

Brèves

Caractériser l'autofluorescence du fond d'œil... au niveau cellulaire!

BOURAUDEL L, VAISBAND M, VON DER EMDE L *et al.* Spectral Analysis of Human Retinal Pigment Epithelium Cells in Healthy and AMD Eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2024;65:10.

Les rétinographes actuels utilisent l'autofluorescence (AF) en bleu ou en vert. Ces clichés font partie des "clichés sans préparation" de tout bilan d'imagerie multimodale parce qu'ils apportent des informations sur l'épithélium pigmentaire (EP) à des niveaux très divers.

Sur ces clichés en AF, la perte de cellules de l'EP est repérée sous forme de zones sombres. L'accumulation de bisrétinoïdes dérivés du matériel des segments externes (SE) des photorécepteurs produit une augmentation progressive de l'autofluorescence du fond d'œil. *A contrario*, l'altération du recyclage du matériel des SE des photorécepteurs est repérée sous forme de dépôts sous-rétiniens auto-fluorescents (DSA) avec accumulation des métabolites de ces SE (*fig. 1*). La présence de fluides sous-rétiniens pourra aussi moduler la répartition de ces métabolites autofluorescents [1]. Toute une sémiologie repose sur la forme et la répartition de ces variations de l'AF associées à des pathologies [1, 2].

Pourtant, nos rétinographes n'apportent actuellement aucune information sur le spectre d'émission de la fluorescence du fond d'œil. La dégradation des SE des photorécepteurs dans

les lysosomes des cellules de l'EP conduit en particulier à l'accumulation intracellulaire de lipofuscine associée à l'autofluorescence "normale" ou physiologique. Cette accumulation commence tôt dans l'enfance et se poursuit à l'âge adulte. Certains auteurs ont montré qu'à un âge avancé et au cours de l'évolution de maladies rétiniennes comme la dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA), les cellules de l'EP ont tendance à perdre leurs granules de lipofuscine [3]. Les cellules de l'EP des patients atteints de DMLA sont par ailleurs caractérisées par une hypertrophie et des formes et des tailles plus variables que dans les rétines âgées non affectées.

Il apparaît que chaque cellule de l'EP contient une variété d'organites et de granules avec des propriétés autofluorescentes distinctes utiles en imagerie clinique. La majorité des granules concentrent de la lipofuscine et de la mélano-lipofuscine avec une forte AF après excitation à la lumière bleue (488 nm), mais d'autres composants (fluorophores) interviennent également. Ces autres composants des granules sont probablement aussi des bisrétinoïdes dérivés du cycle visuel mais nombre d'entre eux n'ont pas encore été décrits. Ils possèdent cependant des longueurs d'onde d'excitation et d'émission qui permettent de les caractériser.

Les auteurs de cette étude publiée ce mois-ci dans *Invest Ophthalmol Vis Sci* ont pu caractériser les spectres d'autofluorescence de cellules individuelles de l'EP sur des montages histologiques "à plat" de membrane de Bruch et EP de

