gagner la rate. Au niveau splénique, ils vont présenter l'antigène aux cellules NKT [Ohta K, et al. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999], qui vont activer des cellules CD8⁺ régulatrices capables de regagner l'oeil et d'y supprimer la réponse d'hypersensibilité retardée de type Th1. La nature et le conditionnement particuliers des CPA oculaires jouent un rôle important dans l'induction de l'ACAID. Ainsi, l'injection de cellules dendritiques systémiques préalablement conditionnées *in vitro* par de l'humeur aqueuse ou du TGF- β induit une réponse biaisée similaire à l'ACAID [Nakamura T, et al. *J Immunol* 2003]. Néanmoins, si le modèle d'ACAID est relativement bien défini chez la souris, il n'a jusqu'à présent jamais été clairement authentifié chez l'homme.

Au niveau de la physiopathologie des uvéites, les barrières anatomiques ainsi que l'ACAID permettent d'établir une *relative* ignorance immunologique des antigènes oculaires de la part de l'organisme. Cette ignorance peut être levée dans deux circonstances : une rupture initiale des barrières anatomiques entraînant une auto-immunisation, comme on peut le constater lors d'uvéites phako-antigéniques, où le patient s'immunise contre ses propres protéines cristalliniennes, normalement isolées du reste de l'organisme par la capsule du cristallin.

Dans le deuxième cas, les uvéites auto-immunes résultent de l'afflux intraoculaire de clones lymphocytaires activés auto-réactifs, ceci est le modèle de l'UAE (exemple le plus étudié) chez la souris après immunisation chez par le S-Antigène rétinien notamment.

Ces modèles animaux ont mis en évidence plusieurs anomalies lors d'une uvéite.

Il existe une rupture de la barrière hémato-oculaire : Ohta a pu démontrer une augmentation des concentrations cellulaires et protéiques oculaires au cours de l'UAE [Ohta K, et al. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999], avec une perte des propriétés immunosuppressives de l'humeur aqueuse. Cette perte d'inhibition serait médiée par l'IL-6, dont l'action s'exercerait par une inhibition du TGF- β . Cet effet de l'IL-6 est réversible par l'administration d'un anticorps inhibiteur [Ohta K, et al. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999]. Par ailleurs, l'IL-6 provoque la perte de l'ACAID, autorisant alors les CPA oculaires à activer des lymphocytes en périphérie, et ainsi emballer l'inflammation oculaire.

Tableau II. Les barrières du privilège immunitaire de l'œil, d'après [34] :

Séparation	Barrière hématorétinienne : prévient le trafic libre des cellules et des moléculaires à l'intérieur et extérieur de l'œil. Pas de drainage lymphatique (tant que la barrière hématorétinienne est intacte).
Inhibition	Inhibition immunologique et lymphocytes Treg- induisant un microenvironnement oculaire. Médiateurs solubles (ex. : cytokines et neuropeptides : TGF- β , α -MSH, VIP, CGRP, FasL soluble). Molécules liées aux cellules (ex. : FasL, TSP1, PD-L1). Protéines régulatrices solubles et liées aux cellules (ex. : CFH, DAF, Crry).
Régulation	Processus régulateur spécifique à l'œil (ACAID, post-recovery eye dependent tolerance).

En faisant partie du privilège immunitaire, l'environnement oculaire inhibiteur sert comme un régulateur de l'inflammation dans l'œil, exerçant un contrôle significatif sur les éléments de la réponse immunitaire innée et adaptative.

Mais le privilège immunitaire ne correspond pas à un manque de surveillance immunologique ; en effet, on sait que des cellules immunitaires peuvent pénétrer des sites du privilège immunitaire [34]. Des maladies auto-immunes comme la sclérose en plaques altèrent les dynamiques locales du trafic cellulaire immunitaire dans les tissus atteints. Ce remaniement peut exposer l'œil au risque d'une activation immunitaire non spécifique entraînant une récurrence clinique, cette fois touchant la rétine, après l'épisode inflammatoire systémique initial.

Les données portant sur les uvéites auto-immunes indiquent que de nombreux lymphocytes T CD4⁺ effecteurs meurent par apoptose dans les tissus enflammés, cependant, les lymphocytes T peuvent aussi sortir des tissus oculaires affectés [35]. Certaines cellules infiltrantes CD8⁺ de divers phénotypes peuvent rester comme cellules résidentes suivant une infection [36].

- **Privilège immun vs immunité innée**

L'activation et la fonction des éléments de la réponse innée (ex. : les cellules NK, les monocytes-macrophages, les neutrophiles et le complément) sont modulées par le microenvironnement oculaire. Certains liquides intraoculaires contiennent deux facteurs, le MIF (macrophage migration inhibitory factor) et le TGF- β 2, qui suppriment la fonction des cellules NK. En s'associant aux antigènes du CMH exprimés par les cellules oculaires (voie

non classique du CMH), ils peuvent inhiber *in vivo* les cellules NK. Cette hypothèse est vérifiée quand on étudie les greffes de cornées non appariées CMH, qui devraient en théorie activer les cellules NK pour tuer les cellules du greffon, et qui sont en fait, étonnamment acceptées (Ashour et Niederkorn, 2006). Une molécule importante pour le privilège immunitaire *in vivo* est le FasL (Fas ligant) qui interagit avec les cellules du système immunitaire inné et adaptatif. Le FasL membranaire est exprimé dans la cornée et la rétine (RPE). Il peut induire une apoptose des leucocytes effecteurs exprimant le Fas et entraîner une tolérance aux antigènes dans l'œil [38]. Les liquides intraoculaires contiennent aussi le neuropeptide alpha-melanocyte stimulating hormone (α -MSH) et parfois le FasL soluble, un produit de clivage du FasL membranaire qui a des propriétés antagonistes. Ces substances inhibent l'activation des neutrophiles [39] alors que le FasL membranaire les activerait plutôt [40].

Les macrophages constituent la majeure partie des cellules inflammatoires du système immunitaire inné et ils interviennent dans l'inflammation [41]. Leur activation et leur fonction sont modérées par le α -MSH et le calcitonin gene-related peptide (CGRP) contenus dans les liquides oculaires. L'IL-10 provenant des lymphocytes T $\gamma\delta$ intervient dans les manifestations systémiques du privilège immunitaire comme l'ACAID [37]. Le fait que l'IL-10 soit associé à une régulation des macrophages oculaires infiltrants et à la polarisation du phénotype M2 régulateur réaffirme le concept d'une régulation immunitaire intraoculaire de la réponse innée [41]. Les mécanismes selon lesquels les macrophages peuvent être dirigés soit vers une destruction directe dans les tissus soit vers une régénération sont encore inconnus. Nous savons que le microenvironnement oculaire a la capacité d'envoyer des signaux à ces cellules pour réguler leur fonction à travers des messagers comme les lignées TLR et les cytokines spécifiques des macrophages. L'activation de la cascade du complément, par la voie alterne ou classique, génère des médiateurs qui altèrent les cellules cibles en formant un complexe d'attaque membranaire, mais qui également attirent et activent les cellules de l'immunité innée. Un faible niveau d'activation du complément est constamment présent dans l'œil et peut être utile comme protection contre des pathogènes. Pour contre balancer ceci et contrôler l'excès d'activation du complément qui pourrait endommager les tissus, les liquides intraoculaires et les cellules expriment un nombre de protéines régulatrices du complément influencent son facteur H (CFH) et les molécules liées aux cellules decay accelerating factor (DAF) et Crry [42].

- **Privilège Immunitaire vs immunité adaptative**

Les éléments de l'immunité adaptative qui peuvent exprimer une fonction effectrice dans l'œil sont représentés par les lymphocytes CD4+, CD8+ et les anticorps. On ignore si les lymphocytes B, qui ont un rôle d'induction de l'ACAID, sont aussi susceptibles d'exercer une fonction dans l'œil à part leur fonction de sécrétion d'anticorps. Les lymphocytes T CD8+ partagent des caractéristiques communes par leur fonction effectrice avec les cellules NK et peuvent être contrôlés en partie par des mécanismes similaires. Les lymphocytes T CD8+ peuvent agir comme des cellules régulatrices dont la génération est en partie conduite par les interactions dépendantes des cellules NKT dans la rate. Le rôle des lymphocytes T CD4+ comme effecteurs et comme régulateurs dans de nombreux aspects du privilège immunitaire a été montré ; les processus qui inhibent l'immunité innée dans l'œil peuvent aussi souvent contrôler l'immunité adaptative des cellules par différentes voies : par le FasL membranaire, le PD-L1, le CTLA-4 et d'autres voies qui agissent sur les réponses adaptatives. Concernant la question portant sur la capacité de l'œil à contrôler les cellules de la réponse immunitaire adaptative, des études ont examiné les effets du microenvironnement oculaire sur les cellules naïves et sur les cellules T CD4+ spécifiques d'antigènes de rétine en utilisant des lymphocytes T d'un récepteur transgénique (TCR Tg) de souris exprimant un TCR spécifique de rétine, introduit dans un œil vivant. Les données indiquent que l'œil vivant convertit de manière efficace les lymphocytes T naïfs de rétine (spécifiques de rétine) en Tregs Foxp3+ fonctionnelles ou en lymphocytes T productrices d'IL-10 dont la fonction effectrice est déficiente [43]. Ceci nécessite une reconnaissance de l'antigène apparenté dans l'œil et une action combinée de TGF- β et de l'acide rétinoïque, tous deux abondants dans l'œil. Cependant, les lymphocytes T qui ont acquis une fonction effectrice en dehors de l'œil sont insensibles à l'environnement oculaire inhibiteur. Ils continuent à exprimer leur fonction effectrice et à entraîner des uvéites sévères [43]. Cependant, l'œil déjà enflammé est moins capable de convertir les lymphocytes T naïfs spécifiques de rétine en Tregs, indiquant qu'au moins cet aspect du privilège immunitaire a été perdu suite à l'inflammation. Ceci peut être dû en partie à la présence de médiateurs inflammatoires dans l'œil, qui peuvent empêcher l'induction et la fonction des Treg, priver l'œil des facteurs anti-inflammatoires et inducteurs des Treg comme le TGF- β et l'acide rétinoïque à partir d'une barrière hématorétinienne lésée [44]. Ceci permet d'expliquer comment les uvéites auto-immunes peuvent se développer malgré la présence du privilège auto-immunitaire.

- **Le contrôle de la fonction cellulaire myéloïde dans l'œil est influencé par l'environnement cellulaire et tissulaire.**

La rétine et la choroïde présentent un riche réseau de cellules myéloïdes qui créent un tissu immunitaire et maintiennent la santé immunitaire de ces tissus. Le contrôle de l'activation cellulaire myéloïde dans la rétine permet une surveillance continue de l'environnement, la prévention de dommages cellulaires et tissulaires. Il n'y a pas de données sur l'étendue des infiltrats tissulaires inflammatoires pendant les maladies oculaires chez l'homme ; les résultats chez la souris montrent la prédominance et la persistance des macrophages pendant la maladie [32], [45]. La microglie et les cellules myéloïdes choroïdiennes (cellules dendritiques et macrophages) sont en état de veille et régulent les réponses inflammatoires. Les tissus sains définissent le seuil de réponse aux récepteurs inhibiteurs (ex : CD200R, SIRP α) ou au TGF- β . La régulation par une interaction neuronale est augmentée par les fonctions régulatrices de l'EPR, via des médiateurs comme le PD-1 et le PD-L1, la sécrétion de TGF- β et des peptides inhibiteurs. La réponse à l'activation des cellules myéloïdes est dominée par la réponse IL-10 tandis que d'autres cytokines pro-inflammatoires sont aussi produites ; un défaut de réponse correspond à une régulation négative (fig. 3) [46], [47].

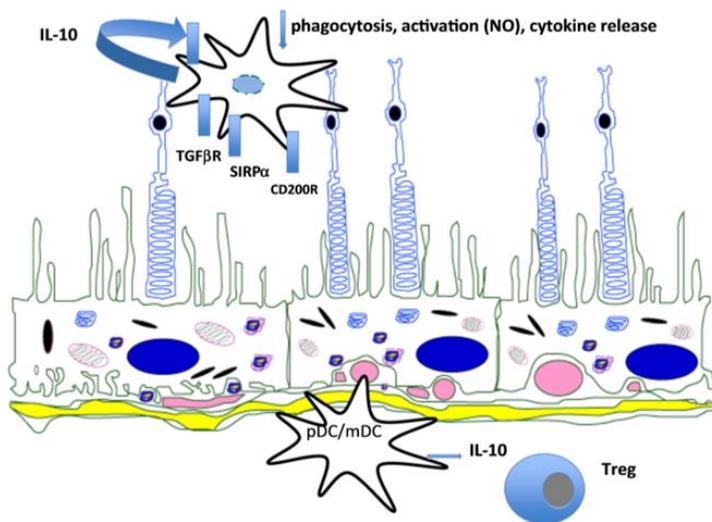


Figure 3: Régulation des réponses myéloïdes dans la rétine et la choroïde, d'après [36].

- Lymphocytes T régulateurs

En tant qu'organe doué du privilège immunitaire, l'œil est capable d'induire des circuits régulateurs dont font partie les cellules régulatrices CD4⁺ and CD8⁺. Ils apparaissent quand l'œil a été atteint par l'injection d'un antigène dans l'œil ou après une uvéite expérimentale auto-immune. Ces lymphocytes T reg induits sont capables de faciliter la réactivation de la maladie mais ils ne sont pas présents chez un animal naïf pour le protéger d'une exposition

initiale à un stimulus uvéitogénique. Les lymphocytes Treg naturels sont sélectionnés dans le thymus à partir de d'antigènes tissulaires exprimés de façon ectopique et ils ont des réponses autoimmunes restreintes à des variétés tissulaires.

- **Les uvéites : inflammation caractérisée par l'implication de l'immunité adaptative**

Les uvéites se manifestent par des infiltrats oculaires inflammatoires contenant des éléments propres à l'immunité adaptative et innée. Lors des uvéites postérieures l'inflammation entraîne une altération des photorécepteurs, cause de déficit visuel. Les uvéites sont variables en termes de manifestations cliniques et d'évolution de la maladie. Certaines ne ciblent que l'œil (ex. : uvéites idiopathiques, ophtalmie sympathique, chorioretinopathies de type « birdshot ») tandis que d'autres font partie d'un syndrome systémique généralisé (ex. : uvéite accompagnant la maladie de Behçet, la maladie de Vogt-Koyanagi-Harada, l'arthrite juvénile idiopathique). Les associations avec les réponses Th1 et Th17 ont été rapportées et pourraient expliquer certaines de ces variabilités [36]. Les cytokines produites par ces cellules conditionnent l'environnement local et activent les macrophages (spécialement l'IFN- γ produit par les cellules Th1), recrutent les neutrophiles et potentiellement restructurent l'environnement local (ex. : par l'IL-17 produite par les cellules Th17).

La nature auto-immune de ces maladies est supportée par le manque d'infection intraoculaire sous-jacente, une association forte avec les antigènes HLA, une implication centrale des lymphocytes T dans la pathogenèse (mise en évidence par l'efficacité des thérapies ciblant les lymphocytes T) et les réponses immunologiques à des protéines rétiniennes non retrouvées ailleurs dans le corps humain. Les plus fréquentes réponses sont celles à l'antigène rétinien (S-Ag) mais des réponses à d'autres antigènes sont également observées [36].

L'autoimmunité idiopathique survient après l'activation et l'expansion des lymphocytes T spécifiques des antigènes rétiens. Expérimentalement, l'élément déclenchant est distant du site de l'organe affecté, bien que l'on ne sache pas si ce processus est la cause de ces maladies chez l'homme. Le paradigme dominant est qu'il s'agit d'un processus conduit par les lymphocytes T Helper CD4+. Cette hypothèse est supportée, dans les uvéites humaines, par l'association des 2 entités, l'ophtalmie sympathique et la maladie de Vogt-Koyanagi-Harada à des allèles HLA de classe II spécifiques. De plus, des lymphocytes T répondeurs à l'antigène oculaire ont été identifiés dans le sang périphérique et dans les yeux des patients

atteints [48]. L'association forte de l'autoimmunité au CMH montre le besoin d'une présentation d'auto-antigène spécifique et la sélection d'un répertoire de lymphocytes T potentiellement pathogènes [36].

La mise en évidence de lymphocytes T spécifiques de la rétine, détectables chez les patients atteints d'uvéïte, montre leur rôle dans la pathogenèse de leur maladie car les thérapies ciblant les lymphocytes T (ex. : cyclosporine, rapamycine et le blocage des récepteurs à l'IL-2 par le daclizumab) ont un effet bénéfique en clinique.

Récemment, il a été proposé que certains types d'uvéïtes qui étaient considérées comme auto-immunes sont en fait de nature auto-inflammatoire [36]. Ceci vient de la présence d'associations génétiques avec des variants alléliques de récepteurs de l'immunité innée (ex. : maladie de Behçet et NLRP3/ mutations de la cryopyrine et de l'atteinte centrale de l'IL-1 dans la pathogenèse [49]. Cependant même dans les maladies supposées être auto-inflammatoires, comme l'uvéïte du Behçet, il y a des réponses aux antigènes oculaires, alors que d'autres études montrent des réponses accrues Th1 et Th17, et nous ne savons pas si ces deux types de réponses sont reliés [50]. Donc, les réponses autoimmunes aux antigènes rétiniens libérés après dommage du tissu peuvent être des moteurs de la maladie, et ce indépendamment du facteur déclenchant.

- **Les réponses immunes pathogènes dans les uvéïtes**

Les modèles d'uvéïtes auto-immunes expérimentales sont des outils utiles pour comprendre les mécanismes de ces maladies chez l'homme. Le modèle classique correspond à une immunisation active par un antigène rétinien émulsifié avec un adjuvant de Freund. Ceci mime le stimulus uvéogénique qui est supposé induire l'uvéïte chez l'homme et qui correspond à une supposée exposition à un antigène rétinien ou un crossréactif combiné à un événement infectieux produisant des signaux innés d'inflammation. Les protéines rétiniennes uvéogéniques regroupent : l'arrestine rétinienne (antigène soluble), IRBP, la rhodopsine, la recoverine, la phosducine, le retinal pigment epithelium-derived ou RPE-65.

D'après les données chez les modèles animaux, il est clair que les lymphocytes T spécifiques à de(s) antigène(s) rétinien(s) jouent un rôle pivot dans les uvéïtes. Différentes lignées effectrices de lymphocytes T existent, qui normalement gèrent plusieurs types d'infections, mais chacune peut également être impliquée dans une pathologie tissulaire.

Les réponses Th1 et Th17 associées à la maladie ont été retrouvées chez des patients atteints d'uvéïtes. Chez les animaux immunisés contre l'uvéïte, les cellules spécifiques Th1 et Th17

sont induites, spécifiques de la rétine. Dans différents modèles d'uvéïtes, la réponse effectrice dominante à lymphocytes T peut être Th17 ou Th1 [51]. Différents mécanismes effecteurs de l'immunité innée sont mis en jeu (ex : Th17 recrute des neutrophiles tandis que Th1 recrute des monocytes), les deux réponses étant destructrices de tissus et entraînent des pathologies, indépendamment. Ceci est supporté par les études sur le transfert adoptif avec des cellules polarisées *in vitro*, qui confirment que les lignées effectrices des lymphocytes T sont compétentes pour induire une uvéïte, même en absence de réponse effectrice réciproque chez l'hôte [51]. D'après de nombreuses études chez l'homme et les modèles animaux, la séquence suivante d'événements prend forme dans la pathogenèse des uvéïtes : les lymphocytes T autoréactifs spécifiques de rétine, qui ont été activés en périphérie par un stimulus inconnu, circulent dans l'organisme. Ils passent à travers les vaisseaux sanguins rétiens et adhèrent à l'endothélium vasculaire. En raison de leur état activé, ces lymphocytes libèrent des enzymes dégradant la matrice et des métalloprotéinases capables de casser les jonctions serrées vasculaires de la barrière hémato-rétinienne et de s'extravaser dans les tissus. Ils produisent alors des cytokines et des chimiokines qui activent les cellules présentatrices d'antigènes locales, normalement quiescentes et qui deviennent alors capables de présenter un antigène. Les lymphocytes T infiltrés doivent reconnaître leur antigène apparenté pour induire une uvéïte [34], [52]. Il est probable que la reconnaissance de l'antigène soit nécessaire pour les maintenir en état d'activation, tandis que les facteurs pro-inflammatoires qu'ils sécrètent débloquent une cascade d'auto-amplification inflammatoire : l'activation de la microvascularisation locale, le recrutement de leucocytes inflammatoires et de cellules présentant des antigènes de la circulation, le dommage de la barrière hémato-rétinienne et la fuite des antigènes rétiens dans le drainage, l'amorçage et l'expansion des lymphocytes T additionnels autoréactifs et le recrutement des cellules inflammatoires additionnelles, l'augmentation des dommages tissulaires et la libération des antigènes, etc.

La réponse T cellulaire effectrice spécifique d'antigène, Th1 ou Th17, recrute et dirige les éléments cellulaires de la réponse immunitaire innée (monocytes, neutrophiles, cellules NK, cellules $\gamma\delta$) ainsi que des éléments des réponses immunitaires adaptative et humorale (anticorps et système du complément), qui agissent de concert pour causer des altérations tissulaires.

C'est ainsi que le privilège immun est incapable de protéger l'œil contre une réponse adaptative forte. Ils font intervenir les lymphocytes T. A la différence des lymphocytes T naïfs, les lymphocytes T effecteurs amorcés présentent les 3 propriétés suivantes : leur capacité à traverser activement la barrière hématorétinienne, la conservation de leur fonction

effectrice sans activation en lymphocytes Tregs dans l'œil, et la perte du privilège immun. Ceci est démontré par la conversion des lymphocytes Treg lésés dans l'œil enflammé, certainement par la perte des molécules qui maintiennent le microenvironnement oculaire inhibiteur à travers la barrière hématorétinienne lésée et l'élaboration des médiateurs inflammatoires [29], [43].

II-6. Profils cytokiniques des uvéites

- **Cytokines et uvéites idiopathiques**

Quelques études ont porté sur les cytokines dans les groupes d'uvéites idiopathiques localisées au segment intermédiaire de l'œil mais sans vraiment distinguer les résultats de ceux trouvés dans d'autres entités (sclérose en plaques, sarcoïdose et borréliose de Lyme). Plus précisément pour les prélèvements intraoculaires, des taux plus élevés d'IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12(p70) et CCL2/ MCP-1 comparés aux contrôles ont été décrits. De plus, la présence d'un œdème maculaire a été associée à des taux élevés d'IL-6 et IL-8. Les résultats des dosages sérologiques ont montré des taux de TNF- α plus élevés que chez les contrôles [28], [53], [54]. A notre connaissance, il n'existe pas d'étude associant les profils de cytokines et de chimiokines et les réponses immunes aux caractéristiques cliniques des uvéites « idiopathiques ». Les taux d'IL-6, IL-8 et IFN γ et CCL2 étaient significativement augmentés dans les humeurs aqueuses des uvéites idiopathiques comparées aux contrôles non inflammatoires [29]. Le TGF- β 2 et le CXCL12 étaient détectables dans les humeurs aqueuses des contrôles non inflammatoires mais ces taux étaient significativement réduits dans les uvéites idiopathiques. En comparant les humeurs aqueuses des uvéites idiopathiques traitées et non traitées, les seules différences étaient les taux d'IL-8 (sujets non traités 248, traités 787 pg/mL : p<0,05) et les taux diminués de TGF- β 2 (sujets non traités 182, traités 27 pg/mL : p<0,05) dans le groupe des patients traités [29].

- **Profil Cytokiniques/ chimiokiniques dans diverses étiologies d'uvéites**

Les cytokines jouent un rôle important en maintenant l'homéostasie lymphocytaire en présence de la maladie et en son absence.

- Les cytokines Th1 (IFN- γ et IL-12) :

-L'INF- γ : C'est la cytokine la plus abondante retrouvée dans l'AqH des uvéites infectieuses et non infectieuses. Une différence a été retrouvée dans le taux de cette cytokine entre les deux groupes. Dans les uvéites infectieuses, le taux moyen est 3240 pg/mL, 30 fois plus important que celui des uvéites non infectieuses (moyenne 115,6 pg/mL) [55]. Cette cytokine a été également retrouvée dans le sérum de patients atteints d'uvéites infectieuses (concentrations proches de la limite de détection). L'INF- γ a paradoxalement un rôle protecteur et proinflammatoire. En fait, sa présence au début de la maladie est protectrice. L'administration d'IL-12 recombinante en même temps que l'immunisation dans les uvéites auto-immunes expérimentales prévient le développement de la maladie par un effet dépendant de l'INF- γ [56]. De même la production d'INF- γ par les cellules NK suite à l'administration d'un ligand du récepteur des lymphocytes T (α -GalCer) au moment de l'immunisation (et non plus tard) a un rôle protecteur dans les uvéites auto-immunes expérimentales [57] et inhibe les ainsi réponses adaptatives Th1 et Th17. Donc la production d'INF- γ au stade initial de la réponse inflammatoire, inhibe les réponses adaptatives (grâce aux cellules de l'immunité innée) en réaction à un antigène uvéitogène.

- L'IL-12 est une cytokine immunorégulatrice qui participe au développement des réponses cellulaires Th1 [58]. Elle est produite par les macrophages et les cellules dendritiques. Bien que des taux intraoculaires d'IL-10 et d'IL-12 se sont révélés être plus élevés dans les yeux atteints d'uvéites intermédiaires que dans les yeux contrôles, ils n'étaient pas corrélés à l'activité de la maladie [54], [58]–[60]. Les résultats concernant les taux détectés d'IL-12 sont variables d'une série d'uvéites actives à l'autre car Curnow et al. ont trouvé des taux diminués dans l'AqH [29]. Ceci est peut-être dû à la détection de la sous-unité active p70 par certaines équipes et par la détection de p40 par d'autres.

- Les cytokines Th2 et Th9 (IL-4, IL-10, IL-13 et IL9) :

-L'IL-4 est une cytokine qui est peut-être sécrétée par différents types cellulaires mais les plus importants producteurs d'IL-4 dans les maladies médiées par les lymphocytes T sont les lymphocytes Th2 CD4⁺ activés par la reconnaissance antigène via le récepteur des lymphocytes T. Les fonctions effectrices de l'IL-4 comprennent l'induction de la production des IgE par les lymphocytes B et la différenciation des lymphocytes T CD4⁺ en une population Th2, ce qui a pour effet d'induire les cellules qui produisent de l'IL-5 ce qui inhibe la production d'INF- γ . L'IL-4 est impliquée également dans l'inhibition de la production de TNF- α et d'IL-1 par les monocytes activés ; dans les macrophages, elle supprime l'IL-6 par le

biais de l'inhibition de l'activité NFK β . Les taux d'IL-4 ont été retrouvés bas mais détectables chez certains patients avec une uvéite infectieuse, et augmentés dans quelques cas d'uvéites non infectieuse [55].

-L'IL-10 est un suppresseur de cytokines inflammatoires qui régule la différenciation et la prolifération des macrophages, des lymphocytes T et B, des cellules présentatrices d'antigènes, des granulocytes et des cellules NK. Les lymphocytes T régulateurs eux-mêmes produisent de l'IL-10 ainsi que du TGF- β . L'IL-10 pourrait agir comme un facteur autocrine puissant pour le développement des cellules T régulatrices. Elle contrôle les processus inflammatoires par la suppression de l'expression de TNF- α , d'IFN- γ et d'IL-1 β ; elle contrôle également la prolifération de lymphocytes T CD4+ et des clones de lymphocytes T par ses effets inhibiteurs sur les cellules présentatrices d'antigènes [61]. L'IL-10 affecte également la maturation des cellules dendritiques, avec un possible effet feedback et l'inhibition des réponses Th1 et Th2.

Des taux d'IL-10 augmentés ont été retrouvés dans des cas d'uvéites, probablement du fait d'une tentative de contrôle du processus inflammatoire en corrélation avec les taux augmentés d'IL-6 [55], [62], [63]. Le mécanisme par lequel l'IL-10 agit comme un suppresseur de la production de l'IFN- γ par les lymphocytes T n'est pas connu mais, dans les macrophages, il a été montré que l'IL-10 réduit la stabilité de l'ARNm pour l'IL-6 [64].

Cependant, le taux d'IL-10 dans l'AqH est augmenté dans la majorité des uvéites infectieuses, ceci pourrait refléter une réponse antivirale contre l'hôte [55]. Des lymphocytes sécrétant de l'IL-10 ont été identifiés dans certains cas d'uvéites idiopathiques et d'hétérochromie irienne de Fuchs. Curnow et al. ont détecté de l'IL-10 dans l'AqH de 3 des 22 uvéites idiopathiques de leur étude, ce qui pourrait refléter le rôle immunorégulateur proposé pour cette cytokine [29].

- Les cellules Th 9 décrivent les phénotypes lymphocytaires qui sont induits en présence d'IL-4 et de TGF-b et qui produisent l'IL-9 et l'IL-10 [65], [66]. Le rôle des cellules Th9 a été testé pour ses capacités à induire une inflammation oculaire par un modèle de transfert adaptatif. Bien que les cellules activées Th9 ont capables d'induire une inflammation chez la souris receveuse, le phénotype Th9 ne semble pas stable *in vivo*, car l'expression d'IL-9 chez les cellules du donneur ne sont pas détectées dans l'œil ou les nodules lymphatiques [67]. Le rôle de ces cytokines et des types cellulaires qui les produisent dans la pathogenèse des uvéites requièrent des recherches complémentaires [30].

-Les cytokines Th17 (IL-17A, IL-17F, IL-21, IL-22 et IL-23) :

-L'IL-23 est une cytokine immunomodulatrice impliquée dans de nombreuses maladies auto-immunes (ex. dans la maladie de Behçet oculaire et la maladie de Vogt-Koyanagi-Harada[50], [68]. Les productions d'IL-17 sont augmentées dans l'AqH des yeux avec une chorioretinopathie de type « birdshot », ainsi que l'IL-23. Dans la sarcoïdose, les taux d'IL-17 sont augmentés dans le sérum [69]. Ainsi des facteurs importants dans la différenciation cellulaire Th17 ont été trouvés dans le sérum et l'effecteur cytokinique des cellules Th17, l'IL-17, a été trouvé dans le liquide intraoculaire de ces patients [11].

L'IL-23 a la capacité à promouvoir la voie Th17 par son rôle dans la différenciation des lymphocytes T CD4+ producteurs d'IL-17 [50]. L'IL-12 et l'IL-23 partagent la sous-unité p40 [29]. Les cellules Th17 sont activées par les effets combinés de l'IL-6, l'IL-1 β et du TGF- β [66], [70], [71]. La lignée Th17 représente une population hétérogène qui produit les IL-17A,IL-17F, IL-21, IL-22, le TNF- α et d'autres cytokines mais toutes les cellules Th17 ne produisent pas la totalité de ces cytokines [72], [73]. L'association des cytokines exprimées par les cellules Th17 dépendent de la façon dont elles sont initialement induites et par le milieu cytokinique dans lequel elles évoluent. En plus des lymphocytes T CD4+ conventionnels, l'IL-17A est produite par les lymphocytes T CD8+ [74], les cellules NK [57] et les lymphocytes $\gamma\delta$ [75].

- L'IL-21 regroupe l'IL-2, famille de cytokines produite par les lymphocytes T CD4 + actives, et les cellules Th17 induisant les lymphocytes T-helper folliculaires pour la production des anticorps. L'IL-21 participe aux uvéites en induisant la différenciation des Th17, la production des Th17 [30] et attire les leucocytes dans les lésions du système nerveux central dans la maladie de Behçet [76]. L'IL-21 pourrait contribuer à la pathogenèse de la maladie Behçet par déséquilibre entre la balance des Th17 et des Treg [77]. Chez les patients avec une panuvéite de type Vogt-Koyanagi-Harada ou une chorioretinopathie de type « birdshot », des taux augmentés d'IL-21 dans le sérum ont été décrits [12], [78].

- **Autres cytokines :**

- L'IL-2 est produite surtout par les lymphocytes T activés et peut activer les lymphocytes T et les NK. Elle a été détectée dans les uvéites expérimentales auto-immunes à des concentrations approchant celles de l'IFN- γ pendant l'inflammation [79].

- L'IL-5 est une cytokine produite par les lymphocytes Th2 activés et les cellules mastocytaires et qui, chez les hommes, sélectivement stimule la différenciation, la

prolifération et l'activation fonctionnelle de la lignée des éosinophiles. Dans l'étude de Takase et al., l'IL-5 était détectable dans toutes les AqH des patients avec une nécrose rétinienne aiguë virale et chez certains patients avec une uvéite antérieure herpétique. L'IL-5 n'était pas détectable dans le cas des uvéites non infectieuses [55].

- Le TNF- α est une cytokine proinflammatoire qui a été impliquée dans la pathogenèse de nombreuses maladies dont celle de Behçet oculaire [80]. Le TNF- α est codé dans la région du complexe HLA de classe III, adjacent au HLA-B. Le TNF- α , libéré par les macrophages, les monocytes et les lymphocytes T, joue un rôle clé dans les processus inflammatoires et leur entretien lors des réactions auto-immunes [81]. Il a été également montré que le TNF- α pourrait contribuer à la rupture de la barrière hémato-rétinienne lors d'uvéites, possiblement à travers les cellules endothéliales [82]. La neutralisation du TNF- α dans les modèles expérimentaux d'uvéites est efficace en supprimant les signes cliniques d'inflammation chez l'animal [47], [83]. Les taux de TNF- α dans l'AqH de patients avec une uvéite idiopathique active et/ou intermédiaire ne semblent pas augmentés [28]. Les taux d'AqH de TNF- α et d'IL-2 étaient faibles mais détectables chez certains patients ayant une uvéite infectieuse et étaient positifs dans quelques cas d'uvéites non infectieuses [55].

- L'IL-6 est une cytokine pro-inflammatoire pléiotrope sécrétée par les lymphocytes T, les monocytes, les macrophages et les fibroblastes de la synovie. Ils sont impliqués dans la réponse immunitaire (induction de la différenciation des cellules Th17), l'hématopoïèse et l'inflammation. Cette cytokine augmente la perméabilité vasculaire et l'angiogenèse également. L'IL-6 et l'IL-8 sont des marqueurs spécifiques d'entités particulières d'uvéites. L'IL-6 antagonise l'action anti-inflammatoire de TGF- β 2 et cette cytokine protège de l'apoptose les lymphocytes contenus dans l'AqH lors d'uvéites [84]. L'IL-6, l'IL-8 et la MCP-1 ont été décrites comme régulées par le NF- κ B [85]. Le NF- κ B est retrouvé dans la plupart des types cellulaires et est impliqué dans la réponse cellulaire aux stimuli de même que les cytokines, les antigènes bactériens et viraux. De plus il joue un rôle central dans la réponse immune. L'IL-6 (cytokine) et l'IL-8 (chimiokine) ont été trouvés augmentés dans les liquides intraoculaires de patients atteints de toxoplasmose oculaire, d'uvéite virale, d'hétérochromieirienne de Fuchs, de maladie de Behçet et d'uvéites chez l'enfant [29], [86]. Une augmentation du taux sérique d'IL-8 a été retrouvée dans le groupe des uvéites intermédiaires actives et chez les patients atteints d'uvéites actives non infectieuses [87], [88].

- Le TGF- β correspond à un groupe d'isoformes de cytokines pléiotropiques incluant les TGF- β 1, - β 2 et - β 3. Elles sont structurellement et fonctionnellement similaires et ont des effets sur beaucoup de cellules dont les macrophages, les lymphocytes T et B. Pour les

lymphocytes T, le TGF- β inhibe la prolifération des lymphocytes T et supprime les lymphocytes T cytotoxiques. Dans l'œil, le TGF- β est présent à des taux élevés dans l'AqH et pourrait être impliqué dans le maintien du privilège auto-immun en inhibant l'activation des lymphocytes T médié par les antigènes. Les taux de TGF- β 2 ont été retrouvés augmentés dans les uvéites expérimentales autoimmunes et sont possiblement antagonisés par l'IL-6 ; c'est ainsi que le TGF- β 2 diminue l'inflammation une fois que les taux d'IL-6 chutent [29]. Le TGF- β 2 est une cytokine immunosuppressive importante pour les lymphocytes T CD8+ dans leur habilité à retarder le délai du début des uvéites expérimentales auto-immunes chez les rats, à réduire leur incidence et leur sévérité [89].

- L'IL-7 est un membre de la famille des IL-2 avec l'IL-2, IL-9, IL-15, et l'IL-21. Elle est produite par les cellules stromales des sites lymphopoïétiques. L'IL-7 est une cytokine immunorégulatrice qui induit l'expansion des précurseurs des lymphocytes T. Une augmentation de l'IL-7 a été montrée dans le développement de plusieurs maladies chroniques auto-immunes (arthrite juvénile idiopathique, psoriasis, arthrite rhumatoïde, spondylarthrite, syndrome de Sjögren) [90].

- L'IP10/ CXCL10 est sécrétée par diverses cellules (les monocytes, les cellules endothéliales et les fibroblastes) en réponse à l'IFN- γ . L'IP-10 est un chimioattractant pour les monocytes/macrophages, lymphocytes T, cellules NK et cellules dendritiques. Il promeut l'adhésion des lymphocytes T aux cellules endothéliales, l'activité antitumorale et les mécanismes d'angiogenèse. Un taux augmenté d'IP-10 a été trouvé dans les uvéites tuberculeuses [91].

- La chimiokine RANTES (CCL5) joue un rôle important dans la migration des lymphocytes effecteurs et mémoires pendant les infections aiguës. Dans les infections chroniques son rôle n'est pas bien compris. Il aurait une action en maintenant les réponses des lymphocytes T CD8 pendant les infections virales chroniques [92].

- La MCP-1 (CCL-2) recrute les monocytes dans les foyers d'inflammation active [93]. Les prostaglandines E2 ont un rôle dans l'attraction des monocytes vers le site d'inflammation et leur maturation en macrophages. Le MCP-1 injecté expérimentalement dans la peau arrive dans les nodules lymphoïdes de drainage où il est présenté à la surface des veinules endothéliales pour le recrutement des lymphocytes [94]. D'autres chimiokines sont impliquées dans le recrutement des monocytes/ macrophages dont RANTES [95]. Les taux d'ARNm pour le MCP-1, le MIP-1 et l'IP-10 ont été retrouvés augmentés lors de la phase initiale des uvéites antérieures expérimentales auto-immunes ce qui laisse penser qu'ils pourraient avoir un rôle dans le recrutement initial des cellules inflammatoires. Le taux de

RANTES est augmenté à la phase initiale des uvéites antérieures expérimentales ce qui implique qu'il s'agit d'un facteur d'amplification [96]

- L'IL-27 est l'un des membres de la famille des IL-1. C'est une cytokine immunorégulatrice importante impliquée dans la réponse immunitaire et le développement de l'inflammation comme cela a été montré récemment. Le récepteur à l'IL-27 est exprimé dans les monocytes/macrophages, cellules dendritiques, lymphocytes T et B, cellules NK et les cellules endothéliales [97]. L'IL-27 est une cytokine anti-inflammatoire importante pour la régulation de l'activation Th17. Lors des uvéites auto-immunes expérimentales, l'IL-27 inhibe les lymphocytes T uvéitogènes et supprime l'expansion des cellules Th17 dans la rétine [31].

- Le VEGF est augmenté en cas d'hypoxie par le biais de l'HIF-1 α qui est un autre facteur de transcription qui régule les gènes en réponse à l'hypoxie [98].

Tableau III. Résumé du rôle respectif de différentes cytokines, chimiokines et facteurs de croissance étudiés (voir également tableau XII).

cytokine	source	rôle notamment dans les uvéites expérimentales auto-immunes
IL-2	Th0, Th1, certaines CTL	Croissance des cell. T, stimule la croissance des NK, stimule croissance et synthèse de la chaîne J (lymphocytes B)
IFN- γ	Mo, T (Th1), NK	Pathogène [173] protecteur à un stade initial [174]. Active les NK.
IL-1 β	Mo, M Φ , T	Proinflammatoire [175], induction de Th17
IL-4	Th2	Activation, croissance IgG1, IgE, \uparrow de l'induction du CMH classe II, croissance survie des lymphocytes T, inhibe l'activation des M Φ , \uparrow croissance mastocytes
IL-5	Th2	Différenciation synthèse d'IgA (lymphocytes B), \uparrow croissance/différenciation des éosinophiles.
IL-6	Mo, M Φ , T, endothelial	Proinflammatoire, induction de Th17 [158]
IL-7	thymus et cell. stromales de la moelle osseuse	Développement des précurseurs des lymphocytes B et T.
IL-8	neutrophiles, endothélium, fibroblastes	Action sur les neutrophiles : chimioattractant, \uparrow phagocytose, dégranulation, explosion oxydative.
IL-9	T activés	Induction maturation des lymphocytes T et mastocytes.
IL-10	M Φ , T (Th2, Treg), B	Protecteur [177]
IL-12	M Φ , DC	Induction de Th1, requise pour l'induction des uvéites expérimentales, mais protecteur si administration précoce [56]
IL-13	Th2	Action similaire à celle de l'IL-4

IL-15	cell. épithéliales et monocytes	Action similaire à celle de l'IL-2
IL-17A	T CD4+, quelques CD8+ et lymphocytes T $\gamma\delta$, M Φ	Proinflammatoires : arthrite rhumatoïde, encéphalite expérimentale auto-immune, LED, psoriasis, Crohn, SPA
IL-21	CD4 ⁺ T, surtout TFH et Th17	Induit la production d'IgG (1) et IgG (3) in B-cells. Prolifération et maturation des NK (avec l'IL-15). Régulation de la prolifération des lymphocytes B et T en réponse à un stimuli. Contribuent à la réponse anti-virale par les CD4+ T helper ? Inhibition des DC pendant la réponse immune médiée par les lymphocytes T.
IL-23	cell. myéloïdes	Influence le développement des réponses T _H 17
TNF- α	T, Mo	Proinflammatoire, pathogène [179]
VEGF	cell.stimulant vasculogénèse et angiogénèse	Proangiogénèse, rupture barrière hématorétinienne
G-CSF	M Φ , cell. endothéliales, fibroblastes	Stimule la différenciation, prolifération et maturation de la lignée granulocytaire. Favorise la transformation des CFU-G (colony forming unit granulocyte) en polynucléaires neutrophiles.
GM-CSF	M Φ , T, cell. endothéliales, fibroblastes	Favorise la prolifération des cellules myéloïdes et leur différenciation. Il favorise la transformation des cell. souches myéloïdes en thrombocytes, polynucléaires neutrophiles, monocytes, M Φ , éosinophiles et basophiles.
RANTES	CD8+ cells	Chimioattractant et activateur des MO et lymphocytes T. Rôle dans la migration des lymphocytes effecteurs et mémoires pendant les infections aiguës. Dans les infections virales chroniques : il aurait une action en maintenant les réponses des T CD8.
MCP-1	M Φ . Détection dans les vaisseaux choroïdiens et rétiniens avec cell. endothéliales et cell. périvasculaires [Crane IJ et al, IOVS 2001].	Recrutement initial des MO et les cell. inflammatoires dans les foyers d'inflammation active (dont œil et SNC). Injecté expérimentalement dans la peau arrive dans les nodules lymphoïdes de drainage où il est présenté à la surface des veinules endothéliales pour le recrutement des lymphocytes. Chimioattractant et activateur des lymphocytes T.
MIP-1 α	Détection dans les vaisseaux choroïdiens et rétiniens avec cell. endothéliales et cell. périvasculaires (non dans	Chimioattractant et activateur des MO et lymphocytes T. Associé aux cell. endothéliales et la microglie. Associé aux exsudats acellulaires sous-rétiniens (résultats de lyse, fragmentation des photoR et fuite vasculaire) (McMenamin, Micron. 1993).

	les même cell. que MCP-1) [Crane IJ et al, IOVS 2001].	
MIP-1 β	M Φ , CD, lymphocytes	Chimioattractant et activateur des MO et lymphocytes T. Down-régulation de cytokines spécifiquement sécrétées par les L. T, comme l'IL-2 et l'IFN- γ avec altération de la balance Th1-Th2 dans l'arthrite rhumatoïde ; non montré dans l'EAU.
IP-10	MO, cell. endothéliales, les fibroblastes en réponse à l'IFN- γ .	Chimioattractant pour les MO/ M Φ , lymphocytes T, NK et DC. Promeut l'adhésion des lymphocytes T aux cell. endothéliales, l'activité antitumorale et les mécanismes d'angiogenèse.
PDGF-BB	cell. musculaires lisses, M Φ , cellules endothéliales, plaquettes	Action sur les fibroblastes et monocytes M Φ : augmentation prolifération et chimiotactisme des cell. inflammatoires et fibroblastes.
TGF- β	T CD4+	Inhibe la croissance des lymphocytes B. Facteur de commutation des IgA. Inhibe l'activation des M Φ . Active les neutrophiles.

CTL : cellule T cytotoxique ; Mo : monocytes ; NK : cellules NK ; M Φ : macrophages; T: lymphocytes T; DC; dendritiques; LED: lupus érythémateux disséminé; SPA: spondylarthrite ankylosante; \uparrow : augmentation ; CFU-G : colony forming unit granulocyte ; TFH : T follicular helper ; cell. cellules ; photoR : récepteurs ; UAE : uvéite expérimentale auto-immune.

II-7 : L'inflammasome dans les uvéites

L'inflammasome est un complexe multiprotéines qui contient la protéase, la caspase-1 qui clive l'IL-1 β et l'IL-18 en leur forme biologiquement activé. L'inflammasome est important dans la réponse à l'hôte envers de nombreux pathogènes microbiens.

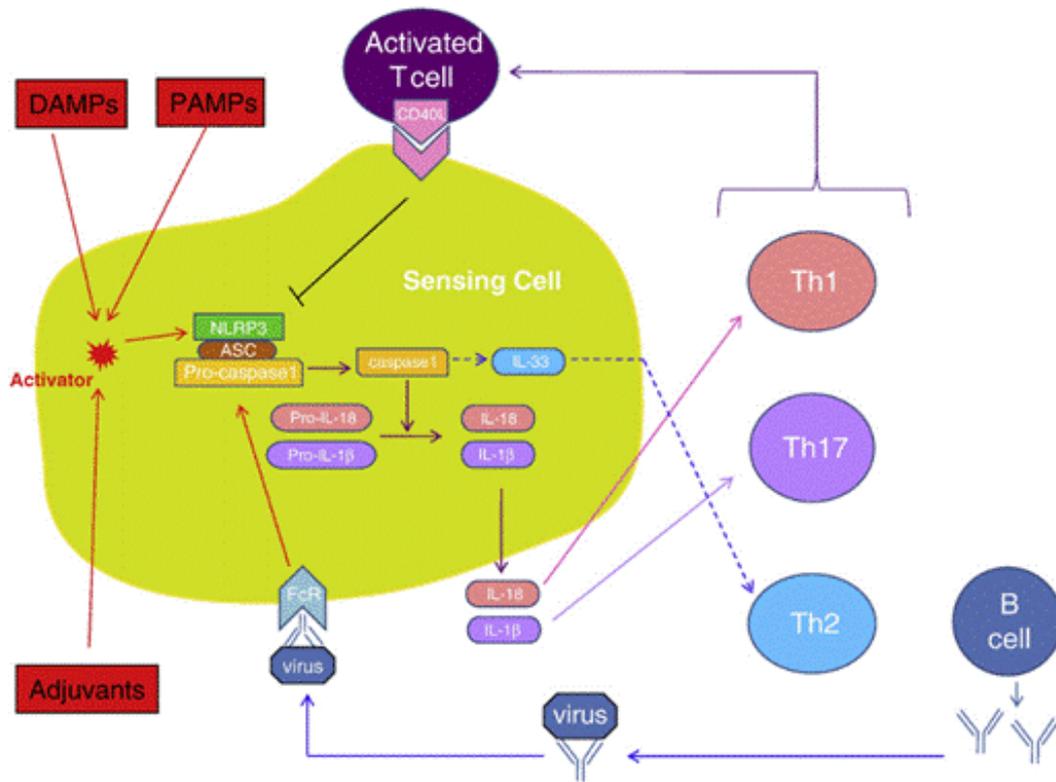


Figure 4 : Interaction entre NLRP3 dans l'inflammasome et l'immunité adaptative. D'après Chen et al., 2001 [99].

Les PAMPs, DAMPs et les adjuvants activent NLRP3 dans l'inflammasome et donc activent la caspase-1. La caspase-1 activée clive le pro-IL-1 β et pro-IL-18 pour produire l'IL- β et l'IL-18. L'IL-1 β est utile pour la différenciation des lymphocytes Th17 et l'IL-18 est important particulièrement pour la réponse Th1. Une régulation feedback par les lymphocytes T activés peut inhiber NLRP3 dans son action d'activation de l'inflammasome via un contact cellulaire médié par les ligands de la famille TNF exprimés sur les lymphocytes T (comme le CD40L, par ex.) (Fig.3) [99]. De plus, des anticorps spécifiques de virus provenant de lymphocyte B augmentent l'internalisation et phagocytose des virus et amplifient la production d'IL-1 β médiée par l'inflammasome NLRP3 [99].

Nous allons insister sur les objectifs de notre étude dans le chapitre suivant.

III. OBJECTIFS

Notre objectif principal est d'étudier les relations qui peuvent exister entre les aspects cliniques observés en imagerie optique adaptative et les mécanismes immunitaires impliqués dans les uvéites et ce, par le dosage des médiateurs de l'inflammation (cytokines et chimiokines) présents dans les liquides biologiques.

De plus, les taux des cytokines et chimiokines du sérum et de l'AqH chez les patients avec uvéites idiopathiques (sans cause retrouvée) nous permettront de définir si ces atteintes oculaires sont isolées ou font partie de maladies inflammatoires générales. Nous comparerons leurs profils immunitaires à des pathologies dont les mécanismes et les causes physiopathologiques sont mieux connues comme dans les uvéites de la maladie de Behçet, de la sarcoïdose ou les uvéites infectieuses parasitaires (toxoplasmose). Ceci nous amènera à définir le profil immunitaire des uvéites syphilitiques, jusqu'alors non étudié, et à envisager sa possible utilisation en tant groupe comparateur pour les infectieuses.

Une étude des aspects anatomique *in vivo* des atteintes inflammatoires du segment postérieur de l'œil par optique adaptative obtenus dans une cohorte de patients avec uvéites de diverses étiologies fera partie de ce travail. L'objectif étant de rechercher quels médiateurs de l'inflammation interviennent particulièrement chez les patients avec une vascularite rétinienne. Plus spécialement, l'intérêt d'associer l'outil d'imagerie par optique adaptative est

de détecter la présence de vascularites rétinienne plus spécifiquement et des modifications anatomiques inflammatoires accompagnant celles-ci au niveau rétinien.

Nous avons voulu vérifier chez ces patients atteints de vascularites rétinienne (de diverses étiologies) détectées en optique adaptative et chez une population de patients atteints d'uvéites idiopathiques avec vascularite ou non, les profils des cytokines et chimiokines dans le liquide intraoculaire.

En effet, la libération intraoculaire de cytokines et chimiokines a un rôle dans la pathogenèse et la persistance de l'inflammation oculaire. Il est raisonnable de penser que l'expression des cytokines et chimiokines est élevée au cours des uvéites idiopathiques, en particulier graves, et que leur profil hétérogène peut être en lien avec leur variabilité anatomique et clinique. Identifier les médiateurs chimiques clés (cytokines/ chimiokines) intervenant dans le mécanisme inflammatoire des uvéites idiopathiques pourrait constituer une aide pour tester les biothérapies à utiliser dans ces pathologies.

Les objectifs secondaires consistent, d'une part, à rechercher si les résultats biologiques permettent de définir des groupes homogènes de profils cytokiniques et chimiokines, et, d'autre part, si ces groupes correspondent à la présentation clinique des uvéites et la localisation anatomique de l'inflammation intraoculaire.

. Critères d'évaluation

Pour ce faire, des critères d'évaluation ont été classés en fonction de la fréquence d'implication des cytokines et chimiokines dans les uvéites.

Les critères primaires, concernent les taux des 5 cytokines/ chimiokines IL-1 β , IL-6, IL-8, MCP-1/ CCL2, TNF- α retrouvés dans l'AqH de patients atteints d'uvéites comparativement à ceux des sujets témoins.

Les critères secondaires concernent la détection, la quantification et la classification des autres cytokines/ chimiokines intraoculaires mesurées (IFN- γ , IL-12, IL-1 α , IL-2, IL-4, IL-5, IL-7, IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, IL-17, IL-21, IL-23, IP-10, éotaxine, FGF Basic, G-CSF, GM-CSF, MIP-1 α / CCL-3, MIP-1 β / CCL-4, PDGF BB, RANTES/ CCL5, TGF- β , VEGF) dans l'AqH de patients atteints d'uvéites en comparaison à des sujets de témoins.

Nous avons étudié les relations de ces cytokines/chimiokines (ou groupes de cytokines) avec des phénotypes cliniques : les uvéites intermédiaires (pars planite) et les uvéites postérieures (choriorétinite multifocale, choroidite ponctuée interne, choriorétinite serpigneuse et pseudo-serpigneuse, épithéliopathie en plaques, choriorétinite non infectieuse,

neurorétinite, vascularite rétinienne artérielle et/ ou veineuse) et en particulier lorsque les uvéites sont idiopathiques.

Nous avons également comparé ces cytokines/ chimiokines à la classification anatomique existante [critères de l'International Uveitis Study Group (IUSG) [5]] : (1) uvéites intermédiaires (pars planite) (2) uvéites postérieures (choriorétinite multifocale avec recherche négative pour la sarcoïdose ou la tuberculose, choroïdite ponctuée interne, choriochoroïdite serpiginieuse, choriochoroïdite pseudoserpiginieuse, épithéliopathie en plaques, rétinite non infectieuse, vascularite rétinienne artérielle et/ ou veineuse non infectieuse c'est-à-dire vascularite non secondaire à un désordre dysimmunitaire) et/ou panuvéites.

Nous avons détecté et quantifié ces mêmes cytokines/chimiokines intraoculaires en fonction de la localisation anatomique de l'inflammation active à type de hyalite (inflammation vitréenne), vascularite (inflammation des vaisseaux rétiens), choriochoroïdite (inflammation choroïdienne prédominante), rétinochoroïdite (inflammation rétinienne prédominante), oedème maculaire et papillite.

Nous avons détecté et quantifié des cytokines/chimiokines et facteurs de croissance sériques (parmi IFN- γ , IL12, IL-1R α , IL-2, IL-4, IL-5, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, IL-17, IL-21, IL-23, IP-10, MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β , éotaxine, FGF Basic, G-CSF, GM-CSF, PDGF-BB, VEGF, TGF- β) retrouvés dans les patients atteints d'uvéites idiopathiques (prélèvements réalisés dans le cadre du soin courant) et chez les sujets contrôles.

Enfin, nous avons détecté et quantifié ces mêmes cytokines intraoculaires selon l'existence d'affections dysimmunitaires diagnostiquées secondairement à distance des prélèvements.

IV. METHODOLOGIE DES ETUDES

IV-1. Matériel

La réalisation de notre étude implique de disposer d'un ensemble de prélèvements de sérum et d'humeur aqueuse de patients ayant une uvéite idiopathique.

Le but initial était d'inclure 240 patients, soit 120 patients atteints d'uvéites idiopathiques/ 120 contrôles, estimation faite sur un marqueur cytokinique, l'IL-1 β . Le calcul statistique a été réalisé par le service de Biostatistiques de l'URC, Avicenne, Paris XI. L'explication du type de calcul d'effectifs est le suivant, pour l'IL-1 β : pour une différence moyenne de 1 pg/mL avec un écart-type de 2 pg/mL, une puissance de 90% et un risque alpha global de 5% (1% pour chacune des 5 comparaisons afin de prendre en compte la multiplicité des tests selon la méthode de Bonferroni), il faudra inclure 120 cas et 120 sujets contrôles. Le taux de 1 pg/mL d'IL-1 β est le paramètre cytokinique pour lequel la plus petite différence est attendue entre témoins et patients. Cette différence a été estimée par rapport aux données de la littérature [28], [29].

Pour satisfaire le critère statistique il était prévu d'associer plusieurs services hospitaliers. En l'état actuel, nous ne disposons que des analyses qui ont pu être réalisées chez les patients que nous avons examinés à la consultation « Uvéites » du CHNO des Quinze-Vingts de juin 2012 à août 2016.

IV-1-1 Examens à réaliser pour le diagnostic chez les patients

Pour notre étude, nous avons donc défini une méthodologie et un protocole qui avaient été acceptés en première intention d'un PHRC interrégional et rédigés avec l'URC, Avicenne, Paris XI.

La méthodologie permettant d'éliminer une étiologie dans le cadre d'une uvéite intermédiaire ou postérieure sera ainsi la suivante :

En fonction de l'interrogatoire et de l'examen clinique réalisé par des ophtalmologues et des internistes, des éléments d'orientation cliniques seront décelés.

Tableau IV. Orientation diagnostique des uvéites par analyse sémiologique :

Antécédents médicaux	primo-infection tuberculeuse; néoplasies ; traitement en cours (rifabutine)
Antécédents ophtalmologiques	herpès
Origine géographique et ethnique	Vogt-Koyanagi Harada (VKH), Behçet, sarcôïdose
Âge de survenue, sexe	arthrite juvénile idiopathique (AJI) ; spondylarthrite ankylosante (SPA), Fiessinger Leroy Reiter (FLR), sarcôïdose, « birdshot »
Baignade en rivières, voyages récents	leptospirose
Notion de piqûre de tiques	borréliose
Contact avec des animaux	toxocarose, bartonellose, brucellose
infection de transmission sexuelle	syphilis, VIH, chlamydia (FLR)
Fièvre	tuberculose, brucellose leptospirose, rickettsioses, bartonellose
Signes dermatologiques	HSV, VZV, VKH, Lyme, syphilis, Behçet, psoriasis, sarcôïdose
Signes neurologiques	VKH, syphilis, sclérose en plaques, Behçet, borrélioses, leptospirose
Signes rhumatologiques	SPA, FLR, AJI
Signes pneumologiques	sarcôïdose, tuberculose
Signes urinaires associés à des arthrites réactionnelles	FLR
Signes digestifs	maladie de Crohn, maladie de Whipple

A ce stade, tout élément d'orientation devra être confirmé par des investigations complémentaires spécifiques suivantes :

Tableau V : Examens complémentaires orientés dans le diagnostic des uvéites :

Examens complémentaires	Étiologie recherchée
NFS, VS, IDR à la tuberculine, radiologiques : radiographie ou scanner thoracique sérologie VZV sang : TPHA-VDRL	tuberculose zona syphilis
sang : c-ANCA (Anticorps Anti-Cytoplasme des Polynucléaires Neutrophiles), créatinine, etprotéinurie, hématurie	granulomatose avec polyangéite
sang : facteur rhumatoïde	polyarthrite rhumatoïde
sang : facteurs anti-nucléaires, Ac. anti-DNA natifs	autres vascularites : PAN, LED, Horton, Takayasu, Churg-Strauss
sang : enzyme de conversion de l'angiotensine, bilanphosphocalcique, typage HLA, sérologies (bactériennes, virales)	sarcoïdose, SPA, psoriasis, Crohn, Behçet, polychondrite atrophiante, Lyme, goutte, chorioretinopathie à « birdshot »
± quantiféron	suspicion de tuberculose (IDR positive et/ ou interrogatoire et/ou radiographie)

L'indication de ce prélèvement intraoculaire d'AqH est dictée par des critères de sévérité de l'uvéite, à savoir : une acuité visuelle <5/10, une inflammation majeure du segment antérieur (cotation effet Tyndall 3+, membrane cyclitique) et au segment postérieur de l'œil, la présence des signes inflammatoires suivants : hyalite (ou inflammation dans le vitré), vascularite rétinienne, plages de nécrose rétinienne, œdème maculaire, décollement séreux rétinien, atteinte du nerf optique, occlusions vasculaires et/ou hypertension oculaire.

Une étiologie infectieuse aura été exclue du fait de l'aspect clinique (jugement par l'ophtalmologue uvéitologue quand l'aspect clinique est pathognomonique), l'examen général réalisé par un médecin interniste et par les examens biologiques selon l'expertise de l'uvéitologue (sérique et intraoculaire). Les étiologies infectieuses éliminées seront les suivantes : Lyme, toxoplasmose, toxocarose, syphilis, Whipple, virus HTL-V1, maladie des griffes du chat, rickettsiose, Herpes, Cytomegalovirus, Varicella Zoster Virus, tuberculose, chlamydie, leptospirose, dengue,....

IV-1-2 Choix de la population

- **Critères d'éligibilité**

- **Critères d'inclusion des patientsb:**

- patients d'âge ≥ 18 ans

- *Critères nosologiques (définissant le diagnostic de la pathologie) :*

- diagnostic clinique d'inflammation intraoculaire de localisation anatomique intermédiaire, postérieure ou panuvéite nécessitant un prélèvement d'AqH dans le cadre d'un soin courant pour éliminer une cause infectieuse c'est-à-dire une uvéite idiopathique grave.

