



Thèse

2014

Open Access

This version of the publication is provided by the author(s) and made available in accordance with the copyright holder(s).

Interleukine-6 et maladies neurologiques inflammatoires

Wullschleger, Alexandre

How to cite

WULLSCHLEGER, Alexandre. Interleukine-6 et maladies neurologiques inflammatoires. Doctoral Thesis, 2014. doi: 10.13097/archive-ouverte/unige:39206

This publication URL: <https://archive-ouverte.unige.ch/unige:39206>

Publication DOI: [10.13097/archive-ouverte/unige:39206](https://doi.org/10.13097/archive-ouverte/unige:39206)



**UNIVERSITÉ
DE GENÈVE**



**UNIVERSITÉ
DE GENÈVE**
FACULTÉ DE MÉDECINE

Section de médecine clinique

Département des neurosciences cliniques
Service de neurologie

Thèse préparée sous la direction du Dr Patrice Lalive d'Epinay et du Prof. Pierre Pollak

Interleukine-6 et maladies neurologiques inflammatoires

Thèse

présentée à la Faculté de Médecine
de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de Docteur en médecine
par

Alexandre WULLSCHLEGER

de
Zofingen (AG)

Thèse n° 10734

Publiée à Genève
2014

Table des matières

| | |
|--|-----------|
| 1. Résumé | 3 |
| 2. Introduction | 3 |
| 2.1. <i>La sclérose en plaques</i> | 3 |
| 2.1.1. Définition et épidémiologie | 3 |
| 2.1.2. Symptomatologie | 4 |
| 2.1.3. Pathophysiologie | 5 |
| 2.1.4. Formes cliniques | 6 |
| 2.1.5. Pronostic | 7 |
| 2.1.6. Traitements | 8 |
| 2.2. <i>Diagnostic</i> | 9 |
| 2.2.1. Critères diagnostiques | 9 |
| 2.2.2. Outils diagnostiques | 12 |
| 2.2.3. Diagnostic différentiel | 12 |
| 2.2.4. Biomarqueurs | 14 |
| 2.3. <i>L'interleukine-6</i> | 15 |
| 2.4. <i>Objectif de l'étude</i> | 16 |
| 2.5. <i>Méthodes</i> | 16 |
| 3. Travail original | 18 |
| 3.1. <i>Abstract</i> | 19 |
| 3.2. <i>Introduction</i> | 20 |
| 3.3. <i>Patients and Methods</i> | 20 |
| 3.4. <i>Results</i> | 22 |
| 3.5. <i>Discussion</i> | 23 |
| 3.6. <i>Acknowledgments</i> | 24 |
| 3.7. <i>Study funding</i> | 24 |
| 3.8. <i>Author contributions</i> | 24 |
| 3.9. <i>Conflict of interest statement</i> | 24 |
| 3.10. <i>Figures and tables</i> | 26 |
| 4. Discussion contextuelle | 29 |
| 5. Bibliographie | 30 |
| 6. Remerciements | 35 |

1. Résumé

Contexte: il n'existe à ce jour aucun biomarqueur validé dans le diagnostic de la sclérose en plaques (SEP). Parmi les candidats étudiés, l'IL-6 occupe une place particulière, de par le rôle essentiel qu'il joue dans les maladies neurologiques inflammatoires du système nerveux central (SNC).

Objectifs: cette étude a pour but de déterminer l'utilité clinique du dosage de l'IL-6 dans le liquide céphalo-rachidien (LCR), dans le cadre du diagnostic de la SEP, particulièrement pour discriminer la SEP d'autres maladies neurologiques inflammatoires.

Méthode: 374 échantillons de LCR ont été sélectionnés et regroupés en quatre catégories diagnostiques: maladies démyélinisantes du SNC (n=117), incluant des SEP rémittentes (n=65) et primairement progressives (n=11), des syndromes isolés cliniques (n=11), ainsi que des névrites optique (n=30); myélites transverses idiopathiques (n=10); autres maladies neurologiques inflammatoires (n=35); maladies neurologiques non inflammatoires (n=212). Un dosage d'IL-6 par ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) a été effectué sur ces échantillons. Les analyses statistiques des différences entre groupes ont été effectuées au moyen du test de Kruskal-Wallis et du Mann-Whitney U-test.

Résultats: les niveaux d'IL-6 excèdent la valeur-seuil de 10pg/ml dans 18 (51,4%) des 35 échantillons du groupe des autres maladies neurologiques inflammatoires, mais seulement dans 3 (3,9%) des 76 échantillons du groupe SEP. Les concentrations d'IL-6 n'ont dépassé le seuil dans aucun (0/212) des échantillons du groupe des maladies neurologiques non inflammatoires. Une valeur-seuil de 10pg/ml offre une sensibilité de 96% dans l'exclusion du diagnostic de SEP.

Conclusion: le dosage d'IL-6 dans le LCR aide à différencier la SEP des autres maladies neurologiques inflammatoires, qui constituent les diagnostics différentiels majeurs de la maladie.

2. Introduction

2.1. La sclérose en plaques

2.1.1. Définition et épidémiologie¹

La sclérose en plaques est une maladie neurologique auto-immune d'origine multifactorielle du système nerveux central (SNC), qui a été décrite pour la première fois de manière extensive en 1868 par Charcot [1]. Sa physiopathologie se caractérise par une combinaison d'inflammation, de démyélinisation et de dommages axonaux. L'importance relative de ces différents processus n'est pas la même dans les différentes populations de patients, et explique ainsi la grande hétérogénéité des expressions phénotypiques de la maladie. La caractéristique cardinale de la ma-

¹ Sauf indication contraire, les informations contenues dans les sections 1.1.1., 1.1.2. et 1.1.4. sont issues des ouvrages suivants: Cambier, J., Masson, M., & Dehen, H. (2000). Neurologie. Abrégés. Masson, Paris, et Daroff, R. B. (2012). Bradley's Neurology in clinical practice (Vol. 2), 6th ed., Elsevier Saunders.

ladie est une dispersion temporelle et spatiale des lésions, qui touchent différentes localisations au sein de la substance blanche du SNC au cours du temps.

Au niveau épidémiologique, on retrouve parmi les personnes atteintes environ deux femmes pour un homme. La SEP touche plus de 2'000'000 de personnes dans le monde. Aux Etats-Unis, on estime le taux d'incidence à 7,3/100 000 personnes-années [2]. Selon les chiffres rendus disponibles par la Société suisse de la sclérose en plaques, ce sont 100000 personnes qui seraient atteintes en Suisse. L'incidence de la SEP obéit à un gradient Nord-Sud, les pays du Nord connaissant des taux d'incidence supérieur à celui des pays situés plus proche de l'équateur. Des facteurs environnementaux jouent probablement un rôle dans ce phénomène, comme en témoignent l'augmentation des taux d'incidence chez les personnes migrant dans des pays où ce taux est lui-même élevé [3]. L'âge de survenue de la maladie se situe dans 70% des cas entre 20 et 40 ans.

Des facteurs génétiques ont également une influence sur le développement de la maladie. On observe ainsi un risque 20 à 40 fois plus élevé chez les parents au premier degré de personnes atteintes. Des gènes du groupe HLA classe II sont entre autres impliqués [3].

2.1.2. Symptomatologie

Du fait de la dissémination spatiale des lésions au sein du SNC, la symptomatologie de la SEP est extrêmement variée. Cette variété s'exprime tant dans les manifestations initiales que dans l'évolution de la maladie et ses conséquences.

Parmi les manifestations les plus fréquentes, on observe:

- Les troubles sensitifs, qui constituent dans 30 à 50% des cas la manifestation initiale de la maladie et touchent une très grande majorité des personnes atteintes au cours de leur vie. Les atteintes de la voie lemniscale entraînent des symptômes sous forme d'engourdissement ou de paresthésies à type de picotements. C'est dans le cadre de ces atteintes que se retrouve le signe de Lhermitte (décharge électrique à la flexion de la nuque), témoin d'une atteinte de la moelle cervicale. Les voies spino-thalamiques, lorsqu'elles sont touchées, sont responsables de symptômes comme des douleurs ou des paresthésies thermiques, qui peuvent selon la localisation avoir une distribution radiculaire. A l'examen clinique, on retrouve fréquemment des degrés divers d'hyposensibilité dans les modalités vibratoire, profonde ou thermo-algique aux extrémités distales des quatre membres, ainsi que des zones disséminées d'hypoesthésie sur les membres et le tronc.

- La névrite optique rétrobulbaire (NORB), causée par une atteinte du nerf optique. La NORB se caractérise par une atteinte rapide et unilatérale de la vision associée à une douleur rétro-orbitaire accentuée par les mouvements oculaires. L'atteinte visuelle prend la forme d'un scotome central. La NORB constitue la première manifestation clinique de la SEP dans environ 15% des cas. Elle peut rester isolée, mais présente tout de même un risque important d'évolution vers la SEP. Ainsi, une SEP se développe dans environ 50% des cas de NORB. La présence de lésions cérébrales à l'IRM est un facteur de mauvais pronostic [4].

L'évolution clinique est généralement favorable, avec une amélioration de l'acuité visuelle en quelques jours ou semaines. La NORB laisse une décoloration du champ temporal de la papille au fond d'œil, parfois seul témoin d'une atteinte à bas bruit du nerf optique.

- Les troubles moteurs, provoqués par les lésions de la voie pyramidale, se caractérisent par un syndrome pyramidal asymétrique, plus souvent paraparétique qu'hémi-parétique, témoignant d'une atteinte médullaire, à laquelle sont associés des troubles sensitifs et sphinctériens.

- Une fatigue inhabituelle, qui se manifeste chez une majorité de patients au cours de la maladie et peut en constituer la manifestation initiale, retardant le diagnostic. Cette fatigue, qui peut être causée par les processus primaires de la SEP comme par ses conséquences (fatigue secondaire) est extrêmement invalidante pour les patients. Des échelles d'évaluation existent (par exemple, Fatigue Rating Scale) [5].

- Les troubles cognitifs, qui touchent selon les études environ 50% des personnes atteintes au cours de leur vie [6]. Ces troubles cognitifs semblent reliés à des lésions frontales, pariétales et thalamiques, bien qu'aucune localisation précise n'ait pu être déterminée jusqu'à présent. Ils se manifestent par une atteinte prédominante de la mémoire de travail, de l'attention et de la vitesse de traitement de l'information. L'importance de l'atteinte physique n'est pas corrélée à l'étendue des troubles cognitifs. Ainsi, des formes sévères d'atteintes cognitives peuvent cohabiter avec une atteinte somatique modérée. Les troubles cognitifs sont aggravés par les troubles psychiatriques associés à la SEP, comme la dépression.

- Les symptômes d'une atteinte des nerfs crâniens au sein du tronc cérébral. On retrouve ainsi des vertiges (NC VIII), des diplopies (NC VI, III, IV, par ordre de fréquences des atteintes), des troubles sensitifs trigéminés (NC V), ainsi que des troubles de la phonation et de la déglutition (NC IX et X). On notera, parmi les atteintes possibles, la fréquence élevée de l'ophtalmoplégie internucléaire, causée par une atteinte du faisceau longitudinal médian, et caractérisée par une paralysie du muscle droit interne préservant toutefois la convergence. A cette paralysie s'ajoute un nystagmus intéressant l'œil en abduction.

- Les symptômes psychiatriques, au premier rang desquels la dépression. Les personnes souffrant de SEP sont en effet plus touchées par la dépression que la population générale. Si le fait de vivre avec une maladie chronique peut expliquer une partie de cette prévalence augmentée, les comparaisons avec d'autres maladies chroniques montrent une implication des processus physiopathologiques de la SEP dans la survenue des dépressions [7]. Par ailleurs, un lien a été démontré entre la SEP et d'autres troubles de l'humeur [8].

- Les symptômes vésicaux et sexuels, signes d'une atteinte médullaire. Le symptôme urinaire le plus fréquent est celui de l'urgence mictionnelle, liée à un manque d'inhibition des contractions du muscle detrusor. Les lésions de la moelle sacrée causent des atonies vésicales. Quant aux troubles sexuels, ils touchent une grande partie des patients et consistent notamment en des dysfonctions érectiles.

- Les symptômes liés à une atteinte cérébelleuse, parmi lesquels des troubles de l'équilibre, de la coordination ou de l'articulation (dysarthrie).

2.1.3. Pathophysiologie

La lésion élémentaire de la sclérose en plaques consiste en un foyer de démyélinisation, appelé plaque. Ces lésions sont le siège d'une atteinte à caractère inflammatoire de la myéline et des oligodendrocytes. Elles touchent la substance blanche centrale et épargnent les nerfs périphériques. Elles se retrouvent généralement autour de vaisseaux sanguins de moyen calibre et peuvent prendre des formes rondes, ovales ou «en doigts» (doigts de Dawson).