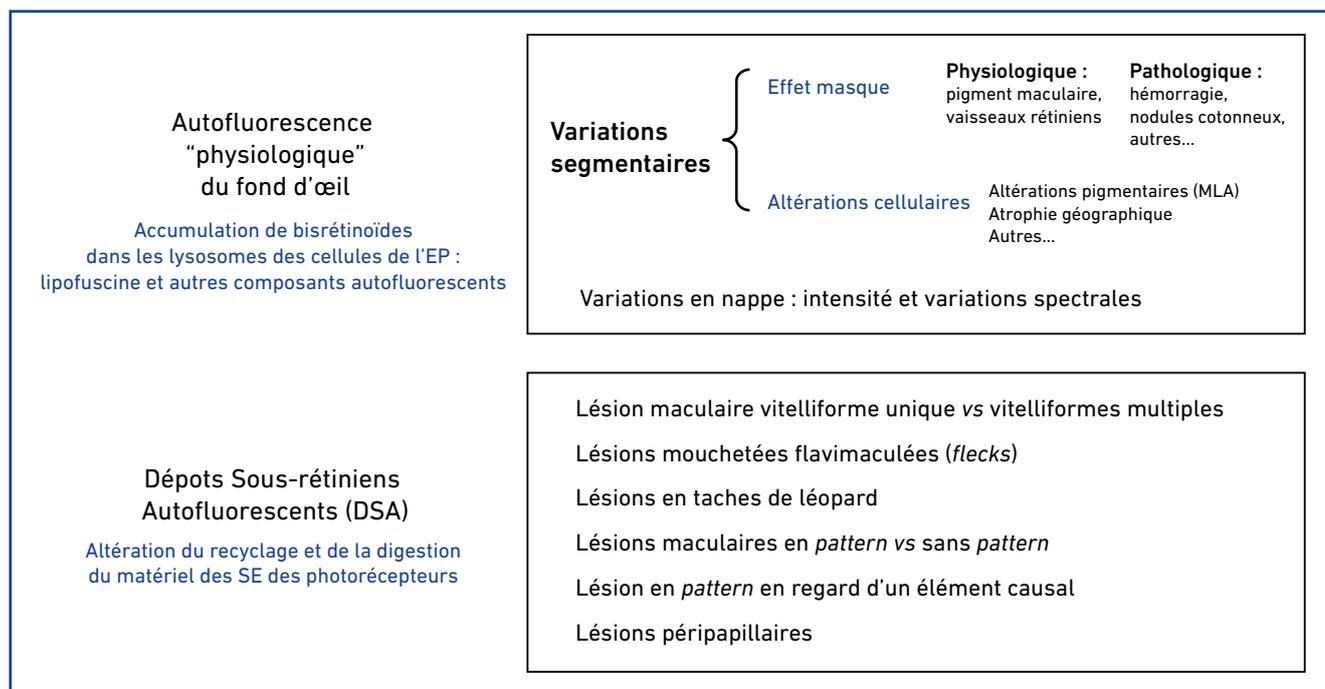


Fig. 1 : Schématisation des mécanismes de variations de la fluorescence du fond d'œil (d'après [2]).

Brèves

22 yeux de donneurs humains, dont 7 yeux atteints de DMLA (3 MLA ; 1 atrophie géographique ; 3 DMLA néovasculaire) et 15 donneurs sans pathologie particulière.

Ces montages histologiques ont permis une étude comparée de la fovéa, la périfovéa et la proche périphérie à l'aide de l'autofluorescence en microscopie confocale (excitation 488 nm), et les spectres d'émission ont été analysés (de 500 à 710 nm). Les cellules de l'EP ont été segmentées manuellement à l'aide d'un ordinateur et stratifiées selon le statut de la maladie, et les spectres d'émission ont été analysés. Les granules intracellulaires ont été comptés et classés manuellement. Les spectres de 5 549 cellules de l'EP ont ainsi été enregistrés.

Dans les yeux sains, les auteurs ont pu classer 9 phénotypes de granules différents sur la base des propriétés d'autofluorescence. La lipofuscine était plus importante dans la périfovéa et augmentait avec l'âge, alors que la mélanolipofuscine était le type de granule le plus abondant dans la fovéa et ne montrait aucun changement de quantité dans les rétines des donneurs plus âgés. Cette accumulation caractéristique semble être liée à la distribution des photorécepteurs : la concentration en lipofuscine était abondante dans les zones à forte densité de bâtonnets, alors que dans la fovéa riche en cônes, la mélanolipofuscine était le principal fluorophore.

Dans les yeux atteints de DMLA, les cellules de l'EP présentaient une plus grande variabilité en termes de taille, de charge en granules et de forme. Dans ces yeux, la proportion de lipofuscine était réduite en regard de la fovéa, de la périfovéa et de la proche périphérie par rapport aux yeux sains, ce qui est cohérent avec les mesures d'autofluorescence quantitative du fond d'œil (qAF) réalisées par d'autres auteurs montrant une perte de l'intensité de l'AF dans la DMLA dite intermédiaire [4, 5].

Les spectres des cellules de l'EP des yeux sains avaient des émissions similaires culminant à 580 nm pour la fovéa et la périfovéa et entre 575 et 580 nm pour la périphérie proche. Les courbes spectrales des cellules de l'EP dans les yeux atteints de DMLA différaient de manière significative, étant systématiquement décalées vers le bleu de 10 nm (*shift* hypsochromique).

Jusqu'à présent, les données spectrales qui étaient disponibles provenaient de coupes transversales ou de cellules de l'EP en suspension. Elles étaient difficiles à relier aux paramètres d'imagerie clinique *in vivo*. Au contraire, l'étude publiée dans *IOVS* concerne des montages à plat d'EP, ce qui apparaît mieux relié aux données d'imagerie clinique "en face".

En conclusion, cette étude contribue d'abord à relativiser les théories faisant intervenir la lipofuscine dans la pathogénie de la DMLA. La répartition du bisrétinoïde A2E prédomine d'ailleurs en périphérie et non dans la région fovéolaire [6].