- uvéite active à la visite d'inclusion définie par la présence des paramètres suivants dans au moins un œil : lésion chorioretinienne et/ ou rétinienne vasculaire inflammatoire active et/ou hyalite cotée à $\geq 1/2+$ (inflammation intravitréenne) (ou critères SUN, [5]), et uvéite aiguë (critères SUN, Jabs et al., 2005) soit un épisode inflammatoire intraoculaire caractérisé par un début brutal et une durée limitée (<3 mois).

- Critères relatifs aux traitements/ stratégies/ procédures :*

- patients non traités par voie générale lors du diagnostic initial d'uvéite active ou traités par corticothérapie orale (prednisone ou prednisolone) à une dose <10 mg/j,

- seules les uvéites au stade initial de découverte (non chroniques) seront incluses.

- **Critères de non-inclusion des patients :**

- uvéites chroniques (inflammation persistante avec récurrence dans les 3 mois après arrêt du traitement),
- patients en cours de traitement par corticothérapie systémique $\geq 10\text{mg/j}$, et traitement actuel ou passé par autre traitement immunomodulateur (mycophénolate mofétil, méthotrexate, azathioprine, cyclophosphamide, tacrolimus),
- patients recevant du collyre de cyclosporine,
- patients ayant été traités avec une biothérapie anti-TNF α ou autre thérapeutique d'agents biologiques (étanercept, infliximab, golimumab, abatacept, anakinra, rituximab, natalizumab, tocilizumab, efalizumab, certolizumab pegol, adalimumab...),
- patients traités avec des agents recombinants (y compris les médicaments intravitréens tels que les anti-VEGF),
- antécédent de chirurgie oculaire ou systémique de moins de 4 mois,
- implant intravitréen de dexaméthasone (Ozurdex®) moins de 6 mois avant l'inclusion. Corticothérapie intra-vitréenne ou périoculaire moins de 30 jours avant la procédure,
- sujets sous antibiotiques oraux, sujets diabétiques.

- **Critères d'inclusion pour les patients contrôles opérés de la cataracte:**

- accord de sujets contrôles opérés de cataracte pour prélèvement d'AqH et de sérum. Sujets contrôles : normalité de l'HbA1c ou pas de diabète connu, pas de traitement corticoïde et pas d'antibiothérapie orale ou topique moins de 30 jours avant la procédure, pas de glaucome connu ni de dégénérescence maculaire liée à l'âge. *L'accord du patient pour acceptation des procédures de l'essai pour les prélèvements et approuvé par le comité d'Ethique se trouve en Annexes.*

- accord de sujets contrôles opérés de cataracte pour prélèvement d'AqH en précisant au patient que cette étude utilise les volumes résiduels non traités au laboratoire. Ainsi, les prélèvements d'AqH utilisés ici pour les tests biologiques sont normalement éliminés lors de l'intervention chirurgicale.

Cent-vingt prélèvements d'AqH de sujets contrôles seront réalisés pendant la chirurgie de cataracte, au moment de l'incision. Il est à noter qu'il n'y a pas de modification de l'acte opératoire lié à cette procédure.

- **Explication aux sujets atteints**

Aucun prélèvement autre que strictement nécessaire pour le diagnostic de la maladie n'est effectué. Cette étude utilise les volumes résiduels du laboratoire qui sont prélevés pour le diagnostic étiologique. La signature d'une feuille de consentement éclairé pour les patients est systématiquement obtenue après explication orale. L'étude a été approuvée par le Comité d'Ethique de l'Hôpital St Antoine, Paris, protocole n°13934 ; Document en Annexe.

- Explication aux sujets contrôles

Cette étude utilise les volumes des liquides intraoculaires qui sont éliminés lors de l'intervention chirurgicale de la cataracte. La signature d'une feuille de consentement éclairé pour les sujets témoins est systématiquement obtenue après explication orale (cf. protocole n°13934 ; Document en Annexe).

IV-2. Méthode d'analyses biologiques (dosage de cytokines, chimiokines).

- **Principe du Luminex®**

Le Luminex™ est une technologie récente qui, fondée sur le principe de la cytométrie en flux, allie l'utilisation de microsphères fluorescentes et une double lecture après excitation par deux lasers. Actuellement, un panel de 100 billes renfermant un ratio différent de fluorescence rouge et orange peut être utilisé.

Ce système multianalytique ou multiplex est constitué d'un ensemble de microsphères et d'un cytomètre en flux à deux lasers. La puissance de ce système réside dans le fait qu'il est possible d'analyser simultanément jusqu'à 100 types de microsphères par puits (chaque type de microsphères étant reconnaissable par un code couleur différent selon sa fluorescence).

Selon l'application envisagée, les microsphères sont recouvertes soit d'un antigène, soit d'un oligonucléotide, soit d'un substrat si l'on veut respectivement révéler une liaison antigène-anticorps, une hybridation moléculaire ou une activité enzyme-substrat, après addition d'un révélateur marqué par la phycoérythrine qui donne une autre fluorescence.

- **Description du système**

Les microsphères

Ce sont des microsphères de polystyrène de 5,6µm de diamètre, marquées par incubation dans des bains renfermant un mélange de deux solutions fluorescentes. La solution fluorescente est piégée à l'intérieur de la microsphère. En variant la proportion des deux fluorochromes présents dans les bains, on obtient une gamme de 100 catégories de microsphères caractérisées par un code couleur selon l'intensité de la fluorescence émise par les deux fluorochromes dans leur spectre d'émission respectif. Chaque type de microsphère est représenté à part égale dans le mélange.

Le cytomètre

Il comporte un laser rouge à diode (633nm) et un laser vert (532nm), le laser rouge excite les fluorochromes à l'intérieur des microsphères, le laser vert excite la phycoérythrine. Classiquement, l'échantillon qui contient les microsphères est aspiré dans un liquide de gaine et les microsphères passent une par une devant les lasers (fig. 5).

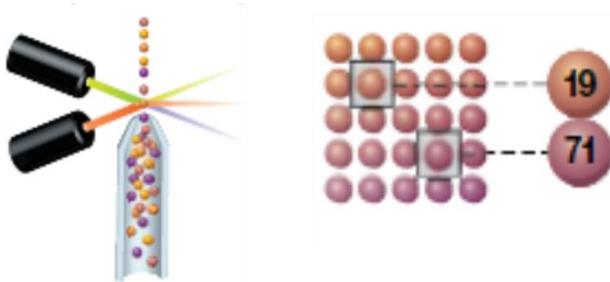


Figure 5 : Système Bio-Plex® : 100 billes différentes présentent un spectre de couleur rouge et infrarouge permettant le dosage de 100 analytes différents d'un même échantillon. Analyse de la réaction par le Bio-Plex Array Reader. La fluorescence est détectée par les lasers et les photomultiplieurs du Bio-Plex® : le premier laser excite le code couleur correspondant à une des 100 molécules proposées et le second laser permet la quantification de la cytokine à analyser (documents BioRad).

La sensibilité des microplaques de titration est effectuée par un dépôt d'une suspension de billes de spectres différents chacune portant un anticorps monoclonal anti-cytokine spécifique. Après incubation, les cytokines présentes dans les liquides biologiques vont se fixer sur leur anticorps spécifique. Après lavage, la réaction cytokine-anticorps est réalisée par addition de l'anticorps biotinylé spécifique de chaque cytokine. Après lavage, la réaction est révélée par l'addition d'une substance fluorescente, la phycoérythrine liée à la streptavidine (fig 6). La phycoérythrine est un fluorochrome émettant dans le vert qui, excitée à 532 nm, réémet à 575 nm.

La suspension de billes subit l'aspiration, puis le trajet dans une veine liquide du cytomètre. À la sortie, les billes sont excitées par un jeu de deux lasers, ayant chacun un rôle précis (Fig. 5) : le laser vert excite le fluorochrome. La fluorescence émise témoigne alors de la réaction en surface, et détermine la positivité de la réaction en fonction d'un seuil de fluorescence propre à chaque bille. La fluorescence émise par le fluorochrome reporter est détectée par un photomultiplicateur à la sortie de la veine liquide. L'intensité de la fluorescence émise étant proportionnelle à la quantité de cytokine présente dans le liquide biologique.

Le laser rouge à diode (633 nm) excite les fluorochromes incorporés aux billes de polystyrène émettant dans le rouge et infrarouge, correspondant au code couleur de chaque bille, et permettant l'identification précise de chacune.

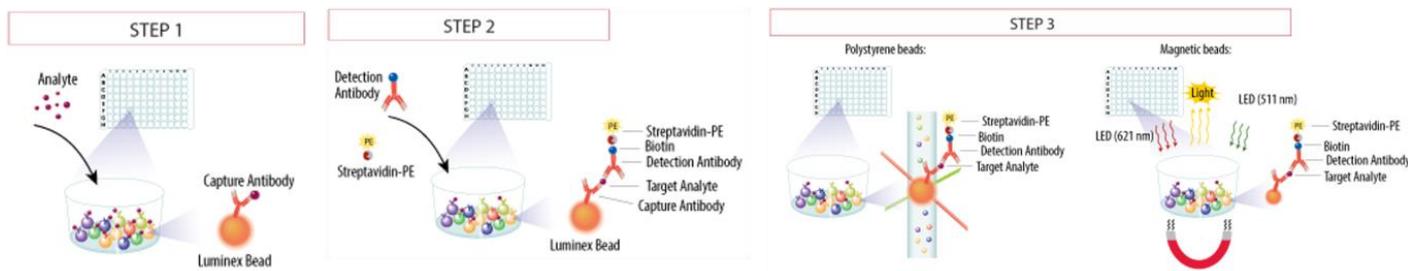


Figure 6 : Dosage des cytokines par Bio-Plex®. (Etape 1) Mise en suspension des billes. (Etape 2). Les billes avec l'anticorps de capture se lient à la cytokine spécifique. (Etape 3) L'anticorps biotinylé se lie à la cytokine ; La streptavidine-phycoérythrine se lie à la biotine et émet de la fluorescence.

IV-3. OPTIQUE ADAPTATIVE

IV-3-1 : Principe de l'optique adaptative

La caméra de cette technologie mesure et corrige les aberrations du front d'ondes avec une source diode lumineuse de 750 nm et un système de FIOA. Le front d'ondes perturbé est analysé ; le résultat de l'analyse commande les déformations du miroir déformable. En boucle fermée, le système de contrôle corrige les résidus au front d'ondes optimal. Une image vidéo en live de la pupille permet l'alignement de la pupille avec la lumière incidente. Pour l'imagerie, le fond d'œil est illuminé par une source de basse cohérence (diode émettant un rayonnement à 840 nm, proche de l'infrarouge). Cette longueur d'onde est choisie pour minimiser les phénomènes parasites (granularité laser). La lumière transmise par une fibre optique est réémise en front d'ondes. Un système télescopique constitué par des miroirs

sphériques de balayage (horizontal et vertical) assure le balayage point par point de la rétine. La lumière rétrodiffusée par la rétine emprunte le même trajet que pour l'éclairage jusqu'à la séparatrice. Elle est alors renvoyée par un miroir vers le photomultiplicateur.

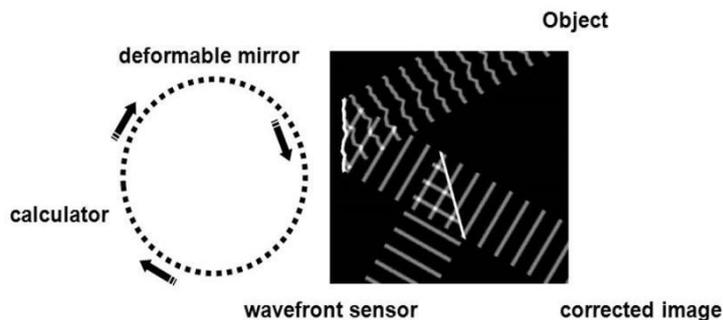


Figure 7 : Mécanisme de l'optique adaptative (remerciements F. Lacombe (LESIA))

IV-3-2 : Description du dispositif

L'AO FIFC (Adaptive Optics Flood Illumination Fundus Camera ou Caméra fond d'oeil à optique adaptative), modèle rtx1, est un prototype développé par la société Imagine Eyes®.

La caméra rtx est une caméra utilisant une illumination plein champ en infrarouge dont la lumière réfléchiée par le fond d'oeil est corrigée par un miroir déformable. L'image, mesurant $4 \times 4^\circ$, est capturée par un capteur CCD comprenant 1500×1500 pixels. Cette résolution est suffisante pour visualiser clairement les photorécepteurs (cônes) in vivo, les microvaisseaux et d'autres microstructures de la rétine. Les technologies actuelles d'imagerie en milieu clinique ne peuvent pas fonctionner au niveau cellulaire, là où débutent les maladies les plus courantes à l'origine de la cécité. Lors d'une procédure d'acquisition standard, avec ou sans dilatation, le fond d'oeil est illuminé pendant 4 secondes et 40 images brutes sont acquises; le logiciel de traitement d'image en sélectionne 10 qui sont moyennées pour fournir une image finale en environ 30 secondes. La répétition des acquisitions permet de cartographier toute structure d'intérêt située dans un cadre de $10 \times 15^\circ$ du centre (et en périphérie nasale pour ce qui concerne l'oeil droit). Le logiciel i2k permet ensuite de réaliser des alignements d'images pour le suivi longitudinal, ou des montages.

La FIOA a une grande capacité de correction d'aberrations oculaires. En plus, son système d'illumination, invisible des patients, minimise les réactions de réflexe qui dégradent la qualité des images tout en maximisant le confort de ces derniers.

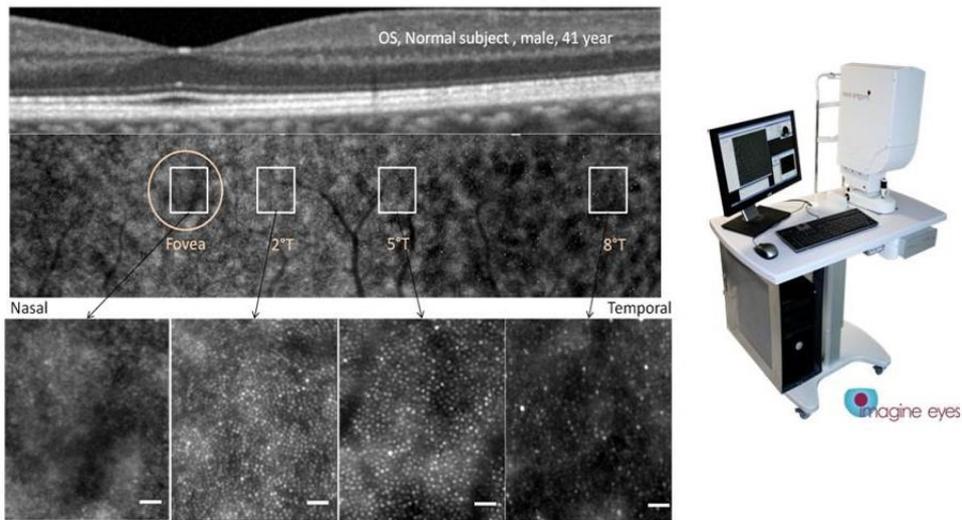


Figure 8 : Images en FIOA de cônes extrafovéolaires (Images Imagine Eyes®).

IV-3-3 : Applications de l'AO en Ophtalmologie

Le système de FIOA rtx1 permet d'étudier de multiples structures microscopiques fonctionnelles de l'oeil comme en témoignent des publications récentes:

- la bordure des lésions maculaires [100], avec les photorécepteurs (cônes) extrafovéolaires [101] et les oedèmes microcystiques [102],
- les structures artériolaires dont la lumière et la paroi des artéioles [103],
- les microanévrismes et les hémorragies microscopiques,
- les pores de la lame criblée [104] et les fibres nerveuses au bord du disque optique.

Notre équipe a parallèlement travaillé sur l'imagerie des vaisseaux rétiniens normaux et chez les patients hypertendus, ce qui a permis de montrer que la FIOA permet d'analyser de façon quantitative les structures microvasculaires rétiniennes en particulier la paroi vasculaire (Koch et al, 2014 ; équipe Pr Paques, CIC 1423 au CHNO).

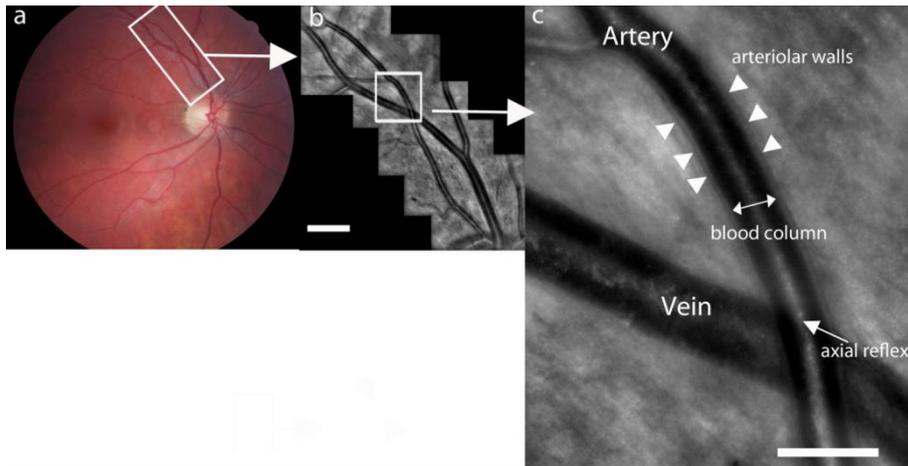
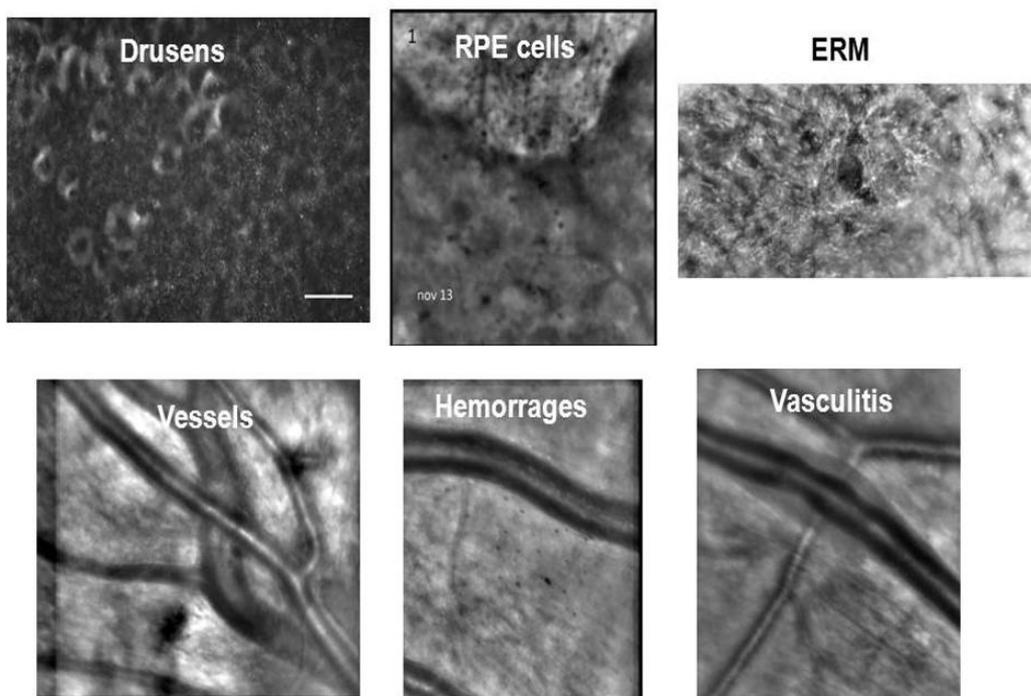


Figure 9 : Image en optique adaptative de vaisseaux rétiniens normaux. La paroi des vaisseaux rétiniens n'est pas visible dans le cas des veines mais elle l'est dans le cas des artères et artérioles. D'après Koch et al., 2015.



Figures 10 : Images en FIOA de drusen dans une dégénérescence maculaire liée à l'âge, des cellules de l'EPR, une membrane épirétiniennes, des vaisseaux rétiniens, des hémorragies rétiniennes, une vascularite rétinienne (dernière image issue de Errera et al., 2014 [105]).

IV-4. Plan d'étude

- Modalité de recrutement et de sélection de la population cible

Lorsqu'un patient se présente avec une inflammation intermédiaire ou postérieure présumée idiopathique au service des urgences ou à notre consultation « Uvéites » et qu'il nécessite un prélèvement d'AqH ou de vitré, les procédures suivantes sont réalisées :

- Recueil de l'historique médical et chirurgical

Visite en Médecine interne (examen par un médecin interniste) pour tout sujet atteint d'uvéite. Une histoire médicale et chirurgicale complète est relevée pour chaque sujet à la visite d'inclusion.

Un interrogatoire et un examen clinique centrés sur les éléments suivants : contage infectieux (herpès, syphilis, tuberculose, Lyme), contexte particulier (voyages, animaux...), signes pulmonaires, hématopoïétiques (adénopathies...), signes rhumatologiques, digestifs, cutanés, sphère ORL et génitale, signes neurologiques. Tout élément d'orientation est exploré à l'aide d'investigations complémentaires spécifiques quels que soient les résultats des examens complémentaires.

- Antécédents d'inflammation intraoculaire

L'interrogatoire réalisé à la visite d'inclusion retrace la date de début des signes, l'œil ou les yeux affectés, le type de pathologie, la nature du diagnostic, les antécédents infectieux, les cause de l'infection précédente (si applicable), les récurrences inflammatoires dans les mois et semaines passés, la date de l'inflammation la plus récente et le calendrier des thérapeutiques antérieures et actuelles.

- Examen clinique. Il consiste en :

- une mesure de l'acuité visuelle et prise du tonus oculaire ;
- un examen à la lampe à fente pour évaluer le degré de Tyndall (ou d'inflammation) de la chambre antérieure, l'aspect de précipités rétrodescémétiques granulomateux ou non, et la pseudophakie ou non ;
- un examen du fond d'œil pour l'évaluation des lésions inflammatoires chorio-rétiniennes, la présence d'une papillite, d'œdème maculaire, de vascularite rétinienne (veineuse et/ou artérielle), de la localisation et du nombre de lésions, de la taille et de la présence de lésions rétinienne/ choroïdiennes (actives ou non), de la gradation du score de haze vitréen grâce aux critères SUN (the Standardization of Uveitis Nomenclature) ;
- une imagerie chorio-rétinienne avec le Spectralis Heidelberg Engineering® pour l'autofluorescence et l'Optical Coherence Tomography (OCT) et en angiographie à la

fluorescéine et/ou au vert d'indocyanine (ICG), sera réalisée à la visite d'inclusion. Elle permet de mesurer l'impact de l'inflammation intraoculaire ainsi que la détection d'un œdème maculaire, d'une vascularite rétinienne, d'une papillite, de foyers rétiens, d'une choroïdite ;
 - une photographie en couleur du fond d'œil (Canon®).

C'est en cas d'absence de haze vitréen (ou hyalite), que nous avons montré l'importance de réaliser une imagerie par optique adaptative (Imagine Eyes®, France) au niveau du pôle postérieur rétinien pour détecter une vascularite active, celle-ci étant considérée comme révélatrice d'inflammation oculaire [105].

- **Examens complémentaires systématiques réalisés au titre du bilan d'uvéites intermédiaires, postérieures et panuvéites** (dictés par l'examen clinique ophtalmologique) :

Ces examens sont demandés systématiquement par l'ophtalmologue après son examen clinique. Certains examens complémentaires d'orientation pouvant être ajoutés après l'examen général par le médecin interniste. Les résultats sont consignés sur la fiche d'observation et sur les dossiers de l'hôpital.

Tableau VI. Liste des examens complémentaires dans le cadre du bilan étiologique des d'uvéites.

si uvéite granulomateuse (et uvéites non granulomateuses récidivantes) :	enzyme de conversion (ECA) + lysozyme sérique, IDR, sérologie des virus du groupe Herpes (HSV, CMV, VZV), sérologies TPHA, VDRL
---	---

Selon la localisation anatomique de l'inflammation :

diagnostic d'uvéite intermédiaire :	
-examens sanguins	sérologies TPHA-VDRL, Lyme ± Toxocara
-examens radiologiques	cliché pulmonaire ± TDM thorax
	si vascularite rétinienne présente : ponction lombaire (examen anapath.), IRM encéphalique, ANA, ANCA
diagnostic d'uvéite postérieure :	
-examens sanguins	hémogramme, sérologie toxoplasmose (si foyer rétinien évocateur), candidose (si contexte évocateur), toxocarose (si foyer rétinien évocateur), herpès viroses, TPHA-VDRL, groupe HLA A et B (A29 pour « birdshot » si examen clinique en faveur,

	B27, B51 pour maladie de Behçet), enzyme de conversion, lysozyme
-ponction lombaire	recherche de méningite lymphocytaire quand suspicion de VKH, Behçet ou lymphome
-examens radiologiques	cliché pulmonaire ± TDM thorax, IRM encéphalique
	si vascularite rétinienne (auto-immunité) : ANA, ANCA, anticoagulants circulants, Ac antimitocondries, facteur rhumatoïde

Sont prescrits des prélèvements intraoculaires chez les sujets présentant des signes d'inflammation intraoculaire grave définis comme : une AV <5/10 et une cataracte ou une opacité des milieux liée à un Tyndall >2+ et/ou hyalite >2+ et/ou synéchies irido-cristalliniennes ne cédant pas à l'instillation de collyre mydriatique et/ ou une atteinte rétinienne et/ou choroïdienne. Ces prélèvements permettent de rechercher en fonction du contexte clinique ophtalmologique et général les virus du groupe Herpes et de *Toxoplasma gondii* (coefficient de charge immunitaire et réaction en chaîne de la polymérase (PCR)).

Dans ces cas d'inflammation intraoculaire, l'imputabilité des agents infectieux : HSV, VZV, CMV, borréliose de Lyme, rickettsiose, bartonellose, syphilis, toxocarose, toxoplasmose est faite selon les éléments d'orientation clinique et sur la base des examens bactériologiques et mycologiques.

IV-5. Prélèvements

- **Traitement des prélèvements, transport et conservation de la collection biologique :**

Les prélèvements d'AqH et de sérum sont réalisés sur le site du CHNO des Quinze-Vingts dans un bloc stérile dédié aux prélèvements et injections intraoculaires. Les volumes résiduels non utilisés pour la recherche d'un agent infectieux et /ou néoplasie (*T. gondii*, *Herpes virus*, tuberculose, cytologie, rapport IL-6/ IL-10) sont adressés au Laboratoire pour analyse des cytokines/ chimiokines pour le protocole d'étude.

Pour les contrôles, les échantillons de sang et les prélèvements intraoculaires sont réalisés sur le résidu chirurgical pendant la chirurgie de la cataracte, pour les contrôles, au CHNO des Quinze-Vingts. Les échantillons (sérothèque, AqH) issus des prélèvements réalisés dans le cadre de cette recherche font l'objet d'une collection biologique.

Pour les examens sérologiques, le sang est prélevé dans un tube sans anticoagulant et envoyé au laboratoire du CHNO des Quinze-Vingts, centrifugé pendant 15 minutes à 4°C et le sérum congelé à -80°C.

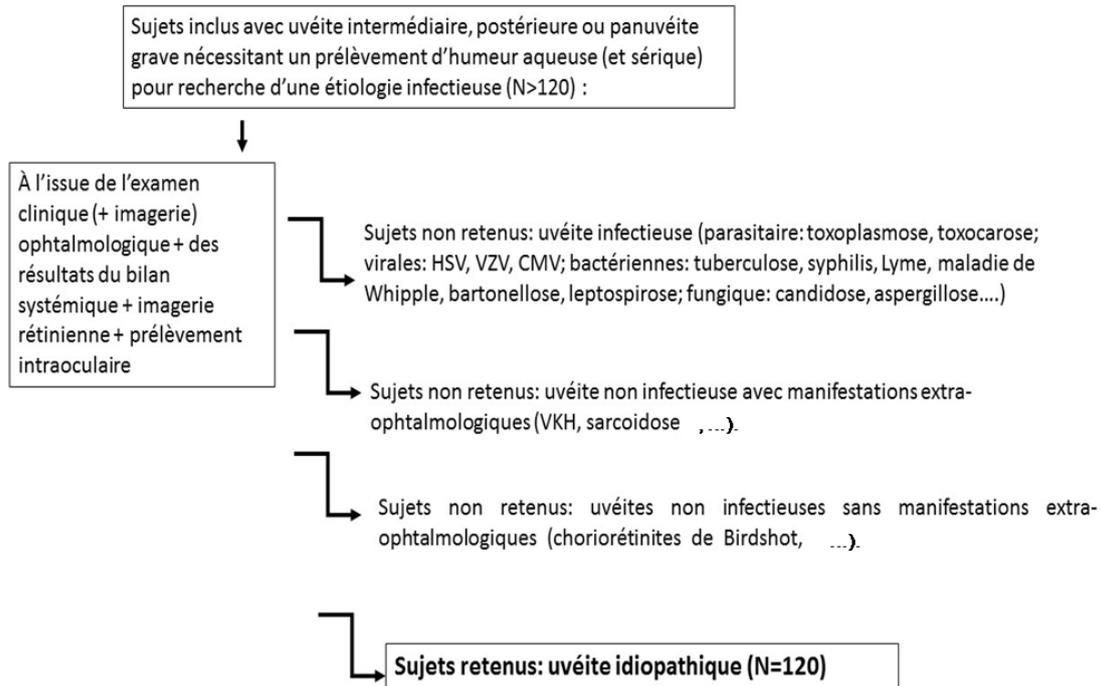
Pour d'autres dosages (tels que les recherches virales, sérologies...), les échantillons sont traités suivant les spécifications fixés par le laboratoire de biologie médicale du CHNO.

Les collections seront enregistrées selon les formalités classiques et seront conservées à -80°C. Les échantillons sont anonymisés et analysés.

- Procédure de prélèvement intraoculaire

Une méthode standardisée est utilisée pour les prélèvements d'AqH chez tous les patients [106]. Un prélèvement sous microscope est réalisé dans le segment antérieur de l'œil. Une anesthésie locale est pratiquée par instillation de 1% de tétracaïne et 0,4% d'oxybuprocaine trois fois à intervalle de 10 minutes. La surface oculaire et les paupières sont désinfectées à l'aide de povidone iodée et ensuite rincées avec 0,9% de NaCl après la pose d'un blépharostat. Un volume de 100-200 µL d'AqH est prélevé avec une aiguille de 27 gauge dans une seringue à tuberculine. Après le prélèvement, un collyre antibiotique est administré 3 fois par jour pendant 3 à 7 jours et un pansement appliqué pendant 12 heures. La procédure dure moins de 10 minutes. Les prélèvements sont aliquotés et conservés à -80 °C et décongelés immédiatement avant analyse biologique.

Schéma du déroulement :



- **Dosages des cytokines par Luminex**

La mise au point des tests de multidétection à billes dérivés de la cytométrie en flux a rendu possible la détection de multiples analytes à partir de microvolumes d'AqH (15-50 µL). Pour l'étude des cytokines dans les sites oculaires inflammatoires, la technologie Luminex® basée sur l'utilisation de microsphères fluorescentes et une double lecture après excitation par deux lasers a été validée [107]–[109].

- **Méthodes statistiques**

Les tests de Mann-Whitney et Wilcoxon ont été pratiqués pour comparer les variables continues. Les valeurs avec $p < 0,05$ ont été considérées comme significatives. Les analyses statistiques ont été utilisées en utilisant le logiciel GraphPad Prism version 7.0.

V. RESULTATS

Nos résultats concernent dans un premier temps la validation de l'optique adaptative dans les uvéites.

Une première étude a porté sur les vascularites imagées en FIOA car elles représentent la forme visible des uvéites, au niveau des vaisseaux. Après avoir déterminé pour la première fois l'aspect des vascularites associées aux uvéites en FIOA, nous étudierons ensuite les moyens de quantifier l'importance de l'inflammation vasculaire, le but étant de suivre l'évolution des caractéristiques anatomiques observées en FIOA.

Une deuxième étude a porté sur les résultats des médiateurs immunitaires de l'inflammation (cytokines, chimiokines) dans les uvéites. Après nous être intéressés aux patients témoins négatifs (patients opérés de cataracte sans uvéite), en vérifiant que la présence d'hémoglobine dans les résultats sériques et d'AqH ne modifient pas les valeurs biologiques trouvées, nous nous sommes concentrés sur les valeurs des marqueurs biologiques (cytokines, chimiokines et facteurs de croissance) chez les patients témoins positifs atteints de pathologies uvéitiques infectieuses (toxoplasmose, syphilis) ou non infectieuses (maladie de Behçet, sarcoïdose). Une partie de notre étude sera consacrée aux médiateurs de l'inflammation dans les syphilis oculaires afin de comprendre si leur mécanisme immunitaire s'apparente à celui des syphilis avec atteinte neurologique. Ces mécanismes immunitaires mis en jeu dans la syphilis avec atteinte purement oculaire ne sont jusqu'alors pas connus.

Nos recherches nous conduiront également à l'analyse des prélèvements sériques et d'AqH dans l'uvéite idiopathique, pathologie aux présentations cliniques diverses, dont l'étiologie est pour l'instant inexplicée. Une comparaison sera effectuée avec les médiateurs de l'inflammation trouvés chez témoins négatifs et positifs analysés précédemment.

Pour chaque pathologie d'uvéite étudiée, en fonction des résultats observés en FIOA, l'analyse de ces médiateurs immunitaires de l'inflammation dans les prélèvements sera discutée. Le but est de comprendre quelles sont les relations entre caractéristiques anatomiques observées en FIOA et les mécanismes immunitaires mis en jeu.

Logigramme de présentation des résultats :

- **Apport de l'Optique Adaptative dans les uvéites** (chapitres V.1 et V.II) : visualisation des structures vasculaires et aspects dans les vascularites rétiniennes.

Cette récente technique d'imagerie pourrait-elle être une aide à la recherche d'aspects cliniques particuliers dans les uvéites ? Y-a-il un lien entre les aspects cliniques retrouvés et les voies immunologiques en cause ?

- **Etude des cytokines/ chimiokines/ et facteurs de croissance dans les uvéites idiopathiques** (chapitre V.5) en comparaison avec les témoins dans uvéites (opérés de cataracte) (chapitre V.3), les patients avec uvéites d'autres étiologies : maladie de Behçet, sarcoïdose, toxoplasmose oculaire (chapitre V.4) et la syphilis (chapitre V.5).
- L'aspect en imagerie Optique Adaptative sera étudié pour chacune de ces pathologies uvéitiques à la fin de chaque sous-chapitre.

VALIDATION DU RECOURS A L'OPTIQUE ADAPTIVE DANS LES UVEITES

V-1. IMAGERIE DES VASCULARITES RETINIENNES EN OPTIQUE ADAPTATIVE

Cette étude de l'imagerie des vascularites rétiniennes en FIOA a fait l'objet d'une publication (Article 1).

Comme nous l'avons vu dans les généralités, les vascularites rétiniennes sont rencontrées dans de multiples pathologies : maladie de Behçet, sarcoïdose, maladie auto-immunes etc... ou restent idiopathiques.

Les vascularites rétiniennes sont diagnostiquées cliniquement. L'angiographie à la fluorescéine permet souvent de déterminer l'étendue, la sévérité de la maladie et les aspects cliniques dangereux. Par angiographie à la fluorescéine, l'intégrité de l'arbre vasculaire rétinien peut être étudiée en détail. C'est ainsi que le moindre signe d'inflammation rétinienne vasculaire qui interrompt les jonctions serrées endothéliales, permettant à la fluorescéine de pénétrer la paroi du vaisseau et les tissus perivasculaires, sera détecté avant même que l'inflammation soit visible cliniquement. En angiographie à la fluorescéine, une imprégnation des vaisseaux par le colorant et une fuite du produit de contraste par ces vaisseaux sont des signes classiques de vascularite rétinienne.

Notre objectif dans cette première étude, a été d'évaluer l'apport de l'imagerie en optique adaptative dans les uvéites postérieures car cet outil très récent en ophtalmologie permet de visualiser le nerf optique et les vaisseaux rétiens seulement si les milieux intraoculaires sont clairs. Nous avons donc observé les vaisseaux sanguins dans diverses étiologies d'uvéites lorsque celles-ci étaient actives et tout le long de leur suivi, qu'elles soient traitées ou non.

Notre étude de cas, concernait 3 patients atteints de vascularite rétinienne. Les diagnostics associés à la vascularite étaient la borréliose oculaire de Lyme (n = 2) et la tuberculose oculaire (n = 1). Tous les patients examinés en FIOA dans cette étude présentaient des milieux oculaires clairs et sans inflammation cliniquement visible dans le vitré et la chambre antérieure afin d'obtenir des images en FIOA analysables, non floues. Tous les patients ont eu un examen ophtalmologique standard, des rétinothographies couleurs, une angiographie à la fluorescéine et une imagerie infrarouge en FIOA (rtx1 camera, Imagine Eye, Orsay, France).

Les objectifs étaient d'évaluer les aspects anatomiques observés lors de l'inflammation oculaire, notamment au niveau des vaisseaux rétiens.

La caractérisation et le grade de l'inflammation intraoculaire a été définie de manière standardisée selon l'International Uveitis Study Group (SUN criteria) [5], cependant il n'existe pas de définition non ambiguë de la maladie "vascularite rétinienne"; les critères du "SUN" considèrent en tant que "vascularite rétinienne" toute altération des vaisseaux comme un engainement et/ou une fuite vasculaire.

Cliniquement, les engainement vasculaires observés lors de l'examen du fond d'oeil sont classiquement associés à une fuite des parois vasculaires à l'angiographie à la

fluorescéine, ce qui représente une altération localisée de la barrière hématorétinienne. L'angiographie rétinienne est donc utile pour déterminer l'activité des processus inflammatoires, cependant la sensibilité et la spécificité de cette technique d'imagerie ne sont pas encore connues.

Les modifications vasculaires réiniennes liées à ces engainements n'ont jamais été évaluées par FIO. Comme la FIO appliquée à l'examen des fonds d'yeux est très sensible pour détecter une perte de transparence rétinienne [110], nous avons émis l'hypothèse que les infiltrats inflammatoires autour des vaisseaux pourraient également être détectés. Nous avons donc décrit les caractéristiques des vascularites réiniennes, ce qui illustre la contribution de la FIOA pour caractériser et suivre l'évolution de ces pathologies.

En ce qui concerne les occlusions vasculaires réiniennes, les processus pathologiques précis sous-jacents aux occlusions vasculaires restent obscurs mais des études suggèrent que ce mécanisme pourrait être thrombotique ou oblitératif (lié à une infiltration inflammatoire intramurale). Si le mécanisme est thrombotique, il peut résulter d'une dysfonction ou d'une altération endothéliale, locale ou d'une tendance prothrombotique généralisée. Ces hypothèses causales sont celles proposées pour les mécanismes thrombotiques rencontrés dans la maladie de Behçet [111].

Des anomalies thrombophiliques ont été retrouvées comme fréquentes chez les patients avec vascularite rétinienne idiopathique et le tabac pourrait être un facteur contributif au développement des modifications réiniennes ischémiques chez ces patients [112]. Les occlusions réiniennes artériolaires sans inflammation vasculaire sont retrouvées dans la SEP et pourraient être dues à un dépôt de complexes immuns dans la lumière comme cela a été montré dans d'autres tissus, ou alors être secondaires à la liaison d'un anticorps dirigé vers une cellule endothéliale [113]. Une tendance à la thrombose ou aux embolies à partir d'une endocardite pourrait être également responsable. Bien qu'il n'existe pas de modèle animal spécifique pour les vascularites réiniennes isolées, Stanford et al. ont développé une vascularite rétinienne relativement spécifique chez le rat après inoculation systémique d'un antigène S rétinien [114]. L'observation histopathologique d'un infiltrat périveineux rétinien lymphocytaire correspond aux aspects retrouvés en angiographie à la fluorescéine (une fuite de la microvascularisation proche de celle vue chez les patients) et également aux aspects anatomopathologiques rencontrés dans les vascularites de la maladie de Behçet et les vascularites réiniennes isolées. Une inflammation des vaisseaux est grave car elle peut conduire à une sténose segmentaire, une occlusion, une dilatation et/ ou à une formation anévrysmale.

Article paru dans Ophthalmology, 2014

Errera MH, Coisy S, Fardeau C, Sahel JA, Kallel S, Westcott M, Bodaghi B, Paques M.
Retinal vasculitis imaging by adaptive optics. *Ophthalmology*. 2014;121(6):1311-2.e2.

Retinal Vasculitis Imaging by Adaptive Optics

Retinal vessels may be affected by inflammatory processes of various origins, usually within the context of uveitis. Retinal vasculitis can lead to vascular occlusion and/or rupture of the blood-retinal barrier, and therefore can be the cause of severe visual loss. Retinal vasculitis is usually defined by the presence of ophthalmoscopically visible whitish perivascular infiltrates. Veins are more often affected than arteries. Additional evidence of vascular inflammation is the staining of the vessel walls on fundus fluorescein angiography (FFA). However, the sensitivity and specificity of these diagnostic tests are unknown.

Adaptive optics (AO) is an optoelectronic technology first developed in astronomy that was later found to improve the lateral resolution of fundus images. This kind of imaging allows the visualization of microstructures of the retina such as photoreceptors and capillaries. We recently reported that AO imaging allows quantitative analysis of microvascular structures, especially measurement of arteriolar wall thickness.¹ To our knowledge, there has been to date no report of AO imaging eyes with retinal vasculitis. Because AO fundus imaging is a very sensitive method to map areas of loss of retinal transparency,² we hypothesized that inflammatory infiltrates around vessels may be detected as well. Herein, we describe the AO aspect of retinal vasculitis in 3 subjects, which illustrates its contribution for characterizing and monitoring this condition.

The research adhered to the tenets set forth in the Declaration of Helsinki, and approval of the local Ethics Committee (St. Antoine Hospital, Paris, France) was obtained. Each subject received full oral and written information and gave consent before inclusion. Color fundus photographs and scanning laser ophthalmoscope fluorescein angiography were performed using standard methodologies. Infrared AO flood imaging of the fundus (rtx1, Imagine Eyes, Orsay, France) using a protocol previously described¹

was performed by 2 experienced operators (M.H.E. and M.P.) in 3 eyes of 3 subjects diagnosed with retinal vasculitis. They were 1 woman and 2 men, whose age ranged from 29 to 56 years. Diagnoses were ocular Lyme borreliosis (n =2) and presumed ocular tuberculosis (n =1). All had clear media and no evidence of anterior chamber or vitreous inflammation.

Color fundus photographs, FFA, and AO images of each subject are presented in [Figures 1 to 3](#) (available at www.aaojournal.org). Color fundus photographs showed focal periphlebitis in all subjects. By FFA, all eyes had focal leakage of fluorescein and 2 eyes (cases 1 and 3) had foci of dye staining along major vessels. Although venous parietal structures are seldom seen in normal eyes, by AO imaging several foci of perivascular opacification were found in eyes with retinal vasculitis. These areas on both sides of the vessels were 20 to 100 μ m wide, several millimeters long, and had well-defined outer limits. The venous lumen often showed focal narrowing at these sites. In case 1, minimal fluorescein leakage colocalized with perivascular infiltrates seen by AO, although in all subjects, some areas of perivascular opacification seen by AO appeared normal on fundus photographs. In case 3, perivascular infiltrates disappeared after treatment.

Overall, we found that AO imaging significantly improved detection and characterization of retinal vasculitis compared with fundus photography and FFA. Indeed, AO imaging revealed infiltrates in segments of the vessels with no or minimal changes detected otherwise. Therefore, AO demonstrates that perivascular infiltrates may be more extensive than suggested by conventional imaging.

The pathophysiologic significance of paravascular opacification seen by AO may be either a paravascular cellular infiltration or a parietal thickening. In animal models of experimental autoimmune uveoretinitis, histology showed cellular infiltration corresponding with the perivascular opacification seen by funduscopy.³ In

1311

humans, histopathologic studies of Behçet's disease affected eyes have shown segments of mural inflammatory infiltration of retinal veins and perivascular space.^{4,5} Therefore, although in our cases AO could not resolve the venous wall, it is likely that opacified areas seen by AO were owing to paravascular cellular and/or fluid accumulation rather than parietal thickening.

Another interesting perspective of our study that AO imaging may identify subclinical retinal vasculitis, i.e., that is not detected by ophthalmoscopy or FFA. This may contribute to diagnostic optimization and workup of a variety of general inflammatory diseases. For instance, the presence of retinal vasculitis during multiple sclerosis is associated with a more severe form.⁶ Because AO imaging may also contribute to better understand the process leading to vascular occlusion, it may help to identify patient at risk of severe visual loss. We therefore conclude that AO imaging may be a useful tool for the detection, early diagnosis, and thus management of retinal vasculitis.

MARIE-HÉLÈNE ERRERA, MD¹

SOLÈNE COISY, MD^{1,4} CHRISTINE FARDEAU, MD²

JOSÉ-ALAIN SAHEL, MD¹

SOFIENE KALLEL, MD¹

MARK WESTCOTT, FRCOPHTH, MD³

BAHRAM BODAGHI, PhD²

MICHEL PAQUES, PhD¹

¹ Clinical Investigation Center 1423, Centre Hospitalier National des Quinze-Vingts, INSERM & Université Pierre et Marie Curie-Paris, Paris, France; ² Pitié-Salpêtrière Hospital, Université Pierre et Marie Curie-Paris, Paris, France; ³ Moorfields Eye Hospital, London, UK;

⁴ LUNAM University, Angers, Ophthalmology Department; Centre Hospitalier d'Angers, Angers, France.

Financial Disclosure(s): The author(s) have made the following disclosure(s): Michel Paques: consultant e ImagineEyes.

Supported by the Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (Contrat d'Interface 2011 for M.P.) and the Agence Nationale de la Recherche (ANR-09-TECS-009 and ANR-12-TECS-0015-03). The funding organizations had no role in the design or conduct of this research. ClinicalTrials.gov number, NCT01546181.

References

Koch E, Rosenbaum D, Brolly A, et al. Morphometric analysis of small arteries in the human retina using adaptive optics imaging:

relationship with blood pressure and focal vascular changes. *J Hypertens.*

2014;32:890–8.

Sarda V, Nakashima K, Wolff B, et al.

Topography of pararetinal whitening during acute perfused retinal vein occlusion by optical coherence tomography and adaptive optics fundus imaging. *Eur J Ophthalmol* 2011;21:653–6.

Copland DA, Wertheim MS, Armitage WJ, et al.. The clinical time-course of experimental autoimmune uveoretinitis using topical endoscopic fundal imaging with histologic and cellular infiltrate correlation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49: 5458–65.

Charteris DG, Champ C, Rosenthal AR, Lightman SL. Behçet's disease: activated T lymphocytes in retinal perivasculitis. *Br J Ophthalmol* 1992;76:499–501.

George RK, Chan CC, Whitcup SM, Nussenblatt RB. Ocular immunopathology of Behçet's disease. *Surv Ophthalmol* 1997;42:157–62.

Ortiz-Pérez S, Martínez-Lapiscina EH, Gabilondo I, et al. Retinal periphlebitis is associated with multiple sclerosis severity. *Neurology* 2013;81:877–81.

Reports

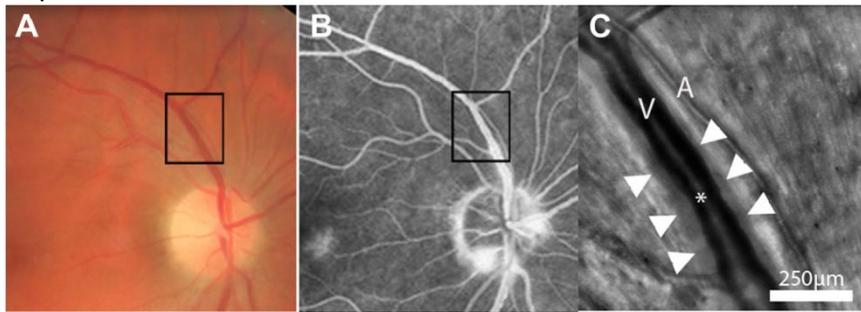


Figure 1. Case 1, a 52-year-old man with bilateral ischemic retinal vasculitis related to Lyme borreliosis. A, Color fundus photograph. B, Fluorescein angiography (FFA) revealing leakage from the disc and major temporal veins of the posterior pole together with extensive microvascular remodelling in the foveal area. C, Adaptive Optics (AO) imaging of the area indicated in panel A (A, arteriole; V, vein). Note the presence of perivascular opacification (arrows in C) suggestive of inflammatory infiltration, surrounding an area of focal venous narrowing (asterisks in C; bars, 250 µm).

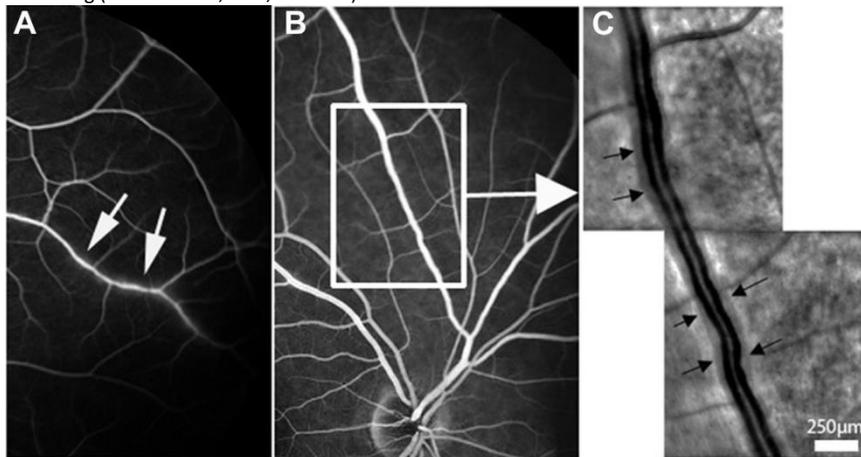


Figure 2. Case 2, a 29-year-old woman diagnosed with Lyme disease based on a history of tick bite and positive anti-Borrelia antibodies in serum. A, B, Fluorescein angiography (FFA) revealing peripheral retinal vasculitis in the right eye but not in the left (A). C, Adaptive optics imaging of the area indicated in B (in the midperiphery of the right eye) showed a loss of transparency along a venule (arrows), which had normal appearance on FFA (B; bars, 250 µm).

1312.e1

Ophthalmology

Volume 121, Number 6, June 2014

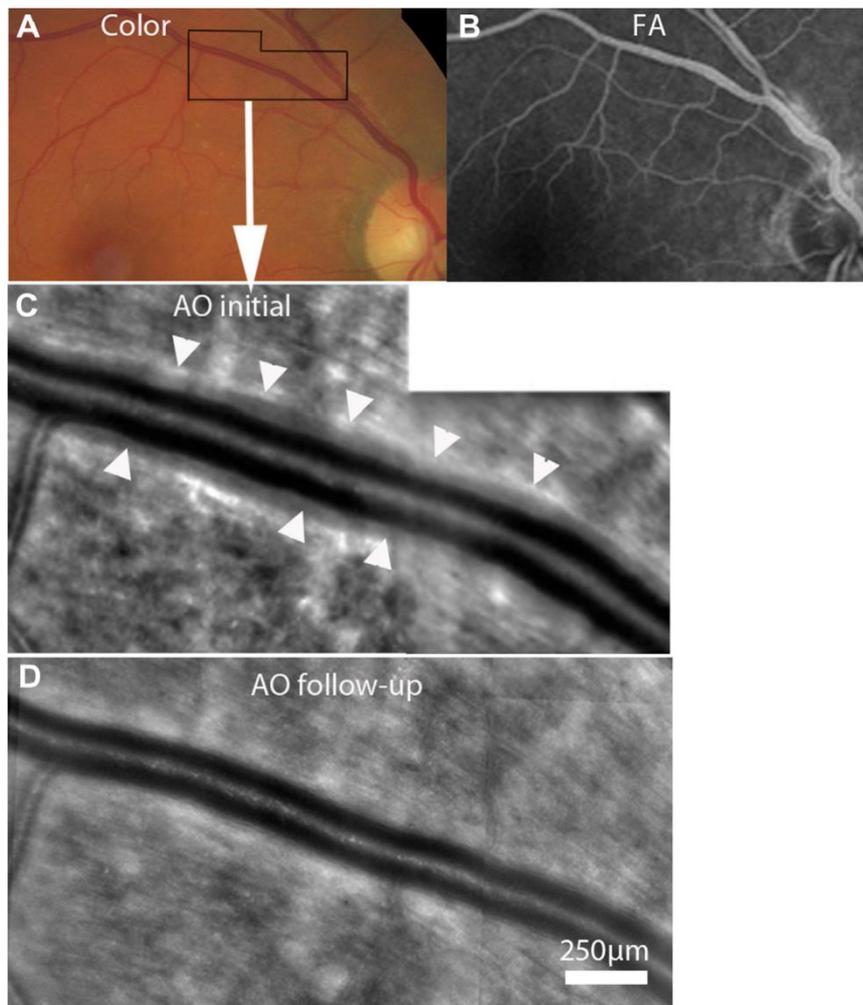


Figure 3. Case 3. Multimodal imaging of the fundus of a 56-year-old man with retinal vasculitis presumably related to tuberculosis. A, color photograph. B, Fluorescein angiography (FA) showing a focal leakage of fluorescein from a superotemporal vein adjacent to the disc. C, D, Composite Adaptive Optics (AO) Near Infra-Red (NIR) imaging of the area indicated in A, which corresponds to a distal site on the same leaking vessel. AO imaging showing a loss of transparency around the venule (arrowheads) without detectable dye staining on FFA. D, Three months after initiation of combined antituberculosis and corticosteroids treatment, AO NIR imaging showed the disappearance of perivascular infiltration.

- **Résultats**

Les rétinophotographies en couleur des 3 yeux inclus montraient un engainement vasculaire périphérique et des périphlébites focales chez un œil (cas de Lyme). En angiographie à la fluorescéine, tous les yeux avaient des foyers d'imprégnation de colorant le long des parois des vaisseaux majeurs et une fuite localisée de fluorescéine. Un patient présentait une fuite capillaire de fluorescéine, diffuse et au niveau du nerf optique. En FIOA, nous avons détecté dans les 3 cas ; plusieurs zones d'opacification périvasculaire, mesurant de 20 à 100 μm de large, sur une longueur de plusieurs millimètres, avec des contours bien définis, des deux côtés du vaisseau atteint. La lumière des veines montrait un rétrécissement focal dans ces zones. Chez ces patients, les zones d'opacification paraissaient normales sur les rétinophotographies et en angiographie. Des imageries séquentielles en FIOA ont été réalisées chez deux patients, 3 et 5 mois après l'imagerie initiale ; dans le cas de maladie de Lyme, la FIOA a montré une variation de l'apparance de l'infiltrat périvasculaire et du calibre veineux au cours du suivi, parallèlement au passage à la chronicité de l'inflammation malgré le traitement approprié. Dans le cas de tuberculose oculaire, le patient n'a plus montré de signes d'inflammation périvasculaire en FIOA au dernier examen de suivi après un traitement approprié. La rémission de la vascularite rétinienne a été observée de façon concomitante.

- **Conclusion**

Cette étude a été réalisée afin de déterminer si l'imagerie en FIOA pouvait être utile pour le diagnostic et la prise en charge des vascularites rétiniennes ; nous avons trouvé que la FIOA améliore la détection et la caractérisation des vascularites rétiniennes de façon significative. La FIOA, en effet, permet de détecter la présence d'infiltrats sur les segments vasculaires alors que ces aspects sont minimes ou peu détectés sur les rétinophotographies en couleur du fond d'œil et/ ou les angiographies à la fluorescéine. De plus, la FIOA a permis de mettre en évidence une extension des infiltrats périvasculaires plus importante qu'initialement suggérée lors de la réalisation de l'imagerie conventionnelle par angiographie. La signification de l'opacification périvasculaire et des rétrécissements veineux vus en FIOA pourrait correspondre à une infiltration cellulaire périvasculaire ou à un épaississement pariétal. Des précédentes études ont décrits la pathogenèse des vascularites rétiniennes accompagnant différents aspects clinico-pathologiques, cependant des études pathologiques

de patients ayant des vascularites rétiniennes sont rares et la plupart des rapports de la littérature concernent des modèles expérimentaux d'inflammation oculaire.

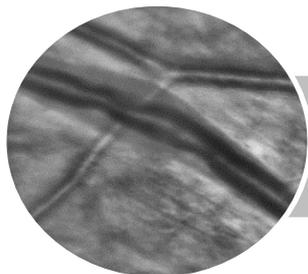
D'après notre étude, la FIOA pourrait être utile pour le suivi des vascularites rétiniennes sous traitement en répétant les images et en les comparant. Des variations d'infiltrats périvasculaires suggèrent des variations de l'activité de la maladie. En effet dans le cas de tuberculose oculaire dans notre étude, une résolution complète de l'infiltration périvasculaire a été observée en même temps que la guérison clinique. Dans le cas de maladie de Lyme, des fluctuations des rétrécissements veineux focaux ont été observées parallèlement au passage à la chronicité de la vascularite. Le degré de rétrécissement veineux pourrait être corrélé au risque de développer une occlusion veineuse. En effet, l'occlusion veineuse représente la complication la plus grave des périphlébites, ce qui peut entraîner une non-perfusion du flux d'amont et secondairement des néovaisseaux pré-rétiniens et/ ou des décollements de la rétine tractionnels. C'est ainsi qu'avoir un outil pour suivre le diamètre veineux rétinien pourrait aider les cliniciens à déterminer l'initiation d'un traitement anticoagulant ou à adapter un traitement à but anti-inflammatoire.

La perspective peut-être la plus intéressante de nos résultats est que la FIOA pourrait permettre d'identifier des vascularites rétiniennes infracliniques, même en l'absence de symptômes oculaires. Cela pourrait contribuer à une optimisation du diagnostic et à la détection de maladies inflammatoires générales, sans signes apparents cliniquement comme dans le cas de la SEP. Dans ces cas, une imagerie non invasive pourrait être préférable à la réalisation d'une angiographie à la fluorescéine avec ses risques allergiques. Il reste à déterminer à ce stade si la technologie par FIOA peut être utilisée pour graduer le stade de sévérité des vascularites rétiniennes et donc le suivi des patients. La largeur de l'infiltrat périvasculaire pourrait être considérée comme un critère d'évaluation de l'activité de la maladie car nous avons retrouvé des réductions et des augmentations de ces infiltrats en FIOA en fonction de l'activité clinique de la maladie.

Points forts de l'apport de la FIOA dans les uvéites

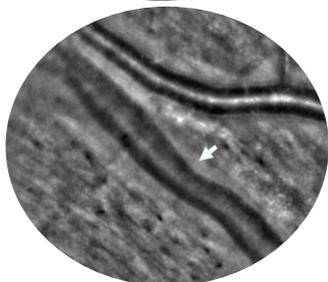
- Description des vascularites rétiniennes possibles en FIOA et parfois lorsque celles-ci ne sont pas vues en angiographie à la fluorescéine qui est la technique de référence.

Aspects en FIOA dans les uvéites:



opacité périvasculaire:

vascularite probable sous forme d'un manchon périvasculaire



rétrécissements vasculaires

V-2. ETUDE DU SUIVI DES VASCULARITES RETINIENNES EN OPTIQUE ADAPTATIVE

Cette étude de l'imagerie des vascularites rétiniennes en FIOA fait l'objet d'un article en phase de soumission (Article 2).

- **Objectif**

Notre travail a porté sur le suivi de l'évolution des vascularites rétiniennes par la mesure quantitative de leurs aspects cliniques en FIOA. Onze yeux de 11 patients différents ont été étudiés. Ceux-ci étaient atteints de diverses pathologies : chorioretinopathie de "birdshot" (n=3), rétinocoroïdite toxoplasmique (n=2), tuberculose oculaire, sclérose en plaques (SEP), syndrome d'IRVAN (ou aneurysm and neuroretinitis), borréliose oculaire de Lyme, chorioretinite syphilitique et vascularite rétinienne idiopathique (un cas, chacun).

Cette étude a permis également, en observant au niveau microscopique les vascularites *in vivo* dans ces multiples pathologies purement oculaires mais également systémiques associées, d'essayer de comprendre leur physiopathologie.

Article en cours de finalisation pour Ophthalmology :

Errera MH, Laguarrigue M, Rossant F, Sahel JA, Bodaghi B, Bestesty J, Paques M.

