



Universidad de Valladolid



PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA VISIÓN

TESIS DOCTORAL

**BÚSQUEDA DE BIOMARCADORES DE ACTIVIDAD INFLAMATORIA EN UVEÍTIS
COMO POSIBLE DIANA TERAPÉUTICA**

Presentada por Luis García Onrubia
para optar al grado de Doctor por la Universidad de Valladolid

Dirigida por:
Dra. Lidia Cocho Archiles
Año 2025

**ESTE TRABAJO HA SIDO REALIZADO CON EL APOYO ECONÓMICO DE LAS
SIGUIENTES INSTITUCIONES**

- Gerencia Regional de Salud de Castilla y León, España. Expediente: GRS
 - 1529/A/17: “Niveles de citocinas/quimiocinas en lágrima como biomarcadores de actividad, etiología y localización anatómica de las uveítis”. Investigador principal: Lidia Cocho Archiles.

- Gerencia Regional de Salud de Castilla y León, España. Expediente: GRS
 - 1753/A/18: “Expresión génica de citocinas y quimiocinas en epitelio conjuntival y suero de pacientes con uveítis como biomarcadores de actividad, etiología y localización anatómica de las uveítis”. Investigador principal: Lidia Cocho Archiles.

ESTE TRABAJO HA DADO LUGAR A LAS SIGUIENTES PUBLICACIONES Y

COMUNICACIONES EN CONGRESOS

PUBLICACIÓN INTERNACIONAL

- **García-Onrubia L**, Mateos Olivares M, García-Vázquez C, Enríquez-de-Salamanca A, Cocho L, Herreras Cantalapiedra JM. Tear and Plasma Levels of Cytokines in Patients with Uveitis: Search for Active Disease Biomarkers. Journal of Clinical Medicine 2022, Vol 11, Page 7034 2022;11:7034. <https://doi.org/10.3390/JCM11237034>.

COMUNICACIONES EN CONGRESOS

- Comunicación oral: *“Correlation between cytokine and chemokine levels in tear and plasma in the follow-up of uveitis patients”* ARVO 2022 Annual Meeting. 1-4 mayo 2022.
- Comunicación oral: *“Cambios en la superficie ocular en las uveítis, utilidad de técnicas no invasivas en la enfermedad.”* VII Jornada de Investigadores predoctorales de la UVA en ciencias de la visión. Junio 2023.

CURRÍCULUM VITAE

Formación académica

- 2009-2015** → Licenciado en Medicina y Cirugía por la Universidad de Valladolid.
- 2017-2018** → Máster en Razonamiento y Práctica clínica. Universidad de Alcalá.
→ Máster en Ciencias de la Visión. Universidad de Valladolid.
- 2017-2021** → Médico Interno Residente (MIR) en Oftalmología en el Hospital Clínico Universitario de Valladolid.
- 2023-2024** → “*Clinical Methodology in Refractive Cataract and Corneal Surgery*”. Universidad Miguel Hernandez. Alicante.

Programa Fellowship

- 2021-2022** → “*Cornea & Cataract Senior Clinical Fellow*” en “*St Guy’s and St Thomas’ Hospital*”. Londres. Reino Unido.
- 2022-2023** → “*Cornea & Cataract Senior Clinical Fellow*” en “*Moorfield’s Eye Hospital*”. Londres. Reino Unido.

Publicaciones científicas internacionales

- **García-Onrubia L**, Stanojic N, Bhogal M. Descemet Membrane Endothelial Patching: Selective Endothelial Replacement in Eyes With Localized Endothelial Dysfunction. *Cornea*. 2023;42:651-5. <https://doi.org/10.1097/ICO.0000000000003243>.
- Naderi K, Lam CFJ, Low S, Bhogal M, Jameel A, Theodoraki K, et al. Time and Motion Studies to assess surgical productivity in cataract theatre lists within the National Health Service: Immediate Sequential Bilateral Cataract Surgery versus Delayed Sequential Bilateral Cataract Surgery. *Eye* 2023 37:18 2023;37:3751–6. <https://doi.org/10.1038/s41433-023-02593-x>.
- **García-Onrubia L**, Mateos Olivares M, García-Vázquez C, Enríquez-de-Salamanca A, Cocho L, Herreras Cantalapiedra JM. Tear and Plasma Levels of Cytokines in Patients with Uveitis: Search for Active Disease Biomarkers. *Journal of Clinical Medicine* 2022, Vol 11, Page 7034 2022;11:7034. <https://doi.org/10.3390/JCM11237034>.
- **García-Onrubia L**, Stanojic N, Bhogal M. Use of a Single Radial Incision to Improve Curvature Matching and Graft Adhesion in Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty in a Patient With Keratoconus. *Cornea* 2022;41:921–6. <https://doi.org/10.1097/ICO.0000000000002991>.
- Theodoraki K, Naderi K, Lam CFJ, Tan JK, Jameel A, Lai L, **García O** et al. Impact of cessation of regular cataract surgery during the COVID pandemic on the rates of posterior capsular rupture and post-operative cystoid macular oedema. *Eye* 2022 37:3 2022;37:440–5. <https://doi.org/10.1038/s41433-022-01958-y>.
- Mateos-Olivares, M.; **García-Onrubia, L**.; Valentín-Bravo, F.J.; González-Sarmiento, R.; Lopez-Galvez, M.; Pastor, J.C.; Usategui-Martín, R.; Pastor-Idoate, S. Rho-Kinase Inhibitors for the Treatment of Refractory Diabetic Macular Oedema. *Cells* 2021; 10. <https://doi.org/10.3390/cells10071683>
- Valentín-Bravo FJ, **García-Onrubia L**, Andrés-Iglesias C, Valentín-Bravo E, Martín-Vallejo J, Pastor JC, et al. Complications associated with the use of silicone oil in

vitreoretinal surgery: A systemic review and meta-analysis. *Acta Ophthalmol.* 2022;100:e864–80. <https://doi.org/10.1111/AOS.15055>.

- Pastor-Idoate S, Fusté CGA, **García-Onrubia L**, Copete S, García-Arumí J. Surgical options for optic disc pit maculopathy: Perspectives and controversies. *Clinical Ophthalmology* 2020;14:1601–8. <https://doi.org/10.2147/OPHTH.S250921>.
- Valentín-Bravo FJ, **García-Onrubia L**, Martín-Asenjo M, Galván-Fernández J, Pastor-Idoate S, Javier F, et al. Carotid dissection and central serous chorioretinopathy related to sarcoidosis-antiphospholipid syndrome: a case report. *Rom J Ophthalmol* 2022;66:193. <https://doi.org/10.22336/RJO.2022.38>.
- **García-Onrubia L**, Valentín-Bravo FJ, Coco-Martín RM, González-Sarmiento R, Pastor JC, Usategui-Martín R, et al. Matrix Metalloproteinases in Age-Related Macular Degeneration (AMD). *International Journal of Molecular Sciences* 2020, Vol 21, Page 5934 2020;21:5934. <https://doi.org/10.3390/IJMS21165934>.
- **García Onrubia L**, Pacheco-Callirgos GE, Portero-Benito A, García-Álvarez C, Carreño Salas E, Muñoz-Moreno MF, et al. Spectrum of conjunctival tumours in a Spanish series: A review of 462 cases. *Eur J Ophthalmol* 2019;112067211987073. <https://doi.org/10.1177/1120672119870736>.

AGRADECIMIENTOS

Al llegar al final de esta tesis, me gustaría expresar mi profunda gratitud hacia todas las personas que me han ayudado a recorrer este camino. Este logro no habría sido posible sin todos vosotros.

En primer lugar, quiero agradecer a la Dra. Lidia Cocho Archiles, mi directora, y al Dr. José María Herreras Cantalapiedra, mi tutor de tesis, su paciencia y sabiduría en este arduo camino. Gracias por orientarme y ayudarme a encontrar el camino; así como, por brindarme vuestro tiempo, guiándome con tanta dedicación.

A mi familia, especialmente a mi padre, mi madre y mi hermano Jorge, quienes siempre habeis sido un pilar fundamental en mi vida. Vuestro apoyo incondicional ha sido clave en todas mis aventuras, y como no en este nuevo proyecto, que no podría haber llegado a buen fin, sin vuestro amor y comprensión. Gracias por estar siempre a mi lado.

Gracias a mi pareja, Claudia, por apoyarme y empujarme día a día, por calmarme en los momentos de crisis. Es un placer poder disfrutar y aprender a tu lado, descubriendo que los límites existen para poder superarlos. Gracias

por traer el orden al caos, por tu capacidad para adaptarte y tu inagotable fuente de energía y motivación. Gracias por estar siempre ahí, por tu paciencia y por impulsarme a seguir adelante. Por seguir construyendo a tu lado.

También quiero agradecer a mis compañeros del Hospital Clínico de Valladolid donde “viví” durante 4 años maravillosos momentos. A todo el personal del Hospital Clínico Universitario de Valladolid (Yolanda, Rosa, Armando, Teresa...) y del IOBA, gracias por vuestra ayuda. Especial mención a mis compañeros de residencia tanto pequeños como mayores, sin vosotros no podría haber sido posible. Gracias Mila por ayudarme a finalizar todos los “deberes”, a Javi por aguantar nuestros momentos duros, a Marta por enseñarme desde 0 (desde la PIO), a Nuria por todas las guardias y horas que hicimos.

No puedo dejar de agradecer el excelente trabajo del equipo de adjuntos, quienes nos acogieron desde el primer día y nos impulsaron a aprender y evolucionar. En especial, quiero dar las gracias al Dr. David Galarreta, por su apoyo constante, por despertar en mí el interés en la córnea y por compartir mis inquietudes científicas. A la Dra. M^a Antonia Saornil y al Dr. Ciro García,

por haberme guiado desde el comienzo con paciencia y dedicación. Al Dr. Pastor-Idoate, por mostrarme que el campo de la oftalmología va mucho más allá de la córnea. A la Dra. Belén Carrasco, al Dr. Ramón Juberías, a la Dra. Ana Vallelado, a la Dra. Gloria Gonzalez y a la Dra. Maribel López, gracias a todos por vuestro apoyo durante este recorrido.

No puedo olvidarme de usted, Prof. Pastor Jimeno, gracias por tu constante capacidad de enseñanza y motivación, así como tu apoyo a lo largo de estos años. Sin lugar a dudas tus lecciones han sido fundamentales en mi formación y crecimiento personal.

Durante mi estancia en Londres, tuve la suerte de encontrar el apoyo de grandes profesionales. En el *St Guy's and St Thomas' Hospital* trabajé junto al Prof. O'Brart, Mr. Robbie, o Mr. Bhogal, cuyo conocimiento y disposición fueron indispensables para mi desarrollo profesional. Un agradecimiento especial a Mr. Bhogal por tu paciencia, tu capacidad de transmitir tus conocimientos y de buscar nuevos límites. También quiero agradecer a mis mentoras del *Moorfield's Eye Hospital* en especial a Miss Ficker y Miss Koay, por vuestra ayuda y enseñanzas durante mi formación.

Por último, no puedo dejar de expresar mi agradecimiento a todos mis compañeros del Hospital Fundación Jiménez Díaz, con quienes actualmente comparto mi actividad profesional. En especial, al Prof. Jiménez Alfaro, al Dr. Alejandro, a la Dra. García Sandoval, a la Dra. Artaechevarria, al Dr. San Román y a Gonzalo por vuestro apoyo en todo momento tanto a nivel profesional como personal.

Gracias a todos los pacientes que se prestaron de forma altruista a colaborar en este proyecto. Gracias por vuestra solidaridad y generosidad.

En definitiva, gracias a todos, muchas gracias por haber formado parte de este camino.

ÍNDICE

1. ABREVIATURAS	1
2. RESUMEN DEL PROYECTO.....	7
3. INTRODUCCIÓN.....	11
3.1. JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	13
3.1.1. Justificación	15
3.1.2. Hipótesis.....	19
3.1.3. Objetivos	23
3.2. ESTADO ACTUAL DEL TEMA	27
3.2.1 Uveítis	29
3.2.1.1. Definición	29
3.2.1.2. Epidemiología.....	31
3.2.1.3. Clasificación.....	31
3.2.1.4. Diagnóstico.....	36
3.2.1.5. Tratamiento	42
3.2.2. Biomarcador	49
3.2.3. Citocinas	52
3.2.3.1. Concepto	52
3.2.3.2. Clasificación.....	53
3.2.4. Quimiocinas	56
3.2.4.1. Concepto	56
3.2.4.2. Clasificación.....	57
3.2.5. Papel de las citocinas y quimiocinas en las uveítis	58
3.2.6. Película lagrimal	61
3.2.7. Mucosa conjuntival	65
4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	71
5. RESULTADOS	85
6. DISCUSIÓN	111
7. LIMITACIONES	141
8. CONCLUSIONES	147
9. BIBLIOGRAFÍA	151

1. ABREVIATURAS

ADN	Ácido Desoxirribonucleico
ADNc	Ácido Desoxirribonucleico complementario
AIJ	Artritis Idiopática Juvenil
ANA	Anticuerpos Anti-Nucleares
ANCA	Anticuerpos Anti-Citoplasma de Neutrófilo
APC	Células Presentadoras de Antígeno
AR	Artritis Reumatoide
ARN	Ácido Ribonucleico
ARNm	Ácido Ribonucleico mensajero
AVMC	Agudeza Visual Mejor Corregida
CALT	<i>Conjunctiva-Associated Lymphoid Tissue</i>
CCL	Quimiocina CC Ligando
CCL2	Quimioquina (motivo C-C) Ligando 2
CCL3	Quimioquina (motivo C-C) Ligando 3
CCL4	Quimioquina (motivo C-C) Ligando 4
CCL5	Quimioquina (motivo C-C) Ligando 5
CCR4	Receptor de Quimiocina CC Tipo 4
CCR5	Receptor de Quimiocina CC Tipo 5
CD14	Diferenciación de Conglomerados 14
CIC	Citología de Impresión Conjuntival
CSF2	Factor Estimulante de Colonias 2
CTLA-4	Receptor del Antígeno 4 de Linfocitos T Citolíticos Humanos
CX3CL	Quimiocina CX3C Ligando
CX3CL1/Fractalquina	Quimioquina (motivo C-X3-C) Ligando 1
CXCL	Quimiocina CXC Ligando
CX3CR1	Receptor 1 de la Quimiocina CX3C
DGM	Distrofia de Glándulas de Meibomio
DE	Desviación Estandar
EA	Espondilitis Anquilosante
EB	Enfermad de Behçet
ECA	Enzima Convertidora de Angiotensina
EGF	Factor de Crecimiento Epidérmico
EICH	Enfermedad de Injerto Contra Huesped
ELISA	Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzima
Fc	Fragmento cristalizante
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FOXP3	Caja de unión de genes <i>Forkhead P3</i>
FR	Factor Reumatoide
GATA3	Proteína de unión a GATA 3
HA	Humor Acuoso
HCUV	Hospital Clínico Universitario de Valladolid
HEEP	<i>Human Eye Proteome Project</i>
HEVs	<i>High Endothelial Venules</i>
HLA	Antígeno Leucocitario Humano
HV	Humor Vítreo
ICAM1	Molécula de Adhesión Intercelular 1
IFN-α1	Interferón <i>alfa</i> 1
IFN-γ	Interferón <i>gamma</i>

IL-1	Interleucina 1
IL-1α	Interleucina 1 <i>alpha</i>
IL-1β	Interleucina 1 <i>beta</i>
IL-1RA	Receptor de Interleucina 1A
IL-2	Interleucina 2
IL-2Rα	Receptor de Interleucina 2 <i>alpha</i>
IL-4	Interleucina 4
IL-5	Interleucina 5
IL-6	Interleucina 6
IL-6R	Receptor de Interleucina 6
IL-8/CXCL8	Interleucina 8
IL-9	Interleucina 9
IL-10	Interleucina 10
IL-10Rβ	Subunidad <i>beta</i> del Receptor de IL-10
IL-11	Interleucina 11
IL-12	Interleucina 12
IL-12A	Subunidad p35 de la citocina IL-12
IL-12B	Subunidad p40 de la citocina IL-12
IL-13	Interleucina 13
IL-15	Interleucina 15
IL-15Rα	Receptor <i>alfa</i> de la IL-15
IL-17	Interleucina 17
IL-17A	Interleucina 17A
IL-18	Interleucina 18
IL-21	Interleucina 21
IL-22	Interleucina 22
IL-23	Interleucina 23
IL-23A	Subunidad p19 de la citocina IL-23
IOBA	Instituto Universitario de Oftalmobiología Aplicada
IP-10/CXCL10	Quimiocina Inducida por Interferón <i>gamma</i> 10
IRF1	Factor Regulador de Interferón 1
IUSG	<i>International Uveitis Study Group</i>
LES	Lupus Eritematoso Sistémico
MALT	<i>Mucosa-Associated Lymphoid Tissue</i>
MCP-1	Proteína Quimioatrayente de Monocitos 1
MEF2A, MEF2B y MEF2D	Factores de Mejoramiento Miógeno
MHC	Complejo Mayor de Histocompatibilidad
MMP2	Metaloproteinasa de Matriz 2
MMP9	Metaloproteinasa de Matriz 9
MUST	<i>Multicenter Uveitis Steroid Treatment</i>
MYOC	Miosina de cadena pesada de tipo cardíaco
NAMPT	Nicotinamida Fosforibosiltransferasa
NOD2	Dominio de Oligomerización de Unión a Nucleótidos 2
NRC	<i>National Research Council</i>
OCT	Tomografía de Coherencia Óptica
OCT-A	Angiografía por Tomografía de Coherencia Óptica

ABREVIATURAS

PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PL	Película Lagrimal
RM	Resonancia Magnética
rPCRq	Reacción en Cadena de la Polimerasa en tiempo real cuántica
RORC	Componente Relacionado con el Receptor Huérfano Nuclear C
ROS	Especies Reactivas de Oxígeno
S100A8	Proteína S100 calcio unida A8
S100A9	Proteína S100 calcio unida A9
SAA1	Amiloide Sérico A1
SP	Proteína Surfactante
SUN	<i>Standardization of Uveitis Nomenclature</i>
TC	Tomografía Computerizada
TGF-β	Factor de Crecimiento Transformante <i>beta</i>
TGF-β1	Factor de Crecimiento Transformante <i>beta</i> 1
TGF-β2	Factor de Crecimiento Transformante <i>beta</i> 2
TGF-β3	Factor de Crecimiento Transformante <i>beta</i> 3
TGF-βR1	Receptor tipo 1 de TGF- β
TGF-βR2	Receptor tipo 2 de TGF- β
TLR4	Receptor tipo Toll 4
TNF-α	Factor de Necrosis Tumoral <i>alpha</i>
TNF-β	Factor de Necrosis Tumoral <i>beta</i>
TTR	Transtiretina
TYK2	Tirosina Quinasa 2
UAE	Uveítis Anterior Experimental
UFL	Unidad Funcional Lagrimal
UIE	Uveítis Inducida por Endotoxinas
VEGF	Factor de Crecimiento Vascular Endotelial
VEGFA	Factor de Crecimiento Vascular Endotelial A
VHB	Virus de la Hepatitis B
VHC	Virus de la Hepatitis C
VIH	Virus de la Inmunodeficiencia Humana
VSG	Velocidad de Sedimentación Glomerular
XCL	Quimiocina XC Ligando

2. RESUMEN DEL PROYECTO

RESUMEN DEL PROYECTO

OBJETIVOS: En esta tesis doctoral se analizó la concentración de citocinas y quimiocinas en lágrima, y se estudió su perfil de expresión génica en el epitelio conjuntival, con el fin de establecer la existencia de biomarcadores en pacientes con uveítis anterior, y así poder plantear una terapia personalizada de alta precisión.

METODOLOGÍA: Se realizaron dos estudios analíticos observacionales y prospectivos de casos apareados. En ambos estudios se reclutaron pacientes con uveítis anterior en fase activa que atendieron la unidad de inmunología ocular del Hospital Clínico Universitario de Valladolid (HCUV) o el Instituto Universitario de Oftalmobiología Aplicada (IOBA), momento en el que se realizó la evaluación inicial y toma de la muestra correspondiente.

En un primer estudio, 22 pacientes fueron evaluados clínicamente en la fase activa y posteriormente tras el cese de su actividad; recogiendo en ambas fases muestras de la película lacrimal (PL) y plasma. La concentración de doce citocinas y quimiocinas fueron analizadas en muestras de PL y plasma en los pacientes en fase activa, y posteriormente, tras el cese de la inflamación. Los niveles de estas moléculas en PL y plasma se compararon y asociaron con la fase de la enfermedad.

En un segundo estudio, 17 pacientes fueron evaluados clínicamente en la fase activa y posteriormente, tras el cese de su actividad; recogiendo en ambas fases muestras de células del epitelio conjuntival utilizando citología de impresión conjuntival (CIC) y se aisló ácido ribonucleico mensajero (ARNm) de 40 genes humanos involucrados con la inflamación ocular. Los niveles de transcripción de estos genes se compararon y asociaron con la fase de la enfermedad.

RESULTADOS: En el primer estudio, en el que se evaluó el perfil de citocinas en la PL y el plasma de pacientes, se incluyeron 18 pacientes (55,6% mujeres) con una edad media de 52,5 años. El porcentaje de detección de la interleucina 6 (IL-6) mostró diferencias significativas entre las fases activa e inactiva en la PL (60,9% activa vs 30,4% inactiva). Sin embargo, no hubo diferencias en la concentración de factor de crecimiento epidérmico (EGF), fractalquina, interleucina 2 (IL-2), antagonista del receptor de interleucina (IL-1RA), interleucina 1 *beta* (IL-1 β), interleucina 17A (IL-17A), interleucina 23 (IL-23), interleucina 8 (IL-8), proteína inducible por interferón (IP)-10/CXCL10, factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y factor de necrosis tumoral *alpha* (TNF- α) entre fases en la PL o plasma. Las concentraciones de citocinas en la PL fueron significativamente diferentes de las de plasma en ambas fases, excepto el VEGF que no mostró diferencias. No se encontró correlación significativa entre las concentraciones en PL y plasma ni en la fase activa, ni inactiva de la enfermedad.

En el segundo estudio sobre la expresión génica de citocinas y quimiocinas en la superficie conjuntival, se incluyeron 17 pacientes (70,6% mujeres) con una edad media de 59,9 años. Dieciséis de las 40 moléculas evaluadas se detectaron en más del 60% de las muestras en la fase activa y/o inactiva, con diferencias significativas en el porcentaje de detección de fractalquina, receptor de interleucina 6 (IL-6R), proteína que contiene el dominio de oligomerización de unión a nucleótidos 2 (NOD2), factor de crecimiento transformante *beta* 1 (TGF- β 1), receptor tipo Toll 4 (TLR4) y TNF- α entre fases activa e inactiva. En pacientes HLA-B27 negativos, se detectaron diferencias significativas en la expresión

génica de quimioquina (motivo C-C) ligando 5 (CCL5), fractalquina, TGF- β 1 y VEGF, siendo menor en la fase inactiva, mientras que en HLA-B27 positivos, solo la proteína S100 calcio unida A9 (S100A9) mostró una expresión significativamente menor en la fase inactiva. No hubo diferencias significativas en la expresión génica entre los grupos HLA-B27 negativo y positivo durante la fase activa, aunque el componente relacionado con el receptor huérfano nuclear C (RORC) y el factor de crecimiento endotelial vascular A (VEGFA) presentaron mayor expresión en HLA-B27 positivos durante la fase inactiva.

CONCLUSIONES: No hemos encontrado diferencias en la concentración de citocinas en PL según la actividad de las uveítis, aunque la IL-6 mostró un mayor porcentaje de detección durante la fase activa, sugiriendo su potencial uso como biomarcador de actividad. Los datos obtenidos sugieren una producción local de citocinas. Por otro lado, detectamos un aumento de la detección de expresión en la superficie conjuntival de determinadas citocinas como fractalquina, IL-6R, NOD2, TGF- β 1, TLR4 y TNF- α en la fase activa, indicando el potencial uso de la expresión génica de células conjuntivales como biomarcador. Además, observamos que el perfil de expresión difiere según el estado HLA-B27, por lo que podría ser considerado en futuros estudios de biomarcadores en pacientes con uveítis anterior.

3. INTRODUCCIÓN

3.1. JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y
OBJETIVOS

3.1.1. JUSTIFICACIÓN

La uveítis es una enfermedad inflamatoria que afecta la úvea, capa vascular del ojo, que incluye el iris, el cuerpo ciliar y la coroides [1]. Presenta una incidencia aproximada de 17-52 casos cada 100.000 habitantes por año y una prevalencia de 38-174 casos cada 10.000 habitantes, aunque varía conforme a la población estudiada [2–4]. Actualmente, se la considera responsable de entre el 5-10% de las cegueras legales en países desarrollados, suponiendo, por lo tanto, una causa importante de pérdida de visión [5].

Por su diversidad etiológica, complejidad en la evaluación, y dificultad en el tratamiento, el manejo de las uveítis supone un desafío para los profesionales sanitarios [5]. Las estrategias de tratamiento dependen de la causa de la inflamación, la gravedad y la evolución de la enfermedad. Si la etiología subyacente es infecciosa, esta será tratada primero con la terapia antimicrobiana específica. En cambio, ante una uveítis no infecciosa, el abordaje será puramente antiinflamatorio, y, en cualquier caso, minimizando los efectos secundarios de las terapias utilizadas.

En el caso de las uveítis no infecciosas, tradicionalmente, se ha utilizado un enfoque terapéutico escalonado, con el uso de corticoides como primera línea de tratamiento, seguidos por las terapias inmunosupresoras y finalmente, la terapia biológica. Esta estrategia conllevaba un manejo inicial inespecífico y genérico de la inflamación. Sin embargo, el abordaje terapéutico de las uveítis ha avanzado hacia una terapia de precisión, siguiendo un enfoque altamente personalizado, dirigido a las causas subyacentes de la uveítis en cada paciente en particular.

La terapia de precisión se fundamenta en la búsqueda de biomarcadores o de dianas terapéuticas, haciendo referencia a moléculas, que pueden ser responsables de la inflamación en cada caso. Actualmente, la búsqueda de biomarcadores en pacientes con inflamación ocular es de gran interés, con el fin de desarrollar una terapia específica para cada paciente con uveítis.

Pese a ser el humor vítreo (HV) y el humor acuoso (HA), de forma lógica, los fluidos donde más potenciales biomarcadores se han estudiado en el terreno de las uveítis, se debe tener en cuenta que para la obtención de ambas muestras se precisa de la realización de técnicas invasivas, no exentas de complicaciones [6]. En consecuencia, la búsqueda de biomarcadores en muestras de la película lagrimal (PL) o en la superficie conjuntival, obtenidas a partir de técnicas no invasivas, supone un área de creciente interés por su accesibilidad y bajo riesgo.

Por ello se plantea la posibilidad de que la superficie ocular sea una fuente potencial de biomarcadores para la detección de dianas terapéuticas específicas que permitan en un futuro avanzar hacia una terapia personalizada y de precisión en el manejo de la uveítis.

3.1.2. HIPÓTESIS

- La hipótesis del presente estudio plantea que es posible identificar moléculas en el epitelio conjuntival y/o en la película lagrimal de pacientes con uveítis anterior, cuyos valores podrían utilizarse como posibles biomarcadores de la enfermedad.

3.1.3. OBJETIVOS

El **objetivo principal** del trabajo es encontrar biomarcadores en la película lagrimal y/o el epitelio conjuntival que puedan servir como marcadores de actividad de la uveítis, útiles en la práctica clínica, y que además supongan posibles dianas terapéuticas futuras.

Con el propósito de demostrar la hipótesis planteada, así como para desarrollar el objetivo principal, se definieron los siguientes **objetivos específicos**:

1. Determinar y comparar los niveles de ciertas citocinas en la película lagrimal y el plasma de pacientes con uveítis anterior en fase activa.
2. Determinar y comparar los niveles de las mismas citocinas en la película lagrimal y el plasma de los mismos pacientes con uveítis anterior en fase inactiva.
3. Comparar los niveles de citocinas y quimiocinas en la película lagrimal y el plasma de los mismos pacientes entre las fases activa e inactiva de la enfermedad.
4. Determinar los niveles de ácido ribonucleico mensajero (ARNm) de ciertos genes relacionados con procesos inflamatorios en la superficie conjuntival en pacientes con uveítis anterior en fase activa y su variación conforme a la etiología de la enfermedad.
5. Determinar los niveles de ARNm de estos genes en la superficie conjuntival en los mismos pacientes en su fase inactiva, y su variación conforme a la etiología de la enfermedad.

6. Comparar los niveles de ARNm de estos genes en la superficie conjuntival entre las fases activa e inactiva de la enfermedad.

3.2. ESTADO ACTUAL DEL TEMA

A continuación, se exponen una serie de conceptos básicos relacionados con las uveítis como su definición, epidemiología, clasificación, diagnóstico y tratamiento; así como, una descripción general de las citocinas y quimiocinas junto con el papel que juegan en la regulación del sistema inmune y en las uveítis. El propósito de esta introducción no es ofrecer una revisión exhaustiva del tema, sino proporcionar la información necesaria para comprender este trabajo.

3.2.1. UVEÍTIS

3.2.1.1. Definición

La uveítis es definida como una inflamación que afecta a la úvea, capa intermedia vascular del ojo, situada entre la esclerótica (capa externa) y la retina (capa interna) [1]. La úvea está compuesta por tres componentes principales: el iris en la zona más anterior, el cuerpo ciliar en la región intermedia y la coroides en la zona posterior del globo ocular. Por lo tanto, cualquier proceso inflamatorio que afecta a alguna de estas estructuras es considerado como uveítis (**Imagen 1**).

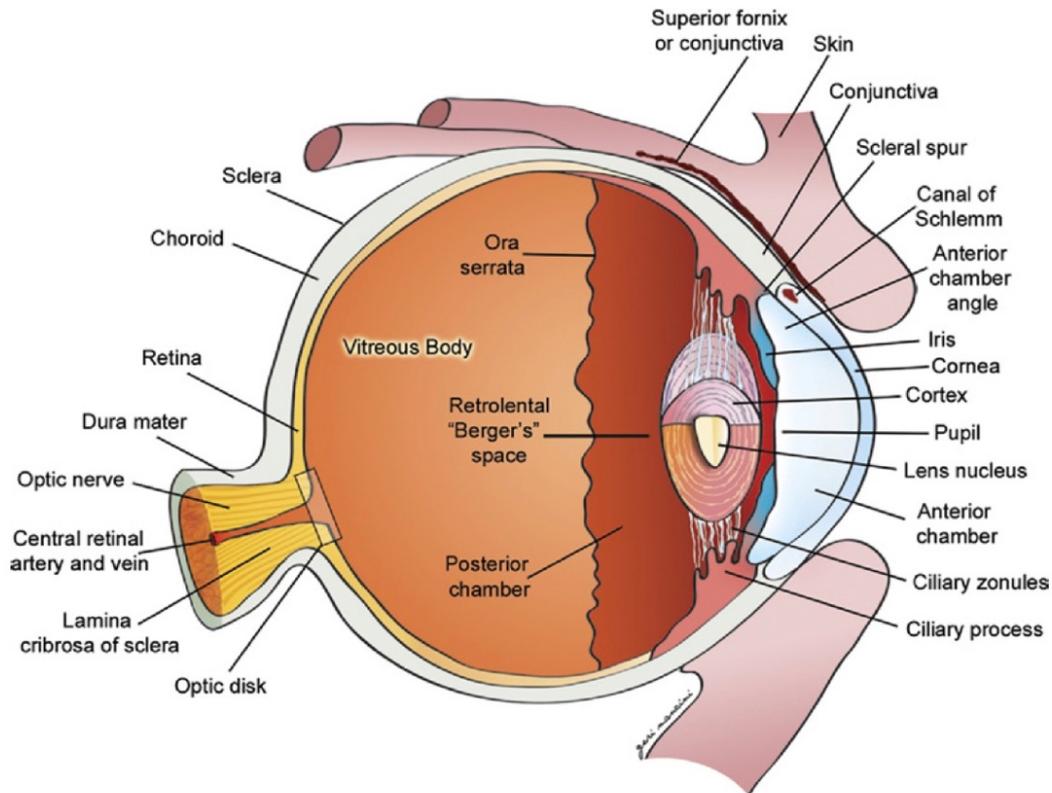


Imagen 1. Ilustración esquemática de un corte sagital del globo ocular tomada de: "Malhotra A, Minja FJ, Crum A, Burrowes D. *Ocular Anatomy and Cross-Sectional Imaging of the Eye. Seminars in Ultrasound, CT and MRI* 2011;32:2–13. <https://doi.org/10.1053/J.SULT.2010.10.009>."

El término uveítis abarca un grupo heterogéneo de enfermedades, tanto de origen inflamatorio como infeccioso, que pueden afectar a diferentes estructuras del globo ocular.

Es considerada como una patología potencialmente grave pudiendo llevar a una pérdida de visión irreversible si no se trata adecuadamente [7,8], ya que hasta el 35% de los pacientes desarrollan graves problemas de salud ocular, siendo considerada responsable de entre el 5-10 % de las cegueras legales en países desarrollados [5].

Además, supone una gran sobrecarga para el bienestar del paciente como para los sistemas de salud a nivel socioeconómico, ya que afecta a población joven en edad laboral, precisando terapia farmacológica a largo plazo, no exenta de efectos secundarios y generando un gran número de citas médicas [9].