L'infiltrat inflammatoire peut prendre différents aspects selon le stade de la lésion. Ainsi, les lésions actives contiennent principalement des macrophages. Les lésions aiguës ou survenant au début de l'évolution de la maladie peuvent être le siège d'une remyélinisation (on parle alors de *shadow plaques*). Les plaques anciennes contiennent quant à elle un tissu cicatriciel gliosique. La destruction de la myéline ralentit considérablement la vitesse de conduction au sein des axones. La résolution de l'œdème inflammatoire, la remyélinisation partielle et la redistribution des canaux sodiques à la surface de l'axone expliquent la rémission des symptômes. Si les axones sont généralement épargnés dans les premiers stades de la maladie, ils sont progressivement irréversiblement atteints au rythme des épisodes aigus [9].

Plusieurs hypothèses existent quant au mécanisme à l'origine de la SEP. La description exhaustive et la discussion de ces différentes hypothèses dépassant de loin le champ de cette brève introduction, nous nous bornerons à décrire brièvement deux d'entre elles, parmi les plus couramment retenues.

Hypothèse virale:

L'hypothèse d'une cause infectieuse de la SEP est envisagée depuis les premières descriptions de la maladie.

Plusieurs virus ont été étudiés au cours des années afin de démontrer cette hypothèse. Parmi eux, on retiendra l'EBV (Epstein-Barr Virus), qui a fait l'objet d'une attention particulière, l'HHV-6 (virus Herpès 6) ou le groupe des rétrovirus. Aucune étude n'a cependant pu jusqu'à présent prouver de manière certaine le rôle d'un virus particulier dans la SEP [10]. Les virus jouent donc probablement un rôle facilitateur mais non directement étiologique.

Hypothèse autoimmune:

L'hypothèse d'une cause autoimmune de la SEP est la plus couramment discutée et testée. Plusieurs arguments viennent étayer cette hypothèse: la présence de lymphocytes T antigène-spécifiques dirigés contre la myéline parmi des échantillons sanguins de personnes atteintes de SEP; les études réalisées sur les *Altered Peptide Ligands* (APL), destinés à bloquer les récepteurs des cellules T auto-réactives, et qui ont, par l'exacerbation paradoxale des symptômes qu'ils ont provoquée, offert des preuves supplémentaires du rôle de ces cellules dans le développement de la maladie; enfin, les études réalisées sur le modèle murin de la SEP, l'Encéphalomyélite Autoimmune Expérimentale (EAE), qui ont montré que l'immunisation de souris au moyen d'un auto-antigène de la myéline déclenchait l'activation de cellules T CD4+ antigène-spécifiques et une cascade d'inflammation, comprenant l'attraction de macrophages et de granulocytes et la production de substances toxiques comme le NO et le TNF menant à la destruction de la myéline [11].

Les lymphocytes T CD4+ semblent jouer un rôle primordial dans la suite d'événements menant à la destruction de la myéline. Il semble également que le processus pathologique de la SEP comprenne une différenciation préférentielle de ces cellules vers les sous-types Th1 et Th17. Ces dernières ont fait l'objet d'une attention particulière ces dernières années. Supposées être destinées à défendre l'organisme contre des pathogènes, elles se retrouvent en effet impliquées dans bon nombre de maladies inflammatoires, comme la polyarthrite rhumatoïde ou le psoriasis [12].

2.1.4. Formes cliniques

La SEP se caractérise cliniquement par la survenue d'épisodes paroxystiques aigus appelés «poussées». Ces épisodes se définissent par la survenue rapide de symptômes neurologiques nouveaux ou par l'aggravation rapide de symptômes préexistants, sur une durée d'au moins 24

heures et en l'absence de fièvre. Ces épisodes sont normalement spontanément résolutifs en quelques jours ou semaines. Le degré de résolution de la symptomatologie est variable, mais est le plus souvent incomplet, laissant un handicap fonctionnel. Ces poussées sont à distinguer de l'aggravation de symptômes existants sous l'effet de facteurs exogènes comme une élévation de la température, phénomène connu sous le nom de «phénomène d'Uthoff».

La SEP se présente cliniquement sous trois formes différentes, caractérisées chacune par des évolutions et un pronostic particuliers. La forme la plus courante est la forme dite «poussées-rémission» (en anglais, *relapsing-remitting multiple sclerosis* (RRMS)). Cette forme de la maladie est caractérisée par des périodes de rémission entre les poussées. Le caractère parfois incomplet des rémissions implique un handicap progressant avec les années. Les poussées sont le plus fréquentes dans les cinq premières années. On estime ainsi que 75% des patients connaissent un deuxième épisode dans les 5 ans qui suivent le diagnostic. Dans un faible nombre de cas, la maladie entre en phase de rémission prolongée après quelques poussées, réalisant ce qu'il est courant de nommer une forme bénigne de la maladie.

Dans un délai qui est généralement de dix ans, succède à la forme rémittente de la SEP une forme progressive, appelée «secondairement progressive». Cette évolution se caractérise par une progression constante des déficits, et un degré d'invalidité supérieur. Les poussées peuvent, ou non, se surajouter à cette évolution ininterrompue des processus pathologiques.

C'est cette même progression chronique que l'on retrouve dès les stades initiaux de la maladie dans la forme primaire progressive (en anglais, *primary progressive multiple sclerosis* (PPMS)). Cette forme sévère, touchant environ 15% des patients atteints, est de survenue généralement plus tardive. Résistante au traitement, elle se présente par une évolution continue de la maladie, avec ou sans poussées surajoutées (on parle de forme progressive-rémittente lorsque des poussées se surajoute au tableau clinique progressif). Au niveau clinique, on retrouve fréquemment une quadriparésie spastique et un syndrome cérébelleux.

On ajoutera qu'il existe des formes de la SEP nommées «bénignes», caractérisées par un faible handicap après une longue évolution de la maladie.

1.1.5. Pronostic

L'évolution de la SEP se mesure habituellement au moyen d'échelles de handicap, qui mesurent le degré d'invalidité des personnes atteintes. La plus connue de ces échelles et celle qui est le plus souvent utilisée en clinique et dans les études scientifiques est l'*expanded disability status scale* (EDSS), développée en 1983 par Kurtzke [13]. Cette échelle se base sur un examen neurologique détaillé et évalue huit domaines fonctionnels: les fonctions visuelles, les fonctions du tronc cérébral, les fonctions pyramidales, les fonctions cérébrales (ou mentale), les fonctions sensitives, les fonctions urinaires et du transit intestinal, les fonctions cérébelleuses et les autres fonctions (à spécifier selon les cas). Cette évaluation est ensuite rapportée à une échelle allant de 0 (aucun déficit) à 10 (décès par degrés de 0,5. Un score de 6 traduit la nécessité d'une aide unilatérale à la marche. Un score de 7 témoigne d'un patient confiné à fauteuil. La passation régulière de cette échelle permet une observation fine de l'évolution clinique de la maladie.

En ce qui concerne l'évolution naturelle de la SEP, on estime qu'environ 30% des patients atteints font partie de la catégorie des SEP «bénignes», c'est-à-dire ne présente qu'un handicap mineur après dix ans d'évolution. Environ 30 à 40% des patients présentant une forme rémittente évoluent vers une forme secondairement progressive. Selon les études, environ 50% des

patients avec une SEP rémittente nécessitent une aide à la marche après 15 ans d'évolution. Les personnes présentant le plus grand risque de handicap sont ceux atteints par une forme primairement progressive ou ceux chez qui une forme rémittente se déclare à un âge plus tardif et/ou présentent des signes cliniques pyramidaux ou cérébelleux au début de l'évolution [14] [15].

La mortalité augmente avec le degré de handicap et est due aux complications possibles résultant de ce handicap neurologique. Quant au risque de suicide, il est notablement plus élevé, particulièrement dans les premières années de la maladie [15].

2.1.6. Traitements

Ce travail de thèse se basant sur un projet de recherche original traitant du problème du diagnostic de la SEP, nous ne ferons ici qu'un bref aperçu des traitements actuellement utilisés.

a. Traitement des poussées

Le traitement lors de poussées aiguës consiste en l'administration de méthylprednisolone intraveineuse à raison d'1g à 500 mg par jour durant trois à 5 jours. Ce traitement a montré son efficacité dans la réduction de la durée de la poussée [16].

b. Traitement de la forme rémittente

Interférons β (IFN- β) et acétate de glatiramer:

Ces traitements immunomodulateurs sont administrés depuis de longues années en première ligne du traitement de la sclérose en plaques. Les IFN- β diminuent notamment le passage des lymphocytes dans le SNC ainsi que la production de cytokines anti-inflammatoires. Quant à l'acétate de glatiramer, il diminue la réponse immunitaire déclenchée contre la myéline. Leur efficacité a été démontrée dans de multiples études, qui indiquent une diminution d'environ 30% de la fréquence des poussées à deux ans et de la charge lésionnelle à l'IRM [17]. Ces traitements, sûrs d'utilisation, peuvent être proposés dès une première manifestation suggestive d'une poussée associée à des anomalies IRM suggestives d'une SEP. Le fait que ces traitements soient uniquement disponibles sous forme d'injections sous-cutanées ou intramusculaires peut limiter la compliance. On ajoutera également qu'une diminution de l'efficacité des traitements d'IFN- β peut survenir en cours de traitement, due au développement d'anticorps anti-IFN [17].

Natalizumab (NTZ):

Le NTZ est un anticorps monoclonal qui limite l'entrée des lymphocytes dans le SNC. Ce traitement a montré une efficacité importante dans la prévention des poussées (-68% environ) et l'évolution du handicap à long terme, particulièrement chez les personnes présentant une forme très active de la maladie [18]. Le NTZ, introduit au départ comme traitement de deuxième ligne après échec des traitements immunomodulateurs, est aujourd'hui utilisé en première ligne pour un certain nombre de patients sélectionnés.

Ce traitement, administré par voie intraveineuse, n'est pas exempt de complications et d'effets secondaires, parmi lesquels la leucoencéphalopathie multifocale progressive (LEMP). Cette atteinte du SNC est due à la réactivation du virus JC, présent chez environ 55% de la population. La détermination du statut de séropositivité du virus fait partie intégrante du bilan nécessaire avant l'initiation d'un traitement de NTZ. Le risque de développement de LEMP culmine

après environ deux ans de traitement et est d'environ 4/1000 chez les patients JC virus positifs. Il est virtuellement nul pour les patients séronégatifs [19].

Fingolimod:

Le fingolimod est le premier traitement de la SEP disponible sous forme orale. Il agit en bloquant la sortie des lymphocytes naïfs et à mémoire centrale des ganglions lymphatiques en provoquant l'internalisation du récepteur S1P, nécessaire à la sortie des lymphocytes des tissus lymphoïdes secondaires. Il a montré une efficacité sur la diminution des poussées (-55%) et la progression du handicap (-30%) par rapport au placebo [20]. Son efficacité a également été démontrée comme supérieure à celle de l'IFN dans la réduction des poussées, mais pas dans celle du handicap. Le fingolimod provoque une lymphopénie, qui doit être régulièrement surveillée au cours du traitement. Il peut également provoquer des blocs atrio-ventriculaires lors de la première administration. Il existe également un risque d'œdème maculaire.

c. Traitement des formes progressives

Aucun traitement n'a montré à ce jour une efficacité dans la prévention de l'évolution de cette forme de la maladie. Quant à la forme secondairement progressive, les traitements d'IFN peuvent être proposés pour les formes associées aux poussées, témoins d'une activité inflammatoire de la maladie. Les formes ne présentant pas d'activité inflammatoire aiguë semblent quant à elles résistantes aux traitements [9].