High resolution imaging of retinal vasculitis by flood illumination adaptive optics fundus imaging: a follow-up study

High resolution imaging of retinal vasculitis by flood illumination adaptive optics fundus imaging: a follow-up study

Marie-Hélène Errera^{1,2}, Marthe Laguarrigue³, Florence Rossant³, José-Alain Sahel^{1,2}, Bahram Bodaghi^{2,4}, Jonathan Benesty^{1,2}, Michel Paques^{1,2}

¹Quinze-Vingts hospital, INSERM-DHOS CIC 1423, Paris, F-75012 France, INSERM & Pierre et Marie Curie-Paris 6 University, France

²Département Hospitalo-Universitaire Sight Restore

³Institut Supérieur d'Electronique de Paris, 75006 Paris, France

⁴Ophthalmology department, Pitié-Salpêtrière Hospital, Pierre et Marie Curie-Paris 6 University, Paris. France.

Key words: retina, vasculitis, flood-illumination adaptive optics retinal imaging.

Corresponding author: Michel Paques michel.paques@gmail.com

ClinicalTrials.gov NCT0154618

Supported by the Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (Contrat d'Interface 2011) and the Agence Nationale de la Recherche (ANR-09-TECS-009 and ANR-12-TECS-0015-03). The funding organizations had no role in the design or conduct of this research.

Financial disclosure: none

Purpose: To document perivascular sheathing during the course of retinal vasculitis by infrared flood illumination adaptive optics (FIAO) imaging.

Design: Retrospective case series.

Participants: Eleven eyes of 11 treatment-naïve patients with posterior uveitis of 8 different etiologies associated with retinal venous sheathing.

Testing: Perivenous sheathings and venous diameters were quantitatively analyzed by semi-automatic segmentation of FIAO images (rtx1, ImagineEye, Orsay, France).

Main outcome measures: Change over time of the width of perivenous opacification, of vessel diameter and correlation to clinical course.

Results: At initial examination, the peak width (mean \pm SD) of perivenous opacification was $92.7\mu\text{m}$ (± 46). In 8 cases, the underlying vein showed focal narrowing (mean \pm SD relative narrowing, $13\% \pm 10\%$). Systemic treatment was initiated in 10 patients. The median interval between FIAO sessions was 2.5 months (range: 0.2- 24 months), and the mean follow-up was 6.5 months (± 5.6). Overall, in parallel with clinical response, there was a significant thinning of vascular sheathing (average width $93\mu\text{m} \pm 56$ versus $23\mu\text{m} \pm 15$; $p=0.003$). Vessel diameters, on the opposite, showed no clear correspondence with the clinical severity of ocular inflammation. In 4 cases, it was observed that the thickness of perivascular sheathing temporally and spatially correlated with deformation of adjacent axons and vessels.

Conclusions: FIAO imaging is of interest to identify, quantify and monitor perivascular sheathing during the course of vasculitis. Focal venous or arterial narrowing at site of sheathing may be of compressive nature, suggesting that focal compression may participate to inflammatory occlusion of the veins and/or arteries. FIAO may therefore be of interest for understanding the local complications of vasculitis and characterizing the early response to therapy, which may help to improve the monitoring of the therapeutic armamentum.

Précis

In a cohort of patients with retinal vasculitis, flood-illuminated adaptive optics imaging was used to monitor the longitudinal changes of vascular sheathing and vessels diameter.

Introduction

Retinal vasculitis may occur either as isolated or in association with various inflammatory diseases affecting the eye. Ophthalmoscopic presentations of retinal vasculitis combine vascular sheathing and focal fluorescein leakage. It affects more frequently veins than arteries. It may be associated with inflammatory diseases involving the central nervous system, most notably Behcet's disease, sarcoidosis, systemic lupus erythematosus ('vaso-occlusive retinopathy') or multiple sclerosis (MS). Retinal vasculitis may lead to severe visual loss, either because of the complications of vascular obstruction which can lead to capillary non perfusion and development of pre-retinal new vessels and/or tractional detachment, or macular edema due to blood-retinal barrier rupture.

Much remains to be known about the clinical and pathologic features of retinal vasculitis and the mechanisms leading to visual loss. In experimental retinal vasculitis, paravascular cellular infiltrates consist of a variable association of macrophages, T cells and CD45+ leucocytes.¹ They may co-localize with areas of leakage on fluorescein angiography (FA)^{2,3}

suggesting a causal relationship. In humans, segmental perivenous lympho-plasmocytic infiltration has been documented in Behcet's disease, multiple sclerosis (MS) and idiopathic retinal vasculitis.⁴⁻⁸ However, the specific mediators involved in perivascular infiltration remain elusive and a detailed time-course of vascular infiltrates has not been reported.

Given the diagnostic and prognostic value of retinal perivascular sheathing, it would be of clinical interest to better identify, quantify and monitor retinal vasculitis. In experimental uveitis, grading systems based on fundus imaging¹ or OCT² have been proposed but havenot been applied yet in humans. As a result, there is no standard procedure for the grading of human vasculitis.

Adaptive optics is an optoelectronic technology which improves the lateral resolution of fundus images, allowing quantitative analysis of microvascular structures.^{9,10} Accordingly, we recently reported that flood-illumination adaptive optics (FIAO) imaging allows highly sensitive detection of paravascular infiltration characteristic of retinal vasculitis.¹¹ By FIAO, vascular sheathing appears as fusiform or linear opacities on both sides of vessels, often co-localizing with focal vascular narrowing. We also reported a case of regression of sheathing under treatment, suggesting that FIAO may be useful for monitoring treatment. Here, using a modified version of our semi-automated software designed for morphometric analysis of arterioles, we quantified the extent of vascular sheathing and monitored its evolution. Our objective was to quantitatively explore the changes over time of the manifestations of retinal vasculitis.

Material and Methods

This retrospective study adhered to the tenets set forth in the Declaration of Helsinki, and approval of the local Ethics Committee (St Antoine hospital, Paris, France) was obtained. Inclusion was proposed to treatment-naïve patients with retinal vasculitis of different etiologies and idiopathic and clear ocular media. Retinal vasculitis was identified by the presence of typical vascular sheathing and/or by foci of fluorescein leakage. All cases were reviewed by a senior uveitis specialist (MHE). Each subject received full oral and written information and gave consent prior to inclusion. Part of the data from two patients (cases 6 and 9) has been previously reported.⁹ Follow-up was customized according to each case's needs.

Color fundus photographs, scanning laser ophthalmoscopy and FA were performed at the Quinze-Vingts Hospital using standard procedures. FIAO imaging was done with a

commercially available FIAO camera (rtx1™ camera; Imagine Eyes, Orsay, France; illumination wavelength 850 nm; field of view 4° x 4°) using a previously described procedure.⁹ Briefly, *en face* FIAO fundus images were obtained through dilated pupils (1% tropicamide; Novartis, France). An external target guiding the fellow eye allowed navigating along large vessels up to approximately 25° from the disc. Because of the asymmetric configuration of the camera, only the right eye could undergo such exploration. Perivascular cuffs were systematically searched for by moving the external target in order to navigate along the temporal vessels. When a vascular abnormality was identified on the live fundus display, a stack of images (40 images in 4 seconds) was acquired and automatically processed using the built-in software of the FIAO camera (AO image 2.0). On average, one to three averaged images per minute could be taken.

Selected images were automatically segmented using a custom software running under Matlab (Mathworks, Natick, Massachusetts, USA).¹² Briefly, after detection of the axial reflex of vessels, the external and internal walls of the perivascular cuff were simultaneously detected using an original tracking procedure to cope with deformation along vessels. Then, their positioning was refined using a deformable model embedding a parallelism constraint in order to control the distance of the curves to their reference line and improve the robustness to image noise.¹² From this segmentation, the lumen and the sum of the width of the perivascular sheathing on both sides were extracted along a vascular segment 500 to 1000 μm long (Fig 1). At sites of vascular narrowing, the relative narrowing was calculated as the ratio of minimal diameter over the average of upstream and downstream diameters. The whole procedure was done under human supervision, and inadequate segmentations were discarded.

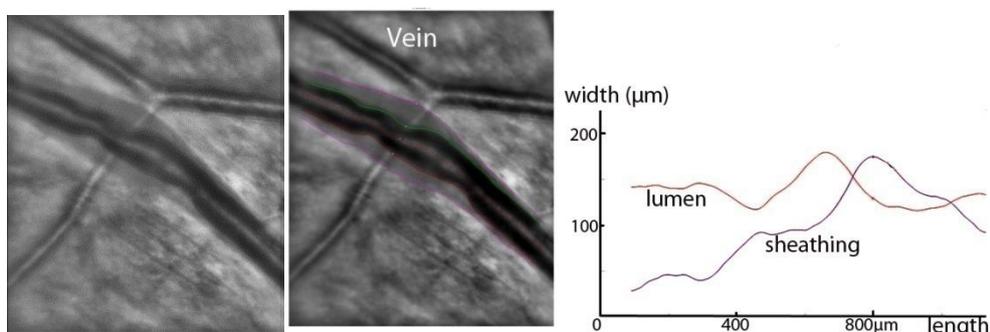


Figure 1. FIAO images of periphlebitis. Left, segmented FIAO image. Right, morphogram showing the variations of lumen diameter (red curve) and perivascular cuff width (violet curve) (case 8).

Results

We reviewed twenty cases of uveitis with retinal vasculitis seen in our department who underwent AO imaging between June 2014 and December 2015. Images were then examined by three of us (JB, MHE and MP). The presence of perivascular sheathing was assessed. Images showing acceptable contrast were selected for morphometric analysis. Nine cases were rejected because of a poor contrast of vascular sheathing. Eleven eyes of 11 consecutive subjects (8 women, 3 men; mean age, 42 years) were included. Diagnoses included birdshot chorioretinopathy (n=3), toxoplasmic retinochoroiditis (n=2), ocular tuberculosis, MS, idiopathic retinal vasculitis, aneurysm and neuroretinitis (IRVAN), ocular Lyme borreliosis, syphilitic chorioretinitis and idiopathic retinal vasculitis (one case each). Their mean duration of visual symptoms was 7.8 months (range, 1-20). None was treated by anti-inflammatory treatment at time of first examination in our department. Their clinical characteristics are summarized in Table 1.

Case	Age/sex	Diagnosis	Duration (months)	Visual acuity	Peak venous sheathing (diameter μm)	Maximal venous narrowing (%)	Peak arterial sheathing (diameter μm)	Maximal arterial narrowing (%)
1	65/F	birdshot	8	20/30	+ (90)	+ (15)		
2	26/F	birdshot	4.5	20/25	+ (35)	+ (5)		
3	56/F	birdshot	8	20/40	+ (80)	+ (20)		
4	28/F	toxoplasmosis	1	20/32	+ (88)	+ (4)		
5	25/F	toxoplasmosis	2.5	20/32	+ (66)	+ (4)		
6	58/M	TB	1	20/25	+ (90)			
9	52/M	Lyme	12	20/40	+ (110)	+ (20)		
10	35/M	syphilis	5	20/50	+ (45)			
7	35/F	MS	11	20/40	+ (99)	+ (9)		
8	44/F	IRVAN	4	20/20	+ (111)	+ (24)	+ (98)	+ (NR)
11	44/F	idiopathic	20	20/25	+ (225)	+ (28)	+ (66)	+ (25)

Table 1. Clinical characteristics of patients (IRVAN: Idiopathic retinal arteritis, vasculitis, aneurysms and neuroretinitis, toxo: toxoplasmosis; TB: tuberculosis, MS: multiple sclerosis)

Mean (\pm SD) width of perivascular opacification was 92.7 (\pm 46) μm . The length of perivascular opacification ranged from 250 μm to several millimeters. At sites of sheathing, focal narrowing of veins was observed in 9 eyes; the degree of venous narrowing relative to adjacent areas ranged from 4 to 28% (mean, 14%) in 9 eyes. Focal narrowing of arteries was also present in one eye (25% of narrowing) and arterial dilatation at the site of macroaneurysm in the IRVAN case (54% of enlargement). An example of perivascular opacification and vein narrowing imaged by FIAO is shown in Fig 2. Representative examples of segmented FIAO images are shown in Fig 3.

A relationship was found between leakage of vessels on fluorescein angiography and vascular sheathing of the same area on FIAO in 7 out of 11 eyes (63%). Seven eyes (63%) showed perivenous sheathing in areas with no detectable abnormalities on fundus photographs or on FA (Fig 4). On the opposite, all areas showing fluorescein leakage showed perivascular sheathing (Figs 5 and 6). More than one area of sheathing was observed in 5 eyes.

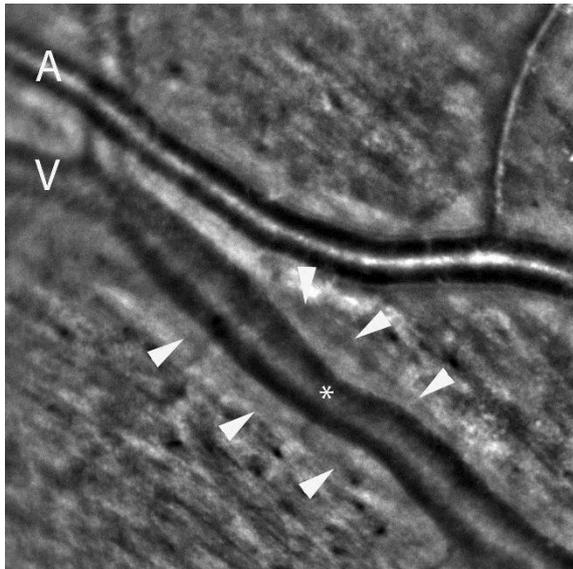
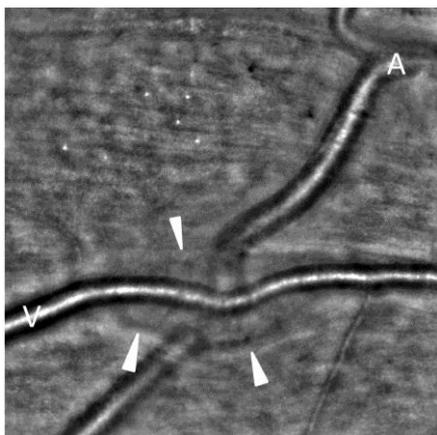


Figure 2: FIAO imaging: example of birdshot chorioretinopathy with vein sheathing (arrowheads) and focal narrowing (asterisk) (case 3).



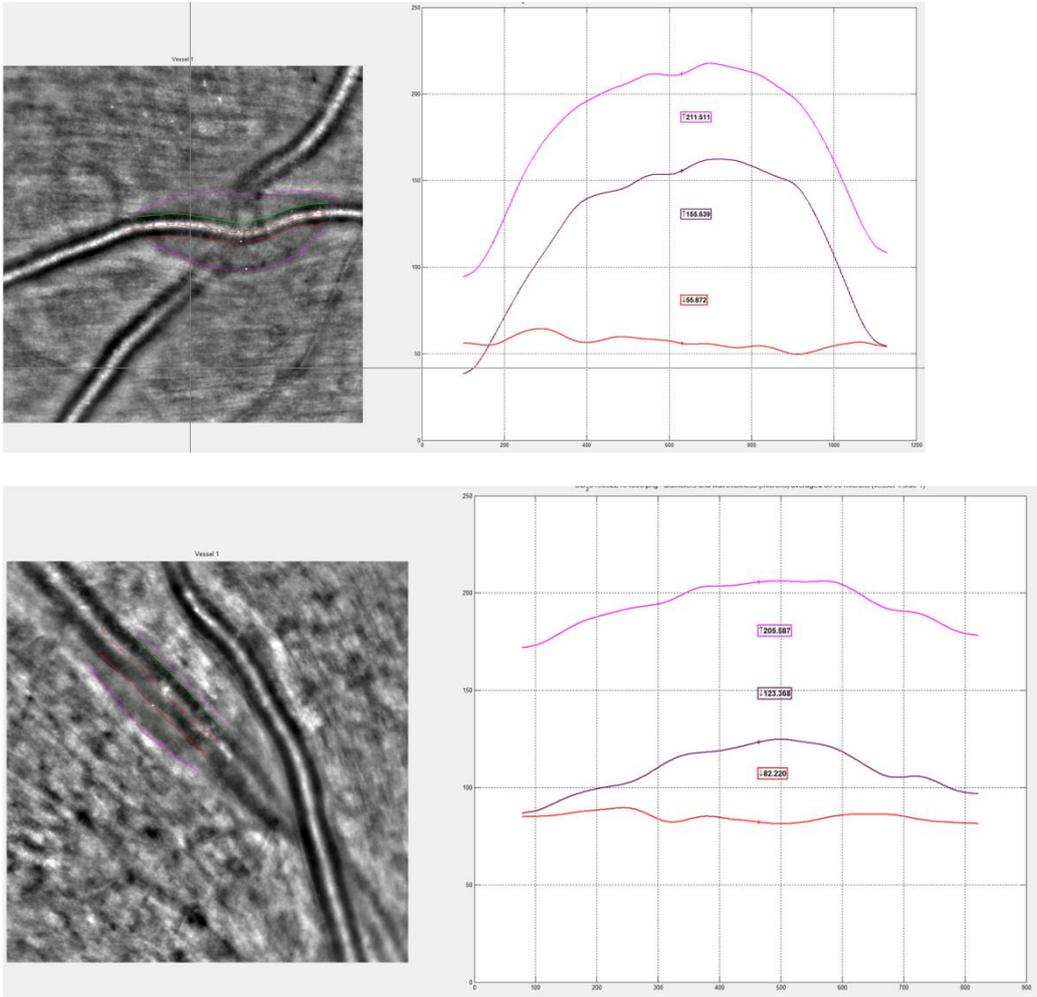


Figure 3. FIAO images of periphlebitis. Bottom, segmented FIAO image. Right, morphogram showing the variations of lumen diameter (brown curve) and perivascular cuff width (red curve). Cases not in study.

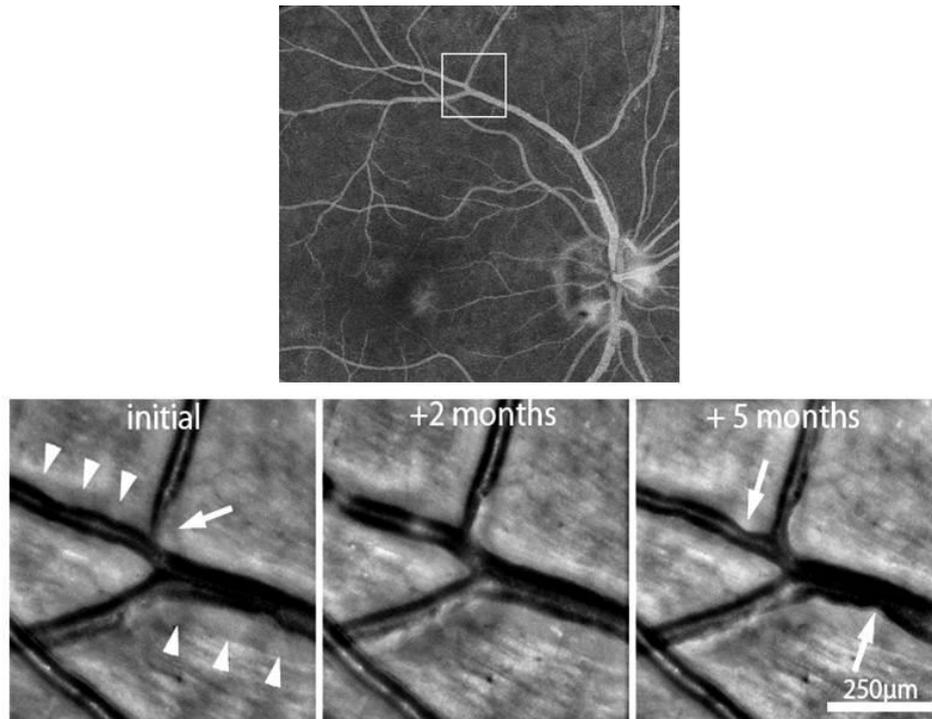


Figure 4. Patient 9 (ocular Lyme borreliosis). FA at baseline: no detectable fluorescein leakage in the area enclosed by the square. FIAO imaging: follow-up of venous sheathing (arrowheads) and narrowing (arrows) along the superotemporal vein in a case of Lyme's disease. Note the fluctuations over time of focal narrowings (arrows).

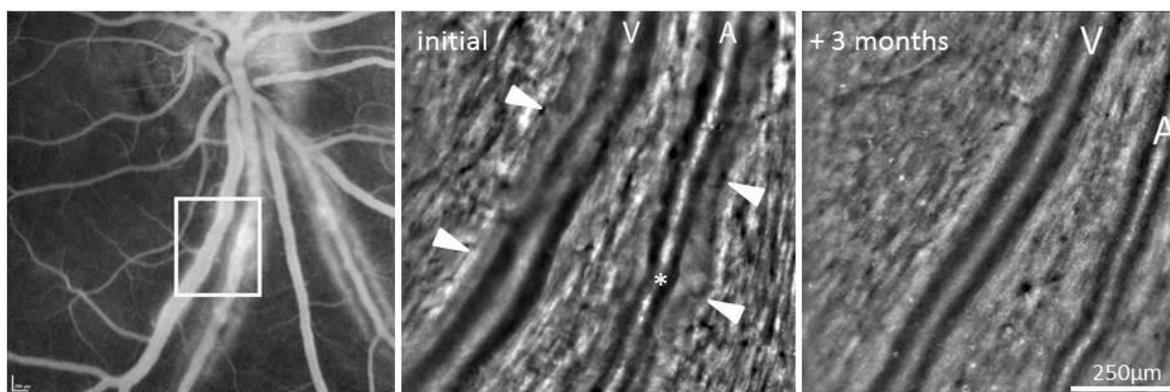


Figure 5: Patient 8 (idiopathic retinal vasculitis). FA at baseline: diffuse leakage of veins and retinal arteries (area enclosed by the square). FIAO imaging showing loss of transparency around the vein and the artery suggestive of an inflammatory infiltration. (c) After 3 months of oral corticosteroids, FIAO imaging shows regression of perivascular infiltrates. Note also the widening of the artery.

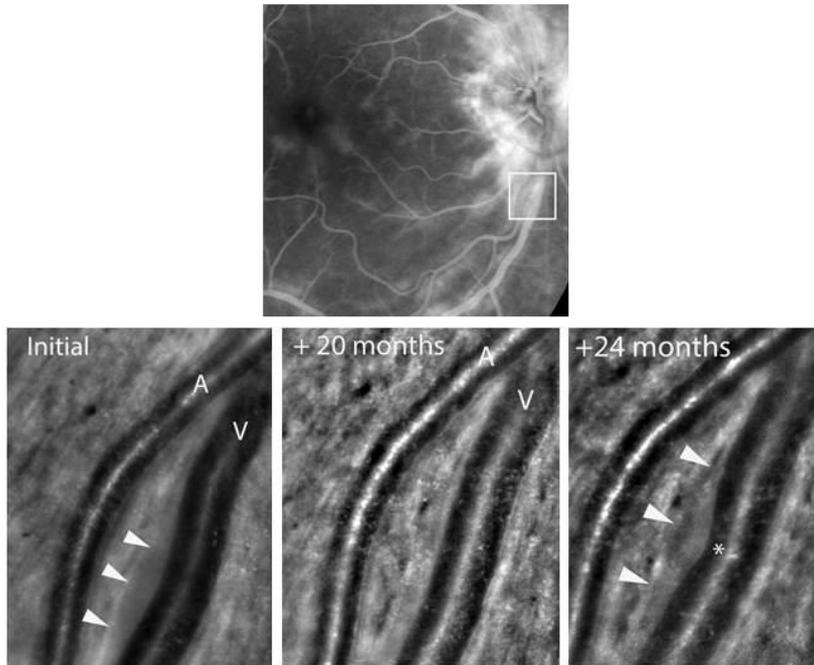


Figure 6: Patient 1 (birdshot retinochoroidopathy). FA at baseline. FIAO imaging: note the fluctuations over time of perivenous sheathing (arrowheads) and of venous narrowing (asterisk) in area enclosed in the square showing fluorescein leakage at baseline. Note the recurrence at the same site at month 24.

In ten patients, corticosteroid treatment was initiated. Four patients were also treated with immunomodulator agents and five received specific antibiotic treatment. Patient 8, which had IRVAN, was not treated. Intervals between follow-up exams varied according to the treatment regimen, clinical evolution and availability of the patient. As a result, the range of intervals between FIAO imaging sessions varied between 2 weeks and 2 years (median, 2.5 months). Clinical evolution showed a progressive resolution of inflammatory signs in all but two cases. No vein occlusion occurred.

Recurrence of perivenous sheathing was observed in 4 cases (example in Fig 6). These recurrences occurred at the same site as the initial one.

At last examination, on average the thinning had decreased from $93.3\mu\text{m} \pm 56.9$ to $23.6\mu\text{m} \pm 15.5$ ($p=0.003$). Two eyes showed similar width of sheathing.

Changes of vessel diameters did not show a clear correlation with the overall level of ocular inflammation. Among the 9 eyes with focal vascular narrowing at presentation, 5 eyes showed an increase in vein diameter. Figure 7 shows morphograms of the long-term evolution of perivenous sheathing and venous diameters.

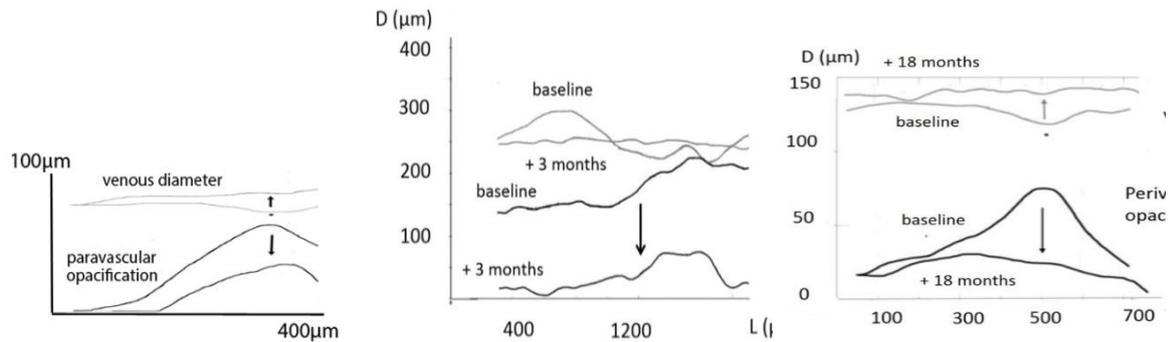


Figure 7: Illustration of the changes of perivenous sheathing and venous diameters (curves in pale grey colour) between the first and last examination. Perivenous sheathing (curves in grey colour) and venous diameters (curves in pale grey colour).

In an attempt to clarify the relationship between vascular sheathing and venous narrowing, we analyzed a subgroup of four eyes that had monthly FIAO imaging. This showed a regular decrease of perivenous sheathing in all cases, which contrasted with the apparent stability of the diameter of the underlying veins (Fig 8). Note that none of these cases showed venous narrowing initially. However, in another subgroup of 5 eyes, it could be seen that the reduction of perivascular sheathing was accompanied by displacement of adjacent nerve fiber bundles (figure 9 and supplementary figures- videos), suggesting that expansion of perivenous infiltration displaced adjacent nerve fiber bundles (cases 1, 3, 7, 8, 9 and 11).

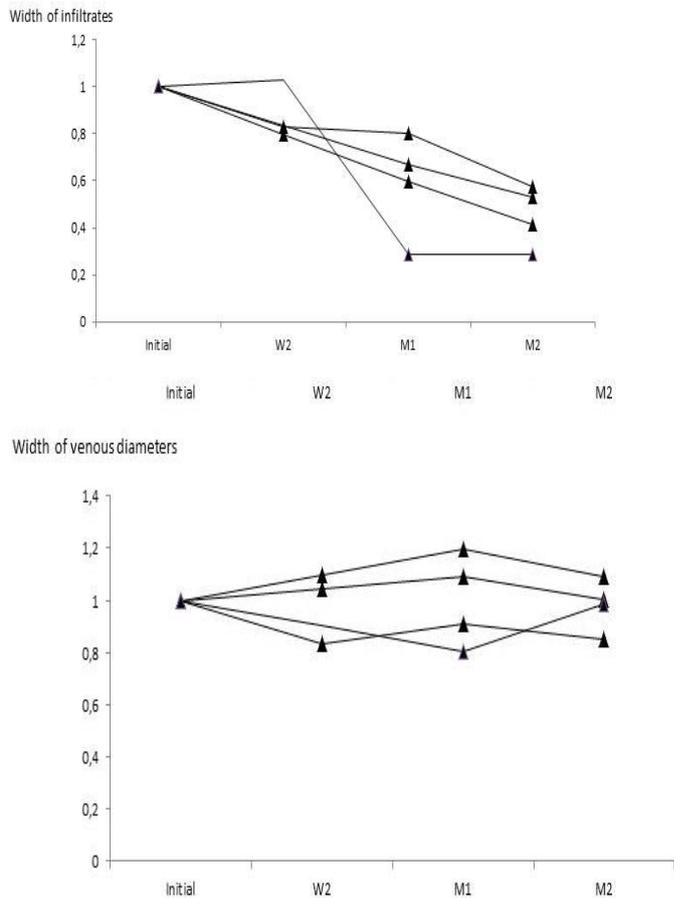


Figure 8. Short-term evolution of the width of perivenous sheathing and of venous diameters (normalized to initial values) in a subgroup of four eyes (cases 3,7,5 and 5). For each case, a single area was followed-up. Note that the decrease of perivenous sheathing is not correlated with venous diameter changes.

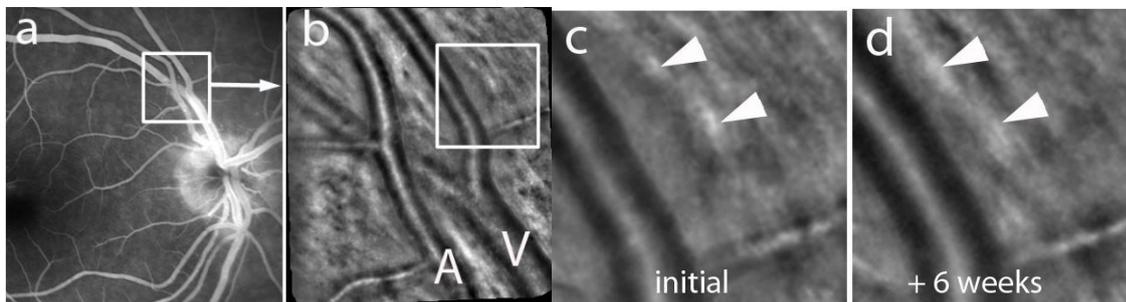


Figure 9. Patient 7. (a) FA at baseline, (b, c and d) FIAO images showing perivenous sheathing with and no detectable fluorescein leakage in the area of sheathing. Arrowheads in c and d show axons fascicles that come closer to the vein following the resolution of sheathing (see also supplementary figures and videos).

In areas of sheathing showing breakdown of the blood-retinal barrier, it could be observed that resolution of the fluorescein leakage occurred before the disappearance of sheathing.

Peri-arterial sheathing was present in two eyes (cases 8 and 11). Both showed also focal reduction of diameter. During follow-up, patient 8 (IRVAN syndrome) showed enlargement of the macroaneurysm but no change in the width of periarterial sheathing. Although, patient 11 (idiopathic vasculitis) showed a disappearance of perivascular opacification and of vessels narrowing.

Discussion

We show here that thanks to its capabilities to document at a microscopic level both the width of perivascular sheathing and the vascular narrowing, FIAO brings new opportunities for the evaluation of retinal vasculitis. This may not only reveal the severity of the disease but also indicate the risk of local complications. Albeit FIAO imaging is of limited interest in case of media opacities such as vitritis, it offers the unique possibility to detail fine features of paravascular opacities. We demonstrated for instance that IRVAN was associated with perivenous opacities. We also observed in many cases the presence of arteriolar narrowing associated with arteritis. The contrast was highly variable between the infiltrate and the surrounding retina, which may be due to the specific nature of the infiltrate or to the background pigmentation. Infiltrates associated with blood-retinal barrier rupture were more often located in temporal arcades in an area within 2 disk diameters from the optic disk. We also documented here the time-course of resolution of sheathing, showing that the width of the sheathing was achieved in three months for one patient who underwent serial FIAO imaging. Recurrence was often observed in the same site as initially, suggesting that cell infiltrates do not occur randomly but that there are preferential sites.

Venous narrowing and occlusion are common complications of vasculitis. By FIAO imaging, minute venous narrowing could be documented. For few patients, there was a limited yet clear correlation between the width of sheathing and venous narrowing. The mechanisms of vascular occlusion during vasculitis are uncertain. Pathologic studies have suggested a thrombotic or obliterative mechanism.⁶ In our patients, morphometric analyzes showed that in most eyes venous narrowing temporally and spatially correlate with the width of the perivascular cuff. Furthermore, in 5 cases, it could be documented that adjacent inner retinal structures were displaced by the perivascular cuffs rather than infiltrated. This strongly suggests that local compression by the infiltrate itself may contribute to vascular occlusions.

This suggests that there is compression rather than infiltration. This was not observed in all eyes, hence one should be cautious about such interpretation. Relationship with blood-retinal barrier also remains uncertain.

Peri-arterial infiltrates are rare. We documented here two cases of IRVAN syndrome and of idiopathic vasculitis. The arteriolar wall remained visible through the infiltration, suggesting that the infiltrate was extra-parietal. There was reduction of arteriolar caliber.

There are some limits to our study. It is unable to image the retina in presence of vitreous haze or edema surrounding the vessel. FIAO imaging cannot provide images of the peripheral vessels more than 25° away from the disc. It is also uncertain to which extent the foci that were measured actually are representative of the whole inflammatory process. Our sample size was too small to differentiate the effect of the various anti-inflammatory drugs.

The possibility to monitor vascular inflammation offers interesting fundamental and clinical perspectives. For instance, our data suggest that perivascular infiltrates may contribute to venous occlusion through a compressive effect. The effect of therapy can be quantitatively evaluated. Additional studies are needed to further assess the correlation between clinical severity and FIAO features and to document the time-course of sheathing. Those will be helpful in determining the relationship between narrowing and obstruction, between sheathing and blood-retinal barrier rupture, and between FIAO features and etiology. FIAO may also be of interest for the screening of vascular inflammation in patients affected by cerebral diseases.

References

- Copland DA, Wertheim MS, Armitage WJ, Nicholson LB, Raveney BJ, Dick AD. *The clinical time-course of experimental autoimmune uveoretinitis using topical endoscopic fundal imaging with histologic and cellular infiltrate correlation. Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49:5458–65.
- Chu CJ, Herrmann P, Carvalho LS, Liyanage SE, Bainbridge JWB, Ali RR et al. *Assessment and in vivo scoring of murine experimental autoimmune uveoretinitis using optical coherence tomography. PLOS One* 2013;8:1–10.
- Stanford MR, Graham EM, Kasp E, Brown EC, Dumonde DC, Sanders MD. *Retinal vasculitis: correlation of animal and human disease. Eye* 1987;1:69–77.
- Charteris DG, CAqHmp C, RosentAqHl AR, Lightman SL. *Behcet's disease: activated T lymphocytes in retinal perivasculitis. Br J Ophthalmol* 1992;76:499–501.
- George RK, Chann CC, Whitcup SM, Nussenblatt RB. *Ocular immunopathology of Behcet's disease. Surv Ophthalmol* 1997;42:157–62.
- Hughes EH, Dick AD. *The pathology and pathogenesis of retinal vasculitis. Neuropathol Appl Neurobiol.*2003;29:325–40.
- Eichenbaum JW, Friedman AH, Mamelok AE. *A clinical and histopathological review of intermediate uveitis ("pars planitis"). Bull N Y Acad Med* 1988;64:164–74.
- Engell T, Jensen FA, Klinken L. *Periphlebitis retinae in multiple sclerosis. A histopathological study of two cases. Acta Ophthalmol* 1985;63:83–8.

Koch E, Rosenbaum D, Brolly A, et al. Morphometric analysis of small arteries in the human retina using adaptive optics imaging: relationship with blood pressure and focal vascular changes. J Hypertens 2014;32:890-8.

Chui TY, Gast TJ, Burns SA. Imaging of vascular wall fine structure in the human retina using adaptive optics scanning laser ophthalmoscopy. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2013;54:7115-24

Errera MH, Coisy S, Fardeau C, et al. Retinal vasculitis imaging by adaptive optics. Ophthalmology 2014;121:1311–1312.e2.

N. Lermé, F. Rossant, I. Bloch, M. Paques, E. Koch, J. Benesty. A fully automatic method for segmenting retinal artery walls in adaptive optics images. Pattern Recognition Letters 2015 (in press)

- **Résultats et discussion**

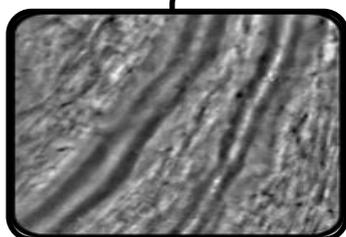
Cette étude permet de montrer que l'optique adaptative documente à une échelle microscopique l'étendue de l'engainement vasculaire et du rétrécissement vasculaire. La sévérité de la maladie est donc évaluée mais également le risque de complications comme les occlusions vasculaires. Nous avons observé des rétrécissements artériolaires liés aux artérites et chez quelques patients, grâce à des analyses morphométriques, une relation entre le degré d'engainement et le rétrécissement vasculaire. Dans 5 cas, les structures adjacentes de la rétine interne étaient repoussées par les engainements périvasculaires plutôt qu'infiltrés. Ceci suggère que l'infiltrat lui-même contribuerait aux occlusions vasculaires, par un mécanisme compressif. Toutefois, ce phénomène n'ayant pas été observé dans tous les yeux, notre interprétation doit rester prudente.

Les infiltrats périvasculaires associés à une rupture de la barrière hémato-rétinienne, qui sont ceux correspondant à une diffusion angiographique (ou fuite de produit de contraste à travers la paroi des vaisseaux), sont volontiers localisés au niveau des arcades temporales dans une zone évaluée à deux diamètres papillaires autour du nerf optique.

Les cas d'infiltrats périartériels sont plus rarement retrouvés en clinique. Nous avons documenté deux cas en optique adaptative, un cas d'uvéite idiopathique et un cas d'IRVAN. La paroi artériolaire est restée visible pendant toute la durée d'observation, ce qui suggère que cet infiltrat serait extrapariétal. Il existait également une réduction du calibre artériolaire.

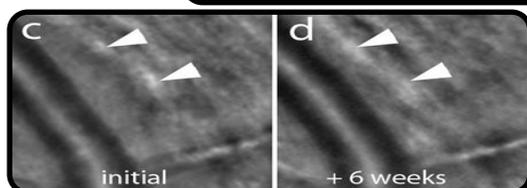
En répétant les images en FIOA au cours du temps, nous avons documenté le délai de résolution de l'engainement et montré notamment chez un patient que l'engainement s'est résorbé en trois mois. D'une manière générale, les récurrences sont observées au même site que lors de la poussée inflammatoire initiale, suggérant que les infiltrats cellulaires n'apparaissent pas au hasard mais à des sites préférentiels.

Points forts de l'utilité de la FIOA dans les vascularites rétinienne

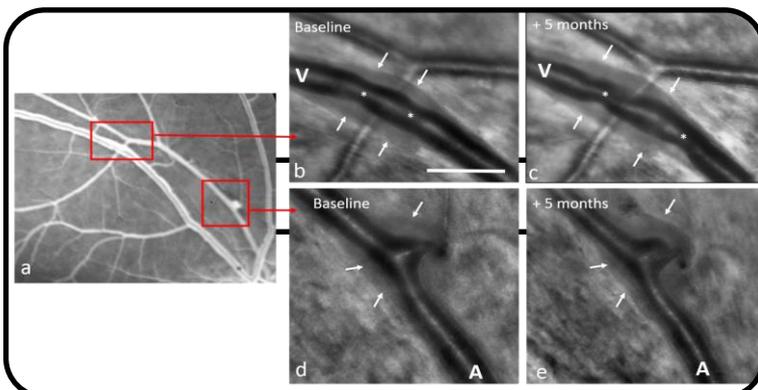


Aspects d'opacités périvasculaires et des rétrécissements vasculaires (veines et/ ou artères) observés dans des vascularites rétinienne liées aux étiologies suivantes: chorioretinopathie de "birdshot", toxoplasmose, tuberculose, SEP, IRVAN, maladie de Lyme, syphilis et vascularite rétinienne idiopathique.

Les structures adjacentes de la rétine interne sont repoussées par les engainements périvasculaires plutôt qu'infiltrés dans 5 cas de vascularite liés à : Lyme oculaire, uvéite idiopathique, SEP et chorioretinopathie de « birdshot » :



ex. : les fibres des axones sont plus proches de la veine quand l'infiltrat disparaît après traitement corticoïde (cas de vascularite dans une SEP).



les infiltrats artériels sont extrapariétaux car la paroi artériolaire reste visible pendant la durée d'observation dans 2 yeux (uvéite idiopathique et IRVAN).

Une réduction du calibre artériolaire est présente.

L'infiltrat lui-même contribuerait aux occlusions vasculaires par un mécanisme compressif.

V-3. ETUDE DES CYTOKINES (DU SERUM ET DE L'HUMEUR AQUEUSE) DANS LES VASCULARITES RETINIENNES.

Rappelons que l'objectif principal de notre travail est la comparaison du profil des cytokines, chimiokines et facteurs de croissance présents dans l'AqH et le sérum entre des patients suivis pour des uvéites idiopathiques, des uvéites de diverses étiologies (témoins positifs) et les témoins non inflammatoires. En effet, les uvéites idiopathiques sont peut-être le témoin d'une inflammation systémique infraclinique.

Les objectifs secondaires consistent à :

- établir une corrélation de ces groupes avec la présentation clinique de l'uvéite idiopathique.
- établir une corrélation de ces groupes avec la localisation anatomique de l'inflammation intraoculaire présentée.

Ce chapitre porte sur l'étude de la distribution des cytokines sériques chez les sujets contrôles et des patients atteints d'uvéites. Le nombre des analyses réalisés à partir des prélèvements biologiques (sérum et AqH) est résumé dans le tableau 6.

Le total de sujets contrôles prévu initialement était au nombre de 120.

Le nombre des prélèvements sériques et d'AqH n'est pas équivalent dans chaque pathologie car il manquait pour certains patients des prélèvements d'AqH et le volume d'AqH est souvent limitant pour réaliser tous les dosages cytokiniques (15 µL par échantillon analysé utilisé par groupe cytokinique) (cf. tableau VI).

Tableau VII: Nombre total de prélèvements d'AqH et de sérums analysés.

	Milieus biologiques			
	AqH		sérum	
Groupes de patients	total prélevé (n)	nombre analysé (n)	total prélevé (n)	nombre analysé (n)
contrôles (opérés de cataractes)	36	-36 pour les 27 cytokines -7 pour IL-21 et IL-23	47	-47 pour les 27 cytokines -16 pour IL-21 et IL-23
maladie de Behçet oculaire	5	-5 pour les 27 cytokines -1 pour IL-21 et IL-23	7	-7 pour les 27 cytokines -6 pour IL-21 et IL-23
sarcoïdose oculaire	15	-15 pour les 27 cytokines -3 pour IL-21 et IL-23	12	-12 pour les 27 cytokines -14 pour IL-21 et IL-23
toxoplasmose oculaire	16	-11 pour les 27 cytokines -3 pour IL-21 et IL-23	16	-16 pour les 27 cytokines -14 pour IL-21 et IL-23
syphilis oculaire	9	-9 pour les 27 cytokines -8 pour IL-21 et IL-23	9	-9 pour les 27 cytokines -2 pour IL-21 et IL-23
uvéïtes idiopathiques	63	-51 pour les 27 cytokines -42 pour IL-21 et IL-23	75	-63 pour les 27 cytokines -69 pour IL-21 et IL-23
uvéïtes avec vascularites et examen en FIOA et prélèvements (sérum et AqH)	24	24	24	24

V-3.1. PROFILS CYTOKINIQUES DU SERUM ET DE L'HUMEUR AQUEUSE DES PATIENTS CONTROLES

- **Objectifs et résultats**

Cette étude nous a permis de caractériser le spectre des cytokines chez les sujets opérés de cataracte, considérés sans inflammation systémique ou oculaire, et donc représentant la composition d'AqH et sérique normale.

La distribution des cytokines chez les 47 sujets contrôles était très homogène quelque soit leur âge.

Nous confirmons que certaines cytokines et chimiokines comme les IL-1 β , IL-1R α , TNF- α , IL-12(p70), IL-7, IL-17, IL-15, IL-21, IL-23, MIP-1 α , MIP-1 β et MCP-1 sont bien présentes dans un œil non inflammatoire, et que des facteurs de croissance, comme le VEGF et le FGF, sont détectés dans l'AqH des sujets contrôles (Fig.9) [55], [115]–[117].

En outre, dans la mesure où certains sérums contenaient de l'hémoglobine (« hémolysés »), il était important de contrôler que l'hémolyse n'entraînait pas d'interférence lors du dosage de cytokines/ chimiokines.

- **Contrôles non hémolysés (n= 36) vs contrôles hémolysés (n= 11).**

Nous avons trouvé des taux significativement diminués d'IL-1 β , d'IFN- γ , de PDGF-BB et de TNF- α dans les prélèvements hémolysés vs non hémolysés (pour IL-1 β : 0,75 pg/mL vs 2 pg/mL ; pour IFN- γ : 33 pg/mL vs 65 pg/mL, p= 0,0083 ; pour le TNF- α : 19 pg/mL vs 39 pg/mL, p= 0,0001 ; pour le PDGF-BB : 814 pg/mL vs 1820 pg/mL, p= 0,0015).

Nous n'avons pas trouvé de différence pour les taux d'IL-6 (p=0,1006), d'IL-17 (p=0,2285), d'éotaxine (p=0,6421) et d'IP-10 (p=0,1431) ; ni pour les autres cytokines/ chimiokines (les valeurs statistiques calculées pour les comparaisons « contrôles hémolysés » vs « non hémolysés » n'apparaissent pas ici).

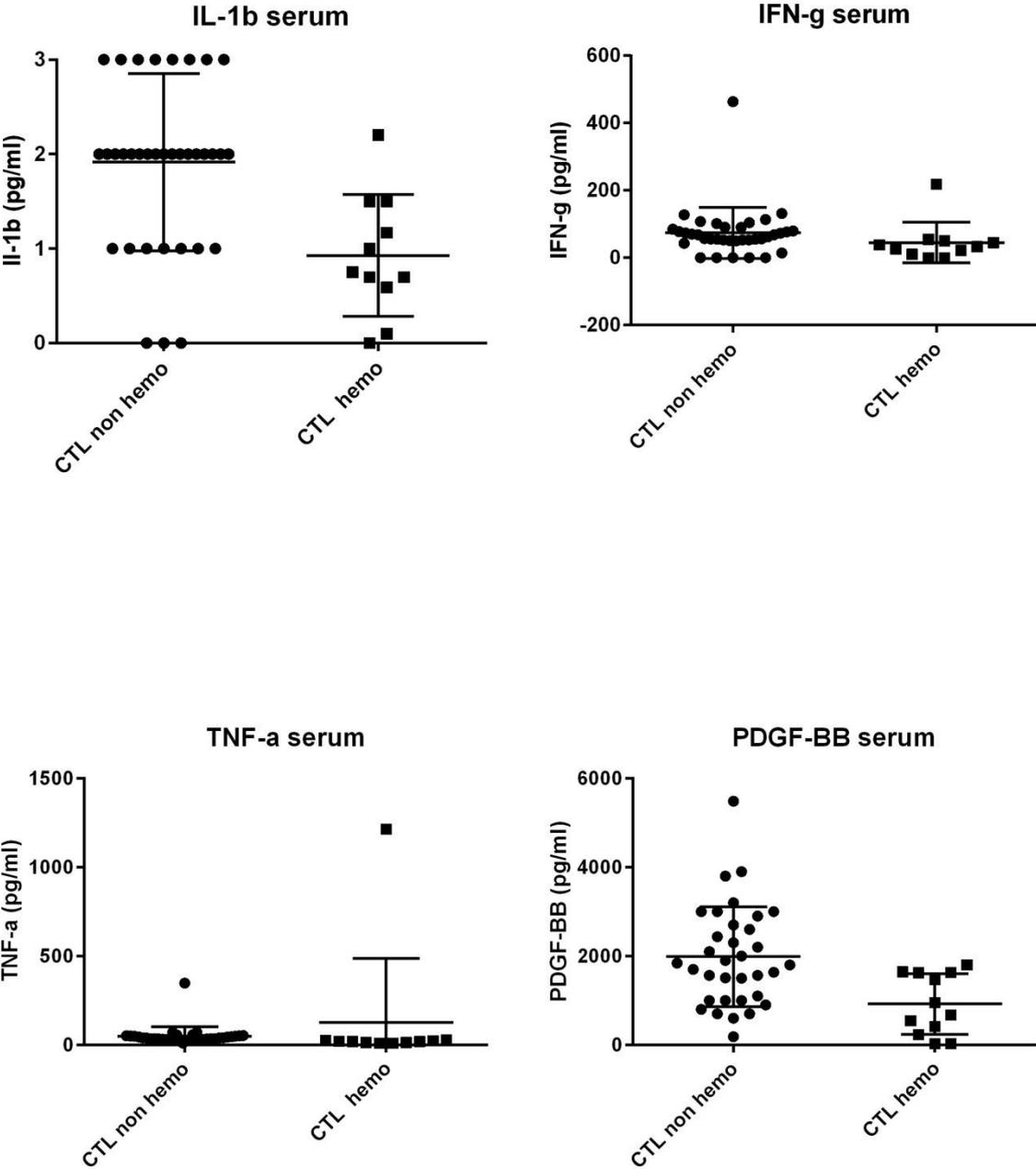


Figure 11. Concentrations sériques d'IL-1 β , d'IFN- γ , de TNF- α et de PDGF-BB chez les sujets contrôles dont les prélèvements ne sont pas hémolysés (CTL non hémolyse ; n=36) et chez ceux dont les prélèvements sont hémolysés (CTL hémolyse ; n=11).

V-4. PROFILS IMMUNITAIRES DANS LES VASCULARITES RETINIENNES AU COURS DE LA TOXOPLASMOSE, LA MALADIE DE BEHCET ET LA SARCOIDOSE.

V-4.1 : PROFILS CYTOKINIQUES DANS LES UVEITES AU COURS DE LA TOXOPLASMOSE, LA MALADIE DE BEHCET ET LA SARCOIDOSE

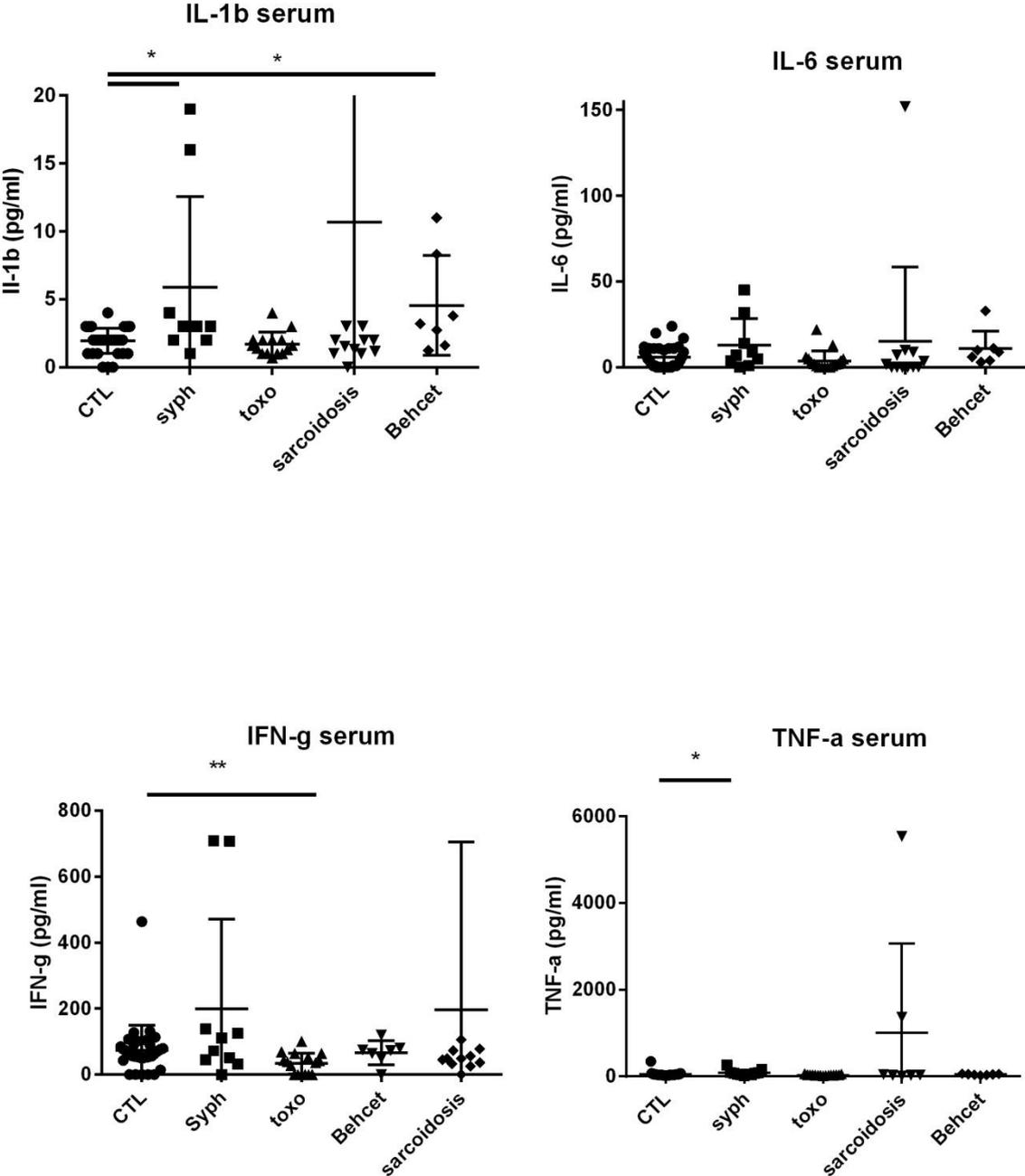
- **Objectifs et résultats**

Nous avons étudié s'il existe des différences dans les taux de cytokines, chimiokines et facteurs de croissance obtenus entre les prélèvements sériques et d'AqH des sujets contrôles et des patients avec toxoplasmose, maladie de Behçet et sarcoïdose oculaire.

Les graphiques prennent en compte également les résultats de patients avec syphilis qui seront discutés dans le chapitre suivant.

- **Résultats cytokiniques/ chimiokines sériques :**

Nous avons trouvé deux patients atteints de syphilis avec des taux d'IFN- γ augmentés dans le sérum ; les taux étaient augmentés : pour l'IL-6 chez 2 patients avec une syphilis, un atteint d'une sarcoïdose et un d'une maladie de Behçet; pour l'IL-1 β chez 2 patients avec une syphilis, 2 avec une maladie de Behçet et un avec une sarcoïdose. Un patient avec une sarcoïdose avait des taux sériques augmentés de TNF- α (cf. tableau VII, récapitulatif).



Trois des 5 prélèvements étaient supérieurs au seuil des contrôles pour les cytokines de type Th1 (IFN- γ et IL-12), type Th 2 et Th9 (IL-13, IL-9), IL-1 β , IL-1R α , IL-7, éotaxine, MIP-1 α , TNF- α et le facteur de croissance PDGF-BB. Les moyennes de ces dernières cytokines par rapport aux contrôles étaient : pour IL-1 β de $26,6 \pm 24,6$ pg/mL vs $0,35 \pm 0,63$ pg/mL ; pour IL-1R α de 846 ± 994 pg/mL vs $47,5 \pm 92,8$ pg/mL, pour IL-7 de 1200 ± 1471 pg/mL vs $18,4 \pm 21,1$ pg/mL ; pour IL-9 de $52,7 \pm 72,6$ pg/mL vs $0,6 \pm 1,1$ pg/mL ; pour IL-12 de $30,6 \pm 31,7$ pg/mL vs $4,5 \pm 4,4$ pg/mL ; pour IL-13 de $12,7 \pm 17,0$ pg/mL vs $0,83 \pm 1,40$ pg/mL ; pour l'éotaxine de $85,7 \pm 115,1$ pg/mL vs 0 pg/mL, pour IFN- γ de 722 ± 866 pg/mL vs $1,9 \pm 4,1$ pg/mL, pour MIP-1 α de $9,3 \pm 10,6$ pg/mL vs $0,39 \pm 1,23$ pg/mL , pour PDGF-BB de 157 ± 194 pg/mL vs $7,9 \pm 11,5$ pg/mL, pour TNF- α de 250 ± 303 pg/mL vs $0,65 \pm 2,22$ pg/mL.

Quatre des 5 prélèvements étaient supérieurs au seuil des contrôles pour IL-6, IL-8, G-CSF, MCP-1. Les moyennes de ces dernières cytokines par rapport aux contrôles étaient : pour IL-6 de $64\ 689 \pm 91\ 969$ pg/mL vs $52,9 \pm 72,3$ pg/mL, pour l'IL-8 de 201 ± 196 pg/mL vs $7,1 \pm 16,9$ pg/mL, pour G-CSF de $20\ 458 \pm 31\ 692$ pg/mL vs $1,5 \pm 1,9$ pg/mL, pour MCP-1 de 431 ± 309 pg/mL vs $60,2 \pm 56,7$ pg/mL.

Une seule cytokine était supérieure au seuil des contrôles pour les 5 prélèvements, l'IP-10. La moyenne de l'IP-10 par rapport aux contrôles était de $393\ 193 \pm 415\ 025$ pg/mL vs 395 ± 379 pg/mL ($p = 0,0001$).

Pour les cytokines, il n'y a pas de correspondance de ces cytokines augmentées entre leurs valeurs dans le sérum et dans l'AqH, sauf IL-1 β chez l'un des patients.

Pour les prélèvements des patients atteints d'uvéite toxoplasmique, nous avons étudié 16 prélèvements sériques et 11 d'AqH pour les 27 cytokines et 14 prélèvements sériques et 3 d'AqH pour l'IL-21 et l'IL-23.

Pour les dosages dans le sérum, nous avons trouvé 2 des 16 prélèvements supérieurs au seuil des sujets contrôles pour IL-2 et le GM-CSF. L'IL-23 avait un taux significativement plus faible que celui des contrôles (médiane des concentrations) ($P=0,0004$) (fig. 10).

Pour les dosages dans l'AqH, aucun individu n'avait toutes les cytokines, chimiokines et facteurs de croissance élevés dans l'AqH. Les médianes des concentrations des médiateurs suivants étaient significativement augmentées par rapport à celles des sujets contrôles : IFN- γ (de type Th1), IL-1 β , IL-1R α , IL-6, IL-8, TNF- α mais aussi, G-CSF, IP-10, MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β , (fig 11).

L'IFN- γ (cytokine de type Th1), le G-CSF et l'IP-10 étaient augmentés chez 9 des 11 patients. Les moyennes de ces dernières cytokines par rapport aux sujets contrôles étaient : pour IFN- γ de 1023 ± 3034 pg/mL vs $1,9 \pm 4,1$ pg/mL, pour G-CSF de 2555 ± 8205 pg/mL vs $1,5 \pm 1,9$ pg/mL, pour IP-10 de $141\,906 \pm 240\,116$ pg/mL vs 395 ± 379 pg/mL. L'éotaxine était augmentée chez 7 patients ; MCP-1 et TNF- α chez 5 patients ; et l'IL-4 et l'IL-8 chez 3 et 4 patients. Les moyennes de ces dernières cytokines par rapport aux sujets contrôles étaient : pour MCP-1 de 1785 ± 4010 pg/mL vs $60,2 \pm 56,7$ pg/mL, pour TNF- α de 74 ± 209 pg/mL vs $0,65 \pm 2,22$ pg/mL, pour l'IL-4 de $5,8 \pm 16,8$ pg/mL vs $0,22 \pm 0,41$ pg/mL, pour IL-8 de 1110 ± 3441 pg/mL vs $7,1 \pm 16,9$ pg/mL.

Autres cytokines, chimiokines et facteurs de croissance augmentés par rapport au seuil des sujets contrôles: IL-1 β , IL-6, IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, MIP-1 α , PDGF-BB, VEGF chez 2 patients ; IL-1R α , IL-2, IL-17, RANTES chez 1 patient.

Pour les prélèvements des patients atteints d'uvéite sarcoïdique, nous avons étudié 12 prélèvements sériques et d'AqH pour les 27 cytokines et 14 prélèvements sériques et 3 prélèvements d'AqH pour l'IL-21 et l'IL-23.

Pour les dosages dans le sérum, un patient avait des cytokines sériques supérieures aux seuils des sujets contrôles : IFN- γ (de type Th1), IL-1 β , IL-1R α , IL-6, TNF- α , IL-2, éotaxine, G-CSF, GM-CSF, IP-10, MIP-1 β . L'IL-23 avait un taux significativement plus faible que celui des sujets contrôles (médiane des concentrations) ($p < 0,0001$) (fig. 10).