L'étude ouvre surtout la voie à une imagerie en autofluorescence du fond d'œil qui utiliserait l'analyse spectrale, apportant davantage d'information sur l'état de santé de l'épithélium pigmentaire. Actuellement, nos rétino-graphes n'apportent aucune information sur le spectre d'émission du fond d'œil. On imagine l'intérêt d'un système qui utiliserait l'optique adaptative couplée à l'autofluorescence avec analyse spectrale permettant de détecter par exemple ce décalage vers les bleus de l'autofluorescence des patients atteints de MLA ou de DMLA.

BIBLIOGRAPHIE

1. SPAIDE R. Autofluorescence from the outer retina and subretinal space: hypothesis and review. *Retina*, 2008;28:5-35.
2. COHEN SY, CHOWERS I, NGHIEM-BUFFET S *et al*. Subretinal autofluorescent deposits: A review and proposal for clinical classification. *Surv Ophthalmol*, 2023;68:1050-1070.
3. ACH T, TOLSTIK E, MESSINGER JD *et al*. Lipofuscin redistribution and loss accompanied by cytoskeletal stress in retinal pigment epithelium of eyes with age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2015;56:3242-3252.
4. VON DER EMDE L, GUYMER RH, PFAU M *et al*. Natural history of quantitative autofluorescence in intermediate age-related macular degeneration. *Retina*, 2021;41:694-700.
5. GLIEM M, MULLER PL, FINGER RP *et al*. Quantitative fundus autofluorescence in early and intermediate age-related macular degeneration. *JAMA Ophthalmol*, 2016;134:817-824.
6. KOTNALA A, SENTHILKUMARI S, WU G *et al*. Retinal Pigment Epithelium in Human Donor Eyes Contains Higher Levels of Bisretinoids Including A2E in Periphery than Macula. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2022;63:6.

Œdème rétinien exsudatif et dégénératif : les aspects histologiques

BERLIN A, MESSINGER JD, BALARATNASINGAM C *et al*. Imaging Histology Correlations of Intraretinal Fluid in Neovascular Age-Related Macular Degeneration. *Transl Vis Sci Technol*, 2023;12:13.

Dans notre pratique c'est surtout dans les affections chroniques (DMLA, diabète) qu'il peut être difficile de faire la différence entre un œdème exsudatif et une série de lacunes intrarétiniennes dégénératives.

Classiquement, les lacunes dites "dégénératives", associées à la perte de cellules gliales sont peu évolutives, de forme un peu "carrée" et sont plutôt associées à un amincissement rétinien qu'à un œdème, mais certains cas peuvent être d'interprétation difficile [1, 2]. Ces lacunes peuvent être associées à des tubulations intra-rétiniennes externes composées presque exclusivement de cônes dépourvus de segments externes et/ou internes [3, 4]. En 2011, Wolff soulignait la difficulté à expliquer la pathogénie de ces tubulations en raison de l'absence de corrélation histologique [3].

Les auteurs de cet article ont justement établi des corrélations entre les images cliniques (OCT, angiographie) et des coupes histologiques réalisées au niveau des yeux d’une patiente décédée, précédemment traitée pour des néovaisseaux d’une dégénérescence maculaire liée à l’âge (DMLA).