3.2.1.2. Epidemiología

La prevalencia de la uveítis depende de diversos factores tales como la edad, el género, la raza, la distribución geográfica, las influencias ambientales, los factores genéticos y los hábitos sociales. La mayoría de las series se han realizado en países desarrollados, donde se encuentra una incidencia aproximada de 17-52 casos cada 100.000 habitantes por año, y una prevalencia que oscila entre los 38 y 174 casos cada 10.000 habitantes [2-4]. Pese a que la uveítis puede manifestarse en cualquier grupo de edad, su aparición es más frecuente en adultos de entre 20 y 60 años [2,3,5].

3.2.1.3. Clasificación

En 1987, el *International Uveitis Study Group* (IUSG) propuso la primera clasificación de las uveítis basándose en la localización anatómica de la inflamación ocular [10]. Posteriormente, en 2005 el grupo *Standardization of Uveitis Nomenclature*, formado por un grupo de expertos a nivel mundial y conocido por sus siglas en inglés SUN, desarrolló una nueva clasificación teniendo en cuenta la localización, evolución clínica y etiología de la uveítis. Además, permitió sistematizar la terminología de los diferentes aspectos clínicos evaluados durante el estudio y monitorización de las uveítis como se verá a continuación [11].

3.2.1.3.1. Clasificación anatómica

En cuanto a su localización anatómica, los grupos IUSG y SUN, dividen las uveítis en uveítis anterior, intermedia, posterior o panuveítis (**Tabla 1**).

TIPO DE UVEÍTIS	LOCALIZACIÓN DE LA INFLAMACIÓN	INCLUYE
UVEÍTIS ANTERIOR	Cámara anterior	Iritis Iridociclitis Ciclitis anterior
UVEÍTIS INTERMEDIA	Vítreo	Pars planitis Ciclitis posterior Vitritis
UVEÍTIS POSTERIOR	Retina y coroides	Coroiditis focal, multifocal o difusa Corioretinitis Retinocoroiditis Retinitis Neuroretinitis
PANUVEÍTIS	Cámara anterior, vítreo, retina y coroides	

Tabla 1. Basada en: "Standardization of Uveitis Nomenclature for Reporting Clinical Data. Results of the First International Workshop. *Am J Ophthalmol* 2005;140:509–16. <https://doi.org/10.1016/J.AJO.2005.03.057>."

3.2.1.3.2. Clasificación según su etiología

La uveítis puede clasificarse según su mecanismo fisiopatológico en los siguientes grupos:

- a. **Infeciosa:** producidas por virus, bacterias, hongos, protozoos o helmintos.

b. **No-infecciosa:** dentro de las cuales se pueden encontrar los siguientes sub-grupos:

- I. Autoinmunes
- II. Traumáticas: quirúrgicas y no-quirúrgicas.
- III. Síndromes de mascarada: abarca aquellos cuadros que asemejan un proceso inflamatorio, entre los que destacan los tumores intraoculares como el retinoblastoma o los linfomas intraoculares.
- IV. Idiopáticas: inflamación de causa desconocida.

3.2.1.3.3. Clasificación según evolución clínica

El grupo SUN desarrolló una clasificación basada en el curso temporal de la uveítis (**tabla 2**) [11].

CATEGORÍA	DESCRIPTOR	COMENTARIO
INICIO	Súbito	
	Insidioso	
DURACIÓN	Limitada	<ul style="list-style-type: none"> • < 3 meses de duración
	Persistente	<ul style="list-style-type: none"> • > 3 meses de duración
CURSO	Agudo	<ul style="list-style-type: none"> • Episodio de inicio súbito y duración limitada
	Recurrente	<ul style="list-style-type: none"> • Episodios repetidos separados por periodos de inactividad SIN tratamiento > 3 meses
	Crónico	<ul style="list-style-type: none"> • Uveítis persistente con recidiva antes de los 4 meses tras retirada del tratamiento

Tabla 2. Basada en: “Standardization of Uveitis Nomenclature for Reporting Clinical Data. Results of the First International Workshop. *Am J Ophthalmol* 2005;140:509–16. <https://doi.org/10.1016/J.AJO.2005.03.057>.”

3.2.1.3.4. Clasificación de la evolución según el grado de actividad inflamatoria

Además, establecieron unos parámetros para la sistematización de la evaluación de la inflamación, basados en la valoración de la celularidad y el *flare* en cámara anterior, permitiendo la monitorización de la evolución de la actividad inflamatoria, hecho fundamental para la documentación y el seguimiento clínico del paciente [11] (Tablas 3, 4 y 5).

3.2.1.3.4.1. Evaluación de la celularidad en cámara anterior

GRADO	CÉLULAS POR CAMPO
0	< 1
0,5+	1-5
1+	6-15
2+	16-25
3+	26-50
4+	50
El tamaño del campo es de 1 mm x 1 mm en el haz de lámpara de hendidura	

Tabla 3: Basada en: “Standardization of Uveitis Nomenclature for Reporting Clinical Data. Results of the First International Workshop. *Am J Ophthalmol* 2005;140:509–16. <https://doi.org/10.1016/J.AJO.2005.03.057>.”.

3.2.1.3.4.2. Evaluación del flare en cámara anterior

GRADO	CÉLULAS POR CAMPO
0	< 1
0,5+	1-5
1+	6-15
2+	16-25
3+	26-50
4+	50
El tamaño del campo es de 1 mm x 1 mm en el haz de lámpara de hendidura	

Tabla 4: Basada en: “Standardization of Uveitis Nomenclature for Reporting Clinical Data. Results of the First International Workshop. *Am J Ophthalmol* 2005;140:509–16. <https://doi.org/10.1016/J.AJO.2005.03.057>.”

3.2.1.3.4.3. Clasificación de la evolución según del grado de actividad inflamatoria

GRADO	DESCRIPCIÓN
Inactiva	Ninguna célula
Empeoramiento	Aumento en 2 pasos en el nivel de inflamación
Mejoría	Reducción en 2 pasos en el nivel de inflamación o reducción a grado 0
Remisión	Inactividad durante más de 3 meses tras retirada de tratamiento

Tabla 5: Basada en: “Standardization of Uveitis Nomenclature for Reporting Clinical Data. Results of the First International Workshop. *Am J Ophthalmol* 2005;140:509–16. <https://doi.org/10.1016/J.AJO.2005.03.057>.”

3.2.1.4. Diagnóstico

Una de las dificultades que afrontan los oftalmólogos en el manejo de las uveítis es su diagnóstico etiológico. La gran heterogeneidad en su expresión clínica, la amplia variedad de enfermedades relacionadas y los diversos modos en que un mismo agente causal puede presentarse como responsable de la uveítis, suponen un reto para el diagnóstico [12,13]. El complejo proceso de diagnóstico etiológico excede el tema de esta tesis doctoral, aunque es necesaria una breve explicación para entender el estudio realizado y las posibles implicaciones de los resultados obtenidos en la práctica diaria.

El proceso diagnóstico comienza con una correcta localización anatómica de la inflamación, seguido por una historia clínica adecuada y detallada, acompañada de una exploración oftalmológica completa, lo que proporcionará una base sólida

para una correcta orientación del problema. Posteriormente, la utilización de pruebas de laboratorio orientadas permitirá encontrar el diagnóstico etiológico de la uveítis.

Es bien sabido, que el empleo indiscriminado de pruebas complementarias sin una adecuada orientación puede llevar a interpretaciones erróneas de los resultados y derivar en un tratamiento incorrecto. Por ello, estas pruebas deben ser seleccionadas en función de las etiologías sospechadas como más probables.

Existen múltiples pruebas complementarias orientadas al diagnóstico y monitorización de las uveítis; A continuación, se presenta un resumen de las utilizadas con mayor frecuencia.

- **Pruebas complementarias**

- **Pruebas de laboratorio**

- **Hemograma y bioquímica:** necesarias no solo por su importancia en el diagnóstico, sino por la implicación en la aplicación de tratamientos de manera segura. Cabe mencionar los indicadores de actividad inflamatorio como la proteína C reactiva y/o la velocidad de sedimentación glomerular (VSG), o los niveles de enzima convertidora de angiotensina (ECA) que apoyan en el diagnóstico de enfermedades sistémicas, como la sarcoidosis.

- **Serologías:** ayudan a descartar o confirmar patologías infecciosas, que son una de las principales causas etiológicas de las uveítis. Las serologías más importantes son: *Treponema pallidum* (sífilis), *Mycobacterium*

tuberculosis (tuberculosis), el virus de la hepatitis B (VHB), el virus de la hepatitis C (VHC) y el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), *Rickettsia*, *Bartonella*, *Borrelia*, *Coxiella*, *Francisella tularensis*, *Leptospira*, entre otros.

- **HLA (Antígeno leucocitario humano):** unidad funcional de genes cuya principal función es asistir en el reconocimiento de antígenos propios y ajenos. Múltiples estudios han encontrado diferentes asociaciones entre HLA y uveítis como, por ejemplo: la enfermedad de Vogt-Koyanagi-Harada (HLA-DR4, -DRB1/DQA1), la enfermedad de Behçet (EB) (HLA-B51), uveítis anterior (HLA-B27) y coroidopatía en perdigonada o *birdshot* (HLA-A29), entre otros [14].

- **Anticuerpos:** los anticuerpos anti-nucleares (ANA), anticuerpos anti-citoplasma de neutrófilos (ANCA) y/o el factor reumatoide (FR), son algunos de los autoanticuerpos que ayudan al diagnóstico de diferentes enfermedades, como el lupus eritematoso sistémico (LES), la granulomatosis ANCA positiva o la artritis reumatoide (AR) [15,16].

- **Pruebas de imagen**

Facilitan el diagnóstico etiológico de la uveítis; entre las más frecuentes se encuentran la radiografía de tórax, la tomografía computarizada (TC) o la resonancia magnética (RM).

- **Exploraciones oftalmológicas complementarias**

Existen múltiples pruebas oftalmológicas complementarias que asisten tanto en el diagnóstico como en el seguimiento de la enfermedad.

- **Pruebas de imagen**

El avance en técnicas de imagen en la retina es un campo en constante evolución, donde la imagen multimodal y su aplicación en las uveítis no ha hecho más que comenzar, lo que está permitiendo obtener día tras día nueva información sobre los cambios a nivel retiniano y coroideo que se producen en las uveítis [17]. A continuación, se describen las principales técnicas de imagen oftalmológicas en el campo de la uveítis (**Tabla 6**).

Técnicas de imagen	Indicaciones principales	Aplicaciones comunes en uveítis
Tomografía de coherencia óptica (OCT)	Patología macular y del nervio óptico	Edema macular, retinitis, coroiditis, trastornos vitreoretinianos
Angiografía de tomografía de coherencia óptica (OCT-A)	Vasculopatía retiniana o coroidea	Isquemia retiniana, retinitis, coroiditis, neovascularización retiniana y coroidea
Imagen de campo ultrapanorámico	Patología vitreoretiniana o coroidea que involucra la periferia	Vasculitis retiniana, uveítis intermedia y posterior
Autofluorescencia	Patología de retina y epitelio pigmentario retiniano	Coroiditis, síndrome de puntos blancos, síndrome de mascarada
Angiografía con fluoresceína	Patología vascular retiniana	Isquemia retiniana, vasculitis retiniana, uveítis posterior, uveítis intermedia, edema macular, neovascularización retiniana y coroidea
Angiografía con verde de indocianina	Patología vascular coroidea	Coroiditis, neovascularización coroidea

Tabla 6: Basado en: “Marchese A, Agarwal A, Moretti AG, Handa S, Modorati G, Querques G, et al. *Advances in imaging of uveitis. Ther Adv Ophthalmol* 2020;12. <https://doi.org/10.1177/2515841420917781>”.

○ Pruebas de laboratorio

Análisis de fluidos oculares: En determinadas ocasiones el estudio de muestras tanto intraoculares como extraoculares puede arrojar información valiosa en el diagnóstico etiológico de las uveítis, siendo la serología intraocular, la citología, los cultivos o la biopsia algunas de las

pruebas realizadas. La biología molecular ha supuesto un avance en el diagnóstico de las uveítis, con el desarrollo de las técnicas avanzadas de análisis, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR del inglés *Polymerase Chain Reaction*) que permite amplificar secuencias específicas de ácido desoxirribonucleico (ADN), ayudando en la detección de patógenos, como virus o bacterias, en pequeñas muestras como HA y HV [18], asistiendo en el diagnóstico de uveítis infecciosas.

Cabe destacar el **coeficiente de Goldmann-Witmer**, que consiste en la determinación de anticuerpos en plasma y en HA o HV. Inicialmente, *Witmer* planteó la determinación de anticuerpos en HA o HV y la comparación con niveles en plasma. Este análisis permitió establecer un cociente que indicaba una producción local de anticuerpos si su valor era mayor de 1, lo que apoyaría el diagnóstico de una uveítis de origen infeccioso. Actualmente, se consideran valores superiores a 3 (**índice de Goldmann-Witmer**), con el objetivo de considerar el efecto de la rotura de la barrera hemato-retiniana provocada por la inflamación [19].

Aunque todavía es un área en desarrollo, el análisis proteómico de los fluidos intraoculares es un área en continua evolución. Gracias al desarrollo de nuevas técnicas de análisis, que permiten el estudio de pequeños volúmenes, se plantean nuevas investigaciones encaminadas a descubrir biomarcadores que asistan en el diagnóstico y manejo de las uveítis. Por ello, en 2012, el **Human Eye Proteome Project** (HEEP) inicio el estudio proteómico del ojo, siendo un área de creciente interés [20,21].

3.2.1.5. Tratamiento

El manejo y tratamiento de la uveítis varía según la causa subyacente y del tipo de uveítis. Es de vital importancia descartar la presencia de uveítis infecciosas y síndromes mascarada para realizar un tratamiento adecuado. En el caso de las uveítis no infecciosas, el objetivo principal del tratamiento va a ser la eliminación de la inflamación, ya que la persistencia de una inflamación crónica puede causar graves daños oculares.

Actualmente, se dispone de un gran arsenal terapéutico, siendo los corticoides el tratamiento estándar en uveítis no infecciosas. Son fármacos muy potentes pero con importantes efectos secundarios, pudiendo ser administrados de diversas formas dependiendo de la localización y gravedad de la uveítis.

- **Corticoides tópicos:** son el fármaco de elección en las uveítis anteriores no infecciosas.
- **Corticoides periculares:** su administración subtenoniana es la más habitual en el manejo de uveítis intermedias.
- **Corticoides intraoculares:** vía utilizada en el manejo de uveítis intermedias y posteriores, así como en el tratamiento del edema macular.
- **Corticoides sistémicos:** tanto por vía oral como intravenosa para el manejo de los casos más graves.

Dentro del uso de corticoides en el manejo de las uveítis, caben destacar los recientes avances en dispositivos de liberación prolongada. El implante de **Retisert®** (implante intravítreo de fluocinolona acetónido de 0.59 mg; Bausch and

Lomb, Nueva York, EE. UU.) fue el primer dispositivo utilizado en el manejo del edema macular uveítico. El ensayo *Multicenter Uveitis Steroid Treatment (MUST)*, comparó la eficacia de corticosteroides sistémicos combinados con inmunosupresión cuando fuera necesario versus Retisert® para la uveítis intermedia, posterior o panuveítis no infecciosa, concluyendo que no hubo una diferencia significativa en la mejora visual [22]. Es importante mencionar, que los pacientes tratados con el implante presentaron más efectos adversos oculares (cataratas, hipertensión intraocular o glaucoma), mientras que los pacientes tratados con esteroides sistémicos presentaron una mayor tasa de infecciones sistémicas [22].

La utilización del **Ozurdex®** (implante intravítreo de dexametasona de 0.7 mg; Allergan, Inc., Dublín, República de Irlanda) se ha extendiendo para el tratamiento del edema macular por uveítis. El estudio HURON evaluó la eficacia y seguridad de dos dosis del implante de dexametasona en pacientes con uveítis no infecciosa intermedia o posterior, con resultados positivos [23]. Posteriormente, Arcinue et al. [24] compararon la eficacia y seguridad de Retisert® con respecto al Ozurdex® en pacientes con uveítis no infecciosa y concluyeron que ambos implantes son comparables en términos de prevención de recurrencia y resolución de la inflamación, así como en la mejora de la visión. Entre los resultados obtenidos, destaca la mayor incidencia de eventos adversos con el implante de Retisert®, mientras que los pacientes tratados con Ozurdex® tenían cinco veces más probabilidades de recibir un segundo implante.

En noviembre de 2023, **Iluvien®** (implante intravítreo de fluocinolona acetónido de 0.19 mg; Alimera Sciences, Georgia, EE. UU.) fue aprobado para su uso en el edema macular diabético, permitiendo una liberación continua de 0.2 µg/día de fluocinolona acetónido durante 3 años. Se hipotetiza que el implante de Iluvien® podría tener menos efectos adversos oculares en comparación con Retisert® debido a la menor concentración de fluocinolona acetónido [25]. Múltiples han sido los estudios de casos donde el Iluvien® ha sido utilizado en pacientes con uveítis mostrando buenos resultados en cuanto al control de la inflamación, aunque persiste una alta tasa de desarrollo de cataratas [26].

Aunque los corticoides son efectivos en el control de la inflamación, su empleo prolongado puede ser causa de importantes efectos secundarios. Por ello, la terapia inmunomoduladora y/o biológica es fundamental, buscando la reducción del uso de corticoides o incluso su supresión durante el tratamiento a medio y/o largo plazo.

Actualmente, hay una amplia variedad de fármacos inmunomoduladores. A continuación, se mencionan los más relevantes en el manejo actual de las uveítis.

- **Inhibidores de los linfocitos T**
 - Ciclosporina
 - Tacrolimus
- **Antimetabolitos**
 - Metotrexate
 - Azatioprina

- Micofenolato mofetilo y ácido micofenólico

- **Agentes alquilantes**

- Ciclofosfamida

- **Miscelánea**

- Sulfasalacina

- Dapsona

- Inmunoglobulinas intravenosas

- Interferones

A través de fármacos inmunomoduladores se consigue un mejor control de la enfermedad reduciendo la necesidad del uso de corticoides y sus efectos secundarios tanto locales, a nivel ocular, como sistémicos.

La búsqueda de terapias de precisión y personalizadas ha impulsado el desarrollo de nuevos fármacos con una mayor selectividad en su modo de acción con respecto a los inmunomoduladores tradicionales, estando diseñados para actuar específicamente en una célula inmune particular o en una proteína inflamatoria específica en el cuerpo, lo que permite un tratamiento más selectivo de las uveítis.

Entre estos fármacos destacan los agentes biológicos, que son productos cuyo principio activo se obtiene o extrae de una fuente biológica. Precisan para la obtención de productos de calidad una combinación de ensayos físico-químicos y biológicos, así como un riguroso control del proceso de producción. Se considerarán medicamentos biológicos: los medicamentos inmunológicos y los

medicamentos derivados de la sangre o el plasma humanos. Entre ellos se incluyen los anticuerpos, las interleucinas y las vacunas. Actualmente, la mayoría de fármacos biológicos utilizados en las uveítis son anticuerpos.

Cabe mencionar que pese a la existencia en la literatura científica de una diferencia clara entre fármacos inmunomoduladores y biológicos, en determinados contextos el límite entre ellos se vuelve difuso ya que la función terapéutica de estos fármacos puede solaparse.

Múltiples son los fármacos biológicos que se han desarrollado durante la última década. Se mencionarán a continuación los más utilizadas en la práctica clínica diaria.

- **Adalimumab:** anticuerpo monoclonal que actúa como inhibidor del factor de necrosis tumoral *alpha* (TNF- α). Fue aprobado por la *Food and Drug Administration* (FDA) en el año 2016 para el tratamiento de la uveítis no infecciosa intermedia, posterior y panuveítis en pacientes mayores de 2 años [27].
- **Infliximab:** anticuerpo monoclonal inhibidor del TNF- α que ha demostrado eficacia en el tratamiento de la uveítis no infecciosa, especialmente en casos de uveítis asociada con EB y artritis idiopática juvenil (AIJ) [28].
- **Etanercept:** proteína de fusión frente al receptor de TNF- α . Pese a ser un fármaco efectivo en el control de enfermedades autoinmunes como

la AR, su eficacia en la uveítis es menos clara y generalmente se considera menos efectivo que otros antagonistas del TNF- α [29,30].

- **Certolizumab pegol**: anticuerpo monoclonal pegilado que neutraliza específicamente el TNF- α , sin causar lisis celular directa, mostrando eficacia en el tratamiento de las uveítis asociadas a la enfermedad de Crohn y espondiloartritis [31–33].
- **Golimumab**: anticuerpo monoclonal inhibidor del TNF- α aprobado para el tratamiento de varias enfermedades inflamatorias, incluyendo formas específicas de artritis. Además, ha demostrado eficacia en el manejo de la uveítis asociada a espondilitis anquilosante (EA) [34].
- **Rituximab**: anticuerpo monoclonal inhibidor de las células B (anti CD-20) que se ha utilizado con éxito en el tratamiento de la uveítis no infecciosa, siendo eficaz en el tratamiento de las lesiones oculares de la EB [35].
- **Tocilizumab**: anticuerpo monoclonal inhibidor del receptor de la interleucina 6 (IL-6R) que también ha mostrado eficacia en el tratamiento de la uveítis no infecciosa. Se ha utilizado en casos de uveítis asociada con AIJ y puede ser especialmente eficaz en el manejo del edema macular uveítico [35].
- **Secukinumab**: anticuerpo monoclonal humano inhibidor de la interleucina 17A (IL-17A), el cual ha sido recientemente estudiado con resultados prometedores en su uso como adyuvante de terapia inmunosupresora, permitiendo una disminución significativa en el uso concomitante de medicamentos inmunosupresores [36].

- **Abatacept**: proteína de fusión compuesta por la porción extracelular del receptor del antígeno 4 de linfocitos T citotóxicos humanos (CTLA-4) fusionada al fragmento cristalizante (Fc) de una inmunoglobulina humana. Esta estructura le permite modular la actividad de las células T mediante la unión a las moléculas CD80 y CD86 en las células presentadoras de antígenos, impidiendo la coestimulación necesaria para la activación de las células T. Utilizado en casos de uveítis refractarias a tratamiento con anti-TNF- α o uveítis por Birdshot [37,38].
- **Anakinra** : es un polipéptido recombinante antagonista del receptor de la interleucina 1 (IL-1). Su mecanismo de acción se basa en inhibir la acción biológica de la IL-1, bloqueando competitivamente la unión con su receptor, presente en numerosas células. La IL-1 es una citocina proinflamatoria clave en la patogénesis de diferentes enfermedades reumáticas. En el contexto de las uveítis, destaca su papel en el tratamiento de pacientes con uveítis asociada a EB [39,40].
- **Otros**: nuevas moléculas han sido dianas terapéuticas para el desarrollo de nuevos fármacos. El **ustekinumab** se dirige a la subunidad p40 compartida por la interleucina 23 (IL-23) y la interleucina 12 (IL-12), siendo efectivo en el control de uveítis secundarias a artritis psoriásica [41], lo que ha llevado al desarrollo de nuevos estudios tanto en uveítis posteriores como intermedias. El **alemtuzumab**, anticuerpo monoclonal anti-CD52 responsable de la depleción de células T, utilizado en pacientes con uveítis por EB con prometedores resultados [42].

3.2.2. Biomarcador

En 1987, el **National Research Council** (NRC) desarrolló un programa para abordar cuestiones específicas relacionadas con el concepto de biomarcador y su aplicación en la evaluación de los efectos ambientales en la salud, estableciendo el siguiente concepto de biomarcador: *“Evento de estado conocido que puede usarse como guía para la evaluación de sistemas biológicos, es decir, como característica que pueda ser medida y evaluada objetivamente como un indicador de procesos biológicos normales o patológicos, o evolución de respuesta terapéutica”* [43].

Los biomarcadores son indicadores que señalan eventos en sistemas biológicos o muestras, proporcionando información objetiva y medible sobre la presencia, gravedad o progresión de una enfermedad o condición de salud. Es útil clasificar los biomarcadores según el proceso que evalúan [43–45].

- **Biomarcadores de riesgo:** indicadores que permiten predecir la predisposición de un individuo a desarrollar un trastorno determinado.
- **Biomarcadores de diagnóstico o rasgo:** características cuantificables que reflejan la presencia de un estado de enfermedad.
- **Biomarcadores de estado:** características medibles que reflejan la severidad de la enfermedad.
- **Biomarcadores de etapa:** variables que permiten clasificar y estratificar al paciente según la etapa actual de la enfermedad de un individuo.
- **Biomarcadores de respuesta:** estiman la probabilidad de que la respuesta a un tratamiento sea eficaz.

- **Biomarcadores pronósticos:** predicen el curso probable y desenlace de la enfermedad.

En una medicina en continua evolución hacia la terapia de precisión, los biomarcadores son herramientas esenciales, no solo ayudando en el diagnóstico, al proporcionar indicadores precisos de enfermedades o condiciones de salud, sino que también tienen un impacto significativo en la investigación y el avance de tratamientos médicos más precisos y personalizados, ya que al conocer la etiopatogenia subyacente de una enfermedad a través de biomarcadores, se abre la puerta a la búsqueda de dianas terapéuticas específicas, impulsando el desarrollo de nuevos fármacos y terapias más efectivas.

Para considerar un biomarcador como de calidad debe reunir una serie de cualidades. Un buen biomarcador se caracteriza por ser **ampliamente reconocido y aceptado en la comunidad científica**, lo que implica que existe un consenso sólido sobre su relevancia en relación con la enfermedad objeto. Además, debe estar **claramente definido y ser fácilmente medible mediante técnicas de obtención y análisis simples, seguras y rápidas**. Para respaldar su utilidad, un buen biomarcador debe tener el potencial de ser **ampliamente comercializado y universalizado** para su uso en la práctica médica, contribuyendo a una atención médica más eficaz y un diagnóstico más preciso de enfermedades.

Dentro de la oftalmología, la búsqueda de biomarcadores que permitan una mayor precisión diagnóstica, una monitorización más objetiva de la evolución del

paciente, así como encontrar nuevas dianas terapéuticas que asistan en el desarrollo de nuevos fármacos o en un uso más personalizado de los ya existentes, es incesante.

En este contexto, la superficie ocular supone un área perfecta para la investigación gracias al desarrollo de nuevas técnicas de análisis de la PL y la superficie conjuntival, al ser un área de fácil acceso con pruebas no invasivas. Esto ha marcado un antes y un después en el estudio y manejo de diversas patologías como la enfermedad de injerto contra huésped (EICH), el ojo seco o las alergias [46–50].

Una de las principales áreas de investigación de potenciales biomarcadores en la uveítis es la medición de proteínas, tanto en fluidos intraoculares como extraoculares, siendo el HV y HA, así como el suero de los pacientes, los más estudiados, respectivamente [51–59]. Entre las diversas proteínas que pueden evaluarse en estos fluidos biológicos, las citocinas y quimiocinas ocupan un lugar destacado debido a su participación directa en la patogenia de la enfermedad y a la facilidad con la que pueden medirse. Múltiples estudios han demostrado distintos perfiles de concentración de citocinas y quimiocinas en HV y HA de pacientes con uveítis [57,60–64]. Aunque, se han presentado resultados prometedores, es cierto que el estudio del HV y/o HA, conlleva la realización de una prueba invasiva no exenta de riesgos, lo que supone una limitación para su instauración en la práctica clínica diaria.

En consecuencia, el estudio del perfil de citocinas y quimiocinas en la superficie conjuntival, tiene el potencial de convertirse en un biomarcador prometedor en el contexto de las uveítis. Esto permitiría una monitorización más personalizada y precisa de las uveítis, lo que, a su vez, podría dar lugar a un avance en el desarrollo de nuevas dianas terapéuticas, mejorando en el avance hacia la terapia personalizada y de precisión.

3.2.3. Citocinas

3.2.3.1. Concepto

Las citocinas son proteínas pequeñas (<40 kDa), producidas por casi todas las células para regular e influir en la respuesta inmunitaria [65]. Actúan como mensajeros moleculares, permitiendo que las células se comuniquen entre sí para coordinar una variedad de respuestas celulares, siendo responsables de la regulación dinámica de la respuesta celular inmunitaria [66], interfiriendo también en la regulación del crecimiento y la diferenciación celular, la apoptosis y la reparación de tejidos [65,66].

Estas proteínas se producen principalmente por diversas células del sistema inmunitario, como linfocitos, monocitos y macrófagos, pero también pueden ser producidas por otras células bajo ciertas condiciones. Cabe destacar que una misma citocina puede ser secretada por varios tipos de células y ejercer su acción sobre múltiples células diana, produciendo múltiples actividades biológicas, lo que les otorga su capacidad pleiotrópica [65,66].

3.2.3.2. Clasificación

Pueden clasificarse de diferentes maneras, acorde a su estructura, la célula que las produce o su función [66]. Según su **estructura**, se diferencian varias categorías: interferones, interleucinas, linfocinas, monocinas, factores estimulantes de colonias, factores de necrosis tumoral y factores de crecimiento transformantes. Considerando su **origen celular**, las citocinas se clasifican en citocinas tipo 1, producidas por células T-*helper* 1 (Th1) CD4+, que incluyen interleucina 2 (IL-2), IL-12, factor de necrosis tumoral *beta* (TNF- β) e interferón *gamma* (IFN- γ); y citocinas tipo 2, producidas por células Th2 CD4+, que incluyen interleucina 4 (IL-4), interleucina 5 (IL-5), interleucina 6 (IL-6), interleucina 10 (IL-10) e interleucina 13 (IL-13). Por último, dependiendo de su **función**, las citocinas también pueden clasificarse como proinflamatorias o antiinflamatorias [66]. Las citocinas proinflamatorias, incluyendo interleucina 1 *beta* (IL-1 β), IL-6, interleucina 8 (IL-8), IL-12, TNF- α e interferones, entre otras, facilitan las reacciones inflamatorias y tienden a estimular a las células inmunocompetentes. En cambio, las citocinas antiinflamatorias, como IL-4, IL-6, IL-10, interleucina 11 (IL-11), IL-13, antagonista del receptor de IL-1 (IL-1RA) y factor de crecimiento transformante *beta* (TGF- β), inhiben la inflamación y suprimen las células inmunitarias [66]. Por otro lado, existen algunas citocinas que tienen propiedades tanto proinflamatorias como antiinflamatorias dependiendo de su concentración, la interacción con otras moléculas y el ambiente en el que se encuentren. Dentro de este último grupo destaca la IL-6 que presenta propiedades proinflamatorias y antiinflamatorias.

Estas clasificaciones de citocinas, especialmente las familias de citocinas pro- y anti-inflamatorias, ofrecen amplias perspectivas para comprender las vías activadas por la respuesta del huésped (**tabla 7**).

El equilibrio dinámico entre citocinas pro- y anti-inflamatorias desempeña un papel significativo en el sistema inmunitario del huésped a través de la mediación y modulación de la inflamación. Las citocinas proinflamatorias contribuyen a la iniciación y propagación de la inflamación autoinmunitaria, mientras que las citocinas antiinflamatorias facilitan la supresión de la inflamación y la recuperación de las fases agudas de la enfermedad autoinmunitaria.

Citocina	Tipo de citocina	Fuente celular	Vida media	Funciones biológicas	Concentraciones [$\mu\text{g mL}^{-1}$] en diferentes fluidos corporales <i>in vitro</i>				
					Suero	Plasma	Saliva	Lágrimas	Heces
IL-1 β	Proinflamatoria	Monocitos y macrófagos	21 min	Principal mediador de los efectos sistémicos de la IL-1; afecta la expresión génica inducida por la IL-6.	-	1,5 \pm 1,2	(1,5–5,3) $\times 10^2$	102 \pm 2,8	-
IL-6	Pro- y anti-inflamatoria	Células B y T, monocitos, fibroblastos, células endoteliales	15,5 h	Inductora de la respuesta de fase aguda, así como respuestas inmunitarias celulares y humorales específicas.	8,5–14	22 \pm 8,6	0–27	0,3 \pm 0,1	8,5–14
IL-8	Proinflamatoria	Monocitos, macrófagos, células endoteliales, células epiteliales	24 min	Mediadores proinflamatorios que organizan el reclutamiento de leucocitos a sitios de inflamación.	24–36	9,4 \pm 3,7	(0,4–3,2) $\times 10^2$	-	-
IL-12	Proinflamatoria	Células fagocíticas, células microgliales y dendríticas	-	Diferenciación de células Th, síntesis de TNF- α , IFN- γ .	20–56	(1,2–10,2) $\times 10^2 \pm 4$	0–7,6	47	-
TNF- α	Proinflamatoria	Macrófagos, mastocitos, células <i>natural killer</i> (NK), células del músculo liso vascular, células T y B	18,2 min	Proinflamatoria, activación de neutrófilos, reabsorción ósea, anticoagulante, necrosis tumoral, activación y aumento de permeabilidad,	28–38	5,9 \pm 0,4	0–5,8	48 \pm 3,3	1,8 \pm 0,3

ESTADO ACTUAL DEL TEMA

				estimulación de moléculas de adhesión.					
IFN- γ	Proinflamatoria	Macrófagos, células Th1, células Tc, células B, NK, células del músculo liso vascular	-	Proinflamatoria, promueve respuestas inmunitarias Th1/secreción de citocinas asociadas a Th1, inhibe síntesis de matriz extracelular por expresión de MHC I en células del músculo liso.	(1,2–1,6) $\times 10^2$	7 \pm 2,5	0–7	42 \pm 3,6	0,4 \pm 0,2
IL-1RA	Antiinflamatoria	Monocitos/macrófagos, células dendríticas	4-6h	Inhibición de la activación celular mediada por IL-1 α e IL-1 β en el nivel del receptor celular de IL-1.	(1–1,7) $\times 10^2$	50 \pm 21	-	(3,9 \pm 0,9) $\times 10^3$	-
TGF- β	Antiinflamatoria	Monocitos/macrófagos, células endoteliales, plaquetas		Inhibición de la actividad celular de linfocitos T. Inhibición de la síntesis de citocinas.					
IL-4	Antiinflamatoria	Células T (Th2), mastocitos, células B, células estromales	20 min	Promueve el desarrollo de linfocitos Th2; inhibición de la síntesis de citocinas proinflamatorias inducida por lipopolisacáridos.	6,9–8,1	(2,3 \pm 0,5) $\times 10^2$	-	21 \pm 1,6	
IL-10	Antiinflamatoria	Monocitos/macrófagos, células T (Th2), células B	-	Inhibición de la producción de citocinas por monocitos/macrófagos y neutrófilos e inhibición de las respuestas de linfocitos tipo Th1.	8,5–17	38 \pm 2,1	0–10	37 \pm 0,9	8,5–17
IL-11	Antiinflamatoria	Células estromales, fibroblastos	-	Inhibe la respuesta de citocinas proinflamatorias por monocitos/macrófagos y promueve la respuesta de linfocitos Th2.					
IL-13	Antiinflamatoria	Células T (Th2)	-	Comparte homología con IL-4 y comparte el receptor de IL-4; atenuación de la respuesta de monocitos/macrófagos.	11–18	(1,1 \pm 0,2) $\times 10^2$	-	47 \pm 3,2	

Tabla 7. Resumen de las citocinas más relevantes con su función principal, vida media, funciones biológicas y concentraciones en diferentes fluidos corporales. Basada en la información recogida en: "Liu C, Chu D, Kalantar-Zadeh K, George J, Young HA, Liu G. *Cytokines: From Clinical Significance to Quantification. Advanced Science* 2021;8. <https://doi.org/10.1002/ADVS.202004433>."