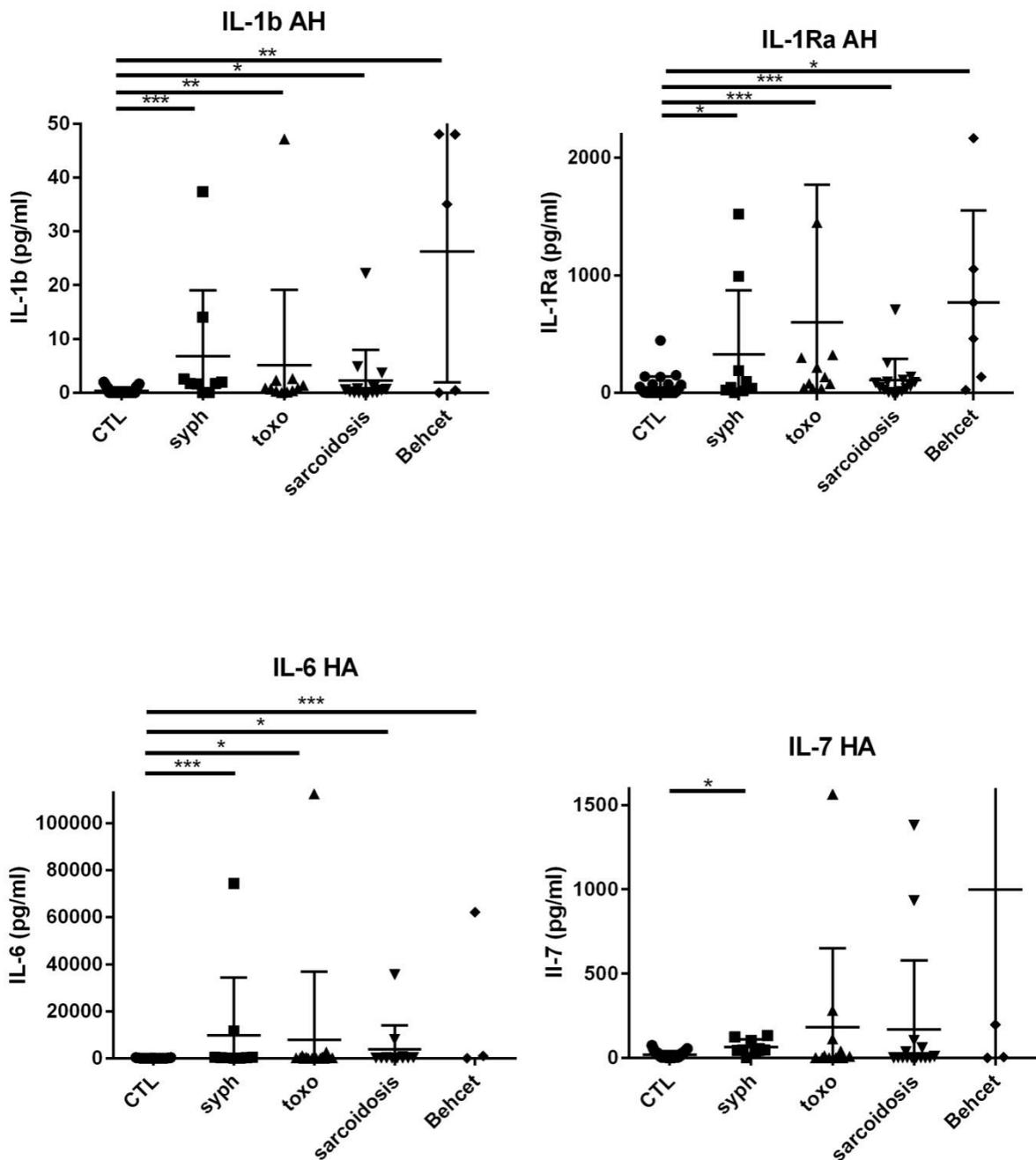
Pour les dosages dans l'AqH, aucun individu n'a toutes les cytokines, chimiokines et facteurs de croissance positifs dans les prélèvements d'AqH. Les médianes des concentrations des médiateurs suivants étaient significativement augmentées par rapport à celles des sujets contrôles : IL-12 (de type Th1), IL-1 β , IL-1R α , IL-6, IL-8, TNF- α , G-CSF, IP-10, MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β (fig 11).

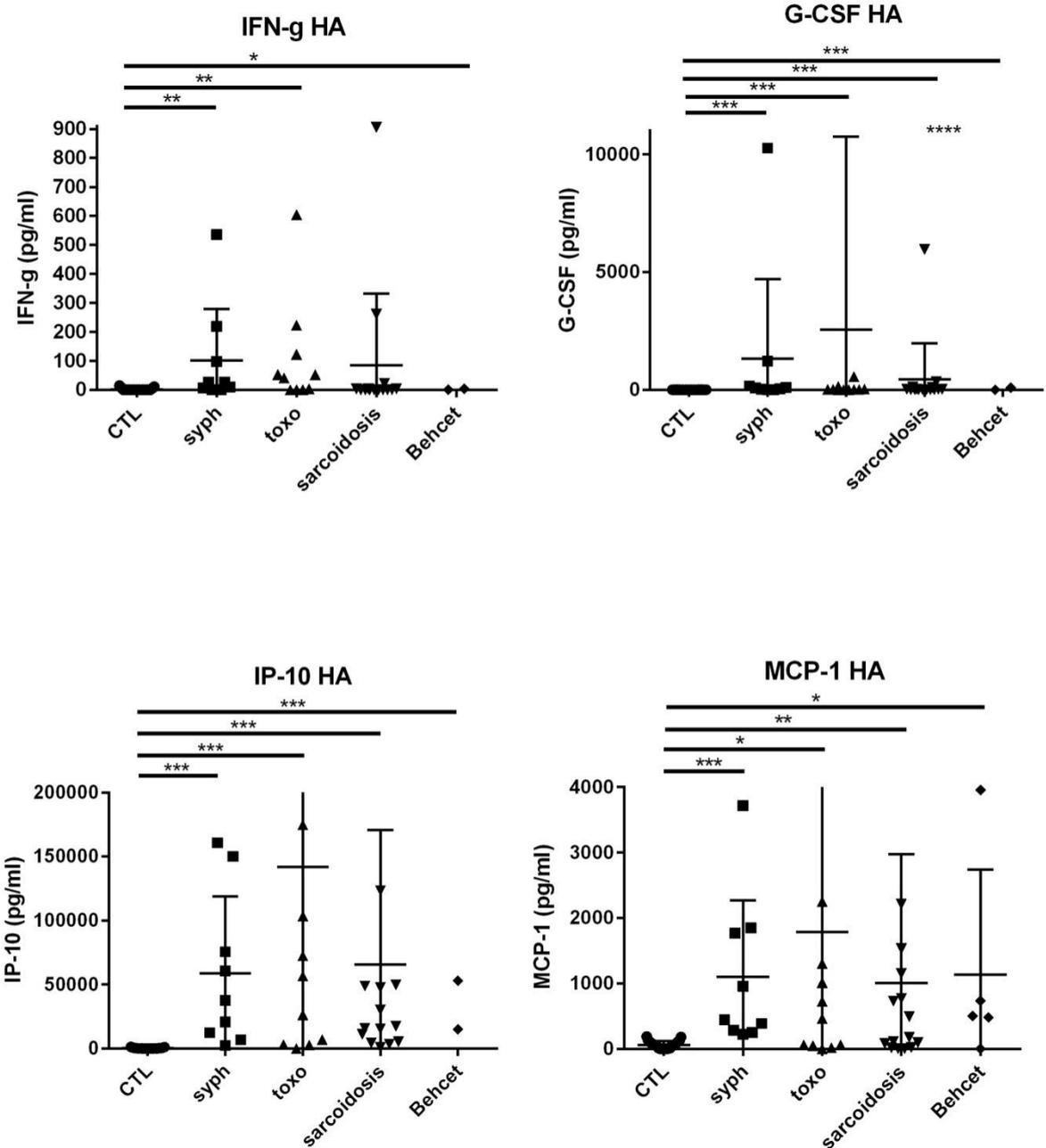
L'IP-10 était augmentée chez 14 patients. La moyenne de cette dernière cytokine par rapport aux sujets contrôles était de $65\,371 \pm 104\,707$ pg/mL vs 395 ± 379 pg/mL ($p < 0,0001$). L'IL-8 et G-CSF étaient augmentés chez 7 et 8 patients, respectivement. Les moyennes de ces dernières cytokines et facteurs de croissance par rapport aux sujets contrôles étaient de : pour l'IL-8 de 212 ± 589 pg/mL vs $7,1 \pm 16,9$ pg/mL ($p < 0,0001$), pour G-CSF de 459 ± 1707 pg/mL vs $1,5 \pm 1,9$ pg/mL ($p < 0,0001$).

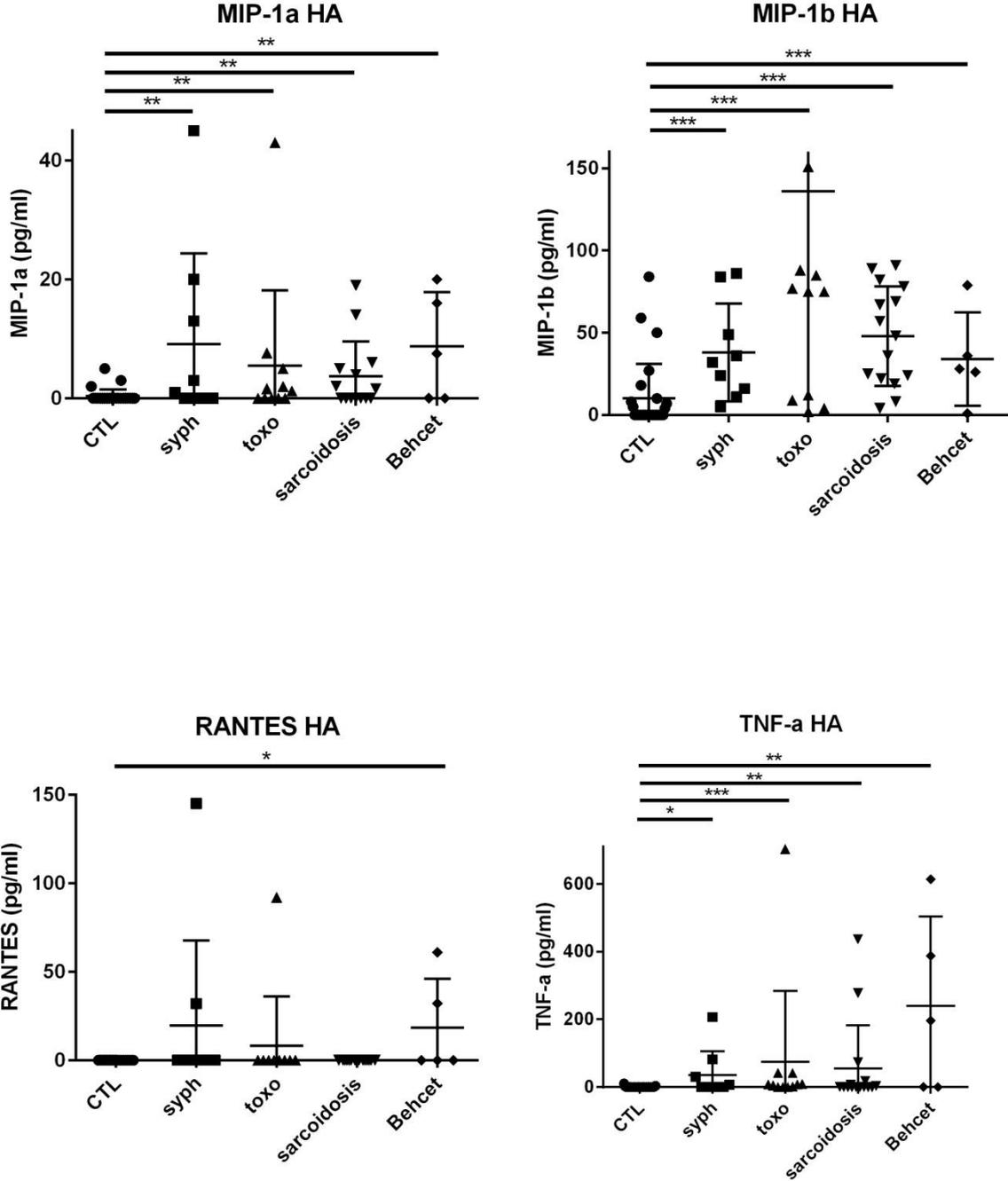
Autres cytokines / chimiokines augmentées par rapport au seuil des contrôles : MCP-1 chez 7 patients (moyenne significativement augmentée par rapport aux sujets contrôles, $p = 0,0086$) ;

l'éotaxine chez 7 patients ; MIP-1 α et TNF- α chez 4 patients, l'IFN- γ chez 3 patients (différence non significative par rapport à la moyenne des contrôles) ; IL-1 β , IL-7, MIP-1 β et PDGF-BB chez 2 à 4 patients; IL-1R α , IL-4, IL-10, IL-9, IL-13, IL-15 et VEGF chez 1 patient.

Il n'y avait pas de correspondance de ces cytokines, chimiokines et facteurs de croissance augmentés entre le sérum et l'AqH sauf l'IL-6, chez l'un des patients.







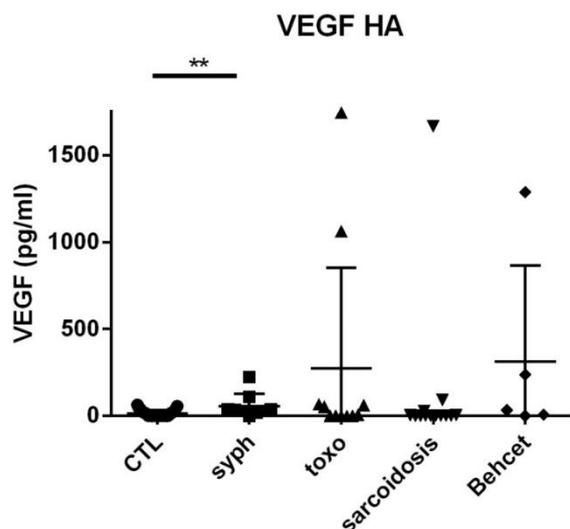


Fig 13. Concentrations intraoculaires d'IL-1 β , IL-R α , IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-17, G-CSF, IFN- γ , IP-10, MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES et de TNF- α chez les contrôles (CTL) (n=26) et chez les patients avec une uvéite syphilitique (n=9), une uvéite toxoplasmique (n=11), une uvéite sarcoïdienne (n=15) et une maladie de Behçet oculaire (n=5). *= $P < 0,05$; **= $P < 0,01$; ***= $P < 0,001$.

• Conclusions

Les seules cytokines augmentées dans le sérum des patients avec maladie de Behçet étaient l'IL-1 β , et ce chez 2 patients.

Dans la littérature les AqH des patients atteints de la maladie de Behçet avec une uvéite active ont été rapportés comme présentant les cytokines inflammatoires suivantes : IFN- γ (Th1), IL-2, TNF- α , IL-6, et IL-17 (Th17) [118]. Nous avons trouvé les médianes des concentrations de ces cytokines augmentées dans notre groupe de patients étudiés atteints de maladie de Behçet; l'IL-2 n'était toutefois retrouvé augmenté seulement dans un cas.

L'observation de ces cytokines intraoculaires confirme la connaissance que nous avons des mécanismes immunologiques dans la maladie de Behçet qui suggèrent un déséquilibre de la polarisation Th1/ Th2 en faveur de Th1 qui serait capable de générer un processus inflammatoire conduisant à l'expansion clonale des lymphocytes T CD4+, producteurs de fortes concentrations de cytokines inflammatoires (comme l'IFN- γ , l'IL-6, et l'IL-8) et des lymphocytes T CD8+ cytotoxiques. De plus, des taux élevés de cytokines de type Th1 comme l'IFN- γ ont été retrouvés chez des patients avec atteinte oculaire. La

sécrétion de l'IFN- γ est stimulée par les cellules NK par l'action de l'IL-18 fortement liée à l'activité de la maladie de Behçet et à la réponse inflammatoire locale [119]. L'IFN- γ conduit également à la production de ligands CXCR3 (dont l'IP-10), qui sont impliqués dans différentes maladies reliées à l'angiogenèse et à des pathologies immunologiques induisant le recrutement des lymphocytes Th1 activés [120]. Nous avons trouvé d'ailleurs l'IP-10 augmenté dans tous les yeux des patients atteints d'une uvéite de Behçet. La voie IFN- γ -IP-10 semble être importante dans la maladie de Behçet car l'IP-10 est une cytokine que nous avons retrouvée dans l'AqH de tous les patients étudiés. Ambrose et al. ont montré une expression accrue d'IP-10 par des monocytes stimulés par l'IFN- γ [121]. Cette dernière chimiokine est également impliquée dans le déclenchement de l'inflammation du système nerveux des patients atteints de cette maladie [122]. La production augmentée d'IP-10, comme nous l'avons constaté dans nos cas d'uvéites liées à la maladie de Behçet serait une particularité des manifestations oculaires et neurologiques de cette pathologie comme décrit précédemment [123], [124].

De plus, nous confirmons l'augmentation d'IL-17 trouvée par Hamzaoui et al. [125]. Sont également importantes les CPA qui induisent une réponse lymphocytaire T inflammatoire et une activation des neutrophiles par l'intermédiaire de la sécrétion des IL-18, IL-1, IL-6, IL-8, et du TNF- α [125]–[127]. Nous n'avons pas testé l'IL-18 mais parmi ces autres cytokines testées, nous avons retrouvés également l'augmentation de l'IL-1 β , à la fois dans l'AqH et le sérum.

Nous avons trouvé le MCP-1 augmenté dans 4 des 5 prélèvements d'AqH de patients avec uvéite de Behçet ; le MCP-1 a été impliqué, entre autres, dans la formation des thrombus, de l'athérosclérose et la tuberculose. Une hyperexpression de MCP-1 dans des tissus spécifiques cause une infiltration localisée de monocytes/macrophages dans l'endothélium des vaisseaux [128], [129]. Une étude précédente portant sur les patients atteints de maladie de Behçet avec une atteinte neurologique a montré que l'expression en ARNm des chimiokines IP-10 et MCP-1 était augmentée dans les cellules mononuclées du système nerveux central, augmentation corrélée à celle de l'IL-33 [122]. Le mécanisme est le suivant : l'IL-33 induit une réponse Th2 en activant la sécrétion de l'IL-13 par les cellules mastocytaires (dépendantes de MyD88), cette dernière induisant l'activation de STAT6 dans les cellules gliales, et donc l'expression des gènes comme l'éotaxine [130], et le MCP-1 [131]. L'atteinte neurologique et oculaire dans la maladie de Behçet ferait intervenir des mécanismes physiologiques proches.

Nous trouvons que le MIP-1 α est augmenté dans les uvéites de Behçet dans 3 des 5 prélèvements d'AqH patients. Des études récentes ont montré l'implication excessive des cellules Th1 et de l'expression des protéines du choc thermique « heat shock protein (HSP) » dans la pathogenèse de la maladie de Behçet [132]. L'expression ectopique des auto-HSP réactif conduit à une activation excessive des cellules Th1 qui sont réactives envers les HSP. Les lymphocytes auto-HSP réactifs expriment le Txk, une tyrosine-kinase de la famille des « Tec », spécifique des lymphocytes Th1, qui contribue au développement des manifestations de la maladie [133]. Imamura et al. ont montré que l'expression des HSP et l'accumulation des lymphocytes Th1 exprimant Txk dans les lésions intestinales de la maladie de Behçet, et le MIP-1 α and MIP-1 β semblent responsables de l'accumulation des cellules Th1 Txk⁺ CCR5⁺ dans les lésions intestinales de la maladie [134]. De façon similaire, nous trouvons que le MIP-1 α est augmenté dans les uvéites de la maladie de Behçet; la pathogenèse de la maladie pourrait donc être similaire dans l'intestin et dans l'œil.

Pour la toxoplasmose, aucun individu n'avait toutes les cytokines élevées dans l'AqH, toutefois, G-CSF, IFN-g, IP-10 étaient augmentés chez 9 des 11 patients ; l'éotaxine était augmentée chez 7 patients ; MCP-1 et TNF- α chez 6 patients ; l'IL-4 et l'IL-8 chez 3 et 4 patients. Une étude a montré le rôle délétère de l'IL-17 pour contrôler les parasites en confirmant le rôle central de l'IFN- γ en limitant la prolifération parasitaire (Sauer et al., 2012). Ce rôle central est confirmé par le nombre de prélèvements d'AqH dans lesquels nous avons trouvé une concentration élevée en IFN- γ . En effet, il a été montré que l'induction précoce des neutrophiles pendant l'infection à *T. gondii* est dépendante du signal médié par l'IL-17. Une précédente étude a montré une faible réponse précoce à l'infection chez les souris IL-17R^{-/-}, associée à un manque de production de la chimiokine MIP-2. De plus l'IL-23 qui a la capacité à promouvoir la voie Th17 par son rôle dans la différenciation des lymphocytes T CD4⁺ producteurs d'IL-17 [50] était augmenté dans le sérum des patients avec uvéite toxoplasmique. Cependant, dans notre étude, l'IL-17 n'était augmentée dans l'AqH que chez un seul patient. L'infection à *T. gondii* induit une réponse précoce et forte à neutrophiles [135]. Les neutrophiles éliminent les parasites pendant les phases précoces de l'infection afin que l'immunité adaptative, qui est induite plus tardivement, ne soit pas débordée. L'effet délétère est lié au recrutement des neutrophiles, responsable de dommages rétinien.

Dans la toxoplasmose cérébrale, une étude précédente a montré que seuls les astrocytes et la microglie confinés aux infiltrats inflammatoires expriment les gènes des chimiokines IP-10,

MCP-1 et RANTES [136]. Nous avons trouvé également que, dans la majorité de nos prélèvements d'AqH d'uvéites toxoplasmiques, l'IP-10 et MCP-1 étaient fortement augmentés. Les leucocytes intraoculaires sont donc susceptibles de transcrire les gènes de l'IP-10 et MCP-1, tout comme le font les leucocytes intracérébraux dans la forme cérébrale de la parasitose. L'obtention d'une réponse immune adaptative contre un pathogène intracellulaire requiert le recrutement de lymphocytes T effecteurs vers le site de l'infection. Nous déduisons donc de la présente étude que les lymphocytes T étant la source de l'IFN- γ , les lymphocytes T font le chemin aux leucocytes vers les parasites intra rétinocoroïdiens via l'IFN γ . Les lymphocytes T CD8⁺ cytotoxiques sont recrutés dans les tissus où ils jouent un rôle important dans la réponse de l'hôte envers les pathogènes intracellulaires, tels que *T. gondii* et ce, en produisant de l'IFN γ et en lysant les cellules infectées [137]. Khan et al. ont montré chez la souris infectée par la toxoplasmose que l'IP-10 est un chimioattractant pour les lymphocytes T activés. La neutralisation de l'IP-10 chez la souris a un effet dramatique sur l'intensité de la réponse effectrice dans les tissus. En effet, les lymphocytes CD4⁺ et CD8⁺ provenant de rates de souris infectées par la toxoplasmose et traitées par anti-IP-10 présentent des réponses prolifératives spécifiques d'antigène très réduites. Le traitement anti-IP-10 inhibe donc l'afflux massif des lymphocytes T dans les tissus (la rate, le foie et les poumons), augmente l'expression de CXCR3 dans ces tissus et entrave les fonctions effectrices des lymphocytes T spécifiques d'antigènes. L'influx des lymphocytes CD4⁺ et CD8⁺ connus pour exprimer CXCR3 est complètement inhibé, également. Ceci résulte en une augmentation massive de l'infiltration tissulaire parasitaire et une mortalité augmentée. L'IP-10 jouerait un rôle important dans la localisation et la fonction des lymphocytes T effecteurs aux sites de l'inflammation Th1 [138]. L'IP-10 est produite très tôt dans l'infection toxoplasmique et son expression est induite par les produits de *T. gondii* qui activent l'immunité innée résultant en une activation NF- κ B. Cette expression précoce d'IP-10 recrute les lymphocytes Th1 activés qui libèrent de l'IFN γ et amplifient la réponse locale Th1. Quant au rôle de l'IL-8, cytokine dont nous avons trouvé le taux augmenté dans l'AqH d'un grand nombre d'uvéites de Behçet et toxoplasmiques, il consiste à attirer chimiquement les neutrophiles et les monocytes dont elle entraîne de plus l'activation, créant donc un microenvironnement inflammatoire intraoculaire [139].

Pour la sarcoïdose, aucun patient n'avait toutes les cytokines élevées dans les prélèvements d'AqH, toutefois, l'IP-10 était augmentée chez 14 des 15 prélèvements. Les autres cytokines/ chimiokines augmentées étaient le MCP-1 et l'éotaxine chez 7 patients ;

l'IL-9 chez 5 patients ; l'IL-10, MIP-1 β , le TNF- α et le VEGF chez 4 patients ; l'IL-1 β , l'IFN- γ , le MIP-1 β chez 3 patients ; l'IL-7, l'IL-13 ; et le PDGF-BB chez 2 patients ; l'IL-1R α , IL-4, et l'IL-15 chez un patient.

Certaines cytokines étaient augmentées dans le sérum chez un patient (IL-1 β , IL-1R α , IL-2, IL-6, l'éotaxine, le G-CSF, GM-CSF, IP-10, IFN- γ , MIP-1 β , TNF- α) et le GM-CSF isolément chez un autre.

La sarcoïdose est une granulomatose chronique multisystémique d'étiologie inconnue. Elle pourrait résulter d'une réponse immunologique cellulaire exagérée à divers auto-antigènes ou antigènes du non-soi [140].

Nagata et al. ont montré que les taux des cytokines suivantes étaient augmentées dans le vitré des patients avec une sarcoïdose oculaire par rapport aux contrôles : PDGF-BB, IL-1R α , IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12, G-CSF, IFN- γ , IP-10, MCP-1 α , MIP-1 β , RANTES, TNF α , et VEGF. Pour eux, le taux sérique d'IP-10 était augmenté dans la sarcoïdose oculaire mais le taux sérique d'IL-15 était plus bas que chez les contrôles [141]. Nous avons trouvé que les concentrations moyennes des cytokines/ chimiokines/ facteurs de croissance sériques étaient identiques pour la sarcoïdose à celles des contrôles, cependant, leur seuil était augmenté chez un individu seulement.

Comme Nagata et al. l'ont montré dans une étude portant uniquement sur l'humeur vitré, nous trouvons dans l'AqH des taux moyens élevés pour IL-6, IL-8, IL-9, IL-12, INF- γ , TNF- α , MCP-1, G-CSF et VEGF. Les différences dans notre étude étaient que les cytokines suivantes étaient également élevées par rapport aux seuils des contrôles dans certains des prélèvements : IL-1 β , IL-7, IL-13, éotaxine, IP-10, MIP-1 α , MIP-1 β et PDGF-BB. Contrairement à Nagata et al., nous n'avons trouvé l'IL-4 élevée que dans un seul prélèvement d'AqH.

Certains auteurs ont montré que dans les formes avancées des pathologies touchant le segment postérieur, dont la sarcoïdose et *a fortiori* en cas d'œdème maculaire cystoïde, des taux de G-CSF, VEGF, et PDGF-BB, facteurs associés à la fuite vasculaire, sont augmentés [141], [142]. Pour certains, le VEGF serait associé à la rupture de la barrière hématorétinienne. Il apparaît donc que beaucoup de cytokines/ chimiokines sont augmentées dans le vitré comme l'a montré Nagata et comme nous le montrons également, dans l'AqH. Ces concentrations permettraient d'obtenir une infiltration de lymphocytes ou de macrophages dans les granulomes des couches rétinienne. Il y a potentiellement une rupture de la barrière hématorétinienne chez nos patients car nous avons trouvé des taux élevés d'IL-6, de G-CSF et de VEGF dans l'AqH, seul PDGF-BB n'a pas été retrouvé dans l'AqH des patients avec

uvéite sarcoïdique dans notre étude. Seule une étude de l'humeur vitrée aurait pu permettre de déterminer sa présence éventuelle.

Nous confirmons le fait que l'IP-10 soit une cytokine majeure dans la sarcoïdose. Celle-ci était augmenté dans 14 des 15 prélèvements d'AqH et dans l'un des sérums des patients avec sarcoïdose. Nagata l'a retrouvé dans ces deux liquides biologiques. L'IP-10 est exprimée dans les granulomes sarcoïdique et sécrétée par les macrophages alvéolaires en corrélation avec la population lymphocytaire CD4+ (Agostini et al., 1998). Chez les patients souffrant d'athérosclérose, l'analyse des vaisseaux a montré que l'IP-10 est exprimé dans les cellules endothéliales, les macrophages et les cellules musculaires lisses. L'IP-10 joue un rôle important dans le recrutement des lymphocytes T effecteurs activés vers les tissus périphériques dans les maladies inflammatoires de type Th1 non seulement infectieuses comme la toxoplasmose mais également non infectieuses telles que le psoriasis et la SEP.

Des essais cliniques seraient utiles afin d'établir si cette chimiokine et/ou ses récepteurs peuvent être une cible à visée thérapeutique.

Points forts sur le dosage des médiateurs de l'inflammation dans les uvéites de la maladie de Behçet, sarcoïdose et la toxoplasmose

- Le tableau récapitulatif ci-dessous montre quelles cytokines sont à neutraliser dans les uvéites de Behçet, sarcoïdiques et toxoplasmiques et quels outils thérapeutiques sont à utiliser (inhibiteurs de cytokines) :

Médianes des concentrations des médiateurs augmentés dans le sérum des uvéites	Physiopathologie	Intérêt thérapeutique
<p><u>uvéites de Behçet:</u> Sérum : pro-inflammatoire (IL-1β) AqH : Th1 (IFN-γ), Th17 (IL-17), pro-inflammatoires: IL-1β, IL-6, IL-8, TNFα, RANTES, anti-inflammatoires (IL1-Rα), autres: IP-10, MCP-1, MIP1α et β, G-CSF</p>	<p>Th1, Th17 + cytokines pro-inflammatoires: IL-1β, IL-6, TNFα autres: IP-10, MCP-1, G-CSF</p>	<p>anti IL-1β, anti-IL6, anti-TNFα essais cliniques: anti-IL17 (secukinumab, ixekinumab, SCH900117 etc...), anti-IL-17RA [143] anti-IP-10, anti-MCP-1 (recherche) anti-G-CSF (recherche) [144]</p>
<p><u>uvéites sarcoïdiques:</u> Sérum : 0 AqH : Th1 (IL-12), proinflammatoires: IL-1β, IL-6, IL-8, TNF-α, anti-inflammatoires (IL-1Rα), autres: IP-10, MCP1, MIP1α et β, G-CSF</p>	<p>Th1 + cytokines pro-inflammatoires : IL-1β, IL-6, TNF-α autres: IP-10, MCP-1, G-CSF</p>	<p>anti IL-1β, anti-IL6, anti-TNFα anti-IP-10, anti-MCP-1 (recherche) anti-G-CSF (recherche) [144]</p>
<p><u>uvéites toxoplasmiques:</u> Sérum : IFN-γ (Th1) AqH : IFN-γ (Th1), proinflammatoires (IL-1β, IL-6, IL-8, TNF-α), anti-inflammatoires (IL-1Rα), autres : G-CSF, IP-10, MCP, MIP1α et β</p>	<p>Th1 + cytokines pro-inflammatoires : IL-1β, IL-6, IL-8, TNF-α,</p>	<p>traitement antibiotique et corticoïde classiquement. -l'anti-IP-10 utilisé chez la souris infectée par <i>T. gondii</i> entraîne une inhibition des lymphocytes T effecteurs spécifiques d'antigène dans les tissus infectés et une mortalité augmentée [138].</p>
<p><u>tous</u> (Behçet, sarcoïdose, toxoplasmose)</p>	<p>-Hyperexpression d'IP-10 après stimulation d'IFN-γ. L'IP-10 joue un rôle important dans le recrutement des lymphocytes T effecteurs activés vers les tissus périphériques dans les maladies inflammatoires de type Th1. -Une hyperexpression de MCP-1 entraîne une infiltration localisée</p>	<p>Neutralisation d'IP-10 et de MCP-1 utile dans les uvéites non infectieuses ? (intérêt de futures études)</p>

	de monocytes / macrophages dans l'endothélium des vaisseaux. MCP-1 a été impliqué, entre autres, dans la formation des thrombus.	
--	--	--

V-4.2. PROFILS CYTOKINIQUES DANS UNE COHORTE D'UVEITES AU COURS DE LA TOXOPLASMOSE, LA MALADIE DE BEHCET ET LA SARCOIDOSE ET CORRELATION AVEC LEUR ASPECT EN OPTIQUE ADAPTATIVE.

- **Objectifs**

Nous avons comparé les résultats des cytokines/ chimiokines/ facteurs de croissance chez 7 patients (11 yeux) avec une uvéite liée à la maladie de Behçet (3 patients), toxoplasmique (3 patients), et sarcoïdique (1 patient) aux observations faites en FIOA au niveau des vaisseaux rétiniens

- **Résultats**

Tableau VIII : Résultats comparés entre les médiateurs présents dans les sérums (cytokines, chimiokines et facteurs de croissance) et AqH des patients avec uvéites de diverses étiologies et les résultats de leur examen en FIOA.

n°		cytokines augmentées dans :		
		AqH	sérum	aspect en FIOA : E (engainement) R (rétrécissement)
	Maladie de Behcet			
1		IL6, IL8, G-CSF, IP-10, MCP-1	IL-1 β , IL-7, GM-CSF	R + artères
2		IL-1 β , IL1-R α , IL6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12, éotaxine, MCP-1, IP-10, IFN- γ , TNF- α , VEGF		E+ veines et artères
3		NR	neg	sans anomalie
	sarcoïdose			
14		IL6, IL8, G-CSF, éotaxine, IP-10, MCP-1, MIP-1 β	neg	sans anomalie
	toxoplasmose			
15		éotaxine, G-CSF, IFN- γ , IP-10	neg	E + artères
16		G-CSF, IFN- γ , IP-10, MIP-1 β	neg	R+ artères (modéré)
17		NR	neg	sans anomalie

- **Conclusions**

Dans la maladie de Behçet, le patient qui avait une opacité paravasculaire en FIOA présentait des taux élevés des médiateurs de l'inflammation présents dans l'AqH suivants : IL-1 β , IL1-R α , IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12, éotaxine, MCP-1, IP-10, IFN- γ , TNF- α et VEGF. Dans cette maladie, une infiltration lymphocytaire prédominante au niveau des vaisseaux rétiniens (veines et veinules) et des espaces périvasculaires a été décrite en histologie [18]. Celle-ci correspond probablement au manchon périvasculaire que nous avons observé dans un des 3 cas de maladie de Behçet oculaire en FIOA. Dans le cas que nous avons imagé avec des rétrécissements observés en optique adaptative et qui pourraient conduire aux zones d'oblitérations inflammatoires vasculaires dans les tissus rétiniens, nous avons trouvé les médiateurs suivants libérés dans l'AqH : l'IL6, IL8, G-CSF, IP-10 et la MCP-1.

La voie Th1 semble donc prépondérante par la présence d'IFN- γ et d'IL-12 dans le cas de maladie de Behçet avec engainement vasculaire en FIOA.

Le dosage des cytokines IL-21 et IL-23 nous permettent d'explorer la voie Th17, et nous n'avons pas trouvé de cytokine IL-17 augmenté dans l'AqH des uvéites par rapport aux contrôles. Nous avons étudié un patient atteint de maladie de Behçet avec uvéite et neuro-Behçet, l'IL-21 et l'IL-23 n'étaient pas retrouvés dans l'AqH chez lui (pas d'image en FIOA réalisée dans ce cas).

Nous avons trouvé l'IL-6 dans les AqH de 2 patients avec maladie de Behçet et engainement et rétrécissement vasculaire et du patient avec uvéite sarcoïdique sans anomalie vasculaire en FIOA. L'IL-1 et le TNF- α étaient augmentés dans l'AqH du patient avec maladie de Behçet oculaire qui présentait un engainement vasculaire en FIOA dans notre étude. L'IL-1, IL-6 et le TNF- α sont des cytokines majeures produites par des nombreuses cellules dont les lymphocytes, monocyte/macrophages, cellules dendritiques et les cellules résidentes oculaire ; ces cytokines jouent un rôle central dans l'inflammation. La présence de ces cytokines dans le liquide oculaire de patients avec uvéites est connue et elles représentent les médiateurs majeurs inflammatoires pathologiques au site de la maladie [145].

La libération accrue de VEGF que nous avons trouvé dans l'AqH d'un patient avec maladie de Behçet et engainement vasculaire en FIOA, explique pourquoi cette pathologie se

complicque souvent d'ischémie rétinienne. Un traitement rapide de la pathologie inflammatoire pourrait donc bloquer cette libération de VEGF et empêcher ses complications ischémiques. En histologie du Behçet, l'étude des infiltrats lymphocytaires montrent qu'ils sont composés principalement de CD4+ T helper cells, avec peu de lymphocytes T CD8+ ou B [20]. De plus, une augmentation des molécules d'adhésion cellulaire sur l'endothélium vasculaire a été retrouvée [20], [21]. L'atteinte vasculaire de la sarcoïdose est également caractérisée par un infiltrat lymphocytaire et histiocytaire et quelques vaisseaux occlus par des granulomes [15].

L'expression d'IP-10 peut être accrue dans une large variété de cellules, par stimulation de l'IFN- α , IFN- β , l'IFN- γ , du LPS et dans les lymphocytes T par activation antigénique [146], [147].

Les taux d'IP-10 sont corrélés à l'infiltration par les lymphocytes T suggérant que l'IP-10 joue un rôle dans le recrutement des lymphocytes T au site de l'inflammation [148]–[150] et probablement au niveau périvasculaire comme le suggère les rapports histologiques et les engainements vasculaires présents en FIOA dans notre étude dans la maladie de Behçet et la sarcoïdose. L'IP-10 est relié aux structurellement et fonctionnellement aux monokines induites notamment par l'IFN- γ qui dirigent la migration et stimulent l'adhésion des lymphocytes T activés et des cellules NK ce qui explique pourquoi nous l'avons trouvé chez les patients avec maladie de Behçet oculaire et sarcoïdose avec ou sans anomalie vasculaire observée en FIOA. Nous avons trouvé le MCP-1 augmenté dans 3 prélèvements d'AqH de patients avec uvéite de Behçet et sarcoïdique ; le MCP-1 a été impliqué, entre autres, dans la formation des thrombus. Une hyperexpression de MCP-1 dans des tissus spécifiques cause une infiltration localisée de monocytes/ macrophages dans l'endothélium des vaisseaux [128], [129]. Le MCP-1 jouerait donc un rôle dans les mécanismes ischémiques rétiens secondaires à ces pathologies inflammatoires.

Dans l'uvéite toxoplasmique, les patients avec une opacité paravasculaire en FIOA et rétrécissements vasculaires présentaient des taux élevés des médiateurs de l'inflammation présents dans l'AqH suivants : IFN- γ (de type Th1), l'éotaxine, G-CSF et IP-10.

Il n'y a pas de rapport histologique de description des vascularites rétiniennes de la toxoplasmose. Les médiateurs retrouvés dans l'AqH des uvéites toxoplasmiques et de la maladie de Behçet sont proches ce qui indiquerait un mécanisme immunitaire de l'inflammation vasculaire commun.

Points forts du dosage des médiateurs de l'inflammation dans les uvéites de la maladie de Behçet, sarcoïdose, toxoplasmose et corrélation avec leur aspect en FIOA

- Le tableau récapitulatif ci-dessous montre quelles cytokines sont à neutraliser dans les uvéites de Behçet, sarcoïdiques et toxoplasmiques avec atteinte inflammatoire vasculaire visible en FIOA et quels outils thérapeutiques sont à utiliser (inhibiteurs de cytokines) :

Médianes des concentrations des médiateurs augmentés dans les liquides biologiques	Physiopathologie	Intérêt thérapeutique
uvéites de Behçet avec atteinte vasculaire en FIOA: Sérum : pro-inflammatoire (IL-1 β) autres: IL-7, GM-CSF AqH : Th1 (IFN- γ , IL-12), pro-inflammatoires: IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF α , anti-inflammatoires (IL-1-R α , IL-10), autres: IP-10, MCP-1, G-CSF, autres : IL-9	Th1 + cytokines pro-inflammatoires: IL-1 β , IL-6, TNF α G-CSF, IP-10, MCP1	anti IL-1 β , anti-IL6, anti-TNF α
uvéites sarcoïdiques avec atteinte vasculaire en FIOA: Sérum : 0 AqH : pro-inflammatoires: IL-6 IL-8, autres: IP-10, MCP1, MIP1 β, G-CSF	cytokines pro-inflammatoires : IL-6 autres : G-CSF, IP-10, MCP1, MIP-1 β	anti-IL6
uvéites toxoplasmiques avec atteinte vasculaire en FIOA: Sérum : 0 AqH : IFN- γ (Th1), autres : IP-10, MCP1, MIP-1 β , G-CSF, éotaxine	Th1 Autres: G-CSF, IP-10, MCP1, MIP-1 β	traitement antibiotique et corticoïde classiquement.
tous (Behçet, sarcoïdose, toxoplasmose)	Hyperexpression d'IP-10 après stimulation d'IFN-γ. L'IP-10 recrute des cellules monoclées responsable d'une inflammation exagérées. Une hyperexpression de MCP-1 entraîne une infiltration localisée de monocytes / macrophages dans l'endothélium des vaisseaux. MCP-1 a été impliqué, entre autres, dans la formation des thrombus.	neutralisation d'IP-10 et de MCP-1 utile dans les uvéites non infectieuses? (intérêt d'études complémentaires)

V-5. PROFILS IMMUNITAIRES DANS LES VASCULARITES RETINIENNES AU COURS DE LA SYPHILIS

V-5.1. PROFILS CYTOKINIQUES DANS LES VASCULARITES RETINIENNES AU COURS DE LA SYPHILIS

Cette étude fait l'objet d'un article n°3.

Nous avons étudié comparé les taux de 27 cytokines/ chimiokines obtenues entre les prélèvements sériques et d'AqH de 9 patients avec une uvéite syphilitique avec 27 sujets contrôles et 15 patients avec une toxoplasmose oculaire. Pour les 2 cytokines IL-23 et IL-21, nous avons étudié et comparé 2 sérums et 8 d'AqH d'uvéites syphilitiques avec 16 sérums et 7 prélèvements d'AqH de sujets contrôles et 14 sérums et 3 d'AqH de patients avec toxoplasmose oculaire.

Increased interferon-inducible protein-10 (IP-10), G-CSF, MCP-1 and IL-17 in aqueous fluid in syphilitic uveitis.

Marie-Hélène Errera, Ana Pratas, Coralie Bloch-Queyrat, Neila Sedira, Edgard Benveniste, Lilia Merabet, Jonathan Benesty, Olivier Lortholary, Christine Chaumeil, Bahram Bodaghi, José-Alain Sahel, Pablo Goldschmidt

Background:

The mechanism underlying the process of *Treponema pallidum* trigger of uveitis have not been established. Ocular inflammation secondary to syphilis is associated with neurosyphilis, it has been suggested that cells involved in the adaptative immune response, Th17 response play a role. In the current study, we assessed the inflammatory markers and cytokines/chemokines/ growth factors production profile in the serum and aqueous humour (AqH) of 9 patients with syphilis related uveitis.

Methodology/Principal Findings:

In this study, 29 cytokines, chemokines and growth factors (IFN γ , IL-1 receptor antagonist [IL-1R α], IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8 (CXCL8), IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, IL-17, IL-21, IL-23, IFN γ , CXCL10 [IFN γ –inducible 10-kd protein (IP-10)], granulocyte-macrophage colony-stimulating factor [G-CSF], granulocyte-macrophage colony-stimulating factor [GM-CSF], CCL2 [monocyte chemotactic protein 1 (MCP-1)], CCL3 [macrophage inflammatory protein 1 α (MIP-1 α)], CCL4 [MIP-1 β], CCL5 (RANTES), CCL11 (Eotaxin) and tumor necrosis factor α [TNF- α], Fibroblast growth factor [FGF Basic], Platelet-derived growth factor [PDGF-BB], Vascular endothelial growth factor [VEGF]) in serum and AqH of 9 uveitis related to syphilis patients, 16 toxoplasmosis uveitis (TU), and 47 healthy donors were analyzed by Luminex®.

Results

The study included patients presenting a panuveitis (n=3), a posterior uveitis (n=5) and association of posterior uveitis and intermediate uveitis (n=1). Three patients presented a neurosyphilis diagnosed on lumbar puncture.

We found that the levels of Th1 (INF- γ), Th17 (IL-17), pro-inflammatory cytokines and chemokines (IL-1 β , IL-6, IL-7, IL-8, TNF- α , MCP-1, MIP-1 α and β , IP-10 and G-CSF), anti-inflammatory cytokines and chemokines (IL-10 and IL-1R α), and VEGF were markedly elevated in AqH in all eyes with syphilitic uveitis compared with controls and were generally higher in eyes with panuveitis compared with posterior uveitis.

We observed a marked increase in the expression of some Th1 and Th17 cells especially in neurosyphilis with meningitis. Uveitis in eyes with neurosyphilis was associated with increased levels of local and/ or circulating Th1 (IL-2, IFN- γ) and Th17 (IL-1R α , IL-17, and IL-23) and TNF- α cytokines compared with control eyes.

The levels of increased cytokines were often higher in eyes with panuveitis compared with the increased level of cytokines in posterior syphilitic eyes.

Conclusions: Increased aqueous humour levels of Th1, Th17 and other pro-inflammatory cytokines in patients with syphilitic uveitis with and without CSF abnormalities suggest that cells of adaptive immunity (probably T-helper cells producing IFN- γ and IL-17) probably play a critical role in syphilis uveitis. These findings indicate that leucocyte and lymphocyte T (G-CSF) recruitment may be involved in ocular inflammatory damage and associated with anatomical location of intraocular inflammation in syphilis uveitis patients. In addition, the absence of correlation in between serum and aqueous humour levels suggests intraocular production of these cytokines. Further studies are needed to establish the exact nature of the immune response accompanying ocular syphilis and its clinical correlation with neurosyphilis.

Introduction

Syphilis, a sexually transmitted multi-stage disease caused by the spirochete *Treponema pallidum*, remains to be a global public health problem with an estimated 12 million new cases annually [1]. European countries have experienced a resurgence of syphilis cases with 6-fold incidence increase between 1998 and 2001[2,3]. Recently, the annual incidence of syphilitic uveitis cases was 0.3 per million UK adult population between 2009 and 2011 with 41 new cases [4]. Our team has recently reported, a total of 21 patients affected with syphilitic

uveitis which corresponds to a nine-fold increase between 2012 and 2015 in the National Eye Center in Paris (manuscript submitted).

Without treatment, this spirochetal pathogen is able to survive in the human host for several decades, causing damage in multiple organs including the eyes, optic nerves and nervous system (neurosyphilis) [5]. Eye involvement is believed to occur during the secondary and tertiary stages of syphilis seen in 2-5% of patients with secondary syphilis, this increases to 9% in patients with HIV infection [5,6]. Syphilis may affect the eye in a number of ways as anterior, posterior or panuveitis associated with vascularitis, or chorioretinitis [7, 8]-[5]. Neurosyphilis is usually categorized as: asymptomatic, meningovascular, parietic, ocular and tabetic neurosyphilis [9]. Therefore, ocular syphilis is considered as neurosyphilis. However, in our experience patients with ocular syphilis may present with a nonreactive CSF-VDRL test and normal CSF index and no clinical neurological or psychiatric manifestations consistent with neurosyphilis. The mechanisms underlying the development of syphilitic uveitis and neurosyphilis remain poorly understood. There are incertities regarding the link between uveitis and neurosyphilis with some patients being presenting intraocular inflammation and infectious syphilis without abnormalities in CSF. Further investigations are needed regarding ocular syphilis and its link with neurosyphilis.

T. pallidum can invade the CNS at any stage of infection and provokes robust cellular immune response [10]. In the eye, syphilis affects the RPE, retina, optic nerves, anterior segment but hypothesis remain about this corresponding to a direct invasion of spirochetes or a hypersensitivity mechanism. In the non-human primate models, strong T helper (Th) 1-type and Th17 immune response contribute to the clearance of *T. pallidum* in CNS with local production of IFN- γ -producing Th1 subset likely participating in this process [9-11]. The immune response elicited during infection, although aimed to eliminate organisms, is also responsible for the pathogenesis. Th17 also mediates strong immunopathology in chronic infection [13].

No studies have documented quantitative and qualitative alterations in cytokine production in syphilitic uveitis. In this study, we analyzed cytokine, chemokine and growth factors production in the serum and intraocular aqueous humor (AqH) in patients with syphilis uveitis, using Luminex® analysis.

Those analyses may clarify the mechanisms of syphilis-related ocular damages and enable a better understanding of the disease pathogenesis.

Methods

Ethics statement and subjects

This study was performed at the CHNO des Quinze-Vingts Hospital between 2014 and May 2016. The study was approved from French institutional review boards (registration number 13934 at CPP-Ile-de-France, Hôpital St-Antoine) and was performed according to the Declaration of Helsinki. Written informed consents to participate to the study were obtained from all participants.

Patients were identified and referred for enrolment by ophthalmologists after careful examination and evaluation by infectious disease specialists.

Syphilis was diagnosed at each stage of infection by a combination of compatible history, clinical features and the results of non treponemal and treponemal tests of serum and CSF samples when performed.

The exclusion criteria include prior history of uveitis or history of syphilis treatment; history of systemic inflammation, autoimmune disease, other underlying acute or chronic disease, receiving anti-inflammatory medications, immunocompromised conditions excepted HIV infection, or use of antibiotics or immunosuppressive medications in the last four weeks.

Since it is difficult to collect AqH from healthy donors, 47 patients who underwent cataract extraction (27 women and 20 men; median age 71 years [30-100 years]) with no history of uveitis served as a control group. Sera and AqH samples were collected prior to cataract extraction. The baseline level of cytokines/ chemokines in AH was determined using samples from the control group. Twenty-seven AqH have been analysed and 47 sera from controls patients with cataract.

Blood and AqH samples obtained from 16 patients with ocular toxoplasmosis (TU) (62.5 % men and 37.5% women; median age 35 years [range 16–69 years]) served as disease controls. The same exclusion criteria than for the uveitis group applied to the healthy donors and they did not have any clinical symptoms consistent with *T. pallidum* infection or HIV infection. Exclusion criteria was glaucomatous and diabetes because elevated IL-6 and IL-8 levels were also reported in glaucomatous aqueous with elevated IOP and diabetes [13,14].

Paired samples of AqH and serum were obtained from each subject at the time of clinical diagnosis for laboratory analysis. AqH samples (100–150 µL) were collected through anterior chamber paracentesis and stored, along with serum samples, at –80°C until analysis.

Analysis used the Luminex® technology. Quantitative determination of 29 cytokines or chemokines (IFN γ , IL-1 receptor antagonist [IL-1Ra], IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-8 (CXCL8), IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, IL-17, CXCL10 [IFN γ –inducible 10-kd protein (IP-10)], granulocyte-macrophage colony-stimulating factor [G-CSF], granulocyte-macrophage colony-stimulating factor [GM-CSF], CCL2 [monocyte chemotactic protein 1 (MCP-1)], CCL3 [macrophage inflammatory protein 1 α (MIP-1 α)], CCL4 [MIP-1 β], CCL5 (RANTES), CCL11 (Eotaxin) and tumor necrosis factor α [TNF- α], Fibroblast growth factor [FGF Basic], Platelet-derived growth factor [PDGF-BB], Vascular endothelial growth factor [VEGF]) was performed in culture supernatant using an Invitrogen Human Cytokine 27-Plex Panel. The 27 plex was enriched with and one separate Invitrogen Human Cytokine 2-Plex Panel for IL-21, IL-23 and in accordance with the manufacturer's protocol (BioRad®). The assay plate layout consisted in a standard series in duplicate (1 to 32 000 pg/mL), four blankwells and 20 mL duplicates of AqH samples, diluted to 50 μ L with BioPlex Human serum diluent.

Additional information on the patient groups were presented in Table 1.

Diagnostic criteria for neurosyphilis

The case for inclusion of an adult patient in the study is defined as intraocular inflammation. All ocular syphilis patients have positive treponemal serology (positive Treponema palladium haemagglutination assay [TPHA] and Venereal Disease Research Laboratory [VDRL]) tests. The result of Enzyme immunoassay test (EIA) was only obtainable for some patients. Those with negative VDRL results (treated or inactive syphilis) were excluded from the study in accordance with the classification of syphilis' infection, set by the French Institute for Public Health Surveillance [15]. Files were reviewed to obtain the following data: demographics, systemic signs, eye examination findings, and serological data.

The diagnosis of syphilis (primary, secondary, tertiary or neurosyphilis) was performed in accordance with the “2014 European Guidelines on the Management of Syphilis” [16].

The diagnosis of confirmed neurosyphilis includes reactive CSF-VDRL (Venereal Disease Research Laboratory) in the absence of substantial contamination of CSF with blood.

Presumptive neurosyphilis was defined as a nonreactive CSF-VDRL test with either or both of the following: (i) CSF protein concentration >45 mg/dl or CSF white blood cell (WBC)

counts $\geq 8/\mu\text{l}$ in the absence of other known causes for the abnormalities; (ii) clinical neurological or psychiatric manifestations consistent with neurosyphilis without other known causes for such abnormalities [9].

Asymptomatic neurosyphilis was defined by the presence of CSF abnormalities consistent with neurosyphilis and the absence of neurological/ psychiatric symptoms or signs. The symptomatic forms of neurosyphilis should have no other known causes for these clinical abnormalities.

Ocular neurosyphilis was defined by the presence of CSF abnormalities consistent with neurosyphilis or normal CSF index and ocular signs of uveitis. The classification of uveitis used was the anatomical classification (the International Uveitis Study Group (IUSG) [17].

Ocular toxoplasmosis (TU)

The diagnosis of TU was confirmed by real-time PCR detection of *Toxoplasma* DNA or a Goldmann-Witmer test to prove intraocular specific antibody synthesis. Patients who were immunocompromised, suffered from other ocular infections, or received local or systemic anti-*Toxoplasma* treatment for active uveitis, were excluded.

Statistical analysis

Data were presented as median and range (min, max). Nonparametric Mann-Whitney tests were performed to compare continuous variables, as appropriate. P values less than 0.05 were considered significant. The statistical analyses were performed using GraphPad Prism version 6.0.

Results

In this study, we measured the concentration of 29 cytokines in aqueous samples of 9 patients with syphilitic uveitis (89% men and 11% women; median age 50 years [range 34–72 years]), 16 TU and 47 otherwise healthy cataract patients without ocular inflammatory conditions.

Among syphilitic eyes, two eyes presented a panuveitis, five a posterior uveitis and one eye an association of posterior uveitis and intermediate uveitis. Three patients (3 eyes) presented a neurosyphilis diagnosed on lumbar puncture. Three patients had neurosyphilis ascertain on CSF results. One patient had a presumptive rhombencephalitis but acellular CSF and was classified as secondary syphilis.

-Increased expression of Th1- and Th17-related cytokines in patients with uveitis syphilis. Cytokine production in controls, eyes with uveitic syphilis, and disease controls (TU) are shown in figures 1 and 2.

Patients with uveitic syphilis had significantly increased serum levels of IL-1 β compared with patients with TU and controls (median 53 versus 15 and 9 pg/mL, respectively [p= 0.0051 and p=0.0173, respectively]). They had also significantly increased serum levels of TNF- α compared with patients with TU and controls (median 39 versus 30.5 and 73 pg/mL, respectively [p= 0.00107 and p=0.0247, respectively]). Patients with syphilitic uveitis had increased serum levels of IL-7 compared with controls (median 7,348 versus 5,236 pg/mL, [p= 0.0204], of IL-9 compared with controls (median 35.96 versus 57.55 pg/mL, [p= 0.0357] and of PDGF-BB (median 2,650 versus 1,800 pg/mL [p= 0.0410]).

No differences between patients with syphilitic uveitis, patients with TU, and controls donors were observed for the remaining cytokines in serum, IL-4 (8.516 versus 4.971, and 6.124 pg/ml, respectively), IL-2 (0 versus 0.5589, and 0 pg/ml, respectively), IL-10 (7.373 versus 5.410, and 7.811 pg/ml, respectively), IL-12 (30.16 versus 23.89, and 23.85 pg/ml, respectively) and FGF basic (61.67 versus 61.20, and 39.76 pg/ml, respectively).

Patients with syphilitic uveitis had significantly increased cytokines/ chemokines in AqH compared with patients controls: of IL-1 β (mean 1.68 versus 0 pg/ml [p=0.0004], of IL-8 in AqH (67.32 versus 2.7 pg/ml, respectively [p<0.0001 versus controls]), of IL-7 compared (46.4 versus 7.6 pg/ml [p=0.0835 versus controls]), of IL-10 (7.16 versus 0.35 pg/ml (p= 0.033 versus controls), of IL-17 (0.48 versus 0 pg/ml [p= 0.065 versus controls), of IL-1R α (46.08 versus 0.8 pg/ml [p=0.062 versus controls), of IFN- γ (26.25 versus 0 pg/ml [p=0.003, versus controls), of TNF- α (0 versus 0 pg/ml [p=0.0153]), of MCP-1 (445 versus 59 pg/ml [p<0.0001 versus controls]), of MIP-1 α (1 versus 0 pg/ml [p=0.038 versus controls]), of MIP-1 β (32 versus 0 pg/ml [p=0.0002 versus controls]), of IP-10 (37,818 versus 284 pg/ml [p<0.0001 versus controls]), VEGF (33 versus 0 pg/ml, respectively [p=0.0091, versus controls]).

IP-10, G-CSF and MCP-1 were increased in all syphilitic uveitis samples compared with controls (for IP-10, mean \pm SD 58,700 \pm 60,144 pg/mL versus, 395 \pm 379 pg/mL [p<0.0001]; for G-CSF 1,323 \pm 3,375 pg/mL versus 1.5 \pm 1.9 [p<0.0001]; for MCP-1, 1098 \pm 1172 pg/mL versus 60.2 \pm 56.8 pg/mL [p<0.0001]). The levels of G-CSF, IP-10 and MCP-1 were higher in

the aqueous humour of patients with panuveitis (n=3) than in patients with posterior uveitis (n=6).

No differences between patients with syphilitic uveitis, patients with TU, and controls donors were observed for the remaining cytokines in AqH, IL-9 (0 versus 1.599, and 0 pg/ml, respectively), and IL-13 (1.153 versus 0.07694, and 0.0990 pg/ml, respectively).

-Selective cytokines in syphilis compared with TU: Therefore, patients with uveitis syphilis had significant increased levels of IL-1 β and TNF- α in serum compared with patients with TU, of IL-6 in serum compared with patients with TU (7 versus 2 [p=0.00476]), and of eotaxin compared with TU (109.7 versus 51.64 [p=0.0165]) but also of IL-8, IL-13, IFN- γ and eotaxin in serum.

In syphilitic uveitis, the cytokines and growth factors, IL-7, IL-10, IL-17 and VEGF were increased but not in TU (figures 1 and 2).

Specific expression of Th1- and Th17-related cytokines in patients with TU. Cytokine production in controls, eyes with uveitic syphilis, and disease controls (TU) are shown in figures 1 and 2. In TU other inflammatory cytokines were elevated in serum compared with syphilis (IFN- γ (361.9 versus 91.74 [p=0.029]).

In TU other cytokines were elevated in serum compared with controls: IL-17, eotaxin, PDGF-BB.

Patients with TU had significantly reduced IP-10 in serum and IL-23 in AqH compared with patients controls.

-Cytokines in neurosyphilis patients and panuveitis.

Cytokine production among eyes with uveitic syphilis, between panuveitis and posterior uveitis is shown in Table 1 and Fig 1.

Uveitis in neurosyphilis eyes was associated with increased levels of local Th1 (IL-2, TNF- α IFN- γ) and Th17 (IL-1 receptor, IL-17, and IL-23) cytokines compared with control eyes: Aqueous TNF- α was markedly increased in 2 neurosyphilis (cases 1 and 5) and in one with panuveitis (case 6). IL-23 was increased in one eye with neurosyphilis (case 5) compared with controls. Aqueous IL-2 was markedly increased in one neurosyphilis (case 5). In 2 eyes with neurosyphilis (cases 2 and 5), aqueous and serum IFN- γ and TNF- α was markedly elevated compared with control. AqH IFN- γ was markedly elevated in one panuveitis (case 6).

Regarding the frequency of Th17 cytokines, aqueous IL-17 was significantly increased in 3 eyes, 2 of them had neurosyphilis (cases 1 and 5).