2.2. Diagnostic

2.2.1. Critères diagnostiques

Le diagnostic de la sclérose en plaques se base sur des critères appelés critères de McDonald, dont la dernière révision a eu lieu en 2010 [21]. Ces critères ainsi que les anciens critères révisés 2005, utilisés dans le travail de recherche discuté ici, sont présentés dans les tableaux 1a et 1b :

| Présentation clinique | Éléments supplémentaires nécessaires pour le diagnostic de SEP |
|--|--|
| ≥2 poussées et preuve clinique d'au moins 2 lésions/preuve clinique d'une lésion et éléments anamnestiques suggestifs d'une poussée antérieure | Aucun |
| ≥2 poussées et preuve clinique d'une lésion | La dissémination spatiale doit être démontrée: ≥1 lésion T2 dans 2/4 des régions typiquement atteintes dans la SEP: périventriculaire, juxtacorticale, infratentorielle, médullaire; ou attendre une nouvelle poussée de localisation différente. |
| 1 poussée et preuve clinique de ≥2 lésions | La dissémination temporelle doit être démontrée: présence simultanée de lésions prenant et ne prenant pas le contraste à l'IRM avec injection de Gd+; ou pré- |

| | |
|---|---|
| | sence d'une nouvelle lésion par rapport à l'IRM de départ, quel que soit le temps les séparant; ou attendre une nouvelle poussée. |
| 1 poussée et preuve clinique d'une lésion (CIS) | Les disséminations spatiale et temporelle doivent être démontrées (cf. ci-dessus) |
| Evolution clinique suggestive d'une forme principalement progressive (PPMS) | 1 année d'évolution (rétrospective ou prospective) et 2 des 3 critères suivants: -Dissémination spatiale cérébrale avec ≥ 1 lésion dans les régions caractéristiques - Dissémination spatiale médullaire avec ≥ 2 lésions médullaires - LCR positif: détection de bandes oligoclonales et/ou index IgG élevé |

Tableau 1. Critères McDonald révisés 2010. Source: Polman CH, Reingold SC, Banwell B, Clanet M, Cohen JA, et al. (2011) Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. Ann Neurol 69: 292-302.

| Présentation clinique | Eléments supplémentaires nécessaires pour le diagnostic de SEP |
|---|---|
| ≥ 2 poussées et preuve clinique d'au moins 2 lésions | Aucun |
| ≥ 2 poussées et preuve clinique d'une lésion | La dissémination spatiale doit être démontrée: -3 des critères suivants : au moins une lésion prenant le contraste à l'IRM avec injection de Gd+ ou 9 lésions hyperintenses en séquence T2 si aucune lésion prenant le contraste n'est visible ; au moins une lésion infratentorielle ; au moins une lésion juxtacorticale ; au moins trois lésions périventriculaires. Les lésions médullaires sont équivalentes à des lésions infratentorielles ; les lésions médullaires prenant le contraste sont équivalentes à des lésions cérébrales prenant le contraste ; les lésions médullaires peuvent être prises en compte dans le compte global des lésions T2. - Au moins deux lésions IRM suggestives de SEP et LCR positif (présence de bandes oligoclonales déterminées par électrofocalisation ou index IgG élevé). - Attendre une nouvelle poussée de localisation diffé- |

| | |
|---|--|
| | rente. |
| 1 poussée et preuve clinique de ≥ 2 lésions | <p>La dissémination temporelle doit être démontrée:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Détection d'une lésion prenant le contraste au moins trois mois après l'événement clinique initial, si cette lésion ne correspond pas dans sa localisation à ce premier événement ; ou détection d'une nouvelle lésion T2 au moins un mois après un premier examen d'imagerie. - Attendre une nouvelle poussée. |
| 1 poussée et preuve clinique d'une lésion (CIS) | Les disséminations spatiale et temporelle doivent être démontrées (cf. ci-dessus) |
| Evolution clinique suggestive d'une forme principalement progressive (PPMS) | <p>1 année d'évolution (rétrospective ou prospective) et 2 des 3 critères suivants:</p> <ul style="list-style-type: none"> -IRM cérébrale positive (au moins 9 lésions T2 ou au moins 4 lésions T2 avec potentiels évoqués visuels positifs). - Dissémination spatiale médullaire avec ≥ 2 lésions médullaires - LCR positif: détection de bandes oligoclonales et/ou index IgG élevé |

Tableau 1b. Critères McDonald révisés 2005. Source: Polman, C. H., Reingold, S. C., Edan, G., Filippi, M., et al. (2005). Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the "McDonald Criteria." *Annals of Neurology*, 58(6), 840–846

Les critères de la dissémination spatial selon Barkhof/Tintoré, encore utilisés dans la révision 2005, ont été remplacés par les critères développés par Swanton, d'application plus aisée et présentant une sensibilité légèrement supérieure aux anciens critères². La dissémination temporelle peut quant à elle être démontrés au moyen d'une seule IRM réalisée au moment des premières manifestations cliniques. L'apport principal des critères 2010 est donc de permettre le diagnostic d'une SEP sur la base de l'IRM cérébrale et ce même après une première poussée. Le diagnostic biologique sur la base du LCR reste utile pour la forme principalement progressive. Cependant, les auteurs de cette révision des critères insistent sur la nécessité de considérer les diagnostics différentiels possibles et de les exclure au cours du processus diagnostique de la SEP. C'est pourquoi l'identification de marqueurs capables de représenter des «drapeaux rouges» invitant à considérer des diagnostics alternatifs.

² Swanton JK, Rovira A, Tintoré M, et al. MRI criteria for multiple sclerosis in patients presenting with clinically isolated syndromes: a multicentre retrospective study. *Lancet Neurol* 2007;6:677–686

2.2.2. Outils diagnostiques

IRM:

L'IRM est la technique d'imagerie de choix dans le diagnostic de la SEP. Les séquences T2 permettent d'identifier les lésions caractéristiques de la maladie, dans les régions les plus fréquemment touchées (régions périventriculaire, juxtacorticale, infratentorielle, médullaire). Les séquences T1 avec injection de produit de contraste mettent en évidence les ruptures de la barrière hémato-encéphalique, et par là-même les lésions présentant une activité inflammatoire accrue, c'est-à-dire les lésions actives. La réalisation d'une IRM cérébrale et médullaire est une étape obligatoire devant toute suspicion de SEP [22].

Bandes oligoclonales:

Le prélèvement de LCR et l'analyse de la présence d'immunoglobulines oligoclonales fait partie intégrante du diagnostic dans la plupart des centres de référence en Europe, même si l'analyse du LCR n'est plus formellement requise dans les formes rémittentes sur la bases des nouveaux critères diagnostiques [21] (cf. 2.2.1). L'évolution des techniques d'analyse permet aujourd'hui une détermination fine de la présence de bandes oligoclonales au moyen de l'isoélectrofocalisation. On estime à >90% la prévalence des bandes oligoclonales dans la SEP. La présence de bandes oligoclonales est cependant un indice supplémentaires parlant en faveur d'une SEP [23].

Index IgG:

Une synthèse intrathécale d'IgG est observée dans la SEP. Le dosage des IgG dans le LCR et le calcul de l'Index IgG LCR/sérum constitue un outil diagnostique supplémentaire, bien qu'il ne puisse remplacer l'analyse des bandes oligoclonales, en raison de sa faible sensibilité. Un index IgG élevé indique ainsi une synthèse intrathécale et est présent dans 70% des SEP [23].

Leucorachie:

Une élévation des leucocytes dans le LCR (>5/mm³) peut être observée dans environ un tiers des cas de SEP. La leucorachie ne dépasse que de façon exceptionnelle les 50 cellules/mm³ [24].

Protéinorachie:

Une élévation des protéines dans le LCR se retrouve habituellement pas dans la SEP. Ce signe, de même que la leucorachie, sont par contre souvent observés dans de nombreuses autres pathologies du SNC [24].

2.2.3. Diagnostic différentiel

Le diagnostic différentiel de la SEP est large et englobe de nombreuses catégories de pathologies [25]. Par souci de clarté, nous nous limiterons à la description des pathologies pertinentes

dans le cadre de cette thèse.

Syndrome isolé clinique (CIS, *clinically isolated syndrome*):

Le syndrome isolé clinique consiste en un premier événement neurologique aigu suggestif d'une poussée de SEP, sans que puissent être démontrées les dispersions spatiales et temporelle nécessaires au diagnostic de la maladie. Ces syndromes posent un problème diagnostique de premier ordre au clinicien, de part leur possible évolution vers une SEP. La réalisation d'une IRM cérébrale au moment de l'épisode est nécessaire et prédictive de l'évolution vers une SEP. On estime que 83% des personnes présentant des anomalies IRM lors d'un syndrome isolé clinique développeront une SEP dans les dix ans qui suivent. Les patients avec un IRM normale, en revanche, ne développeraient une SEP que dans 11% des cas [26]. La présence de bandes oligoclonales est un facteur de mauvais pronostic.

Neuromyérite optique (NMO):

Aussi appelée maladie de Devic, la NMO se caractérise par la survenue d'une névrite optique sévère, pouvant être bilatérale, et d'une myélite transverse longitudinalement étendue, intéressant au moins trois segments vertébraux. Classiquement décrite comme ne touchant pas le SNC au-delà de ces deux régions, la NMO atteint cependant fréquemment d'autres régions cérébrales. Le diagnostic différentiel avec la SEP est donc parfois rendu difficile. La survenue des deux éléments cliniques susmentionnés ainsi que l'absence d'anomalies IRM caractéristiques de la SEP orientent le diagnostic [27]. En 2004, un anticorps anti-AQP4 a été décrit comme spécifique de la NMO. Ce biomarqueur serait présent chez >70% des NMO, et permet un diagnostic différentiel clair de la SEP [28].

Myélite transverse idiopathique:

Face à une symptomatologie médullaire isolée se pose la question du diagnostic d'une myélite transverse idiopathique. La myélite transverse aiguë se présente sous la forme de symptômes sensitifs, moteurs et végétatifs bilatéraux, progressant de manière aiguë/subaiguë. L'imagerie montre la présence d'une lésion médullaire dont l'étendue oriente le diagnostic différentiel: une myélite limitée à moins de deux segments médullaires doit évoquer le possible diagnostic d'une SEP. Une lésion étendue à plus de trois segments doit en revanche orienter vers le spectre des NMO [29].

Connectivites et vasculites:

On retrouve dans ce groupe un grand nombre de pathologies pouvant au cours de leur évolution atteindre le SNC, provoquant des symptômes ressemblant à ceux de la SEP. Parmi ce groupe, on retrouve, entre autres:

- le neuro-lupus: comprend l'ensemble des manifestations neuropsychiatriques liées à la maladie lupique, survenant dans environ 50% des cas, selon les études et les critères utilisés [30] [31]. Certains des symptômes possibles dans ce cadre miment ceux provoqués par la SEP. Le diagnostic est avant tout guidé par la présence des symptômes systémiques caractéristiques et la positivité des anticorps liés au lupus dans le sérum.
- l'angéite primaire du SNC, qui se caractérise par une atteinte inflammatoire des petits et moyens vaisseaux du SNC. Si les manifestations neurologiques sont souvent accompagnées de céphalées, elles peuvent survenir en leur absence. Le caractère étendu de l'inflammation rend

la symptomatologie variable, et le diagnostic différentiel large. L'IRM, l'analyse du LCR ainsi que l'angiographie et la biopsie cérébrale font partie des outils diagnostics utilisés [32].

- le neuro-Sjögren: les atteintes du système nerveux central dans le cadre du syndrome de Sjögren sont plus rares que les atteintes périphériques. Les atteintes médullaires sont rares. La positivité des anticorps anti-Ro (SSA) sont un facteur de sévérité supplémentaire [33].

- la granulomatose de Wegener, qui touche le système nerveux dans environ 34% des cas. Le SNC n'est quant à lui atteint que chez moins de 10% des patients. La vasculite touche les vaisseaux de petit diamètre. Les titres d'anticorps anti-neutrophiles cytoplasmiques dans le LCR sont élevés chez les patients présentant un tableau de pachyméningite [33].

- le neuro-Behçet: les atteintes du SNC, présentes dans 10 à 49% des patients selon les études, sont provoquées par un phénomène inflammatoire primaire du parenchyme ou une atteinte vasculitique veineuse. Le tableau clinique et son évolution peuvent mimer une SEP de forme rémittente [33]. Les études réalisées sur le LCR montrent cependant un profil de cytokines particuliers au neuro-Behçet [34].

- le syndrome de Churg-Strauss: si l'atteinte du SNC reste rare dans le cadre de cette maladie, elle est associée à une mortalité importante. Le diagnostic se base sur la présence d'atteintes systémiques caractéristiques, notamment l'asthme et l'éosinophilie [35].

Les syndromes paranéoplasiques:

L'atteinte du SNC dans le cadre de maladies oncologiques est liée à la présence d'anticorps dirigés contre des antigènes neuronaux intracellulaires (anti-Hu et anti-Yo par exemple). Ces syndromes sont le plus souvent associés aux cancers pulmonaires, particulièrement au cancer à petites cellules, aux tumeurs gynécologiques et aux lymphomes [36]. Les manifestations cliniques sont là encore multiples et peuvent représenter un défi diagnostique, en l'absence de tumeur identifiée.

La neuroborréliose:

Les manifestations neurologiques de l'infection par *Borrelia burgdorferi* touchent environ 15% des patients [37]. Les atteintes parenchymateuses cérébrales sous la forme d'une encéphalomyélite sont rares. L'analyse du LCR montre souvent des anomalies, moins importantes en présence d'une atteinte clinique modérée. Le diagnostic se base avant tout sur la présence d'anticorps dirigés contre *Borrelia burgdorferi*. En leur absence, le diagnostic peut se révéler difficile.

La neuro-sarcoïdose:

Les symptômes neurologiques de la sarcoïdose, extrêmement variés, surviennent dans un peu plus de 5% des cas. La moitié des personnes atteintes présente des symptômes avant toute manifestation systémique. Le diagnostic se base sur la mise en évidence de granulomes caséux et sur les manifestations systémiques de la maladie [38][39].