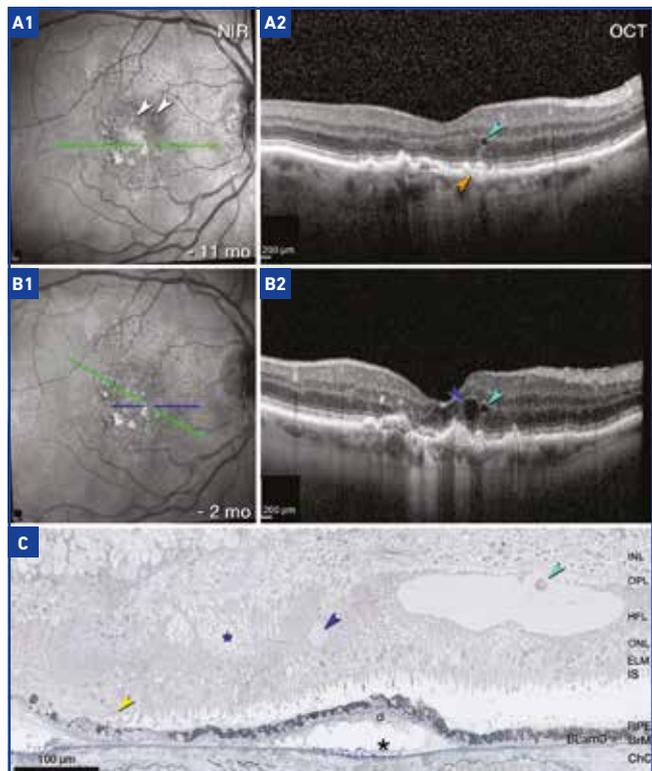


Fig. 1 : Images en réflectance infrarouge (NIR) et OCT 11 mois avant le décès (A1, A2) et 2 mois avant (B1, B2) et image histologique *post mortem* (C). Sur les coupes d'OCT comme sur l'image histologique, les **têtes de flèche bleu clair** pointent un kyste dégénératif dans la couche nucléaire interne. La **pointe de flèche orange** sur la coupe A2 pointe un drusen calcifié. Les logettes de liquide exsudatif sont représentées par des **têtes de flèches bleu foncé**. Sur la coupe histologique, l'astérisque noir désigne un amas de fibrose avasculaire avec des nodules calcifiés (cliché Berlin A, *Transl Vis Sci Technol*, 2023;12:13).

Liquide exsudatif (néovaisseaux)	Liquide non exsudatif (logettes dégénératives et tubulations)
<ul style="list-style-type: none"> – Légèrement réfléchif en OCT – Associé à une réponse au traitement anti-VEGF – En histologie, coloration modérée des fluides, texture lisse et homogène, présence de cellules sanguines et de fibrine. 	<ul style="list-style-type: none"> – Peu réfléchif en OCT – Sans réponse au traitement anti-VEGF – En histologie, coloration légère, texture finement granuleuse, présence de nombreux débris tissulaires
Cellules contenant des organites de l'épithélium pigmentaire dans les 2 types de liquide.	

Tableau I : Caractéristiques des fluides intra-rétiniens dans la DMLA néovasculaire, exsudatif et non exsudatif (dont le liquide transsudatif).

2 yeux d’une patiente de 90 ans présentant une forme néovasculaire de DMLA de type 3 traitée par anti-VEGF ont été préparés pour des coupes histologiques en vue d’une comparaison des images avec celles de l’OCT (fig. 1). Par ailleurs, les auteurs ont utilisé une base de données histopathologiques de DMLA accessible sur internet pour faciliter la quantification des colorations. Les résultats sont synthétisés dans le **tableau I**.

La présence de fluides dans les couches rétiniennes résulte d’un déséquilibre entre les mécanismes de production et d’excrétion. La production des fluides peut résulter de 2 voies principales : la transsudation ou l’exsudation. Pour l’excrétion, la pompe Na⁺/K⁺ ATPase de l’EP et les cellules de Müller intrarétiniennes sont les éléments essentiels. Dans la DMLA néovasculaire, les fluides s’accumulent car l’exsudation dépasse la capacité locale à résorber ces fluides. On considère que sous traitement anti-VEGF, l’exsudation et l’absorption répétées des fluides provoquent des lésions et un remodelage des tissus. Le remodelage peut être associé à l’accumulation de liquide transsudatif.

Cette étude originale permet tout au moins de fournir un support histologique à nos constatations cliniques. En pratique, ce sont bien sûr les caractéristiques OCT qui contribuent à la prise de décision.

BIBLIOGRAPHIE

1. SINGH SR, LUPIDI M, MISHRA SB *et al*. Unique optical coherence tomographic features in age-related macular degeneration. *Surv Ophthalmol*, 2020;65:451-457.
2. MONJE-FERNÁNDEZ L, GALLEGU-PINAZO R, CORDERO-COMA M *et al*. Evaluation of non-exudative tomographic signs in cases of exudative age-related macular degeneration. *Arch Soc Esp Oftalmol (Engl Ed)*, 2023;98:276-280.
3. WOLFF B, MAFTOUHI MQ, MATEO-MONTOYA A *et al*. Outer retinal cysts in age-related macular degeneration. *Acta Ophthalmol*, 2011;89:e496-9.
4. SCHAAL KB, FREUND KB, LITTS KM *et al*. Outer retinal tabulation in advanced age-related macular degeneration: optical coherence tomographic findings correspond to histology. *Retina*, 2015;35:1339.



T. DESMETTRE
Centre de rétine médicale,
MARQUETTE-LEZ-LILLE.