Additionally, we observed a large proinflammatory response with increased levels of IL-6, IL-1 β , IL8, MIP-1 β , MCP-1 and G-CSF; increased levels of AqH IL1- β and IL-6 were found in panuveitis (cases 1 and 6). These patients also possessed a corresponding anti-inflammatory response was based on the presence of IL-4, IL-10, RANTES and IL-1R α . IL1-R α , was increased in patients with panuveitis compared with posterior uveitis and were significantly higher in the panuveitis group (cases 1 and 6) than in healthy donor. IL-8 in 2 panuveitis patients were increased compared with syphilitic posterior uveitis and control patients. RANTES was increased in 2 neurosyphilis (cases 1 and 5).

Increased CRP in serum was detected from 2 patients with syphilitic uveitis (12 and 26 pg/mL), in 2 patients with panuveitis (cases 1 and 6) and none in neurosyphilis. One CRP was increased in patient 9 but history of abdomen surgery one week ago.

Discussion

T. pallidum remains one of the human pathogens that cannot be cultivated *in vitro* to-date. A suitable animal model for studying the pathogenesis of syphilis is also lacking. These obstacles have greatly hindered the effort of elucidating the basic immunobiological traits of syphilis. As a consequence, little is known about how *T. pallidum* causes damage to the central nervous system and to the eye.

T helper (Th)1 and Th2 cells have been associated with specific immune responses due to the cytokines they secrete. Th2 cells mediate the activation and maintenance of the humoral, or antibody-mediated, immune response against extracellular parasites, bacteria, allergens, and toxins by producing various cytokines such as IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-13, and IL-17E (IL-25) which up-regulate antibody production, eosinophil activation, and inhibit several macrophage functions, thus providing phagocyte-independent protective responses. Th2 cells activate B cells, which are adapted for defence against parasites. For intracellular infections by viruses and bacteria and micro-organisms that grow in macrophages, the presence of Th1 cytokines (secreting IFN- γ and TNF- β) is considered necessary. Conversely, for large extracellular parasites such as helminths, Th2-type cytokines (IL-4 and IL-5) have been considered most protective.

This study also allowed us to characterize the cytokine spectrum in cataract patients, considered free of any ocular inflammation, which thus represents the composition of normal AqH. The distribution of cytokines in 27 controls was very homogeneous. We had excluded patients with an eye disease history (glaucoma, age-related macular degeneration, or diabetic retinopathy) [13,14]. However, mean age was different between cataract controls and patients with uveitis: 71 vs 50 years, respectively.

As previous studies have shown, some cytokines or chemokines, such as IL-1 β , IL-1Ra, TNF- α , IL-12(p70), IL-7, IL-10, IL-17, IL-9, IL-15, MIP1 α , MIP-1 β , and MCP-1, are present in the eye without any inflammation. Growth factors like VEGF or FGF are also detectable in AqH of controls [20-24].

In this study, we observed an elevated aqueous IL-17 in patients with syphilitic uveitis. Th17 cells secrete IL-17, IL-17F, IL-6, IL-22 and TNF- α and appear to play an integral role in both tissue inflammation and activation of neutrophils to combat extracellular bacteria.

IL-17 results in an increased production of ICAM-1, IL-6 and IL-8, and an increased synergy of many effects of IL-1 β and TNF- α , which enhances the local inflammation and leads to inflammatory destruction [18,19]. A similar scenario has been observed in CSF in neurosyphilis patients and in other infectious and auto-immune CNS disorders [15,16].

A number of studies have reported the changes of aqueous cytokines in different clinical entities of uveitis, including infectious uveitis like toxoplasmosis, noninfectious like Behcet's disease, Vogt-Koyanagi-Harada (VKH) disease, HLA-B27-associated anterior uveitis, Fuchs heterochromic cyclitis (FHC) and other clinically idiopathic uveitis [25-29]. In patients with uveitis, irrespective of the cause, the intraocular cytokine network is extremely modified, compared with that of the control group. In addition, cytokine profiles are highly homogeneous within each group with a low inter individual variation, as demonstrated in previous studies, except for idiopathic uveitis [29,30,31]. By a comparison of the intraocular concentrations of each cytokine in each patient group, some cytokines seem to be particularly over expressed in certain etiologies of uveitis [31].

Commonly found changes associated with intraocular inflammation regardless of disease etiology are increased IL-6, IP-10, MCP-1, IL-8 levels and G-CSF and we confirmed these findings in our study of TU and syphilitic uveitis [32]. Interestingly, patients with syphilis had significant increased levels of IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-13, IFN- γ , eotaxine and TNF- α in serum compared with patients with TU.

In TU, Sauer et al. found that IL-17 levels were augmented but also: IL-15, IFN- γ , IL6, IL5, IL8, MIP-1 β , MIP-1 α , MCP-1, IP10, G-CSF, RANTES, Eotaxin, PDGF-BB [24]. Our study was consistent with those findings excepted that we also found increased IL1 β , IL4, IL9, IL10, IL12, IL13, IL23, VEGF. Sauer and al, stated that IL-1 β levels were markedly increased in viral uveitis, as were IL-10 levels [24], however, these 2 cytokines were also found in toxoplasmosis in our study.

We found similar changes of these cytokines in syphilitic uveitis patient samples with increased IP-10 (58699 pg/mL), MIP-1 β (38.7 pg/mL) and IL-8 (450 pg/mL) levels as revealed by the classification analysis. MCP-1, MIP-1 β and IL-8 are chemokines involved in neutrophil and monocyte recruitment. MCP-1, MIP-1 β and IP-10 also regulate the polarization of T helper cells into Th1 versus Th2 cells [33].

MCP-1 is the main chemokine responsible for recruiting inflammatory monocytes to tissues [34]. Certain individuals are genetically programmed to produce copious amounts of MCP-1, and these individuals were reported to be at higher risk of developing severe forms of diseases implicating macrophages in their pathophysiology, including atherosclerosis, tuberculosis, sarcoidosis, lupus erythematosus [34-37]. The intraocular leucocytes are able to transcribe genes of IP-10 and MCP-1 in toxoplasmosis with brain involvement. To obtain an adaptive immune response against an intracellular pathogen requires to recruit T cells effectors towards the site of infection. Because we found increased aqueous IFN- γ in syphilis and TU and we know that T cells produce IFN- γ , T cells make the way to leucocytes towards the intraretinal parasites via IFN- γ . T cells CD8⁺ cytotoxic are recruited in tissues where they play a role in the host response toward the intracellular pathogen, like *T. gondii* in producing IFN γ and in lysing the infected cells [137].

Khan et al. showed in mice naturally infected with *Toxoplasma gondii* that IP-10 is a specific chemoattractant for activated T cells, it plays a role in the localization and function of effector T cells at sites of Th1 inflammation [35]. Our present results suggest that the markedly increased production of IP-10 in AqH and sera can mediate the transfer of inflammatory cells to lesion sites.

We observed a significant increase of other proinflammatory cytokines in syphilitic uveitis samples mainly in HA compared with controls (i.e. IL-1 β , IL-6, TNF- α). An important finding is that increased aqueous cytokines/ chemokines such as IP-10 (Th1 marker), G-CSF, MCP-1 were consistently found higher than controls in almost all our syphilitic uveitis.

Among them, two eyes with panuveitis had significant higher levels of those cytokines in HA compared with patients with posterior uveitis.

Proinflammatory cytokines/ chemokines such as: TNF- α , IL 2, IFN- γ (in HA and serum), IL17, IL 23, RANTES, PDGF-BB, IL-10, IL-12 were elevated in aqueous of 2 patients with neurosyphilitis. Proinflammatory cytokines/ chemokines such as: TNF- α , IFN- γ , IL1-R α , IL-1 β , IL-6, IL-7, IL-8, eotaxin, PDGF-BB were elevated in HA from 2 patients with panuveitis. We found several evidence supporting an intraocular origin of the induced cytokine/chemokines; no correlations between serum and AqH levels, the levels being of higher magnitude in AqH compared to serum for IL-6, and increased chemokine aqueous production indices for IL-2, IL-5, IL-8, IL-10, IL-12, IL-17, IFN- γ , TNF- α , MIP-1 α , MIP-1 β , IP-10, RANTES, Eotaxine, PDGF-BB and VEGF without increased level in serum. However, IL-1 β and IL-1R α levels were also increased in serum (IL-23 has not been measured yet in the serum for controls).

The G-CSF levels in the AqH were significantly higher in syphilitic uveitis than controls, and did not correlate with the serum concentration of G-CSF that was not increased excepted in one syphilitic uveitis. Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) is a haematopoietic growth factor that increase the numbers of neutrophils *in vivo* and modulate neutrophil functions. G-CSF may also induce the production of cytokines such as tumour necrosis factor alpha (TNF- α) [38].

The IP-10 levels in the AqH were significantly higher in syphilitic uveitis than controls, and did correlated with the serum concentration of IP-10 that not increased in 3 syphilitic uveitis. IP-10 is expressed in many Th1-type human inflammatory diseases (e.g. neuromyelitis optica, atherosclerosis, rheumatoid arthritis, sarcoidosis) [39,40,41]. Elevated levels of IP-10 have been found in active anterior uveitis but were not found different between infectious and noninfectious uveitis [43].

MCP-1 is the main chemokine responsible for recruiting inflammatory monocytes to tissues. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) and IL8 have been identified as leukocyte chemotactic factor and have the ability to attract leucocytes [44].

In the human, IL-8, MCP-1 appear to be elevated in aqueous samples of patients with active anterior uveitis [29].

When panuveitis was studied independently (figure 1), the increase of inflammatory cytokines is higher than in posterior or intermediate plus posterior uveitis syphilis. Panuveitis

corresponds to inflammation in the anterior chamber of patients with infiltrated leukocytes observed. Consistently, only three patients with panuveitis were part of the study.

Increased IL-17 levels in cerebrospinal fluid (CSF) in neurosyphilis patients have been reported by a previous group [9]. A similar scenario has been observed in infectious and auto-immune CNS disorders [22,23]. Among the 3 neurosyphilis in our study, e.g. CNS with inflammatory reaction, we found two cases with increased IL-17. Wang et al, also showed that in neurosyphilis patients had increased levels of Th17 cells in peripheral blood by examining the frequency of IL-17+ cells among lymphocytes, CD3+, CD4+T populations in peripheral blood mononuclear cells (PBMC). They compared the Th17 cell frequency in PBMC between patients with symptomatic neurosyphilis and patients with asymptomatic neurosyphilis. Those symptomatic had significant higher percentage of total IL-17+cells, CD3+IL-17+ and Th17 in PBMC than the patient group with asymptomatic neurosyphilis. Noted that the symptomatic neurosyphilis patient group included meningovascular, parietic, ocular and tabetic neurosyphilis.

They found that the level of CSF IL-17 was positively associated with CSF VDRL titer and total CSF protein in neurosyphilis patients.

They did not found any difference between total IL-17+ cells, CD3+IL-17+ and Th17 in PBMC between syphilis patients without neurological involvement (including primary, secondary, latent and serofast syphilis patients) and neurosyphilis patients. Their findings suggest that IL-17 may involve in the CNS damage in neurosyphilis patients [27].

The aim of future studies would be to study levels of Th17 cells in peripheral blood of patients with uveitic syphilis in order to clarify the position of uveitis syphilis among neurosyphilis pathology.

While, we reported similarly an increased IL-17 levels in AqH of syphilitic patients with uveitis, the location of *T. Pallidum* in the eye affected and the mechanism of syphilitic inflammation in the eye remain unknown.

Increased IL-7, IL-10, IL-17 and VEGF in AqH appeared to characterize syphilitic uveitis.

An higher median concentration in serum of IL-1 β , TNF- α , IL-6, Eotaxin, IL-8, IL-13, and IFN- γ was observed in syphilitic uveitis compared with TU.

As far as we are aware, this is the first study which measured a comprehensive range of cytokines in the aqueous of syphilitic uveitis patients and our results showed significant difference in aqueous cytokine concentrations between syphilitic uveitis with and without CNS inflammatory reaction. Moreover, the presence of leucocytes in AqH may cause

significant changes in cytokines concentrations and the inclusion of more patients with CNS inflammatory reaction and syphilitic uveitis is needed.

Clearly further studies are needed to determine intraocular Immunoglobulin related to *T. Pallidum*, cytokines and chemokines in CNS and intraocular TPHA/ VDRL levels in syphilitic uveitis. From now, the techniques of TPHA, VDRL has not been validated in other biologicals fluids other than CSF and blood.

The study has other limitations. The control patients were significantly older than the syphilitic and TU patients and the sex distribution in the syphilitic group was not even. The effect of age and gender on individual cytokine is unknown.

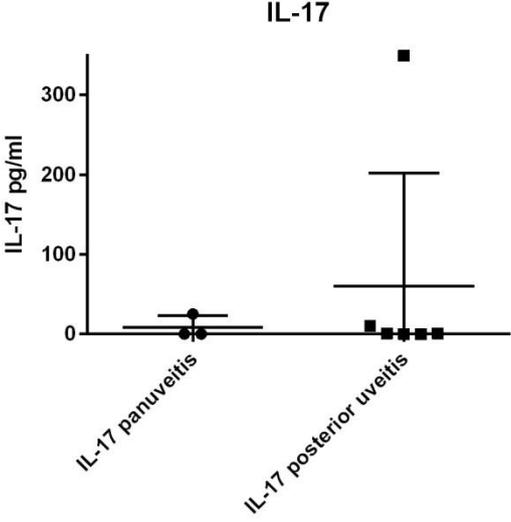
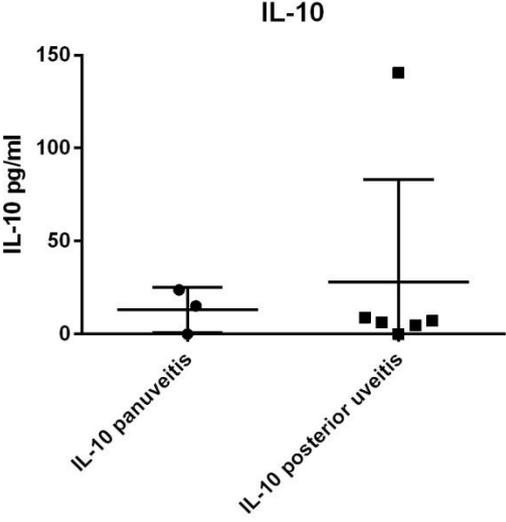
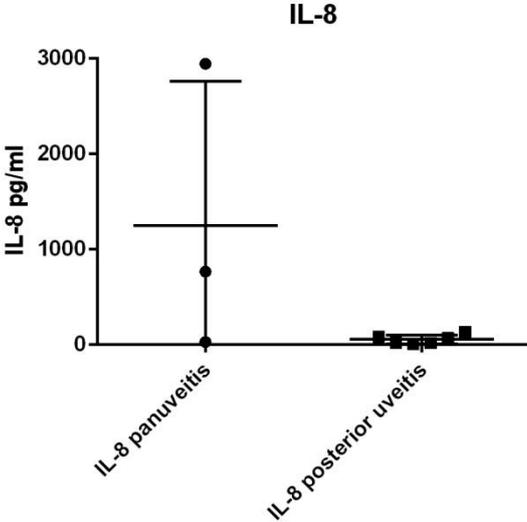
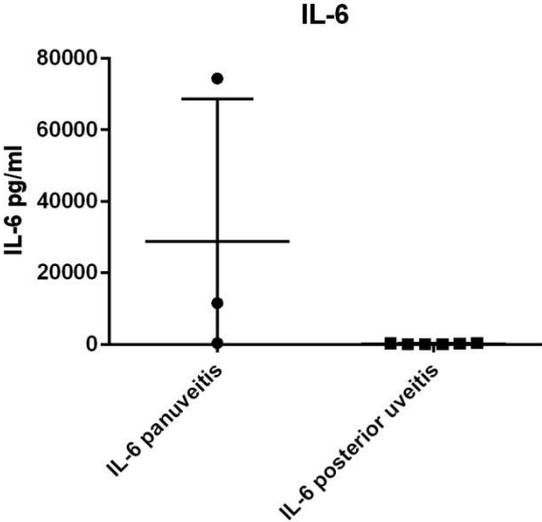
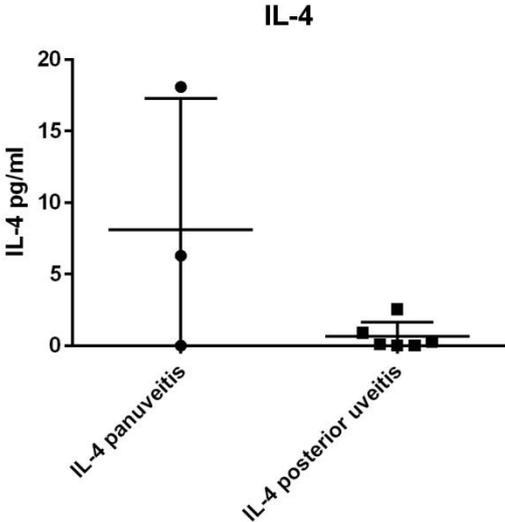
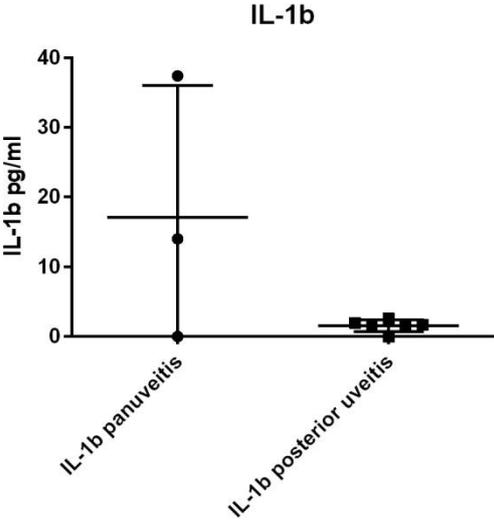
Another limit of the study is the sample size, especially in the syphilis group. This is due to the lack of aqueous samples and to the rarity of the disease. A small percentage of these patients had enough aqueous samples available for the cytokine measurement of 30 cytokines. We use kits for Luminex® concomitant measurement of 27 cytokines and further make measurements of two extra-ones (IL-21, IL23) that requires extra-samples. This is because extra aqueous samples were needed for quantitative PCR analysis and Goldman-Wittmer on samples.

In conclusion, our study showed that the inflammatory changes in syphilitic uveitis aqueous are largely featured by increased chemokines such as Th1 cytokines (IFN- γ), Th17 cytokines (IL-17) and pro-inflammatory cytokines (IL- β , IL-6, IL-8, IP-10, G-CSF, MCP-1 and TNF- α). Our results also showed that the presence of inflammatory reaction in the aqueous and in CNS did cause significant changes in aqueous cytokine concentrations in syphilitic uveitic patients. However, further studies are required to discern whether syphilitic uveitis share the same pathophysiologic mechanisms than neurosyphilis or is a different entity.

Cases	1	4	5	6	8	2	3	7	9
Other	CNS inflammatory reaction= neurosyphilis	Neuro-syphilis	Neuro-syphilis					HIV+ve	
Résultats (pg/mL) for patients with :	Panuveitis	Posterior uveitis	Posterior uveitis	Panuveitis	Panuveitis	Posterior uveitis	Posterior uveitis	Posterior Uveitis	Posterior+ Intermediate uveitis
IL-1 β	37,3	1,6	1,68	14,0	0	1,63833846	1,9	2,5	0
IL-1ra	1522	42,5	46,0	993	189	100,661298	25,8	20,6	0
IL-2	0	0	51,8	0	0	2,05381845	5,3	2,5	0
IL-4	18,0	0,2	2,5	6,25	0	0	0,08	0,9	0

IL-5	4,7	0,4	0	3,2	0	0	0	0	0
IL-6	74386	245,5	277,7	11563	381,9	416	65,1	96,8	38,4
IL-7	131,9	54,3	45,5	103	123,3	44,6614625	31,3	46,4	0
IL-8	2943	79,5	67,3	764	26	132	15,7	18,8	2,5
IL-9	15,6	0	216	0	0	0	1,3	0	0
IL-10	23,8	8,9	140	15,1	0	4,78694763	7,1	6,3	0
IL-12(p70)	31,4	0	294	0	41,9	2,21178793	2,8	0	11,5
IL-13	8,5	1,1	1,9	0,8	12,8	0,9	1,4	1,1	0
IL-15	42,3	14,2	40,1	28,1	0	17,2	15,6	16,7	0
IL-17	25,2	0	349,3	0	0	0	10,0	0,9	0
IL-21	0	0	0	0		0	0	0	
IL-23	0	0	75,2	0		0	0	0	
Eotaxin	115	0	0	0	11,6	0	0	0	3,3
FGF basic	0	0	0	0	11,7	0	0,4	0	0
G-CSF	10262	37,7	109,7	1223	75,0	171,0	1,5	18,4	8,
GM-CSF	0	0	0	0	0	0	8,13	0	0
IFN-g	535	26,2	98,2	218	0	26,2	9,42	7,5	0
IP-10	160792	60721,	75819	150260	12491	20989	7000	37818	2404
MCP-1 (MCAF)	3719	959	1768	1848	250	445	220,5	388	285
MIP-1a	20	0	45,9	13,2	2,9	0	0,9	0	0
PDGF-bb	112	0	735,0	0	128	0	0	0	0
MIP-1b	84	24,9	86,8	49,5	32,5	36,1	11,2	16,9	5,0
RANTES	38,2	0	145,6	0	0	0	0	0	0
TNF- α	207,9	6,8	31,5	82,0	0	0	0	0	0
VEGF	109,4	33,0	35,8	0	222	18,0	28,5	29,9	37,6

Tableau 1. Concentrations in cytokines and chimiokines in aqueous of controls and patients with uveitis syphilis with regards to clinical features of uveitis (panuveitis, intermediate uveitis, posterior uveitis) and CNS involvement or not (neurosyphilis). Neurosyphilis was diagnosed in cases 1, 4 and 5. Results are means (SDs). The cutoff was established by calculating the average value obtained for each cytokine in cataract controls and adding 3 SD. Gray shading represents cases with average values higher than the cutoff of controls.



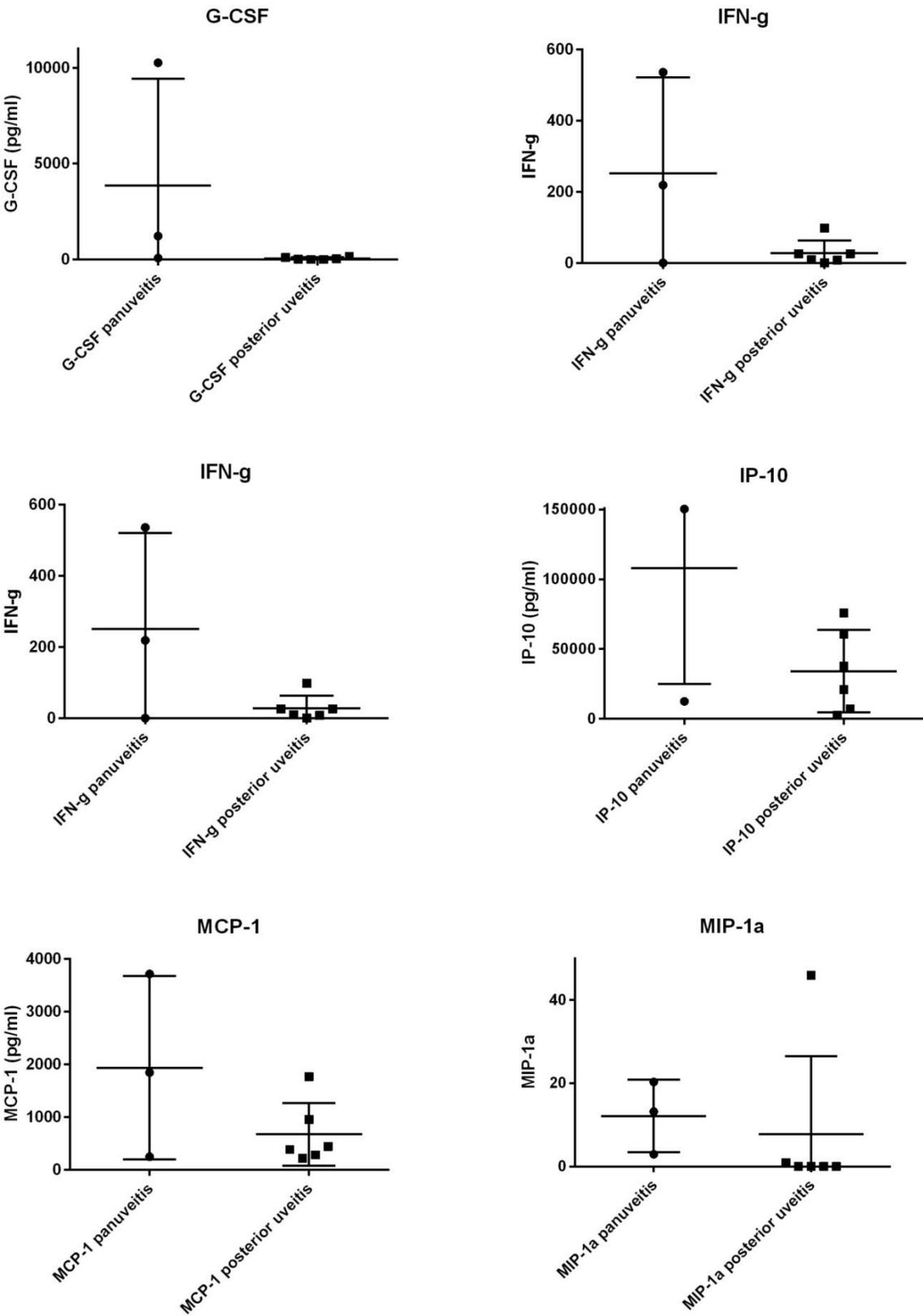
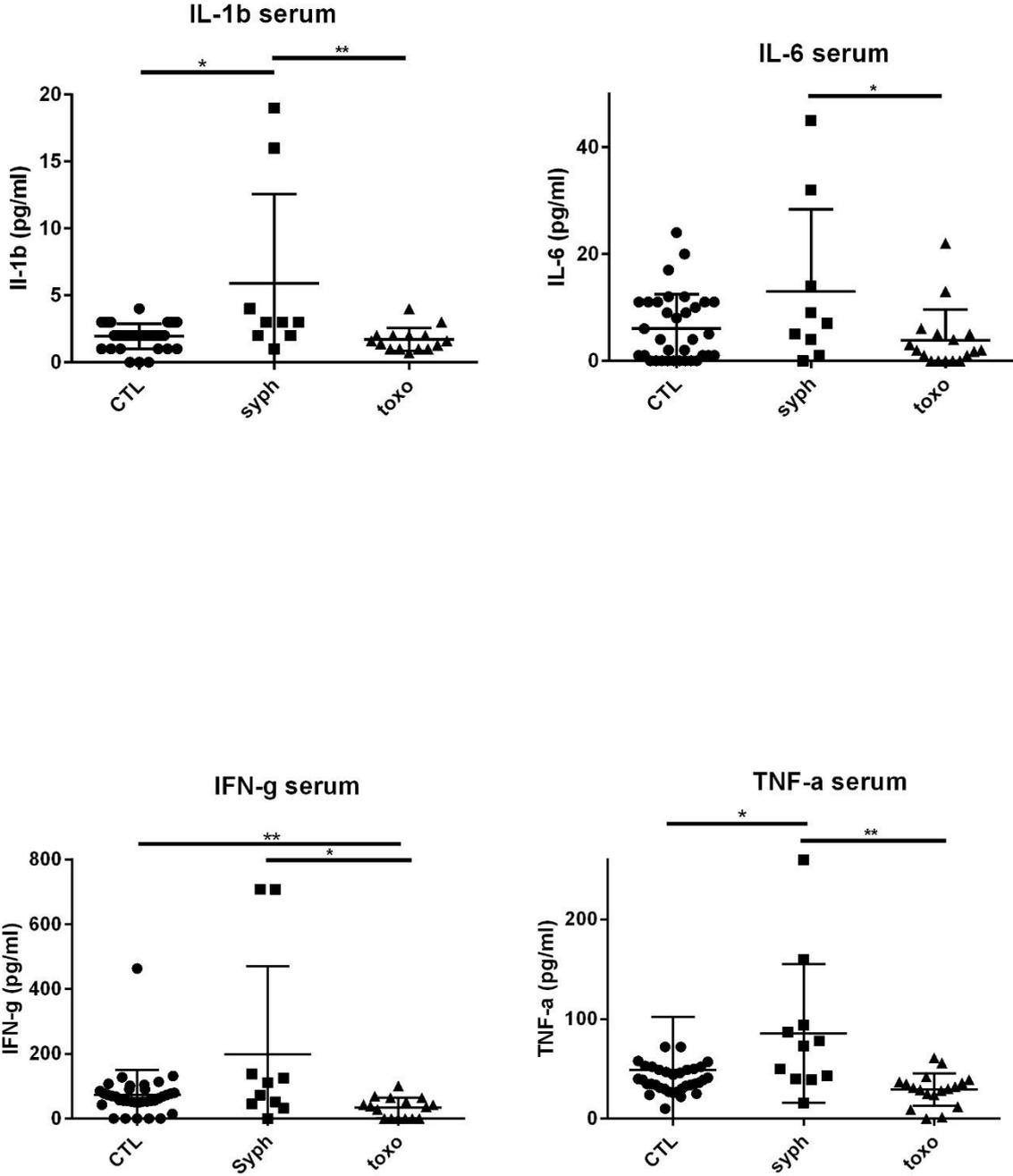
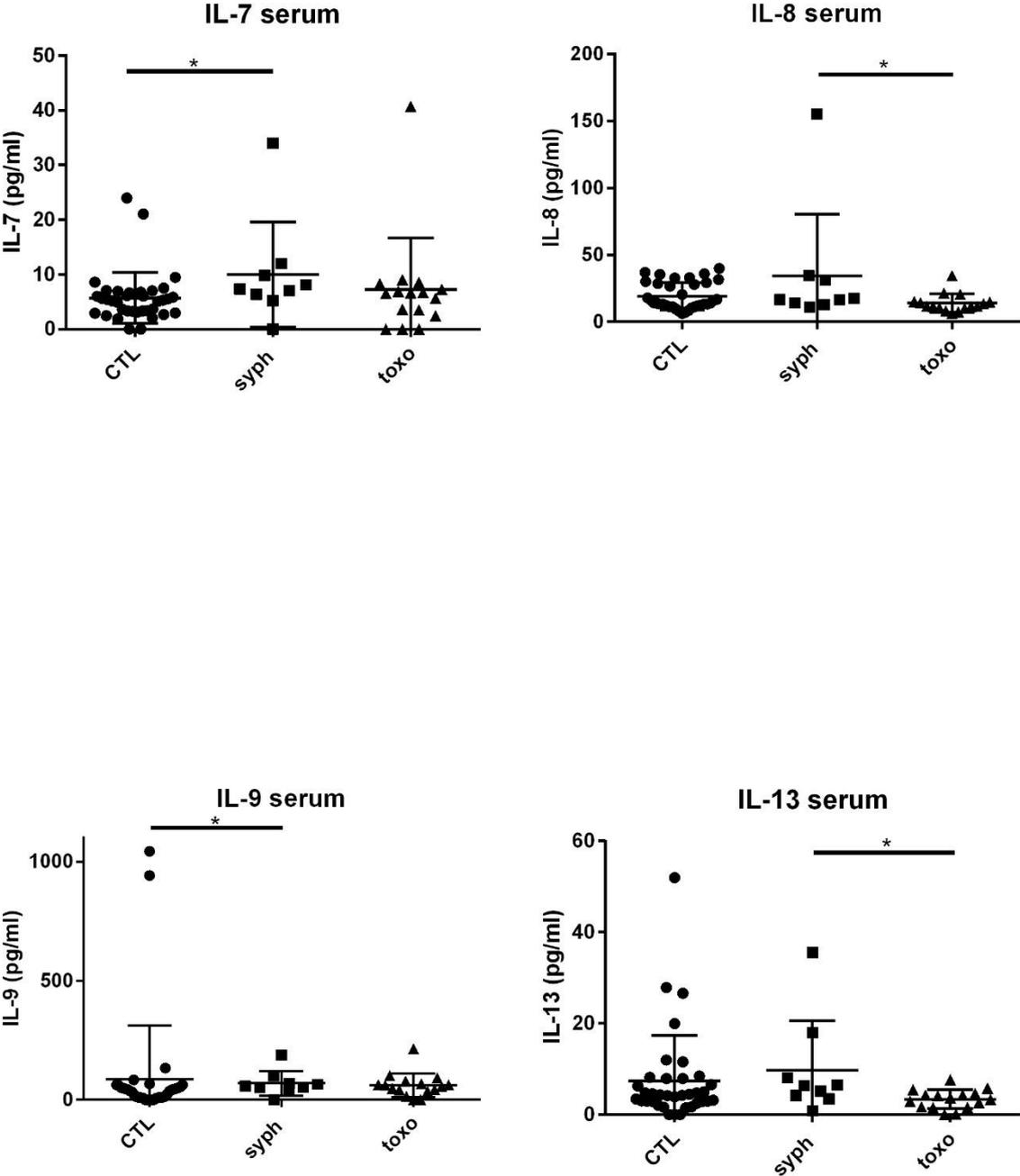


Fig 1. Concentrations in aqueous for IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, G-CSF, IFN- γ , IP-10, MCP-1, and MIP-1 α in patients with syphilitic panuveitis (n=3), and with posterior uveitis \pm intermédiaire uveitis (n=6).





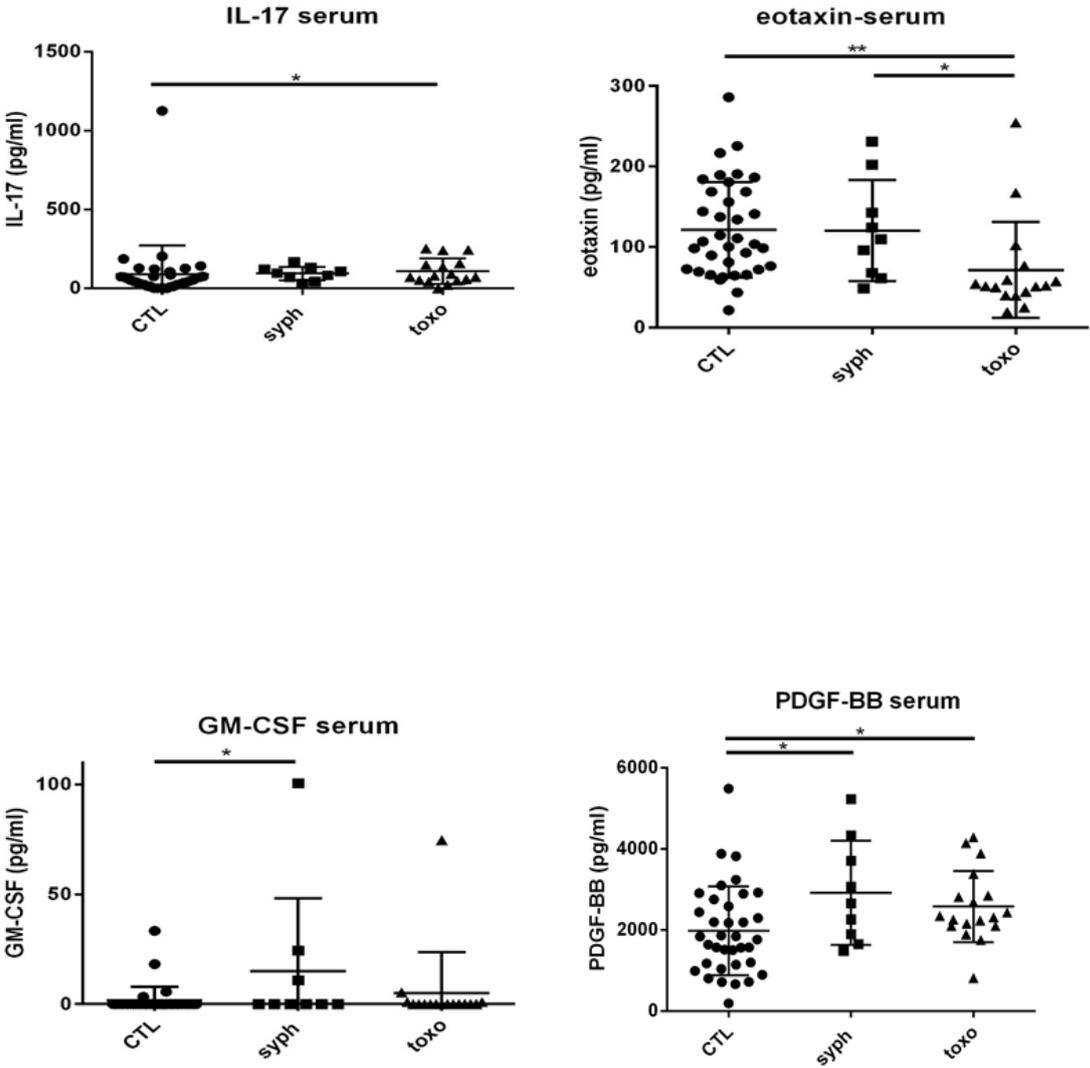
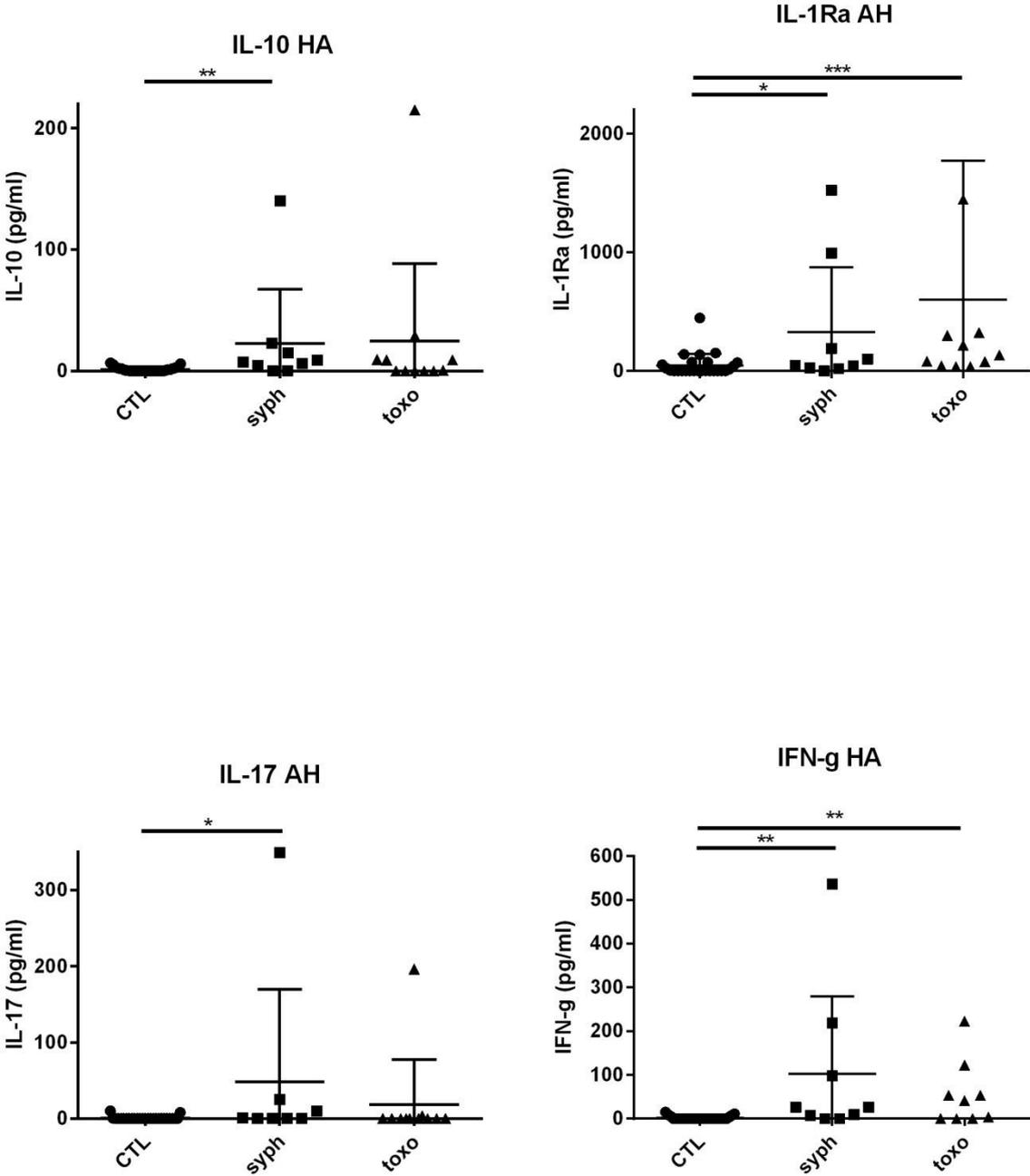
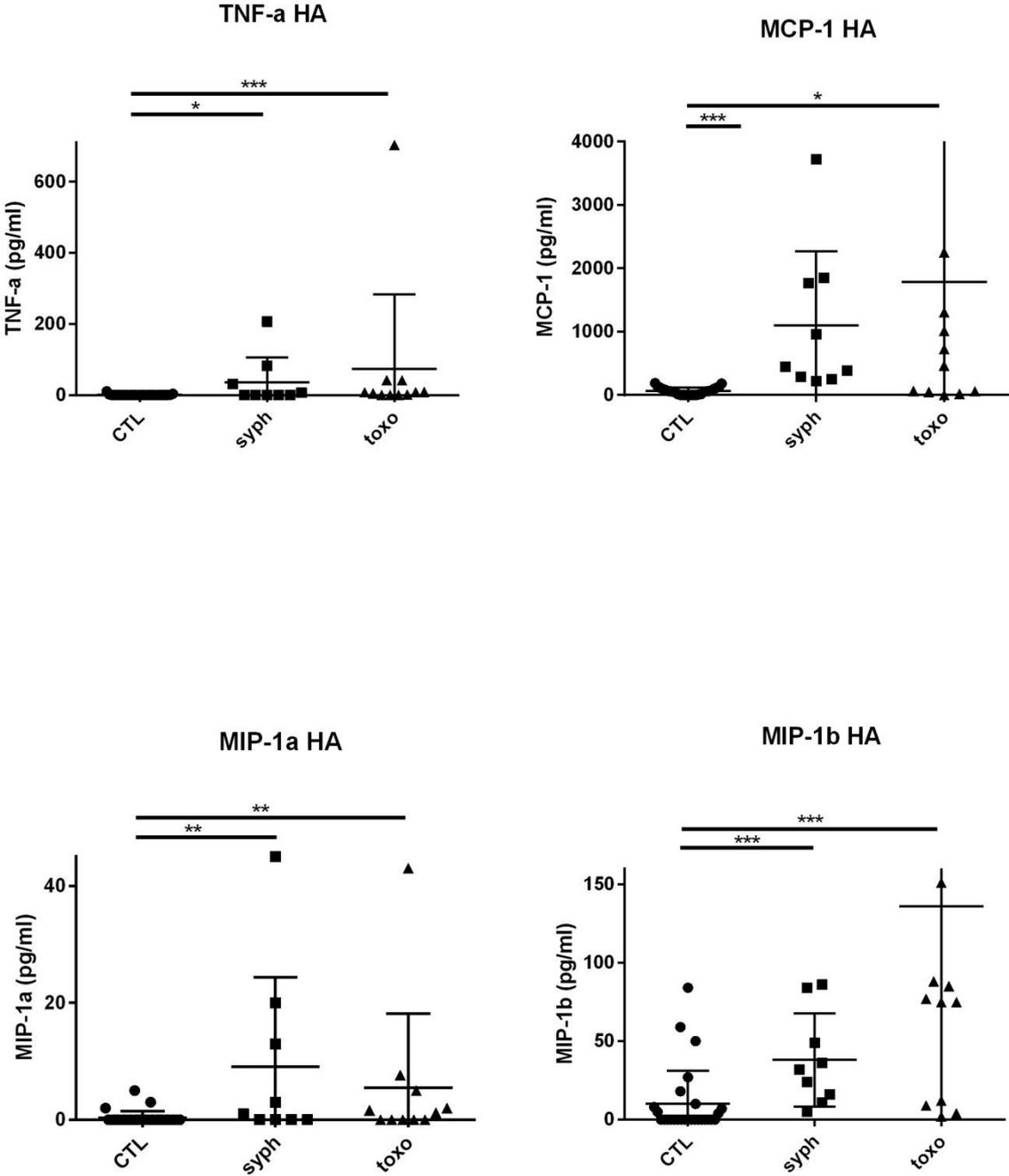


Figure 2. Expression of major cytokines in serum of patients with syphilis (n=9) and toxoplasmosis uveitis (n=16), and controls subjects (n=47). Each symbol represents an individual patient. Horizontal line shows the median.*=P<0.05 ; **=P<0.01; ***=P<0.001.





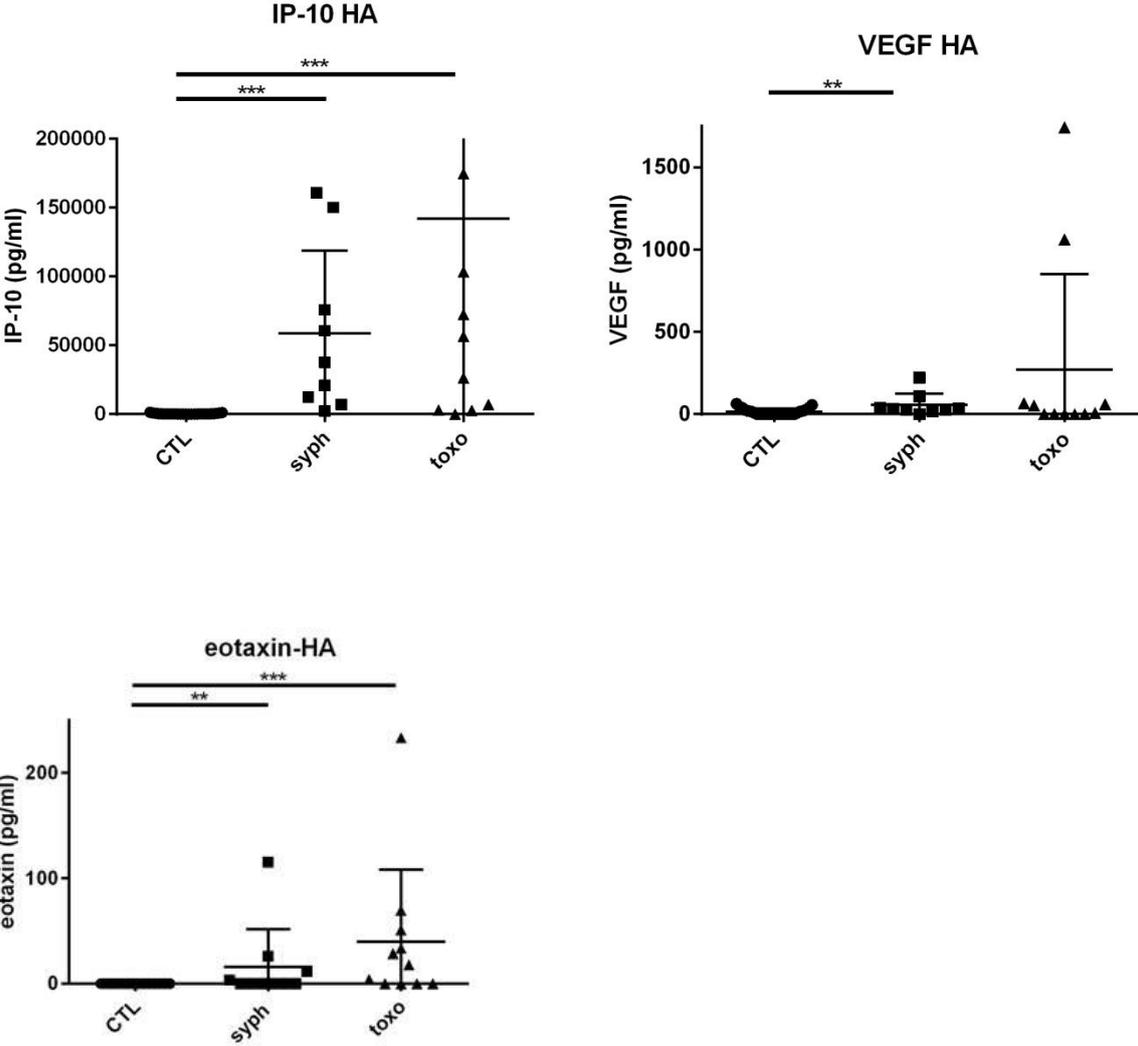


Figure 3. Expression of major cytokines in aqueous humor of patients with syphilis (n=9) and toxoplasmosis uveitis (n=16), and controls subjects (n=47). Each symbol represents an individual patient. Horizontal line shows the median*= $P < 0.05$; **= $P < 0.01$; ***= $P < 0.001$.

References

1. Schmid G, Rowley JT, Samuelson J, Tun Y, Guraiib World Health Organization (WHO) 2005. Global Estimates of the Incidence and Prevalence of Sexually Transmitted Infections (STIs). WHO/CDC Symposium: Congenital Syphilis and the 2005 WHO Estimates of STI Incidence and Prevalence: Using the Second to Help Eliminate the First. 2009
2. Parc CE, Chahed S, Patel SV, Salmon-Ceron D. Manifestations and treatment of ocular syphilis during an epidemic in France. *Sex Transm Dis* 2007;34:553–556.
3. Fenton KA, Lowndes CM. Recent trends in the epidemiology of sexually transmitted infections in the European Union. *Sex Transm Infect* 2004;80:255–263.
4. Mathew RG, Goh BT, Westcott MC. British Ocular Syphilis Study (BOSS): 2-year national surveillance study of intraocular inflammation secondary to ocular syphilis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55:5394-400.
5. Ghanem KG. REVIEW: Neurosyphilis: A historical perspective and review. *CNS Neurosci Ther* 2010;16(5):e157-68
6. Kiss S, Damico FM, Young LH. Ocular manifestations and treatment of syphilis. *Semin Ophthalmol* 2005;20:161–167.
7. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted Diseases–Syphilis Statistics. Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention; 2010. Available at: <http://www.cdc.gov/std/syphilis/stats.htm>. Updated February 13, 2013.
8. Samson CM, Foster CS. Syphilis, chapter 15. In: Foster CS, Vitale AT, eds. *Diagnosis and Treatment of Uveitis*. Philadelphia, PA: WB Saunders; 2001:237–243.
9. Wang C, Zhu L, Gao Z, Guan Z, Lu H, Shi M, Gao Y, Xu H, Yang XF, Zhou P. Increased interleukin-17 in peripheral blood and cerebrospinal fluid of neurosyphilis patients. *PLoS Negl Trop Dis* 2014;8(7):e3004
10. Marra CM, Castro CD, Kuller L, Dukes AC, Centurion-Lara A, Morton WR, Lukehart SA. Mechanisms of clearance of *Treponema pallidum* from the CSF in a nonhuman primate model. *Neurology* 1998;51:957-61
11. Strydom G, Klein I, Brügger MC, Kohlhofer S, Brunner PM, Spazierer D, Müllauer L, Petzelbauer P, Stingl G. Host defense mechanisms in secondary syphilitic lesions: a role for IFN-gamma-/IL-17-producing CD8+ T cells? *Am J Pathol* 2010;177:2421-32

12. Burchill MA, Nardelli DT, England DM, DeCoster DJ, Christopherson JA, Callister SM, Schell RF. Inhibition of interleukin-17 prevents the development of arthritis in vaccinated mice challenged with *Borrelia burgdorferi*. *Infect Immun*. 2003;71:3437-42
13. Perez VL, Caspi RR. Immune mechanisms in inflammatory and degenerative eye disease. *Trends Immunol*2015;36:354-63
14. Du S, Huang W, Zhang X, Wang J, Wang W, Lam DS. Multiplex cytokine levels of aqueous humor in acute primary angle-closure patients: fellow eye comparison. *BMC Ophthalmol*2016;16:6
15. Basse-Guérineau, A.-L., Dupin, N., Ebel, A., El Ghouzi, M.-H. & Janier, M. Diagnostic Serologique de la syphilis. at :http://www.invs.sante.fr/publications/2004/diag_ser_syphilis_230604/diag_ser_syphilis.pdf
16. Janier M, Hegyi V, Dupin N, Unemo M, Tiplica GS, Potocnik M, French P, Patel R. 2014 European Guideline in the Management of the Syphilis. at:<http://www.iusti.org/regions/europe/pdf/2014/2014SyphilisguidelineEuropean.pdf>
17. Jabs DA, Nussenblatt RB, Rosenbaum JT. Standardization of Uveitis Nomenclature (SUN) Working Group. Standardization of uveitis nomenclature for reporting clinical data. Results of the First International Workshop. *Am J Ophthalmol* 2005;140:509-516.
18. Katz Y, Nadiv O, Beer Y. Interleukin-17 enhances tumor necrosis factor alpha-induced synthesis of interleukins 1,6, and 8 in skin and synovial fibroblasts: a possible role as a “fine-tuning cytokine” in inflammation processes. *Arthritis Rheum* 2001;44:2176–2184.
19. LeGrand A, Fermor B, Fink C, Pisetsky DS, Weinberg JB, et al. Interleukin-1, tumor necrosis factor alpha, and interleukin-17 synergistically upregulate nitric oxide and prostaglandin E2 production in explants of human osteoarthritic knee menisci. *Arthritis Rheum* 2001;44:2078–2083
20. Kidd P. Th1/Th2 balance: the hypothesis, its limitations, and implications for health and disease. *Altern Med Rev*. 2003;8:223-46
21. Kaiko GE, Horvat JC, Beagley KW, Hansbro PM. Immunological decision-making: how does the immune system decide to mount a helper T-cell response? *Immunology* 2008;123:326–338
22. Cheung CM, Vania M, Ang M, Chee SP, Li J. Comparison of AqH cytokine and chemokine levels in diabetic patients with and without retinopathy *Mol Vis* 2012;18:830–837

23. Rios LS, Vallochi AL, Muccioli C, Campos-Machado MA, Belfort R, Rizzo LV. Cytokine profile in response to Cytomegalovirus associated with immune recovery syndrome after highly active antiretroviral therapy. *Can J Ophthalmol* 2005;40:711-720
24. Lacomba MS, Martin CM, Chamond RR, Galera JM, Omar M, Estevez EC. Aqueous and serum interferon gamma, interleukin (IL)2, IL-4, and IL-10 in patients with uveitis. *Arch Ophthalmol* 2000;118:768-772
25. Wakefield D, McCluskey P, Roche N, Rossio JL. AqH cytokine profile in patients with chronic uveitis. *Ocul Immunol Inflamm* 1995;3:203-208
26. Sauer A, Villard O, Creuzot-Garcher C, Chiquet C, Berrod JP, Speeg-Schatz C, Bourcier T, Candolfi E. Intraocular levels of interleukin 17A (IL-17A) and IL-10 as respective determinant markers of toxoplasmosis and viral uveitis. *Clin Vaccine Immunol*. 2015;22:72-8
27. Takase H, Futagami Y, Yoshida T, Kamoi K, Sugita S, Imai Y, Mochizuki M. Cytokine profile in aqueous humor and sera of patients with infectious or noninfectious uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:1557-1561
28. Touzot M, Cacoub P, Bodaghi B, Soumelis V, Saadoun D. IFN- α induces IL-10 production and tilt the balance between Th1 and Th17 in Behçet disease. *Autoimmun Rev* 2015;14:370-5
29. Wang C, Tian Y, Lei B, Xiao X, Ye Z, Li F, Kijlstra A, Yang P. Decreased IL-27 expression in association with an increased Th17 response in Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53:4668-75
30. Chen W, Zhao B, Jiang R, Zhang R, Wang Y, Wu H, Gordon L, Chen L. Cytokine Expression Profile in Aqueous Humor and Sera of Patients with Acute Anterior Uveitis. *Curr Mol Med* 2015;15:543-9
31. Curnow SJ, Falciani F, Durrani OM, Cheung CM, Ross EJ, Wloka K, Rauz S, Wallace GR, Salmon M, Murray PI. Multiplex bead immunoassay analysis of aqueous humor reveals distinct cytokine profiles in uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:4251-9
32. El-Asrar AM1, Struyf S, Kangave D, Al-Obeidan SS, Opdenakker G, Geboes K, Van Damme J. Cytokine profiles in aqueous humor of patients with different clinical entities of endogenous uveitis. *Clin Immunol* 2011;139:177-84
33. Ooi KG, Galatowicz G, Calder VL, Lightman SL. Cytokines and chemokines in uveitis: is there a correlation with clinical phenotype? *Clin Med Res* 2006;4:294-309

34. Natasa Vidovic Valentincic, Jolanda D.F. de Groot-Mijnes, Aleksandra Kraut, Peter Korosec, Marko Hawlina, Aniki Rothova. Intraocular and serum cytokine profiles in patients with intermediate uveitis. *Mol Vis* 2011;17:2003-2010
35. Colobran R, Pujol-Borrell R, Armengol MP, Juan M. The chemokine network. II. On how polymorphisms and alternative splicing increase the number of molecular species and configure intricate patterns of disease susceptibility *Clin Exp Immunol.* 2007;150:1-12
35. Khan IA1, MacLean JA, Lee FS, Casciotti L, DeHaan E, Schwartzman JD, Luster AD. IP-10 is critical for effector T cell trafficking and host survival in *Toxoplasma gondii* infection. *Immunity* 2000;12:483-94
36. Deshmane SL, Kremlev S, Amini S, Sawaya BE. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): an overview. *J Interferon Cytokine Res* 2009;29:313-26
37. Flores-Villanueva PO, Ruiz-Morales JA, Song CH, Flores LM, Jo EK, Montaña M, Barnes PF, Selman M, Granados J. A functional promoter polymorphism in monocyte chemoattractant protein-1 is associated with increased susceptibility to pulmonary tuberculosis. *J Exp Med* 2005;202:1649-58
38. Navratilova Z, Mrazek F, Kriegova E, Hutyrova B, Kolek V, du Bois RM, Petrek M. The MCP-1-2518 (A to G) single nucleotide polymorphism in Czech patients with pulmonary sarcoidosis: association with Löfgren's syndrome. *Sarcoidosis Vasc. Diffuse Lung Dis* 2007; 24:33-8
39. Yoshio T, Okamoto H, Kurasawa K, Dei Y, Hirohata S, Minota S. IL-6, IL-8, IP-10, MCP-1 and G-CSF are significantly increased in cerebrospinal fluid but not in sera of patients with central neuropsychiatric lupus erythematosus. *Lupus* 2016;25:997-1003
40. Xu S, Höglund M, Håkansson L, Venge P. Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) induces the production of cytokines in vivo. *Br J Haematol* 2000;108:848-53
41. Shimizu F, Nishihara H, Sano Y, Takeshita Y, Takahashi S, Maeda T, Takahashi T, Abe M, Koga M, Kanda T. Markedly increased IP-10 production by blood-brain barrier in neuromyelitis optica. *PLoS One* 2015;10:e0122000
42. Robert Su, Michelle-Linh T Nguyen, Misha R Agarwal, Christopher Kirby, Christine P Nguyen, Joris Ramstein, Eli P Darnell, Antonio D Gomez, Melissa Ho, Prescott G Woodruff, Laura L Koth. Interferon-inducible chemokines reflect severity and progression in sarcoidosis. *Respir Res* 2013;14:121
44. Cytokines as Biomarkers in Rheumatoid Arthritis. Agata Burska, Marjorie Boissinot, Frederique Ponchel. *Mediators Inflamm* 2014;2014:545493

45. van Kooij B1, Rothova A, Rijkers GT, de Groot-Mijnes JD. Distinct cytokine and chemokine profiles in the aqueous of patients with uveitis and cystoid macular edema. *Am J Ophthalmol* 2006;142:192-4
46. Verma MJ, Lloyd A, Rager H, et al. Chemokines in acute anterior uveitis. *Curr Eye Res* 1997;16:1202-1208
47. Deshmane SL, Kremlev S, Amini S, Sawaya BE. Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1): An Overview. *J Interferon Cytokine Res* 2009; 29: 313–326

- **Discussion**

Nous avons retrouvé une augmentation des cytokines pro-inflammatoires (IL-1 β , IL-6, TNF- α) et anti-inflammatoires (IL1-R α , IL-10) dans l'AqH des patients avec uvéite liée à la syphilis. Ces dernières cytokines semblent augmenter dans les états inflammatoires modérés, soit pour équilibrer le statut Th1/ Th2, soit pour recruter des lymphocytes T afin de supprimer l'inflammation.

Des taux augmentés d'IL-17 dans le LCR de patients et des taux augmentés de cellules Th17 (cellules Th17 dans les cellules mononuclées) dans le sang de patients avec une neurosyphilis ont été rapportés (Wang et al., 2009). Nous montrons ici que 2 des 3 patients avec une neurosyphilis dans notre étude, présentaient une augmentation de l'IL-17 dans l'AqH. L'IL-17 serait donc impliqué dans les altérations du système nerveux central (SNC) chez les patients avec une neurosyphilis et une uvéite associée. Nous avons trouvé un seul patient avec l'IL-17 augmenté parmi nos patients avec une uvéite syphilitique et sans neurosyphilis prouvée dans le LCR. Nos résultats suggèrent que la classification des uvéites syphilitiques parmi les neurosyphilis doit être réévaluée par des études complémentaires.