1.2.4. Biomarqueurs

La recherche de biomarqueurs susceptibles d'aider au diagnostic de la SEP ou d'aider au pronostic sur son évolution est primordiale. A ce jour, aucun marqueur biologique n'a pu être défini-

tivement validé [40]. De nombreux candidats sont cependant étudiés, qu'il s'agisse de chemo-kines comme le CXCL13, de marqueurs de la neurodégénération comme la glial fibrillary acidic protein (GFAP) ou les Neurofilaments (NF) [41] ou de protéines participant à l'inflammation comme les interleukines

2.3. L'interleukine-6

L'interleukine-6 a été décrite pour la première fois dans les années 80 comme une protéine produite par les lymphocytes et permettant la différenciation finale des lymphocytes B en cellules productrices d'anticorps. Les propriétés inflammatoires de l'IL-6 ont été rapidement reconnues, notamment en ce qui concerne son rôle dans la production des protéines de la phase aiguë. Elle possède cependant également des propriétés anti-inflammatoires, en particulier de contrôle de l'étendue de l'inflammation aiguë, et ce via son action régulatrice des protéines pro-inflammatoires (diminution de la synthèse de TNF-alpha et d'IL-1, stimulation de la production de l'antagoniste du récepteur à l'IL-1, par exemple) ou son action inductrice et régulatrice de cellules Th17, décrite ci-après [42][43].

Dans le SNC, l'IL-6 est produite par les neurones et les astrocytes. Elle participe aux phénomènes neuroinflammatoires par la stimulation de l'astrocytose et de la microglie, deux processus cardinaux de l'inflammation au sein du SNC dont les effets locaux sont doubles: dégâts provoqués par les médiateurs neurotoxiques et les protéines inflammatoires; protection via le renforcement de la barrière hémato-encéphalique et la production de facteurs neurotrophiques. L'IL-6 joue un rôle facilitateur dans la production de médiateurs toxiques, de même qu'elle favorise l'intégrité de la barrière hémato-encéphalique, notamment par son influence sur les protéines d'adhésion exprimées par les astrocytes [42].

Au niveau neuronal, l'IL-6 joue un rôle important dans la neurogenèse, en particulier via la différenciation des cellules-précurseuses sur les voies de la neurogenèse et de l'astroglionogenèse, dans la différenciation des neurones, dans la survie de différents types de neurones, notamment dans des conditions de stress oxydatif, et dans la régénération des neurones, comme le montrent de nombreuses études réalisées sur des souris n'exprimant pas la protéine [42].

Des études ont été réalisées pour investiguer le rôle de l'IL-6 dans la SEP [44][45][46]. Des résultats contradictoires ont été jusqu'à présent obtenus quant à l'élévation des taux d'IL-6 dans le LCR des patients atteints. Une analyse plus précise des études révèle cependant que les taux observés restent bas. La faible puissance des études ne permet en outre pas de tirer de conclusions définitives sur cette question.

Les études réalisées sur des souris IL-6^{-/-} ont montré une tendance à la résistance de ces animaux à l'induction de l'EAE par immunisation avec un antigène de la myéline [47]. L'effet supposé est un blocage de la migration des cellules T vers le SNC par l'absence de promotion de l'expression de la protéine VCAM-1 sur les cellules endothéliales. Un déplacement de la différenciation des cellules T vers les sous-types Th2 est également évoqué comme explication possible de cette résistance [48].

L'IL-6 joue également un rôle, comme mentionné ci-dessus, dans la différenciation des lymphocytes Th17. L'action combinée de l'IL-6 et du TGF-beta occasionne une différenciation en cellules Th17 et empêche la différenciation en cellules T régulatrices (Treg), favorisée par l'action du TGF-beta seul [49]. Sous l'action de l'IL-23, les cellules Th17 développent un rôle patholo-

gique dans l'inflammation [50]. L'IL-17, produite par ces cellules, favorise en outre la production d'IL-6 par les astrocytes par une boucle de rétroaction positive [51]. Le contact avec les cellules T favorise quant à lui la production d'IL-6 dans les astrocytes et les cellules microgliales [52].

L'IL-6 est donc une protéine aux effets doubles et contradictoires. Sorte de chef d'orchestre de l'inflammation, elle peut selon les circonstances et les milieux produire des effets pro-inflammatoires, dommageables pour le SNC, ou au contraire favoriser des phénomènes neuro-protecteurs. Son rôle dans la maladie d'Alzheimer a été également démontré. Il est également étudié dans la dépression et la schizophrénie [53].

2.4. Objectif de l'étude

L'objectif de cette étude est de démontrer l'utilité diagnostique du dosage de l'Interleukine-6 dans le LCR. Considérant la multitude des diagnostics différentiels de la SEP (cf. 2.2.3) et l'importance, dans le cadre du processus diagnostique de l'exclusion des diagnostics alternatifs (cf. 2.2.1), l'étude de nouveaux tests diagnostiques potentiels revêt une importance particulière. Parmi ces tests potentiels, les biomarqueurs représentent une piste d'investigation particulièrement intéressante (cf. 2.2.4). La proximité anatomique avec les structures cérébrales du LCR fait de ce liquide un objet de recherches prometteuses dans le domaine des biomarqueurs associés aux maladies neurologiques chroniques. Comme mentionné ci-dessus (cf. 2.3.), l'interleukine-6 semble jouer un rôle particulièrement important dans certains processus neuroinflammatoires. C'est en considération de ces éléments que cette étude a été menée.

2.5. Méthodes

Pour déterminer l'utilité diagnostique de l'IL-6, nous avons sélectionné rétrospectivement 374 échantillons de LCR de patients traités dans les services de Neurologie et d'Immunologie des HUG et conservés à -80°C , en accord avec la commission d'éthique des HUG. Ces échantillons représentent un large échantillon de maladies neurologiques ou auto-immunes avec atteinte cérébrale avec, au total, 22 diagnostics différents. Les diagnostics de chaque patient ont été vérifiés sur la base de leur dossier médical. Une étude rétrospective de chaque dossier a ainsi été effectuée, sans connaissance préalable des taux d'IL-6.

Les échantillons ont été ensuite classés sur la base de ces diagnostics en quatre catégories :

- Les maladies démyélinisantes (n=117) : SEP rémittente (n=65), SEP primairement progressive (n=11), névrite optique rétrobulbaire (n=30), CIS (n=11).
- Les maladies neurologiques inflammatoires (n=35): neurosarcoïdose (n=11), syndrome paranéoplasique (n=3), neurolupus (n=4), neuro-Beçcet (n=2), angéite primaire du SNC (n=7), neuroborréliose (n=2), neuro-Sjögren (n=4), maladie de Churg-Strauss avec atteinte du SNC (n=1), et granulomatose de Wegener avec atteinte du SNC (n=1).
- Les myélites transverses idiopathiques (n=10)
- Les maladies neurologiques non inflammatoires (n=212): polyneuropathie (n=40), céphalées primaires (n=43), discopathie lombaire (n=20), hydrocéphalie à pression normale (n=12), syndromes extra-pyramidaux (n=26), sclérose latérale amyotrophique (n=22), encéphalopathie vasculaire (n=8), and paralysie faciale périphérique (n=41).

Le groupe des maladies neurologiques inflammatoires ainsi que celui des myélites transverses comprennent des pathologies dont la présentation clinique souvent variable les fait entrer dans le diagnostic différentiel de la SEP. C'est donc ce groupe de maladies qu'il est essentiel de con-

sidérer dans le processus diagnostique de la SEP. La comparaison des taux d'IL-6 de ce groupe avec ceux des SEP doit démontrer l'utilité de ce test.

Le groupe des maladies neurologiques non-inflammatoires quant à lui fait office de groupe contrôle. Ces maladies n'entrent pas dans le diagnostic différentiel de la SEP.

Afin d'affiner les données cliniques à disposition, les dossiers des patients traités pour une SEP ont été analysés en profondeur pour déterminer la forme clinique de la maladie, sur la base des diagnostics inscrits dans le dossier ou sur la base de l'évolution clinique observée. Les diagnostics de SEP ont été déterminés au moyen des critères révisés 2005. Deux sous-types ont été choisis pour l'étude, la forme rémittente et la forme primairesment progressive. Les CIS ainsi que les névrites optiques, rentrant tous deux dans le spectre des maladies démyélinisantes, ont aussi été choisis à titre de comparaison. Le score EDSS de chaque patient au moment de la ponction lombaire a été calculé sur la base des examens neurologiques à disposition dans le dossier médical. Des informations sur l'âge, le sexe, la durée de la maladie au moment de la ponction lombaire ainsi que sur les traitements en cours ont également été obtenues. Les IRM cérébrales et médullaires effectuées dans le cadre du bilan diagnostique ont été analysées et les lésions observées classées selon leur prise de contraste, témoin de leur activité inflammatoire.

Les patients traités au moment de la ponction lombaire pour un CIS ont développé une SEP dans les mois/années suivant l'examen, ce qui a été déterminé sur la base du suivi médical au moyen des critères McDonald 2005.

Les ponctions lombaires effectuées dans le cadre du bilan diagnostique des SEP ont toutes été effectuées dans un intervalle maximal d'un mois après le début de la poussée.

Les taux d'IL-6 ont été déterminés par ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) au moyen d'un kit commercial (R&D, # DY206), et sont exprimés en pg/ml. Les données relatives aux leucocytes et aux bandes oligoclonales ont été également récupérées dans les bases de données à disposition.

L'analyse statistique s'est faite au moyen de tests non-paramétriques, compte tenu de la distribution asymétrique de l'IL-6 dans le LCR. Les tests de Kruskal-Wallis pour la distribution et de Mann-Whitney (U-test) pour les comparaisons de groupes ont été utilisés. Une valeur $p < 0,05$ était considéré comme statistiquement significative. Une courbe ROC (Receiver Operating Characteristic) a été employée afin de déterminer la sensibilité et la spécificité du dosage de l'IL-6. Cette courbe est présentée dans la figure 1. Elle montre les différents seuils possibles du test. Le seuil de 10pg/ml offre une sensibilité de 96% dans l'exclusion de la SEP tout en conservant une spécificité acceptable.

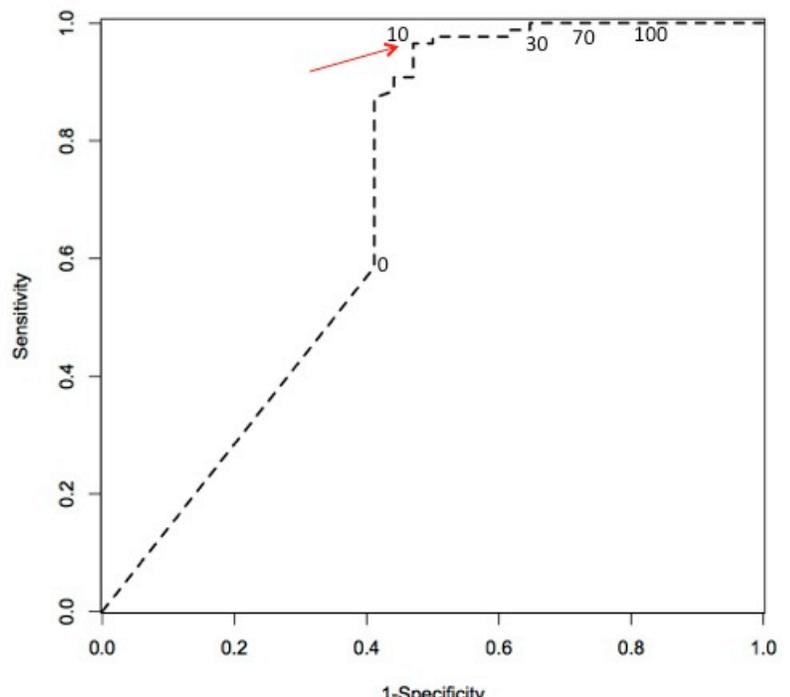


Fig. 1. Courbe ROC présentant les sensibilités et spécificités des différents seuils de positivité possibles du dosage de l'IL-6 dans le LCR. La flèche indique le seuil de 10pg/ml retenu pour l'étude.