3.2.4. Quimiocinas

3.2.4.1. Concepto

Las quimiocinas, pertenecientes a una subfamilia de las citocinas, son proteínas de pequeño tamaño (8-10kDa) secretadas por células. Su función principal es dirigir la migración en los tejidos, en un proceso conocido como quimiotaxis. A diferencia de otras citocinas, que pueden tener funciones muy variadas, las quimiocinas son principalmente conocidas por su capacidad para dirigir la migración de células, especialmente las células del sistema inmunológico [59,67,68], aunque también intervienen en la angiogénesis o ayudan en la diferenciación de células T [69].

Es importante señalar que, para que las células puedan responder a una quimiocina, deben expresar su receptor complementario. Estos receptores son proteínas transmembrana acopladas a proteínas G; cuya activación, tras la unión con la quimiocina correspondiente, desencadena una cascada de señales mediada por calcio, resultando en la activación de pequeñas GTPasas [69]. Este proceso conlleva a la generación de una señal intracelular que provoca efectos como la activación de integrinas (moléculas clave en la adhesión celular) y la polimerización de actina. Estas acciones conducen a la polarización celular, la formación de pseudópodos (proyecciones celulares) y finalmente el movimiento celular.

3.2.4.2. Clasificación

Las quimiocinas se pueden clasificar en familias según su estructura. Según la posición relativa de las dos primeras cisteínas cercanas a la región aminoterminal, las quimiocinas pueden agruparse en cuatro grandes familias: quimiocina CXC ligando (CXCL), quimiocina CC Ligando (CCL), quimiocina CX3C ligando (CX3CL) y quimiocina XC ligando (XCL).

Dentro de las cuatro grandes familias, la familiar más grande es la CCL, caracterizada por la presencia de residuos de cisteína adyacentes entre sí, mientras que en la familia CXCL las cisteínas están separadas por un aminoácido intermedio. Por otro lado, las dos familias más pequeñas, XCL y CX3CL, presentan particularidades estructurales: la familia XCL contiene únicamente dos residuos de cisteína, y la familia CX3CL tiene tres aminoácidos entre las cisteínas.

Además, según su forma de expresión las quimiocinas pueden clasificarse en dos grupos:

- **Constitutivas:** las quimiocinas constitutivas normalmente se producen en varios tejidos y reclutan leucocitos, principalmente linfocitos, hacia estos tejidos en ausencia de inflamación.
- **Inducidas:** las quimiocinas inducidas (o inflamatorias) son producidas por diversas células en respuesta a estímulos inflamatorios y para reclutar leucocitos en los sitios de inflamación.

3.2.5. Papel de las citocinas y quimiocinas en uveítis

Las citocinas y quimiocinas desempeñan un papel fundamental en las uveítis al ser mediadoras de la respuesta inmune, participando en la activación, proliferación y diferenciación de células inmunitarias y permitiendo la comunicación intercelular entre las diversas células del sistema inmune.

Clásicamente, las uveítis son consideradas una enfermedad mediada por células T, aunque se ha mostrado que las células B tienen un rol promotor en la enfermedad a través del efecto terapéutico del anticuerpo anti-CD20 específico para células B, rituximab, en algunos pacientes [70,71]. Dentro de las células T, existen dos subtipos principales, por un lado, los linfocitos citotóxicos, también conocidos como linfocitos CD8+ o Tc; y, por otro lado, los linfocitos colaboradores o *helper*, también conocidos como linfocitos CD4+ o Th.

Los linfocitos T CD4+ juegan un papel crítico en el sistema inmune ocular, ya que presentan como función principal lograr una respuesta inmune efectiva y regulada contra patógenos. Una vez que las células T CD4+ *naïve* interactúan con el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC), se activan y se multiplican en subtipos específicos, dependiendo principalmente del microambiente de citocinas, por lo que estas moléculas son cruciales en la polarización de las células Th [72]. Sin embargo, su interacción con otros factores como la concentración de antígenos y el tipo de células presentadoras de antígenos (APC) influye también en la diferenciación de las células T CD4+ *naïve* [73].

Clásicamente, dentro de los linfocitos T CD4+ se han diferenciado dos grandes subtipos. Por un lado, los linfocitos Th1, relacionados con la inmunidad celular, son productores de citocinas tipo 1, que incluyen la IL-2 y IFN- γ ; por otro lado, los linfocitos Th2, relacionados con la inmunidad humoral y respuestas alérgicas, productores de citocinas tipo 2, entre las que destaca la IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e IL-13 [72,73]. Además, nuevos subgrupos de linfocitos han sido descritos con funciones reguladoras, dentro de los que destacan los linfocitos Th9, Th17, Th22 y células Th foliculares, según las citocinas secretadas y factores de transcripción específicos [74]. El equilibrio entre las citocinas Th1 y Th2 es crucial para mantener un adecuado balance del sistema inmune.

Estudios clínicos y experimentales, sugieren que los linfocitos Th1 son fundamentales en la patogénesis de la uveítis. No obstante, bajo determinadas circunstancias, los linfocitos Th2 también pueden tener un rol importante. Igualmente, otros subgrupos de linfocitos con funciones reguladoras han sido relacionados con las uveítis, entre los que destacan los linfocitos Th17, productores de interleucina 17 (IL-17), interleucina 21 (IL-21) e interleucina 22 (IL-22), que se han postulado como responsables de la cronicidad de las uveítis [74]. En este balance del sistema inmune, la comunicación intercelular a través de las citocinas, es una pieza clave, por lo que cualquier alteración en ella puede llevar a la enfermedad.

Otro evento clave en la patogénesis de las uveítis es la migración de células inflamatorias hacia el tejido ocular, y es aquí donde la quimiotaxis juega un rol

fundamental, a través de las citocinas y quimiocinas [59,67,68]. Dentro de las quimiocinas destacan los estudios de la CXCL8/IL-8, caracterizada por su capacidad de inducir la migración y activación de células inflamatorias y su interacción con las células del endotelio vascular, siendo una señal esencial para dirigir los leucocitos hacia las áreas de inflamación. Previa a la migración de leucocitos hacia el tejido ocular es preciso que las células inflamatorias se adhieran al endotelio vascular, proceso que se encuentra estimulado por citocinas como la IL-1, el TNF- α e IFN- γ , que inducen las moléculas de adhesión en las células endoteliales uveales.

Con el fin de comprender este complejo diálogo intercelular y el papel de las citocinas y quimiocinas en las uveítis se desarrollaron modelos animales que han sido fundamentales en la investigación traslacional. Estudios iniciales señalaron la importancia del perfil de citocinas y quimiocinas en el desarrollo de las uveítis, donde se describió la elevación de determinadas citocinas durante las fases activas de las uveítis [75–77]. Además, se observó la relevancia del estado de equilibrio entre citocinas pro- y anti-inflamatorias, como, por ejemplo, la relación entre los niveles de IL-6 y el TGF- β 2, que presentan acciones antagonistas, durante las diferentes fases de la enfermedad[76]. Posteriormente, se mostraron diferencias en el perfil de citocinas en estudios en suero de pacientes con uveítis con diversas etiologías como la EB [58,78], la EA, o en vasculitis retiniana [79].

Múltiples estudios han evaluado el perfil de citocinas y quimiocinas en HA y HV, mostrando variaciones en el nivel de determinadas citocinas y quimiocinas en pacientes con uveítis, siendo la IL-6, el CXCL8/IL-8, el TNF- α , o la IL-10, las citocinas

más estudiadas [60,62,63,80–84]. No obstante, para la obtención de estas muestras se precisa de una prueba invasiva lo que ha limitado su aplicación en la práctica clínica diaria. Por ello, surge el interés del estudio del perfil de citocinas y quimiocinas en la PL y en la superficie conjuntival, a través de pruebas no invasivas.

3.2.6. Película lagrimal

La PL es definida como un fluido extracelular que cubre las células epiteliales de la superficie corneal y conjuntival, desempeñando un papel esencial en la superficie ocular, ya que proporciona lubricación, posee propiedades antimicrobianas y protectoras, y ejerce una función esencial en la nutrición de las células subyacentes [85–87]. Constituye la segunda barrera de protección de las estructuras oculares tras los párpados, y ambos forman parte de la superficie ocular que está en contacto con el medio ambiente externo. La producción media de lágrima está entre 0,5 y 2,0 μl por minuto, extendiéndose sobre la superficie ocular con cada parpadeo, que ocurre cada tres a seis segundos durante la vigilia [88].

La PL humana no es un fluido homogéneo, ya que está formada por varias capas, con propiedades y funciones particulares. Tradicionalmente, la PL se había descrito formada por tres capas, la lipídica, la acuosa y la mucosa, cada una de las cuales tiene un origen distinto (**Imagen 2**) [89,90]. Sin embargo, el concepto más actual de la PL es de un modelo bicapa, en el que la transición entre las diferentes estructuras está condicionada por la variación en la concentración de sus distintos componentes [91].

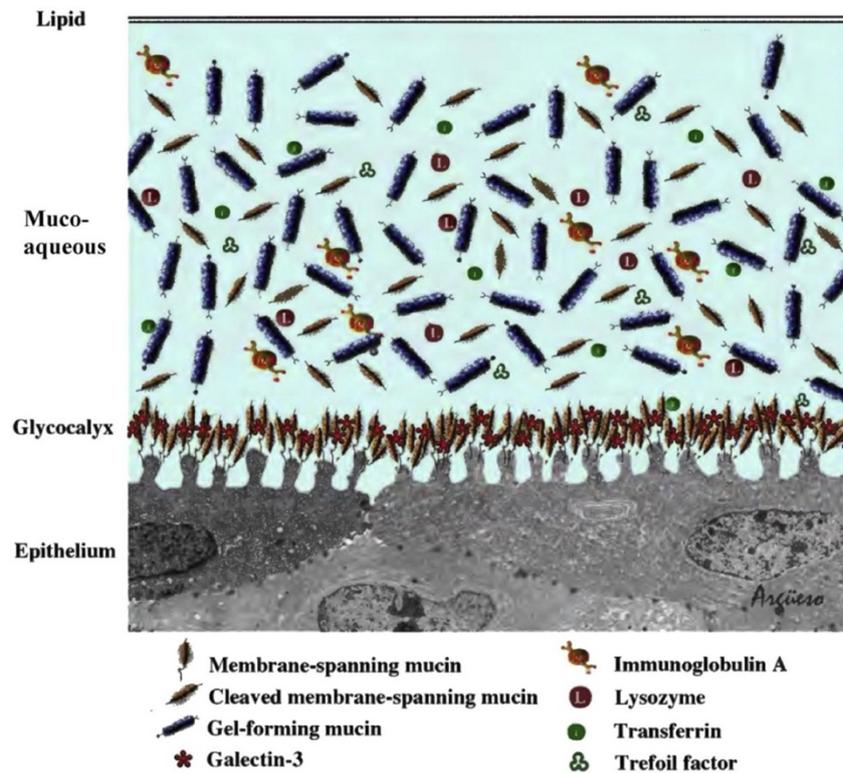


Imagen 2: Imagen esquemática de las diferentes capas que componen la película lagrimal. Imagen obtenida de: "Willcox MDP, Argüeso P, Georgiev GA, Holopainen JM, Laurie GW, Millar TJ, et al. TFOS DEWS II Tear Film Report. *Ocul Surf* 2017;15:366. <https://doi.org/10.1016/j.jtos.2017.03.006>."

En el modelo actual de PL no existe una separación clara entre las capas mucosa y acuosa. Sus componentes están mezclados y relacionados en una estructura compleja en forma de gel hidromucínico [92], en donde existe un gradiente de concentración decreciente hacia la superficie de mucinas y otros componentes de la PL. En la superficie ocular no existen mucinas insolubles, indispensables para la existencia de una capa mucosa definida, como ocurre en otras localizaciones del organismo [93], ya que las mucinas secretadas en la PL por las células caliciformes y epiteliales conjuntivales son solubles y se encuentran dispersas en la capa acuosa [93,94]. Por lo tanto, en la actualidad la PL se entiende como una estructura bicapa,

constituida por la estructura más externa, la capa lipídica, y la interna conocida como gel hidromucínico [91].

En condiciones fisiológicas, el volumen del fluido lagrimal se encuentra entre los 5 a 10 ml [95] y la tasa de recambio de lágrimas es de 1–3 $\mu\text{l}/\text{minuto}$ en circunstancias normales, aunque puede aumentar considerablemente al ser estimulada por irritantes o en respuesta a emociones [87].

La producción de la PL depende de la unidad funcional lagrimal (UFL), compuesta por las glándulas secretoras de lágrimas (glándulas lagrimales principales y accesorias, glándulas de Meibomio, células caliciformes conjuntivales), el epitelio superficial, los párpados, el sistema de drenaje lagrimal, el sistema inmunológico glandular y mucoso, y la interconexión nerviosa [87]. La UFL regula la producción, liberación y eliminación de las lágrimas permitiendo mantener un entorno homeostático en la superficie ocular [96]. El componente neural de la UFL comienza en la córnea, la cual se encuentra altamente inervada, iniciando una vía nerviosa aferente hacia el sistema nervioso central, incluido el tronco cerebral y la corteza cerebral. Estos nervios aferentes, junto con los centros emocionales en el cerebro, se proyectan hacia los nervios eferentes para estimular la producción de lágrimas y el parpadeo. Tanto las glándulas lagrimales principales y accesorias, como las células caliciformes conjuntivales y las glándulas de Meibomio, reciben información a través de las vías nerviosas eferentes, permitiendo que la producción de los principales componentes de la PL se encuentre estrechamente controlada, con el fin de mantener una composición lagrimal normal y homeostática [96].

Cabe destacar que tanto el flujo lagrimal basal, como las lágrimas reflejas tienen aportes de la glándula lagrimal principal, con la contribución de las glándulas lagrimales accesorias en la secreción basal [97]. Las lágrimas reflejas se secretan como resultado de la activación de los nervios corneales ante un estímulo irritante.

A pesar de su pequeño volumen, la lagrime es extremadamente compleja en su composición. Contiene oxígeno y electrolitos, pero también péptidos antimicrobianos e inmunoglobulinas solubles, como la A o la G, que protegen la superficie ocular de las infecciones, así como interleucinas, tales como IL-1 β , IL-6 e IL-8, que promueven reacciones inmunológicas frente a la infección [98]. Las proteínas quelantes del hierro como la lipocalina, lactoferrina y transferrina actúan como bacteriostáticos, al eliminar el hierro libre imprescindible para la replicación bacteriana [99,100]. Otras moléculas presentes son las proteínas surfactantes (SP) -B y -C, que afectan a las propiedades de extensión y la estabilidad de la PL y las SP-A y D, que son péptidos inmunomoduladores [101,102].

La PL es también una fuente de oxígeno para la córnea, y las especies reactivas de oxígeno (ROS) originadas en las reacciones metabólicas se neutralizan mediante enzimas como la catalasa, la superóxido dismutasa y la glutatión peroxidasa [103]. Mencionar también a la lacritina, que es una proteína lagrimal que promueve la secreción basal de lágrimas y estimula el crecimiento de las células del epitelio corneal [104].

En total, se han detectado más de 1800 proteínas/péptidos, electrolitos, lípidos y metabolitos de moléculas pequeñas. Dado que las lágrimas representan el resultado final de la UFL [96,97,105] las variaciones en la composición de las lágrimas son una fuente ideal para descubrir biomarcadores. Por ello existe una amplia variedad de estudios que han demostrado como enfermedades oculares o sistémicas pueden alterar la composición de la PL, tales como el ojo seco [106–108], el síndrome de Sjögren [109,110], la retinopatía diabética [111] o el cáncer, entre otras.

Esto ha llevado al estudio del perfil de citocinas y quimiocinas en la PL en pacientes con uveítis con resultados prometedores, aunque controvertidos como se discutirá en secciones posteriores [112–120].

3.2.7. Mucosa conjuntival

La conjuntiva es un tejido mucoso que forma parte de la superficie ocular. Es una membrana mucosa transparente que se extiende desde el limbo hasta el fondo del saco conjuntival, cubriendo gran parte de la esclerótica, y posteriormente tapizando la superficie interna de los párpados.

Anatómicamente, se la divide en:

- Conjuntiva bulbar: mucosa conjuntival que recubre el globo ocular extendiéndose desde el área limbar hasta el fondo de saco. Esta área de la conjuntiva se encuentra anclada laxamente a la cápsula

de Tenon subyacente, excepto en el área limbar donde ambas capas se fusionan.

- Conjuntiva del fondo de saco o fórnix: es el área de unión entre la conjuntiva bulbar y palpebral, formándose un repliegue conjuntival laxo.
- Conjuntiva palpebral: insertándose en las placas tarsales posteriores, se extiende hasta la unión mucocutánea del margen palpebral.

Histológicamente, es un tejido similar a otras mucosas, como la mucosa intestinal o la del tracto respiratorio. Está formada por un epitelio estratificado no queratinizado y un tejido estromal subyacente, separados por una membrana basal denominada lámina propia.

- Epitelio estratificado no queratinizado: está compuesto por capas de células epiteliales, variando de 2 a 7 capas según la localización. La superficie de las células localizadas en la capa más externa presenta de manera característica una abundante cantidad de microvellosidades y micropliegues, así como un característico glicocálix, lo que aumenta la superficie de contacto y favorece la estabilidad de la PL.
- Lámina propia: consiste en un tejido conectivo laxo donde se encuentra una gran cantidad de células del sistema inmunitario.

- Estroma conjuntival: está compuesto a su vez por dos capas, una capa linfoide más superficial, y una capa fibrosa profunda, con gran abundancia de vasos y nervios.
- Epitelio conjuntival: es una continuación del epitelio corneal y limbar, aunque se diferencia por la gran densidad de células caliciformes, que representa entre el 5-10% del total de células. Estas células, de forma redondeada, se encuentran especializadas en la secreción de diferentes tipos de mucinas, fundamentales en el mantenimiento de la superficie ocular y la producción de grandes cantidades de TGF- β [121].

La conjuntiva cuenta con un sistema de respuesta inmune específico conocido como CALT (*conjunctiva-associated lymphoid tissue*), el cual, forma parte del grupo de tejidos linfoides asociado a mucosas, denominado MALT (*mucosa-associated lymphoid tissue*) debido a sus características y funciones comunes. Entre estas, destaca la mayor proporción de linfocitos T intraepiteliales CD8+ supresores/citotóxicos en comparación con los linfocitos T CD4+, que presentan un papel inmunoregulador. También presenta células presentadoras de antígenos que expresan MHC clase II; así como la presencia de células B, macrófagos y mastocitos, aunque en menor cantidad. Además, la lámina propia de la conjuntiva está densamente irrigada por vasos sanguíneos especializados conocidos como HEVs, del inglés *high endothelial venules*, siendo una muestra de la integración del tejido conjuntival en el sistema inmune.

Estas poblaciones celulares desempeñan un papel fundamental en la protección inmunológica de la superficie ocular, y suponen una vía de acceso sencilla para el estudio del sistema inmune en la superficie ocular.

Por ello se han desarrollado técnicas para el estudio de la superficie conjuntival y su evaluación en diferentes patologías oculares. Entre ellas, destaca la citología de impresión conjuntival (CIC), que es mínimamente invasiva, desarrollada de manera simultánea por dos grupos investigadores en 1977 [122,123]. Esta técnica facilita la toma de muestras de las capas más superficiales del epitelio de la superficie ocular, lo que permite su análisis mediante diversos métodos, como técnicas histológicas, inmunohistológicas, y procedimientos moleculares [124,125].

Durante los últimos años la CIC se ha convertido en una herramienta clave para la comprensión de la fisiopatología de las enfermedades de la superficie ocular, encontrándose su mayor campo de aplicación en el estudio de la patología del ojo seco [125].

Pese a ser una técnica accesible en pacientes con uveítis, permitiendo el acceso al sistema inmune conjuntival de manera directa, pocos han sido los estudios que se han realizado evaluando los cambios en el sistema inmune en la superficie conjuntival [126].

Por otro lado, recientes investigaciones han demostrado la posibilidad de obtención de suficiente cantidad de ácido ribonucleico (ARN) a través de la CIC,

para análisis con técnicas como la PCR, lo que ha permitido abrir una nueva área de investigación [46,127]. Con referencia a las uveítis, el análisis de ARN es un área de creciente interés. Los niveles de ARNm son un índice útil de la producción de proteínas para muchas citocinas [128], ya que la regulación de la expresión génica para estas moléculas ocurre principalmente a nivel de la transcripción, permitiendo el estudio de la producción local de citocinas y el perfil de citocinas en las uveítis [128].

4. MATERIAL Y MÉTODOS

Para el desarrollo de esta tesis doctoral se realizaron dos estudios analíticos longitudinales prospectivos y observacionales sobre dos grupos independientes de pacientes con uveítis, tal y como se describe a continuación.

4.1. Material y métodos. Estudio I. Estudio de citocinas y quimiocinas en película lagrimal y plasma

4.1.1. Diseño

Se diseñó un estudio analítico longitudinal prospectivo observacional.

4.1.2. Pacientes

Los pacientes con uveítis anteriores se seleccionaron entre los pacientes del Hospital Clínico Universitario de Valladolid (HCUV) y del Instituto Universitario de Oftalmobiología Aplicada (IOBA) de la Universidad de Valladolid que cumplieran los criterios de inclusión y exclusión establecidos.

El estudio fue aprobado por los comités éticos del IOBA y del HCUV, bajo los principios de la Declaración de Helsinki. Los participantes del estudio fueron seleccionados entre los pacientes que asistieron a la Unidad de Inmunología Ocular y Uveítis tanto del IOBA como del HCUV con uveítis activa entre julio de 2018 y enero de 2020. Se obtuvo el consentimiento informado de cada participante.

La evaluación clínica fue realizada por la Dra. Lidia Cocho Archiles y/o el Dr. Luis García Onrubia, valorando los mismos parámetros clínicos: la agudeza visual mejor corregida (AVMC) en formato logMAR, células en cámara anterior evaluado con lámpara de

hendidura, *flare* en la cámara anterior, y presión intraocular. Todos los pacientes fueron evaluados según los criterios propuestos por el Grupo de SUN [11]. En el caso de uveítis bilateral, solo se incluyó el ojo más afectado.

Los pacientes seleccionados presentaban un diagnóstico clínico de uveítis anterior activa en la primera visita y comenzaron a usar tratamiento tópico con colirios de dexametasona al 0,1% seis veces al día y ciclopléjico al 1% tres veces al día hasta lograr la supresión de la inflamación, momento en el que se retiró el colirio ciclopléjico al 1% y se inició una pauta descendente de dexametasona al 0,1%. Las visitas del estudio se llevaron a cabo al inicio y en las semanas 2, 6, 12 y 24. La presencia de células en la cámara anterior en más de 1+ al menos tres meses después del final del tratamiento con corticosteroides se consideraron como uveítis activa y dichos pacientes se excluyeron del estudio [11].

Los criterios de exclusión incluyeron la presencia de cualquier otra enfermedad activa de la superficie ocular en el momento de la toma de la muestra, como conjuntivitis infecciosa, queratitis, alergia ocular o enfermedad de Sjögren, y la presencia de uveítis activa durante la última visita.

4.1.3. Recolección de muestras de lágrimas

Se obtuvieron muestras de lágrimas individuales del ojo con uveítis anterior activa en la primera visita, e inactiva en la última visita. Siguiendo la técnica previamente descrita por nuestro grupo [129], se utilizó un tubo de vidrio capilar (Drummond Scientific Co., Broomall, PA, EE. UU.) para recoger una muestra de lágrima de 1 μ L en el canto externo

del ojo, evitando en la medida de lo posible el reflejo lagrimal. Posteriormente, la muestra recolectada se diluyó a una proporción de 1:10 en un tubo estéril que contenía un tampón de ensayo de citocinas (Millipore Ibérica, Madrid, España) y se almacenó a -80°C hasta su análisis. Las muestras se obtuvieron unilateralmente del mismo ojo en la fase activa e inactiva.

4.1.4. Recolección de muestras de plasma

Se tomó una muestra de sangre venosa de la vena ante-cubital. Las muestras de sangre se colocaron inmediatamente en tubos individuales de Eppendorf (Eppendorf, Fremont, CA, EE. UU.) y se centrifugaron a 6.000 rpm durante cinco minutos a 4°C. las muestras de plasma se almacenaron a -80°C hasta su análisis.

4.1.5. Análisis de citocinas y quimiocinas en lágrimas y plasma

Se determinó la presencia y concentración de 12 moléculas tanto en las muestras de lágrimas como en plasma mediante tecnología multiplex immunobead-based array (Milliplex 12x-Human Cytokine/TH17 Magnetic Bead Panel, SPR (1504); Millipore, Watford, Reino Unido), utilizando un sistema Luminex IS-100 (Luminex Corporation, Austin, TX, EE. UU.). Las siguientes moléculas fueron analizadas: factor de crecimiento epidérmico (EGF), quimioquina (motivo C-X3-C) ligando 1 (Fractalquina/CX3CL1), IL-1RA, IL-1 β , IL-17A, IL-2, IL-23, IL-6, IL-8, quimiocina inducida por interferón *gamma* 10 (IP-10/CXCL10), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y TNF- α .

Las muestras se analizaron, como en investigaciones previas, siguiendo el protocolo del fabricante y teniendo en cuenta las modificaciones requeridas para ensayos de bajo

volumen en el caso del análisis de muestras de lágrimas [129]. En resumen, se incubaron 10 μL de una muestra de lágrima diluida 1:10 y 25 μL de una muestra de plasma no diluida con 25 μL de cuentas de captura recubiertas con anticuerpos durante 12 horas a 4°C.

Los datos recopilados se almacenaron y analizaron utilizando el software *bead view* (Upstate-Millipore, Dundee, Reino Unido). Las concentraciones mínimas detectables (proporcionadas por el fabricante del ensayo) fueron (en pg/mL) EGF: 4,47; fractalquina/CX3CL1: 4,27; IL-1RA: 10,97; IL-1 β : 0,4; IL-17A: 0,25; IL-2: 0,3; IL-23: 28,6; IL-6: 1,1; IL-8: 0,4; IP-10: 1,14; VEGF: 2,6; TNF- α : 1,1.

4.1.6. Análisis Estadístico

El análisis estadístico fue realizado usando el software R (Fundación R para el Cómputo Estadístico, Viena, Austria).

Para el análisis estadístico, en casos donde la molécula analizada no era detectable, se utilizó un método de imputación basado en regresión para valores faltantes, utilizando un algoritmo de imputación multivariante por ecuaciones encadenadas [130]. En el análisis comparativo entre muestras, se tuvieron en cuenta las citocinas cuya concentración fue detectada en al menos el 60% de las muestras activas y/o inactivas. Los datos de concentración de citocinas se transformaron utilizando la escala logarítmica base 2. Los resultados se expresan como media \pm desviación estándar (DE) a menos que se indique lo contrario. Las suposiciones de normalidad fueron verificadas mediante la prueba de Shapiro-Wilk.

La comparación entre muestras se realizó usando ya sea la prueba t de Student de 2 colas apareadas para datos paramétricos o la prueba de suma de rangos con signo de Wilcoxon, la respectiva prueba no paramétrica. Para la correlación entre los niveles de citocinas y quimiocinas en PL y plasma en fase activa e inactiva de la enfermedad se realizó con el test de Spearman. Se consideraron significativos los valores de $P < 0,05$.

4.2. Material y métodos. Estudio II. Estudio de expresión génica en superficie conjuntival

4.2.1. Diseño

Al igual que el anterior, se diseñó un estudio analítico longitudinal prospectivo observacional.

4.2.2. Pacientes

Los pacientes con uveítis se seleccionaron de entre pacientes del HCUV y del IOBA de la Universidad de Valladolid que cumplieran los criterios de inclusión y exclusión establecidos.

El estudio fue aprobado por los comités éticos del IOBA y del HCUV, bajo los principios de la Declaración de Helsinki. Los participantes del estudio fueron seleccionados entre los pacientes que asistieron a la Unidad de Inmunología Ocular y Uveítis tanto del IOBA como del HCUV con uveítis activa entre julio de 2020 y enero de 2023. Se obtuvo el consentimiento informado de cada participante.

La evaluación clínica siempre fue realizada por la Dra. Milagros Mateos Olivares, la Dra. Lidia Cocho Archiles y/o el Dr. Luis García Onrubia, evaluando los mismos parámetros clínicos: la AVMC en formato logMAR, células en cámara anterior evaluado con lámpara de hendidura, *flare* en la cámara anterior, y presión intraocular. Todos los pacientes fueron evaluados según los criterios propuestos por el Grupo de SUN [11]. En el caso de uveítis bilateral, solo se incluyó el ojo más afectado.

Los pacientes seleccionados presentaban un diagnóstico clínico de uveítis anterior activa en la primera visita y comenzaron a usar tratamiento tópico con colirios de dexametasona al 0,1% seis veces al día y ciclopléjico al 1% tres veces al día hasta lograr la supresión de la inflamación, suspendiendo posteriormente el colirio ciclopléjico al 1% y realizando una pauta descendente de dexametasona al 0,1%. Las visitas del estudio se llevaron a cabo al inicio y en las semanas 2, 6, 12 y 24. La presencia de células en la cámara anterior en más de 1+ al menos tres meses después del final del tratamiento con corticosteroides se consideraron como uveítis activa y se excluyeron del estudio [11]. Por lo tanto, solo se incluyeron pacientes con uveítis inactiva en la última consulta clínica.

Los criterios de exclusión incluyeron la presencia de cualquier otra enfermedad activa de la superficie ocular en el momento de la recolección de la muestra, como conjuntivitis infecciosa, queratitis, alergia ocular o enfermedad de Sjögren, y la presencia de uveítis activa durante la última visita.

4.2.3. Recolección de muestras de células epiteliales a través de la citología de impresión conjuntival (CIC)

La recolección de muestras de células epiteliales conjuntivales se realizó mediante CIC bajo anestesia tópica. Los filtros de polietilsulfona (Supor 200, tamaño de poro: 0,20 μm , diámetro: 13 mm; Gelman Laboratory, Ann Arbor, MI, EE. UU.) se dividieron en dos mitades, estos se aplicaron suavemente en la conjuntiva bulbar superior y superior-temporal durante 10 segundos bajo presión moderada. A continuación, los filtros se suspendieron en 1 mL de buffer de lisis (Buffer RLT; Qiagen, Hilden, Alemania) que contenía 2-mercaptoetanol al 1% (Merck, KGaA, Darmstadt, Alemania) y se almacenaron a -80°C para el aislamiento posterior del ARN total.

4.2.4. Análisis de la Expresión Génica en Células Epiteliales Conjuntivales mediante PCR en Tiempo Real Cuantitativa (rPCRq)

El análisis de la expresión génica en células epiteliales conjuntivales mediante PCR cuantitativa en tiempo real (rPCRq) se llevó a cabo a través del aislamiento de ARN y la síntesis de ácido desoxirribonucleico complementario (ADNc). Para el aislamiento de ARN, se extrajo el ARN total de cada muestra de CIC utilizando un kit comercial (RNeasy Micro Kit, Qiagen) y se trató con ADNasa libre de ARNasa, siguiendo las instrucciones del fabricante.