Lorsque l'on compare les uvéites liées à la syphilis et à la toxoplasmose, les médianes des concentrations dans l'AqH d'IL-1 β , IL1-R α , IL-6, IL-8, TNF- α , MCP-1, IP-10, G-SCF, MIP-1 α et de MIP-1 β sont augmentées dans ces 2 pathologies. Ce qui permet de distinguer la syphilis sont les taux accrus d'IL-7, IL-10, IL-17 et de VEGF (figures 1 et 2, manuscrit).

Concernant les résultats des sérums, les patients avec uvéite syphilitique avaient des taux médians augmentés d'IL-1 β , de TNF- α , d'IL-6, d'éotaxine, d'IL-8, IL-13, et de IFN- γ par rapport aux uvéites toxoplasmiques.

Plus largement, parmi plusieurs pathologies infectieuses ou non infectieuse avec uvéite associée, la médiane des concentrations dans l'AqH était augmentée : pour l'IL-10 dans la syphilis ; pour l'IL-12 (Th1) dans la sarcoïdose, pour l'IL-17 (Th17) dans la syphilis et la maladie de Behçet ; pour RANTES dans la maladie de Behçet seulement, pour le VEGF dans la syphilis (Fig 11).

Les résultats concernant les uvéites syphilitiques suggèrent également que les formes d'uvéites avec panuvéites sont des formes où le passage des cytokines vers le segment antérieur de l'œil est le plus important. En effet, les taux de cytokines que nous avons trouvés

être les plus élevés provenaient d'uvéites syphilitiques avec inflammation de segment antérieur (ou panuvéites). Les prélèvements de vitré n'ont pas été réalisés mais leur obtention donnerait des résultats plus précis dans les formes d'inflammation purement vitréennes ou postérieures.

Nous avons pour projet dans le cadre du travail actuel, de doser le taux de TGF- β dans les prélèvements des patients atteints de syphilis oculaire et les sujets contrôles afin d'essayer de mieux appréhender le mécanisme immunologique à l'origine des uvéites syphilitiques. Li et al. ont montré que le sérum de patients avec une syphilis secondaire contient des taux plus importants de TGF- β que les patients contrôles, ce qui pourrait être lié à une augmentation de la fonction et du nombre de Treg chez ces patients. TGF- β est impliqué dans la modulation de la différenciation des Treg et leur activité [151]. Des taux plus bas de TGF- β ont été observés dans le LCR de patients atteints de neurosyphilis symptomatique par rapport aux formes asymptomatiques, ce qui pourrait être associé à une diminution du nombre des Treg dans le LCR [152].

Points forts des résultats des médiateurs biologiques dans les uvéites syphilitiques

- Ce qui permet de distinguer la syphilis par rapport à l'uvéite toxoplasmique ce sont les taux augmentés d'IL-7, IL-10, IL-17 et de VEGF dans l'AqH. Ceux-ci sont comparables aux contrôles dans la toxoplasmose.
- Les uvéites syphilitiques avaient des taux médians augmentés d'IL-1 β , de TNF- α , d'IL-6, d'éotaxine, d'IL-8, IL-13, et de IFN- γ dans le sérum par rapport aux uvéites toxoplasmiques.
- Concentrations des cytokines plus élevées dans les panuvéites syphilitiques. Ceci suggère un passage des cytokines dans l'AqH en cas d'inflammation de segment antérieur.
- Les uvéites syphilitiques avec une neurosyphilis (inflammation retrouvée dans le LCR) ont des taux augmentés des médiateurs Th1 (IL-2, TNF- α , IFN- γ) et Th17 (IL-17 et IL-23) dans l'AqH.
- La classification des uvéites syphilitiques parmi les neurosyphilis devrait être réévaluée.

Médianes des concentrations des médiateurs augmentés uvéites syphilitiques	Physiopathologie	Intérêt thérapeutique
Sérum : pro-inflammatoire (TNF- α , GM-CSF) AqH : Th1 (IFN- γ), Th17 (IL-17), Th9 (IL-9), pro-inflammatoires: IL-1 β , IL-6, IL-7, IL-8, TNF α), anti-inflammatoires (IL-1R α , IL-10), autres: IP-10, MCP-1, MIP1 α et β , G-CSF, VEGF, éotaxine, IL-7	Th1, Th17, Th9 + cytokines pro-inflammatoires: IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , IP-10, MCP-1, MIP-1 α et β , GM-CSF	antibiothérapie ± corticothérapie (infection)

≥ 30% des AqH ont les médiateurs suivants augmentés dans les :

uvéites syphilitiques:

IFN- γ (Th1), IL-17 (Th17), pro-inflammatoires
(IL-6, TNF- α),

autres: IP-10, MCP-1, IL-15, éotaxine, PDGF-BB.

V-5.2. PROFILS CYTOKINIQUES DANS UNE COHORTE D'UVEITES SYPHILITIQUES ET CORRELATION AVEC LEUR ASPECT EN OPTIQUE ADAPTATIVE.

- **Objectifs**

Nous avons comparé les résultats des cytokines/ chimiokines/ facteurs de croissance lis aux observations faites en FIOA au niveau des vaisseaux rétiens chez 4 patients (4 yeux) avec une uvéite liée à la syphilis.

- **Résultats**

Tableau IX : Résultats comparés entre les médiateurs présents dans les sérums (cytokines, chimiokines et facteurs de croissance) et AqH des patients avec uvéites syphilitiques et les résultats de leur examen en FIOA.

n° patient	<u>syphilis</u>		
	cytokines augmentées dans :		aspect en FIOA : E (engainement) R (rétrécissement)
	AqH	sérum	
18	IL8, IP-10, MCP-1	neg	E+ veines et artères
19	IL-1 β , IL2, IL8, IL-9, IL-10, IL-12, IL-15, IL-17, MIP-1 β , IP-10, IFN- γ , MCP-1, PDGF-BB	IL-1 β , IL1-R α , IL-4, IL-6, IL-7, G-CSF, IFN- γ , IP-10, MIP-1 β	E + artères
20	IL-8, IP-10, MCP-1	RANTES	E + artères
21	Eotaxine, IP-10, MCP-1	RANTES	sans anomalie

La chimiokine pro-inflammatoire IL-8 est la seule retrouvée spécifiquement dans les AqH des yeux atteints d'uvéite syphilitique avec aspect d'engainement en FIOA. Elle est impliquée dans le recrutement des neutrophiles et leur dégranulation. Le MCP-1 et l'IP-10 étaient constamment retrouvés dans les yeux avec uvéite syphilitique qui ont été étudiés en FIOA.

Le récepteur de l'IP-10, CXCR3 est exprimé surtout sur les lymphocytes T et les cellules NK (natural killer). Le récepteur de MCP-1, CCR2, est également exprimé sur les monocytes, basophiles et cellules dendritiques [153]. Nous montrons donc par nos travaux, que les contributions des 2 voies de signalisation CXCR3 et CCR2 seraient impliquées dans la pathogenèse de la syphilis oculaire.

Points forts des résultats des médiateurs biologiques dans les uvéites syphilitiques et corrélation avec la FIOA

Le tableau ci-dessous résume les cytokines que nous avons retrouvées augmentées dans les uvéites syphilitiques avec vascularites : cytokines Th1, pro-inflammatoires (IL-1 β , IL-6, IL-8, IP-10, MCP-1, RANTES) et anti-inflammatoires (IL-10).

Médianes des concentrations des médiateurs augmentés dans les liquides biologiques	Physiopathologie	Intérêt thérapeutique
<p>uvéites syphilitiques avec atteinte vasculaire en FIOA:</p> <p>Sérum : pro-inflammatoires IL-1β, IL-6, IFN-γ, IP-10, MIP-1β, RANTES</p> <p>AqH : Th1 (IFN-γ, IL-12), Th17 (IL-17), pro-inflammatoires: IL-1β, IL-6, IL-8, anti-inflammatoires (IL-10)</p> <p>autres: IP-10, MCP-1</p>	<p>Th1 + cytokines pro-inflammatoires: IL-1β, IL-6, IL-8, IP-10, RANTES, MCP-1</p>	<p>antibiothérapie \pm corticothérapie, pas d'inhibiteurs des cytokines.</p>
	<p>Hyperexpression d'IP-10 après stimulation d'IFN-γ. L'IP-10 recrute des cellules monoculées responsable d'une inflammation exagérée. Une hyperexpression de MCP-1 entraîne une infiltration localisée de monocytes / macrophages dans l'endothélium des vaisseaux. MCP-1 a été impliqué, entre autres, dans la formation des thrombus.</p>	

V-6. PROFILS IMMUNITAIRES DANS LES VASCULARITES RETINIENNES AU COURS DES UVEITES IDIOPATHIQUES

V-6.1. PROFILS CYTOKINIQUES DANS LES UVEITES IDIOPATHIQUES

- **Objectifs et Résultats**

Pour mieux caractériser les uvéites idiopathiques, nous avons comparé les taux de 27 cytokines, chimiokines et facteurs de croissance obtenus entre les prélèvements de sérum et d'AqH (n= 51 et 63, respectivement) des patients avec uvéites idiopathiques à ceux obtenus chez les contrôles cataractes (n= 47 et 36, respectivement). Un des prélèvements du groupe uvéite idiopathique était un vitré. Pour l'IL-21 et l'IL-23, les prélèvements de sérum et d'AqH étaient au nombre de 69 et 42, respectivement par rapport aux contrôles (n=16 et 7) (cf. tableau VI).

Résultats cytokiniques, chimiokiniques et facteurs de croissance sériques :

Les taux médians des cytokines et chimiokines IP-10, IL-17 et IL-21 sont augmentés dans le sérum des uvéites idiopathiques par rapport aux contrôles (p=0,0087, p< 0,0001, p=0,0035 respectivement). Le taux médian d'IL-23 est diminué dans le sérum des uvéites idiopathiques par rapport aux contrôles (p< 0,0001). Les concentrations moyennes d'IP-10, retrouvées sont 671 pg/mL vs 526 pg/mL pour les contrôles, de 173 pg/mL vs 133 pg/mL pour l'IL-17 et de 28 pg/mL vs 0 pg/mL pour l'IL-21. (fig. 12).

Par contre, nous ne trouvons pas de différence significative dans les médianes des concentrations sériques des médiateurs suivants pour les uvéites idiopathiques par rapport aux contrôles : les cytokines proinflammatoires IL-1 β , IL-6, IFN- γ , TNF- α , MCP-1, G-CSF, MIP-1 α et MIP-1 β ; les cytokines anti-inflammatoires IL-10, IL-1R α et le facteur de croissance, le VEGF.

Nous trouvons quelques patients atteints d'uvéites idiopathiques avec des cytokines, chimiokines et facteurs de croissance sériques, ponctuellement augmentés par rapport au seuil chez les contrôles : l'IL-23 chez 6 patients, l'IL-7 chez 7 patients, l'IL-1 β et le PDGF-BB chez 5 patients; l'IL-6 chez 4 patients ; l'IL-1R α chez 3 patients; l'IL-2, IL-4, IL-10, IL-12, GM-CSF, VEGF chez 2 patients et l'IL-15, G-CSF, IFN- γ , MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES, TNF- α chez un patient ; toutefois, les différences entre les concentrations médianes retrouvées

dans les prélèvements des uvéites idiopathiques et les contrôles ne sont pas significatives (fig 12).

Résultats cytokiniques, chimiokines et facteurs de croissance dans l'AqH (fig. 14) :

Les taux médians des cytokines/chimiokines et facteurs de croissances suivants sont augmentés dans l'AqH des uvéites idiopathiques par rapport aux contrôles, de façon statistiquement significative, leurs concentrations médianes étaient les suivantes : l'IL-1R α , avec 50,92 pg/mL [0-126,9], l'IL-5, avec 0 pg/mL [0-5,52]; l'IL-6, avec 81,73 pg/mL [8,82-511,2], l'IL-8, avec 22,23 pg/mL [2,12-87,86], l'IL-9, avec 2,85 pg/mL [0-8,8], l'IL-12, avec 11,13 pg/mL [5,67-20,49]; l'éotaxine, avec 6,29 pg/mL [0-30,61] ; l'IP-10, avec 4442 pg/mL [462,8-17790]; le G-CSF, avec 9,98 pg/mL, le MCP-1, avec 125,2 pg/mL [46,24-315,8]; le G-CSF, avec 3,5 pg/mL (\pm 22) vs 1,5 pg/ml (\pm 1,9); MIP-1 α avec 1,21 pg/mL [0-2,66], MIP-1 β , avec 27,2 pg/mL [11,16-47,61], le TNF- α avec 0 pg/mL [0-6,3] et le VEGF, avec 79,19 pg/mL [26,84-160,6].

A l'inverse, les taux médians d'IL-4, IL-7, IL-15 et PDGF-bb sont diminués dans l'AqH des uvéites idiopathiques par rapport aux contrôles, de façon statistiquement significative.

Tableau X. Résultats de cytokines, chimiokines et facteurs de croissances augmentés dans l'humeur aqueuse parmi les uvéites idiopathiques par rapport aux contrôles (témoins opérés de cataracte sans uvéite) (n= nombre de patients). Seuls les prélèvements pour lesquels tous les 29 médiateurs ont été dosés apparaissent, soit 75 uvéites idiopathiques).

variable	Groupes		p*
	Idiopathiques n = 75	Contrôles = témoins sans uvéite n = 42	
IL-1b	0 [0-0,46]	0 [0-0,43]	0.27
IL-1ra	50,92 [0-126,9]	0,83 [0-61,69]	0.037
IL-2	0 [0-0]	0 [0-0]	0.42
IL-4	0 [0-0]	0 [0-0,4]	0.029
IL-5	0 [0-5,52]	0 [0-0]	0.0004
IL-6	81,73 [8,82-511,2]	6,64 [2,3-40,96]	0.020
IL-7	0 [0-18,72]	7,63 [1,89-33,11]	0.003

IL-8	22,23 [2,12-87,86]	2,76 [1,62-6,36]	0.002
IL-9	2,85 [0-8,8]	0 [0-0,34]	0.002
IL-10	0 [0-10,18]	0,35 [0-2,16]	0.66
IL-12	11,13 [5,67-20,49]	3,3 [1,07-6,57]	<0.0001
IL-13	0,46 [0-3,9]	0,1 [0-1,08]	0.20
IL-15	0 [0-0]	0 [0-8,56]	0.0006
IL-17	0 [0-0]	0 [0-0]	0.14
IL-21	0 [0-26,09]	0 [0-0]	0.12
IL-23	0 [0-4,92]	0 [0-0]	0.093
Eotaxin	6,29 [0-30,61]	0 [0-0]	<0.0001
FGF-basic	0 [0-0]	0 [0-0]	0.29
G-CSF	9,98 [1,47-113,3]	0,64 [0-1,89]	<0.0001
GM-CSF	0 [0-0]	0 [0-0]	0.18
IFN-g	0 [0-0]	0 [0-0]	0.066
IP-10	4442 [462,8-17790]	284,7 [134,8-484,6]	<0.0001
MCP-1	125,2 [46,24-315,8]	59 [4,11-95,26]	0.0008
MIP-1a	1,21 [0-2,66]	0 [0-0]	0.0002
PDGF-bb	0 [0-0]	1,69 [0-13,46]	0.010
MIP-1b	27,2 [11,16-47,61]	0 [0-7,88]	<0.0001
RANTES	0 [0-0]	0 [0-0]	0.23
TNF-a	0 [0-6,3]	0 [0-0]	0.004
VEGF	79,19 [26,84-160,6]	0 [0-24,37]	<0.0001

*Utilisation du test non paramétrique de Mann-Whitney pour la comparaison des dosages des différentes cytokines entre les uvéites idiopathiques et les témoins (analyse biostatistique Mr M. Boubaya, URC Avicenne, équipe Dr C. Bloch-Queyrat).

Nous trouvons quelques patients atteints d'uvéites idiopathiques avec des cytokines IL-1 β , IFN- γ et IL-23 dans l'AqH ponctuellement augmentés par rapport au seuil chez les contrôles, sans que leurs taux médians ne soit augmenté significativement par rapport à celui des contrôles (p=0,0856 et p=0,2690, respectivement).

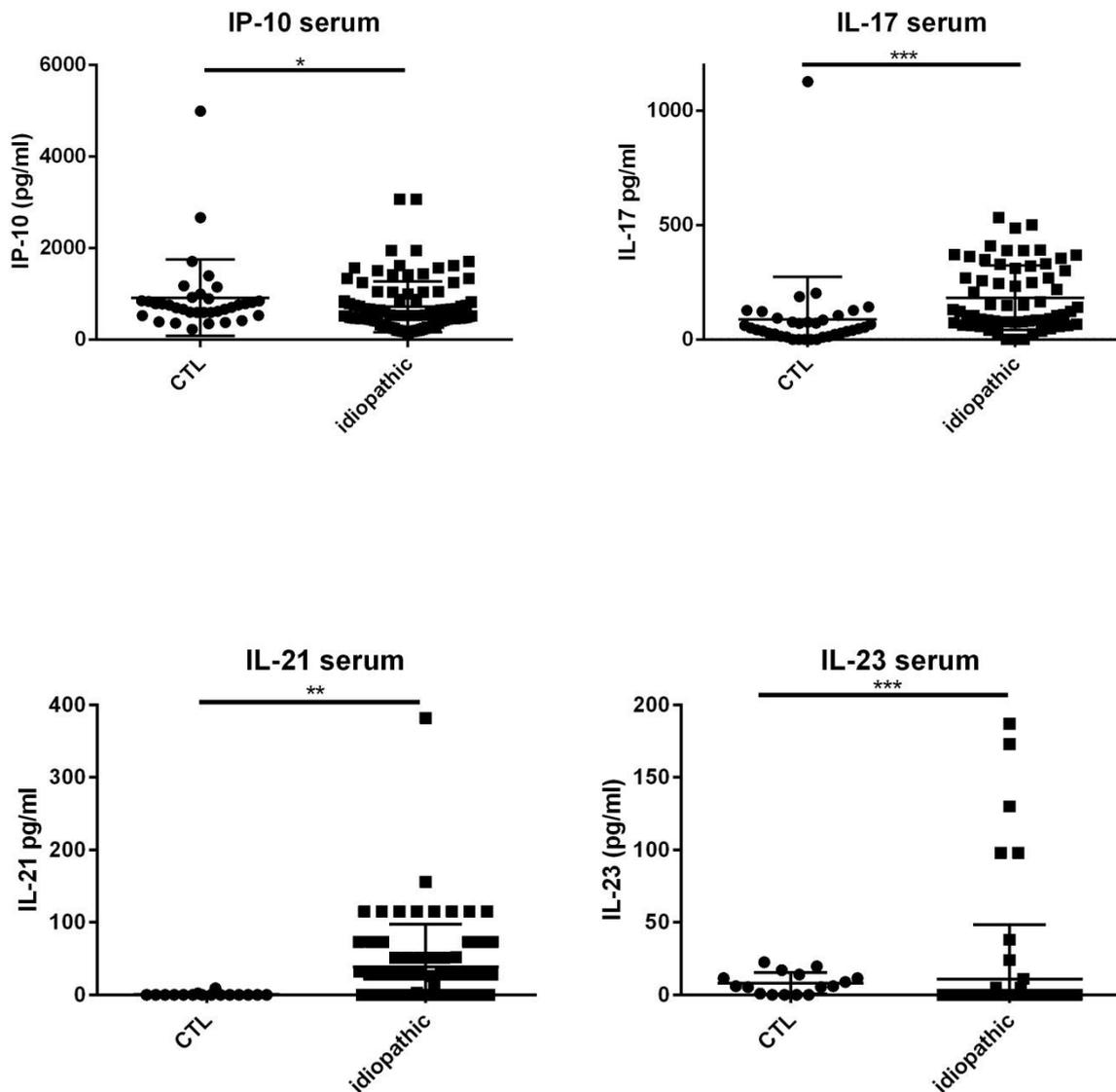


Figure 14. Médianes des concentrations d'IL-17 et d'IP-10 dans le sérum, augmentées chez les patients avec une uvéite idiopathique (n=63) par rapport aux contrôles (CTL) (n=47). Idem pour les cytokines IL-21 et IL-23 dans le sérum chez les patients avec uvéites idiopathiques (n=68) par rapport aux contrôles (n=16). *= $P < 0,05$; **= $P < 0,01$; ***= $P < 0,001$.

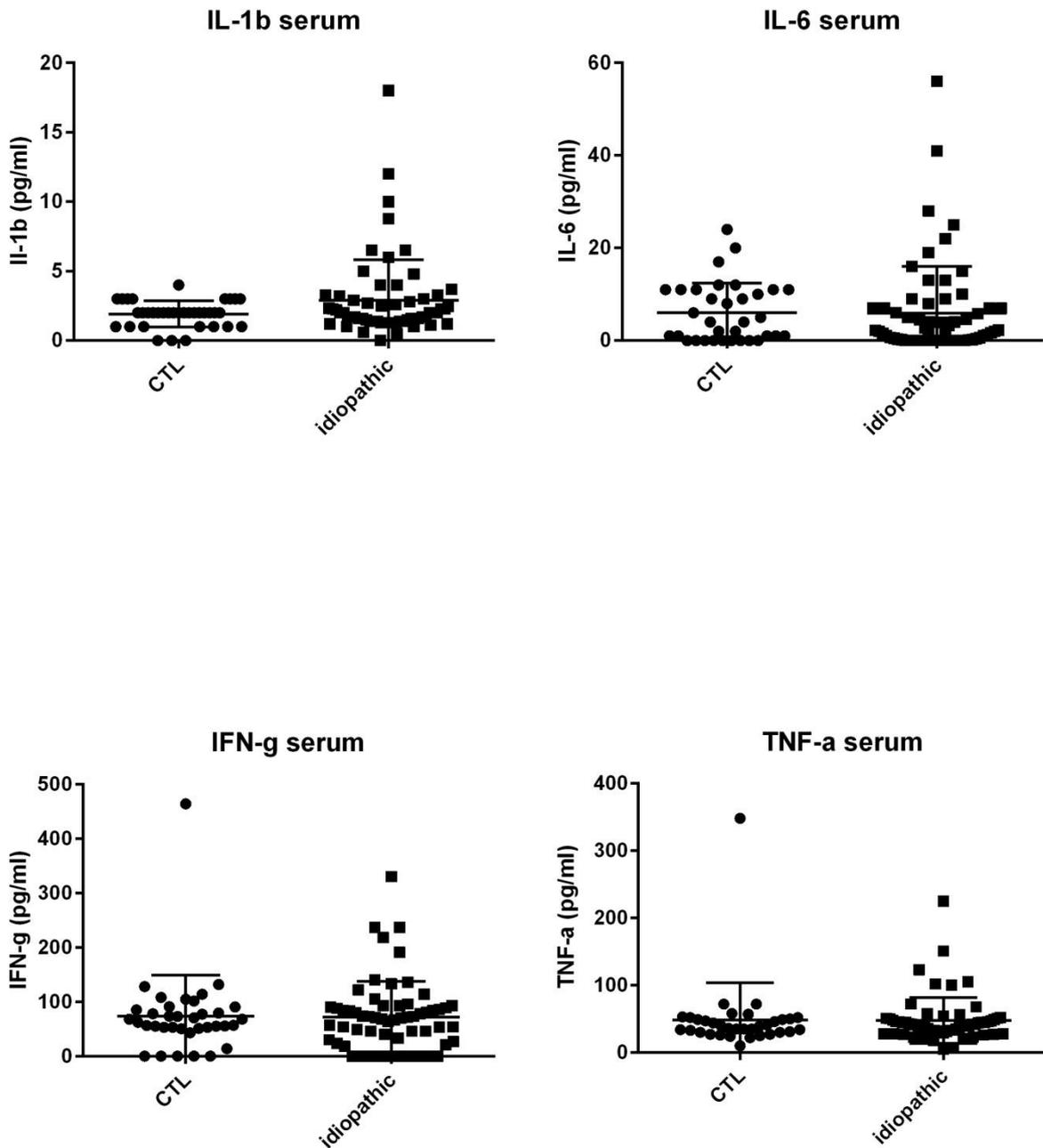
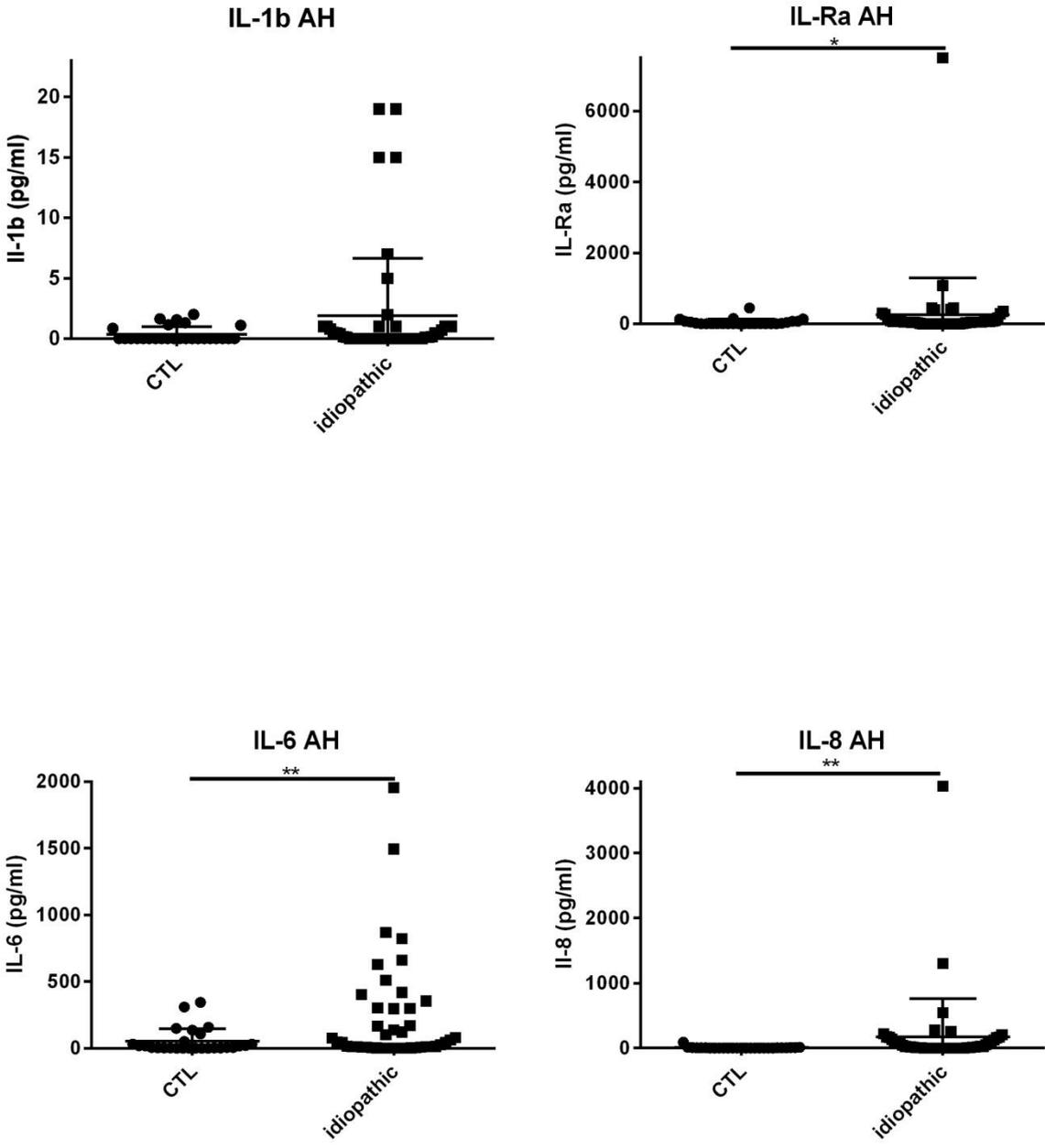
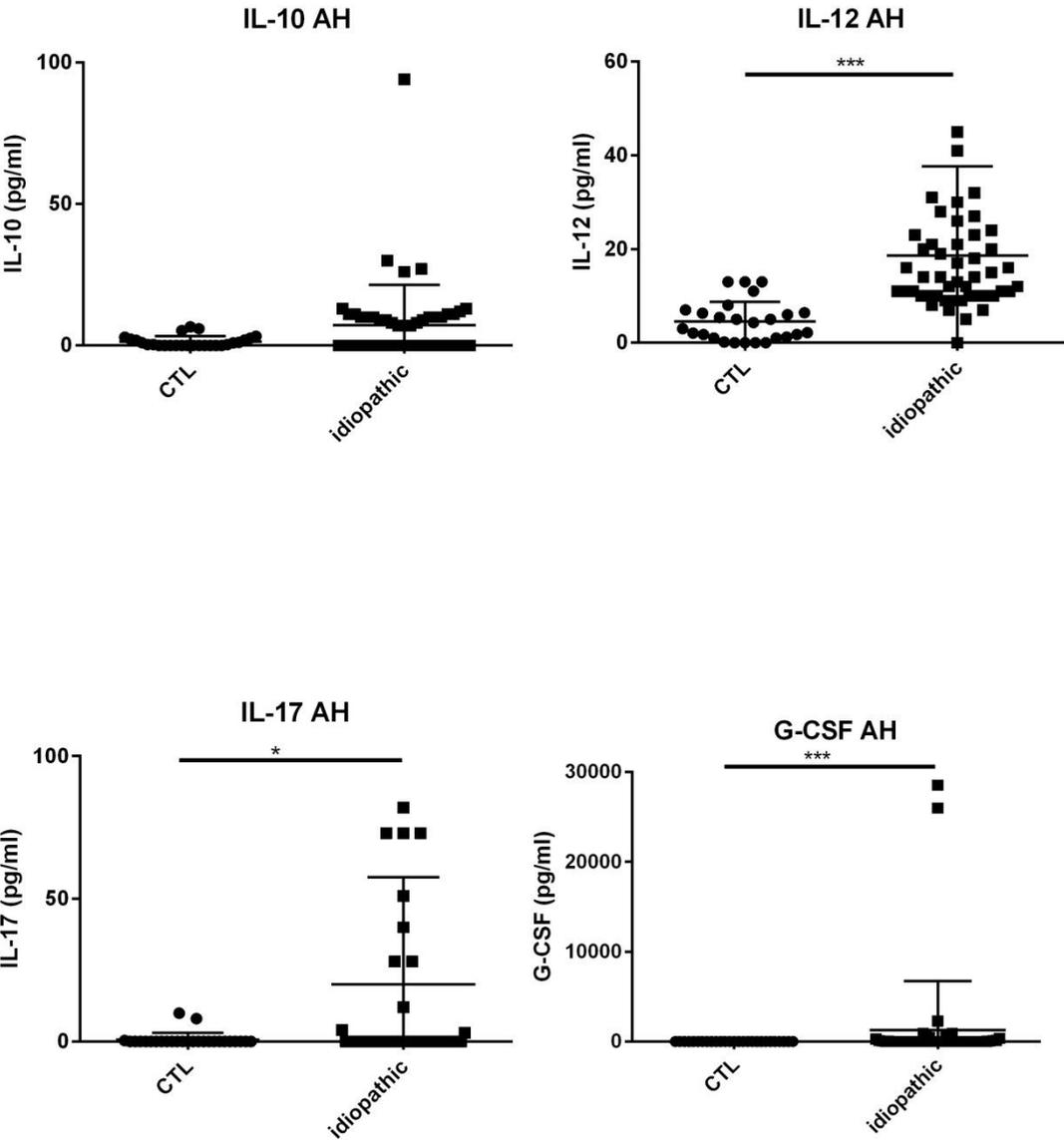
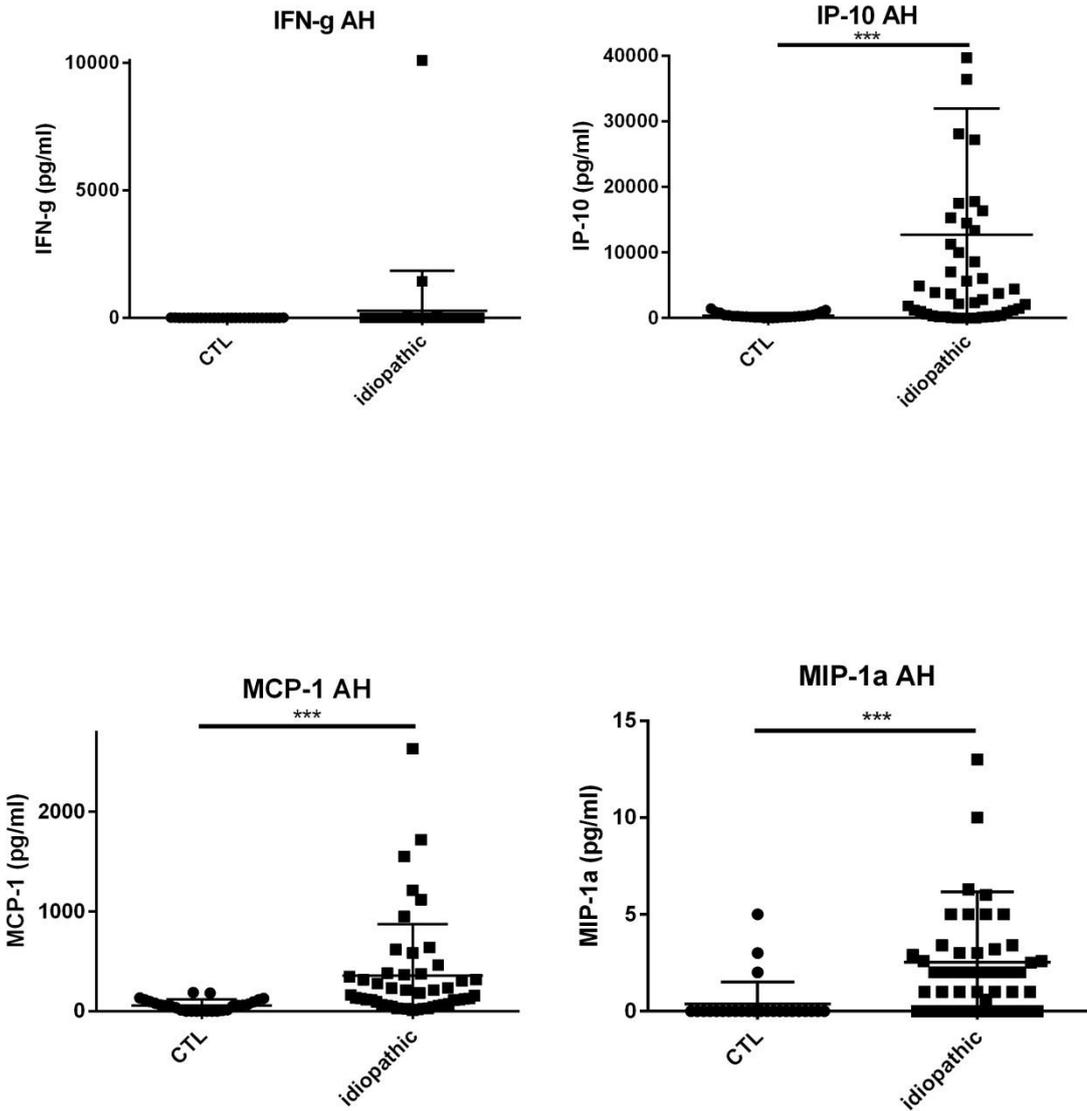


Figure 15. Médianes des concentrations d'IL-1 β , IL-6, IFN-g et de TNF- α chez les contrôles (CTL) dans le sérum (n=36) et chez les patients avec une uvéite idiopathique (n=51) mais les différences les 2 groupes ne sont pas significatives. Certains patients avec uvéites idiopathiques ont ces cytokines augmentées dans les prélèvements sériques. *=P<0,05 ; **=P<0,01; ***=P<0,001.







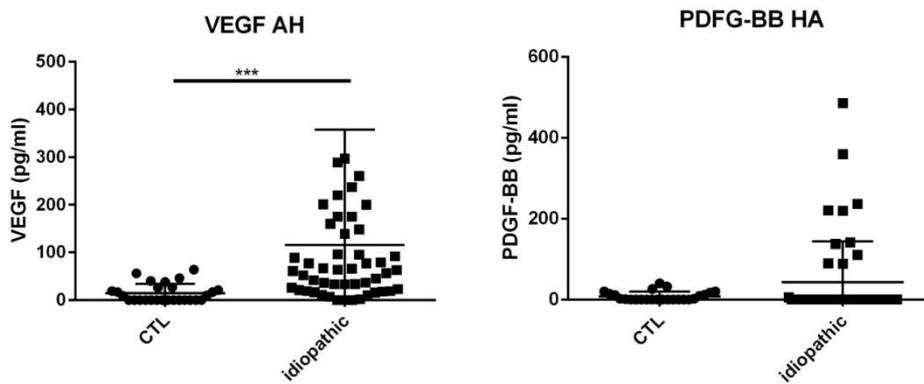
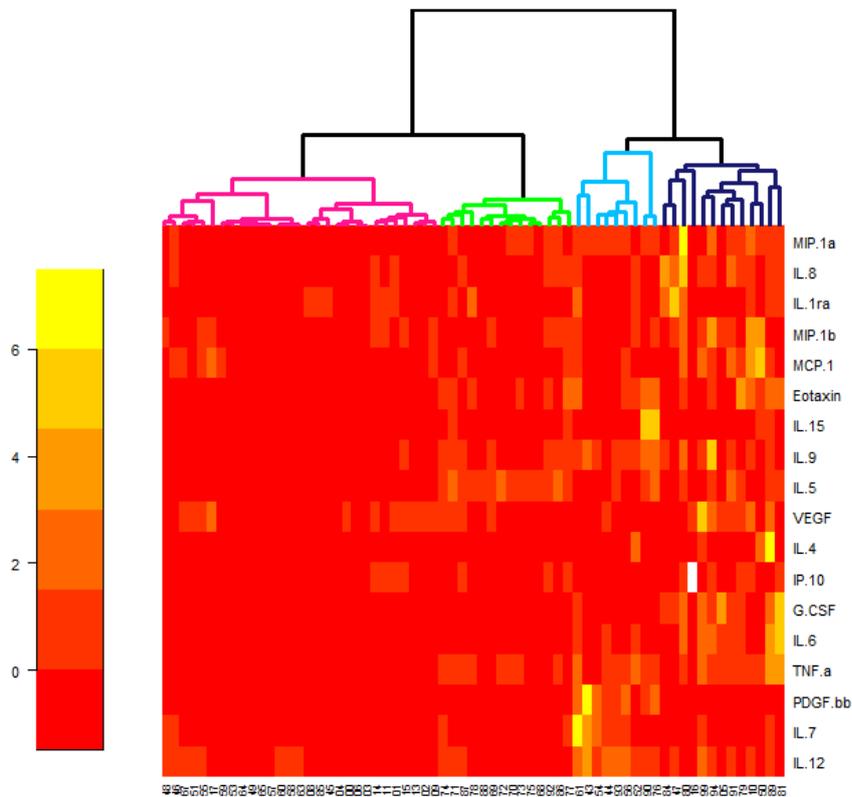


Figure 16. Médianes des concentrations intraoculaires d’IL-1 β , IL-1-R α , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-17, G-CSF, IFN-g, IP-10, MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES, TNF- α , VEGF et PDGF-BB chez les contrôles (CTL) (n=36) et chez les patients avec une uvéite idiopathique (n=51). Certains patients avec uvéites idiopathiques ont ces cytokines augmentées dans les prélèvements d’AqH. *=P<0,05 ; **=P<0,01 ; ***=P<0,001.



• **Figure 17.** Heatmap sur les cytokines. Classification des cytokines parmi les uvéites idiopathiques, en sélectionnant uniquement les uvéites significativement différentes de

celles des témoins. La méthode utilisée est la classification hiérarchique non supervisée après avoir centré et réduit les données.

Nous avons trouvé, quatre sous-groupes d'uvéites idiopathiques par l'analyse biostatistique de classification hiérarchique non supervisée : le 1^{er} groupe présente des valeurs de médiateurs de l'inflammation assez faibles bien que significativement différentes de celles des témoins (groupe rose, fig. 17) ; un 2^{ème} groupe présente des valeurs de médiateurs modérément élevées (groupe vert, fig. 17) ; un 3^{ème} groupe, des valeurs modérément élevées et les facteurs IL-7, IL-15 et PDGF-BB proches de ceux des témoins contrôles sans uvéite (groupe bleu, fig. 17) ; et enfin, un 4^{ème} groupe présente des valeurs de médiateurs très élevées (groupe noir, fig. 17).

Trois patients ont été exclus de l'analyse biostatistique (fig. 17) car ils avaient des valeurs de cytokines très élevées. Ils étaient atteints d'uvéite idiopathique de type panuvéite (dont deux étaient récidivantes).

- **Discussion**

Le tableau XI présente un récapitulatif des différents marqueurs biologiques retrouvés dans les uvéites idiopathiques et les groupes de patients témoins positifs (atteints d'uvéites de diverses étiologies) par rapport aux sujets contrôles.

Tableau XI. Récapitulatif des résultats de cytokines, chimiokines et facteurs de croissances augmentées par rapport aux contrôles parmi les uvéites idiopathiques et les témoins positifs (uvéites infectieuses et non infectieuses) (n= nombre de patients).

		sérum	AqH	Intérêt thérapeutique
uvéites infectieuses				
syphilis	27 cytokines	n=9	n=9	
		IP-10, G-CSF, MCP-1 (9) IP-10 (3) Il-1 β , IL1-Ra, GM-CSF (2) IL-4, IL-5, IL-8, G-CSF, IFN- γ (1)	IP-10 (9) IL-6, MCP-1 (8) IL-15, IL-17, éotaxine, IFN- γ , PDGF-BB, TNF- α (3) IL-1 β , IL1-Ra, IL-4, IL-6, IL-10, IL-13, G-CSF, MIP-1 β , RANTES (2) IL-2, IL-9, IL-12, IL-23, VEGF (1)	antibiothérapie ± corticothérapie
	cytokines IL-21, IL-23	n=2	n=8	
		-	IL-23 (1)	
toxoplasmose	27 cytokines	n=16	n=11	
		IL-2, GM-CSF (1)	G-CSF, IFN- γ , IP-10 (9) éotaxine (7) MCP-1 et TNF- α (5) IL-8 (4) IL-4 (3) IL-1 β , IL-6, IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, MIP-1a, PDGF-BB, VEGF (2) IL-1Ra, IL-2, IL-17, RANTES, VEGF (1)	anti-TNF- α anti-IL-6 anti-IL17 (protocoles de recherche)
	cytokines IL-21, IL-23	n=14	n=3	
		-	IL-21 (1)	
uvéites non infectieuses				
sarcoïdose	27 cytokines	n=12	n=15	
		IL-1 β , IL-1Ra, IL-2, IL-6, éotaxine,	IP-10 (14) MCP-1, éotaxine (7)	anti-IL1 et anti-IL6

		G-CSF, GM-CSF, IP-10, IFN- γ , MIP-1b, TNF- α (1)	MIP-1a, IL-8, G-CSF (6) TNF- α (4) IFN- γ (3) IL-1 β , IL-7, MIP-1b et PDGF-BB (2, 4) IL-1Ra, IL-4, IL-10, IL-9, IL-13, IL-15, VEGF (1)	(voir colonne sérum) anti-TNF- α
	cytokines IL-21, IL-23	n=14	n=3	
		-	-	
Behçet		n=7	n=5	
		IL-1 β (2)	IP-10 (5) IL-6, IL-8, G-CSF, MCP-1 (4) IL-1 β , IL-1R α , IL-7, IL-9, IL-12, IL-13, éotaxine, IFN- γ , MIP-1 α , PDGF-BB, TNF- α (3)	anti-IL-1 (colonnes sérum et AqH) anti- TNF- α
		n=6	n=1	
		-	-	
uvéïtes idiopathiques	27 cytokines	n=63	n=51	
		IL-7 (7) PDGF-BB (5) IL-5, IL-6 (4) IL-1R α (3) IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-10, IL- 12, GM-CSF, VEGF (2) IL-15, G-CSF, IFN- γ , MIP- 1 α , MIP-1 β , RANTES, TNF- α (1)	IL-12 (36) IP-10 (32) G-CSF (29) IL-5 (26) IL-10 (22) VEGF (21), MCP-1 (18) IL-6 (15), IL-8, TNF- α (14) IL-13 (12),FGF-b (10), IL-17 (9) IL-12, MIP-1 α , GM-CSF, PDGF- BB (8) IL-1R α (5), MIP-1 β , (7), RANTES (6) IL-2 (4), IL-4, IFN- γ (3), IL-1 β (2), IL-7 (1)	anti-IL-6 et anti-TNF- α (colonnes sérum et AqH) anti-IL1 (colonne sérum)
	cytokines IL-21, IL-23	n=68	n=40	
		IL-21 (38) IL-23 (6)	IL-21, IL-23 (16)	

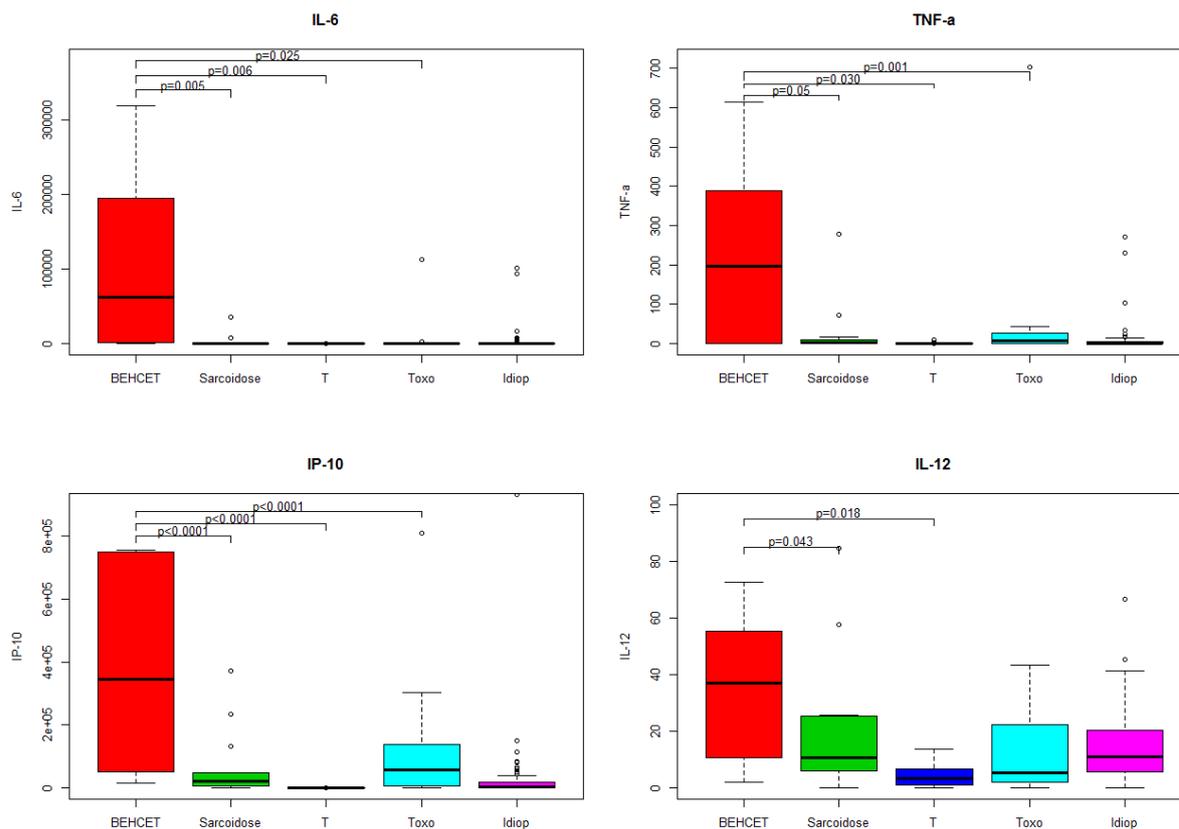


Figure 18. Répartition des médiateurs en comparant les contrôles sans uvéite (T) versus groupes de pathologies (uvéites idiopathiques, maladie de Behçet, sarcoïdose et toxoplasmose) pour IL-6, TNF- α , IL-12 et IP-10 (4 médiateurs augmentés de manière significative dans les uvéites idiopathiques). Représentation des distributions des cytokines (boxplots) en fonction des groupes de pathologies avec une correction des p-values avec la méthode de Bonferroni (afin d'éviter l'inflation du risque alpha due aux comparaisons multiples) (analyse Mr M. Boubaya, Dr C. Bloch-Queyrat, URC Avicenne).

Les uvéites humaines non infectieuses auto-immunes ou idiopathiques sont hétérogènes en termes de présentations clinique. Il a été décrit que les patients souvent reconnaissent le même antigène rétinien, dont les 2 autoantigènes spécifiques des photorécepteurs qui induisent des uvéites expérimentales auto-immunes, l'IRBP (interphotoreceptor retinoid-binding protein) et l'arrêstine rétinienne (S-antigen) [154].

Nous avons trouvé que seules les médianes des concentrations d'IL-17, d'IP-10 et d'IL-21 étaient augmentées dans le sérum des uvéites idiopathiques. L'IL-21 participe aux uvéites en induisant la différenciation des Th17 et la production des Th17 [30]. La voie Th17 paraît donc prépondérante dans la majorité des uvéites idiopathiques d'après les analyses du sérum.

Quelques patients avaient les médiateurs suivants augmentés dans le sérum ; IL-1 β , IL-1Ra, IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-10, IL-12, IL-15, IFN- γ , G-CSF, MIP-1a, MIP-1b, TNF- α , RANTES, PDGF-BB ce qui montre que différents groupes cytokiniques et chimiokines sériques hétérogènes sont regroupés parmi les « uvéites idiopathiques ». Il semblerait aussi que certaines de ces uvéites idiopathiques soient associées à une inflammation systémique concomitante active, de nature Th17, pour l'instant d'origine inconnue. Dans notre étude et en concordance avec de précédentes études [28], [29], nous avons trouvé des taux augmentés dans l'AqH des uvéites idiopathiques de divers marqueurs inflammatoires en comparaison avec les contrôles. En particulier, les uvéites idiopathiques actives semblent associées à des taux plus élevés des médiateurs suivant : IL-1R α , IL-6, IL-8, IL-12, IL-17, IP-10, MIP-1 α , MIP-1 β , MCP-1, G-CSF et TNF- α .

Nous trouvons comme dans d'autres publications, que certains patients avec uvéite idiopathique ont des taux augmentés de TNF- α et d'IFN- γ dans l'AqH. Les taux médians de ces cytokines n'étaient toutefois augmentés dans notre étude que pour le TNF- α (figures 17, 18) et 3 patients présentaient l'IFN- γ supérieur au seuil des contrôles. En effet, dans la littérature, des taux significativement augmentés d'IFN- γ ont été rapportés dans l'AqH de patients avec uvéites antérieure chronique idiopathique et l'AqH de patients avec uvéite intermédiaire idiopathique en association avec un taux de CD4+ augmenté dans les lymphocytes T de l'humeur vitrée et dans la choroïde (Chen et al., 2015 ; Muhaya 1998 ; Klok 1998) [87], [155], [156]. Ces résultats sont controversés car dans une étude sur les uvéites intermédiaires idiopathiques, le TNF- α était augmenté seulement dans le sérum et non dans l'AqH [28]. Nous montrons ici que les 15 patients avec une uvéite idiopathique et un taux de TNF- α augmenté dans l'AqH, présentaient soit une uvéite intermédiaire, une uvéite postérieure ou une panuvéite qu'elles s'accompagnent de vascularite, hyalite, œdème maculaire ou papillaire ou non. Le TNF- α , cytokine proinflammatoire est importante pour l'induction et la maintenance de l'inflammation dans les réactions auto-immunes et elle est libérée par les macrophages et les lymphocytes T pendant la réponse inflammatoire, elle influence l'activation de leucocytes et l'infiltration par hyperrégulation des molécules d'adhésion et l'activation des macrophages et conduit la réponse lymphocytaire Th1 dans les tissus [81].

L'IL-12 était la cytokine retrouvée augmentée chez le plus grand nombre de patients avec uvéite idiopathique et son taux médian était également élevé dans l'AqH par rapport aux contrôles (fig 18). Cette cytokine stimule la production d'IFN- γ et est inductrice de différenciation en cellules Th1. Ce résultat portant sur l'IL-12 confirme le mécanisme

immunitaire Th1 prépondérant des uvéites chez l'homme [157] qui avait été initialement retrouvé dans les uvéites auto-immunes expérimentales chez l'animal.

L'IL-6 était également augmentée (taux médian augmenté) dans l'AqH des uvéites idiopathiques que nous avons prélevés par rapport aux contrôles (fig 18), ce qui confirme de précédentes études portant sur les uvéites idiopathiques mais dans les formes « uvéites antérieures » alors que nous nous sommes limités aux formes d'uvéites plus graves de type intermédiaire et postérieure [29], [155], [158]. C'est une cytokine impliquée dans la différenciation des cellules Th17 en régulant la balance entre les lymphocytes Th17 et Treg et qui intervient également dans la suppression de la différenciation Th1 [159]. Des biothérapies sélectives ciblant la régulation de l'IL-6 comme le sarilumab (Regeneron Pharmaceuticals, Tarrytown, NY, USA) qui est un anticorps monoclonal anti récepteur de l'IL-6 a été en phase III d'essais cliniques (étude SATURNE) et le tocilizumab (STOP-Uveitis) dans l'uvéite intermédiaire, postérieure non infectieuse et celle associée à l'arthrite juvénile idiopathique. Définir par des dosages de médiateurs dans les liquides biologiques des patients les candidats à ces biothérapies serait un axe d'étude prometteur.

Nous avons trouvé le taux médian d'IP-10 augmenté dans les prélèvements d'AqH de patients avec uvéites idiopathiques. En examinant les caractéristiques cliniques des 31 prélèvements d'AqH issus d'uvéites idiopathiques qui présentaient des taux d'IP-10 supérieurs au seuil des contrôles, nous n'avons pas retrouvé de corrélation entre la forme clinique d'uvéite. En effet ceux-ci présentaient soit une panuvéite, une uvéite intermédiaire ou postérieure avec la présence d'inflammation dans l'humeur aqueuse et vitrée, de vascularite, ou d'œdème maculaire cystoïde ou papillaire.

L'expression d'IP-10 peut être accrue dans une large variété de cellules, incluant les cellules endothéliales, les kératinocytes, les fibroblastes, les cellules mésangiales, les astrocytes, les monocytes et neutrophiles par stimulation de l'IFN- α , IFN- β , l'IFN- γ , du LPS et dans les lymphocytes T par activation antigénique [146], [147].

L'IP-10 est également exprimé dans beaucoup de pathologies humaines médiées par le Th1 dont le psoriasis, la SEP, l'arthrite rhumatoïde et les maladies chroniques inflammatoires intestinales. D'ailleurs des taux augmentés ont été retrouvés dans le LCR de patients avec méningites virales et SEP et dans d'autres liquides biologiques tels que le liquide broncho-alvéolaire des patients avec sarcoïdose pulmonaire et dans le sérum des patients avec hépatite chronique. Dans ces pathologies, les taux d'IP-10 sont corrélés à l'infiltration par les lymphocytes T suggérant que l'IP-10 joue un rôle dans le recrutement des lymphocytes T au

site de l'inflammation [148]–[150]. L'IP-10 est relié aux structurellement et fonctionnellement aux monokines induites par l'IFN- γ (et à l'IFN-inducible T cell α chimioattractant qui dirigent la migration et stimulent l'adhésion des lymphocytes T activés et des cellules NK en se liant et en activant un récepteur couplé à la protéine G, le CXCR3. Le CXCR3 est exprimé sur les lymphocytes T activés, préférentiellement du phénotype Th1 et sur les cellules NK et sur une partie des lymphocytes T CD4+ et CD8+ circulants [160], [161]. Chez la souris infectée par *T. gondii*, il a été montré que la neutralisation de l'IP-10 inhibe l'infiltration des lymphocytes T dans les tissus infectés et empêche les fonctions spécifiques dirigées vers les antigènes des lymphocytes effecteurs [138].

L'IL-17, cytokine que nous avons trouvée augmentée dans 19% des prélèvements d'AqH (10 des 51 prélèvements) stimule l'expression des cellules exprimant le récepteur à l'IL-17, qui en retour vont induire la sécrétion d'IL-6, IL-8, MCP-1 et de G-CSF entraînant une inflammation chronique avec des infiltrats monocytaires et macrophagiques [162] (Tableau VII). Ce processus est confirmé dans notre étude des uvéites idiopathiques car les taux médians d'IL-6, de MCP-1 et de G-CSF étaient augmentés dans les AqH. Nous confirmons donc l'augmentation de MCP-1 dans l'AqH des uvéites actives idiopathiques de toutes formes cliniques (avec ou sans vascularites, avec ou sans uvéite antérieure associées), comme cela a été montré précédemment dans les uvéites intermédiaires [28]. Contrairement à cette précédente étude, nous n'avons trouvé RANTES augmenté que chez 4 patients. Le groupe de patients avec des taux d'IL-17 augmenté dans l'AqH présentaient une uvéite intermédiaire de type panuvéite et uvéite postérieure, dont un cas de choroïdite multifocale.

Nous avons confirmé le taux médian d'IL-8 augmenté parmi les prélèvements d'AqH des uvéites idiopathiques comme l'ont décrit de précédentes études portant sur les uvéites intermédiaires idiopathiques [28]. Quinze patients présentaient des taux d'IL-8 supérieurs aux seuils des contrôles sans qu'une corrélation avec la forme clinique d'uvéite ne soit mise en évidence. En effet ceux-ci présentaient soit une panuvéite, une uvéite intermédiaire ou postérieure avec la présence d'inflammation dans l'humeur aqueuse et vitrée, de vascularite ou d'œdème maculaire cystoïde. Dans la littérature, les uvéites associées à des œdèmes maculaires présentent les 2 médiateurs IL-6 et IL-8 augmentés dans l'AqH [28]. Nous n'avons retrouvé cette association que chez 1 des 3 patients avec œdème maculaire dans notre étude (autres cas d'œdème maculaire en cours d'analyse cytokinique).

Plus spécialement, l'IL-8 est connu pour être impliqué dans l'activation des neutrophiles et dans la migration des leucocytes. De plus, il induit la différenciation des cellules mononuclées

en granulocytes infiltrants, et l'adhésion des leucocytes du sang périphérique aux cellules endothéliales. Des taux élevés ont été retrouvés dans les uvéites idiopathiques mais également dans le Behçet. Dans cette dernière pathologie, les liens avec le score d'activité de la maladie sont controversés. Pour certains, un taux élevé d'IL-8 serait retrouvé dans les atteintes cutanées, oculaires et les ulcères oraux ; ceci en lien avec la capacité de l'IL-8 à attirer les cellules polymorphonucléaires dans les lésions et à son rôle dans la réponse inflammatoire [163], [164].

Une précédente étude avait montré que les taux d'IL-10, n'étaient pas différents de ceux des contrôles [29]. Nous retrouvons toutefois 10 prélèvements d'AqH avec des taux d'IL-10 augmentés (19% des prélèvements) mais toutefois inférieurs à ceux de l'IL-6 ce qui exclut le diagnostic différentiel avec le lymphome chez ces patients. Van Kooij et al., ont montré que les uvéites actives et les uvéites infectieuses ont des taux d'IL-10 plus élevés que les contrôles [63]. L'IL-10 régule la différenciation et la prolifération des lymphocytes B et T, des CPA et des granulocytes. Il contrôle les processus inflammatoires en supprimant l'expression des cytokines proinflammatoires comme le TNF- α , IFN- γ et l'IL-1 β [165].

Une étude précédente avait montré une corrélation positive entre les différences cytokines, chimiokines augmentées (IL-6, IL-8, MCP-1, et IFN- γ), dans l'AqH de patients avec uvéite idiopathique [29]. En effet, la majorité de nos patients avec uvéite idiopathique ont une association de plusieurs de ces cytokines/ chimiokines augmentées dans les AqH.

Nous n'avons montré une augmentation de l'IL-1 β dans l'AqH des uvéites idiopathiques que chez 3 des 51 prélèvements dosés; cette dernière cytokine agit comme un signal local d'amplification local dans les processus pathologiques associés aux inflammations chroniques comme cela a été montré précédemment dans le vitré des patients avec panuvéite idiopathique [166].

Nous n'avons trouvé d'augmentation d'IL-2 dans l'AqH que chez 2 des prélèvements issus d'uvéites idiopathiques de notre étude. Cependant l'IL-2 avait été retrouvé précédemment augmenté dans les choroïde et l'AqH des patients avec uvéite idiopathique et les sérums étaient corrélés positivement aux taux d'AqH avec une augmentation de l'expression de la chaîne du récepteur à l'IL-2 dans les lymphocytes T CD4⁺ du sang périphérique [167]. Nous n'expliquons pas le fait de ne trouver que peu d'IL-2 dans la plupart des prélèvements d'AqH des uvéites idiopathiques de notre étude.