3. Travail original

Classification: Research Article

Title: Cerebrospinal fluid interleukin-6 in central nervous system inflammatory diseases

Running head: CSF IL-6 in CNS inflammatory diseases

Alexandre Wulschleger¹, Viktoria Kapina¹, Nicolas Molnarfi^{1,2}, Delphine S. Courvoisier^{3,4}, Jörg D. Seebach⁵, Marie-Laure Santiago-Raber², Denis F. Hochstrasser⁶, and Patrice H. Lalive^{1,2,6}

¹*Department of Clinical Neurosciences, Division of Neurology, University Hospital of Geneva, Geneva, Switzerland*

²*Department of Pathology and Immunology, Faculty of Medicine, University of Geneva, Geneva, Switzerland*

³*Division of Clinical Epidemiology, University Hospitals of Geneva, Geneva, Switzerland*

⁴*School of Public Health, Harvard University*

⁵*Department of Internal Medicine, Division of Clinical Immunology and Allergology, University Hospital and Medical Faculty, Geneva, Switzerland*

⁶*Department of Genetics and Laboratory Medicine, Laboratory Medicine Service, University Hospital of Geneva, Geneva, Switzerland*

Corresponding author:

Patrice H. Lalive

Department of Clinical Neurosciences, Division of Neurology, Unit of Neuroimmunology and Multiple Sclerosis, University Hospital of Geneva, Geneva, Switzerland, Gabrielle-Perret-Gentil 4, 1211 Geneva 4, Switzerland. Phone: +41 22 372 83 18 / Fax : +41 22 372 83 32. Email: patrice.lalive@hcuge.ch

Keywords:

Multiple sclerosis; CSF; interleukin-6; biomarker; differential diagnosis

3.1. Abstract

Background: Interleukin (IL)-6 is recognised as an important cytokine involved in inflammatory diseases of the central nervous system (CNS).

Objective: To perform a large retrospective study designed to test cerebrospinal fluid (CSF) IL-6 levels in the context of neurological diseases, and evaluate its usefulness as a biomarker to help discriminate multiple sclerosis (MS) from other inflammatory neurological diseases (OIND).

Patients and methods: We analyzed 374 CSF samples for IL-6 using a quantitative enzyme-linked immunosorbent assay. Groups tested were composed of demyelinating diseases of the CNS (DD, n=117), including relapsing-remitting MS (RRMS, n=65), primary progressive MS (PPMS, n=11), clinically isolated syndrome (CIS, n=11), optic neuritis (ON, n=30); idiopathic transverse myelitis (ITM, n=10); other inflammatory neurological diseases (OIND, n=35); and non-inflammatory neurological diseases (NIND, n=212). Differences between groups were analysed using Kruskal–Wallis test and Mann–Whitney U-test.

Results: CSF IL-6 levels exceeded the positivity cut-off of 10 pg/ml in 18 (51.4%) of the 35 OIND samples, but in only three (3.9%) of the 76 MS samples collected. CSF IL-6 was negative for all NIND samples tested (0/212). IL-6 cut-off of 10 pg/ml offers 96% sensitivity to exclude MS.

Conclusion: CSF IL-6 may help to differentiate MS from its major differential diagnosis group, OIND.

3.2. Introduction

Multiple sclerosis (MS) is an autoimmune disease of multifactorial origin that affects the central nervous system (CNS).[54] Its pathology is characterised by a combination of inflammation, demyelination, and axonal damage.[55] These processes are not uniformly represented across patient populations, but can predominate selectively in individual patients, contributing to the heterogeneity of phenotypic expression of the disease.[56] Due to its complex nature, there is probably no single protein that can serve as a biomarker for MS in a clinically relevant way. However, individuals with MS might be differentiated from those with other inflammatory neurological diseases (OIND), non-inflammatory neurological diseases (NIND) and healthy controls (HC) using a distinct set of individual proteins that are not independently reliable indicators of disease state.

Cerebrospinal fluid (CSF) is a promising body fluid for the search of biomarkers associated with chronic neurological disease.[57][58] Because the CSF compartment is in close anatomical contact with the brain interstitial fluid, biochemical changes related to MS may be reflected in the CSF.[59][40] Among mediators recognised to contribute to inflammatory processes in the CNS, accumulating evidence indicates that interleukin-6 (IL-6) is a potential marker of CNS diseases. IL-6 is a pleiotropic glycoprotein cytokine reported to mediate signal transduction between immune cells,[43] and is considered a double-edged sword mediator because it has both pro-inflammatory and potentially neuroprotective functions.[60] Elevated IL-6 levels have recently been reported in the CSF of patients with inflammatory CNS diseases, such as idiopathic transverse myelitis (ITM),[61] acute disseminated encephalomyelitis (ADEM),[62] and neuromyelitis optica (NMO),[63] indicating the possible role of IL-6 as a biomarker of inflammatory CNS conditions. The clinical recognition of CSF IL-6 as biomarker of distinct CNS conditions has not yet been clearly demonstrated, partly because of the lack of large cohorts to sufficiently power the studies.

The recently revised 2010 MS criteria have been simplified to allow easier diagnosis of MS without losing sensitivity or specificity.[21] These new criteria also emphasize the importance of excluding other conditions that may mimic MS. As a large number of diseases can mimic brain lesion changes that are seen in MS, it is therefore important to exclude these conditions with appropriate clinical and laboratory investigations before making a definite diagnosis of MS. In this regard, new biomarkers that may help to discriminate between MS and other closely related CNS diseases are mandatory.

In the present study, we investigated the potential of CSF IL-6 as a biomarker of CNS inflammatory diseases by evaluating its levels in a large number of patients with a variety of CNS disorders, primarily to differentiate MS from other inflammatory conditions that may mimic MS.

3.3. Patients and Methods

Ethics Statement

This study was performed on cerebrospinal fluids (CSF) collected in excess during regular spinal taps that were stored anonymously in a centralized biobank for retrospective research purposes. This research was conducted accordingly to the regulations of the Act on Medical Research Involving Human Subjects of the Geneva University Hospital (HUGO.RE.DG.0010). Neither written nor recorded verbal informed consent was compulsory for this research study involving the retrospective analysis of fluid collection, as the resulting research data set was completely anonymous. The Geneva University Hospital Medical Ethical board approved this study and consent process: Authorization # 07-261R (NAC 07-102R).

Study Design

This study included CSF samples from 374 patients representing 22 definite diagnoses and classified into four major diagnostic groups, which are summarised in Fig 1. All 374 CSF specimens were obtained in the Division of Neurology at the Geneva University Hospital (Switzerland). We obtained 117 CSF samples from clinically ascertained patients with demyelinating diseases of the CNS: relapsing-remitting MS (RRMS) (n=65), primary-progressive MS (PPMS) (n=11), optic neuritis (ON) (n=30), and clinically isolated syndrome (CIS) (n=11). All CSF samples from MS and CIS patients were obtained during a relapse episode (i.e. within 4 weeks of a relapse, with the exception of PPMS). No patients with MS had received disease-modifying treatments up to the time of sample collection. All CIS patients were confirmed to have MS over time according to 2005 McDonald criteria.[64] Clinical and radiological characteristics of demyelinating disease (DD) patients are summarised in Tables 1 and 2. There was a 10-day maximal delay between MRI and spinal tap. Our study also included CSF samples from patients with idiopathic transverse myelitis (ITM, n=10), as defined elsewhere,[65] and 35 patients with the following miscellaneous inflammatory neurological disorders (OIND) affecting the CNS: neurosarcoidosis (NS, n=11), paraneoplastic syndrome (PNS, n=3), neurolupus (NL, n=4), neuro-Behcet's disease (NB, n=2), primary angiitis of the CNS (PACNS; n=7), neuroborreliosis (NBO, n=2), neuro-Sjögren's syndrome (NSj, n=4), Churg-Strauss syndrome with CNS involvement (CSS, n=1), and Wegener's granulomatosis with CNS involvement (WG, n=1). We also obtained control CSF from 212 patients with the following non-inflammatory neurological diseases (NIND): polyneuropathy (PNP; n=40), primary headaches (PH; n=43), lumbar discopathy (LD; n=20), normal pressure hydrocephalus (NPH; n=12), extrapyramidal syndromes (EPD; n=26), amyotrophic lateral sclerosis (ALS; n=22), vascular encephalopathy (VE; n=8), and Bell's palsy (BP, n=41).

Procedures

We used the revised 2005 McDonald Criteria[64] to diagnose MS. Three neurologists (AW, VK, and PHL) assigned final diagnoses to patients by reviewing all case histories and laboratory data, without knowledge of the serological results. We collected demographic and clinical information, including race, sex, age at onset, neurological symptoms and signs, history of autoimmunity, recording laboratory, and imaging data. CSF white blood cell (WBC) count and the determination of CSF-specific oligoclonal bands (OB) were retrieved from our CSF biobank database. OB testing was performed by electrophoresis and/or isoelectric focusing (IEF). CSF samples were obtained at the time of patients' admission for routine diagnostic purposes. For MS patients, all lumbar punctures were made within 1 month of a relapse. CSF samples were stored at -80°C within 2 h of sampling. All CSF samples were tested in duplicate by an observer blinded to all clinical information. IL-6 measurement was performed with a quantitative and commercially available enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) according to the manufacturer's instructions (R&D, # DY206). Results were expressed as pg/ml.

Statistical analysis

Owing to the asymmetric data distribution of CSF IL-6 levels, we applied non-parametric tests for statistical analysis. We used the Kruskal-Wallis test for the distribution analysis, and the Mann-Whitney U-test for the head-to-head comparisons. A p-value <0.05 was considered statistically significant. We used receiver operating characteristic (ROC) curve analysis to determine the power (sensitivity and specificity) of CSF IL-6 indices as a discriminatory diagnostic marker for MS. The area under the curve (AUC) was also evaluated. The Division of Clinical Epidemiology at the Geneva University Hospital (DC) performed all statistical analyses using SPSS (v. 18.0) statistical software.

3.4. Results

The levels of CSF IL-6 in different disease subgroups are shown in Fig. 2. We used ROC curves to determine the CSF IL-6 threshold value that would provide the best sensitivity and specificity as a discriminative criterion for clinical MS diagnosis. The cut-off value for CSF IL-6 was set at 10 pg/ml, yielding a 96% sensitivity to exclude MS at this value.

Given this cut-off value, CSF was IL-6-positive in 40% of patients with ITM (4/10; median: 4 pg/ml; interquartile range (IQR) 70) and 51% of patients with OIND (19/35; median: 15 pg/ml; IQR 111). By contrast, CSF was IL-6-positive in only 3.9% of MS patients (3/76; positive patients were all RRMS patients; median: 0 pg/ml; IQR 0.4), and in no patients with other DD, such as ON (median: 0 pg/ml; IQR 0.7) and CIS (median: 0 pg/ml; IQR 0.4). IL-6-positive CSF was not observed in patients with NIND (median: 0 pg/ml; IQR 0.2).

Head-to-head comparisons among the four different groups (ITM, OIND, DD, NIND; Fig 2) indicated that results were statistically different between MS patients and patients with ITM ($p < 0.0001$) or OIND ($p < 0.0001$), but failed to reach significance between MS patients and patients with ON ($p = 0.79$) or NIND ($p = 0.11$). In particular, no CSF IL-6 levels greater than 7.6 pg/ml were observed in patients with NIND. In comparison, IL-6 reached levels as high as 250 pg/ml or 900 pg/ml in patients with ITM or OIND, respectively. We observed no IL-6 values greater than 33 pg/ml in patients with DD. We observed no differences among ON ($n = 11$), CIS ($n = 11$), RRMS ($n = 65$), and PPMS ($n = 11$) groups under scrutiny for CSF IL-6 index ($p = 0.327$). With the exception of three IL-6-positive samples, all in the RRMS group, we observed no IL-6 positivity in the CSF of DD patients (Fig 2). Among the diseases of the OIND group, neuroborreliosis, Wegener disease, neurosarcoidosis and neurolupus have yielded the highest mean IL-6 levels. No statistically significant difference was found between the different subgroups ($p = 0.66$).

The clinical, biological, and radiological characteristics of DD patients are summarised in Tables 1 and 2. Notably, gadolinium-positive brain and spinal cord lesions, a classical hallmark of acute CNS inflammation in MS, were observed in 34% and 42% of RRMS patients, respectively. In addition, increased CSF WBC ($> 5 \text{ mm}^3$) were observed in 60% of RRMS patients. Therefore, neither radiological nor biological patterns of inflammation observed in RRMS patients correlated with the observation of absent or low-level CSF IL-6.

It is noteworthy that the levels of IL-6 in the three IL-6-positive MS samples were found to be low (13 pg/ml, 28 pg/ml and 33 pg/ml, respectively) compared with ITM and OIND IL-6-positive samples. Two of the three IL-6-positive RRMS samples were associated with an elevated WBC CSF count above the average for the group (mean: 8 WBC). Two of them were also OB-positive. The brain MRI available for these three IL-6-positive MS patients revealed no T1 gadolinium-positive lesions; this was also the case regarding the single available spinal cord MRI. This finding indicates that the elevated CSF IL-6 levels observed in the three MS patients were not correlated with biological or radiological signs of CNS/CSF inflammation.

The proportion of positive CSF OB in RRMS and PPMS patients was 91%, which is compatible with observations of other MS cohorts.[66] Noteworthy, no OB were found in the samples of the OND group. In the OIND group, 18,7% of the samples were OB-positive.