La amplificación se realizó en un sistema de rPCRq 7500 (Applied Biosystems, Madrid, España) bajo las siguientes condiciones: 10 min a 95°C , seguido de 40 ciclos de 15 s a 95°C y 1 min a 60°C . La síntesis del primer hilo de ADNc se llevó a cabo a partir del ARN

total extraído, utilizando el kit comercial HT RT2 First Strand (Qiagen). Se generaron 100 nanogramos de ADNc por muestra.

El análisis génico mediante una matriz de rPCRq se realizó de acuerdo con las recomendaciones del fabricante utilizando una matriz personalizada Profiler (SuperArray SABioscience, Qiagen, Izasa, S.A., Barcelona, España) que utilizó detección de tinte SYBR Green I. Se determinó la expresión de 40 genes humanos: quimioquina (motivo C-C) ligando 2 (CCL2), quimioquina (motivo C-C) ligando 3 (CCL3), quimioquina (motivo C-C) ligando 4 (CCL4), quimioquina (motivo C-C) ligando 5 (CCL5), diferenciación de conglomerados 14 (CD14), factor estimulante de colonias 2 (CSF2), Fractalquina/CX3CL1, quimioquina (motivo C-X-C) ligando 10 (CXCL10), caja de genes de proteínas de unión *Forkhead P3* (FOXP3), proteína de unión GATA 3 (GATA3), HLA-B, Interferón *alpha* 1 (IFN- α 1), IL-10, subunidad p35 de la citocina IL-12 (IL-12A), subunidad p35 de la citocina IL-12 (IL-12B), IL-17A, IL-1 β , IL-1RA, IL-2, IL-21, subunidad p19 de la citocina IL-23 (IL-23A), receptor de interleucina 2 α (IL-2R α), IL-6, IL-6R, IL-8, metaloproteinasa de matriz 2 (MMP2), metaloproteinasa de matriz 9 (MMP9), miosina de cadena pesada de tipo cardíaco (MYOC), proteína 2 de unión a oligomerización del dominio de nucleótido (NOD2), componente relacionado con el receptor huérfano nuclear C (RORC), proteína S100 calcio unida A8 (S100A8), proteína S100 calcio unida A 9 (S100A9), amiloide sérico A1 (SAA1), factor de crecimiento transformante β 1 (TGF- β 1), factor de crecimiento transformante β 2 (TGF- β 2), factor de crecimiento transformante β 3 (TGF- β 3), receptor tipo Toll 4 (TLR4), TNF- α , transtiretina (TTR) y factor de crecimiento endotelial vascular A (VEGFA) (**Tabla 8**); junto con la expresión de un gen de referencia: gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH). Además, la matriz incluyó

un control para monitorizar la contaminación del ADN genómico, un control de transcripción inversa para la síntesis del primer hilo, dos controles de calidad de ARN para monitorizar la integridad del ARN y un control positivos de rPCRq para la eficiencia de la rPCRq.

Categoría	Genes
Señalización de citocinas y quimiocinas	CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CSF2, Fractalquina/CX3CL1, CXCL10, IL-10, IL-12A, IL-12B, IL-17A, IL-1B, IL-1RA, IL-2, IL-21, IL-23A, IL-2R α , IL-6, IL-6R, IL-8, TNF- α
Diferenciación y desarrollo celular	CD14
Regulación de respuesta inmune	RORC, MYOC
Presentación de antígeno	HLA-B
Respuesta ante patógenos	IFN- α 1, NOD2
Remodelación de la matriz extracelular	MMP2, MMP9
Regulación de transcripción	FOXP3, GATA3
Señalización y reparación de tejidos	TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3
Respuesta inflamatoria y señalización	S100A8, S100A9, SAA1
Respuesta inmunitaria innata	TLR4
Otros	VEGFA, TTR

Tabla 8: Genes analizados por rPCRq utilizando una matriz personalizada Profiler (SuperArray SABioscience, Qiagen, Izasa, S.A., Barcelona, España). CCL2: quimioquina (motivo C-C) ligando 2; CCL3: quimioquina (motivo C-C) ligando 3; CCL4: quimioquina (motivo C-C) ligando 4; CCL5: quimioquina (motivo C-C) ligando 5; CD14: diferenciación de conglomerados 14; CSF2: factor estimulante de colonias 2; fractalquina/CX3CL1: quimioquina (motivo C-X3-C) ligando 1; CXCL10: quimioquina (motivo C-X-C) ligando 10; FOXP3: caja de genes de proteínas de unión *Forkhead P3*; GATA3: proteína de unión GATA 3; HLA-B: antígeno leucocitario humano B; IFN- α 1: interferón α 1; IL-10: interleucina 10; IL-12A: subunidad p35 de la citocina IL-12; IL-12B: subunidad p35 de la citocina IL-12; IL-17A: interleucina 17A; IL-1 β : interleucina 1 β ; IL-1RA: antagonista del receptor de IL 1; IL-2: interleucina 2; IL-21: interleucina 21; IL-23A: subunidad p19 de la citocina IL-23; IL-2R α : receptor de interleucina 2 α ; IL-6: interleucina 6; IL-6R: receptor de interleucina 6; IL-8: interleucina 8; MMP2: metaloproteínasa de matriz 2; MMP9: metaloproteínasa de matriz 9; MYOC: miosina de cadena pesada de tipo cardíaco; NOD2: proteína 2 de unión a oligomerización del dominio de nucleótido; RORC: componente relacionado con el receptor huérfano nuclear C; S100A8: proteína S100 calcio unida A8; S100A9: proteína S100 calcio unida A9; SAA1: amiloide sérico A1; TGF- β 1: factor de crecimiento transformante β 1; TGF- β 2: factor de crecimiento transformante β 2; TGF- β 3: factor de crecimiento transformante β 3; TLR4: receptor tipo Toll 4; TNF- α : factor de necrosis tumoral α ; TTR: transtiretina; VEGFA: factor de crecimiento vascular endotelial A.

4.2.5. Análisis Estadístico

El análisis estadístico fue realizado usando el software R (Fundación R para el Cómputo Estadístico, Viena, Austria).

Para aquellos valores de expresión de mRNA que no fueron detectados ($Ct > 35$), se imputaron datos utilizando el método propuesto por McCall et al. [131], basado en el algoritmo de expectativa-maximización e implementado en el paquete '*non-detects*' del proyecto Bioconductor. La expresión relativa de los genes se determinó utilizando el método Ct (comparación del umbral de ciclo). El gen GAPDH se empleó como control interno para normalizar la expresión génica entre las muestras. Los análisis se realizaron con los paquetes ReadqPCR y NormqPCR, que permiten la gestión y normalización eficiente de los datos de qPCR.

Los modelos se ajustaron para cada gen individualmente con ΔCt como la variable dependiente, utilizando los paquetes HTqPCR [132]. Basándose en las estimaciones medias proporcionadas por nuestro modelo, se cuantificaron los efectos utilizando el paquete Emmeans [133].

El análisis de los cambios en la expresión génica entre las fases activa e inactiva de los pacientes se llevó a cabo mediante el método de $\Delta\Delta Ct$, empleando el gen GAPDH como referencia interna para la normalización de los datos. Esta estrategia permite calcular el factor de cambio relativo de cada molécula de interés, facilitando la cuantificación de la expresión génica comparativa entre ambas fases de la enfermedad. Los valores de factor de cambio fueron transformados a escala \log_2 para facilitar la interpretación, de modo

que valores positivos indiquen aumento en la expresión génica durante la fase activa de la enfermedad y valores negativos, una disminución. En cuanto a la comparación de expresión génica entre pacientes HLA-B27 positivos y negativos, los valores positivos indican un aumento de expresión en pacientes HLA-B27 positivos, mientras que los valores negativos reflejan una disminución.

En el análisis comparativo entre muestras, se tuvieron en cuenta las moléculas cuya expresión génica fue detectada en al menos el 60% de las muestras activas y/o inactivas. La comparación entre muestras se realizó usando ya sea la prueba t de Student de 2 colas apareadas para datos paramétricos o la prueba de suma de rangos con signo de Wilcoxon, la respectiva prueba no paramétrica.

Asimismo, para la comparación de la tasa de detección se empleó el test de McNemar para datos apareados, y el test exacto de Fisher para datos no apareados. La significancia estadística se estableció en $P < 0,05$.

5. RESULTADOS

5.1. Resultados estudio perfil de citocinas en película lagrimal y plasma acorde a la actividad de la uveítis

5.1.1. Resultados demográficos

Con respecto al primer estudio realizado en el que se evaluó el perfil de citocinas y quimiocinas en fase activa e inactiva, se reclutaron 36 pacientes en total de los cuales 18 fueron excluidos por diversas razones, como: la incapacidad para recolectar lágrimas en 6 pacientes, la presencia de uveítis intermedia o posterior activa en 4 pacientes, enfermedad activa en la última cita de seguimiento en 6, y una condición concomitante en la superficie ocular en 2 pacientes. Los datos demográficos de los pacientes incluidos se encuentran en la **tabla 9**.

Datos demográficos pacientes con uveítis	
Edad media (± DE)	52,5 (± 12,2)
Sexo n (%)	
Hombre	8 (44,4)
Mujer	10 (55,6)
Distribución n (%)	
Unilateral	15 (83,3)
Bilateral	3(16,7)
Diagnóstico de base n (%)	
Espondilitis anquilosante	3 (16,7)
Uveítis herpética	3 (16,7)
Artritis psoriasica	1 (5,5)
Iridocicliitis heterocrómica de Fuchs	1 (5,5)
Idiopática	10 (55,5)
Total n (%)	18 (100)

Tabla 9. Datos epidemiológicos y etiología de las uveítis. Estudio de citocinas y quimiocinas en la película lagrimal y plasma. DE: desviación estándar.

Por lo tanto, dieciocho pacientes con uveítis anterior fueron incluidos en el estudio, compuesto por 10 mujeres, lo que representa el 55,6%, y 8 hombres, equivalente al 44,4%; la edad promedio fue de 52,5 ± 12,2 años. Quince de las 18 muestras, lo que

corresponde al 83,3% de los pacientes, fueron de casos de uveítis anterior unilateral, mientras que las 3 muestras restantes, el 16,7%, provinieron de pacientes con uveítis anterior bilateral. En estos últimos casos, solo se consideró el ojo con la condición más grave.

Catorce pacientes no estaban recibiendo tratamiento sistémico en el momento de la recolección de muestras, ni durante el primer episodio, ni en el momento de la evaluación final. Tres muestras (16,7%) eran de pacientes en tratamiento antiviral sistémico en el momento de la recolección de muestras, ya sea durante el primer episodio o en el momento de la evaluación final. Uno (5,5%) estaba en tratamiento con un agente sistémico anti-TNF- α .

5.1.2. Porcentajes de detección de citocinas y quimiocinas en muestras de lágrimas

Siete de las 12 moléculas evaluadas en las muestras de lágrimas se detectaron en más del 60% de las muestras en la fase activa y/o inactiva, en concreto: EGF, fractalquina/CX3CL1, IL-1RA, IL-6, IL-8, IP-10 y VEGF. IL-6 se detectó en el 60,9% de las muestras de lágrimas en la fase activa, mientras que se detectó en el 30,4% de su fase inactiva correspondiente, siendo la diferencia estadísticamente significativa ($P < 0,05$) (Figura 1).

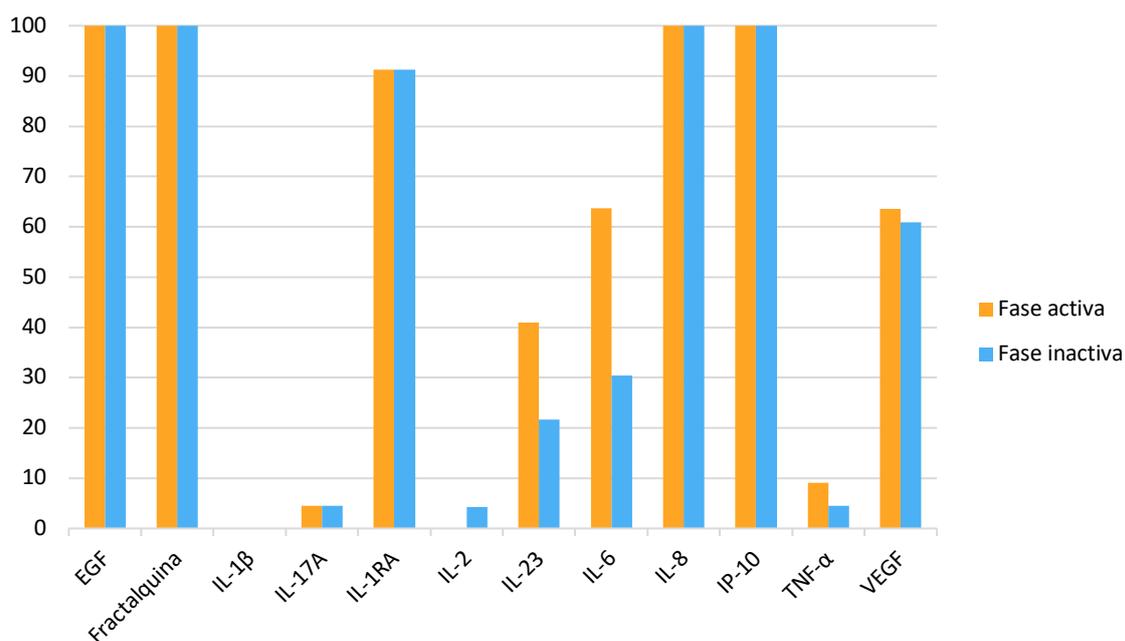


Figura 1: Porcentaje de detección citocinas en la película lagrimal en la fase activa e inactiva de las uveítis. EGF: factor de crecimiento epidérmico; fractalquina/CX3CL1: quimioquina (motivo C-X3-C) ligando 1; IL-1 β : interleucina 1 β ; IL-17A: interleucina 17A; IL-1RA: antagonista del receptor de IL 1; IL-2: interleucina 2; IL-23: interleucina 23; IL-6: interleucina 6; IL-8: interleucina 8; IP-10: quimioquina inducida por interferón *gamma* 10; TNF- α : factor de necrosis tumoral α ; VEGF: factor de crecimiento vascular endotelial.

5.1.3. Porcentajes de detección de citocinas y quimiocinas en muestras de plasma

Ocho de las 12 moléculas evaluadas en las muestras de plasma se detectaron en más del 60% de las muestras en la fase activa y/o inactiva: EGF, fractalquina/CX3CL1, IL-1RA, IL-6, IL-8, IP-10, TNF- α y VEGF (**Figura 2**).

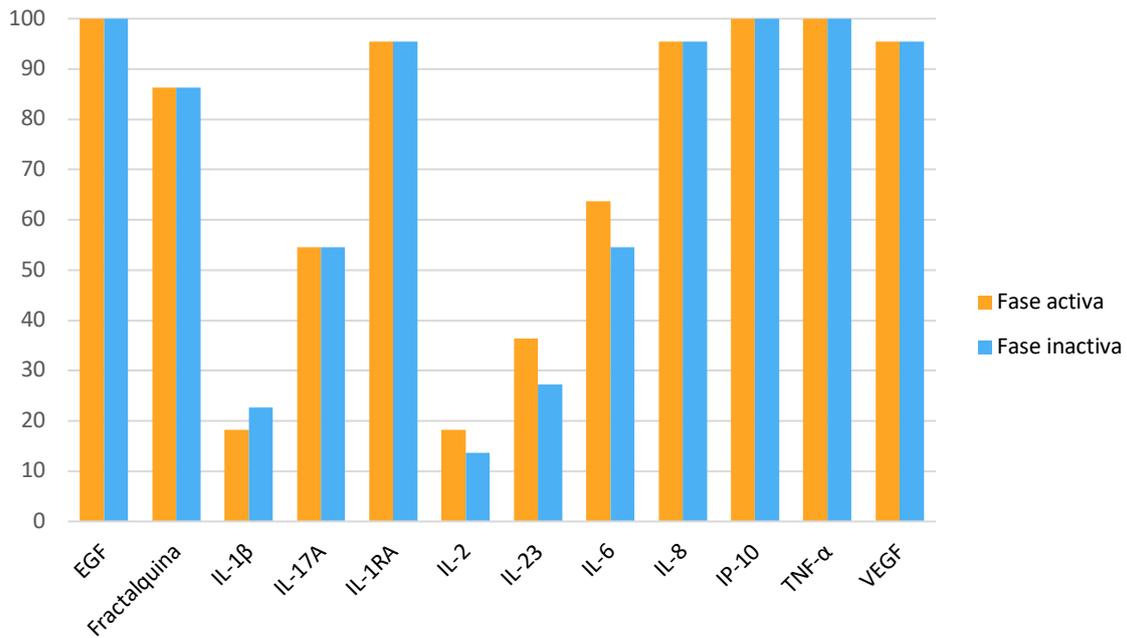


Figura 2: Porcentaje de detección citocinas en plasma en la fase activa e inactiva de las uveítis. EGF: factor de crecimiento epidérmico; fractalquina/CX3CL1: quimioquina (motivo C-X3-C) ligando 1; IL-1 β : interleucina 1 β ; IL-17A: interleucina 17A; IL-1RA: antagonista del receptor de IL 1; IL-2: interleucina 2; IL-23: interleucina 23; IL-6: interleucina 6; IL-8: interleucina 8; IP-10: quimioquina inducida por interferón *gamma* 10; TNF- α : factor de necrosis tumoral α ; VEGF: factor de crecimiento vascular endotelial.

5.1.4. Niveles de citocinas y quimiocinas en lágrimas según la actividad de la uveítis

Con respecto a la actividad de la uveítis, no hubo diferencias en la concentración en la PL de EGF, fractalquina/CX3CL1, IL-1RA, IL-8, IP-10, VEGF e IL-6 al comparar los períodos activos e inactivos (**Tabla 10**).

Nivel de citocinas y quimiocinas en lágrimas con respecto a la actividad de la uveítis			
	<i>Diferencia en concentración molecular, Media, pg/mL</i>		
	Uveítis activa Media ± DE (pg/ml)	Uveítis inactiva Media ± DE (pg/ml)	P valor
EGF	563,09 ± 22,70	625,90 ± 26,41	0,789
Fractalquina	1.633,50 ± 145,51	912,69 ± 150,12	0,181
IL-1RA	5592 ± 120,50	4.330,90 ± 134,80	0,653
IL-8	148,41 ± 34,90	187,40 ± 40,50	0,640
IP-10	8.745,45 ± 100,98	10.102,50 ± 150,76	0,655
VEGF	97,12 ± 9,90	98,12 ± 8,98	0,316
IL-6	34,68 ± 3,76	34,88 ± 1,70	0,396
†Wilcoxon test			

Tabla 10. Comparación en el nivel de citocinas y quimiocinas en la película lagrimal entre la fase activa e inactiva. DE: desviación estándar; EGF: factor de crecimiento epidérmico; fractalquina/CX3CL1: quimioquina (motivo C-X3-C) ligando 1; IL -1RA: antagonista del receptor de IL 1; IL-8: Interleucina 8; IP-10: quimiocina inducida por interferón *gamma* 10; VEGF: factor de crecimiento vascular endotelial; IL-6: interleucina 6.

5.1.5. Niveles de citocinas y quimiocinas en plasma según la actividad de la uveítis

En función de la actividad de la uveítis, no hubo diferencias en la concentración en plasma de EGF, fractalquina/CX3CL1, IL-1RA, IL-8, IP-10, TNF- α , VEGF e IL-6 al comparar los períodos activos e inactivos (**Tabla 11**).

Nivel de citocinas y quimiocinas en plasma con respecto a la actividad de la uveítis			
	<i>Diferencia en concentración molecular, Media, pg/mL</i>		
	Uveítis activa Media ± DE (pg/ml)	Uveítis inactiva Media ± DE (pg/ml)	P valor
EGF	167,93 ± 35,64	207,98 ± 25,68	0,572
Fractalquina	477,39 ± 46,51	426,57 ± 52,59	0,122
IL-1RA	26,10 ± 12,43	29,28 ± 10,31	0,116
IL-8	15,38 ± 10,41	16,30 ± 12,49	0,922
IP-10	306,78 ± 102,01	268,32 ± 90,95	0,952
TNF-α	7,94 ± 4,60	8,94 ± 3,70	0,842
VEGF	159,75 ± 30,89	169,38 ± 40,70	0,849
IL-6	13,06 ± 6,03	207,98 ± 25,68	0,731
†Test Wilcoxon			

Tabla 11. Comparación entre el nivel de citocinas y quimiocinas en plasma en la fase activa y fase inactiva. DE: desviación estándar; EGF: factor de crecimiento epidérmico; fractalquina/CX3CL1: quimioquina (motivo C-X3-C) ligando 1; IL-1RA: antagonista del receptor de IL 1; IL-8: interleucina 8; IP-10: quimiocina inducida por interferón *gamma* 10; TNF-α: factor de necrosis tumoral α; VEGF: factor de crecimiento vascular endotelial; IL-6: interleucina 6.

5.1.6. Comparación de las concentraciones de citocinas y quimiocinas en lágrimas y plasma medidas en la fase activa

Los niveles de EGF, fractalquina/CX3CL1, IL-1RA, IL-8, IP-10, TNF-α e IL-6 en la PL de pacientes con uveítis en su fase activa fueron diferentes de sus niveles correspondientes en plasma, siendo la diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$). Sin embargo, la diferencia entre los niveles de VEGF en lágrimas y plasma no fue estadísticamente significativa ($p > 0,05$) (**Tabla 12**).

Comparación de las concentraciones de citocinas en lágrimas y plasma en la fase activa			
	Concentración molecular , media, pg/mL		
	Lágrima Media ± DE (pg/ml)	Plasma Media ± DE (pg/ml)	P valor
EGF	563,09 ± 22,70	167,93 ± 35,64	0,000
Fractalquina	1.633,50 ± 145,51	477,39 ± 46,51	0,000
IL-1RA	5.592,02 ± 120,50	26,10 ± 12,43	0,000
IL-8	148,41 ± 34,90	15,38 ± 10,41	0,000
IP-10	8.745,45 ± 100,98	306,78 ± 102,01	0,000
TNF-α	-	7,84 ± 1,60	-
VEGF	97,12 ± 9,90	159,75 ± 30,89	0,815
IL-6*	34,68 ± 3,76	13,06 ± 6,03	0,000

†Wilcoxon test

Tabla 12. Comparación de los niveles de citocinas y quimiocinas entre la película lagrimal y el plasma durante la fase activa. EGF: factor de crecimiento epidérmico; fractalquina/CX3CL1: quimioquina (motivo C-X3-C) ligando 1; IL-1RA: antagonista del receptor de IL 1; IL-8: interleucina 8; IP-10: quimiocina inducida por interferón *gamma* 10; TNF-α: factor de necrosis tumoral-α; VEGF: factor de crecimiento vascular endotelial; IL-6: interleucina 6.

5.1.7. Comparación de la concentración de citocinas y quimiocinas en lágrimas y plasma en la fase inactiva

Los niveles de EGF, fractalquina/CX3CL1, IL-1RA, IL-8, IP-10 y TNF-α en la PL en pacientes con uveítis en su fase inactiva fueron diferentes de sus niveles correspondientes en plasma, siendo la diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$). Sin embargo, la diferencia entre los niveles de VEGF en lágrimas y plasma en fase inactiva no fue estadísticamente significativa ($p > 0,05$) (**Tabla 13**).

Comparación de las concentraciones de citocinas en lágrimas y plasma en la fase inactiva			
	Concentración molecular , media, pg/mL		
	Lágrima Media ± DE (pg/ml)	Plasma Media ± DE (pg/ml)	P valor
EGF	625,90 ± 26,41	207,98 ± 25,68	0,000
Fractalquina	912,69 ± 150,12	426,57 ± 52,59	0,000
IL-1RA	4.330,90 ± 134,80	29,28 ± 10,31	0,000
IL-8	187,40 ± 40,50	16,30 ± 12,49	0,000
IP-10	10.102,50 ± 150,76	268,32 ± 90,95	0,000
TNF-α	-	8,94 ± 3,70	-
VEGF	98,12 ± 8,98	169,38 ± 40,70	0,212

Tabla 13. Comparación de los niveles de citocinas y quimiocinas entre la película lagrimal y el plasma durante la fase inactiva. EGF: factor de crecimiento epidérmico; fractalquina/CX3CL1: quimioquina (motivo C-X3-C) ligando 1; IL-1RA: antagonista del receptor de IL 1; IL-8: interleucina 8; IP-10: quimiocina inducida por interferón *gamma* 10; TNF-α: factor de necrosis tumoral α; VEGF: factor de crecimiento vascular endotelial.

5.1.8. Correlación de la concentración de citocinas y quimiocinas en lágrimas y plasma según la actividad de la uveítis

Respecto a la actividad de la uveítis, no se observó una correlación estadísticamente significativa entre las concentraciones de EGF, fractalquina/CX3CL1, IL-1RA, IL-8, IP-10, VEGF e IL-6 en lágrima y plasma, ni en la fase activa ni en la inactiva (**Tabla 14**).

Correlación en el nivel de citocinas en lágrimas y plasma en la fase activa e inactiva		
Molécula	Correlación en fase activa (p-valor)	Correlación en fase inactiva (p-valor)
EGF	0,16 (0,52)	0,01 (0,97)
Fractalquina	-0,29 (0,24)	-0,08 (0,76)
IL-1RA	0,37 (0,13)	0,22 (0,37)
IL-8	0,32 (0,19)	0,11 (0,66)
IP-10	-0,43 (0,07)	-0,07 (0,77)
VEGF	0,12 (0,64)	0,03 (0,91)
IL-6	0,30 (0,23)	-0,08 (0,75)

Tabla 14. Correlación de los niveles de citocinas y quimiocinas entre la película lagrimal y el plasma durante la fase activa e inactiva de la enfermedad. EGF: factor de crecimiento epidérmico; fractalquina/CX3CL1: quimioquina (motivo C-X3-C) ligando 1; IL-1RA: antagonista del receptor de IL 1; IL-8: interleucina 8; IP-10: quimiocina inducida por interferón *gamma* 10; VEGF: factor de crecimiento vascular endotelial; IL-6: interleucina 6.

5.2. Resultados de la expresión génica en células epiteliales conjuntivales en pacientes con uveítis mediante CIC

5.2.1. Resultados demográficos

Con respecto al segundo estudio realizado, en el que se evaluó la expresión génica en células epiteliales de citocinas y quimiocinas relacionadas con las uveítis a través de CIC en fase activa e inactiva, se reclutaron 40 pacientes en total, de los cuales 23 fueron excluidos por diversas razones. Entre estas razones, se encuentra la imposibilidad de análisis de la muestra en 10 pacientes, la incapacidad para recoger la muestra en 5 pacientes, la presencia de actividad en la última cita de seguimiento en otros 6, y una condición concomitante en la superficie ocular en 2 pacientes. Los datos demográficos de los pacientes reclutados se encuentran en la **tabla 15**.

Datos demográficos pacientes con uveítis	
Edad media (\pm DE)	59,9 (\pm 14,4)
Sexo n (%)	
Hombre	5 (29,4)
Mujer	12 (70,6)
Distribución n (%)	
Unilateral	14 (82,4)
Bilateral	3 (17,7)
Diagnóstico de base n (%)	
Uveítis idiopática	8 (47,1)
Uveítis HLA-B27	5 (29,4)
Espondiloartritis anquilosante	1 (5,9)
Uveítis herpética	2 (11,8)
Enfermedad de Crohn	1 (5,9)
Total n (%)	17 (100)

Tabla 15. Datos epidemiológicos y etiología de las uveítis. Estudio de expresión génica en la superficie conjuntival. DE: Desviación estándar.

Por lo tanto, diecisiete pacientes con uveítis fueron incluidos en el estudio, de los cuales 12 eran mujeres, lo que representa el 70,6%, y 5 hombres, equivalente al 29,4%; la edad promedio fue de 59,9 ($\pm 14,4$) años. De las 17 muestras analizadas, 14, que corresponden al 82,4%, provenían de casos de uveítis unilateral, mientras que las 3 muestras restantes, el 17,7%, provenían de pacientes con uveítis bilateral. En estos últimos casos, solo se consideró el ojo con la condición más grave.

De los pacientes incluidos, 8 (47,1%) fueron diagnosticados con uveítis anterior idiopática, 5 (29,4%) con uveítis HLA-B27, 1 (5,9%) con espondiloartritis anquilosante, 2 (11,8%) con uveítis herpética, y 1 (5,9%) con enfermedad de Crohn. Únicamente, 2 pacientes (11,8%) estaban recibiendo tratamiento sistémico con un agente sistémico anti-TNF- α en el momento de la recolección de muestras.

En el análisis por subgrupos se dividió a los 17 pacientes acorde a su HLA-B27 en dos grupos. Las características demográficas de ambos grupos se encuentran en la **tabla 16**.

Datos demográficos pacientes con uveítis acorde a su HLA-B27			
	HLA-B27 negativo	HLA-B27 positivo	<i>P</i> valor
Edad media (\pm DE)	63,8 ($\pm 14,1$)	50,6 ($\pm 11,3$)	0,071
Sexo n			
Hombre/Mujer	5/8	0/5	0,261
Total, n (%)	12 (70,6)	5 (29,4)	

Tabla 16. Datos clínicos y demográficos de la uveítis acorde a su HLA-B27.

5.2.2. Porcentaje de detección ARNm de citocinas y quimiocinas en CIC acorde a actividad de la uveítis

Dieciséis de las 40 moléculas evaluadas en las muestras de lágrimas se detectaron en más del 60% de las muestras en la fase activa y/o inactiva: CCL4, CCL5, CD14, fractalquina/CX3CL1, IP-10, GATA3, HLA-B, IL-1RA, IL-8, RORC, S100A8, S100A9, SAA1, TGF- β 1, TNF- α y VEGFA. En las moléculas fractalquina/CX3CL1, IL-6R, NOD2, TGF- β 1, TLR4 y TNF- α la diferencia entre el porcentaje de detección en fase activa e inactiva fue estadísticamente significativa ($P < 0,05$), siendo en todas ellas el porcentaje de detección mayor en la fase activa (**Figura 3**).

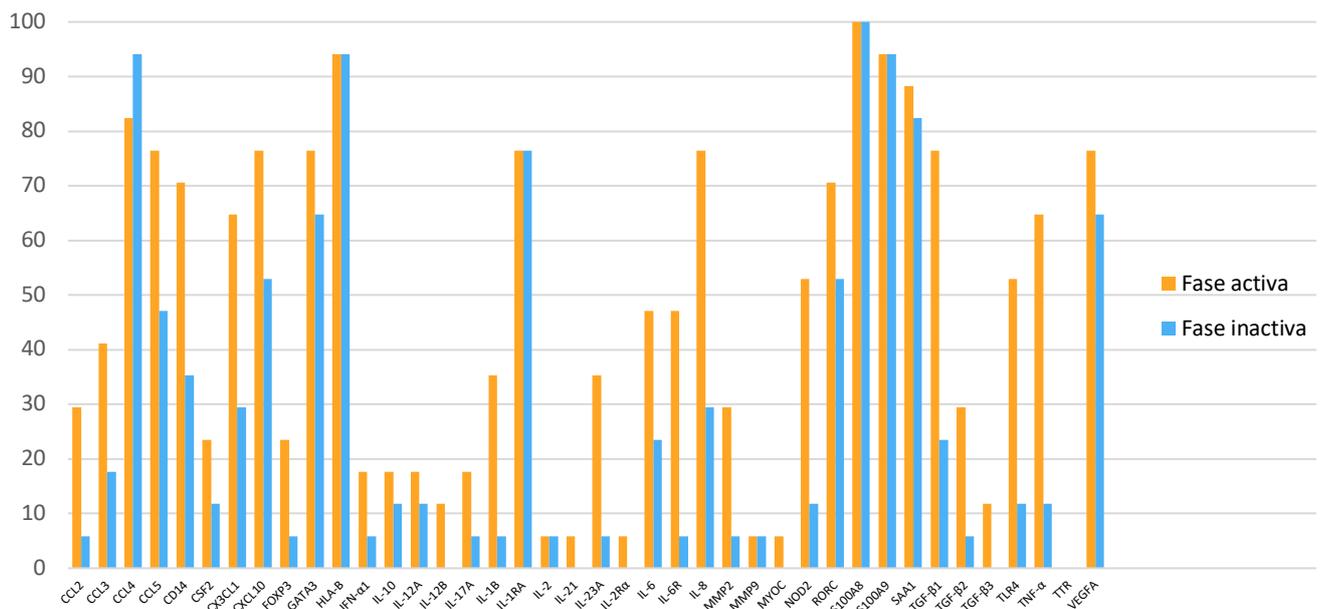


Figura 3. Porcentaje de detección de ARNm de citocinas y quimiocinas en las células epiteliales de la superficie conjuntival durante la fase activa e inactiva. CCL2: quimiocina (motivo C-C) ligando 2; CCL3: quimiocina (motivo C-C) ligando 3; CCL4: quimiocina (motivo C-C) ligando 4; CCL5: quimiocina (motivo C-C) ligando 5; CD14: diferenciación de conglomerados 14; CSF2: factor estimulante de colonias 2; Fractalquina/CX3CL1: quimiocina (motivo C-X3-C) ligando 1; CXCL10: quimiocina (motivo C-X-C) ligando 10; FOXP3: caja de genes de proteínas de unión *Forkhead P3*; GATA3: proteína de unión GATA 3; HLA-B: antígeno leucocitario humano B; IFNα1: interferón α 1; IL-10: interleucina 10; IL-12A: subunidad p35 de la citocina IL-12; IL-12B: subunidad p35 de la citocina IL-12; IL-17A: interleucina 17A; IL-1β: interleucina 1β; IL-1RA: antagonista del receptor de IL 1; IL-2: interleucina 2; IL-21: interleucina 21; IL-23A: subunidad p19 de la citocina IL-23; IL-2Rα: receptor de interleucina 2 α; IL-6: interleucina 6; IL-6R: receptor de interleucina 6; IL-8: interleucina 8; MMP2: metaloproteína de matriz 2; MMP9: metaloproteína de matriz 9; MYOC: miosina de cadena pesada de tipo cardíaco; NOD2: proteína 2 de unión a oligomerización del dominio de nucleótido; RORC: componente relacionado con el receptor huérfano nuclear C; S100A8: proteína S100 calcio unida A8; S100A9: proteína S100 calcio unida A9; SAA1: amiloide sérico A1; TGF-β1: factor de crecimiento transformante β1; TGF-β2: factor de crecimiento transformante β2; TGF-β3: factor de crecimiento transformante β3; TLR4: receptor tipo Toll 4; TNF-α: factor de necrosis tumoral α; TTR: transtiretina; VEGFA: factor de crecimiento vascular endotelial A.