Nous avons trouvé G-CSF augmenté dans l'AqH des patients avec uvéites idiopathiques. Des études ont montré des taux augmentés dans les maladies inflammatoires dont l'arthrite

rhumatoïde (liquide synovial, sérum) et entre autres dans la maladie de Kawasaki et corrélés à la sévérité de la maladie [168]. L'administration de G-CSF augmente le nombre de neutrophiles sanguins et le G-CSF endogène est important pour la granulopoïèse basale. L'infiltration des tissus cibles par les neutrophiles est caractéristique des maladies inflammatoires et les polynucléaires neutrophiles constituent la majorité de la population leucocytaire retrouvée dans les articulations enflammées dans l'arthrite rhumatoïde et l'arthrite induite par le collagène [169]. Certains effets bénéfiques des thérapeutiques utilisées dans l'arthrite rhumatoïde comme le méthotrexate et les anti-TNF seraient dus à la baisse du recrutement des neutrophiles ou à une diminution de leur fonction [170]. La migration des neutrophiles dans les tissus est une étape clé pendant l'inflammation et repose sur des molécules d'adhésion exprimées par les neutrophiles et les cellules endothéliales [171]. Le G-CSF augmente l'expression du ligand E-sélectine dans les cellules myéloïdes qui initie la progression des neutrophiles le long de l'endothélium résultant en une adhésion solide puis une migration dans les tissus [172]. Le rôle de G-CSF comme régulateur de la production des neutrophiles a été récemment mis en évidence dans les modèles murins d'uvéite expérimentale auto-immune. La sévérité de l'uvéite était très réduite chez les souris déficientes en G-CSF et chez celles traitées par les anticorps monoclonaux anti-G-CSF. Les réponses des lymphocytes T antigènes-spécifiques étaient maintenues mais la différenciation des types lymphocytaires pathogènes Th17 était réduite dans les cas où G-CSF était déficient. Goldberg et al. ont montré que G-CSF contrôle les infiltrats de neutrophiles dans l'oeil par modulant l'expression des récepteurs aux chimiokines C-X-C 2 et 4 sur les neutrophiles du sang périphérique, ainsi que la polymérisation de l'actine et leur migration [144].

Le degré d'inflammation, de tyndall de segment antérieur, n'était pas corrélé à l'expression augmentée dans l'AqH des cytokines, chimiokines et facteur de croissances. Cependant, l'un des patients présentait un hypopion (inflammation intraoculaire majeure) et 20 des 27 cytokines testées étaient élevées dans ce prélèvement d'AqH.

Nous avons analysé le prélèvement sérique et d'AqH d'un patient avec choroïdite ponctuée interne idiopathique. Aucune cytokine, chimiokine ou facteur de croissance n'était augmenté par rapport aux valeurs seuils des contrôles dans l'AqH et le sérum.

Nous avons analysé le prélèvement sérique et d'AqH d'un patient avec choroïdite serpiginieuse idiopathique. Seul le VEGF était augmenté par rapport aux valeurs seuils des contrôles dans l'AqH et aucun médiateur ou facteur de croissance n'a été retrouvé augmenté dans le sérum.

Nous trouvons donc que les profils des cytokines, chimiokines et facteurs de croissance dans les uvéites idiopathiques sont très variables, indépendamment des aspects cliniques des uvéites. Nous n'avons pas trouvé de corrélation entre la présence de : vascularite, œdème papillaire, hyalite, œdème maculaire et tel médiateur de l'inflammation dans l'AqH.

Ces mécanismes inflammatoires font intervenir l'immunité Th17 au niveau général car les cytokines IL-17 et IL-21 ont été retrouvées augmentées dans le sérum et Th1 au niveau intraoculaire, comme l'atteste la présence d'IFN- γ dans l'AqH. Ces résultats peuvent avoir une implication dans la pathogenèse et la prise en charge de ces pathologies pour l'instant mal connues et soignées par des thérapeutiques instaurées de façon empirique sans protocoles thérapeutiques validés. Nous avons pour but d'étudier secondairement les thérapeutiques utilisées chez les patients ayant eu un prélèvement sérique et d'AqH afin d'évaluer l'évolution de la maladie selon le traitement et les thérapeutiques efficaces en fonction des profils des médiateurs trouvés initialement dans les liquides biologiques. Certaines pathologies pour l'instant d'étiologie et de pathophysiologie inconnue comme la choroïdite ponctuée interne et la choroïdite serpiginieuse n'ont pas montré la présence de médiateur inflammatoire dans les liquides biologiques prélevés.

Points forts dans les dosages biologiques des médiateurs de l'inflammation dans les uvéites idiopathiques comparées aux uvéites de la maladie de Behçet, sarcoïdose, toxoplasmose et syphilis.

- Les médianes des concentrations d'IL-1 β , IL-1R α , IL-6, IL-8, TNF- α , MCP-1, G-CSF, MIP-1 α et de MIP-1 β sont augmentées dans toutes ces pathologies.
- Pour les uvéites idiopathiques, la médiane des concentrations était augmentée dans le sérum pour l'IL-17, IP-10 et IL-21, soit la voie Th17 prépondérante dans ces pathologies. La médiane des concentrations était augmentée dans l'AqH pour l'IFN- γ et l'IL-12, soit la voie Th1, IL-17, soit la voie Th17.
- D'autres médiateurs pro-inflammatoires non spécifiques (IL-6, IP-10, MCP-1, MIP-1 α et MIP-1 β et TNF- α) et anti-inflammatoires (IL-1R α) étaient augmentés dans les uvéites idiopathiques.
- La médiane des concentrations était augmentée : l'IL-10 dans la syphilis ; l'IL-12 (Th1) dans la sarcoïdose et les uvéites idiopathiques; l'IL-17 (Th17) dans la syphilis, la maladie de Behçet et les uvéites idiopathiques ; RANTES dans la maladie de Behçet seulement ; le VEGF dans la syphilis et les uvéites idiopathiques (Fig 11).
- Mais les uvéites idiopathiques sont un groupe hétérogène comme le montre la diversité des cytokines et chimiokines augmentées de façon isolée selon les patients.
- Le tableau ci-dessous résume les cytokines retrouvées dans les liquides biologiques (sérum et AqH) des uvéites idiopathiques et les outils thérapeutiques qui seraient à utiliser (inhibiteurs des cytokines).

<p>Concentrations des médiateurs augmentés dans le sérum et l'AqH des uvéites idiopathiques :</p>	<p>Physiopathologie</p>	<p>intérêt thérapeutique</p>
<p>sérum : IL-17, IL-21 (Th17), IP-10 AqH : IL-12 (Th1), IL-17 (Th17), pro- inflammatoires (IL-6, IL-8, TNF-α), anti- inflammatoires (IL- 1Rα), autres: IP-10, G- CSF, MCP-1, MIP-1 α et β et VEGF</p>	<p>Th1 (Th12), Th17 (IL-17, IL-21) cytokines proinflammatoires (IL-6, IL-8) l'IP-10 stimule la migration des monocytes et des lymphocytes T vers les tissus inflammatoires, une hyperexpression de MCP-1 entraîne une infiltration localisée de monocytes / macrophages dans l'endothélium des vaisseaux. MCP-1 a été impliqué, entre autres, dans la formation des thrombus: explication du phénomène d'ischémie rétinienne dans les vascularites ischémiques? VEGF.</p>	<p>anti-IL6, anti-TNF-α anti-VEGF anti-IP-10 et MCP-1? (recherche) anti-G-CSF (recherche) [144]</p>

**≥ 30% des AqH ont les médiateurs suivants augmentés
dans les uvéites:**

uvéites idiopathiques:

IL-12 (Th1), pro-inflammatoires (IL-6), anti-inflammatoires (IL-10: Th2), et IL5,
autres: IP-10, G-CSF, MCP-1 et VEGF.

V-7.2. PROFILS CYTOKINIQUES DANS UNE COHORTE D'UVEITES IDIOPATHIQUES ET CORRELATION AVEC LEUR ASPECT EN OPTIQUE ADAPTATIVE.

- **Objectifs**

Nous avons comparé les résultats des cytokines/ chimiokines/ facteurs de croissance aux observations faites en FIOA au niveau des vaisseaux rétiens chez 10 patients (12 yeux) avec une uvéite idiopathique.

- **Résultats**

Tableau XI : Résultats comparés entre les médiateurs présents dans les sérums (cytokines, chimiokines et facteurs de croissance) et AqH des patients avec uvéite idiopathique et les résultats de leur examen en FIOA.

n° patient	<u>uvéite idiopathique</u>		
	AqH	sérum	aspect en FIOA
4	(17 cytokines NR), IL-21 neg, IL-23 neg	neg	E + veines et artères
5	IL-8, IP-10, MCP-1, MIP-1 α	IL-7	sans anomalie
6	neg	neg	R+ artères
7	IL-12, IP-10, MCP-1, VEGF (IL-21, IL-23 NR)	NR	R+ veines
8	IL-12, IP-10, MCP-1, VEGF (IL-21, IL-23 NR)		E + R veines et artères
9	IP-10 (IL-21, IL-23 NR)	neg	E + R veines
10	IL-1 β , IL1-R α , IL-4, IL-5, IL6, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12, IL-17, MCP-1, MIP-1 α et β , IFN- γ , G-CSF, GM-CSF, PDGF-BB ; TNF- α , VEGF (IL-21, IL-23 NR)	neg	E + veines et artères
11	IP-10 (IL-21, IL-23 NR)	IL-1 β , IL-5	R+ veines
12	IL-23, (autres 17 cytokines NR)	PDGF-BB	R+ artères
13	cytokines NR (IL-21, IL-23 NR)	neg	E+ veines et artères

NR : non renseigné.

- **Conclusion**

Le tableau VIII montre les résultats des cytokines en fonction de l'imagerie adaptative des vaisseaux rétiniens dans l'uvéite idiopathique. Nous n'avons pas trouvé de corrélation entre la présence d'une vascularite veineuse et artérielle, la présence de rétrécissements vasculaires en FIOA et la présence de cytokines, chimiokines et facteurs de croissance dans l'AqH ou le sérum. Différents profils cytokiniques/ chimiokiniques dans l'AqH étaient retrouvés selon les patients : le profil Th1 (IL-12, \pm IFN- γ) dans 3 cas, le profil Th17 (IL-17, IL-21, IL-23) dans 3 cas, des cytokines pro-inflammatoires (IL-1 β , IL6, IL-8, TNF- α) dans 2 cas. L'IP-10 était corrélé à l'infiltration par les lymphocytes T au site de l'inflammation [148]–[150] et ce médiateur était augmenté dans 5 cas. Une hyperexpression de MCP-1 dans 4 cas était retrouvée, ce qui entraîne une infiltration localisée de monocytes/ macrophages dans l'endothélium des vaisseaux.

Le G-CSF augmente le nombre de neutrophiles *in vivo* et module les fonctions des neutrophils, de plus, il induit une production de cytokines comme le TNF- α . Nous l'avons trouvé augmenté dans un cas. Le VEGF, facteur de croissance de l'angiogenèse rétinienne était retrouvé dans 3 cas avec engainements et rétrécissements vasculaires en lien avec un risque d'ischémie rétinienne très certainement.

Concernant l'intérêt clinique potentiel des cytokines retrouvées dans les AqH des patients et responsables d'inflammations vasculaires visibles en FIOA, nous avons trouvé l'IL-1, l'IL-6 et le TNF- α dans un cas d'uvéite idiopathique et le VEGF dans 2 autres cas (tableau IX).

Tableau XII: Cytokines dans les uvéites idiopathiques, maladie de Behçet, sarcoïdose et toxoplasmose et signes cliniques observés en optique adaptative.

cytokine	source	Rôle dans les uvéites expérimentales auto-immunes	Intérêt Clinique et thérapeutique pour les uvéites	Nos observations : dosage de cytokines corrélé avec aspect en FIOA
IFN- γ	Mo, T (Th1), NK	Pathogène [173] protecteur à un stade initial [174]	Élevé dans l'AqH de BD, VKH [55]	Elevé dans l'AqH : opacité péri vasculaire (Behçet et toxoplasmose oculaire, 1 cas d'uvéite idiopathique) et rétrécissement artériel (toxoplasmose)
IL-1 β	Mo, M Φ , T	Proinflammatoire [175], induction de Th17	anti-IL-1 β Ab ou anakinra dans le Behçet [176]	Elevé dans l'AqH : opacité périvasculaire (toxoplasmose, 1 cas d'uvéite idiopathique) Elevé dans le sérum : rétrécissement artériel (1 cas dans le Behçet)
IL-6	Mo, M Φ , T, endothelial	Proinflammatoire, induction de Th17 [158]	Augmenté dans le sérum, l'AqH et le vitré [86]. Anti-IL6.	Elevé dans l'AqH : opacité périvasculaire+ rétrécissement vasculaire (Behçet, sarcoïdose oculaire sans anomalie vasculaire et 1 cas d'uvéite idiopathique)
IL-10	M Φ , T (Th2, Treg), B	Protecteur [177]	Élevé dans le sérum et l'AqH [55]	Elevé dans l'AqH : opacité périvasculaire (Behçet et 1 cas d'uvéite idiopathique)
IL-12	M Φ , DC	Induction de Th1, requise pour l'induction des uvéites expérimentales, mais protecteur si administration	Taux diminué dans le sérum dans le BD [178]	Elevé dans l'AqH : opacité périvasculaire (Behçet, 2 cas d'uvéite idiopathique) et

		précoce [56]		rétrécissement vasculaire (1 cas d'uvéite idiopathique)
IL-17A	T CD4+, quelques CD8+ et lymphocytes T $\gamma\delta$, M Φ	Proinflammatoires : arthrite rhumatoïde, encéphalite expérimentale auto-immune, LED, psoriasis, Crohn, SPA...	anti-IL17 (secukinumab, ixekinumab, SCH900117 etc...), anti-IL-17RA : essais cliniques [143]	Elevé dans l'AqH : opacité vasculaire (1 cas d'uvéite idiopathique)
TNF- α	T, Mo	Proinflammatoire, pathogène [179]	Élevé dans le sérum dans le BD [180], anti-TNF- α [181]	Elevé dans l'AqH : opacité périvasculaire (Behçet et 1 cas d'uvéite idiopathique)
VEGF		Proangiogenèse, rupture barrière hématorétinienne		Elevé dans l'AqH : opacité vasculaire + rétrécissement vasculaire (2 cas d'uvéites idiopathiques)

AqH, aqueous humor; BD, Behçet's disease; VKH, Vogt-Koyanagi-Harada disease; N/A, information not available; DC, dendritic cells; NKT, natural killer T cells; PBMC, peripheral blood mononuclear cells ; SPA : spondylarthrite ankylosante, LED : lupus erythemateux disséminé ; EAE : encéphalite expérimentale auto-immune.

Points forts dans les comparaisons médiateurs biologiques et aspects vasculaires en FIOA dans les uvéites idiopathiques

- Nous n'avons pas trouvé de corrélation entre la présence d'une vascularite veineuse et artérielle ainsi que la présence de rétrécissements vasculaires en FIOA et la présence des médiateurs de l'inflammation dans l'AqH ou le sérum.

Différents profils cytokiniques/ chimiokines inflammatoires dans l'AqH étaient retrouvés: le profil Th1 (IL-12, ± IFN- γ) chez 3 patients, le profil Th17 (IL-17, IL-21, IL-23) chez 2 patients, des cytokines pro-inflammatoires (IL-1 β , IL6, IL-8, TNF- α) chez 1 cas, les médiateurs IP-10, MCP-1, G-CSF et le facteur de croissance VEGF. Se lon les patients, les prélèvements biologiques permettraient de cibler les médiateurs inflammatoires IL-1, IL-6, TNF- α et les facteurs de croissance tels que le VEGF (anti-IL1, anti-IL-6, anti- TNF- α , anti-VEGF, anti-IL17).

Médianes des concentrations des médiateurs augmentés dans les liquides biologiques	Physiopathologie	Intérêt thérapeutique
uvéites idiopathiques avec atteinte vasculaire en FIOA : Sérum : pro-inflammatoires IL-1 β , IL-5, IL-7, PDGF-BB AqH : Th1 (IFN- γ , IL-12), Th17 (IL-17, IL-23), pro-inflammatoires: IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, IL-9 (Th9), IP-10, MCP-1, MIP-1 α et β , G-CSF, GM-CSF, anti-inflammatoires (IL1-R α , IL-10), IFN- γ , facteurs de croissance: VEGF, PDGF-BB	Th1, Th17 + cytokines pro-inflammatoires : IL-1 β , IL-6, IP-10, MCP-1	anti-IL1, anti-IL6, anti-TNF-α anti-VEGF essais cliniques: anti-IL17 (secukinumab, ixekinumab, SCH900117 etc...), anti-IL-17RA [143]
	Hyperexpression d'IP-10 après stimulation d'IFN- γ . L'IP-10 l'IP-10 stimule la migration des lymphocytes T vers les tissus inflammatoires périphériques. Une hyperexpression de MCP-1 entraîne une infiltration localisée de monocytes/ macrophages dans l'endothélium des vaisseaux. formation des thrombus.	intérêt d'anti-IP10, anti-MCP-1 à définir para des protocoles de recherche.

VI. DISCUSSION GENERALE

Nous savons peu de choses sur les mécanismes immunitaires intervenant dans les uvéites, les études sur le sujet sont limitées par la difficulté d'obtenir des prélèvements histologiques de l'œil enflammé chez l'homme ; les modèles animaux permettent d'explorer

les mécanismes *in vivo* mais ne sont que rarement pertinents. Grâce aux prélèvements d'AqH nous avons accès directement au compartiment intraoculaire et le dosage des médiateurs de l'inflammation permet l'analyse de cette inflammation au site d'activité.

Des études chez la souris montrent que des cellules effectrices Th1 et Th17 peuvent induire de façon indépendante des altérations tissulaires dans les modèles d'uvéites [33]. Ces 2 types cellulaires produisent et induisent la production de la cytokine proinflammatoire TNF- α qui est l'une des cytokines principales intervenant dans les mécanismes immunitaires des uvéites. L'œil est relativement protégé du système immunitaire par la barrière hématorétinienne, par l'environnement inhibiteur immunitaire et les mécanismes actifs de tolérance faisant intervenir les lymphocytes T CD4+ (Treg) [34]. Des cellules résidentes rétinienne, comme les cellules gliales de Müller et de l'épithélium pigmentaire contribuent à ce microenvironnement par l'expression de cytokines constitutives comme le TNF- α et les cytokines contre-régulatrices comme IL-10 (effet contradictoire). Le taux de ces cytokines détermine leur diverses susceptibilité à induire une uvéite [182]–[185].

L'IL-10 augmente l'induction des cellules dendritiques productrices d'IL-10, des cellules Treg, et des macrophages ce qui permet un état de tolérance et de résolution de l'inflammation, tandis que le TNF- α est important pendant la phase effectrice de la maladie par ses fonctions sur les cellules T effectrices, la prolifération et l'activation des macrophages quand la spécificité antigénique est moins importante et que l'inflammation est plus médiée par les cytokines [34].

De plus la déplétion des populations de Treg CD4+CD25+ augmente la susceptibilité aux uvéites chez les souris naïves ; des lymphocytes Treg CD4+CD25^{high} aux fonctions altérées ont été retrouvés dans des formes d'uvéites chez l'homme [186], [187]. Ainsi la fonction des lymphocytes Treg pourrait influencer la susceptibilité à développer une uvéite comme ceci est le cas dans les autres maladies immunologiques dont la SEP ou l'arthrite rhumatoïde. L'influence de ces cytokines sur la sévérité de ces maladies a clairement été démontrée par les effets de leur neutralisation : antagoniser l'action du TNF- α par des anticorps monoclonaux ou la protéine de fusion du TNF receptor 1, réduit les altérations structurelles sur la rétine chez les souris et l'homme [47], [188]. Au contraire, la neutralisation de l'IL-10 endogène exacerbe l'inflammation tandis que les traitement avec l'IL-10 ou l'hyperexpression du gène de l'IL-10 entraîne une guérison de la maladie chez la souris [189], [190].

Il semblerait donc que les différences entre l'expression des taux de TNF- α et d'IL-10, de façon constitutionnelle et en réponse à une agression pathogénique pourrait influencer la

susceptibilité et la sévérité des uvéites. Une étude a montré une relation significative entre les uvéites et 3 locus IL-10 : htSNP2(-2849), htSNP5, and htSNP6. Atan et al., ont émis l'hypothèse que le polymorphisme d'IL-10, associé à une susceptibilité augmentée aux uvéites perturbe les mécanismes qui normalement maintiennent la tolérance aux antigènes rétinien, tandis que les variants génétiques de TNFA influencent plus la sévérité des uvéites par leur influence sur les étapes effectrices de la maladie [53].

D'ailleurs, l'hypothèse d'une susceptibilité aux uvéites provenant de déterminants génétiques comme dans d'autres maladies immunologiques a été d'abord suggérée de par leur mode de transmission héréditaires dans certaines familles [191], [192].

Nous avons trouvé que les spectres des cytokines/ chimiokines observés dans l'AqH sont variables et différent selon la cause de l'inflammation intraoculaire. Les médiateurs que nous avons trouvé associés aux inflammations intraoculaires quelque soit l'étiologie de l'uvéite sont l'IL-6, l'IP-10, le MCP-1, l'IL-8 levels et le G-CSF (tableau VII récapitulatif).

Nous avons observé dans les uvéites idiopathiques une réponse pro-inflammatoire large avec des concentrations augmentées de cytokines de type Th1 (IFN γ), dont l'IL-12 (stimule la production d'IFN- γ et inducteur de différenciation en cellules Th1) et Th17 (IL-17 et IL-21) mais d'autres également : TNF- α , IL-6, MIP-1 α , MIP-1 β , MCP-1, G-CSF, d'IP-10 et du facteur de croissance VEGF. Ces médiateurs semblent jouer un rôle primordial dans la régulation de la pathogénicité de l'uvéite idiopathique mais les profils sont très variables à l'intérieur de ce groupe d'uvéites qui restent hétérogènes. Chez ces patients avec uvéite idiopathique, les concentrations sériques en cytokines/ chimiokines testées différaient de celles des contrôles par les taux d'IL-17, IL-21 et IP-10 augmentés ce qui implique un mécanisme inflammatoire systémique pour certaines de ces uvéites et non strictement localisé à l'œil comme la clinique le laisserait penser. Nous confirmons donc ici les études réalisées chez les animaux dans les uvéites auto-immunes expérimentales qui présentent également un profil cytokinique de type Th1.

L'analyse biostatistique (par classification hiérarchique non supervisée) dans notre étude a permis de montrer que différents sous-groupes d'uvéites idiopathiques se dessinent par la nature des médiateurs de l'inflammation augmentés dans leur humeur aqueuse et par l'intensité de l'augmentation de ces médiateurs:

un 1^{er} groupe présente des valeurs de médiateurs de l'inflammation assez faibles bien que significativement différentes de celles des témoins; un 2^{ème} groupe présente des valeurs de médiateurs modérément élevées ; un 3^{ème} groupe, des valeurs modérément élevées et les

facteurs IL-7, IL-15 et PDGF-BB proches de ceux des témoins contrôles sans uvéite; et enfin, un 4^{ème} groupe présente des valeurs de médiateurs très élevées. Pour rappel, nous avons trouvé dans la présente étude que les médiateurs IL-7, IL-15 et PDGF-BB étaient plus élevés chez les témoins contrôles sans uvéites que chez les uvéites idiopathiques. Nous n'expliquons pas ces résultats. Toutefois, le fait que ces quatre groupes de patients se distinguent par la nature des cytokines augmentées dans leur humeur aqueuse représente un résultat majeur car il s'agit la première évidence de l'existence de pathologies différentes regroupées sous la même appellation « uvéites idiopathiques ». Les médiateurs inflammatoires impliqués sont différents. Ceci correspond peut-être à des voies mécanistiques immunologiques distinctes. Les thérapeutiques doivent donc cibler chaque sous-groupe de patients et les études sur les uvéites idiopathiques, doivent prendre en compte leurs similitudes en termes de médiateurs immunologiques à doser dans les liquides biologiques.

De précédentes études peuvent aider à l'explication physiopathologique des médiateurs de l'inflammation que nous avons observés. En effet il a été montré une altération dans la liaison du répresseur dans la région du gène promoteur TNF. Une production accrue d'IFN- γ suite à ce polymorphisme a été retrouvée plus fréquemment dans les uvéites idiopathiques intermédiaires. Il est donc possible que nos résultats retrouvant des profils cytokiniques différents dans les uvéites idiopathiques reflètent des polymorphismes différents dans les gènes impliqués dans la réponse inflammatoire [193], [194].

Nous savons que pour la sarcoïdose, interviennent des polymorphismes de l'antigène 4 des lymphocytes T cytotoxiques, qui effectue l'activation des lymphocytes T et la sécrétion des cytokines. Ces polymorphismes ont été associés avec des manifestations de la maladie au niveau de divers organes telle que la sarcoïdose oculaire. Le gène du TNF- α et le polymorphisme pour les cytokines IL-11 et les CC récepteurs aux chimiokines, CCR2 et CCR3 ont été identifiés. Nos résultats pourraient refléter ces polymorphismes par la nature des cytokines et chimiokines retrouvées et la susceptibilité à la maladie [195]–[198]. Nous avons trouvé une réponse inflammatoire majoritairement Th1 (IL-12) dans la sarcoïdose avec des cytokines pro-inflammatoires : IL-1 β , IL-6, TNF- α , IP-10, MCP-1, MIP-1 α et β et le G-CSF. Cette réponse est proche de celle de la maladie de Behçet qui comprend en plus une réponse Th17 (IL-17) et d'autres cytokines anti-inflammatoires telles que RANTES, IL-8. Nos résultats permettraient également de diriger le traitement vers une cible cytokinique/chimiokinique tels que l'IL-6, le TNF- α et le IL-1 β . Les traitements par biothérapie utilisés actuellement en ophtalmologie sont par exemple le tocilizumab (anti-IL6), qui empêche la

liaison de l'IL-6 à ses récepteurs solubles et membranaires et donc antagonise son action. Des études ont montré son intérêt dans les uvéites réfractaires aux anti-TNF telles que les uvéites idiopathiques, la chorioretinopathie de « birdshot », la maladie de Behçet et l'arthrite juvénile idiopathique [199], [200]. Il y a plusieurs types d'anti-TNF, ceux utilisés dans les uvéites sont des anticorps monoclonaux (adalimumab, infliximab) avec comme mécanisme d'action de bloquer directement le TNF- α . De nombreuses études rapportent l'efficacité des anti-TNF dans la maladie de Behçet dans ses formes d'uvéites postérieures avec vascularites rétinienne ou non et résistantes aux immunosuppresseurs [201]. L'anakinra (Kineret®), un antagoniste soluble IL-1R α a été prouvé efficace dans les maladies auto-immunes (maladie de Still et syndromes héréditaires auto-inflammatoires) [202]. Son intérêt est de cibler l'IL-1 car un signal excessif de cette interleukine résulte d'une hyperactivité de l'inflammasome.

Nous avons observé des taux élevés d'IL-1 β , IL-6 et de TNF α dans les liquides biologiques des patients présentant une uvéite liée à la maladie de Behçet, à la sarcoïdose et celles restant idiopathiques. Ces résultats montrent que ces cytokines sont des cibles potentielles pour les thérapeutiques et biothérapies dans ces pathologies citées. De manière intéressante, l'IP-10, le MCP-1 et le G-CSF ont été également retrouvés augmentés dans l'humeur aqueuse de ces patients atteints uvéites. Dans ces pathologies, les taux d'IP-10 sont corrélés à l'infiltration par les lymphocytes T car l'IP-10 jouerait un rôle dans le recrutement des lymphocytes T au site de l'inflammation [148]–[150], [203]. L'IP-10 est relié aux structurellement et fonctionnellement aux monokines induites par l'IFN- γ . Il est donc logique de retrouver également l'IFN- γ dans l'AqH des uvéites que nous avons étudiées. Quant au MCP-1 qui était fréquemment retrouvé en concentration augmentée, son hyperexpression de MCP-1 entraîne une infiltration localisée de monocytes/ macrophages dans l'endothélium des vaisseaux. Les autres marqueurs phares dans notre étude de l'AqH des uvéites idiopathiques sont le G-CSF, le VEGF dont le taux a été rapporté augmenté en cas de rupture de la barrière hématorétinienne. Des études portant sur les uvéites idiopathiques montrent l'efficacité des thérapeutiques anti-VEGF pour le traitement des œdèmes maculaires dans les uvéites de toutes étiologies dont celles idiopathiques. Cependant, certains œdèmes maculaires dans les uvéites présentent des résistances aux anti-VEGF et l'explication serait peut-être dans le fait que le VEGF, bien que majoritairement retrouvé augmenté dans les uvéites de notre étude, ne l'est pas systématiquement. Nous émettons l'hypothèse, à la lumière de nos résultats qu'un dosage de VEGF dans l'humeur aqueuse permettrait d'adapter la thérapeutique en cas de résistance au traitement d'autant plus que les traitements par anti-VEGF en intra-vitréens sont

coûteux et nécessitent des injections répétées, sans parler du risque d'infection sévère à type d'endophtalmie lié au mode d'injection.

La migration des neutrophiles dans les tissus est une étape clé pendant l'inflammation et repose sur des molécules d'adhésion exprimées par les neutrophiles et les cellules endothéliales [171]. Le G-CSF augmente l'expression d'un ligand qui initie la progression des neutrophiles le long de l'endothélium résultant en une adhésion solide puis une migration dans les tissus [172]. Le rôle de G-CSF comme régulateur de la production des neutrophiles a été récemment mis en évidence dans les modèles murins d'uvéite expérimentale auto-immune. Certains effets bénéfiques des thérapeutiques utilisées dans les maladies inflammatoires non infectieuses comme le méthotrexate et les anti-TNF seraient dus à la baisse du recrutement des neutrophiles ou à une diminution de leur fonction [170]. Nous comprenons mieux cette efficacité dans les uvéites car nous avons trouvé le G-CSF augmenté dans toutes les uvéites infectieuses ou non infectieuses de notre étude. Goldberg et al. ont suggéré que les infiltrats de neutrophiles pourraient être contrôlés par une inhibition du G-CSF dans les uvéites auto-immunes [144]. Nous suggérons de poursuivre ces études par des essais cliniques de thérapeutiques d'anti-G-CSF dans la sarcoïdose oculaire, la maladie de Behçet et les uvéites idiopathiques.

L'œil est relativement protégé du système immunitaire par la barrière hématorétinienne, par l'environnement inhibiteur immunitaire et les mécanismes actifs de tolérance faisant intervenir les lymphocytes T CD4⁺ (Treg) [34].

L'examen pour l'instant de l'œil humain et particulièrement du pôle postérieur avec la détection des cellules immunitaires présentes est devenue possible. Nous avons pu, grâce à l'optique adaptative observer des cellules engainant les vaisseaux rétiniens. Cet aspect est caractéristique de la présence d'une vascularite rétinienne avec parfois des rétrécissements vasculaires associés. Combiner cet outil d'imagerie à la recherche des cytokines dans les liquides intraoculaires permet de retrouver une inflammation active mais ne permet pas d'isoler spécifiquement la responsabilité macrophagique ou lymphocytaire dans l'engainement périvasculaire. En effet, les médiateurs que nous avons trouvés dans les prélèvements d'AqH et reliés aux états inflammatoires comme l'IP-10, le MCP-1 ; l'IL-6, l'IL-8 et le VEGF étaient augmentés en présence ou en l'absence d'engainement paravasculaire en FIOA (signe caractéristique de vascularites). L'imagerie en FIOA n'étant possible uniquement que lorsque les milieux étaient clairs, l'augmentation de ces médiateurs de l'inflammation n'étaient pas corrélée à la présence d'une inflammation de segment

antérieur ou intravitréenne. Leur nature semble indépendante de l'aspect clinique des uvéites à l'intérieur de chaque groupe étiologique.

Nous ne pouvons que spéculer sur les mécanismes cibles qui mènent à une inflammation oculaire sévère. Les profils immunitaires divers retrouvés pourraient correspondre à plusieurs mécanismes immunologiques intervenant dans les uvéites idiopathiques. Ces profils sont proches de ceux retrouvés dans les uvéites infectieuses et non infectieuses qui nous ont servi de témoins positifs.

Il est alors possible d'envisager un rôle microbien comme facteur initiateur ou potentialisateur. C'est d'ailleurs une théorie couramment évoquée concernant le mécanisme physiopathologique des uvéites. Les cytokines, chimiokines retrouvées dans nos témoins positifs infectieux sont assez similaires mais nous ne pouvons pas confirmer cette hypothèse car les recherches bactériennes et virales effectuées de façon concomitante étaient négatives dans le groupe des uvéites idiopathiques. Nous savons également que dans certains cas, les infections virales peuvent avoir été éradiquées mais ont initié des réponses immunitaires qui se propagent ensuite par mimique moléculaire. De plus, des réponses inflammatoires aux antigènes oculaires, particulièrement le S retinal antigène, a été rapporté par de nombreux auteurs lors de processus intraoculaire infectieux ou non.

Un moyen par lesquels les agents microbiens peuvent jouer un rôle est leur effet adjuvant ; par exemple le déplacement de la balance des réponses immunitaires qui sont contrôlées normalement par des mécanismes régulateurs inhibiteurs vers des mécanismes entraînant une activité de ces maladies.

VII. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Concernant les résultats des cytokines, chimiokines dans les liquides biologiques, nous avons montré qu'au niveau sérique, des taux élevés d'IL-1 β peuvent s'observer dans la syphilis, la maladie de Behçet et la sarcoïdose oculaire, des taux élevés d'IL-6, dans la syphilis oculaire et la sarcoïdose, l'IFN- γ dans la syphilis et le TNF- α dans la sarcoïdose oculaire.

Nous n'avons accès qu'au compartiment antérieur de l'œil par des prélèvements d'AqH ; il semblerait qu'une augmentation de l'inflammation au niveau du segment antérieur permette un passage accru des cytokines dans cette partie antérieure et donc leur détection. C'est ce que nous avons montré ici par l'étude des uvéites syphilitiques pour lesquelles les cytokines étaient retrouvées à des taux supérieurs dans les panuvéites.

Dans notre étude des uvéites idiopathiques, nous n'avons pas observé d'association particulière entre les aspects cliniques (ex. présence de vascularites, hyalite, d'œdème maculaire ou papillaire) et les cytokines ou chimiokines retrouvées à des taux augmentés. Il est possible que certaines cytokines soient hyperproduites à tel moment du processus immunitaire, comme au stade initial mais pour l'instant seul l'obtention de prélèvements itératifs tout au long de l'évolution de la maladie pourrait permettre de répondre à cette question. Deux cas de panuvéites idiopathiques avaient plus de 20 cytokines augmentées sur les 30 analysées à présent. Ceci suggère également que l'inflammation de segment antérieur serait associée à une forte détection de ces médiateurs dans l'AqH.

De même, dans la littérature, des taux élevés sériques de TNF- α ont été positivement corrélés à des épisodes récidivants d'uvéites d'origine idiopathiques [204], [205]. Seule une étude complémentaire sur le suivi des patients prélevés de notre étude afin de pouvoir analyser une éventuelle corrélation entre risque de récurrences, l'efficacité des traitements et le type de marqueurs cytokiniques retrouvés pourrait nous permettre de confirmer ces données. Cependant le nombre de prélèvements analysés est pour l'instant trop limité pour une discussion pertinente sur l'étude actuelle. Des analyses complémentaires doivent être réalisées pour évaluer les altérations de la barrière hématorétiniennes avec une comparaison entre les concentrations d'albumine entre le sang et l'AqH.

L'importance de la cytokine IL-21 dans la maladie de Behçet a été rapportée [108]. Les auteurs ont observé que les cellules Th1 et l'IL-2 étaient augmentées dans le sérum des

patients atteints de maladie de Behçet, à la phase active comparé aux patients en rémission et aux contrôles [206]. Les lymphocytes T CD4⁺ étaient augmentés dans le sang périphériques des patients et corrélés aux cellules Th17 et négativement corrélés aux lymphocytes Treg [207], [208]. L'IL-21 induirait la différenciation des cellules Th17 et la production de Th17 [76]. L'IL-23 potentialise quant à lui, l'effet des traitements associant IL-21/TGF- β .

Les traitements qui cibleraient les cytokines importantes dans la pathogenèse de la maladie de Behçet, l'IL-17, IL-21 et le TGF- β en bloquant l'IL-21 et en régulant le TGF- β (aprelimast) constituent une voie d'étude prometteuse en restaurant le balance entre les cellules Th17 et les Tregs [209], [210]. Des diminutions de TGF- β ont été observées dans les uvéites idiopathiques, inversement corrélées avec l'IL-6 et l'IL-8 [29], cette cytokine nous semble une importante voie d'étude et il nous resterait à la doser dans nos prélèvements.

D'autres études ouvrent des pistes de recherches sur d'autres médiateurs que nous n'avons pas analysés :

Par exemple, une augmentation des IL-17f, IL-22, IL-25, IL-31, IL-33 et sCD40L ont été retrouvé dans l'AqH des uvéite antérieures idiopathiques [155], cytokines que nous n'avons pas analysées. Récemment Velez et al., ont évalué les taux de 200 cytokines dans l'humeur vitrée de 15 patients avec uvéite postérieure. Les cytokines suivantes constituaient un profil commun : IL-23, IL-1 récepteur I (IL-1RI), IL-17R, tissue inhibitors of metalloproteinase 1 and 2 (TIMP-1 and TIMP-2), insulin like growth factor-binding protein 2 (IGFBP-2), nerve growth factor (b-NGF), platelet-derived growth factor receptor β polypeptide (PDGFRb), bone morphogenic protein 4 (BMP-4) et le stem cell factor (SCF) [211]. Ces médiateurs constituent des pistes potentielles à explorer pour rechercher des cibles thérapeutiques dans ces pathologies. L'un des patients avec uvéite idiopathique avait des anticorps à la S-arrestine, une protéine potentiellement la cause de dégénération rétinienne auto-immune.

Récemment des cellules Th22 identifiées comme des cellules Th qui produisent les cytokines IL-22 et TNF- α , distinctes des cellules Th1, Th2 et Th17 ont été décrites. Ces lymphocytes T produisant de l'IL-22 ont été isolées dans les uvéites expérimentales auto-immunes, les modèles animaux de maladie de Behçet et les lymphocytes T intraoculaires de modèles animaux en présence d'antigènes rétinien [118]. Cette cytokine IL-22 en association avec le TNF- α pourraient jouer un rôle dans la réponse immunitaire de la maladie de Behçet. Ces cytokines sont à explorer dans d'autres formes d'uvéites.

Une autre cytokine à rechercher dans nos groupes de patients serait l'IL-27 car son expression a été décrite comme diminuée chez les patients avec maladie de Vogt-Koyanagi-Harada en

relation avec un mécanisme Th17 plus actif. Modifier l'IL-27 par des thérapeutiques constituerait également une voie de traitement [212]. .

La possibilité de mesurer précisément le score d'inflammation au niveau vasculaire offre des perspectives d'études fondamentales et cliniques. Par exemple, nos données suggèrent que les infiltrats périvasculaires pourraient contribuer aux occlusions veineuses par un effet compressif. L'effet des thérapeutiques pourrait être évalué de façon quantitative. Des études complémentaires sont nécessaires afin de confirmer la corrélation entre les signes de sévérité clinique et les aspects en FIAO et pour documenter l'évolution de l'engainement vasculaire rétinien. Ceci pourrait être utile pour déterminer la relation éventuelle entre le degré de rétrécissement vasculaire et l'obstruction associée, entre l'engainement et les lésions de la barrière hématorétinienne et entre les aspects en FIAO et l'étiologie de l'uvéite. Utiliser l'imagerie par FIAO semblerait être intéressante pour rechercher systématiquement la présence éventuelle d'une inflammation vasculaire rétinienne chez les patients avec des maladies cérébrales, dont la SEP.

En FIOA, notre échantillon de patients était trop petit pour pouvoir différencier les effets des divers traitements utilisés. Mais concernant les traitements, trouver les cytokines, chimiokines et facteurs de croissance mis en cause dans telle ou telle pathologie a un impact potentiel sur la prise en charge des patients.

Le traitement immunosuppresseur est généralement instauré empiriquement pour les uvéites idiopathiques chez des sujets avec corticodépendance avérée ou à risque. De nouveaux agents thérapeutiques issus des biotechnologies appliquées à l'immunologie tels les anti-TNF- α et l'INF sont à la disposition des prescripteurs [43]. D'autres agents (anti-IL1 β , and anti-IL-6) sont à l'étude pour traiter des maladies auto-immunes systémiques [213], [214] et les molécules récentes, lebrodalumab (Amgen), secukinumab (Novartis) and ixekizumab (Eli Lilly) interfèrent avec la voie de l'IL-17. Le secukinumab et l'ixekizumab ciblent l'IL-17, tandis que le brodalumab a pour cible un récepteur qui se lie à l'IL-17. L'ixekizumab est actuellement en Phase II dans les essais cliniques dans le psoriasis. Ces molécules seraient des thérapeutiques à étudier dans les uvéites idiopathiques car nous avons trouvé la voie Th17 augmentée dans nombre d'entre elles.

Nous avons montré que doser le taux des médiateurs immunitaires est possible et que les profils sont différents dans les uvéites idiopathiques. Le dosage des cytokines et chimiokines avant le traitement, dans les liquides biologiques pourrait aider à cibler les thérapeutiques choisies.

REFERENCES

- [1] R. K. Sharma, A. T. Rogojina, and K. V. Chalam, “Multiplex immunoassay analysis of biomarkers in clinically accessible quantities of human aqueous humor,” *Mol. Vis.*, vol. 15, pp. 60–69, 2009.
- [2] D. C. Gritz and I. G. Wong, “Incidence and prevalence of uveitis in Northern California; the Northern California Epidemiology of Uveitis Study,” *Ophthalmology*, vol. 111, no. 3, p. 491–500; discussion 500, Mar. 2004.
- [3] D. McGonagle and M. F. McDermott, “A proposed classification of the immunological diseases,” *PLoS Med.*, vol. 3, no. 8, p. e297, Aug. 2006.
- [4] M. S. Suttorp-Schulten and A. Rothova, “The possible impact of uveitis in blindness: a literature survey,” *Br. J. Ophthalmol.*, vol. 80, no. 9, pp. 844–848, Sep. 1996.
- [5] D. A. Jabs, R. B. Nussenblatt, J. T. Rosenbaum, and Standardization of Uveitis Nomenclature (SUN) Working Group, “Standardization of uveitis nomenclature for reporting clinical data. Results of the First International Workshop,” *Am. J. Ophthalmol.*, vol. 140, no. 3, pp. 509–516, Sep. 2005.
- [6] P. Tejada, M. J. Mendez, and S. Negreira, “Choroidal tubercles with tuberculous meningitis,” *Int. Ophthalmol.*, vol. 18, no. 2, pp. 115–118, 1994.
- [7] A. A. Bonfioli, F. M. Damico, A. L. L. Curi, and F. Orefice, “Intermediate uveitis,” *Semin. Ophthalmol.*, vol. 20, no. 3, pp. 147–154, Sep. 2005.
- [8] S. R. Boyd, S. Young, and S. Lightman, “Immunopathology of the noninfectious posterior and intermediate uveitides,” *Surv. Ophthalmol.*, vol. 46, no. 3, pp. 209–233, Dec. 2001.
- [9] S. A. Boskovich, C. Y. Lowder, D. M. Meisler, and F. A. Gutman, “Systemic diseases associated with intermediate uveitis,” *Cleve. Clin. J. Med.*, vol. 60, no. 6, pp. 460–465, Dec. 1993.
- [10] R. B. Nussenblatt, K. K. Mittal, S. Ryan, W. R. Green, and A. E. Maumenee, “Birdshot retinochoroidopathy associated with HLA-A29 antigen and immune responsiveness to retinal S-antigen,” *Am. J. Ophthalmol.*, vol. 94, no. 2, pp. 147–158, Aug. 1982.
- [11] J. J. W. Kuiper, T. Mutis, W. de Jager, J. D. F. de Groot-Mijnes, and A. Rothova, “Intraocular interleukin-17 and proinflammatory cytokines in HLA-A29-associated birdshot chorioretinopathy,” *Am. J. Ophthalmol.*, vol. 152, no. 2, p. 177–182.e1, Aug. 2011.
- [12] P. Yang and C. S. Foster, “Interleukin 21, interleukin 23, and transforming growth factor β 1 in HLA-A29-associated birdshot retinochoroidopathy,” *Am. J. Ophthalmol.*, vol. 156, no. 2, p. 400–406.e2, Aug. 2013.
- [13] J. V. Forrester, “Intermediate and posterior uveitis,” *Chem. Immunol. Allergy*, vol. 92, pp. 228–243, 2007.
- [14] R. Horai, C. R. Zárate-Bladés, P. Dillenburg-Pilla, J. Chen, J. L. Kielczewski, P. B. Silver, Y. Jittayasothorn, C.-C. Chan, H. Yamane, K. Honda, and R. R. Caspi, “Microbiota-Dependent Activation of an Autoreactive T Cell Receptor Provokes Autoimmunity in an Immunologically Privileged Site,” *Immunity*, vol. 43, no. 2, pp. 343–353, Aug. 2015.
- [15] H. E. Shaw, J. G. Lawson, and R. D. Stulting, “Amaurosis fugax and retinal vasculitis associated with methamphetamine inhalation,” *J. Clin. Neuroophthalmol.*, vol. 5, no. 3, pp. 169–176, Sep. 1985.
- [16] A. Di Maria, C. Redaelli, A. Canevari, G. Pagnucco, M. Martinetti, and P. E. Bianchi, “Unilateral retinal vasculitis associated with hairy cell leukaemia: immunogenetic study,” *Ophthalmol. J. Int. Ophthalmol. Int. J. Ophthalmol. Z. Für Augenheilkd.*, vol. 212, no. 5, pp. 355–357, 1998.
- [17] A. Agarwal and J. D. M. Gass, *Gass’ Atlas of Macular Diseases*. Elsevier Health Sciences, 2011.

- [18] R. H. Fenton and H. A. Easom, "BEHCET'S SYNDROME. A HISTOPATHOLOGIC STUDY OF THE EYE," *Arch. Ophthalmol. Chic. Ill 1960*, vol. 72, pp. 71–81, Jul. 1964.
- [19] F. C. Winter and R. E. Yukins, "The ocular pathology of Behçet's disease," *Am. J. Ophthalmol.*, vol. 62, no. 2, pp. 257–262, Aug. 1966.
- [20] D. G. Charteris, C. Champ, A. R. Rosenthal, and S. L. Lightman, "Behçet's disease: activated T lymphocytes in retinal perivasculitis," *Br. J. Ophthalmol.*, vol. 76, no. 8, pp. 499–501, Aug. 1992.
- [21] R. K. George, C. C. Chan, S. M. Whitcup, and R. B. Nussenblatt, "Ocular immunopathology of Behçet's disease," *Surv. Ophthalmol.*, vol. 42, no. 2, pp. 157–162, Oct. 1997.
- [22] A. C. Arnold, J. S. Pepose, R. S. Hepler, and R. Y. Foos, "Retinal periphlebitis and retinitis in multiple sclerosis. I. Pathologic characteristics," *Ophthalmology*, vol. 91, no. 3, pp. 255–262, Mar. 1984.
- [23] M. R. Tola, E. Granieri, I. Casetta, P. Monari, R. Scorrano, V. Mazzeo, E. Paolino, V. C. Monetti, and V. Govoni, "Retinal periphlebitis in multiple sclerosis: a marker of disease activity?," *Eur. Neurol.*, vol. 33, no. 2, pp. 93–96, 1993.
- [24] E. M. Graham, D. A. Francis, M. D. Sanders, and P. Rudge, "Ocular inflammatory changes in established multiple sclerosis," *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, vol. 52, no. 12, pp. 1360–1363, Dec. 1989.
- [25] M. K. Birch, S. Barbosa, L. D. Blumhardt, C. O'Brien, and S. P. Harding, "Retinal venous sheathing and the blood-retinal barrier in multiple sclerosis," *Arch. Ophthalmol. Chic. Ill 1960*, vol. 114, no. 1, pp. 34–39, Jan. 1996.
- [26] S. Schmidt, L. Wessels, A. Augustin, and T. Klockgether, "Patients with Multiple Sclerosis and concomitant uveitis/periphlebitis retinae are not distinct from those without intraocular inflammation," *J. Neurol. Sci.*, vol. 187, no. 1–2, pp. 49–53, Jun. 2001.
- [27] S. J. Curnow and P. I. Murray, "Inflammatory mediators of uveitis: cytokines and chemokines," *Curr. Opin. Ophthalmol.*, vol. 17, no. 6, pp. 532–537, Dec. 2006.
- [28] N. V. Valentincic, J. D. F. de Groot-Mijnes, A. Kraut, P. Korosec, M. Hawlina, and A. Rothova, "Intraocular and serum cytokine profiles in patients with intermediate uveitis," *Mol. Vis.*, vol. 17, pp. 2003–2010, 2011.
- [29] S. J. Curnow, F. Falciani, O. M. Durrani, C. M. G. Cheung, E. J. Ross, K. Wloka, S. Rauz, G. R. Wallace, M. Salmon, and P. I. Murray, "Multiplex bead immunoassay analysis of aqueous humor reveals distinct cytokine profiles in uveitis," *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 46, no. 11, pp. 4251–4259, Nov. 2005.
- [30] R. Horai and R. R. Caspi, "Cytokines in autoimmune uveitis," *J. Interferon Cytokine Res. Off. J. Int. Soc. Interferon Cytokine Res.*, vol. 31, no. 10, pp. 733–744, Oct. 2011.
- [31] A. Amadi-Obi, C.-R. Yu, X. Liu, R. M. Mahdi, G. L. Clarke, R. B. Nussenblatt, I. Gery, Y. S. Lee, and C. E. Egwuagu, "TH17 cells contribute to uveitis and scleritis and are expanded by IL-2 and inhibited by IL-27/STAT1," *Nat. Med.*, vol. 13, no. 6, pp. 711–718, Jun. 2007.
- [32] E. C. Kerr, B. J. E. Raveney, D. A. Copland, A. D. Dick, and L. B. Nicholson, "Analysis of retinal cellular infiltrate in experimental autoimmune uveoretinitis reveals multiple regulatory cell populations," *J. Autoimmun.*, vol. 31, no. 4, pp. 354–361, Dec. 2008.
- [33] D. Luger and R. R. Caspi, "New perspectives on effector mechanisms in uveitis," *Semin. Immunopathol.*, vol. 30, no. 2, pp. 135–143, Apr. 2008.
- [34] R. R. Caspi, "Ocular autoimmunity: the price of privilege?," *Immunol. Rev.*, vol. 213, pp. 23–35, Oct. 2006.

- [35] D. A. Copland, J. Liu, L. P. Schewitz-Bowers, V. Brinkmann, K. Anderson, L. B. Nicholson, and A. D. Dick, “Therapeutic dosing of fingolimod (FTY720) prevents cell infiltration, rapidly suppresses ocular inflammation, and maintains the blood-ocular barrier,” *Am. J. Pathol.*, vol. 180, no. 2, pp. 672–681, Feb. 2012.
- [36] R. W. Lee, L. B. Nicholson, H. N. Sen, C.-C. Chan, L. Wei, R. B. Nussenblatt, and A. D. Dick, “Autoimmune and autoinflammatory mechanisms in uveitis,” *Semin. Immunopathol.*, vol. 36, no. 5, pp. 581–594, Sep. 2014.
- [37] H. M. Ashour and J. Y. Niederkorn, “Gammadelta T cells promote anterior chamber-associated immune deviation and immune privilege through their production of IL-10,” *J. Immunol. Baltim. Md 1950*, vol. 177, no. 12, pp. 8331–8337, Dec. 2006.
- [38] T. A. Ferguson and T. S. Griffith, “A vision of cell death: insights into immune privilege,” *Immunol. Rev.*, vol. 156, pp. 167–184, Apr. 1997.
- [39] S. Sugita, C. Taguchi, H. Takase, K. Sagawa, J. Sueda, K. Fukushi, N. Hikita, T. Watanabe, K. Itoh, and M. Mochizuki, “Soluble Fas ligand and soluble Fas in ocular fluid of patients with uveitis,” *Br. J. Ophthalmol.*, vol. 84, no. 10, pp. 1130–1134, Oct. 2000.
- [40] M. S. Gregory, A. C. Repp, A. M. Holhbaum, R. R. Saff, A. Marshak-Rothstein, and B. R. Ksander, “Membrane Fas ligand activates innate immunity and terminates ocular immune privilege,” *J. Immunol. Baltim. Md 1950*, vol. 169, no. 5, pp. 2727–2735, Sep. 2002.
- [41] J. Ambati, A. Anand, S. Fernandez, E. Sakurai, B. C. Lynn, W. A. Kuziel, B. J. Rollins, and B. K. Ambati, “An animal model of age-related macular degeneration in senescent Ccl-2- or Ccr-2-deficient mice,” *Nat. Med.*, vol. 9, no. 11, pp. 1390–1397, Nov. 2003.
- [42] J. H. Sohn, H. J. Kaplan, H. J. Suk, P. S. Bora, and N. S. Bora, “Chronic low level complement activation within the eye is controlled by intraocular complement regulatory proteins,” *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 41, no. 11, pp. 3492–3502, Oct. 2000.
- [43] R. Zhou, R. Horai, M. J. Mattapallil, and R. R. Caspi, “A new look at immune privilege of the eye: dual role for the vision-related molecule retinoic acid,” *J. Immunol. Baltim. Md 1950*, vol. 187, no. 8, pp. 4170–4177, Oct. 2011.
- [44] E. J. Wehrens, B. J. Prakken, and F. van Wijk, “T cells out of control--impaired immune regulation in the inflamed joint,” *Nat. Rev. Rheumatol.*, vol. 9, no. 1, pp. 34–42, Jan. 2013.
- [45] E. C. Kerr, D. A. Copland, A. D. Dick, and L. B. Nicholson, “The dynamics of leukocyte infiltration in experimental autoimmune uveoretinitis,” *Prog. Retin. Eye Res.*, vol. 27, no. 5, pp. 527–535, Sep. 2008.
- [46] D. A. Copland, C. J. Calder, B. J. E. Raveney, L. B. Nicholson, J. Phillips, H. Cherwinski, M. Jenmalm, J. D. Sedgwick, and A. D. Dick, “Monoclonal antibody-mediated CD200 receptor signaling suppresses macrophage activation and tissue damage in experimental autoimmune uveoretinitis,” *Am. J. Pathol.*, vol. 171, no. 2, pp. 580–588, Aug. 2007.
- [47] A. D. Dick, L. Duncan, G. Hale, H. Waldmann, and J. Isaacs, “Neutralizing TNF-alpha activity modulates T-cell phenotype and function in experimental autoimmune uveoretinitis,” *J. Autoimmun.*, vol. 11, no. 3, pp. 255–264, Jun. 1998.
- [48] K. Gocho, I. Kondo, and K. Yamaki, “Identification of autoreactive T cells in Vogt-Koyanagi-Harada disease,” *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 42, no. 9, pp. 2004–2009, Aug. 2001.
- [49] D. L. Kastner, I. Aksentijevich, and R. Goldbach-Mansky, “Autoinflammatory disease reloaded: a clinical perspective,” *Cell*, vol. 140, no. 6, pp. 784–790, Mar. 2010.

- [50] W. Chi, X. Zhu, P. Yang, X. Liu, X. Lin, H. Zhou, X. Huang, and A. Kijlstra, “Upregulated IL-23 and IL-17 in Behçet patients with active uveitis,” *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 49, no. 7, pp. 3058–3064, Jul. 2008.
- [51] D. Luger, P. B. Silver, J. Tang, D. Cua, Z. Chen, Y. Iwakura, E. P. Bowman, N. M. Sgambellone, C.-C. Chan, and R. R. Caspi, “Either a Th17 or a Th1 effector response can drive autoimmunity: conditions of disease induction affect dominant effector category,” *J. Exp. Med.*, vol. 205, no. 4, pp. 799–810, Apr. 2008.
- [52] S. R. Thureau, T. R. Mempel, A. Flügel, M. Diedrichs-Möhring, F. Krombach, N. Kawakami, and G. Wildner, “The fate of autoreactive, GFP+ T cells in rat models of uveitis analyzed by intravital fluorescence microscopy and FACS,” *Int. Immunol.*, vol. 16, no. 11, pp. 1573–1582, Nov. 2004.
- [53] D. Atan, S. Fraser-Bell, J. Plskova, L. Kuffova, A. Hogan, A. Tufail, D. J. Kilmartin, J. V. Forrester, J. Bidwell, A. D. Dick, and A. J. Churchill, “Cytokine polymorphism in noninfectious uveitis,” *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 51, no. 8, pp. 4133–4142, Aug. 2010.
- [54] A. M. A. El-Asrar, S. Struyf, D. Kangave, S. S. Al-Obeidan, G. Opendakker, K. Geboes, and J. Van Damme, “Cytokine profiles in aqueous humor of patients with different clinical entities of endogenous uveitis,” *Clin. Immunol. Orlando Fla*, vol. 139, no. 2, pp. 177–184, May 2011.
- [55] H. Takase, Y. Futagami, T. Yoshida, K. Kamoi, S. Sugita, Y. Imai, and M. Mochizuki, “Cytokine profile in aqueous humor and sera of patients with infectious or noninfectious uveitis,” *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 47, no. 4, pp. 1557–1561, Apr. 2006.
- [56] T. K. Tarrant, P. B. Silver, J. L. Wahlsten, L. V. Rizzo, C. C. Chan, B. Wiggert, and R. R. Caspi, “Interleukin 12 protects from a T helper type 1-mediated autoimmune disease, experimental autoimmune uveitis, through a mechanism involving interferon gamma, nitric oxide, and apoptosis,” *J. Exp. Med.*, vol. 189, no. 2, pp. 219–230, Jan. 1999.
- [57] R. S. Grajewski, A. M. Hansen, R. K. Agarwal, M. Kronenberg, S. Sidobre, S. B. Su, P. B. Silver, M. Tsuji, R. W. Franck, A. P. Lawton, C.-C. Chan, and R. R. Caspi, “Activation of invariant NKT cells ameliorates experimental ocular autoimmunity by a mechanism involving innate IFN-gamma production and dampening of the adaptive Th1 and Th17 responses,” *J. Immunol. Baltim. Md 1950*, vol. 181, no. 7, pp. 4791–4797, Oct. 2008.
- [58] A. Yoshida, Y. Koide, M. Uchijima, and T. O. Yoshida, “IFN-gamma induces IL-12 mRNA expression by a murine macrophage cell line, J774,” *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 198, no. 3, pp. 857–861, Feb. 1994.
- [59] E. K. Akpek, S. M. Maca, W. G. Christen, and C. S. Foster, “Elevated vitreous interleukin-10 level is not diagnostic of intraocular-central nervous system lymphoma,” *Ophthalmology*, vol. 106, no. 12, pp. 2291–2295, Dec. 1999.
- [60] Y. el-Shabrawi, C. Livir-Rallatos, W. Christen, S. Baltatzis, and C. S. Foster, “High levels of interleukin-12 in the aqueous humor and vitreous of patients with uveitis,” *Ophthalmology*, vol. 105, no. 9, pp. 1659–1663, Sep. 1998.
- [61] K. Asadullah, W. Sterry, and H. D. Volk, “Interleukin-10 therapy--review of a new approach,” *Pharmacol. Rev.*, vol. 55, no. 2, pp. 241–269, Jun. 2003.
- [62] J. V. Ongkosuwito, E. J. Feron, C. E. van Doornik, A. Van der Lelij, C. B. Hoyng, E. C. La Heij, and A. Kijlstra, “Analysis of immunoregulatory cytokines in ocular fluid samples from patients with uveitis,” *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 39, no. 13, pp. 2659–2665, Dec. 1998.