We then compared the usefulness of OB versus IL-6 to discriminate MS patients. We observed that the absence of CSF IL-6 (96% sensitivity) was similar to the presence of OB (91% sensitivity) to confirm MS diagnosis. In addition, ROC curve analysis demonstrated that CSF IL-6 levels were more closely linked to MS than WBC counts, when the MS and OND groups were compared (data not shown). Altogether, these results strongly suggest that the measurement of IL-6 CSF levels as a quantitative assay could be useful to support a discriminatory clinical diagnosis of MS. It is however important to underline that OB testing mainly helps distinguishing between

MS and healthy subjects or non-inflammatory neurological diseases, whereas IL-6 helps in our view in distinguishing MS and OIND.

3.5. Discussion

The use of biomarkers is increasingly proposed as a method to refine the diagnosis and guide the treatment of numerous diseases. To date, no biomarker has had sufficient full-scale testing to qualify as a useful addition to standard diagnostic and prognostic factors, or to guide the prescription of specific treatments for MS. A recent study has shown promising results with the demonstration of the potassium channel KIR4.1 as a target of the autoantibody response in MS.[67] CSF OB detection remains currently the preferred biological test performed by physicians that investigate MS patients, although it is no longer required by the 2010 revised MS criteria.[21] When applying these revised criteria, it remains imperative that alternative diagnoses be considered and excluded. Thus, the identification of clinical and paraclinical red flags is of particular importance when diagnosing MS. Studies have investigated the possible usefulness of IL-6 as a biomarker of CNS diseases, especially in the context of demyelinating diseases; however, the small size of the studied samples and the inclusion of restricted neurological conditions limit its usefulness in clinical practice. We addressed this question in the present study by taking advantage of a large-scale data set that encompasses a variety of neurological conditions.

ROC curves, which represent the probability that a test will yield false-positive or false-negative results for all possible cut-off values, were drawn to determine the optimal cut-off value of CSF IL-6 to discriminate MS from OIND, a group of CNS inflammatory diseases considered in the classical differential diagnosis of MS. The results presented in this study indicate that elevated IL-6 levels (>10 pg/ml) are observed almost exclusively in CSF samples from patients with OIND and ITM, which likely reflects the inflammatory characteristics of the diseases represented in these groups. Thus, the measurement of CSF IL-6 with a cut-off of 10 pg/ml yielded a sensitivity of 96% to differentiate patients with MS from those with OIND of the CNS. Notably, these results have direct clinical implications, because ITM and OIND are typical diagnoses that may mimic MS and could therefore be mistaken for MS according to clinical presentation or MRI-restricted assessment. In contrast, CSF samples from patients with ON, CIS, MS, and NIND were negative for IL-6 reactivity, with the exception of three RRMS CSF samples that exhibited low IL-6 levels. Regarding the clinical and radiological characteristics of these patients, no difference with the other samples of the group was found. A satisfactory explanation for this low CSF IL-6 positivity is thus not available. In addition, separated analysis in patients with distinct DD revealed comparable results between the subgroups.

No single CSF test has proven fully reliable for distinguishing MS from OIND. Only CSF parameters such as CSF OB and IgG index are currently used to assist with MS diagnosis, although CSF analysis is no longer required for a diagnosis of MS.[21] In a hypothetical MS diagnosis, elevated CSF IL-6 values (i.e. >10 pg/ml) would indicate the need to investigate other possible diagnoses, especially in the spectrum represented here by the OIND group. Alternatively, CSF IL-6 measurement might be particularly relevant in cases of suspected clinical MS that are negative for CSF OB. In this regard, when MS is suspected in a patient with negative OB, the demonstration of IL-6 reactivity would strongly suggest the presence of another CNS inflammatory disease. Thus, the addition of a CSF IL-6 measurement combined with the detection of OB would permit a rapid discriminatory diagnosis in the context of MS.

IL-6 is a pleiotropic cytokine that is present during inflammation.[68] Elevated IL-6 levels are observed in almost every infectious and/or inflammatory condition. IL-6 is detectable in the CSF during viral, bacterial, and fungal infections of the CNS in humans.[69] Elevated IL-6 levels are also detectable in various diseases in which autoimmunity may play a role, such as rheumatoid arthritis[70] and lupus erythematosus.[71] In agreement with the results of our study, and despite

the fact that MS is considered an autoimmune disease, little if any IL-6 has been detected in the CSF of MS patients.[69][72][73] To date, immunological markers of inflammation demonstrate little or no correlation with MS clinical disease progression, and there are few data on sufficiently long follow-up periods.[74] These results do not exclude the possibility that IL-6 is involved in MS pathogenesis. Indeed, IL-6 is produced locally in lesions and may not reach the CSF. The detection of IL-6 immunoreactivity in microglial cells and in reactive astrocytes in active MS plaques supports this hypothesis.[75] Surprisingly, IL-6 levels were elevated in the serum of MS patients, and were greater than levels in the CSF.[76] Nevertheless, our data suggest that IL-6 may not be primarily produced locally in the CSF of MS patients, or at least not released in the CSF compartment, in contrast to ITM or OIND.

In conclusion, we propose the measurement of CSF IL-6 as a relevant screen to discriminate MS patients from patients with OIND that may classically mimic MS. Although this test lacks specificity for any particular disease, the high IL-6 in the CSF renders the likelihood of MS less probable. In addition, this test could be easily performed on a routine basis in any center that is equipped to test CSF samples. Thus, we believe that this test should be considered as an added value to the CSF OB determination to help confirm or exclude MS.

3.6. Acknowledgments

We thank Catherine Juillard for expert technical assistance in performing blinded CSF IL-6 testing.

3.7. Study funding

This study was supported by the Swiss National Foundation (PHL, #310030_132705) and the Swiss Multiple Sclerosis Society (PHL and NM). NM is a recipient of the European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis (ECTRIMS) fellowship exchange program. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript. The corresponding author had full access to all data, and had final responsibility for the decision to submit for publication.

3.8. Author contributions

A.W. participated in study design and database management, the assignment of final clinical diagnoses, manuscript preparation, statistical analysis and table and figure preparation. V.K. participated in the assignment of final clinical diagnoses. N.M. participated in manuscript preparation. D.C. performed the statistical analysis. J.D.S. collected CSF from OIND patients, and participated in the assignment of final clinical diagnoses and manuscript preparation. M.-L.S.-R. participated in study design, manuscript preparation, and figure preparation. D.F.H. participated in study design, revision of the manuscript and provided logistical support. P.H.L. participated in study design, supervised database management, provided CSF samples, masked CSF sample information for blinded testing, and manuscript preparation.

3.9. Conflict of interest statement

A.W., V.K., N.M., D.S.C., J.D.S., M.-L.S.-R. and D.F.H. report no disclosure. P.H.L. received honoraria for speaking from Biogen-Idec, Merck Serono, Novartis, Sanofi-Aventis, Teva; consult-

ing fees from Biogen-Idec, Geneuro, Genzyme, Merck Serono, Novartis, Sanofi-Aventis, Teva;
research grants from Biogen-Idec, Merck Serono, Novartis.

3.10. Figures and tables

Description of the patients subgroups

Figure 1

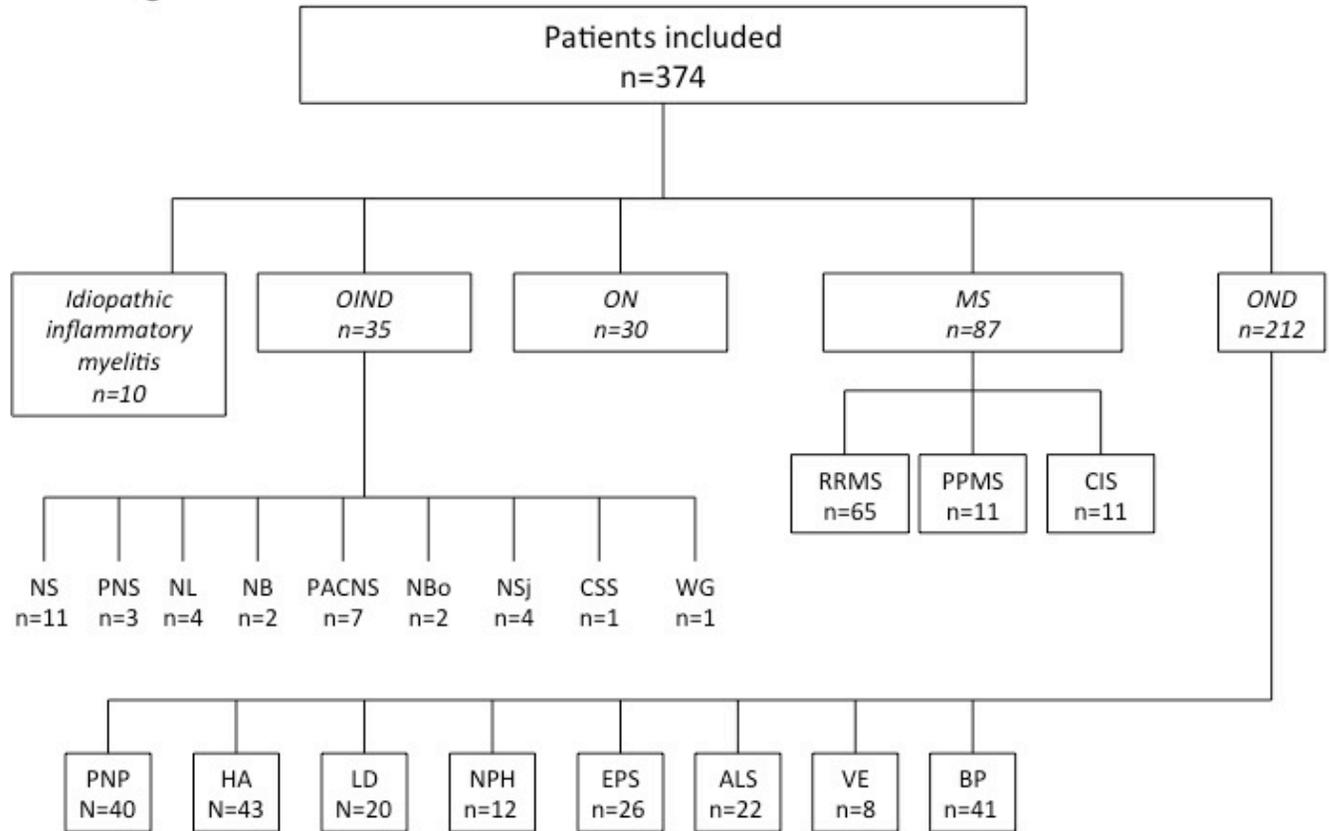


FIGURE 1: Description of the patient subgroups. ITM, idiopathic transverse myelitis; OIND, other inflammatory neurological diseases; NS, neurosarcoidosis; PNS, paraneoplastic syndrome; NL, neurolupus; NB, neuro-Behcet's disease; PACNS, primary angiitis of the central nervous system; NBo, neuroborreliosis; NSj, neuro-Sjögren's syndrome; CSS, Churg-Strauss syndrome; WG, Wegener granulomatosis; DD, demyelinating diseases; ON, optic neuritis; CIS, clinically isolated syndrome; RRMS, relapsing-remitting multiple sclerosis; PPMS, primary progressive multiple sclerosis; NIND, non-inflammatory neurological diseases; PNP, peripheral polyneuropathy; PH, primary headaches; LD, lumbar discopathy; NPH, normal pressure hydrocephalus; EPS, extrapyramidal syndromes; ALS, amyotrophic lateral sclerosis; VE, vascular encephalopathy; BP, Bell's palsy.