5.2.3. Expresión génica de citocinas y quimiocinas según la actividad de la uveítis

Con respecto a la actividad de la uveítis, no hubo diferencias en la expresión génica en células de la conjuntiva bulbar de CCL4, CCL5, CD14, fractalquina/CX3CL1, CXCL10, GATA3, HLA-B, IL-1RA, IL-8, RORC, S100A8, S100A9, SAA1, TGF- β 1, TNF- α y VEGFA al comparar los períodos activos e inactivos (**Tabla 17**).

Expresión de genes acorde a la actividad de la uveítis		
Genes	Factor de cambio	P valor
CCL4	-0,97	0,327
CCL5	0,86	0,186
CD14	1,00	0,098
Fractalquina	0,96	0,172
CXCL10	1,20	0,152
GATA3	1,06	0,109
HLA-B	1,36	0,207
IL-1RA	0,01	0,994
IL-8	0,66	0,431
RORC	0,95	0,244
S100A8	1,87	0,071
S100A9	1,62	0,207
SAA1	0,83	0,410
TGF- β 1	1,15	0,120
TNF- α	0,34	0,782
VEGFA	1,03	0,071

Tabla 17. Expresión génica de las citocinas y quimiocinas durante la fase activa en comparación con la inactiva. CCL4: quimioquina (motivo C-C) ligando 4; CCL5: quimioquina (motivo C-C) ligando 5; CD14: diferenciación de conglomerados 14; Fractalquina/CX3CL1: quimioquina (motivo C-X3-C) ligando 1; CXCL10: quimioquina (motivo C-X-C) ligando 10; GATA3: proteína de unión GATA 3; HLA-B: antígeno leucocitario humano B; IL-1RA: antagonista del receptor de IL 1; IL-8: Interleucina 8; RORC: componente relacionado con el receptor huérfano nuclear C; S100A8: proteína S100 calcio unida A8; S100A9: proteína S100 calcio unida A9; SAA1: amiloide sérico A1; TGF- β 1: factor de crecimiento transformante β 1; TNF- α : factor de necrosis tumoral α ; VEGFA: factor de crecimiento vascular endotelial A.

5.2.4. Porcentaje de detección ARNm de citocinas y quimiocinas en CIC en fase activa e inactiva en pacientes con HLA-B27 negativo

Diecisiete de las 40 moléculas evaluadas en las muestras de lágrimas se detectaron en más del 60% de las muestras en la fase activa y/o inactiva en pacientes con HLA-B27 negativo: CCL4, CCL5, CD14, CX3CL1, CXCL10, GATA3, HLA-B, IL-1RA, IL-8, RORC, S100A8, S100A9, SAA1, TGF- β 1, TLR4, TNF- α y VEGFA. En las moléculas NOD2, TLR4 y TNF- α la diferencia entre el porcentaje de detección en fase activa e inactiva fue estadísticamente significativa ($P < 0,05$), siendo en todas ellas el porcentaje de detección mayor en la fase activa (**Figura 4**).

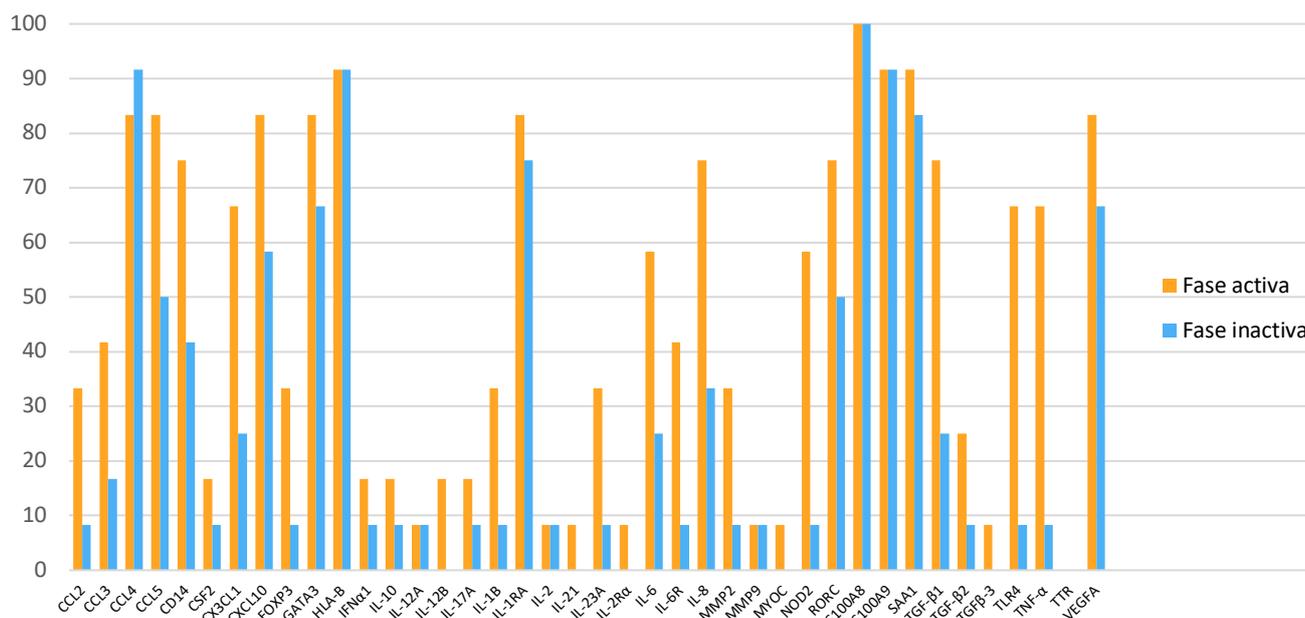


Figura 4. Porcentaje de detección de ARNm de citocinas y quimiocinas en las células epiteliales de la superficie conjuntival durante la fase activa e inactiva en pacientes con HLA-B27 negativo. CCL2: quimioquina (motivo C-C) ligando 2; CCL3: quimioquina (motivo C-C) ligando 3; CCL4: quimioquina (motivo C-C) ligando 4; CCL5: quimioquina (motivo C-C) ligando 5; CD14: diferenciación de conglomerados 14; CSF2: factor estimulante de colonias 2; Fractalquina/CX3CL1: quimioquina (motivo C-X3-C) ligando 1; CXCL10: quimioquina (motivo C-X-C) ligando 10; FOXP3: caja de genes de proteínas de unión *Forkhead P3*; GATA3: proteína de unión GATA 3; HLA-B: antígeno leucocitario humano B; IFNα1: Interferón α 1; IL-10: Interleucina 10; IL-12A: Interleucina 12A; IL-12B; IL-17A: Interleucina 17A; IL-1β: Interleucina 1β; IL-1RA: antagonista del receptor de IL 1; IL-2: Interleucina 2; IL-21: Interleucina 21; IL-23A: subunidad p19 de la citocina IL-23; IL-2Rα: receptor de interleucina 2 α; IL-6: Interleucina 6; IL-6R: Receptor de interleucina 6R; IL-8: Interleucina 8; MMP2: metaloproteínasa de matriz 2; MMP9: metaloproteínasa de matriz 9; MYOC: miosina de cadena pesada de tipo cardíaco; NOD2: proteína 2 de unión a oligomerización del dominio de nucleótido; RORC: componente relacionado con el receptor huérfano nuclear C; S100A8: proteína S100 calcio unida A8; S100A9: proteína S100 calcio unida A9; SAA1: amiloide sérico A1; TGF-β1: factor de crecimiento transformante β1; TGF-β2: factor de crecimiento transformante β2; TGF-β3: factor de crecimiento transformante β3; TLR4: receptor tipo Toll 4; TNF-α: factor de necrosis tumoral α; TTR: transtiretina; VEGFA: factor de crecimiento vascular endotelial A.

5.2.5. Expresión génica de citocinas y quimiocinas según la actividad de la uveítis en pacientes con HLA-B27 negativo

Conforme con la actividad de la uveítis en pacientes con HLA-B27 negativo, se detectaron diferencias en la expresión génica en células de la conjuntiva bulbar en 4 genes: CCL5, fractalquina/CX3CL1, TGF-β1 y VEGFA al comparar los períodos activos e

inactivos. Todos ellos mostraron una mayor expresión génica durante la fase activa de la enfermedad (**Tabla 18**).

Expresión de genes acorde a la actividad de la uveítis HLA-B27 -		
Genes	Factor de cambio	P valor
CCL4	0,20	0,970
CCL5	1,29	0,036
CD14	1,17	0,077
Fractalquina	1,61	0,017
CXCL10	1,64	0,095
GATA3	1,29	0,100
HLA-B	1,73	0,233
IL-1RA	0,72	0,339
IL-8	1,49	0,077
RORC	1,32	0,060
S100A8	1,86	0,301
S100A9	1,57	0,850
SAA1	1,14	0,392
TGF-β1	1,75	0,027
TLR4	0,14	0,919
TNF- α	0,92	0,297
VEGFA	1,54	0,007

Tabla 18. Expresión génica de las citocinas y quimiocinas durante la fase activa en comparación con la fase inactiva en pacientes con HLA-B27 negativo. CCL4: quimioquina (motivo C-C) ligando 4; CCL5: quimioquina (motivo C-C) ligando 5; CD14: diferenciación de conglomerados 14; Fractalquina/CX3CL1: quimioquina (motivo C-X3-C) ligando 1; CXCL10: quimioquina (motivo C-X-C) ligando 10; GATA3: proteína de unión GATA 3; HLA-B: antígeno leucocitario humano B; IL-1RA: antagonista del receptor de IL 1; IL-8: Interleucina 8; RORC: componente relacionado con el receptor huérfano nuclear C; S100A8: proteína S100 calcio unida A8; S100A9: proteína S100 calcio unida A9; SAA1: amiloide sérico A1; TGF- β 1: factor de crecimiento transformante β 1; TLR4: receptor tipo 4; TNF- α : factor de necrosis tumoral α ; VEGFA: factor de crecimiento vascular endotelial A.

5.2.6. Porcentaje de detección ARNm de citocinas y quimiocinas en CIC en fase activa e inactiva en pacientes con HLA-B27 positivo

Diecisiete de las 40 moléculas evaluadas en las muestras de lágrimas se detectaron en más del 60% de las muestras en la fase activa y/o inactiva en pacientes con HLA-B27 negativo: CCL4, CCL5, CD14, CX3CL1, CXCL10, GATA3, HLA-B, IL-1RA, IL-6R, IL-8, RORC, S100A8, S100A9, SAA1, TGF- β 1, TNF- α y VEGFA (**Figura 5**).

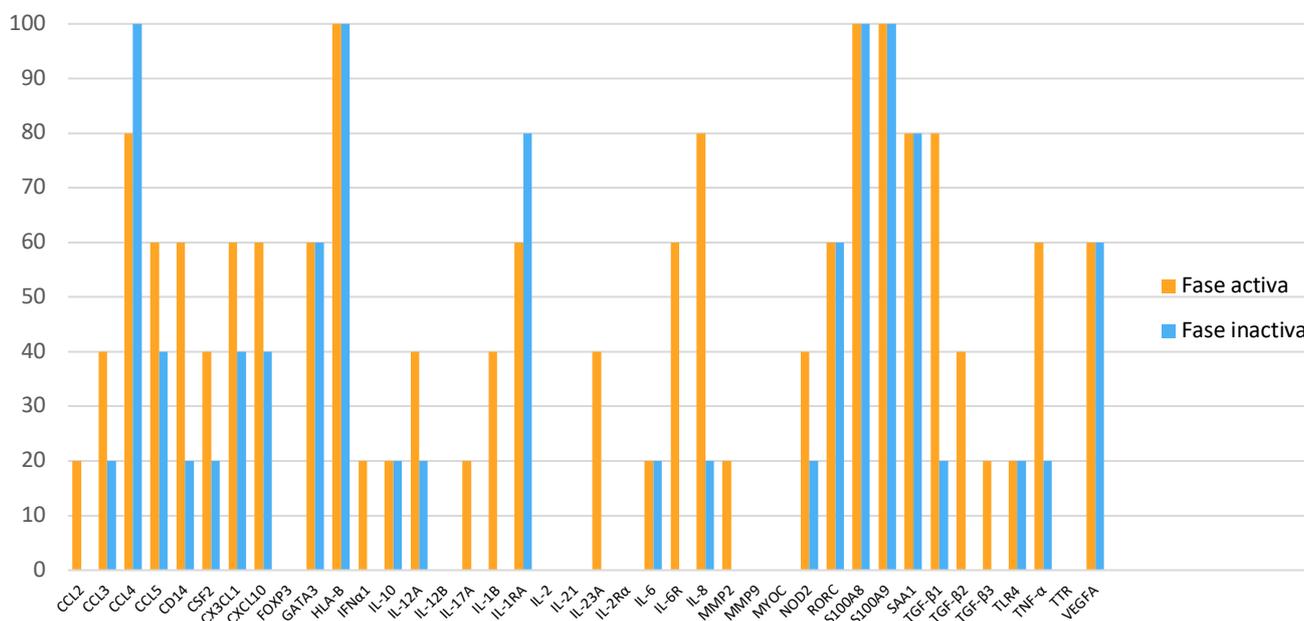


Figura 5. Porcentaje de detección de ARNm de citocinas y quimiocinas en las células epiteliales de la superficie conjuntival durante la fase activa e inactiva en pacientes con HLA-B27 positivo. CCL2: quimioquina (motivo C-C) ligando 2; CCL3: quimioquina (motivo C-C) ligando 3; CCL4: quimioquina (motivo C-C) ligando 4; CCL5: quimioquina (motivo C-C) ligando 5; CD14: diferenciación de conglomerados 14; CSF2: factor estimulante de colonias 2; Fractalquina/CX3CL1: quimioquina (motivo C-X3-C) ligando 1; CXCL10: quimioquina (motivo C-X-C) ligando 10; FOXP3: caja de genes de proteínas de unión *Forkhead P3*; GATA3: proteína de unión GATA 3; HLA-B: antígeno leucocitario humano B; IFNα1: Interferón α 1; IL-10: Interleucina 10; IL-12A: subunidad p35 de la citocina IL-12; IL-12B: subunidad p35 de la citocina IL-12; IL-17A: Interleucina 17A; IL-1β: Interleucina 1β; IL-1RA: antagonista del receptor de IL 1; IL-2: Interleucina 2; IL-21: Interleucina 21; IL-23A: subunidad p19 de la citocina IL-23; IL-2Rα: receptor de interleucina 2 α; IL-6: Interleucina 6; IL-6R: Receptor de interleucina 6R; IL-8: Interleucina 8; MMP2: metaloproteinasa de matriz 2; MMP9: metaloproteinasa de matriz 9; MYOC: miosina de cadena pesada de tipo cardíaco; NOD2: proteína 2 de unión a oligomerización del dominio de nucleótido; RORC: componente relacionado con el receptor huérfano nuclear C; S100A8: proteína S100 calcio unida A8; S100A9: proteína S100 calcio unida A9; SAA1: amiloide sérico A1; TGF-β1: factor de crecimiento transformante β1; TGF-β2: factor de crecimiento transformante β2; TGF-β3: factor de crecimiento transformante β3; TLR4: receptor tipo Toll 4; TNF-α: factor de necrosis tumoral α; TTR: transtiretina; VEGFA: factor de crecimiento vascular endotelial A.

5.2.7. Expresión génica de citocinas y quimiocinas según la actividad de la uveítis en pacientes con HLA-B27 positivo

Considerando la actividad de la uveítis en pacientes con HLA-B27 positivo, se detectaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) en la expresión génica en células de la conjuntiva bulbar en el gen S100A9 al comparar los períodos activos e inactivos,

mostrando una mayor expresión génica en fase activa comparada con la fase inactiva de la enfermedad (**Tabla 19**).

Expresión de genes acorde a la actividad de la uveítis HLA-B27 +		
Genes	Factor de cambio	P valor
CCL4	-1,60	0,171
CCL5	-0,15	0,940
CD14	0,61	0,671
CX3CL1	-0,62	0,746
CXCL10	0,18	0,924
GATA3	0,50	0,680
HLA-B	-0,45	0,607
IL-1RA	-1,69	0,430
IL-6R	-1,15	0,577
IL-8	-1,29	0,438
RORC	-0,06	0,969
S100A8	1,74	0,081
S100A9	1,91	0,031
SAA1	0,10	0,949
TGF- β 1	-0,30	0,870
TNF- α	-1,00	0,630
VEGFA	-0,18	0,904

Tabla 19. Expresión génica de las citocinas y quimiocinas durante la fase activa e inactiva en pacientes con HLA-B27 positivo. CCL4: quimioquina (motivo C-C) ligando 4; CCL5: quimioquina (motivo C-C) ligando 5; CD14: diferenciación de conglomerados 14; Fractalquina/CX3CL1: quimioquina (motivo C-X3-C) ligando 1; CXCL10: quimioquina (motivo C-X-C) ligando 10; GATA3: proteína de unión GATA 3; HLA-B: antígeno leucocitario humano B; IL-1RA: antagonista del receptor de IL 1; IL-6R: recetor de interleucina 6; IL-8: interleucina 8; RORC: componente relacionado con el receptor huérfano nuclear C; S100A8: proteína S100 calcio unida A8; S100A9: proteína S100 calcio unida A9; SAA1: amiloide sérico A1; TGF- β 1: factor de crecimiento transformante β 1; TNF- α : factor de necrosis tumoral α ; VEGFA: factor de crecimiento vascular endotelial A.

5.2.8. Comparación del porcentaje de detección ARNm de citocinas y quimiocinas en CIC en fase activa en pacientes con HLA-B27 negativo y positivo

Dieciocho de las 40 moléculas evaluadas en las muestras de lágrimas se detectaron en más del 60% de las muestras en pacientes con HLA-B27 positivo y/o negativo en la fase activa: CCL4, CCL5, CD14, CX3CL1, CXCL10, GATA3, HLA-B, IL-1RA, IL-6R, IL-8, RORC, S100A8, S100A9, SAA1, TGF- β 1, TLR4, TNF- α y VEGF (**Figura 6**). No hubo diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de detección de ninguna de ellas entre los grupos HLA-B27 negativo y positivo, durante la fase activa de la enfermedad.

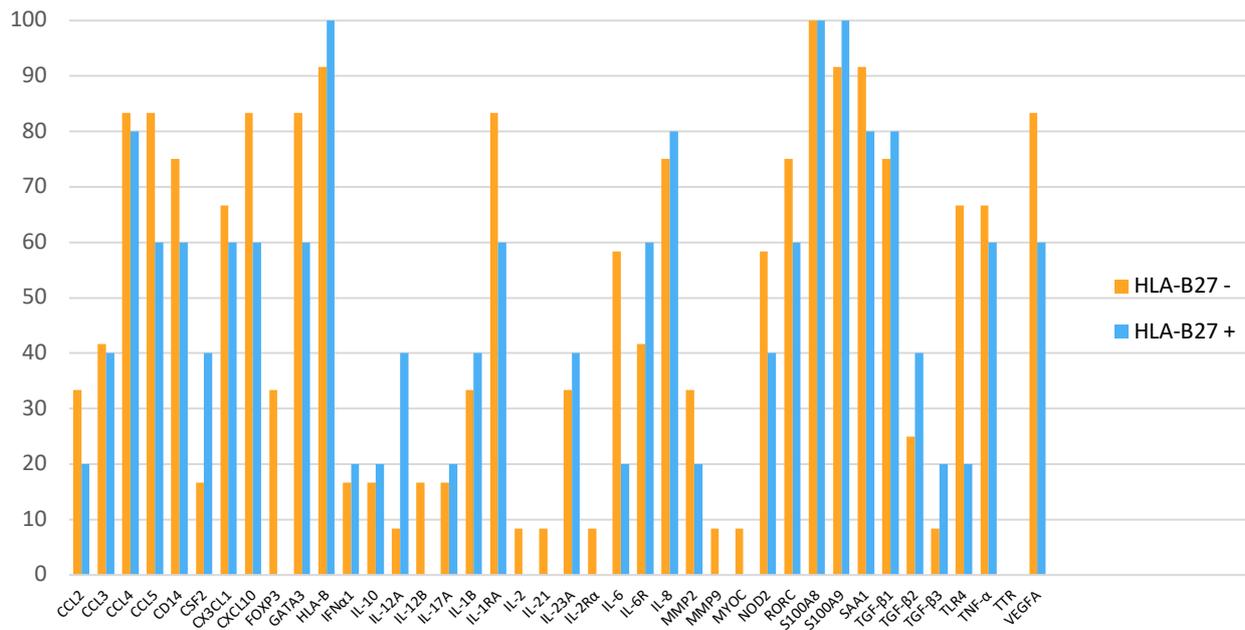


Figura 6. Porcentaje de detección de ARNm de citocinas y quimiocinas en las células epiteliales de la superficie conjuntival de pacientes con HLA-B27 negativo y positivo en la fase activa de la enfermedad. CCL2: quimioquina (motivo C-C) ligando 2; CCL3: quimioquina (motivo C-C) ligando 3; CCL4: quimioquina (motivo C-C) ligando 4; CCL5: quimioquina (motivo C-C) ligando 5; CD14: diferenciación de conglomerados 14; CSF2: factor estimulante de colonias 2; Fractalquina/CX3CL1: quimioquina (motivo C-X3-C) ligando 1; CXCL10: quimioquina (motivo C-X-C) ligando 10; FOXP3: caja de genes de proteínas de unión *Forkhead P3*; GATA3: proteína de unión GATA 3; HLA-B: antígeno leucocitario humano B; IFNα1: interferón α 1; IL-10: interleucina 10; IL-12A: subunidad p35 de la citocina IL-12; IL-12B: subunidad p35 de la citocina IL-12; IL-17A: interleucina 17A; IL-1β: interleucina 1β; IL-1RA: antagonista del receptor de IL 1; IL-2: interleucina 2; IL-21: interleucina 21; IL-23A: subunidad p19 de la citocina IL-23; IL-2Rα: receptor de interleucina 2 α; IL-6: interleucina 6; IL-6R: receptor de interleucina 6R; IL-8: interleucina 8; MMP2: metaloproteínasa de matriz 2; MMP9: metaloproteínasa de matriz 9; MYOC: miosina de cadena pesada de tipo cardíaco; NOD2: proteína 2 de unión a oligomerización del dominio de nucleótido; RORC: componente relacionado con el receptor huérfano nuclear C; S100A8: proteína S100 calcio unida A8; S100A9: proteína S100 calcio unida A9; SAA1: amiloide sérico A1; TGF-β1: factor de crecimiento transformante β1; TGF-β2: factor de crecimiento transformante β2; TGF-β3: factor de crecimiento transformante β3; TLR4: receptor tipo Toll 4; TNF-α: factor de necrosis tumoral α; TTR: transtiretina; VEGFA: factor de crecimiento vascular endotelial A.

5.2.9. Comparación de la expresión génica de citocinas y quimiocinas en CIC en fase activa en pacientes con HLA-B27 negativo y positivo

No se detectaron diferencias en la expresión génica entre los grupos HLA-B27 negativo y positivo durante la fase activa de la enfermedad (**Tabla 20**).

Expresión de genes comparativa entre pacientes HLA-B27 + y HLA-B27- en uveítis en fase activa		
Genes	Factor de cambio	P valor
CCL4	-1,18	0,589
CCL5	-0,15	0,916
CD14	0,06	0,970
CX3CL1	-0,45	0,792
CXCL10	-0,67	0,693
GATA3	0,82	0,497
HLA-B	0,00	0,998
IL-1RA	-0,58	0,790
IL-6R	0,24	0,905
IL-8	-1,06	0,563
RORC	0,68	0,581
S100A8	0,81	0,299
S100A9	0,80	0,538
SAA1	-0,67	0,638
TGF- β 1	-0,18	0,904
TLR4	-0,47	0,837
TNF- α	0,00	0,998
VEGFA	0,18	0,908

Tabla 20. Expresión génica de las citocinas y quimiocinas durante la fase activa en pacientes con HLA-B27 positivo en comparación con pacientes HLA-B27 negativo. CCL4: quimioquina (motivo C-C) ligando 4; CCL5: quimioquina (motivo C-C) ligando 5; CD14: diferenciación de conglomerados 14; Fractalquina/CX3CL1: quimioquina (motivo C-X3-C) ligando 1; CXCL10: quimioquina (motivo C-X-C) ligando 10; GATA3: proteína de unión GATA 3; HLA-B: antígeno leucocitario humano B; IL-1RA: antagonista del receptor de IL 1; IL-6R: recetor de interleucina 6; IL-8: interleucina 8; RORC: componente relacionado con el receptor huérfano nuclear C; S100A8: proteína S100 calcio unida A8; S100A9: proteína S100 calcio unida A9; SAA1: amiloide sérico A1; TGF- β 1: factor de crecimiento transformante β 1; TLR4: receptor tipo Toll 4; TNF- α : factor de necrosis tumoral α ; VEGFA: factor de crecimiento vascular endotelial A.

5.2.10. Comparación del porcentaje de detección ARNm de citocinas y quimiocinas en CIC en fase inactiva en pacientes con HLA-B27 negativo y positivo

Nueve de las 40 moléculas evaluadas en las muestras de lágrimas se detectaron en más del 60% de las muestras en pacientes con HLA-B27 positivo y/o negativo en la fase inactiva: CCL4, GATA3, HLA-B, IL-1RA, RORC, S100A8, S100A9, SAA1 y VEGF (**Figura 7**). No hubo diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de detección de ninguna de ellas entre los grupos HLA-B27 negativo y positivo, durante la fase inactiva de la enfermedad.

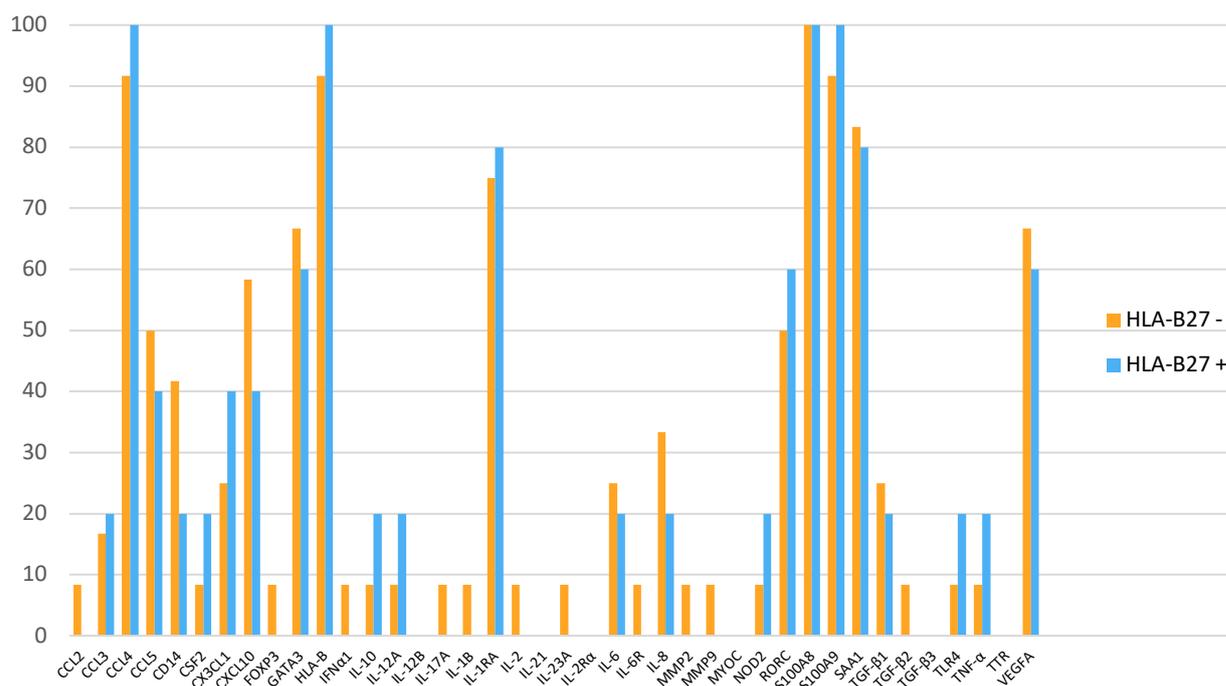


Figura 7. Porcentaje de detección de ARNm de citocinas y quimiocinas en las células epiteliales de la superficie conjuntival de pacientes con HLA-B27 negativo y positivo en la fase inactiva de la enfermedad. CCL2: quimioquina (motivo C-C) ligando 2; CCL3: quimioquina (motivo C-C) ligando 3; CCL4: quimioquina (motivo C-C) ligando 4; CCL5: quimioquina (motivo C-C) ligando 5; CD14: diferenciación de conglomerados 14; CSF2: factor estimulante de colonias 2; Fractalquina/CX3CL1: quimioquina (motivo C-X3-C) ligando 1; CXCL10: quimioquina (motivo C-X-C) ligando 10; FOXP3: caja de genes de proteínas de unión *Forkhead P3*; GATA3: proteína de unión GATA 3; HLA-B: antígeno leucocitario humano B; IFNα1: interferón α 1; IL-10: Interleucina 10; IL-12A: subunidad p35 de la citocina IL-12; IL-12B: subunidad p35 de la citocina IL-12; IL-12B; IL-17A: interleucina 17A; IL-1β: interleucina 1β; IL-1RA: antagonista del receptor de IL 1; IL-2: interleucina 2; IL-21: interleucina 21; IL-23A: subunidad p19 de la citocina IL-23; IL-2Rα: receptor de interleucina 2 α; IL-6: interleucina 6; IL-6R: receptor de interleucina 6R; IL-8: interleucina 8; MMP2: metaloproteínasa de matriz 2; MMP9: metaloproteínasa de matriz 9; MYOC: miosina de cadena pesada de tipo cardíaco; NOD2: proteína 2 de unión a oligomerización del dominio de nucleótido; RORC: componente relacionado con el receptor huérfano nuclear C; S100A8: proteína S100 calcio unida A8; S100A9: proteína S100 calcio unida A9; SAA1: amiloide sérico A1; TGF-β1: factor de crecimiento transformante β1; TGF-β2: factor de crecimiento transformante β2; TGF-β3: factor de crecimiento transformante β3; TLR4: receptor tipo Toll 4; TNF-α: factor de necrosis tumoral α; TTR: transtiretina; VEGFA: factor de crecimiento vascular endotelial A.

5.2.11. Comparación de la expresión génica de citocinas y quimiocinas en CIC en fase inactiva en pacientes con HLA-B27 negativo y positivo

Se detectaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) en la expresión génica entre los grupos HLA-B27 negativo y positivo durante la fase inactiva de la enfermedad

en los genes RORC y VEGFA, con una mayor expresión en los pacientes con HLA-B27 positivo (**Tabla 21**).

Expresión de genes comparativa entre pacientes HLA-B27 + y HLA-B27- en uveítis en fase inactiva		
Genes	Factor de cambio	<i>P</i> valor
CCL4	2,76	0,078
GATA3	1,61	0,079
HLA-B	1,26	0,361
IL-1RA	1,83	0,123
RORC	1,94	0,025
S100A8	0,75	0,631
S100A9	0,64	0,745
SAA1	0,36	0,792
VEGFA	1,89	0,025

Tabla 21. Expresión génica de las citocinas y quimiocinas durante la fase inactiva en pacientes con HLA-B27 positivo en comparación con pacientes HLA-B27 negativo. CCL4: quimioquina (motivo C-C) ligando 4; GATA3: proteína de unión GATA 3; HLA-B: antígeno leucocitario humano B; IL-1RA: antagonista del receptor de IL 1; RORC: componente relacionado con el receptor huérfano nuclear C; S100A8: proteína S100 calcio unida A8; S100A9: proteína S100 calcio unida A9; SAA1: amiloide sérico A1; VEGFA: factor de crecimiento vascular endotelial A.

6. DISCUSIÓN

En este trabajo se realizaron dos proyectos separados, pero íntimamente relacionados entre sí, con el fin de estudiar el perfil de citocinas y quimiocinas en la PL y el plasma de pacientes con uveítis; así como, la expresión génica de determinadas moléculas en las células epiteliales de la superficie conjuntival. En el primer estudio, se describen las diferencias de concentración entre citocinas y quimiocinas en la PL y el plasma en pacientes con uveítis en su fase activa y fase inactiva. En el segundo estudio, se investigó la expresión génica de citocinas y quimiocinas relacionadas con procesos inflamatorios en la superficie ocular, de pacientes con uveítis en su fase activa y posteriormente en su fase inactiva.