- [63] B. van Kooij, A. Rothova, G. T. Rijkers, and J. D. F. de Groot-Mijnes, “Distinct cytokine and chemokine profiles in the aqueous of patients with uveitis and cystoid macular edema,” *Am. J. Ophthalmol.*, vol. 142, no. 1, pp. 192–194, Jul. 2006.
- [64] S. Takeshita, J. R. Gage, T. Kishimoto, D. L. Vredevoe, and O. Martínez-Maza, “Differential regulation of IL-6 gene transcription and expression by IL-4 and IL-10 in human monocytic cell lines,” *J. Immunol. Baltim. Md 1950*, vol. 156, no. 7, pp. 2591–2598, Apr. 1996.
- [65] V. Dardalhon, T. Korn, V. K. Kuchroo, and A. C. Anderson, “Role of Th1 and Th17 cells in organ-specific autoimmunity,” *J. Autoimmun.*, vol. 31, no. 3, pp. 252–256, Nov. 2008.
- [66] M. Veldhoen, R. J. Hocking, C. J. Atkins, R. M. Locksley, and B. Stockinger, “TGFbeta in the context of an inflammatory cytokine milieu supports de novo differentiation of IL-17-producing T cells,” *Immunity*, vol. 24, no. 2, pp. 179–189, Feb. 2006.
- [67] C. Tan, M. K. Aziz, J. D. Lovaas, B. P. Vistica, G. Shi, E. F. Wawrousek, and I. Gery, “Antigen-specific Th9 cells exhibit uniqueness in their kinetics of cytokine production and short retention at the inflammatory site,” *J. Immunol. Baltim. Md 1950*, vol. 185, no. 11, pp. 6795–6801, Dec. 2010.
- [68] W. Chi, P. Yang, B. Li, C. Wu, H. Jin, X. Zhu, L. Chen, H. Zhou, X. Huang, and A. Kijlstra, “IL-23 promotes CD4+ T cells to produce IL-17 in Vogt-Koyanagi-Harada disease,” *J. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 119, no. 5, pp. 1218–1224, May 2007.
- [69] S. Jawad, B. Liu, E. Agron, R. B. Nussenblatt, and H. N. Sen, “Elevated serum levels of interleukin-17A in uveitis patients,” *Ocul. Immunol. Inflamm.*, vol. 21, no. 6, pp. 434–439, Dec. 2013.
- [70] E. Bettelli, Y. Carrier, W. Gao, T. Korn, T. B. Strom, M. Oukka, H. L. Weiner, and V. K. Kuchroo, “Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells,” *Nature*, vol. 441, no. 7090, pp. 235–238, May 2006.
- [71] E. V. Acosta-Rodriguez, G. Napolitani, A. Lanzavecchia, and F. Sallusto, “Interleukins 1beta and 6 but not transforming growth factor-beta are essential for the differentiation of interleukin 17-producing human T helper cells,” *Nat. Immunol.*, vol. 8, no. 9, pp. 942–949, Sep. 2007.
- [72] T. Korn, E. Bettelli, M. Oukka, and V. K. Kuchroo, “IL-17 and Th17 Cells,” *Annu. Rev. Immunol.*, vol. 27, pp. 485–517, 2009.
- [73] J. M. Damsker, A. M. Hansen, and R. R. Caspi, “Th1 and Th17 cells: adversaries and collaborators,” *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, vol. 1183, pp. 211–221, Jan. 2010.
- [74] Y. Peng, G. Han, H. Shao, Y. Wang, H. J. Kaplan, and D. Sun, “Characterization of IL-17+ interphotoreceptor retinoid-binding protein-specific T cells in experimental autoimmune uveitis,” *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 48, no. 9, pp. 4153–4161, Sep. 2007.
- [75] Y. Cui, H. Shao, C. Lan, H. Nian, R. L. O’Brien, W. K. Born, H. J. Kaplan, and D. Sun, “Major role of gamma delta T cells in the generation of IL-17+ uveitogenic T cells,” *J. Immunol. Baltim. Md 1950*, vol. 183, no. 1, pp. 560–567, Jul. 2009.
- [76] A. Brüstle, S. Heink, M. Huber, C. Rosenplänter, C. Stadelmann, P. Yu, E. Arpaia, T. W. Mak, T. Kamradt, and M. Lohoff, “The development of inflammatory T(H)-17 cells requires interferon-regulatory factor 4,” *Nat. Immunol.*, vol. 8, no. 9, pp. 958–966, Sep. 2007.
- [77] A. Reboldi, C. Coisne, D. Baumjohann, F. Benvenuto, D. Bottinelli, S. Lira, A. Uccelli, A. Lanzavecchia, B. Engelhardt, and F. Sallusto, “C-C chemokine receptor 6-regulated

- entry of TH-17 cells into the CNS through the choroid plexus is required for the initiation of EAE,” *Nat. Immunol.*, vol. 10, no. 5, pp. 514–523, May 2009.
- [78] F. Li, P. Yang, X. Liu, C. Wang, S. Hou, and A. Kijlstra, “Upregulation of interleukin 21 and promotion of interleukin 17 production in chronic or recurrent Vogt-Koyanagi-Harada disease,” *Arch. Ophthalmol. Chic. Ill 1960*, vol. 128, no. 11, pp. 1449–1454, Nov. 2010.
- [79] A. A. Okada, H. Keino, J. Suzuki, J. Sakai, M. Usui, and J. Mizuguchi, “Kinetics of intraocular cytokines in the suppression of experimental autoimmune uveoretinitis by type I IFN,” *Int. Immunol.*, vol. 10, no. 12, pp. 1917–1922, Dec. 1998.
- [80] M. J. Zeidan, D. Saadoun, M. Garrido, D. Klatzmann, A. Six, and P. Cacoub, “Behçet’s disease physiopathology: a contemporary review,” *Auto-Immun. Highlights*, vol. 7, no. 1, p. 4, Dec. 2016.
- [81] E. B. Suhler, J. R. Smith, T. R. Giles, A. K. Lauer, M. S. Wertheim, D. E. Kurz, P. A. Kurz, L. Lim, F. Mackensen, T. D. Pickard, and J. T. Rosenbaum, “Infliximab therapy for refractory uveitis: 2-year results of a prospective trial,” *Arch. Ophthalmol. Chic. Ill 1960*, vol. 127, no. 6, pp. 819–822, Jun. 2009.
- [82] J. D. Luna, C. C. Chan, N. L. Derevjanić, J. Mahlow, C. Chiu, B. Peng, T. Tobe, P. A. Campochiaro, and S. A. Vinore, “Blood-retinal barrier (BRB) breakdown in experimental autoimmune uveoretinitis: comparison with vascular endothelial growth factor, tumor necrosis factor alpha, and interleukin-1beta-mediated breakdown,” *J. Neurosci. Res.*, vol. 49, no. 3, pp. 268–280, Aug. 1997.
- [83] G. Sartani, P. B. Silver, L. V. Rizzo, C. C. Chan, B. Wiggert, G. Mastorakos, and R. R. Caspi, “Anti-tumor necrosis factor alpha therapy suppresses the induction of experimental autoimmune uveoretinitis in mice by inhibiting antigen priming,” *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 37, no. 11, pp. 2211–2218, Oct. 1996.
- [84] S. J. Curnow, D. Scheel-Toellner, W. Jenkinson, K. Raza, O. M. Durrani, J. M. Faint, S. Rauz, K. Wloka, D. Pilling, S. Rose-John, C. D. Buckley, P. I. Murray, and M. Salmon, “Inhibition of T cell apoptosis in the aqueous humor of patients with uveitis by IL-6/soluble IL-6 receptor trans-signaling,” *J. Immunol. Baltim. Md 1950*, vol. 173, no. 8, pp. 5290–5297, Oct. 2004.
- [85] X. Li and G. R. Stark, “NFkappaB-dependent signaling pathways,” *Exp. Hematol.*, vol. 30, no. 4, pp. 285–296, Apr. 2002.
- [86] V. L. Perez, G. N. Papaliodis, D. Chu, F. Anzaar, W. Christen, and C. S. Foster, “Elevated levels of interleukin 6 in the vitreous fluid of patients with pars planitis and posterior uveitis: the Massachusetts eye & ear experience and review of previous studies,” *Ocul. Immunol. Inflamm.*, vol. 12, no. 3, pp. 193–201, Sep. 2004.
- [87] A. M. Klok, L. Luyendijk, M. J. Zaal, A. Rothova, C. E. Hack, and A. Kijlstra, “Elevated serum IL-8 levels are associated with disease activity in idiopathic intermediate uveitis,” *Br. J. Ophthalmol.*, vol. 82, no. 8, pp. 871–874, Aug. 1998.
- [88] M. Kramer, Y. Monselise, I. Bahar, Y. Cohen, D. Weinberger, and N. Goldenberg-Cohen, “Serum cytokine levels in active uveitis and remission,” *Curr. Eye Res.*, vol. 32, no. 7–8, pp. 669–675, Aug. 2007.
- [89] J. R. Samples, R. S. Boney, and J. T. Rosenbaum, “Ocular inflammatory effects of intravitreally injected interleukin-2,” *Curr. Eye Res.*, vol. 12, no. 7, pp. 649–654, Jul. 1993.
- [90] J. A. G. van Roon, M. C. Verweij, M. W. Wijk, K. M. G. Jacobs, J. W. J. Bijlsma, and F. P. J. G. Lafeber, “Increased intraarticular interleukin-7 in rheumatoid arthritis patients stimulates cell contact-dependent activation of CD4(+) T cells and macrophages,” *Arthritis Rheum.*, vol. 52, no. 6, pp. 1700–1710, Jun. 2005.

- [91] A. M. Abu El-Asrar, S. Struyf, D. Kangave, S. A. Al-Obeidan, G. Opdenakker, K. Geboes, and J. Van Damme, “Cytokine and CXC chemokine expression patterns in aqueous humor of patients with presumed tuberculous uveitis,” *Cytokine*, vol. 59, no. 2, pp. 377–381, Aug. 2012.
- [92] A. Crawford, J. M. Angelosanto, K. L. Nadwodny, S. D. Blackburn, and E. J. Wherry, “A role for the chemokine RANTES in regulating CD8 T cell responses during chronic viral infection,” *PLoS Pathog.*, vol. 7, no. 7, p. e1002098, Jul. 2011.
- [93] M. N. Ajuebor, L. Gibbs, R. J. Flower, A. M. Das, and M. Perretti, “Investigation of the functional role played by the chemokine monocyte chemoattractant protein-1 in interleukin-1-induced murine peritonitis,” *Br. J. Pharmacol.*, vol. 125, no. 2, pp. 319–326, Sep. 1998.
- [94] R. T. Palframan, S. Jung, G. Cheng, W. Weninger, Y. Luo, M. Dorf, D. R. Littman, B. J. Rollins, H. Zweerink, A. Rot, and U. H. von Andrian, “Inflammatory chemokine transport and presentation in HEV: a remote control mechanism for monocyte recruitment to lymph nodes in inflamed tissues,” *J. Exp. Med.*, vol. 194, no. 9, pp. 1361–1373, Nov. 2001.
- [95] U. Haberstroh, K. Stilo, J. Pocock, G. Wolf, U. Helmchen, U. Wenzel, G. Zahner, R. A. Stahl, and F. Thaïss, “L-arginine suppresses lipopolysaccharide-induced expression of RANTES in glomeruli,” *J. Am. Soc. Nephrol. JASN*, vol. 9, no. 2, pp. 203–210, Feb. 1998.
- [96] C.-H. Yang, I.-M. Fang, C.-P. Lin, C.-M. Yang, and M.-S. Chen, “Effects of the NF-kappaB inhibitor pyrrolidine dithiocarbamate on experimentally induced autoimmune anterior uveitis,” *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 46, no. 4, pp. 1339–1347, Apr. 2005.
- [97] S. Pflanz, L. Hibbert, J. Mattson, R. Rosales, E. Vaisberg, J. F. Bazan, J. H. Phillips, T. K. McClanahan, R. de Waal Malefyt, and R. A. Kastelein, “WSX-1 and glycoprotein 130 constitute a signal-transducing receptor for IL-27,” *J. Immunol. Baltim. Md 1950*, vol. 172, no. 4, pp. 2225–2231, Feb. 2004.
- [98] G. Pagès and J. Pouyssegur, “Transcriptional regulation of the Vascular Endothelial Growth Factor gene—a concert of activating factors,” *Cardiovasc. Res.*, vol. 65, no. 3, pp. 564–573, Feb. 2005.
- [99] M. Chen, H. Wang, W. Chen, and G. Meng, “Regulation of adaptive immunity by the NLRP3 inflammasome,” *Int. Immunopharmacol.*, vol. 11, no. 5, pp. 549–554, May 2011.
- [100] K. Gocho, V. Sarda, S. Falah, J.-A. Sahel, F. Sennlaub, M. Benchaboune, M. Ullern, and M. Paques, “Adaptive optics imaging of geographic atrophy,” *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 54, no. 5, pp. 3673–3680, May 2013.
- [101] M. N. Muthiah, C. Gias, F. K. Chen, J. Zhong, Z. McClelland, F. B. Sallo, T. Peto, P. J. Coffey, and L. da Cruz, “Cone photoreceptor definition on adaptive optics retinal imaging,” *Br. J. Ophthalmol.*, vol. 98, no. 8, pp. 1073–1079, Aug. 2014.
- [102] M. Lombardo, M. Parravano, S. Serrao, L. Ziccardi, D. Giannini, and G. Lombardo, “Investigation of Adaptive Optics Imaging Biomarkers for Detecting Pathological Changes of the Cone Mosaic in Patients with Type 1 Diabetes Mellitus,” *PloS One*, vol. 11, no. 3, p. e0151380, 2016.
- [103] E. Koch, D. Rosenbaum, A. Brolly, J.-A. Sahel, P. Chaumet-Riffaud, X. Girerd, F. Rossant, and M. Paques, “Morphometric analysis of small arteries in the human retina using adaptive optics imaging: relationship with blood pressure and focal vascular changes,” *J. Hypertens.*, vol. 32, no. 4, pp. 890–898, Apr. 2014.

- [104] S. Zwillinger, M. Paques, B. Safran, and C. Baudouin, “In vivo characterization of lamina cribrosa pore morphology in primary open-angle glaucoma,” *J. Fr. Ophthalmol.*, vol. 39, no. 3, pp. 265–271, Mar. 2016.
- [105] M.-H. Errera, S. Coisy, C. Fardeau, J.-A. Sahel, S. Kallel, M. Westcott, B. Bodaghi, and M. Paques, “Retinal vasculitis imaging by adaptive optics,” *Ophthalmology*, vol. 121, no. 6, p. 1311–1312.e2, Jun. 2014.
- [106] A. Van der Lelij and A. Rothova, “Diagnostic anterior chamber paracentesis in uveitis: a safe procedure?,” *Br. J. Ophthalmol.*, vol. 81, no. 11, pp. 976–979, Nov. 1997.
- [107] M. Bomert, G. Köllisch, M. Roponen, R. Lauener, H. Renz, P. I. Pfefferle, and N. Al-Fakhri, “Analytical performance of a multiplexed, bead-based cytokine detection system in small volume samples,” *Clin. Chem. Lab. Med.*, vol. 49, no. 10, pp. 1691–1693, Oct. 2011.
- [108] G. Geri, B. Terrier, M. Rosenzweig, B. Wechsler, M. Touzot, D. Seilhean, T.-A. Tran, B. Bodaghi, L. Musset, V. Soumelis, D. Klatzmann, P. Cacoub, and D. Saadoun, “Critical role of IL-21 in modulating TH17 and regulatory T cells in Behçet disease,” *J. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 128, no. 3, pp. 655–664, Sep. 2011.
- [109] K. W. Leung, C. J. Barnstable, and J. Tombran-Tink, “Bacterial endotoxin activates retinal pigment epithelial cells and induces their degeneration through IL-6 and IL-8 autocrine signaling,” *Mol. Immunol.*, vol. 46, no. 7, pp. 1374–1386, Apr. 2009.
- [110] V. Sarda, K. Nakashima, B. Wolff, J.-A. Sahel, and M. Paques, “Topography of patchy retinal whitening during acute perfused retinal vein occlusion by optical coherence tomography and adaptive optics fundus imaging,” *Eur. J. Ophthalmol.*, vol. 21, no. 5, pp. 653–656, Oct. 2011.
- [111] F. Kosar, I. Sahin, H. Gullu, and S. Cehreli, “Acute myocardial infarction with normal coronary arteries in a young man with the Behcet’s disease,” *Int. J. Cardiol.*, vol. 99, no. 2, pp. 355–357, Mar. 2005.
- [112] H. E. Palmer, K. M. Jurd, B. J. Hunt, A. G. Zaman, M. R. Stanford, M. D. Sanders, and E. M. Graham, “Thrombophilic factors in ischaemic and non-ischaemic idiopathic retinal vasculitis,” *Eye Lond. Engl.*, vol. 9 (Pt 4), pp. 507–512, 1995.
- [113] A. K. Vine, “Severe periphlebitis, peripheral retinal ischemia, and preretinal neovascularization in patients with multiple sclerosis,” *Am. J. Ophthalmol.*, vol. 113, no. 1, pp. 28–32, Jan. 1992.
- [114] M. R. Stanford, E. M. Graham, E. Kasp, E. C. Brown, D. C. Dumonde, and M. D. Sanders, “Retinal vasculitis: correlation of animal and human disease,” *Eye Lond. Engl.*, vol. 1 (Pt 1), pp. 69–77, 1987.
- [115] C. M. G. Cheung, M. Vania, M. Ang, S. P. Chee, and J. Li, “Comparison of aqueous humor cytokine and chemokine levels in diabetic patients with and without retinopathy,” *Mol. Vis.*, vol. 18, pp. 830–837, 2012.
- [116] D. Wakefield, P. McCluskey, N. Roche, and J. L. Rossio, “Aqueous humor cytokine profile in patients with chronic uveitis,” *Ocul. Immunol. Inflamm.*, vol. 3, no. 3, pp. 203–208, 1995.
- [117] A. Sauer, O. Villard, C. Creuzot-Garcher, C. Chiquet, J.-P. Berrod, C. Speeg-Schatz, T. Bourcier, and E. Candolfi, “Intraocular levels of interleukin 17A (IL-17A) and IL-10 as respective determinant markers of toxoplasmosis and viral uveitis,” *Clin. Vaccine Immunol. CVI*, vol. 22, no. 1, pp. 72–78, Jan. 2015.
- [118] S. Sugita, Y. Kawazoe, A. Imai, T. Kawaguchi, S. Horie, H. Keino, M. Takahashi, and M. Mochizuki, “Role of IL-22- and TNF- α -producing Th22 cells in uveitis patients with Behcet’s disease,” *J. Immunol. Baltim. Md 1950*, vol. 190, no. 11, pp. 5799–5808, Jun. 2013.

- [119] M. Ben Ahmed, H. Houman, M. Miled, K. Dellagi, and H. Louzir, “Involvement of chemokines and Th1 cytokines in the pathogenesis of mucocutaneous lesions of Behçet’s disease,” *Arthritis Rheum.*, vol. 50, no. 7, pp. 2291–2295, Jul. 2004.
- [120] J. R. Groom and A. D. Luster, “CXCR3 in T cell function,” *Exp. Cell Res.*, vol. 317, no. 5, pp. 620–631, Mar. 2011.
- [121] N. Ambrose, E. Khan, R. Ravindran, L. Lightstone, S. Abraham, M. Botto, M. Johns, and D. O. Haskard, “The exaggerated inflammatory response in Behçet’s syndrome: identification of dysfunctional post-transcriptional regulation of the IFN- γ /CXCL10 IP-10 pathway,” *Clin. Exp. Immunol.*, vol. 181, no. 3, pp. 427–433, Sep. 2015.
- [122] K. Hamzaoui, A. Borhani-Haghighi, W. Kaabachi, and A. Hamzaoui, “Increased interleukin 33 in patients with neuro-Behçet’s disease: correlation with MCP-1 and IP-10 chemokines,” *Cell. Mol. Immunol.*, vol. 11, no. 6, pp. 613–616, Nov. 2014.
- [123] G. Saruhan-Direskeneli, S. P. Yentür, G. Akman-Demir, N. Işık, and P. Serdaroğlu, “Cytokines and chemokines in neuro-Behçet’s disease compared to multiple sclerosis and other neurological diseases,” *J. Neuroimmunol.*, vol. 145, no. 1–2, pp. 127–134, Dec. 2003.
- [124] Z. Y. Zhou, S. L. Chen, N. Shen, and Y. Lu, “Cytokines and Behçet’s disease,” *Autoimmun. Rev.*, vol. 11, no. 10, pp. 699–704, Aug. 2012.
- [125] K. Hamzaoui, A. Hamzaoui, F. Guemira, M. Bessioud, M. ’hamed Hamza, and K. Ayed, “Cytokine profile in Behçet’s disease patients. Relationship with disease activity,” *Scand. J. Rheumatol.*, vol. 31, no. 4, pp. 205–210, 2002.
- [126] C. C. Zouboulis, J. Katsantonis, R. Ketteler, R. Treudler, E. Kaklamani, S. Hornemann, P. Kaklamanis, and C. E. Orfanos, “Adamantiades-Behçet’s disease: interleukin-8 is increased in serum of patients with active oral and neurological manifestations and is secreted by small vessel endothelial cells,” *Arch. Dermatol. Res.*, vol. 292, no. 6, pp. 279–284, Jun. 2000.
- [127] J. Katsantonis, Y. Adler, C. E. Orfanos, and C. C. Zouboulis, “Adamantiades-Behçet’s disease: serum IL-8 is a more reliable marker for disease activity than C-reactive protein and erythrocyte sedimentation rate,” *Dermatol. Basel Switz.*, vol. 201, no. 1, pp. 37–39, 2000.
- [128] I. F. Charo and M. B. Taubman, “Chemokines in the pathogenesis of vascular disease,” *Circ. Res.*, vol. 95, no. 9, pp. 858–866, Oct. 2004.
- [129] I. S. Grewal, B. J. Rutledge, J. A. Fiorillo, L. Gu, R. P. Gladue, R. A. Flavell, and B. J. Rollins, “Transgenic monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) in pancreatic islets produces monocyte-rich insulinitis without diabetes: abrogation by a second transgene expressing systemic MCP-1,” *J. Immunol. Baltim. Md 1950*, vol. 159, no. 1, pp. 401–408, Jul. 1997.
- [130] S. Matsukura, C. Stellato, J. R. Plitt, C. Bickel, K. Miura, S. N. Georas, V. Casolaro, and R. P. Schleimer, “Activation of eotaxin gene transcription by NF-kappa B and STAT6 in human airway epithelial cells,” *J. Immunol. Baltim. Md 1950*, vol. 163, no. 12, pp. 6876–6883, Dec. 1999.
- [131] S. J. Cho, M. J. Kang, R. J. Homer, H. R. Kang, X. Zhang, P. J. Lee, J. A. Elias, and C. G. Lee, “Role of early growth response-1 (Egr-1) in interleukin-13-induced inflammation and remodeling,” *J. Biol. Chem.*, vol. 281, no. 12, pp. 8161–8168, Mar. 2006.
- [132] C. Mantas, H. Direskeneli, D. Oz, S. Yavuz, and T. Akoglu, “IL-8 producing cells in patients with Behçet’s disease,” *Clin. Exp. Rheumatol.*, vol. 18, no. 2, pp. 249–251, Apr. 2000.
- [133] H. Nagafuchi, M. Takeno, H. Yoshikawa, M. S. Kurokawa, K. Nara, E. Takada, C. Masuda, M. Mizoguchi, and N. Suzuki, “Excessive expression of Txk, a member of the

- Tec family of tyrosine kinases, contributes to excessive Th1 cytokine production by T lymphocytes in patients with Behcet's disease," *Clin. Exp. Immunol.*, vol. 139, no. 2, pp. 363–370, Feb. 2005.
- [134] Y. Imamura, M. S. Kurokawa, H. Yoshikawa, K. Nara, E. Takada, C. Masuda, S. Tsukikawa, S. Ozaki, T. Matsuda, and N. Suzuki, "Involvement of Th1 cells and heat shock protein 60 in the pathogenesis of intestinal Behcet's disease," *Clin. Exp. Immunol.*, vol. 139, no. 2, pp. 371–378, Feb. 2005.
- [135] M. N. Kelly, J. K. Kolls, K. Happel, J. D. Schwartzman, P. Schwarzenberger, C. Combe, M. Moretto, and I. A. Khan, "Interleukin-17/interleukin-17 receptor-mediated signaling is important for generation of an optimal polymorphonuclear response against *Toxoplasma gondii* infection," *Infect. Immun.*, vol. 73, no. 1, pp. 617–621, Jan. 2005.
- [136] A. Strack, V. C. Asensio, I. L. Campbell, D. Schlüter, and M. Deckert, "Chemokines are differentially expressed by astrocytes, microglia and inflammatory leukocytes in *Toxoplasma* encephalitis and critically regulated by interferon-gamma," *Acta Neuropathol. (Berl.)*, vol. 103, no. 5, pp. 458–468, May 2002.
- [137] I. A. Khan, K. A. Smith, and L. H. Kasper, "Induction of antigen-specific human cytotoxic T cells by *Toxoplasma gondii*," *J. Clin. Invest.*, vol. 85, no. 6, pp. 1879–1886, Jun. 1990.
- [138] I. A. Khan, J. A. MacLean, F. S. Lee, L. Casciotti, E. DeHaan, J. D. Schwartzman, and A. D. Luster, "IP-10 is critical for effector T cell trafficking and host survival in *Toxoplasma gondii* infection," *Immunity*, vol. 12, no. 5, pp. 483–494, May 2000.
- [139] S. Apostolakis, K. Vogiatzi, V. Amanatidou, and D. A. Spandidos, "Interleukin 8 and cardiovascular disease," *Cardiovasc. Res.*, vol. 84, no. 3, pp. 353–360, Dec. 2009.
- [140] A. Rothova, "Ocular involvement in sarcoidosis," *Br. J. Ophthalmol.*, vol. 84, no. 1, pp. 110–116, Jan. 2000.
- [141] K. Nagata, K. Maruyama, K. Uno, K. Shinomiya, K. Yoneda, J. Hamuro, S. Sugita, T. Yoshimura, K.-H. Sonoda, M. Mochizuki, and S. Kinoshita, "Simultaneous analysis of multiple cytokines in the vitreous of patients with sarcoid uveitis," *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 53, no. 7, pp. 3827–3833, Jun. 2012.
- [142] B. B. Mishra, L. W. Poulter, G. Janossy, and D. G. James, "The distribution of lymphoid and macrophage like cell subsets of sarcoid and Kveim granulomata: possible mechanism of negative PPD reaction in sarcoidosis," *Clin. Exp. Immunol.*, vol. 54, no. 3, pp. 705–715, Dec. 1983.
- [143] T. Yamagata, J. Skepner, and J. Yang, "Targeting Th17 Effector Cytokines for the Treatment of Autoimmune Diseases," *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz.)*, vol. 63, no. 6, pp. 405–414, Dec. 2015.
- [144] G. L. Goldberg, A. L. Cornish, J. Murphy, E. S. Pang, L. L. Lim, I. K. Campbell, K. Scalzo-Inguanti, X. Chen, P. G. McMenamin, E. Maraskovsky, B. S. McKenzie, and I. P. Wicks, "G-CSF and Neutrophils Are Nonredundant Mediators of Murine Experimental Autoimmune Uveoretinitis," *Am. J. Pathol.*, vol. 186, no. 1, pp. 172–184, Jan. 2016.
- [145] D. Wakefield and A. Lloyd, "The role of cytokines in the pathogenesis of inflammatory eye disease," *Cytokine*, vol. 4, no. 1, pp. 1–5, Jan. 1992.
- [146] A. D. Luster and J. V. Ravetch, "Biochemical characterization of a gamma interferon-inducible cytokine (IP-10)," *J. Exp. Med.*, vol. 166, no. 4, pp. 1084–1097, Oct. 1987.
- [147] P. Vanguri and J. M. Farber, "Identification of CRG-2. An interferon-inducible mRNA predicted to encode a murine monokine," *J. Biol. Chem.*, vol. 265, no. 25, pp. 15049–15057, Sep. 1990.
- [148] C. Agostini, F. Calabrese, F. Rea, M. Facco, A. Tosoni, M. Loy, G. Binotto, M. Valente, L. Trentin, and G. Semenzato, "Cxcr3 and its ligand CXCL10 are expressed

- by inflammatory cells infiltrating lung allografts and mediate chemotaxis of T cells at sites of rejection,” *Am. J. Pathol.*, vol. 158, no. 5, pp. 1703–1711, May 2001.
- [149] F. Mach, A. Sauty, A. S. Iarossi, G. K. Sukhova, K. Neote, P. Libby, and A. D. Luster, “Differential expression of three T lymphocyte-activating CXC chemokines by human atheroma-associated cells,” *J. Clin. Invest.*, vol. 104, no. 8, pp. 1041–1050, Oct. 1999.
- [150] M. Melter, A. Exeni, M. E. Reinders, J. C. Fang, G. McMahon, P. Ganz, W. W. Hancock, and D. M. Briscoe, “Expression of the chemokine receptor CXCR3 and its ligand IP-10 during human cardiac allograft rejection,” *Circulation*, vol. 104, no. 21, pp. 2558–2564, Nov. 2001.
- [151] Y. Liu, P. Zhang, J. Li, A. B. Kulkarni, S. Perruche, and W. Chen, “A critical function for TGF-beta signaling in the development of natural CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells,” *Nat. Immunol.*, vol. 9, no. 6, pp. 632–640, Jun. 2008.
- [152] Y. Liu, P. Zhang, J. Li, A. B. Kulkarni, S. Perruche, and W. Chen, “A critical function for TGF-beta signaling in the development of natural CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells,” *Nat. Immunol.*, vol. 9, no. 6, pp. 632–640, Jun. 2008.
- [153] H. Keino, M. Takeuchi, T. Kezuka, N. Yamakawa, R. Tsukahara, and M. Usui, “Chemokine and chemokine receptor expression during experimental autoimmune uveoretinitis in mice,” *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol. Albrecht Von Graefes Arch. Für Klin. Exp. Ophthalmol.*, vol. 241, no. 2, pp. 111–115, Feb. 2003.
- [154] M. Kyger, A. Worley, J. Huan, H. McDowell, W. C. Smith, G. G. Burrows, M. J. Mattapallil, R. R. Caspi, and G. Adamus, “Effective Arrestin-Specific Immunotherapy of Experimental Autoimmune Uveitis with RTL: A Prospect for Treatment of Human Uveitis,” *Transl. Vis. Sci. Technol.*, vol. 2, no. 2, p. 1, Feb. 2013.
- [155] P. Chen, A. Denniston, S. Hannes, W. Tucker, L. Wei, B. Liu, T. Xiao, S. Hirani, Z. Li, S. Jawad, H. Si, R. W. J. Lee, H. N. Sen, and R. B. Nussenblatt, “Increased CD1c+mDC1 with mature phenotype regulated by TNF α -p38 MAPK in autoimmune ocular inflammatory disease,” *Clin. Immunol. Orlando Fla*, vol. 158, no. 1, pp. 35–46, May 2015.
- [156] M. Muhaya, V. Calder, H. M. Towler, B. Shaer, M. McLauchlan, and S. Lightman, “Characterization of T cells and cytokines in the aqueous humour (AH) in patients with Fuchs’ heterochromic cyclitis (FHC) and idiopathic anterior uveitis (IAU),” *Clin. Exp. Immunol.*, vol. 111, no. 1, pp. 123–128, Jan. 1998.
- [157] M. D. de Smet and C. C. Chan, “Regulation of ocular inflammation--what experimental and human studies have taught us,” *Prog. Retin. Eye Res.*, vol. 20, no. 6, pp. 761–797, Nov. 2001.
- [158] T. Yoshimura, K.-H. Sonoda, N. Ohguro, Y. Ohsugi, T. Ishibashi, D. J. Cua, T. Kobayashi, H. Yoshida, and A. Yoshimura, “Involvement of Th17 cells and the effect of anti-IL-6 therapy in autoimmune uveitis,” *Rheumatol. Oxf. Engl.*, vol. 48, no. 4, pp. 347–354, Apr. 2009.
- [159] M. Mesquida, A. Leszczynska, V. Llorenç, and A. Adán, “Interleukin-6 blockade in ocular inflammatory diseases,” *Clin. Exp. Immunol.*, vol. 176, no. 3, pp. 301–309, Jun. 2014.
- [160] P. Loetscher, M. Seitz, I. Clark-Lewis, M. Baggiolini, and B. Moser, “Activation of NK cells by CC chemokines. Chemotaxis, Ca²⁺ mobilization, and enzyme release,” *J. Immunol. Baltim. Md 1950*, vol. 156, no. 1, pp. 322–327, Jan. 1996.
- [161] Y. Qin, Y.-K. Shi, X.-H. He, J.-L. Yang, C.-G. Zhang, S.-Y. Zhou, X.-F. Liu, P. Liu, S. Yang, L.-Q. Zhou, X.-H. Han, and J.-R. Yao, “[Clinical features and prognostic factors of angioimmunoblastic T cell lymphoma],” *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi*, vol. 32, no. 6, pp. 448–451, Jun. 2010.

- [162] F. Fossiez, J. Banchereau, R. Murray, C. Van Kooten, P. Garrone, and S. Lebecque, “Interleukin-17,” *Int. Rev. Immunol.*, vol. 16, no. 5–6, pp. 541–551, 1998.
- [163] G. Gür-Toy, N. Lenk, B. Yalcin, S. Aksaray, and N. Alli, “Serum interleukin-8 as a serologic marker of activity in Behçet’s disease,” *Int. J. Dermatol.*, vol. 44, no. 8, pp. 657–660, Aug. 2005.
- [164] S. Sahin, T. Akoğlu, H. Direskeneli, L. S. Sen, and R. Lawrence, “Neutrophil adhesion to endothelial cells and factors affecting adhesion in patients with Behçet’s disease,” *Ann. Rheum. Dis.*, vol. 55, no. 2, pp. 128–133, Feb. 1996.
- [165] A. O’Garra, P. L. Vieira, P. Vieira, and A. E. Goldfeld, “IL-10-producing and naturally occurring CD4⁺ Tregs: limiting collateral damage,” *J. Clin. Invest.*, vol. 114, no. 10, pp. 1372–1378, Nov. 2004.
- [166] W. A. Franks, G. A. Limb, M. R. Stanford, J. Ogilvie, R. A. Wolstencroft, A. H. Chignell, and D. C. Dumonde, “Cytokines in human intraocular inflammation,” *Curr. Eye Res.*, vol. 11 Suppl, pp. 187–191, 1992.
- [167] E. J. Feron, V. L. Calder, and S. L. Lightman, “Oligoclonal activation of CD4⁺ T lymphocytes in posterior uveitis,” *Clin. Exp. Immunol.*, vol. 99, no. 3, pp. 412–418, Mar. 1995.
- [168] H. Nakamura, Y. Ueki, S. Sakito, K. Matsumoto, M. Yano, S. Miyake, T. Tominaga, M. Tominaga, and K. Eguchi, “High serum and synovial fluid granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) concentrations in patients with rheumatoid arthritis,” *Clin. Exp. Rheumatol.*, vol. 18, no. 6, pp. 713–718, Dec. 2000.
- [169] M. H. Pillinger and S. B. Abramson, “The neutrophil in rheumatoid arthritis,” *Rheum. Dis. Clin. North Am.*, vol. 21, no. 3, pp. 691–714, Aug. 1995.
- [170] E. M. Paleolog, M. Hunt, M. J. Elliott, M. Feldmann, R. N. Maini, and J. N. Woody, “Deactivation of vascular endothelium by monoclonal anti-tumor necrosis factor alpha antibody in rheumatoid arthritis,” *Arthritis Rheum.*, vol. 39, no. 7, pp. 1082–1091, Jul. 1996.
- [171] J. L. Eyles, M. J. Hickey, M. U. Norman, B. A. Croker, A. W. Roberts, S. F. Drake, W. G. James, D. Metcalf, I. K. Campbell, and I. P. Wicks, “A key role for G-CSF-induced neutrophil production and trafficking during inflammatory arthritis,” *Blood*, vol. 112, no. 13, pp. 5193–5201, Dec. 2008.
- [172] A. Yuo, S. Kitagawa, A. Ohsaka, M. Ohta, K. Miyazono, T. Okabe, A. Urabe, M. Saito, and F. Takaku, “Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor as an activator of human granulocytes: potentiation of responses triggered by receptor-mediated agonists and stimulation of C3b_i receptor expression and adherence,” *Blood*, vol. 74, no. 6, pp. 2144–2149, Nov. 1989.
- [173] H. Xu, L. V. Rizzo, P. B. Silver, and R. R. Caspi, “Uveitogenicity is associated with a Th1-like lymphokine profile: cytokine-dependent modulation of early and committed effector T cells in experimental autoimmune uveitis,” *Cell. Immunol.*, vol. 178, no. 1, pp. 69–78, May 1997.
- [174] R. R. Caspi, C. C. Chan, B. G. Grubbs, P. B. Silver, B. Wiggert, C. F. Parsa, S. Bahmanyar, A. Billiau, and H. Heremans, “Endogenous systemic IFN-gamma has a protective role against ocular autoimmunity in mice,” *J. Immunol. Baltim. Md 1950*, vol. 152, no. 2, pp. 890–899, Jan. 1994.
- [175] T. Nakahara, K. Urabe, S. Fukagawa, H. Uchi, K. Inaba, M. Furue, and Y. Moroi, “Engagement of human monocyte-derived dendritic cells into interleukin (IL)-12 producers by IL-1beta + interferon (IFN)-gamma,” *Clin. Exp. Immunol.*, vol. 139, no. 3, pp. 476–482, Mar. 2005.
- [176] A. Gül, I. Tugal-Tutkun, C. A. Dinarello, L. Reznikov, B. A. Esen, A. Mirza, P. Scannon, and A. Solinger, “Interleukin-1 β -regulating antibody XOMA 052

- (gevokizumab) in the treatment of acute exacerbations of resistant uveitis of Behçet's disease: an open-label pilot study," *Ann. Rheum. Dis.*, vol. 71, no. 4, pp. 563–566, Apr. 2012.
- [177] L. V. Rizzo, H. Xu, C. C. Chan, B. Wiggert, and R. R. Caspi, "IL-10 has a protective role in experimental autoimmune uveoretinitis," *Int. Immunol.*, vol. 10, no. 6, pp. 807–814, Jun. 1998.
- [178] B. C. Aridogan, M. Yildirim, V. Baysal, H. S. Inaloz, K. Baz, and S. Kaya, "Serum Levels of IL-4, IL-10, IL-12, IL-13 and IFN-gamma in Behçet's disease," *J. Dermatol.*, vol. 30, no. 8, pp. 602–607, Aug. 2003.
- [179] B. J. E. Raveney, D. A. Copland, A. D. Dick, and L. B. Nicholson, "TNFR1-dependent regulation of myeloid cell function in experimental autoimmune uveoretinitis," *J. Immunol. Baltim. Md 1950*, vol. 183, no. 4, pp. 2321–2329, Aug. 2009.
- [180] C. Evereklioglu, H. Er, Y. Türköz, and M. Cekmen, "Serum levels of TNF-alpha, sIL-2R, IL-6, and IL-8 are increased and associated with elevated lipid peroxidation in patients with Behçet's disease," *Mediators Inflamm.*, vol. 11, no. 2, pp. 87–93, Apr. 2002.
- [181] A. Jap and S.-P. Chee, "Immunosuppressive therapy for ocular diseases," *Curr. Opin. Ophthalmol.*, vol. 19, no. 6, pp. 535–540, Nov. 2008.
- [182] C. Broderick, L. Duncan, N. Taylor, and A. D. Dick, "IFN-gamma and LPS-mediated IL-10-dependent suppression of retinal microglial activation," *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 41, no. 9, pp. 2613–2622, Aug. 2000.
- [183] R. R. Caspi, B. Sun, R. K. Agarwal, P. B. Silver, L. V. Rizzo, C. C. Chan, B. Wiggert, and R. L. Wilder, "T cell mechanisms in experimental autoimmune uveoretinitis: susceptibility is a function of the cytokine response profile," *Eye Lond. Engl.*, vol. 11 (Pt 2), pp. 209–212, 1997.
- [184] Y. de Kozak, M. C. Naud, J. Bellot, J. P. Faure, and D. Hicks, "Differential tumor necrosis factor expression by resident retinal cells from experimental uveitis-susceptible and -resistant rat strains," *J. Neuroimmunol.*, vol. 55, no. 1, pp. 1–9, Nov. 1994.
- [185] B. Sun, S. H. Sun, C. C. Chan, and R. R. Caspi, "Evaluation of in vivo cytokine expression in EAU-susceptible and resistant rats: a role for IL-10 in resistance?," *Exp. Eye Res.*, vol. 70, no. 4, pp. 493–502, Apr. 2000.
- [186] L. Chen, P. Yang, H. Zhou, H. He, X. Ren, W. Chi, L. Wang, and A. Kijlstra, "Diminished frequency and function of CD4+CD25high regulatory T cells associated with active uveitis in Vogt-Koyanagi-Harada syndrome," *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 49, no. 8, pp. 3475–3482, Aug. 2008.
- [187] R. S. Grajewski, P. B. Silver, R. K. Agarwal, S.-B. Su, C.-C. Chan, G. I. Liou, and R. R. Caspi, "Endogenous IRBP can be dispensable for generation of natural CD4+CD25+ regulatory T cells that protect from IRBP-induced retinal autoimmunity," *J. Exp. Med.*, vol. 203, no. 4, pp. 851–856, Apr. 2006.
- [188] C. C. Murphy, K. Greiner, J. Plskova, L. Duncan, A. Frost, J. D. Isaacs, P. Rebello, H. Waldmann, G. Hale, J. V. Forrester, and A. D. Dick, "Neutralizing tumor necrosis factor activity leads to remission in patients with refractory noninfectious posterior uveitis," *Arch. Ophthalmol. Chic. Ill 1960*, vol. 122, no. 6, pp. 845–851, Jun. 2004.
- [189] C. A. Broderick, A. J. Smith, K. S. Balaggan, A. Georgiadis, A. Georgarias, P. K. Buch, P. C. Trittbach, S. E. Barker, G.-M. Sarra, A. J. Thrasher, A. D. Dick, and R. R. Ali, "Local administration of an adeno-associated viral vector expressing IL-10 reduces monocyte infiltration and subsequent photoreceptor damage during experimental autoimmune uveitis," *Mol. Ther. J. Am. Soc. Gene Ther.*, vol. 12, no. 2, pp. 369–373, Aug. 2005.

- [190] L. V. Rizzo, H. Xu, C. C. Chan, B. Wiggert, and R. R. Caspi, “IL-10 has a protective role in experimental autoimmune uveoretinitis,” *Int. Immunol.*, vol. 10, no. 6, pp. 807–814, Jun. 1998.
- [191] O. Heinzlef, S. Alamowitch, V. Sazdovitch, P. Chillet, A. Joutel, E. Tournier-Lasserre, and E. Rouillet, “Autoimmune diseases in families of French patients with multiple sclerosis,” *Acta Neurol. Scand.*, vol. 101, no. 1, pp. 36–40, Jan. 2000.
- [192] S. Prahalad, E. S. Shear, S. D. Thompson, E. H. Giannini, and D. N. Glass, “Increased prevalence of familial autoimmunity in simplex and multiplex families with juvenile rheumatoid arthritis,” *Arthritis Rheum.*, vol. 46, no. 7, pp. 1851–1856, Jul. 2002.
- [193] N.-W. Kuo, P. A. Lympny, V. Menezo, A. L. Lagan, S. John, T. K. Yeo, S. Liyanage, R. M. du Bois, K. I. Welsh, and S. Lightman, “TNF-857T, a genetic risk marker for acute anterior uveitis,” *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 46, no. 5, pp. 1565–1571, May 2005.
- [194] M. R. Stanford, R. W. Vaughan, E. Kondeatis, Y. Chen, C. E. Edelsten, E. M. Graham, and G. R. Wallace, “Are cytokine gene polymorphisms associated with outcome in patients with idiopathic intermediate uveitis in the United Kingdom?,” *Br. J. Ophthalmol.*, vol. 89, no. 8, pp. 1013–1016, Aug. 2005.
- [195] N. Hizawa, E. Yamaguchi, K. Furuya, E. Jinushi, A. Ito, and Y. Kawakami, “The role of the C-C chemokine receptor 2 gene polymorphism V64I (CCR2-64I) in sarcoidosis in a Japanese population,” *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 159, no. 6, pp. 2021–2023, Jun. 1999.
- [196] M. Petrek, J. Drábek, V. Kolek, J. Zlámal, K. I. Welsh, M. Bunce, E. Weigl, and R. Du Bois, “CC chemokine receptor gene polymorphisms in Czech patients with pulmonary sarcoidosis,” *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 162, no. 3 Pt 1, pp. 1000–1003, Sep. 2000.
- [197] B. A. Rybicki, M. J. Maliarik, E. Malvitz, R. G. Sheffer, M. Major, J. Popovich, and M. C. Iannuzzi, “The influence of T cell receptor and cytokine genes on sarcoidosis susceptibility in African Americans,” *Hum. Immunol.*, vol. 60, no. 9, pp. 867–874, Sep. 1999.
- [198] K. Yabuki, H. Inoko, and S. Ohno, “Immunogenetics and uveitis,” *Dev. Ophthalmol.*, vol. 31, pp. 77–91, 1999.
- [199] A. Muselier, P. Bielefeld, S. Bidot, J. Vinit, J.-F. Besancenot, and A. Bron, “Efficacy of tocilizumab in two patients with anti-TNF-alpha refractory uveitis,” *Ocul. Immunol. Inflamm.*, vol. 19, no. 5, pp. 382–383, Oct. 2011.
- [200] T. Hirano, N. Ohguro, S. Hohki, K. Hagihara, Y. Shima, M. Narazaki, A. Ogata, K. Yoshizaki, A. Kumanogoh, T. Kishimoto, and T. Tanaka, “A case of Behçet’s disease treated with a humanized anti-interleukin-6 receptor antibody, tocilizumab,” *Mod. Rheumatol. Jpn. Rheum. Assoc.*, vol. 22, no. 2, pp. 298–302, Apr. 2012.
- [201] D. Saadoun, B. Bodaghi, B. Bienvenu, B. Wechsler, D. Sene, S. Trad, S. Abad, P. Cacoub, L. Kodjikian, and P. Sève, “Biotherapies in inflammatory ocular disorders: Interferons, immunoglobulins, monoclonal antibodies,” *Autoimmun. Rev.*, vol. 12, no. 7, pp. 774–783, May 2013.
- [202] E. Feurer, P. Bielefeld, D. Saadoun, and P. Sève, “[Biologics in uveitis],” *Rev. Médecine Interne Fondée Par Société Natl. Française Médecine Interne*, vol. 36, no. 2, pp. 107–116, Feb. 2015.
- [203] D. D. Patel, J. P. Zachariah, and L. P. Whichard, “CXCR3 and CCR5 ligands in rheumatoid arthritis synovium,” *Clin. Immunol. Orlando Fla*, vol. 98, no. 1, pp. 39–45, Jan. 2001.
- [204] M. S. Lacomba, C. M. Martin, R. R. Chamond, J. M. Galera, M. Omar, and E. C. Estevez, “Aqueous and serum interferon gamma, interleukin (IL) 2, IL-4, and IL-10 in

- patients with uveitis,” *Arch. Ophthalmol. Chic. Ill* 1960, vol. 118, no. 6, pp. 768–772, Jun. 2000.
- [205] C. M. Martin, M. S. Lacomba, C. I. Molina, R. R. Chamond, J. M. Galera, and E. C. Estevez, “Levels of soluble ICAM-1 and soluble IL-2R in the serum and aqueous humor of uveitis patients,” *Curr. Eye Res.*, vol. 20, no. 4, pp. 287–292, Apr. 2000.
- [206] T. Sakane, N. Suzuki, and H. Nagafuchi, “Etiopathology of Behçet’s disease: immunological aspects,” *Yonsei Med. J.*, vol. 38, no. 6, pp. 350–358, Dec. 1997.
- [207] H. Kebir, K. Kreymborg, I. Ifergan, A. Dodelet-Devillers, R. Cayrol, M. Bernard, F. Giuliani, N. Arbour, B. Becher, and A. Prat, “Human TH17 lymphocytes promote blood-brain barrier disruption and central nervous system inflammation,” *Nat. Med.*, vol. 13, no. 10, pp. 1173–1175, Oct. 2007.
- [208] R. Nurieva, X. O. Yang, G. Martinez, Y. Zhang, A. D. Panopoulos, L. Ma, K. Schluns, Q. Tian, S. S. Watowich, A. M. Jetten, and C. Dong, “Essential autocrine regulation by IL-21 in the generation of inflammatory T cells,” *Nature*, vol. 448, no. 7152, pp. 480–483, Jul. 2007.
- [209] F. Atzeni, D. Ventura, A. Batticciotto, L. Boccassini, and P. Sarzi-Puttini, “Interleukin 6 blockade: tocilizumab in psoriatic arthritis,” *J. Rheumatol. Suppl.*, vol. 89, pp. 97–99, Jul. 2012.
- [210] C. T. Weaver and R. D. Hatton, “Interplay between the TH17 and TReg cell lineages: a (co-)evolutionary perspective,” *Nat. Rev. Immunol.*, vol. 9, no. 12, pp. 883–889, Dec. 2009.
- [211] G. Velez, C. N. Roybal, D. Colgan, S. H. Tsang, A. G. Bassuk, and V. B. Mahajan, “Precision Medicine: Personalized Proteomics for the Diagnosis and Treatment of Idiopathic Inflammatory Disease,” *JAMA Ophthalmol.*, vol. 134, no. 4, pp. 444–448, Apr. 2016.
- [212] C. Wang, Y. Tian, B. Lei, X. Xiao, Z. Ye, F. Li, A. Kijlstra, and P. Yang, “Decreased IL-27 expression in association with an increased Th17 response in Vogt-Koyanagi-Harada disease,” *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 53, no. 8, pp. 4668–4675, Jul. 2012.
- [213] A. Cantagrel and A. Constantin, “[How to choose a first biologic in rheumatoid arthritis?],” *Rev. Prat.*, vol. 62, no. 8, pp. 1104–1105, Oct. 2012.
- [214] P. Urbaniak, P. Hasler, and S. Kretzschmar, “Refractory neuro-Behçet treated by tocilizumab: a case report,” *Clin. Exp. Rheumatol.*, vol. 30, no. 3 Suppl 72, pp. S73-75, Jun. 2012.

Annexes

**COMITE DE PROTECTION DES PERSONNES
ILE DE FRANCE V**

Hôpital Saint-Antoine - 184 rue du Faubourg Saint-Antoine - 75012 PARIS

Président :
J.J. BOFFA
Vice-Président :
A. KURTZ
Secrétaire général :
V.G. LEVY
Secrét. général adjoint :
F. BERGIER-DESCOMBES
Traçageur :
A. OLYMPIE
Traçeur Adjoint
A. ROUSSEAU

tel : 01 49 28 20 25
fax : 01 49 28 20 46
cpp.iledefrance@sat.aptp.fr

C.H.N.O. DES QUINZE-VINGTS
DATE D'ARRIVÉE

363

10 AVR. 2014

Paris, le 1^{er} avril 2014

DIRECTION DES FINANCES

Monsieur Romain DUVERNOIS
CHNO
28, rue de Charenton
75571 PARIS CEDEX 12

Projet de recherche biomédicale enregistré sous le numéro : 13934

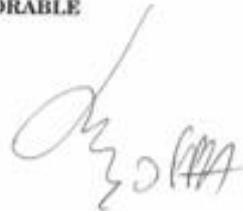
Le Comité a été saisi le 22 janvier 2014 d'une demande d'autorisation pour une collection n° AC-2008-8969

Promoteur : CHNO
Investigateur principal : Dr Marie Hélène ERRERA - CHNO

Le Comité a examiné les informations relatives à ce projet lors de la séance du mardi 4 février et le 1^{er} avril 2014

Les rapporteurs mandatés étaient : Mme FELDMANN, Mme KURTZ

Le Comité a adopté la décision suivante : **AVIS FAVORABLE**



Le Président
Jean Jacques BOFFA

Liste des illustrations

- Figure 1 :** Cytokines et différenciation des lignées des lymphocytes effecteurs T associés avec les uvéites. 20
- Figure 2 :** Schéma des cytokines dans la pathogenèse de l'uvéite. La présentation de l'antigène en périphérie stimule l'activation des lymphocytes T, leur différenciation et leur expansion clonale. 23
- Figure 3 :** Régulation des réponses myéloïdes dans la rétine et la choroïde. 25
- Figure 4:** Interaction entre NLRP3 dans l'inflammasome et l'immunité adaptative 34
- Figure 5 :** Système Bio-Plex® : 100 billes différentes présentent un spectre de couleur rouge et infrarouge permettant le dosage de 100 analytes différents d'un même échantillon 43
- Figure 6 :** Dosage des cytokines par Bio-Plex®. (Etape 1) Mise en suspension des billes. (Etape 2). Les billes avec l'anticorps de capture se lient à la cytokine spécifique. (Etape 3) L'anticorps biotinylé se lie à la cytokine ; La streptavidine-phycoérythrine se lie à la biotine et émet de la fluorescéine 44
- Figure 7 :** Mécanisme de l'optique adaptative. 45
- Figure 8 :** Images en FIOA de cônes extrafovéolaires. 46
- Figure 9 :** Image en optique adaptative de vaisseaux rétiens normaux. La paroi des vaisseaux rétiens n'est pas visible dans le cas des veines mais elle l'est dans le cas des artères et artérioles. 47
- Figures 10 :** Images en FIOA de drusen dans une dégénérescence maculaire liée à l'âge, des cellules de l'EPR, une membrane épirétiniennes, des vaisseaux rétiens, des hémorragies rétiniennes, une vascularite rétinienne. 48
- Figure 11.** Concentrations sériques d'IL-1 β , d'IFN- γ , de TNF- α et de PDGF-BB chez les contrôles dont les prélèvements ne sont pas hémolysés (CTL non hém ; n=36) et chez les contrôles dont les prélèvements sont hémolysés (CTL hém ; n=11). 89
- Figure 12.** Concentrations sériques d'IFN- γ , d'IL-6, d'IL-1 β et de TNF- α chez les contrôles (CTL) (n=47) et chez les patients avec uvéite syphilitique (n=9), uvéite toxoplasmique (n=16), uvéite sarcoïdique (n=12) et maladie de Behçet oculaire (n=7). 92
- Figure 13 :** Concentrations intraoculaires d'IL-1 β , IL-R α , IL-6, IL-7, IL-8, IL10, IL-17, G-CSF, IFN-g, IP-10, MCP-1, MIP-1a, MIP-1b, RANTES et de TNF- α chez les contrôles (CTL) (n=26) et chez les patients avec une uvéite syphilitique (n=9), une uvéite toxoplasmique (n=11), une uvéite sarcoïdique (n=15) et un Behçet oculaire (n=5). 99
- Figure 14.** Médianes des concentrations d'IL-17 et d'IP-10 dans le sérum, augmentées chez les patients avec une uvéite idiopathique (n=63) par rapport aux contrôles (CTL) (n=47). Idem pour les cytokines IL-21 et IL-23 dans le sérum chez les patients avec uvéites idiopathiques (n=68) par rapport aux contrôles (n=16). 147
- Figure 15.** Médianes des concentrations intraoculaires d'IL-1 β , IL-6, IFN-g et de TNF- α chez les contrôles (CTL) (n=36) et chez les patients avec une uvéite idiopathique (n=51) mais les différences les 2 groupes ne sont pas significatives. Certains patients avec uvéites idiopathiques ont ces cytokines augmentées dans les prélèvements sériques. 148
- Figure 16.** Médianes concentrations intraoculaires d'IL-1 β , IL-1-R α , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-17, G-CSF, IFN-g, IP-10, MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES, TNF- α , VEGF et PDGF-BB chez les contrôles (CTL) (n=36) et chez les patients avec une uvéite idiopathique (n=51). Certains patients avec uvéites idiopathiques ont ces cytokines augmentées dans les prélèvements d'AqH.

Figure 17. Heatmap sur les cytokines. Classification des cytokines parmi les uvéites idiopathiques, en sélectionnant uniquement les uvéites significativement différentes de celles des témoins. 154

Figure 18. Répartition des médiateurs en comparant les contrôles sans uvéite (T) versus groupes de pathologies (uvéites idiopathiques, maladie de Behçet, sarcoïdose et toxoplasmose) pour IL-6, TNF- α , IL-12 et IP-10 (4 médiateurs augmentés de manière significative dans les uvéites idiopathiques). 158

Liste des tableaux

Tableau I. Standardisation de la classification des uvéites par phénotype clinique.	14
Tableau II. Les barrières du privilège immunitaire de l'œil.	20
Tableau III. Résumé du rôle respectif de différentes cytokines, chimiokines et facteurs de croissance étudiés	37
Tableau IV. Orientation diagnostique des uvéites par analyse sémiologique.	45
Tableau V : Examens complémentaires orientés dans le diagnostic des uvéites.	46
Tableau VI. Liste des examens complémentaires dans le cadre du bilan étiologique des d'uvéites.	56
Tableau VII : Nombre total de prélèvements analysés (sérum et AqH).	87
Tableau VIII. Récapitulatif des résultats de cytokines, chimiokines et facteurs de croissances augmentées par rapport aux contrôles parmi les uvéites idiopathiques et les témoins positifs (uvéites infectieuses et non infectieuses).	130
Tableau IX : Résultats comparés entre les médiateurs présents dans les sérums (cytokines, chimiokines et facteurs de croissance) et AqH des patients avec uvéites syphilitiques et les résultats de leur examen en FIOA.	144
Tableau X. Récapitulatif des résultats de cytokines, chimiokines et facteurs de croissances augmentées par rapport aux contrôles parmi les uvéites idiopathiques et les témoins positifs (uvéites infectieuses et non infectieuses)	155
Tableau XI : Résultats comparés entre les médiateurs présents dans les sérums (cytokines, chimiokines et facteurs de croissance) et AqH des patients avec uvéite idiopathique et les résultats de leur examen en FIOA.	165
Tableau XII: Cytokines dans les uvéites idiopathiques, maladie de Behçet, sarcoïdose et toxoplasmose et signes cliniques observés en optique adaptative.	169

Résumé :

La majorité des modèles d'uvéites expérimentales sont médiées par les sous-types lymphocytaires CD4+ T-Helper 1 (Th1) et Th17. Le but de cette thèse est d'étudier les mécanismes immunitaires mis en jeu lors d'une uvéite idiopathique (sans étiologie) chez l'humain. La première partie de cette étude est donc consacrée à l'étude du profil biologique de 30 cytokines/chimiokines/ facteurs de croissance intraoculaires (AqH) et sériques obtenues au laboratoire (technologie Luminex®). Ces médiateurs sont dosés dans le sérum et l'AqH de patients atteints d'uvéites intermédiaires et postérieures actives idiopathiques. Ces résultats sont comparés à une cohorte de patients non inflammatoires et à des groupes de patients atteints d'uvéites de diverses étiologies. Nous avons trouvé que le profil des médiateurs diffère nettement en fonction de la cause de l'inflammation intraoculaire. Une réponse pro-inflammatoire large est observée avec des concentrations accrues des cytokines de type Th1 (IFN γ , IL-12), Th17 (IL-17), TNF- α , IL-6, MIP-1 α , MIP-1 β , MCP-1, G-CSF et IP-10 dans les uvéites idiopathiques. Les concentrations sériques diffèrent de celles des contrôles par les taux d'IL-17 et IP-10 augmentés. La deuxième partie concerne l'étude des mécanismes immunitaires des uvéites par l'analyse des vascularites en imagerie adaptative (FIOA) et particulièrement l'observation anatomique des modifications liées aux inflammations oculaires. Nous ne trouvons pas de corrélation entre l'aspect de cellularité périvasculaire en FIOA et les cytokines retrouvées dans l'AqH des yeux avec uvéite. Pouvoir déterminer quels médiateurs de l'inflammation interviennent dans les pathologies inflammatoires permettrait de les cibler avec des thérapies adaptées.

Mots clés : Uvéite, optique adaptative, cytométrie en flux, vascularite, rétine, Luminex®, cytokines.

[To determine the immune mechanisms in idiopathic uveitis by a biological approach and adaptive optics]

Abstract :

Most of experimental models of uveitis are mediated by lymphocytic subtypes CD4+ T-Helper 1 (Th1) et Th17. The aim of this thesis is to study the immune mechanisms in idiopathic uveitis (i.e. unknown etiology) in humans. First, we will determine the biological spectrum of 30 cytokines/chemokines/ growth factors in aqueous humour and sera by Luminex® technology. Those mediators will be measured in the serum and aqueous humour of patients with active intermediate and posterior uveitis classified as idiopathic. Those results will be compared to a cohort of patients with no inflammation and to patients with uveitis of various causes. We found that the profile of mediators changes regarding to the cause of the intraocular inflammation. The proinflammatory process is related to increased levels of cytokines Th1 (IFN γ , IL-12), Th17 (IL-17), TNF- α , IL-6, MIP-1 α , MIP-1 β , MCP-1, G-CSF and IP-10 idiopathic uveitis. The sera of the patients with idiopathic uveitis have increased levels IL-17 and IP-10. Secondly, the immune mechanisms of uveitis were studied by adaptive optics imaging (FIOA) and particularly the observation of anatomic changes related to ocular inflammations. We ruled out any correlation between the perivascular cellular opacification in FIOA and the cytokines/ chemokines found in the eyes with uveitis.

An understanding of the profile of mediators in inflammation and their determination could help to target idiopathic uveitis with correct therapies.

Key words : adaptive optics, cytokines, flow cytometry, Luminex®, retina, uveitis, vasculitis.