Figure 2

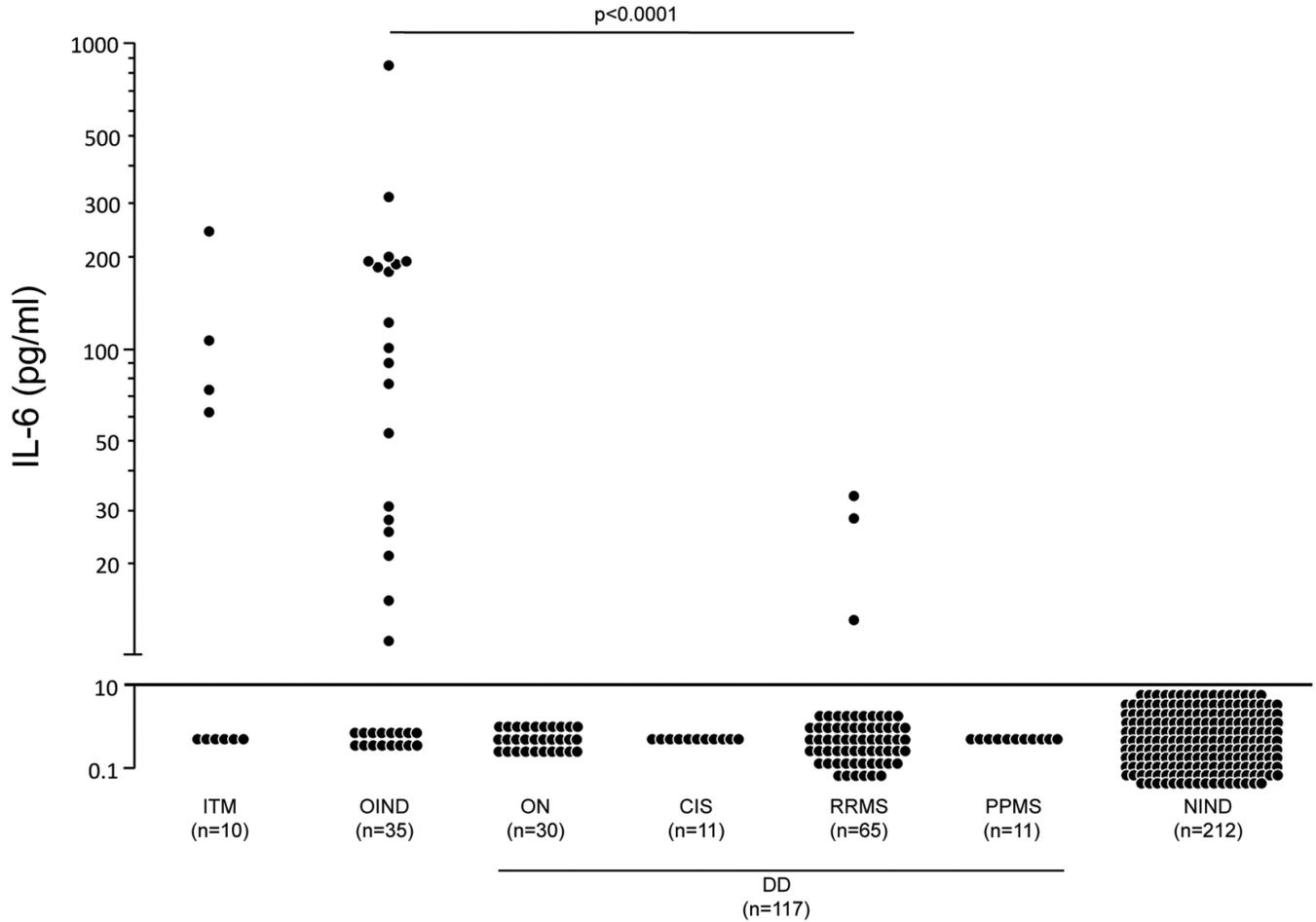


FIGURE 2: Distribution of CSF IL-6 levels in patient subgroups. The CSF IL-6 levels of all individual patients were measured using quantitative ELISA. Data are expressed as pg/ml and represented on a logarithmic scale. Only significant p-values are shown in the graph ($p < 0.001$; Kruskal–Wallis test). The horizontal line shows the estimated optimal cut-off values for CSF IL-6 levels (10 pg/ml). ITM, idiopathic transverse myelitis; OIND, other inflammatory neurological diseases; ON, optic neuritis; CIS, clinically isolated syndrome; RRMS, relapsing-remitting multiple sclerosis; PPMS, primary progressive multiple sclerosis; NIND, non-inflammatory neurological diseases; DD, demyelinating diseases.

Table 1. Clinical and biological characteristics of DD patients (n=117)

| | ON (n=30) | CIS (n=11) | RRMS (n=65) | PPMS (n=11) |
|---|--------------------|--------------------|--------------------|----------------------|
| Age (years), mean (\pm SD) | 33.1 (\pm 11.6) | 37.4 (\pm 14.2) | 34.7 (\pm 10.3) | 52.7 (\pm 12.6) |
| Female, n (%) | 6 (20) | 8 (73) | 40 (62) | 6 (55) |
| Disease duration (months), mean (\pm SD) | 2.9 (\pm 7.6) | 2.2 (\pm 2.2) | 29.8 (\pm 49.3) | 122.3 (\pm 150.8) |
| EDSS, mean (\pm SD) | N/A | 1.8 (\pm 0.8) | 2.7 (\pm 1.3) | 3.4 (\pm 1.5) |
| OB + (%) | 13 (43) | 9 (82) | 59 (91) | 10 (91) |
| CSF WBC>5 (%) | 12 (40%) | 5 (45%) | 38 (60%) | 2 (20%) |

DD, demyelinating diseases; ON, optic neuritis; CIS, clinically isolated syndrome; RRMS, relapsing remitting multiple sclerosis; PPMS, primary progressive multiple sclerosis; SD, standard deviation; EDSS, expanded disability status scale; OB, oligoclonal bands; CSF, cerebrospinal fluid; WBC, white blood cells.

Table 2. Radiological characteristics of DD group subjects (n=117)

| | ON (n=30) | CIS (n=11) | RRMS (n=65) | PPMS (n=11) |
|------------------------|-----------|------------|-------------|-------------|
| Brain MRI | n=18/30 | n=8/11 | n=55/65 | n=11/11 |
| T1-Gd+ lesions, n (%) | 5 (31) | 0 | 19 (34) | 0 |
| Only T2 lesions, n (%) | 6 (32) | 4 (50) | 36 (66) | 11 (100) |
| No lesions, n (%) | 7 (37) | 4 (50) | 0 | 0 |
| Spinal cord MRI | n=7/30 | n=7/11 | n=42/65 | n=11/11 |
| T1-Gd+ lesions, n (%) | 0 | 1 (14) | 20 (48) | 0 |
| Only T2 lesions, n (%) | 3 (43) | 3 (43) | 11 (26) | 9 (82) |
| No lesions, n (%) | 4 (57) | 3 (43) | 11 (26) | 2 (18) |

MRI, Magnetic Resonance Imaging; Gd, Gadolinium

4. Discussion contextuelle

Notre étude avait pour but de démontrer l'utilité diagnostique du dosage de l'IL-6 dans l'approche du diagnostic différentiel de la SEP. Si les critères diagnostiques nouvellement révisés ne laissent qu'une place secondaire à l'analyse du LCR, l'exclusion de diagnostics différentiels tient encore une place importante dans le processus diagnostique global. Les études réalisées jusqu'à présent sur l'utilité de ce test n'ont obtenu que des résultats difficilement généralisables en raison de leur faible puissance et de l'éventail réduit de pathologies incluses. L'étude ici présentée s'en différencie ainsi par le nombre élevé d'échantillons de LCR inclus et par la grande variété des diagnostics étudiés. Les analyses effectuées sur 374 échantillons de LCR ont permis de montrer que les taux d'IL-6 sont significativement plus élevés dans le groupe des maladies neurologiques inflammatoires autres que la SEP, ainsi que dans celui des myélites transverses idiopathiques. En effet, les taux observés dans le groupe des SEP n'ont dépassé que dans trois cas le niveau limite de 10pg/ml, déterminé au moyen de la courbe ROC comme offrant les sensibilité et spécificité optimales. Les taux des autres échantillons sont comparables aux taux observés dans le groupe contrôle des maladies neurologiques non inflammatoires. La détermination du seuil de positivité par une courbe ROC est un autre point sur lequel le travail de recherche présenté ici se différencie des études réalisées jusqu'à présent.

La mise en évidence d'une différence significative entre les taux d'IL-6 dans les maladies neurologiques inflammatoires et dans les SEP constitue un argument parlant en faveur de l'utilité diagnostique du dosage de l'IL-6. La sensibilité élevée (96%) du test avec une valeur-seuil de 10pg/ml offre, dans les cas où la présentation clinique et paraclinique rend le diagnostic incertain, un argument supplémentaire pour la poursuite des investigations et la considération de diagnostics alternatifs pouvant mimer la symptomatologie d'une SEP. Ainsi, le dosage d'IL-6 représente un outil supplémentaire à disposition du clinicien dans le bilan diagnostique neurologique, particulièrement en combinaison avec la détermination des bandes oligoclonales. Devant une symptomatologie clinique suggestive d'une SEP mais associé à des bandes oligoclonales négatives, un taux d'IL-6 supérieur à 10pg/ml indiquerait donc la faible probabilité d'un diagnostic de SEP.

Les trois échantillons du groupe des SEP appartiennent tous au sous-groupe des formes rémittentes. Nous avons analysé de plus près leurs caractéristiques cliniques, démographiques, paracliniques et radiologiques et n'avons trouvé aucun argument pouvant expliquer ces taux élevés. On notera cependant que les taux observés restent en-dessous des taux de la plupart des échantillons du groupe des maladies neurologiques inflammatoires. Aucune explication plausible à ces taux élevés n'est actuellement connue.

Les résultats de cette étude n'excluent cependant pas un rôle de l'IL-6 dans la pathogenèse de la SEP. L'hypothèse explicative de la faible positivité des échantillons analysés, et qui correspond aux résultats observés dans d'autres études, est que l'IL-6, produite localement au sein des lésions, ne passerait pas dans le LCR.

C'est à la suite de cette étude que le dosage d'IL-6 dans le LCR a été introduit comme test de routine aux HUG. Il est aujourd'hui utilisé régulièrement au sein du service de Neurologie et d'Immunologie.

Cette étude a également fait l'objet d'un poster présenté lors du congrès annuel de l'American Academy of Neurology à Honolulu en 2010.

5. Bibliographie

1. Charcot M. (1868) Histologie de la sclérose en plaques. *Gaz Hop (Paris)*; 41: 554–5, 557–8, 566.
2. Kantarci, O., & Wingerchuk, D. (2006). Epidemiology and natural history of multiple sclerosis: new insights. *Current opinion in neurology*, 19(3), 248–254.
3. Hogancamp, W. E., Rodriguez, M., & Weinshenker, B. G. (1997). The Epidemiology of Multiple Sclerosis. *Mayo Clinic Proceedings*, 72(9), 871–878.
4. Optic Neuritis Study Group. (2008). Multiple sclerosis risk after optic neuritis: final optic neuritis treatment trial follow-up. *Archives of neurology*, 65(6), 727–732.
5. Induruwa, I., Constantinescu, C. S., & Gran, B. (2012). Fatigue in multiple sclerosis — A brief review. *Journal of the Neurological Sciences*, 323(1–2), 9–15.
6. Bobholz, J., & Rao, S. (2003). Cognitive dysfunction in multiple sclerosis: a review of recent developments. *Current Opinion in Neurology* June 2003, 16(3), 283–288.
7. Feinstein, A. (2011). Multiple sclerosis and depression. *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)*, 17(11), 1276–1281.
8. Paparrigopoulos, T., Ferentinos, P., Kouzoupis, A., Koutsis, G., & Papadimitriou, G. N. (2010). The neuropsychiatry of multiple sclerosis: focus on disorders of mood, affect and behaviour. *International review of psychiatry (Abingdon, England)*, 22(1), 14–21.
9. Noseworthy, J. H., Lucchinetti, C., Rodriguez, M., & Weinshenker, B. G. (2000). Multiple Sclerosis. *New England Journal of Medicine*, 343(13), 938–952.
10. Virtanen, J. O., & Jacobson, S. (2012). Viruses and multiple sclerosis. *CNS & neurological disorders drug targets*, 11(5), 528–544.
11. Korn, T. (2008). Pathophysiology of multiple sclerosis. *Journal of neurology*, 255(6), 2–6.
12. Maddur, M. S., Miossec, P., Kaveri, S. V., & Bayry, J. (2012). Th17 cells: biology, pathogenesis of autoimmune and inflammatory diseases, and therapeutic strategies. *The American journal of pathology*, 181(1), 8–18.
13. Kurtzke, J. F. (1983). Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology*, 33(11), 1444–1452.
14. Weinshenker, B. G. (1995). The natural history of multiple sclerosis. *Neurologic clinics*, 13(1), 119–146.
15. Flachenecker, P., & Hartung, H. P. (1996). [Course of illness and prognosis of multiple sclerosis. 1: The natural illness course]. *Der Nervenarzt*, 67(6), 435–443.
16. Filippini, G., Brusaferri, F., Sibley, W. A., Citterio, A., Ciucci, G., Midgard, R., & Candelise, L. (2000). Corticosteroids or ACTH for acute exacerbations in multiple sclerosis. *The Cochrane database of systematic reviews*, (4), CD001331.
17. Yamout, B., Alroughani, R., Al-Jumah, M., Khoury, S., Abouzeid, N., Dahdaleh, M., ... Bohlega, S. (2013). Consensus guidelines for the diagnosis and treatment of multiple sclerosis. *Current Medical Research and Opinion*, 29(6), 611–621.
18. Hutchinson, M., Kappos, L., Calabresi, P. A., Confavreux, C., Giovannoni, G., Galetta, S. L., ... AFFIRM and SENTINEL Investigators. (2009). The efficacy of natalizumab in patients with

relapsing multiple sclerosis: subgroup analyses of AFFIRM and SENTINEL. *Journal of neurology*, 256(3), 405–415.

19. Schluemp, M., & Du Pasquier, R. (2012). Sclérose en plaques: au-delà des traitements de première ligne. *Neurologie*, 339(17), 946–949.