El análisis de la concentración y expresión génica de estas moléculas a lo largo de la enfermedad no solo mejora nuestra comprensión de la uveítis, sino que también puede conducir al desarrollo de nuevas técnicas objetivas para determinar su actividad. Esto, a su vez, permitiría avances en el manejo de la enfermedad mediante la identificación de nuevos biomarcadores, facilitando una terapia de precisión personalizada basada en las dianas terapéuticas específicas de la inflamación en cada caso.

Es bien sabido el papel que las citocinas y quimiocinas juegan en el balance del sistema inmune, y como su desequilibrio está relacionado con las uveítis. Múltiples estudios han demostrado el aumento de determinadas citocinas y quimiocinas en plasma, HA y HV en pacientes con uveítis, así como sus variaciones a lo largo de la enfermedad [58,84,134–143].

En ocasiones, las uveítis se encuentran relacionadas con procesos sistémicos, por ello el estudio del perfil de citocinas en el plasma ha sido fuente de múltiples investigaciones. Sin embargo, también es sabido que en las uveítis se produce un proceso inflamatorio local, a nivel ocular, lo que sugiere la existencia de una producción localizada de citocinas que podría no ser detectada en el plasma. Por ello, el análisis de HA y HV ha cobrado gran relevancia, aunque requiere de técnicas invasivas con los riesgos asociados.

Buscando eliminar los riesgos asociados al análisis con técnicas invasivas, de difícil implantación en la práctica clínica diaria, y siguiendo el ejemplo de otras patologías como el ojo seco, la alergia o la diabetes [144–151], se han desarrollado múltiples estudios para el análisis del perfil de citocinas y quimiocinas en la PL de pacientes con uveítis, permitiendo un análisis a nivel ocular, usando técnicas no invasivas, sencillas y reproducibles en pacientes con uveítis [112–120].

Sin embargo, en la actualidad, existen escasas investigaciones prospectivas que evalúen los niveles de citocinas y quimiocinas en la PL de pacientes con uveítis según la actividad de la uveítis y su variación a lo largo de la enfermedad [114], y no hay estudios previos en los que se correlacionen y comparen estos niveles con sus niveles en plasma. Esto motivó al desarrollo del primer trabajo, donde se estudió la concentración de 12 moléculas en la PL y el plasma en pacientes con uveítis en su fase activa y en su fase inactiva; así como, su variación a lo largo de la enfermedad.

Posteriormente, se desarrolló un segundo estudio en el que a través de la CIC se estudió la expresión génica en las células epiteliales conjuntivales de 40 citocinas y quimiocinas relacionadas con la inflamación ocular, con prometedores resultados. A día de hoy, no conocemos estudios previos donde se evalúe la expresión génica de citocinas y quimiocinas en la superficie ocular en pacientes con uveítis y su relación con la actividad de la enfermedad.

6.1. Estudio I. Concentración de citocinas y quimiocinas en la película lagrimal y plasma de pacientes con uveítis

De acuerdo con los resultados en este primer estudio, la concentración de citocinas y quimiocinas en la PL no varía de manera significativa entre las fases activas e inactivas de la enfermedad, pese a encontrar una mayor detección de IL-6 en la fase activa de la enfermedad. Además, se estudió si las concentraciones de citocinas y quimiocinas en la PL están relacionadas con su concentración en plasma o si son independientes, ya que existe cierta controversia sobre el origen de las citocinas y quimiocinas en la PL, postulándose que es un reflejo de las del plasma. Sin embargo, no hemos encontrado ninguna correlación entre las concentraciones de citocinas en la PL y el plasma de los pacientes en ninguna de las fases de la enfermedad. Por otro lado, hemos observado que, salvo el VEGF, las demás citocinas presentaban una mayor concentración en la PL tanto en la fase activa como inactiva. Este hecho sugiere una producción local de estas citocinas y quimiocinas a nivel ocular.

La evaluación y monitorización de las uveítis es compleja. Uno de los pilares del sistema de clasificación de uveítis más aceptado, diseñado por el grupo de trabajo SUN en 2005, consiste en la graduación de la severidad de la inflamación, parámetro fundamental al evaluar la eficacia de diferentes tratamientos [152]. Sin embargo, el grado de inflamación es un parámetro subjetivo, y el desarrollo de nuevas técnicas objetivas para determinar la actividad de la uveítis es un tema de actual interés, ya que con los avances en medicina y la llegada de nuevos fármacos, se hace imprescindible contar con métodos objetivos que permitan valorar de manera precisa la eficacia de tratamientos innovadores.

Múltiples son los estudios donde un perfil de citocinas y quimiocinas en plasma, HA, o HV ha sido estudiado en las uveítis tanto por su posible capacidad de asistencia en el diagnóstico, así como en la monitorización y/o predicción de respuesta al tratamiento [58,78,84,113,136–145,155–160].

De igual forma, durante los últimos años ha habido un aumento del número de estudios enfocados en el análisis del perfil de citocinas y quimiocinas en la PL, analizando el diferente perfil entre los pacientes sanos y pacientes con uveítis, las diferentes etiologías o incluso la respuesta al tratamiento, con resultados interesantes, aunque en algunas ocasiones controvertidos [112–120].

En 2017, Carreño et al. [112] presentaron los resultados de su estudio en el que evaluaban un panel de 21 citocinas en la PL de pacientes con uveítis y pacientes sanos, encontrando niveles elevados de IL-1RA, IL-8, fractalquina/CX3CL1, CXCL10, VEGF y TGF- β 2 en pacientes con uveítis comparando con un grupo control de pacientes sin patología ocular. Sin embargo, no pudieron encontrar diferencias significativas en los niveles de citocinas en la PL entre uveítis en fase activa e inactiva. Estos resultados concuerdan con los obtenidos en nuestra muestra, ya que no hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas en la concentración de ninguna de las citocinas analizadas entre la fase activa e inactiva de la enfermedad.

Aunque existe concordancia en los resultados generales, hay diferencias metodológicas entre los estudios que cabe mencionar y tener en cuenta a la hora de analizar los resultados. Pese a presentar amplias similitudes en cuanto al protocolo de análisis de

citocinas, utilizando el sistema Luminex IS-100 (Luminex Corporation, Austin, TX, EE. UU.), existen importantes diferencias en cuando al diseño del estudio, así como las moléculas analizadas.

En primer lugar, nuestro estudio es un estudio longitudinal prospectivo, en el que hemos seguido al paciente a lo largo de la enfermedad analizando las muestras en fase activa e inactiva del mismo paciente, mientras que el estudio realizado por Carreño et al. [112], es un estudio transversal, en el que no se realizó un análisis pareado. En segundo lugar, en nuestra investigación la muestra es más pequeña, en parte porque solo estudiamos las uveítis anteriores con el fin de homogenizar la muestra lo máximo posible, ya que estudios previos han sugerido la variación del perfil de citocinas y quimiocinas con respecto a la localización anatómica de la enfermedad. Ambas diferencias refuerzan los resultados obtenidos, en los que no se muestran diferencias estadísticamente significativas en la concentración de citocinas y quimiocinas con respecto a la actividad de la enfermedad, aunque con ciertos matices como comentaremos a continuación.

Pese a analizar únicamente uveítis anteriores, nuestra muestra sigue siendo muy heterogénea por la presencia de múltiples etiologías tanto infecciosas, como no infecciosas, que pueden interferir en los resultados obtenidos. Este hecho ha demostrado ser clave en el análisis del perfil de citocinas en la PL de pacientes con uveítis [112], por lo que en futuros estudios debería ser tenido en cuenta para la planificación de la investigación. Además, como hemos comentado previamente, tanto el número como las citocinas analizadas no han sido iguales en ambos estudios. Carreño et al. [112] analizaron las concentraciones de IL-7, IL-10, IL-12p70, interleucina 15 (IL-15), IL-23, IFN-

y, proteína quimioatrayente de monocitos 1 (MCP-1), TGF- β 1, TGF- β 2 y TGF- β 3, mientras que en nuestro estudio no fueron analizadas. Por ello, no podemos descartar que haya variaciones significativas en estas moléculas a lo largo de la enfermedad.

Resulta llamativo el bajo porcentaje de detección en la PL que se ha observado del TNF- α , detectándose en menos del 10% de las muestras. El **TNF- α** es una proteína ácida fundamental en la regulación del sistema inmune, producida principalmente por los macrófagos, aunque también puede ser secretada por otras células del sistema inmunitario, como los linfocitos T y los neutrófilos, en respuesta a infecciones o inflamación crónica [159]. Entre sus funciones destaca su participación en el inicio y coordinación de la respuesta inmunitaria contra patógenos, facilitando la eliminación de agentes infecciosos. Sin embargo, su desequilibrio está asociado con la inflamación crónica y el daño tisular en la uveítis [159]. Es particularmente interesante ya que los anticuerpos anti-TNF- α son actualmente uno de los tratamientos más comunes en el tratamiento de las uveítis no infecciosas, siendo el adalimumab, anticuerpo monoclonal completamente humanizado anti-TNF- α , el único agente biológico aprobado por la FDA para tratar las uveítis no infecciosas intermedias, posteriores y panuveítis en adultos [160], aunque diversos estudios apoyan su utilidad en niños y pacientes con uveítis anterior [161–163]. Nuestro resultado concuerda con investigaciones previas sobre uveítis en las que se analizó la PL, enfatizando que los niveles de TNF- α en lágrimas no reflejan la actividad de las uveítis [112,114]. Sin embargo, debemos considerar que el porcentaje de detección de TNF- α en lágrimas no es constante en la literatura, variando del 1% al 100% [164–167], la cual podría verse afectada por diferentes factores. Por ejemplo, se ha demostrado que hay una variación circadiana de TNF- α en pacientes

sanos a lo largo del día, con niveles más altos en la mañana y al final del día [164,165], aunque no está claro si estos resultados podrían ser los mismos en pacientes con uveítis. Esto debe considerarse, ya que, en la práctica clínica diaria, no podemos controlar el momento de presentación del paciente en la urgencia, lo que podría haber sesgado nuestros resultados. Además, el hecho de que las muestras de lágrimas se diluyeron 1/10 para el análisis podría explicar parte de nuestra baja tasa de detección de TNF- α [165].

Por otro lado, es importante comentar como el porcentaje de detección de IL-6 cayó durante la fase inactiva de la enfermedad, siendo la primera vez que este hecho se describe en la PL en pacientes con uveítis. La **IL-6** es una citocina pleiotrópica que interfiere en múltiples procesos biológicos como la hematopoyesis, la defensa inmune y la neovascularización. Presenta la capacidad de estimular la producción de proteínas de fase aguda que inducen reacciones de fase aguda, actuando como agente madurador de los linfocitos B, estimulando la síntesis y secreción de varias inmunoglobulinas e induciendo la proliferación de linfocitos T [168,169].

En 2022, el grupo de Maleki et al. [143] analizó los niveles séricos de IL-6 en pacientes con uveítis no infecciosas, encontrando que niveles elevados de IL-6 estaban fuertemente asociados con la presencia de enfermedades sistémicas y con una mayor frecuencia de brotes de uveítis. Este hallazgo sugiere que los niveles altos de IL-6 pueden ser indicadores tempranos de enfermedades reumatológicas. A nivel ocular, el nivel de IL-6 en HA en pacientes con uveítis, se ha correlacionado con el número de linfocitos y neutrófilos [59,63]. Norose et al. [170] encontraron que el nivel de IL-6 en HA reflejaba

la severidad de la respuesta inflamatoria. Por todo ello, la IL-6 se considera un potencial biomarcador y diana terapéutica de nuevos fármacos [171].

Teniendo en cuenta el potencial de la IL-6 como biomarcador en las uveítis, parece un dato importante de mencionar y comparar con otros recientes estudios. En el estudio de Carreño et al. [112], no se encontraron diferencias en los porcentajes de detección entre el grupo de pacientes con uveítis y el grupo de pacientes sanos en esta citocina, aunque en el análisis por subgrupos en pacientes con uveítis activa e inactiva, no se realizó la diferencia en el porcentaje de detección, y no se encontraron diferencias significativas en cuando a su concentración entre pacientes con uveítis en fase activa e inactiva. Este último dato parece coincidir con los hallazgos en el presente trabajo.

De manera similar, el grupo de Shirinsky et al. [114] evaluaron el posible vínculo entre los niveles de las citocinas IL-6, IL-8 e IL-10 en la PL y la inflamación ocular durante el tratamiento, sin encontrar una correlación significativa. Sin embargo, identificaron que la concentración basal de IL-10 era un predictor significativo e independiente de la respuesta clínica al tratamiento, pudiendo ser utilizado como un potencial biomarcador de respuesta al tratamiento. Además, es interesante como asociaban mayores concentraciones de IL-6 a periodos más prolongados de actividad. Desafortunadamente, nuestro estudio se basó en pacientes con uveítis agudas, y no hemos recolectado información *a posteriori* sobre la recurrencia de las uveítis.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos, creemos que la IL-6 es una molécula de interés para futuras investigaciones como potencial biomarcador en pacientes con uveítis.

En este contexto, Kumar et al. [115] estudiaron los niveles de IL-6 e IL-10 en la PL de pacientes con UAA asociada a HLA-B27, así como de pacientes con UAA no asociada a HLA-B27, realizando una correlación de los niveles de IL-6 con el número de recurrencias. Entre los resultados obtenidos, se observó que los niveles de IL-6 eran significativamente más altos en pacientes con uveítis con un solo episodio de la enfermedad en comparación con ojos sin episodios, siendo sus niveles mayores a medida que aumentaba el número de episodios. Además, se habla del papel de la ratio IL-6/IL-10 en la PL como biomarcador predictivo de recurrencia de la enfermedad.

Con el fin de entender estos resultados, debemos de repasar las múltiples funciones de la IL-6 y la IL-10. Entre el amplio abanico de funciones biológicas de la IL-6 destaca su papel en la diferenciación de células Th17, junto con la inhibición de células T reguladoras, lo que podría ser responsable de una respuesta inflamatoria intensa y explicar por qué se encuentra en concentraciones más altas en pacientes con recurrencias [172]. Por otro lado, la IL-10 funciona principalmente suprimiendo la expresión de citocinas proinflamatorias, siendo una citocina antiinflamatoria con un papel crucial en la prevención de patologías inflamatorias y autoinmunes, al limitar la respuesta inflamatoria en los tejidos [173]. Su falta de expresión se ha relacionado con diversas enfermedades autoinmunes, por lo que tiene sentido que un desequilibrio en la ratio IL-6/IL-10 pueda ser un factor relacionado con episodios recurrentes de inflamación.

Desafortunadamente, en este primer estudio no analizamos los niveles de IL-10 en la PL de los pacientes, posiblemente si lo volviéramos a repetir el estudio sería una de las moléculas a analizar. A pesar de ello, deberíamos tener en cuenta que existen estudios tanto en pacientes con uveítis como en los pacientes control, donde su porcentaje de detección fue extremadamente bajo [112], por lo que sería controvertido su análisis.

Otra de las preguntas acerca de las uveítis y las citocinas es el origen de las mismas a nivel ocular, una de las hipótesis es la existencia de una producción local de las mismas, lo que implicaría una regulación local y la existencia de diferentes niveles de citocinas en la PL y el plasma. Pocos son los estudios que han evaluado esta hipótesis, siendo nuestro estudio el primero en comparar y estudiar la correlación de citocinas y quimiocinas entre la PL y el plasma en función de la actividad de la uveítis con carácter prospectivo.

En 2016, Türkçüoğlu et al. [113] investigaron la posible asociación entre los niveles de IL-2 en lágrimas y plasma y la actividad de la EB, sin encontrar ninguna asociación de la actividad de la enfermedad con los niveles de IL-2 en plasma y la PL. Sin embargo, no se realizó un análisis de correlación entre los niveles de IL-2 en el plasma y la PL.

Por otro lado, en la tesis desarrollada por el grupo de Carreño et al. [174], pese a no encontrar relación entre los niveles de citocinas y quimiocinas entre la PL y el plasma de pacientes con uveítis, sí que encontraron diferentes relaciones entre las concentraciones en otros fluidos oculares y la PL. Por ejemplo, los niveles de IL-10, IL-1RA, fractalquina/CX3CL1 y VEGF presentaron una correlación positiva entre la PL y el HV; en cambio, existió una débil correlación negativa en los niveles de TGF- β 1 entre HA y la PL.

Más recientemente, en 2024, el grupo de Makari et al. [175], expuso su investigación en la que se buscaba una correlación entre los niveles de TNF- α , IL-8, IL-6, y MCP-1 del HA y la PL en uveítis experimentales en conejos. Sus datos mostraron una correlación positiva entre los niveles de IL-8 en HA y TNF- α en PL, IL-6 en HA y PL; así como, la IL-6 en HA y MCP-1 en PL, lo que sugiere la posibilidad del estudio de concentración de marcadores inflamatorios en la PL para evaluar la inflamación intraocular.

En nuestro estudio, no encontramos correlación entre las citocinas en la PL y el plasma de los pacientes con uveítis, ni en su fase activa ni en su fase inactiva. Además, con excepción del VEGF, las demás citocinas se encontraban en una mayor concentración en la PL en comparación con el plasma. Teniendo en cuenta nuestros resultados y los estudios previos de correlación entre la PL y diversos fluidos tanto oculares como corporales, nos orientamos a pensar que existe una producción local de citocinas y quimiocinas a nivel ocular, que posiblemente no refleje la producción sistémica en todas las uveítis.

6.2. Estudio II. Análisis de la expresión génica de citocinas y quimiocinas en pacientes con uveítis a través de impresión conjuntival

Teniendo en cuenta los resultados del primer trabajo, y el potencial de la CIC en el estudio de la superficie conjuntival, se diseñó el segundo estudio enfocado al análisis de los niveles de ARNm de moléculas relacionadas con la inflamación en la superficie conjuntival de pacientes con uveítis, a partir de muestras obtenidas por CIC, buscando establecer nuevos biomarcadores a través de técnicas no invasivas y seguras. De las 40 citocinas y quimiocinas analizadas, se detectó un porcentaje de expresión génica en 6 de ellas de manera más frecuente en la fase activa que en la inactiva, entre las que se encuentran la fractalquina/CX3CL1, IL-6R, NOD2, TGF- β 1, TLR4 y TNF- α . Además, se observó una tendencia hacia una mayor expresión de fractalquina/CX3CL1 y el TGF- β 1 durante la fase activa, aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa. Llama la atención como en el análisis por subgrupos basado en la etiología de la uveítis mostró diferentes perfiles de expresión génica de citocinas y quimiocinas, como se comentará a lo largo de la discusión.

El estudio de la expresión génica de citocinas y quimiocinas en la fase de transcripción a partir de muestras de CIC es una técnica innovadora y no invasiva que, al igual que la medición de la concentración de citocinas en la PL, ofrece una perspectiva avanzada y detallada de los procesos inflamatorios en la superficie ocular. Además, parece lógico pensar que, si en la PL existen cambios en la detección y concentración de moléculas en uveítis, el origen de estos cambios pueda encontrarse ya a nivel de la expresión de sus genes en las células de la superficie conjuntival, responsables en gran medida de la

composición de la PL. Sin embargo, a la hora de interpretar estos resultados es importante no olvidar que existen diferencias significativas entre ambas técnicas.

El análisis de ARNm a través de la CIC permite evaluar la expresión génica local de las células epiteliales de la superficie conjuntival, enfocándose en la fase de transcripción, es decir, antes de que las citocinas y quimiocinas sean producidas a nivel proteico. Esto representa una ventaja significativa, ya que proporciona una visión temprana y detallada de los mecanismos que regulan la producción de estas moléculas en el entorno local, permitiendo una comprensión más profunda de su variabilidad y su impacto en la fisiopatología de las uveítis.

Este enfoque no solo contribuye a desentrañar los mecanismos subyacentes en la producción local de citocinas y quimiocinas, sino que también abre nuevas vías para el desarrollo de tratamientos más precisos y personalizados, basados en la regulación temprana de la respuesta inflamatoria ocular.

Investigaciones previas basadas en otras patologías han permitido establecer diferencias en la expresión génica entre pacientes con diversas patologías oculares y pacientes sanos, así como encontrar biomarcadores de respuesta al tratamiento. Entre las patologías más estudiadas se encuentran la disfunción de glándulas de Meibomio (DGM), la EICH, o el síndrome de Sjögren, entre otras [46,176].

Por ejemplo, el grupo de Zhang et al. [176] utilizó esta tecnología para medir los cambios en los niveles de IL-1 β , IL-8, MMP-9 y TGF- β 1 en pacientes con DGM frente a un grupo

control, el cual, a su vez se dividió entre pacientes tratados y no tratados con azitromicina oral. En este estudio, se observó cómo los pacientes con blefaritis posterior, relacionada con la DGM, e inflamación conjuntival tratados con azitromicina, presentaban antes del tratamiento unos niveles aumentados de ARNm de IL-1 β , IL-8 y MMP-9 y niveles significativamente reducidos de TGF- β 1, en comparación con sujetos sanos. Tras 2 semanas de tratamiento con azitromicina, la expresión ARNm de IL-1 β , IL-8 y MMP-9 disminuyó significativamente, mientras que TGF- β 1 aumentó significativamente. Este estudio muestra la utilidad del análisis de ARNm a través de la CIC para la evaluación de la expresión de mediadores proinflamatorios antes y después de la terapia tópica con azitromicina en pacientes con DGM.

Previamente, nuestro grupo analizó 84 genes utilizando la CIC en 20 pacientes con EICH y 14 individuos sanos, de ellos 34 mostraron diferencias significativas en su expresión [46]. Destaca el potencial uso de los genes del receptor de EGF, la IL-6, la interleucina 9 (IL-9) y la nicotinamida fosforibosiltransferasa (NAMPT) como biomarcadores diagnósticos de EICH [46].

Hasta la fecha este se trata del primer trabajo que analiza la expresión génica de determinadas moléculas, relacionadas con procesos inflamatorios, en la superficie conjuntival de pacientes con uveítis en su fase activa y compararla con su fase inactiva, utilizando como herramienta la CIC.

Entre los resultados obtenidos, destaca el aumento del porcentaje de detección en la fase activa de la enfermedad con respecto a la fase inactiva de los siguientes genes:

fractalquina/CX3CL1, IL-6R, NOD2, TGF- β 1, TLR4 y TNF- α ; siendo todos ellos detectados en mayor porcentaje en la fase activa de la enfermedad. Pese al aumento en el porcentaje de detección de estos genes durante la fase activa, es llamativo observar que en el análisis de expresión génica no se encuentran diferencias significativas en ninguno de ellos. Es verdad, que el porcentaje de detección de IL-6R, NOD2 y TLR4 fue bajo y por ello, no se realizó el consiguiente análisis de expresión génica.

Sin embargo, la expresión génica de la fractalquina y el TGF- β 1 mostró una tendencia a la disminución de su expresión en la fase inactiva comparada con la fase activa de la uveítis.

La **fractalquina** es una quimiocina con propiedades quimioatrayentes, que interviene en la adhesión celular y migración de leucocitos, puede existir como una proteína transmembrana o en forma soluble, y estas diferentes variantes tienen propiedades y funciones diferentes [180]. En estudios de laboratorio sobre modelos de uveítis inducida por endotoxinas (UIE), se ha mostrado un aumento de la expresión de fractalquina y su receptor CX3CR1 durante el pico de inflamación [181], aunque no está del todo clara su función. La fractalquina en su forma transmembrana, interviene en los procesos de adhesión celular, siendo inducida su producción por células endoteliales en respuesta a citocinas inflamatorias como TNF- α , IFN- γ , e IL-1[180].

La producción de esta molécula en diferentes patologías oculares en estudios realizados sobre la superficie ocular ha mostrado datos contradictorios [48,129,146,182,183]. En la EICH con afectación ocular, niveles elevados de fractalquina en la superficie conjuntival

previos al trasplante de células hematopoyéticas se asociaron a un riesgo reducido de padecer la enfermedad [48]. En cambio, en pacientes con enfermedad por ojo seco los niveles de fractalquina en la PL se encontraron elevados en comparación con controles sanos, asociándose niveles más elevados en aquellos pacientes con una mayor severidad clínica [129,183]. Además, se ha observado como esta molécula contribuye al desarrollo de varias enfermedades inflamatorias, como: el síndrome de Sjögren primario, la AR, la granulomatosis con poliangeítis, la enfermedad de Crohn y la uveítis anterior experimental (UAE), entre otras [146,180,182]. A día de hoy, somos el primer grupo en describir el aumento del porcentaje de detección de esta molécula en la superficie conjuntival y su tendencia a una mayor expresión durante la fase activa, pudiendo estar relacionada con la actividad de la enfermedad en pacientes con uveítis.

El **TGF- β 1** es una de las isoformas de la familia del TGF- β , la cual, engloba tres isoformas: TGF- β 1 (la más prevalente), TGF- β 2 y TGF- β 3. Para su activación requiere de diversas moléculas como las integrinas o las metaloproteinasas, entre otras [184]. Esta familia interviene en numerosos procesos celulares, entre los que se encuentra el crecimiento y diferenciación celular, la apoptosis, motilidad celular, producción de la matriz extracelular, angiogénesis y respuesta inmunitaria. Esta pleiotropía resulta de la activación del receptor de TGF- β , un complejo heterodimérico compuesto por dos receptores de serina/treonina quinasa transmembrana, TGF- β R1 y TGF- β R2, en la superficie celular [184].

En la superficie ocular, el TGF- β tiene importantes funciones en la reparación y cicatrización corneal, existiendo unos niveles basales que varían conforme a la existencia

de una agresión a la superficie ocular [185]. A nivel de las uveítis, Peng et al. [186] estudiaron cómo la modulación del TGF- β 1 podía influir en la respuesta inflamatoria en modelos de UIE, mostrando que los ratones tratados con TGF- β 1 presentaban menor inflamación y disminución de la IL-6 en HA. La UIE se caracteriza por la inflamación ocular aguda relacionada con la liberación de citocinas, incluyendo la IL-6. En nuestro estudio, la tendencia a presentar un aumento de los niveles del TGF- β 1 durante la fase activa podría justificarse como una respuesta en la superficie ocular a la reacción inflamatoria buscando restablecer su balance. Por ello, creemos que es una molécula a tener en cuenta en futuros estudios en la búsqueda de biomarcadores de uveítis en la superficie ocular. No debemos olvidar que en este estudio se ha evaluado la expresión génica a través del análisis de ARNm por las células epiteliales de la superficie conjuntival, por lo que no estamos estudiando la concentración final de estas moléculas sino estudiando estas moléculas durante la transcripción, sufriendo posteriores modificaciones hasta llegar a la citocina final, siendo actualmente controvertida la existencia de una correlación lineal entre las concentraciones de ARNm y su proteína final [187].

Teniendo en cuenta el posible efecto de la heterogeneidad de las uveítis incluidas en el estudio, en los resultados obtenidos, buscamos homogenizar la muestra creando dos grupos conforme a la etiología de las uveítis: HLA-B27 positivo y negativo. Previamente, diversos estudios ya valoraron el diferente perfil de citocinas que presentan los pacientes atendiendo a su etiología [115,188–192]. Por ejemplo, Zhao et al. [188] encontraron una tendencia a una mayor expresión de interleucina 18 (IL-18) en HA de los pacientes con uveítis anterior aguda asociada a HLA-B27 en comparación con aquellas idiopáticas y pacientes sanos. Además, en el plasma de estos pacientes se

observó un aumento significativo de la interleucina 1 *alpha* (IL-1 α) en las uveítis asociadas a HLA-B27 en comparación con pacientes sanos.

Con respecto a nuestro estudio, el grupo de pacientes HLA-B27 -, mostraron una mayor expresión génica de CCL5, fractalquina/CX3CL1, TGF- β 1 y VEGFA durante la fase activa de la enfermedad.

La quimiocina **CCL5**, también conocidas como RANTES, presenta múltiples efectos sobre diferentes grupos celulares, se ha relacionado con la migración y reclutamiento de células T, células dendríticas, eosinófilos, células NK, mastocitos y basófilos [193]. Aunque inicialmente se consideró como una citocina específica de células T, está es producida por plaquetas, macrófagos, eosinófilos, fibroblastos, células endoteliales, epiteliales y endometriales [193]. Presenta roles únicos en la promoción del reclutamiento de leucocitos, la angiogénesis y la fibrosis en diversos modelos de inflamación crónica. También interviene en las reacciones del sistema inmune ante los virus, ayudando al mismo en la defensa contra estos microorganismos en un primer momento, y posteriormente interviene en los procesos de cicatrización, por lo que se la considera una molécula con un gran potencial para la terapia personalizada. En el contexto de las uveítis, los resultados son controvertidos [63,64,134,193,194]. Por un lado, estudios previos reportan resultados en consonancia con los nuestros, donde se observa un aumento de su concentración en el HA de pacientes con uveítis en fase activa [64]. Sin embargo, otros estudios no observan estas diferencias [194]. Incluso Curnow et al. [63] señalan una disminución de su expresión en pacientes con uveítis por EB en

comparación con los pacientes control. Por ello, se necesitan estudios adicionales sobre el papel del CCL5 en la patogénesis de las uveítis.

Por último, cabe mencionar el aumento de expresión génica de la **VEGFA**, isoforma principal de la familia VEGF, que observamos en los pacientes con uveítis HLA-B27 negativo durante la fase activa de la enfermedad. Dicha molécula es conocida por su papel clave en la angiogénesis fisiológica durante la embriogénesis, el crecimiento esquelético y las funciones reproductivas [195]. Además, el VEGF está implicado en la angiogénesis patogénica asociada a diferentes patologías como los tumores y los cambios vasculares intraoculares, entre otras. Actualmente, a nivel ocular existe un amplio abanico de terapias dirigidas hacia esta molécula, que han supuesto un cambio en el paradigma del tratamiento de las membranas neovasculares, extendiéndose su utilidad a otras patologías como el edema macular, la retinopatía diabética o el glaucoma neovascular, entre otras. En cuanto a las uveítis, estudios previos ya han puesto de manifiesto su posible utilidad como biomarcador. Çekmen et al. [196] describieron niveles elevados de VEGF en plasma en pacientes con EB activa en comparación con pacientes sin patologías, o con EB inactiva. De igual forma, niveles elevados se han encontrado en HV, HA y en la PL de pacientes con uveítis en comparación con pacientes sanos [112,134,197]. Teniendo esto en cuenta, no es sorprendente que hayamos encontrado niveles elevados en pacientes con uveítis en fase activa en este grupo de pacientes. Pese a ello, se necesitan más estudios para determinar el valor de la expresión génica de VEGFA como biomarcador en esta patología.

Dentro del grupo de pacientes HLA-B27 +, es llamativo el aumento de la expresión de **S100A9** durante la fase activa de la enfermedad. La proteína S100A9 es una proteína de unión al calcio que pertenece a la familia de proteínas S100, producida intracelularmente en granulocitos y monocitos, siendo posteriormente liberada extracelularmente. Interviene en múltiples funciones biológicas, jugando un papel esencial en la migración de leucocitos, la adhesión de neutrófilos y monocitos, así como la regulación del sistema inmune [198]. Resultados previos han mostrado su potencial como biomarcador en pacientes con uveítis [199–202]. Walscheid et al. [201] encontraron una correlación positiva entre los niveles elevados en plasma en pacientes con uveítis por AIJ en fase activa comparado con la fase inactiva. Además, observaron un aumento de su concentración en HA en pacientes con uveítis comparando con aquellos sin enfermedad. Por otro lado, Kasper et al. [199] investigaron la variación de la concentración de S100A9 en el plasma de pacientes con uveítis y su relación con la positividad de HLA-B27 +, siendo mayor su concentración en aquellos pacientes con HLA-B27 +, estos resultados son consistentes en la literatura, poniendo de relevancia el posible uso de S100A9 como biomarcador de actividad en las uveítis de pacientes con HLA-B27 positivo.

A día de hoy, somos los primeros en reportar este aumento de expresión en la superficie conjuntival en pacientes con uveítis HLA-B27+ y su relación con la actividad de la enfermedad, aunque estos datos deberían ser confirmados en futuros estudios con un mayor número de pacientes y un periodo de estudio más largo.

La última parte de nuestro estudio se basó en la comparación de la expresión de citocinas entre los pacientes HLA-B27 + y HLA-B27 -, sin encontrar diferencias significativas en la fase activa de la enfermedad. Sin embargo, destaca una diferencia en la expresión génica del RORC y el VEGFA en la fase inactiva de la enfermedad siendo mayor su concentración en los pacientes HLA-B27 +, esto podría implicar un diferente perfil basal de expresión génica de estas citocinas durante la fase inactiva, dependiendo del origen etiológico de esta patología.

RORC es un miembro de la familia de los receptores nucleares huérfanos, que son factores de transcripción regulados por ligandos, denominados "huérfanos" porque sus ligandos endógenos no han sido identificados al completo. Estos receptores intervienen en múltiples funciones biológicas, como el sistema inmune, el metabolismo lipídico o el control del ritmo circadiano. Destaca su papel en la diferenciación de las células Th17, importante en la respuesta inmune adaptativa y en la defensa contra patógenos extracelulares [203]. Las células Th17 han sido implicadas en la patogénesis de diversas enfermedades autoinmunes, como la artritis psoriásica, EA, o la esclerosis múltiple, entre otras. Entre ellas, destacan los estudios previos y el papel fundamental de las células Th17 en la psoriasis y la artritis [203]. Estudios preclínicos en laboratorio han mostrado como agonistas inversos del receptor RORC disminuyen la producción de citocinas inflamatorias como la IL-17, además han mostrado su potencial utilidad en la restauración de la barrera hemato-retiniana, siendo un posible candidato para el tratamiento de enfermedades inflamatorias a nivel ocular [204].

Comparando los resultados obtenidos con la literatura, se puede observar cómo en el campo de las uveítis apenas existen estudios en los que la CIC se utilice para el análisis de la expresión génica de citocinas en la superficie conjuntival.

Entre ellos, destaca el trabajo realizado por Trinh et al. [126] quienes compararon los cambios en expresión de HLA-DR, receptor de quimiocina CC tipo 4 (CCR4) y receptor de quimiocina CC tipo 5 (CCR5) en pacientes con uveítis, pacientes sanos y pacientes con queratoconjuntivitis vernal o seca, encontrando una mayor expresión de HLA-DR y CCR4 en pacientes con uveítis. Sin embargo, no encontraron este incremento de expresión en CCR5, lo que sugería una mayor respuesta Th1 en superficie conjuntival. Cabe destacar, que el estudio se realizó sobre un grupo muy heterogéneo de pacientes, que incluía múltiples patologías tanto infecciosas como no infecciosas, pacientes con un primer episodio, y con múltiples episodios, lo que podría llevar a pensar que existe una importante limitación del estudio debido a la heterogeneidad de la muestra. Dicha limitación se tuvo en cuenta durante el análisis estadístico, encontrándose resultados interesantes. Por ejemplo, se encontró una relación estadísticamente significativa entre el nivel de CCR4, la proporción de CCR4/CCR5 y el número de episodios de uveítis. El nivel de CCR4 y la proporción de CCR4/CCR5 fueron significativamente más bajos en los pacientes que estaban experimentando su primer episodio de uveítis en comparación con aquellos que estaban en el segundo episodio o posteriores. Aunque, no se encontraron diferencias de expresión con respecto a la etiología.

De igual forma, son escasos los estudios en los que se evalúa la expresión génica a través del estudio de ARNm en muestras de fluidos corporales, siendo a día de hoy, la mayoría

de ellos muestras de plasma de pacientes con uveítis [177–179]. Entre ellos, podemos destacar el de Zhuqing et al. [178], quienes fueron los primeros en investigar el perfil de expresión génica en plasma, describiendo un grupo de genes perteneciente a la familia de la IL-10 cuya expresión se encontraba aumentada en pacientes con uveítis en comparación con pacientes sanos. Por otro lado, Rosenbaum et al. [177], estudiaron la sangre periférica de 90 pacientes con uveítis y la compararon con pacientes sanos, estudiando más de 19.000 genes, y encontrando más de 110 genes con un aumento en su expresión mayor de 1,5 veces y alrededor de unos 60 genes con una disminución similar. En su trabajo, se destaca la relevancia en uveítis del aumento en la expresión de los siguientes genes: molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM1), receptor *alfa* de la IL-15 (IL-15R α), IL-15, factor regulador de interferón 1 (IRF1), subunidad *beta* del receptor de IL-10 (IL-10R β), tirosina quinasa 2 (TYK2), y los factores de mejoramiento miógeno (MEF2A, MEF2B y MEF2D).

El estudio realizado permite comprender de una manera más precisa la fisiopatología de las uveítis y pone de relevancia el potencial papel de la CIC y el estudio de la expresión génica en pacientes con uveítis en la búsqueda de nuevos biomarcadores, a través de técnicas sencillas y no invasivas, que puedan ser utilizadas en la práctica clínica diaria. Al estudiar la expresión en la fase activa e inactiva de la enfermedad, hemos observado que existen cambios en la expresión de diferentes citocinas y quimiocinas, tanto en la fase activa como la inactiva de la enfermedad, mostrando su potencial utilidad como biomarcador de actividad. Además, hemos detectado una expresión diferente acorde a la etiología de la uveítis, por lo que la expresión de ciertas citocinas y quimiocinas podrían ser utilizadas para asistir en el diagnóstico etiológico tan complejo de las uveítis.

Sin embargo, sabemos que existen limitaciones que debemos tener en cuenta y obligan a pensar en futuros estudios que permitan superarlas.

7. LIMITACIONES

En el presente trabajo se encuentran varias limitaciones que deben ser consideradas.

La primera de ellas es el reducido número de pacientes, lo cual restringe el análisis estadístico y la obtención de resultados concluyentes. Esta limitación se debe a la baja prevalencia de la patología, y su dificultad en el seguimiento de pacientes a lo largo del tiempo.

Además, el reducido tamaño muestral se ve agravado por la gran diversidad etiológica y morfológica de las uveítis. Existe el concepto generalizado, de que las uveítis son el proceso final de inflamación ocular de diferentes patologías, lo que implica que diferentes mecanismos fisiopatológicos van a derivar en una inflamación ocular. Esto implicaría la presencia de diferentes perfiles de citocinas y quimiocinas dependiendo de la causa de la uveítis.

De manera similar, seleccionamos únicamente uveítis anteriores con el fin de homogenizar la muestra, ya que creemos que la localización de las uveítis puede influir en el perfil de citocinas en la PL y superficie conjuntival. Se ha observado en uveítis experimentales, como existe una producción local de determinadas citocinas. Por ejemplo, Fang et al. [77] observaron la producción de CCL3/MIP-1a por las células del tejido retiniano, siendo detectado en las células coroideas antes del inicio de la enfermedad, lo que sugiere que su presencia está estrechamente relacionada con el desarrollo de la UAE. La búsqueda de una muestra más homogénea dio lugar a una mayor reducción del tamaño muestral obtenido.

Teniendo en cuenta estas limitaciones, creemos que es importante en el futuro desarrollar estudios multicéntricos que permitan el análisis de una muestra más amplia y homogénea, facilitando la obtención de resultados más certeros y precisos.

Por otro lado, existen limitaciones respecto al análisis de citocinas en la práctica clínica diaria que debemos tener en cuenta. Tanto la concentración, como la expresión génica de citocinas pueden presentar variaciones en cortos periodos de tiempo desde la obtención de la muestra hasta el análisis de laboratorio. A pesar de haber sido muy estrictos con los tiempos de recogida y conservación a -80°C , estas variaciones deben considerarse en la interpretación de los resultados [205]. Además, con el fin facilitar el análisis de un mayor número de pacientes, se conservaron todas las muestras a -80°C hasta que se realizó el análisis en el laboratorio, siendo en algunos casos el periodo de tiempo entre la recogida y el análisis de hasta 2 años, tiempo en el que puede disminuir la concentración de algunas citocinas en hasta un 20% [205]. De igual manera, existen variables que en el entorno de la práctica clínica diaria no hemos podido controlar. Por ejemplo, los pacientes acuden a urgencias en un servicio de 24 horas, siendo la muestra recogida en el momento de su atención por lo que no hemos podido tener en cuenta su variación circadiana [164,165,206]. Benito et al. [165] mostraron como existían variaciones circadianas en la concentración en la PL de EGF, fractalquina, CXCL10/IP-10, VEGF y CXCL8/IL-8. Estas variaciones son importantes en determinadas enfermedades inmunológicas, como en la AR donde se ha observado que el aumento de la concentración de TNF e IL-6 durante la noche se encuentra en relación con el aumento de los síntomas matutinos [205].

En cuanto a la tecnología utilizada en el análisis, sabemos que en la actualidad existen múltiples tecnologías que permiten el análisis de citocinas. Aunque, el *gold standard* sigue siendo la prueba de ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas. (ELISA), la cual requiere de 50 a 100 ml de fluido tisular para cada molécula de interés, su utilidad es limitada cuando se usa para analizar pequeñas cantidades de material, como pueden ser los fluidos oculares, ya que solo permite el estudio de un número restringido de moléculas [59]. Tratando de superar esta limitación nuevas tecnologías fueron desarrolladas como las *membrane microarrays*, o *multiplexed-bead immunoassays* [207], que permiten la medición de múltiples moléculas con pequeños volúmenes de muestra. Esto nos ha permitido el análisis de múltiples citocinas y quimiocinas con pocas cantidades de material a analizar, con unos altos valores de sensibilidad y especificidad gracias a esta tecnología Luminex IS-100 (Luminex Corporation, Austin, TX, EE. UU.), siendo uno de los sistemas más utilizados en la actualidad para el análisis de múltiples citocinas en pequeñas muestras. Pese a ello, la cantidad de PL obtenida sigue siendo escasa, y por ello en nuestro análisis hemos realizado una dilución 1/10 de la muestra, pudiendo interferir en la sensibilidad de la misma.

Por otro lado, la uveítis y la enfermedad de ojo seco comparten determinados mecanismos fisiopatológicos, coexistiendo ambas enfermedades en los pacientes con uveítis en determinadas circunstancias [208]. Mastropasqua et al. [209] encontraron que 15 de 30 pacientes con uveítis heterocrómica de Fuchs presentaban resultados anormales en el test de Schirmer, así como en el tiempo de ruptura de la película lagrimal, siendo las diferencias significativas entre los ojos afectados y los ojos sin uveítis activa. Esto implica que puede existir una dificultad en conseguir muestra suficiente para

el análisis en determinados pacientes en la práctica diaria, pudiendo interferir en el análisis del perfil de citocinas.

8. CONCLUSIONES

Tras la realización de estos estudios podemos concluir:

1. La utilidad del estudio de determinadas citocinas en la película lagrimal y el plasma de pacientes como biomarcadores en pacientes con uveítis activa es limitada, por su baja tasa de detección. Hay una probable producción local de citocinas a nivel ocular, ya que existe una falta de correlación en la concentración de citocinas entre la película lagrimal y el plasma de los pacientes con uveítis en fase activa. Exceptuando el VEGF, la concentración de citocinas en la película lagrimal es mayor en comparación con el plasma en pacientes con uveítis anterior en su fase activa.
2. De igual forma, existe una tasa de detección limitada de las citocinas analizadas tanto en la película lagrimal como el plasma en los pacientes con uveítis en fase inactiva. Durante la fase inactiva existe una falta de correlación entre los niveles de citocinas en la película lagrimal y el plasma. Con excepción del VEGF, se encontró una mayor concentración en la película lagrimal de todas las citocinas analizadas, en comparación con el plasma.
3. Existe una mayor tasa de detección de la IL-6 en la fase activa de la enfermedad en la película lagrimal, por lo que debe considerarse su potencial capacidad como biomarcador de actividad en el desarrollo de nuevos estudios.
4. El estudio de la expresión génica en la superficie conjuntival en pacientes con uveítis en fase activa es viable. Durante la fase activa, no se han encontrado diferencias ni en el porcentaje de detección, ni en la expresión génica de estas moléculas entre los pacientes HLA-B27 positivo y negativos,

limitando el potencial de estas moléculas como biomarcadores etiológicos durante esta fase de la enfermedad.

5. Durante la fase inactiva de la enfermedad se observó una mayor expresión en los genes RORC y VEGFA en los pacientes HLA-B27 positivos en comparación con los HLA-B27 negativo. Este hecho supone un nuevo planteamiento en el uso de la CIC en pacientes con uveítis, por su posible capacidad de asistencia en el diagnóstico en esta fase de la enfermedad.
6. El estudio de la expresión génica en la superficie conjuntival de pacientes con uveítis podría tener una potencial utilidad como biomarcador de actividad. Existen diferencias en los porcentajes de detección de ARNm durante la fase activa e inactiva de la enfermedad de citocinas como fractalquina/CX3CL1, IL-6R, NOD2, TGF- β 1, TLR4 y TNF- α , con un aumento durante la fase activa de la enfermedad, lo que sugiere diferencias en la expresión génica acorde a la actividad de la uveítis. Además, se observó una tendencia al aumento de ARNm de moléculas como fractalquina/CX3CL1 y TGF- β 1 en las células del epitelio conjuntival durante la fase activa, aunque son necesarios estudios con un mayor tamaño muestral.

9. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Malhotra A, Minja FJ, Crum A, Burrowes D. Ocular Anatomy and Cross-Sectional Imaging of the Eye. *Seminars in Ultrasound, CT and MRI* 2011;32:2–13. <https://doi.org/10.1053/J.SULT.2010.10.009>.
- [2] Tsirouki T, Dastiridou A, Symeonidis C, Tounakaki O, Brazitikou I, Kalogeropoulos C, et al. A Focus on the Epidemiology of Uveitis. <https://doi.org/10.1080/09273948.2016.1196713>.
- [3] Wakefield D, Chang JH. Epidemiology of uveitis. *Int Ophthalmol Clin* 2005;45:1–13. <https://doi.org/10.1097/01.IIO.0000155938.83083.94>.
- [4] García-Aparicio A, Alonso Martín L, López Lancho R, Quirós Zamorano R, Del Olmo Perez L, Sánchez Fernández S, et al. Epidemiology of Uveitis in a Spanish Region: Prevalence and Etiology. <https://doi.org/10.1080/09286586.2020.1815802>.
- [5] Miserocchi E, Fogliato G, Modorati G, Bandello F. Review on the Worldwide Epidemiology of Uveitis. *Eur J Ophthalmol* 2013;23:705–17. <https://doi.org/10.5301/ejo.5000278>.
- [6] Patnaik G, Annamalai R, Biswas J. Intraocular biopsy in uveitis. *Indian J Ophthalmol* 2020;68:1838. https://doi.org/10.4103/IJO.IJO_1325_20.
- [7] Rosenbaum JT, Bodaghi B, Couto C, Zierhut M, Acharya N, Pavesio C, et al. New observations and emerging ideas in diagnosis and management of non-infectious uveitis: A review. *Semin Arthritis Rheum* 2019;49:438–45. <https://doi.org/10.1016/J.SEMARTHRT.2019.06.004>.
- [8] Oh BL, Lee JS, Lee EY, Lee HY, Yu HG. Incidence and Risk Factors for Blindness in Uveitis: A Nationwide Cohort Study from 2002 to 2013. <https://doi.org/10.1080/09273948.2020.1746352>.
- [9] Adán-Civera AM, Benítez-del-Castillo JM, Blanco-Alonso R, Pato-Cour E, Sellas-Fernández A, Bañares-Cañizares A. Burden and Direct Costs of Non Infectious Uveitis in Spain. *Reumatología Clínica (English Edition)* 2016;12:196–200. <https://doi.org/10.1016/J.REUMA.2016.04.003>.
- [10] Bloch-Michel E, Nussenblatt RB. International Uveitis Study Group recommendations for the evaluation of intraocular inflammatory disease. *Am J Ophthalmol* 1987;103:234–5. [https://doi.org/10.1016/S0002-9394\(14\)74235-7](https://doi.org/10.1016/S0002-9394(14)74235-7).
- [11] Jabs DA, Nussenblatt RB, Rosenbaum JT, Atmaca LS, Becker MD, Brezin AP, et al. Standardization of Uveitis Nomenclature for Reporting Clinical Data. Results of the First International Workshop. *Am J Ophthalmol* 2005;140:509. <https://doi.org/10.1016/J.AJO.2005.03.057>.
- [12] Rosenbaum JT, Nozik RA. Uveitis: many diseases, one diagnosis. *Am J Med* 1985;79:545–7. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(85\)90049-X](https://doi.org/10.1016/0002-9343(85)90049-X).
- [13] Schulz DC, Orr SMA, Johnstone R, Devlin MK, Sheidow TG, Bursztyn LLCD. The many faces of ocular syphilis: case-based update on recognition, diagnosis, and treatment. *Canadian Journal of Ophthalmology* 2021;56:283–93. <https://doi.org/10.1016/J.JCJO.2021.01.006>.
- [14] Hou S, Kijlstra A, Yang P. Molecular Genetic Advances in Uveitis. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2015;134:283–98. <https://doi.org/10.1016/BS.PMBTS.2015.04.009>.
- [15] Rathinam SR, Tugal-Tutkun I, Agarwal M, Rajesh V, Egriparmak M, Patnaik G. Immunological tests and their interpretation in uveitis. *Indian J Ophthalmol* 2020;68:1737. https://doi.org/10.4103/IJO.IJO_570_20.
- [16] Hadjadj J, Dechartres A, Chapron T, Assala M, Salah S, Dunogué B, et al. Relevance of diagnostic investigations in patients with uveitis: Retrospective cohort study on

- 300 patients. *Autoimmun Rev* 2017;16:504–11. <https://doi.org/10.1016/J.AUTREV.2017.03.006>.
- [17] Marchese A, Agarwal A, Moretti AG, Handa S, Modorati G, Querques G, et al. Advances in imaging of uveitis. *Ther Adv Ophthalmol* 2020;12. https://doi.org/10.1177/2515841420917781/ASSET/IMAGES/LARGE/10.1177_2515841420917781-FIG10.JPEG.
- [18] Biswas J, Annamalai R, Krishnaraj V. Biopsy Pathology in Uveitis. *Middle East Afr J Ophthalmol* 2011;18:261. <https://doi.org/10.4103/0974-9233.90126>.
- [19] GOLDMANN H, WITMER R. [Antibodies in the aqueous humor]. *Ophthalmologica* 1954;127:323–30. <https://doi.org/10.1159/000301976>.
- [20] Omenn GS. The human eye proteome project. *Proteomics* 2013;13:2375–6. <https://doi.org/10.1002/PMIC.201300255>.
- [21] Aebersold R, Bader GD, Edwards AM, Van Eyk JE, Kussmann M, Qin J, et al. The biology/disease-driven human proteome project (B/D-HPP): Enabling protein research for the life sciences community. *J Proteome Res* 2013;12:23–7. https://doi.org/10.1021/PR301151M/ASSET/IMAGES/MEDIUM/PR-2012-01151M_0004.GIF.
- [22] Kempen JH, Altaweel MM, Holbrook JT, Jabs DA, Louis TA, Sugar EA, et al. Randomized Comparison of Systemic Anti-inflammatory Therapy Versus Fluocinolone Acetonide Implant for Intermediate, Posterior and Panuveitis: The Multicenter Uveitis Steroid Treatment Trial. *Ophthalmology* 2011;118:1916. <https://doi.org/10.1016/J.OPHTHA.2011.07.027>.
- [23] Lowder C, Belfort R, Lightman S, Foster CS, Robinson MR, Schiffman RM, et al. Dexamethasone intravitreal implant for noninfectious intermediate or posterior uveitis. *Arch Ophthalmol* 2011;129:545–53. <https://doi.org/10.1001/ARCHOPHTHALMOL.2010.339>.
- [24] Arcinue CA, Cerón OM, Foster CS. A Comparison Between the Fluocinolone Acetonide (Retisert) and Dexamethasone (Ozurdex) Intravitreal Implants in Uveitis n.d. <https://doi.org/10.1089/jop.2012.0180>.
- [25] Massa H, Georgoudis P, Panos GD. Dexamethasone intravitreal implant (OZURDEX®) for macular edema secondary to noninfectious uveitis: A review of the literature. *Ther Deliv* 2019;10:343–51. <https://doi.org/10.4155/TDE-2019-0024>.
- [26] Bodaghi B, Nguyen QD, Jaffe G, Khoramnia R, Pavesio C. Preventing relapse in non-infectious uveitis affecting the posterior segment of the eye – evaluating the 0.2 µg/day fluocinolone acetonide intravitreal implant (ILUVIEN®). *J Ophthalmic Inflamm Infect* 2020;10:1–9. <https://doi.org/10.1186/S12348-020-00225-Z/FIGURES/7>.
- [27] Nguyen QD, Merrill PT, Jaffe GJ, Dick AD, Kurup SK, Sheppard J, et al. Adalimumab for prevention of uveitic flare in patients with inactive non-infectious uveitis controlled by corticosteroids (VISUAL II): a multicentre, double-masked, randomised, placebo-controlled phase 3 trial. *The Lancet* 2016;388:1183–92. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)31339-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)31339-3).
- [28] Bajwa A, Maleki A, Payal AR, Fandiño A, Padrón MIM, Walsh M, et al. Efficacy and Safety of Infliximab in HLA-B27-associated Ocular Inflammation Refractory or Intolerant to Conventional Immunomodulatory Therapy. *J Ophthalmic Vis Res* 2020;15:459. <https://doi.org/10.18502/JOVR.V15I4.7786>.

- [29] Smith JA, Thompson DJS, Whitcup SM, Suhler E, Clarke G, Smith S, et al. A randomized, placebo-controlled, double-masked clinical trial of etanercept for the treatment of uveitis associated with juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2005;53:18–23. <https://doi.org/10.1002/ART.20904>.
- [30] Hale S, Lightman S. Anti-TNF therapies in the management of acute and chronic uveitis. *Cytokine* 2006;33:231–7. <https://doi.org/10.1016/J.CYTO.2005.12.012>.
- [31] Sharon Y, Chu DS. Certolizumab pegol – Tumor necrosis factor inhibitor for refractory uveitis. *Am J Ophthalmol Case Rep* 2020;18:100633. <https://doi.org/10.1016/J.AJOC.2020.100633>.
- [32] Llorenç V, Mesquida M, Sainz De La Maza M, Blanco R, Calvo V, Maíz O, et al. Certolizumab Pegol, a New Anti-TNF- α in the Armamentarium against Ocular Inflammation. *Ocul Immunol Inflamm* 2016;24:167–72. <https://doi.org/10.3109/09273948.2014.967779>.
- [33] Hoepken B, Horst-Bruinsma I van der, Bentum R van, Verbraak FD, Rath T, Rosenbaum J, et al. The Impact of Certolizumab Pegol Treatment on the Incidence of Anterior Uveitis Flares in Patients with Axial Spondyloarthritis: Responses by Gender. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2020;61:3171–3171.
- [34] van Bentum RE, Heslinga SC, Nurmohamed MT, Gerards AH, Griep EN, Koehorst CBJM, et al. Reduced Occurrence Rate of Acute Anterior Uveitis in Ankylosing Spondylitis Treated with Golimumab — The GO-EASY Study. *J Rheumatol* 2019;46:153–9. <https://doi.org/10.3899/JRHEUM.180312>.
- [35] Gómez-Gómez A, Loza E, Rosario MP, Espinosa G, de Morales JMGR, Herrera JM, et al. Efficacy and safety of immunomodulatory drugs in patients with non-infectious intermediate and posterior uveitis, panuveitis and macular edema: A systematic literature review. *Semin Arthritis Rheum* 2020;50:1299–306. <https://doi.org/10.1016/J.SEMARTHRT.2020.08.010>.
- [36] Dick AD, Tugal-Tutkun I, Foster S, Zierhut M, Melissa Liew SH, Bezlyak V, et al. Secukinumab in the Treatment of Noninfectious Uveitis: Results of Three Randomized, Controlled Clinical Trials. *Ophthalmology* 2013;120:777–87. <https://doi.org/10.1016/J.OPHTHA.2012.09.040>.
- [37] Maccora I, Abu Rumeileh S, Curci F, de Libero C, Marrani E, Mastrolia MV, et al. Tocilizumab and Abatacept for the Treatment of Childhood Chronic Uveitis: A Monocentric Comparison Experience. *Front Pediatr* 2022;10:851453. <https://doi.org/10.3389/FPED.2022.851453/BIBTEX>.
- [38] Schauwvlieghe PP, Calster J Van, Herbort CP, Kestelyn PA, De Vlam K. Clinical science Efficacy and safety of abatacept to treat active birdshot uveitis: a prospective open label interventional proof-of-concept trial. *Br J Ophthalmol* 2024;108:244–52. <https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2022-321585>.
- [39] Fabiani C, Vitale A, Rigante D, Emmi G, Lopalco G, Di Scala G, et al. The Presence of Uveitis Is Associated with a Sustained Response to the Interleukin (IL)-1 Inhibitors Anakinra and Canakinumab in Behçet’s Disease. *Ocul Immunol Inflamm* 2020;28:298–304. <https://doi.org/10.1080/09273948.2018.1511810>.
- [40] Fabiani C, Vitale A, Emmi G, Lopalco G, Vannozzi L, Guerriero S, et al. Interleukin (IL)-1 inhibition with anakinra and canakinumab in Behçet’s disease-related uveitis: a multicenter retrospective observational study. *Clin Rheumatol* 2017;36:191–7. <https://doi.org/10.1007/S10067-016-3506-4>.

- [41] Mugheddu C, Atzori L, Del Piano M, Lappi A, Pau M, Murgia S, et al. Successful ustekinumab treatment of noninfectious uveitis and concomitant severe psoriatic arthritis and plaque psoriasis. *Dermatol Ther* 2017;30:e12527. <https://doi.org/10.1111/DTH.12527>.
- [42] Mohammad AJ, Smith RM, Chow YW, Chaudhry AN, Jayne DRW. Alemtuzumab as Remission Induction Therapy in Behçet Disease: A 20-year Experience. *J Rheumatol* 2015;42:1906–13. <https://doi.org/10.3899/JRHEUM.141344>.
- [43] Biological markers in environmental health research. Committee on Biological Markers of the National Research Council. *Environ Health Perspect* 1987;74:3–9. <https://doi.org/10.1289/EHP.74-1474499>.
- [44] Nations U, Programme E, Criteria EH, Management S, Programme TI, Safety C, et al. Biomarkers In Risk Assessment: Validity And Validation 2014:1–21.
- [45] Atkinson AJ, Colburn WA, DeGruttola VG, DeMets DL, Downing GJ, Hoth DF, et al. Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther* 2001;69:89–95. <https://doi.org/10.1067/MCP.2001.113989>.
- [46] Cocho L, Fernández I, Calonge M, Martínez V, González-García MJ, Caballero D, et al. Gene Expression–Based Predictive Models of Graft Versus Host Disease–Associated Dry Eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56:4570–81. <https://doi.org/10.1167/IOVS.15-16736>.
- [47] Cocho L, Fernández I, Calonge M, Martínez V, González-García MJ, Caballero D, et al. Biomarkers in Ocular Chronic Graft Versus Host Disease: Tear Cytokine- and Chemokine-Based Predictive Model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016;57:746–58. <https://doi.org/10.1167/IOVS.15-18615>.
- [48] Cocho L, Fernández I, Calonge M, de la Maza MS, Rovira M, Stern ME, et al. Prehematopoietic stem cell transplantation tear cytokines as potential susceptibility biomarkers for ocular chronic graft-versus-host disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2017;58:4836–46. <https://doi.org/10.1167/iovs.17-21670>.
- [49] Lam H, Bleiden L, de Paiva CS, Farley W, Stern ME, Pflugfelder SC. Tear Cytokine Profiles in Dysfunctional Tear Syndrome. *Am J Ophthalmol* 2009;147:198. <https://doi.org/10.1016/J.AJO.2008.08.032>.
- [50] Barton K, Monroy DC, Nava A, Pflugfelder SC. Inflammatory Cytokines in the Tears of Patients with Ocular Rosacea. *Ophthalmology* 1997;104:1868–74. [https://doi.org/10.1016/S0161-6420\(97\)30014-1](https://doi.org/10.1016/S0161-6420(97)30014-1).
- [51] Ooi KGJ, Galatowicz G, Calder VL, Lightman SL. Cytokines and chemokines in uveitis - Is there a correlation with clinical phenotype? *Clin Med Res* 2006;4:294–309. <https://doi.org/10.3121/cmr.4.4.294>.
- [52] Lahmar I, Abou-Bacar A, Abdelrahman T, Guinard M, Babba H, Ben Yahia S, et al. Cytokine Profiles in Toxoplasmic and Viral Uveitis. *J Infect Dis* 2009;199:1239–49. <https://doi.org/10.1086/597478>.
- [53] Abu El-Asrar AM, Struyf S, Kangave D, Al-Obeidan SA, Opdenakker G, Geboes K, et al. Cytokine and CXC chemokine expression patterns in aqueous humor of patients with presumed tuberculous uveitis. *Cytokine* 2012;59:377–81. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2012.04.030>.
- [54] Abu El-Asrar AM, Al-Obeidan SS, Kangave D, Geboes K, Opdenakker G, Van Damme J, et al. CXC chemokine expression profiles in aqueous humor of patients

- with different clinical entities of endogenous uveitis. *Immunobiology* 2011;216:1004–9. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2011.03.007>.
- [55] Haasnoot AMJW, Kuiper JJW, de Boer JH. Predicting uveitis in juvenile idiopathic arthritis: from biomarkers to clinical practice. *Expert Rev Clin Immunol* 2019;15:657–66. <https://doi.org/10.1080/1744666X.2019.1593139>.
- [56] Kuiper JJW, Mutis T, De Jager W, De Groot-Mijnes JDF, Rothova A. Intraocular interleukin-17 and proinflammatory cytokines in HLA-A-29-associated birdshot chorioretinopathy. *Am J Ophthalmol* 2011;152:177-182.e1. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2011.01.031>.
- [57] Ang M, Cheung G, Vania M, Chen J, Yang H, Li J, et al. Aqueous cytokine and chemokine analysis in uveitis associated with tuberculosis. *Mol Vis* 2012;18:565–73.
- [58] Mesquida M, Molins B, Llorenç V, Sainz De La Maza M, Hernandez MV, Espinosa G, et al. Proinflammatory cytokines and c-reactive protein in uveitis associated with behçet’s disease. *Mediators Inflamm* 2014;2014. <https://doi.org/10.1155/2014/396204>.
- [59] Curnow SJ, Murray PI. Inflammatory mediators of uveitis: Cytokines and chemokines. *Curr Opin Ophthalmol* 2006;17:532–7. <https://doi.org/10.1097/ICU.0b013e32801094b5>.
- [60] Valentincic NV, de Groot-Mijnes JDF, Kraut A, Korosec P, Hawlina M, Rothova A. Intraocular and serum cytokine profiles in patients with intermediate uveitis. *Mol Vis* 2011;17:2003.
- [61] Li J, Ang M, Cheung CMG, Vania M, Chan ASY, Waduthantri S, et al. Aqueous Cytokine Changes Associated with Posner-Schlossman Syndrome with and without Human Cytomegalovirus. *PLoS One* 2012;7:e44453. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0044453>.
- [62] Santos Lacomba M, Marcos Martin C, Ramírcz Chamond R, Gallardo Galera JM, Omar M, Collantes Estevez E. Aqueous and serum interferon γ , interleukin (IL) 2, IL-4, and IL-10 in patients with uveitis. *Archives of Ophthalmology* 2000;118:768–72. <https://doi.org/10.1001/ARCHOPHT.118.6.768>.
- [63] Curnow SJ, Falciani F, Durrani OM, Cheung CMG, Ross EJ, Wloka K, et al. Multiplex bead immunoassay analysis of aqueous humor reveals distinct cytokine profiles in uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:4251–9. <https://doi.org/10.1167/IOVS.05-0444>.
- [64] Sijssens KM, Rijkers GT, Rothova A, Stilma JS, Schellekens PAWJF, de Boer JH. Cytokines, chemokines and soluble adhesion molecules in aqueous humor of children with uveitis. *Exp Eye Res* 2007;85:443–9. <https://doi.org/10.1016/J.EXER.2007.06.011>.
- [65] Kany S, Vollrath JT, Relja B. Cytokines in Inflammatory Disease. *International Journal of Molecular Sciences* 2019, Vol 20, Page 6008 2019;20:6008. <https://doi.org/10.3390/IJMS20236008>.
- [66] Liu C, Chu D, Kalantar-Zadeh K, George J, Young HA, Liu G. Cytokines: From Clinical Significance to Quantification. *Advanced Science* 2021;8:2004433. <https://doi.org/10.1002/ADVS.202004433>.
- [67] Borish LC, Steinke JW. 2. Cytokines and chemokines. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2003;111:S460–75. <https://doi.org/10.1067/MAI.2003.108>.

- [68] Wallace GR, John Curnow S, Wloka K, Salmon M, Murray PI. The role of chemokines and their receptors in ocular disease. *Prog Retin Eye Res* 2004;23:435–48. <https://doi.org/10.1016/J.PRETEYERES.2004.04.004>.
- [69] Turner MD, Nedjai B, Hurst T, Pennington DJ. Cytokines and chemokines: At the crossroads of cell signalling and inflammatory disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* 2014;1843:2563–82. <https://doi.org/10.1016/J.BBAMCR.2014.05.014>.
- [70] Miserocchi E, Pontikaki I, Modorati G, Bandello F, Meroni PL, Gerloni V. Rituximab for uveitis. *Ophthalmology* 2011;118:223–4. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2010.07.031>.
- [71] Miserocchi E, Modorati G, Berchicci L, Pontikaki I, Meroni P, Gerloni V. Long-term treatment with rituximab in severe juvenile idiopathic arthritis-associated uveitis. *British Journal of Ophthalmology* 2016;100:782–6. <https://doi.org/10.1136/BJOPHTHALMOL-2015-306790>.
- [72] O'Garra A, Murphy K. Role of cytokines in determining T-lymphocyte function. *Curr Opin Immunol* 1994;6:458–66. [https://doi.org/10.1016/0952-7915\(94\)90128-7](https://doi.org/10.1016/0952-7915(94)90128-7).
- [73] Becker MD, Adamus G, Davey MP, Rosenbaum JT. The role of T cells in autoimmune uveitis. *Ocul Immunol Inflamm* 2000;8:93–100. [https://doi.org/10.1076/0927-3948\(200006\)821-0FT093](https://doi.org/10.1076/0927-3948(200006)821-0FT093).
- [74] Guo K, Zhang X. Cytokines that Modulate the Differentiation of Th17 Cells in Autoimmune Uveitis. *J Immunol Res* 2021;2021. <https://doi.org/10.1155/2021/6693542>.
- [75] Mo JS, Matsukawa A, Ohkawara S, Yoshinaga M. Involvement of TNF α , IL-1 β and IL-1 Receptor Antagonist in LPS-induced Rabbit Uveitis. *Exp Eye Res* 1998;66:547–57. <https://doi.org/10.1006/EXER.1997.0451>.
- [76] Ohta K, Wiggert B, Yamagami S, Taylor AW, Streilein JW. Analysis of Immunomodulatory Activities of Aqueous Humor from Eyes of Mice with Experimental Autoimmune Uveitis. *The Journal of Immunology* 2000;164:1185–92. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.164.3.1185>.
- [77] Fang IM, Yang CH, Lin CP, Yang CM, Chen MS. Expression of chemokine and receptors in Lewis rats with experimental autoimmune anterior uveitis. *Exp Eye Res* 2004;78:1043–55. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2004.02.006>.
- [78] Bahar G. Inflammatory mediators and posterior segment involvement in ocular Behçet disease. *Eur J Ophthalmol* 2009;19:998–1003. <https://doi.org/10.1177/112067210901900616>.
- [79] Lee MT, Hooper LC, Kump L, Hayashi K, Nussenblatt R, Hooks JJ, et al. Interferon- β and adhesion molecules (E-selectin and s-intracellular adhesion molecule-1) are detected in sera from patients with retinal vasculitis and are induced in retinal vascular endothelial cells by Toll-like receptor 3 signalling. *Clin Exp Immunol* 2007;147:71. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2249.2006.03253.X>.
- [80] Simsek M, Cakar Ozdal P, Akbiyik F, Citirik M, Berker N, Ozdamar Erol Y, et al. Aqueous humor IL-8, IL-10, and VEGF levels in Fuchs' uveitis syndrome and Behçet's uveitis. *Int Ophthalmol* 2019;39:2629–36. <https://doi.org/10.1007/S10792-019-01112-W/TABLES/3>.