20. Pelletier, D., & Hafler, D. A. (2012). Fingolimod for Multiple Sclerosis. *New England Journal of Medicine*, 366(4), 339–347.

21. Polman, C. H., Reingold, S. C., Banwell, B., Clanet, M., Cohen, J. A., Filippi, M., ... Wolinsky, J. S. (2011). Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. *Annals of neurology*, 69(2), 292–302.

22. Cambier, J., Masson, M., & Dehen, H. (2000). *Neurologie. Abrégés*. Masson, Paris.

23. Link, H., & Huang, Y.-M. (2006). Oligoclonal bands in multiple sclerosis cerebrospinal fluid: An update on methodology and clinical usefulness. *Journal of Neuroimmunology*, 180(1–2), 17–28.

24. Awad, A., Hemmer, B., Hartung, H.-P., Kieseier, B., Bennett, J. L., & Stuve, O. (2010). Analyses of cerebrospinal fluid in the diagnosis and monitoring of multiple sclerosis. *Journal of Neuroimmunology*, 219(1–2), 1–7.

25. Fadil, H., Kelley, R. E., & Gonzalez-Toledo, E. (2007). Differential diagnosis of multiple sclerosis. *International review of neurobiology*, 79, 393–422.

26. O’Riordan, J. I., Thompson, A. J., Kingsley, D. P., MacManus, D. G., Kendall, B. E., Rudge, P., ... Miller, D. H. (1998). The prognostic value of brain MRI in clinically isolated syndromes of the CNS. A 10-year follow-up. *Brain: a journal of neurology*, 121 (Pt 3), 495–503.

27. Sahraian, M. A., Radue, E.-W., & Minagar, A. (2013). Neuromyelitis Optica: Clinical Manifestations and Neuroimaging Features. *Neurologic Clinics*, 31(1), 139–152.

28. Lennon, V. A., Wingerchuk, D. M., Kryzer, T. J., Pittock, S. J., Lucchinetti, C. F., Fujihara, K., ... Weinshenker, B. G. (2004). A serum autoantibody marker of neuromyelitis optica: distinction from multiple sclerosis. *The Lancet*, 364(9451), 2106–2112.

29. Sá, M. J. (2009). Acute transverse myelitis: A practical reappraisal. *Autoimmunity Reviews*, 9(2), 128–131.

30. Joseph, F. G., & Scolding, N. J. (2010). Neurolupus. *Practical Neurology*, 10(1), 4–15.

31. Ainala, H., Loukkola, J., Peltola, J., Korpela, M., & Hietaharju, A. (2001). The prevalence of neuropsychiatric syndromes in systemic lupus erythematosus. *Neurology*, 57(3), 496–500.

32. Hajj-Ali, R. A., & Calabrese, L. H. (2013). Primary angiitis of the central nervous system. *Autoimmunity Reviews*, 12(4), 463–466.

33. Chin, R., & Latov, N. (2005). Central nervous system manifestations of rheumatologic diseases. *Current Opinion in Rheumatology* January 2005, 17(1), 91–99.

34. Saruhan-Direskeneli, G., Yentür, S. P., Akman-Demir, G., Işık, N., & Serdaroğlu, P. (2003). Cytokines and chemokines in neuro-Behçet’s disease compared to multiple sclerosis and other neurological diseases. *Journal of Neuroimmunology*, 145(1–2), 127–134.

35. Noth, I., Streck, M. E., & Leff, A. R. (2003). Churg-Strauss syndrome. *The Lancet*, 361(9357), 587–594.

36. Blaes, F., & Tschernatsch, M. (2010). Paraneoplastic neurological disorders. Expert review of neurotherapeutics, 10(10), 1559–1568.

37. Halperin, J. J. (2012). Lyme disease: a multisystem infection that affects the nervous system. *Continuum (Minneapolis, Minn.)*, 18(6 Infectious Disease), 1338–1350.
38. Nozaki, K., & Judson, M. A. (2012). Neurosarcoidosis: Clinical manifestations, diagnosis and treatment. *La Presse Médicale*, 41(6), e331–e348.
39. Iizuka, T., & Sakai, F. (2002). [Neurosarcoidosis]. *Nihon rinsho. Japanese journal of clinical medicine*, 60(9), 1785–1793.
40. Giovannoni, G. (2006). Multiple sclerosis cerebrospinal fluid biomarkers. *Disease Markers*, 22(4), 187–196.
41. Teunissen, C. E., & Khalil, M. (2012). Neurofilaments as biomarkers in multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis Journal*, 18(5), 552–556.
42. Spooren, A., Kolmus, K., Laureys, G., Clinckers, R., De Keyser, J., Haegeman, G., & Gerlo, S. (2011). Interleukin-6, a mental cytokine. *Brain Research Reviews*, 67(1–2), 157–183.
43. Gadiant, R. A., & Otten, U. H. (1997). Interleukin-6 (IL-6)--a molecule with both beneficial and destructive potentials. *Progress in neurobiology*, 52(5), 379–390.
44. Vladić, A., Horvat, G., Vukadin, S., Sučić, Z., & Šimaga, Š. (2002). CEREBROSPINAL FLUID AND SERUM PROTEIN LEVELS OF TUMOUR NECROSIS FACTOR-ALPHA (TNF- α), INTERLEUKIN-6 (IL-6) AND SOLUBLE INTERLEUKIN-6 RECEPTOR (sIL-6R gp80) IN MULTIPLE SCLEROSIS PATIENTS. *Cytokine*, 20(2), 86–89.
45. Malmeström, C., Andersson, B. A., Haghighi, S., & Lycke, J. (2006). IL-6 and CCL2 levels in CSF are associated with the clinical course of MS: implications for their possible immunopathogenic roles. *Journal of neuroimmunology*, 175(1-2), 176–182.
46. Stelmasiak, Z., Koziol-Montewka, M., Dobosz, B., & Rejdak, K. (2001). IL-6 and sIL-6R concentration in the cerebrospinal fluid and serum of MS patients. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*, 7(5), 914–918.
47. Okuda, Y., Sakoda, S., Bernard, C. C., Fujimura, H., Saeki, Y., Kishimoto, T., & Yanagihara, T. (1998). IL-6-deficient mice are resistant to the induction of experimental autoimmune encephalomyelitis provoked by myelin oligodendrocyte glycoprotein. *International immunology*, 10(5), 703–708.
48. Okuda, Y., Sakoda, S., Saeki, Y., Kishimoto, T., & Yanagihara, T. (2000). Enhancement of Th2 response in IL-6-deficient mice immunized with myelin oligodendrocyte glycoprotein. *Journal of neuroimmunology*, 105(2), 120–123.
49. Bettelli, E., Carrier, Y., Gao, W., Korn, T., Strom, T. B., Oukka, M., Kuchroo, V. K. (2006). Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature*, 441(7090), 235–238.
50. McGeachy, M. J., & Cua, D. J. (2008). Th17 Cell Differentiation: The Long and Winding Road. *Immunity*, 28(4), 445–453.
51. Ogura, H., Murakami, M., Okuyama, Y., Tsuruoka, M., Kitabayashi, C., Kanamoto, M., ... Hirano, T. (2008). Interleukin-17 promotes autoimmunity by triggering a positive-feedback loop via interleukin-6 induction. *Immunity*, 29(4), 628–636.
52. Dasgupta, S., Jana, M., Liu, X., & Pahan, K. (2003). Role of very-late antigen-4 (VLA-4) in myelin basic protein-primed T cell contact-induced expression of proinflammatory cytokines in microglial cells. *Journal of Biological Chemistry*, 278(25), 22424–22431.

53. Behrens, M. M., Ali, S. S., & Dugan, L. L. (2008). Interleukin-6 mediates the increase in NADPH-oxidase in the ketamine model of schizophrenia. *The Journal of Neuroscience*, 28(51), 13957–13966.
54. Keegan BM, Noseworthy JH (2002) Multiple sclerosis. *Annu Rev Med* 53: 285-302.
55. Compston A, Coles A (2002) Multiple sclerosis. *Lancet* 359: 1221-1231.
56. Bielekova B, Martin R (2004) Development of biomarkers in multiple sclerosis. *Brain* 127: 1463-1478.
57. Yuan X, Desiderio DM (2005) Proteomics analysis of human cerebrospinal fluid. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 815: 179-189.
58. Romeo MJ, Espina V, Lowenthal M, Espina BH, Petricoin EF, 3rd, et al. (2005) CSF proteome: a protein repository for potential biomarker identification. *Expert Rev Proteomics* 2: 57-70.
59. Blennow K, Hampel H (2003) CSF markers for incipient Alzheimer's disease. *Lancet Neurol* 2: 605-613.
60. Pilcher H (2005) Protein culprit found for transverse myelitis? *Lancet Neurol* 4: 702.
61. Kaplin AI, Deshpande DM, Scott E, Krishnan C, Carmen JS, et al. (2005) IL-6 induces regionally selective spinal cord injury in patients with the neuroinflammatory disorder transverse myelitis. *J Clin Invest* 115: 2731-2741.
62. Ishizu T, Minohara M, Ichiyama T, Kira R, Tanaka M, et al. (2006) CSF cytokine and chemokine profiles in acute disseminated encephalomyelitis. *J Neuroimmunol* 175: 52-58.
63. Uzawa A, Mori M, Ito M, Uchida T, Hayakawa S, et al. (2009) Markedly increased CSF interleukin-6 levels in neuromyelitis optica, but not in multiple sclerosis. *J Neurol* 256: 2082-2084.
64. Polman CH, Reingold SC, Edan G, Filippi M, Hartung HP, et al. (2005) Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the McDonald Criteria. *Ann Neurol* 58: 840-846.
65. Krishnan C, Kaplin AI, Deshpande DM, Pardo CA, Kerr DA (2004) Transverse Myelitis: pathogenesis, diagnosis and treatment. *Front Biosci* 9: 1483-1499.
66. Freedman MS, Thompson EJ, Deisenhammer F, Giovannoni G, Grimsley G, et al. (2005) Recommended standard of cerebrospinal fluid analysis in the diagnosis of multiple sclerosis: a consensus statement. *Arch Neurol* 62: 865-870.
67. Srivastava R, Aslam M, Kalluri SR, Schirmer L, Buck D, et al. (2012) Potassium channel KIR4.1 as an immune target in multiple sclerosis. *N Engl J Med* 367: 115-123.
68. Akira S, Taga T, Kishimoto T (1993) Interleukin-6 in biology and medicine. *Adv Immunol* 54: 1-78.
69. Houssiau FA, Bukasa K, Sindic CJ, Van Damme J, Van Snick J (1988) Elevated levels of the 26K human hybridoma growth factor (interleukin 6) in cerebrospinal fluid of patients with acute infection of the central nervous system. *Clin Exp Immunol* 71: 320-323.
70. Houssiau FA, Devogelaer JP, Van Damme J, de Deuxchaisnes CN, Van Snick J (1988) Interleukin-6 in synovial fluid and serum of patients with rheumatoid arthritis and other inflammatory arthritides. *Arthritis Rheum* 31: 784-788.
71. Swaak AJ, van Rooyen A, Aarden LA (1989) Interleukin-6 (IL-6) and acute phase proteins in the disease course of patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatol Int* 8: 263-268.

72. Hauser SL, Doolittle TH, Lincoln R, Brown RH, Dinarello CA (1990) Cytokine accumulations in CSF of multiple sclerosis patients: frequent detection of interleukin-1 and tumor necrosis factor but not interleukin-6. *Neurology* 40: 1735-1739.
73. Maimone D, Gregory S, Arnason BG, Reder AT (1991) Cytokine levels in the cerebrospinal fluid and serum of patients with multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 32: 67-74.
74. Harris VK, Sadiq SA (2009) Disease biomarkers in multiple sclerosis: potential for use in therapeutic decision making. *Mol Diagn Ther* 13: 225-244.
75. Maimone D, Guazzi GC, Annunziata P (1997) IL-6 detection in multiple sclerosis brain. *J Neurol Sci* 146: 59-65.
76. Frei K, Fredrikson S, Fontana A, Link H (1991) Interleukin-6 is elevated in plasma in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 31: 147-153.

6. Remerciements

Je tiens à remercier particulièrement mon directeur de thèse, le Dr. Patrice Lalive d'Epinau, qui a été le premier à me donner le goût de la recherche et m'a permis de réaliser ce projet. Je tiens également à remercier le Prof. Pierre Pollak d'avoir soutenu ce travail et de m'avoir permis de travailler au sein de son service.

Je remercie également Catherine Juillard-Mochon ainsi que Delphine Courvoisier pour leur contribution précieuse à ce travail de recherche, ainsi que toutes les personnes qui ont participé à ce travail de recherche.

Je remercie enfin mon épouse et mes parents, pour leur soutien et leur présence tout au long de ces années.