- [81] Abu El-Asrar AM, Struyf S, Descamps FJ, Al-Obeidan SA, Proost P, Van Damme JO, et al. Chemokines and Gelatinases in the Aqueous Humor of Patients With Active Uveitis 2004. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2004.04.046>.
- [82] Chen W, Zhao B, Jiang R, Zhang R, Wang Y, Wu H, et al. Cytokine Expression Profile in Aqueous Humor and Sera of Patients with Acute Anterior Uveitis. *Curr Mol Med*. 2015;15(6):543-549. doi:10.2174/1566524015666150731100012.
- [83] Santos Lacombe M, Marcos Martín C, Gallardo Galera JM, Gómez Vidal MA, Collantes Estévez E, Ramírez Chamond R, et al. Aqueous Humor and Serum Tumor Necrosis Factor- α in Clinical Uveitis. *Ophthalmic Res* 2001;33:251–5. <https://doi.org/10.1159/000055677>.
- [84] Bonacini M, Soriano A, Cimino L, De Simone L, Bolletta E, Gozzi F, et al. Cytokine Profiling in Aqueous Humor Samples From Patients With Non-Infectious Uveitis Associated With Systemic Inflammatory Diseases. *Front Immunol* 2020;11:514420. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2020.00358/BIBTEX>.
- [85] Zhou L, Zhao SZ, Koh SK, Chen L, Vaz C, Tanavde V, et al. In-depth analysis of the human tear proteome. *J Proteomics* 2012;75:3877–85. <https://doi.org/10.1016/J.JPROT.2012.04.053>.
- [86] Ohashi Y, Dogru M, Tsubota K. Laboratory findings in tear fluid analysis. *Clin Chim Acta* 2006;369:17–28. <https://doi.org/10.1016/J.CCA.2005.12.035>.
- [87] Dartt DA, Willcox MDP. Complexity of the tear film: Importance in homeostasis and dysfunction during disease. *Exp Eye Res* 2013;117:1. <https://doi.org/10.1016/J.EXER.2013.10.008>.
- [88] Clinch TE, Benedetto DA, Felberg NT, Laibson PR. Schirmer's test. A closer look. *Arch Ophthalmol* 1983;101:1383–6. <https://doi.org/10.1001/ARCHOPHT.1983.01040020385009>.
- [89] Holly FJ, Lemp MA. Tear physiology and dry eyes. *Surv Ophthalmol* 1977;22:69–87. [https://doi.org/10.1016/0039-6257\(77\)90087-X](https://doi.org/10.1016/0039-6257(77)90087-X).
- [90] Willcox MDP, Argüeso P, Georgiev GA, Holopainen JM, Laurie GW, Millar TJ, et al. TFOS DEWS II Tear Film Report. *Ocul Surf* 2017;15:366. <https://doi.org/10.1016/J.JTOS.2017.03.006>.
- [91] Green-Church KB, Butovich I, Willcox M, Borchman D, Paulsen F, Barabino S, et al. The International Workshop on Meibomian Gland Dysfunction: Report of the Subcommittee on Tear Film Lipids and Lipid-Protein Interactions in Health and Disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:1979–93. <https://doi.org/10.1167/IOVS.10-6997D>.
- [92] Gipson IK, Inatomi T. Mucin genes expressed by the ocular surface Epithelium. *Prog Retin Eye Res* 1997;16:81–98. [https://doi.org/10.1016/S1350-9462\(96\)00022-5](https://doi.org/10.1016/S1350-9462(96)00022-5).
- [93] Spurr-Michaud S, Argüeso P, Gipson I. Assay of Mucins in Human Tear Fluid. *Exp Eye Res* 2007;84:939. <https://doi.org/10.1016/J.EXER.2007.01.018>.
- [94] Jumblatt M, ... RM-... ophthalmology & visual, 1999 undefined. MUC5AC mucin is a component of the human precorneal tear film. *iovsArvojournalsOrgMM Jumblatt, RW McKenzie, JE JumblattInvestigative Ophthalmology & Visual Science, 1999•iovsArvojournalsOrg n.d.*
- [95] Tiffany JM. The Normal Tear Film. *Dev Ophthalmol* 2008;41:1–20. <https://doi.org/10.1159/000131066>.

- [96] Stern ME, Beuerman RW, Fox RI, Gao J, Mircheff AK, Pflugfelder SC. A unified theory of the role of the ocular surface in dry eye. *Adv Exp Med Biol* 1998;438:643–51. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-5359-5_91/COVER.
- [97] Maitchouk DY, Beuerman RW, Ohta T, Stern M, Varnell RJ. Tear Production After Unilateral Removal of the Main Lacrimal Gland in Squirrel Monkeys. *Archives of Ophthalmology* 2000;118:246–52. <https://doi.org/10.1001/ARCHOPHT.118.2.246>.
- [98] Nakamura Y, Sotozono DrC, Kinoshita S. Inflammatory cytokines in normal human tears. *Curr Eye Res* 1998;17:673–6. <https://doi.org/10.1080/02713689808951242>.
- [99] Fluckinger M, Haas H, Merschak P, Glasgow BJ, Redl B. Human tear lipocalin exhibits antimicrobial activity by scavenging microbial siderophores. *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48:3367–72. <https://doi.org/10.1128/AAC.48.9.3367-3372.2004>.
- [100] Fullard R, visual CS-I ophthalmology &, 1990 undefined. Protein levels in nonstimulated and stimulated tears of normal human subjects. *iovsArvojournalsOrgRJ Fullard, C SnyderInvestigative Ophthalmology & Visual Science, 1990•iovsArvojournalsOrg* 1990;31.
- [101] Bräuer L, Kindler C, Jäger K, Sel S, Nölle B, Pleyer U, et al. Detection of surfactant proteins A and D in human tear fluid and the human lacrimal system. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48:3945–53. <https://doi.org/10.1167/IOVS.07-0201>.
- [102] Bräuer L, Johl M, Paulsen FP, Börgermann J, Pleyer U, Tsokos M. Detection and localization of the hydrophobic surfactant proteins B and C in human tear fluid and the human lacrimal system. *Curr Eye Res* 2007;32:931–8. <https://doi.org/10.1080/02713680701694369>.
- [103] Crouch RK, Goletz P, Snyder A, Coles WH. Antioxidant Enzymes in Human Tears. <https://doi.org/10.1089/JOP.1991.7.253>.
- [104] Samudre S, Lattanzio FA, Lossen V, Hosseini A, Sheppard JD, McKown RL, et al. Lacritin, a Novel Human Tear Glycoprotein, Promotes Sustained Basal Tearing and Is Well Tolerated. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:6265–70. <https://doi.org/10.1167/IOVS.10-6220>.
- [105] Stern ME, Gao J, Siemasko KF, Beuerman RW, Pflugfelder SC. The role of the lacrimal functional unit in the pathophysiology of dry eye. *Exp Eye Res* 2004;78:409–16. <https://doi.org/10.1016/J.EXER.2003.09.003>.
- [106] Jackson CJ, Gundersen KG, Tong L, Utheim TP. Dry eye disease and proteomics. *Ocul Surf* 2022;24:119–28. <https://doi.org/10.1016/J.JTOS.2022.03.001>.
- [107] Zhou L, Beuerman RW. The power of tears: how tear proteomics research could revolutionize the clinic. 2017;14:189–91. <https://doi.org/10.1080/14789450.2017.1285703>.
- [108] Boehm N, Riechardt AI, Wiegand M, Pfeiffer N, Grus FH. Proinflammatory Cytokine Profiling of Tears from Dry Eye Patients by Means of Antibody Microarrays. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:7725–30. <https://doi.org/10.1167/IOVS.11-7266>.
- [109] Kuo MT, Fang PC, Chao TL, Chen A, Lai YH, Huang YT, et al. Tear Proteomics Approach to Monitoring Sjögren Syndrome or Dry Eye Disease. *International Journal of Molecular Sciences* 2019, Vol 20, Page 1932 2019;20:1932. <https://doi.org/10.3390/IJMS20081932>.

- [110] Tomosugi N, Kitagawa K, Takahashi N, Sugai S, Ishikawat I. Diagnostic potential of tear proteomic patterns in Sjögren's syndrome. *J Proteome Res* 2005;4:820–5. <https://doi.org/10.1021/PR0497576/ASSET/IMAGES/MEDIUM/PR0497576N00001.GIF>.
- [111] Kim HJ, Kim PK, Yoo HS, Kim CW. Comparison of tear proteins between healthy and early diabetic retinopathy patients. *Clin Biochem* 2012;45:60–7. <https://doi.org/10.1016/J.CLINBIOCHEM.2011.10.006>.
- [112] Carreño E, Portero A, Herreras JM, García-Vázquez C, Whitcup SM, Stern ME, et al. Cytokine and chemokine tear levels in patients with uveitis. *Acta Ophthalmol* 2017;95:e405–14. <https://doi.org/10.1111/aos.13292>.
- [113] Türkçüoğlu P, Arat YO, Kan E, Kan EK, Chaudhry IA, Koca S, et al. Association of Disease Activity with Serum and Tear IL-2 Levels in Behçet Disease. *Ocul Immunol Inflamm* 2016;24:313–8. <https://doi.org/10.3109/09273948.2014.1003661>.
- [114] Shirinsky I V., Biryukova AA, Kalinovskaya NY, Shirinsky VS. Tear cytokines as potential biomarkers in non-infectious uveitis: post hoc analysis of a randomised clinical trial. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology* 2020;258:1813–9. <https://doi.org/10.1007/s00417-020-04707-7>.
- [115] Kumar A, Sharma SP, Agarwal A, Gupta V, Katoch D, Sehgal S, et al. Tear IL-6 and IL-10 levels in HLA-B27-Associated Uveitis and Its clinical Implications. *Ocul Immunol Inflamm* 2021;29:237–43. <https://doi.org/10.1080/09273948.2019.1704022>.
- [116] Angeles-Han ST, Yeh S, Patel P, Duong D, Jenkins K, Rouster-Stevens KA, et al. Discovery of tear biomarkers in children with chronic non-infectious anterior uveitis: a pilot study. *J Ophthalmic Inflamm Infect* 2018;8. <https://doi.org/10.1186/s12348-018-0156-5>.
- [117] Yılmaz Tuğan B, Sarıhan M, Kasap M, Akpınar G, Karabaş L, Şahin N, et al. Is tear proteome profile a predictor of developing uveitis in ANA-positive patients with oligoarticular juvenile idiopathic arthritis? *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2023;262:211–21. <https://doi.org/10.1007/S00417-023-06251-6>.
- [118] Angeles-Han ST, Miraldi Utz V, Thornton S, Schulert G, Rodriguez-Smith J, Kauffman A, et al. S100 Proteins, Cytokines, and Chemokines as Tear Biomarkers in Children with Juvenile Idiopathic Arthritis-associated Uveitis. <https://doi.org/10.1080/09273948.2020.1758731>.
- [119] Eidet JR, Akopian M, Olstad OK, Jørstad ØK, Moe MC, Petrovski G, et al. The acute phase response protein SERPINA3 is increased in tear fluid from the unaffected eyes of patients with unilateral acute anterior uveitis. *Journal of Ophthalmic Inflammation and Infection* 2021 11:1 2021;11:1–10. <https://doi.org/10.1186/S12348-021-00249-Z>.
- [120] Eidet JR, Jørstad ØK, Fostad IG, Olstad OK, Sørland R, Moe MC, et al. Unilateral acute anterior uveitis is associated with ipsilateral changes in the tear fluid proteome that involves the LXR/RXR pathway. *J Ophthalmic Inflamm Infect* 2020;10:13–13. <https://doi.org/10.1186/s12348-020-00204-4>.
- [121] Gipson IK. Goblet cells of the conjunctiva: A review of recent findings. *Prog Retin Eye Res* 2016;54:49–63. <https://doi.org/10.1016/J.PRETEYERES.2016.04.005>.
- [122] Thatcher RW, Darougar S, Jones BR. Conjunctival Impression Cytology. *Archives of Ophthalmology* 1977;95:678–81. <https://doi.org/10.1001/ARCHOPHT.1977.04450040144022>.

- [123] Egbert PR, Lauber S, Maurice DM. A simple conjunctival biopsy. *Am J Ophthalmol* 1977;84:798–801. [https://doi.org/10.1016/0002-9394\(77\)90499-8](https://doi.org/10.1016/0002-9394(77)90499-8).
- [124] Thia ZZ, Tong L. Update on the role of impression cytology in ocular surface disease. *Taiwan J Ophthalmol* 2019;9:141. https://doi.org/10.4103/TJO.TJO_57_19.
- [125] Calonge M, Diebold Y, Sáez V, De Salamanca AE, García-Vázquez C, Corrales RM, et al. Impression cytology of the ocular surface: a review. *Exp Eye Res* 2004;78:457–72. <https://doi.org/10.1016/J.EXER.2003.09.009>.
- [126] Trinh L, Brignole-Baudouin F, Raphaël M, Dupont-Monod S, Cassoux N, Lehoang P, et al. Th1 and Th2 Responses on the Ocular Surface in Uveitis Identified by CCR4 and CCR5 Conjunctival Expression. *Am J Ophthalmol* 2007;144:580-585.e2. <https://doi.org/10.1016/J.AJO.2007.06.013>.
- [127] López-Miguel A, Gutiérrez-Gutiérrez S, García-Vázquez C, Enríquez-De-Salamanca A. RNA Collection from Human Conjunctival Epithelial Cells Obtained with a New Device for Impression Cytology. *Cornea* 2017;36:59–63. <https://doi.org/10.1097/ICO.0000000000000977>.
- [128] Murray PI, Clay CD, Mappin C, Salmon M. Molecular analysis of resolving immune responses in uveitis. *Clin Exp Immunol* 1999;117:455–61. <https://doi.org/10.1046/J.1365-2249.1999.00993.X>.
- [129] Enríquez-de-Salamanca A, Castellanos E, Stern ME, Fernández I, Carreño E, García-Vázquez C, et al. Tear cytokine and chemokine analysis and clinical correlations in evaporative-type dry eye disease. *Mol Vis* 2010;16:862–73.
- [130] Buuren S Van, Oudshoorn K. Flexible multivariate imputation by MICE. 1999.
- [131] McCall MN, McMurray HR, Land H, Almudevar A. On non-detects in qPCR data. *Bioinformatics* 2014;30:2310–6. <https://doi.org/10.1093/BIOINFORMATICS/BTU239>.
- [132] Dvinge H, Bertone P. HTqPCR: high-throughput analysis and visualization of quantitative real-time PCR data in R. *Bioinformatics* 2009;25:3325–6. <https://doi.org/10.1093/BIOINFORMATICS/BTP578>.
- [133] Searle SR, Speed FM, Milliken GA. Population marginal means in the linear model: An alternative to least squares means. *American Statistician* 1980;34:216–21. <https://doi.org/10.1080/00031305.1980.10483031>.
- [134] Errera MH, Pratas A, Fisson S, Manicom T, Boubaya M, Sedira N, et al. Cytokines, chemokines and growth factors profile in human aqueous humor in idiopathic uveitis. *PLoS One* 2022;17:e0254972. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0254972>.
- [135] Ongkosuwito J V, Feron E, Van Doornik CEM, Van Der Lelij A, Hoyng CB, Heij EC La, et al. Analysis of immunoregulatory cytokines in ocular fluid samples from patients with uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:2659–65.
- [136] Cordero-Coma M, Calleja S, Llorente M, Rodriguez E, Franco M, Ruiz De Morales JG. Serum cytokine profile in adalimumab-treated refractory uveitis patients: decreased IL-22 correlates with clinical responses. *Ocul Immunol Inflamm* 2013;21:212–9. <https://doi.org/10.3109/09273948.2013.770888>.
- [137] Sadeghi A, Davatchi F, Shahram F, Karimimoghadam A, Alikhani M, Pezeshgi A, et al. Serum Profiles of Cytokines in Behcet’s Disease. *Journal of Clinical Medicine* 2017, Vol 6, Page 49 2017;6:49. <https://doi.org/10.3390/JCM6050049>.

- [138] Groen-Hakan F, Eurelings L, Ten Berge JC, Van Laar J, Ramakers CRB, Dik WA, et al. Diagnostic value of serum-soluble interleukin 2 receptor levels vs angiotensin-converting enzyme in patients with sarcoidosis-associated uveitis. *JAMA Ophthalmol* 2017;135:1352–8. <https://doi.org/10.1001/JAMAOPHTHALMOL.2017.4771>.
- [139] Akkurt ZM, Bozkurt M, Uçmak D, Yüksel H, Uçak H, Sula B, et al. Serum Cytokine Levels in Behçet's Disease. *J Clin Lab Anal* 2015;29:317–20. <https://doi.org/10.1002/JCLA.21772>.
- [140] Kramer M, Monselise Y, Bahar I, Cohen Y, Weinberger D, Goldenberg-Cohen N. Serum Cytokine Levels in Active Uveitis and Remission. *Curr Eye Res* 2007;32:669–75. <https://doi.org/10.1080/02713680701523147>.
- [141] Vidovic Valentincic N, De Groot-Mijnes JDF, Kraut A, Korosec P, Hawlina M, Rothova A. Intraocular and serum cytokine profiles in patients with intermediate uveitis. *Mol Vis*. 2011;17:2003-2010.
- [142] Klok AM, Luyendijk L, Zaal MJW, Rothova A, Hack CE, Kijlstra A. Elevated serum IL-8 levels are associated with disease activity in idiopathic intermediate uveitis. *British Journal of Ophthalmology* 1998;82:871–4. <https://doi.org/10.1136/BJO.82.8.871>.
- [143] Maleki A, Gomez S, Asgari S, Bosenberg Z, Manhapra A, Walsh M, et al. Diagnostic and Prognostic Roles of Serum Interleukin-6 Levels in Patients with Uveitis. *Ocul Immunol Inflamm* 2022;30:457–62. <https://doi.org/10.1080/09273948.2020.1815799>.
- [144] Roy NS, Wei Y, Ying GS, Maguire MG, Asbell PA. Association of Tear Cytokine Concentrations with Symptoms and Signs of Dry Eye Disease: Baseline Data from the Dry Eye Assessment and Management (DREAM) Study. *Curr Eye Res* 2023;48:339–47. <https://doi.org/10.1080/02713683.2022.2162088>.
- [145] Roda M, Corazza I, Reggiani MLB, Pellegrini M, Taroni L, Giannaccare G, et al. Dry Eye Disease and Tear Cytokine Levels—A Meta-Analysis. *International Journal of Molecular Sciences* 2020, Vol 21, Page 3111 2020;21:3111. <https://doi.org/10.3390/IJMS21093111>.
- [146] Lee SY, Han SJ, Nam SM, Yoon SC, Ahn JM, Kim TI, et al. Analysis of Tear Cytokines and Clinical Correlations in Sjögren Syndrome Dry Eye Patients and Non-Sjögren Syndrome Dry Eye Patients. *Am J Ophthalmol* 2013;156:247-253.e1. <https://doi.org/10.1016/J.AJO.2013.04.003>.
- [147] Massingale ML, Li X, Vallabhajosyula M, Chen D, Wei Y, Asbell PA. Analysis of inflammatory cytokines in the tears of dry eye patients. *Cornea* 2009;28:1023–7. <https://doi.org/10.1097/ICO.0B013E3181A16578>.
- [148] Liu J, Shi B, He S, Yao X, Willcox MDP, Zhao Z. Changes to tear cytokines of type 2 diabetic patients with or without retinopathy. *Mol Vis* 2010;16:2931.
- [149] Sorkhabi R, Ahoor M hossein, Ghorbani Haghjo A, Tabei E, Taheri N. Assessment of tear inflammatory cytokines concentration in patients with diabetes with varying severity of involvement. *Exp Eye Res* 2022;224:109233. <https://doi.org/10.1016/J.EXER.2022.109233>.
- [150] Liu R, Ma B, Gao Y, Ma B, Liu Y, Qi H. Tear Inflammatory Cytokines Analysis and Clinical Correlations in Diabetes and Nondiabetes With Dry Eye. *Am J Ophthalmol* 2019;200:10–5. <https://doi.org/10.1016/J.AJO.2018.12.001>.

- [151] Leonardi A, Curnow SJ, Zhan H, Calder VL. Multiple cytokines in human tear specimens in seasonal and chronic allergic eye disease and in conjunctival fibroblast cultures. *Clinical & Experimental Allergy* 2006;36:777–84. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2222.2006.02499.X>.
- [152] Standardization of Uveitis Nomenclature for Reporting Clinical Data. Results of the First International Workshop. *Am J Ophthalmol* 2005;140:509–16. <https://doi.org/10.1016/J.AJO.2005.03.057>.
- [153] Thomas AS, Hatef AL, Stinnett SS, Keenan RT, Jaffe GJ. PERIVASCULAR THICKENING ON OPTICAL COHERENCE TOMOGRAPHY AS A MARKER OF INFLAMMATION IN BIRDSHOT RETINOCHOROIDITIS. *Retina* 2019;39:956–63. <https://doi.org/10.1097/IAE.0000000000002038>.
- [154] Mantas C, Direskeneli H, Öz D, Yavuz S, Akoglu T. IL-8 producing cells in patients with Behçet’s disease. *Clin Exp Rheumatol* 2000;18:249–51.
- [155] Chi W, Zhu X, Yang P, Liu X, Lin X, Zhou H, et al. Upregulated IL-23 and IL-17 in Behçet Patients with Active Uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49:3058–64. <https://doi.org/10.1167/IOVS.07-1390>.
- [156] Kaburaki T, Fujino Y, Kawashima H, Merino G, Numaga J, Chen J, et al. Plasma and whole-blood chemokine levels in patients with Behçet’s disease. *Graefe’s Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology* 2003;241:353–8. <https://doi.org/10.1007/S00417-003-0668-Y/FIGURES/2>.
- [157] Nagata K, Maruyama K, Uno K, Shinomiya K, Yoneda K, Hamuro J, et al. Simultaneous analysis of multiple cytokines in the vitreous of patients with sarcoid uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53:3827–33. <https://doi.org/10.1167/iov.11-9244>.
- [158] Abu El-Asrar AM, Berghmans N, Al-Obeidan SA, Gikandi PW, Opendakker G, Van Damme J, et al. Expression of interleukin (IL)-10 family cytokines in aqueous humour of patients with specific endogenous uveitic entities: elevated levels of IL-19 in human leucocyte antigen-B27-associated uveitis. *Acta Ophthalmol* 2019;97:e780–4. <https://doi.org/10.1111/AOS.14039>.
- [159] Jiang Q, Li Z, Tao T, Duan R, Wang X, Su W. TNF- α in Uveitis: From Bench to Clinic. *Front Pharmacol* 2021;12. <https://doi.org/10.3389/FPHAR.2021.740057/FULL>.
- [160] Balamurugan S, Das D, Hasanreisoglu M, Toy BC, Akhter M, Anuradha V, et al. Interleukins and cytokine biomarkers in uveitis. *Indian J Ophthalmol* 2020;68:1750. https://doi.org/10.4103/IJO.IJO_564_20.
- [161] Rudwaleit M, Rødevand E, Holck P, Vanhoof J, Kron M, Kary S, et al. Adalimumab effectively reduces the rate of anterior uveitis flares in patients with active ankylosing spondylitis: results of a prospective open-label study. *Ann Rheum Dis* 2009;68:696–701. <https://doi.org/10.1136/ARD.2008.092585>.
- [162] Van Denderen JC, Visman IM, Nurmohamed MT, Suttorp-Schulten MSA, Van Der Horst-Bruinsma IE. Adalimumab Significantly Reduces the Recurrence Rate of Anterior Uveitis in Patients with Ankylosing Spondylitis. *J Rheumatol* 2014;41:1843–8. <https://doi.org/10.3899/JRHEUM.131289>.
- [163] Quartier P, Baptiste A, Despert V, Allain-Launay E, Koné-Paut I, Belot A, et al. ADJUVITE: a double-blind, randomised, placebo-controlled trial of adalimumab in early onset, chronic, juvenile idiopathic arthritis-associated anterior uveitis. *Ann Rheum Dis* 2018;77:1003–11. <https://doi.org/10.1136/ANNRHEUMDIS-2017-212089>.

- [164] Uchino E, Sonoda S, Kinukawa N, Sakamoto T. Alteration pattern of tear cytokines during the course of a day: Diurnal rhythm analyzed by multicytokine assay. *Cytokine* 2006;33:36–40. <https://doi.org/10.1016/J.CYTO.2005.11.013>.
- [165] Benito MJ, González-García MJ, Tesón M, García N, Fernández I, Calonge M, et al. Intra- and inter-day variation of cytokines and chemokines in tears of healthy subjects. *Exp Eye Res* 2014;120:43–9. <https://doi.org/10.1016/J.EXER.2013.12.017>.
- [166] Gao F, Hong X, Ding F, Huang S, Lian W, Wang H, et al. High Level of Inflammatory Cytokines in the Tears: A Bridge of Patients with Concomitant Exotropia and Dry Eye. *Oxid Med Cell Longev* 2021;2021. <https://doi.org/10.1155/2021/5662550>.
- [167] Amil-Bangsa NH, Mohd-Ali B, Ishak B, Abdul-Aziz CNN, Ngah NF, Hashim H, et al. Total Protein Concentration and Tumor Necrosis Factor α in Tears of Nonproliferative Diabetic Retinopathy. *Optometry and Vision Science* 2019;96:934–9. <https://doi.org/10.1097/OPX.0000000000001456>.
- [168] Kaur S, Bansal Y, Kumar R, Bansal G. A panoramic review of IL-6: Structure, pathophysiological roles and inhibitors. *Bioorg Med Chem* 2020;28:115327. <https://doi.org/10.1016/J.BMC.2020.115327>.
- [169] Ghasemi H. Roles of IL-6 in Ocular Inflammation: A Review. *Ocul Immunol Inflamm* 2018;26:37–50. <https://doi.org/10.1080/09273948.2016.1277247>.
- [170] Norose K, Yano A, Wang XC, Tokushima T, Umihira J, Seki A, et al. Dominance of activated T cells and interleukin-6 in aqueous humor in Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994;35:33–9.
- [171] Karkhur S, Hasanreisoglu M, Vigil E, Halim MS, Hassan M, Plaza C, et al. Interleukin-6 inhibition in the management of non-infectious uveitis and beyond. *Int J Ophthalmol*. 2022;15(8):1381-1390. <https://doi.org/10.1186/s12348-019-0182-y>.
- [172] Bettelli E, Carrier Y, Gao W, Korn T, Strom TB, Oukka M, et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature* 2006 441:7090 2006;441:235–8. <https://doi.org/10.1038/nature04753>.
- [173] Ghasemi H, Ghazanfari T, Yaraee R, Owlia P, Hassan ZM, Faghihzadeh S. Roles of IL-10 in Ocular Inflammations: A Review. *Ocul Immunol Inflamm* 2012;20:406–18. <https://doi.org/10.3109/09273948.2012.723109>.
- [174] Carreño E. Biomarcadores de actividad inflamatoria en uveítis. Tesis doctoral. Universidad de Valladolid, 2016.
- [175] Makari S, Chae J, Izuagbe S, Mills P. Correlation of Inflammatory Markers Concentration in the Aqueous Humor and Tear Film. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2024;65:5059–5059.
- [176] Zhang L, Su Z, Zhang Z, Lin J, Li DQ, Pflugfelder SC. Effects of Azithromycin on Gene Expression Profiles of Proinflammatory and Anti-inflammatory Mediators in the Eyelid Margin and Conjunctiva of Patients With Meibomian Gland Disease. *JAMA Ophthalmol* 2015;133:1117–23. <https://doi.org/10.1001/JAMAOPHTHALMOL.2015.2326>.
- [177] Rosenbaum JT, Harrington CA, Searles RP, Fei SS, Zaki A, Arepalli S, et al. Identifying RNA Biomarkers and Molecular Pathways Involved in Multiple Subtypes of Uveitis. *Am J Ophthalmol* 2021;226:226–34. <https://doi.org/10.1016/J.AJO.2021.01.007>.

- [178] Li Z, Liu B, Maminishkis A, Mahesh SP, Yeh S, Lew J, et al. Gene Expression Profiling in Autoimmune Noninfectious Uveitis Disease. *The Journal of Immunology* 2008;181:5147–57. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.181.7.5147>.
- [179] Rosenbaum JT, Harrington CA, Searles RP, Fei SS, Zaki A, Arepalli S, et al. Revising the Diagnosis of Idiopathic Uveitis by Peripheral Blood Transcriptomics. *Am J Ophthalmol* 2021;222:15–23. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2020.09.012>.
- [180] Jones BA, Beamer M, Ahmed S. Fractalkine/CX3CL1: A Potential New Target for Inflammatory Diseases. *Mol Interv* 2010;10:263. <https://doi.org/10.1124/MI.10.5.3>.
- [181] Chu L, Li X, Yu W, Qian T, Qi H, Huang L, et al. Expression of Fractalkine (CX3CL1) and Its Receptor in Endotoxin-Induced Uveitis. *Ophthalmic Res* 2009;42:160–6. <https://doi.org/10.1159/000230878>.
- [182] Brissot E, Bossard C, Malard F, Braudeau C, Chevallier P, Guillaume T, et al. Involvement of the CX3CL1 (fractalkine)/CX3CR1 pathway in the pathogenesis of acute graft-versus-host disease. *J Leukoc Biol* 2015;97:227–35. <https://doi.org/10.1189/JLB.5HI0714-325R>.
- [183] Na KS, Mok JW, Kim JY, Rho CR, Joo CK. Correlations between Tear Cytokines, Chemokines, and Soluble Receptors and Clinical Severity of Dry Eye Disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53:5443–50. <https://doi.org/10.1167/IOVS.11-9417>.
- [184] Larson C, Oronsky B, Carter CA, Oronsky A, Knox SJ, Sher D, et al. TGF-beta: a master immune regulator. *Expert Opin Ther Targets* 2020;24:427–38. <https://doi.org/10.1080/14728222.2020.1744568>.
- [185] Ogata FT, Verma S, Coulson-Thomas VJ, Gesteira TF. TGF- β -Based Therapies for Treating Ocular Surface Disorders. *Cells* 2024, Vol 13, Page 1105 2024;13:1105. <https://doi.org/10.3390/CELLS13131105>.
- [186] Peng B, Li Q, Roberge FG, Chan CC. Effect of transforming growth factor beta-1 in endotoxin-induced uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997;38:257–60.
- [187] Du H wu, Chen G yu, Yang C he, Li C bao, Xun Y ping, Liu J, et al. Multiple correlations of mRNA expression and protein abundance in human cytokine profile. *Mol Biol Rep* 2014;41:6985–93. <https://doi.org/10.1007/S11033-014-3585-8/METRICS>.
- [188] Zhao B, Chen W, Jiang R, Zhang R, Wang Y, Wang L, et al. Expression profile of IL-1 family cytokines in aqueous humor and sera of patients with HLA-B27 associated anterior uveitis and idiopathic anterior uveitis. *Exp Eye Res* 2015;138:80–6. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2015.06.018>.
- [189] Li H, He Z, Deng B, Yang C, Wang L, Xiao J, et al. Cytokines and chemokines involved in HLA-B27-positive ankylosing spondylitis-associated acute anterior uveitis. *Mol Vis* 2023;29:378.
- [190] Abu El-Asrar AM, Berghmans N, Al-Obeidan SA, Gikandi PW, Opdenakker G, Van Damme J, et al. Local Cytokine Expression Profiling in Patients with Specific Autoimmune Uveitic Entities. *Ocul Immunol Inflamm* 2020;28:453–62. <https://doi.org/10.1080/09273948.2019.1604974>.
- [191] Yu S, Mao C, Yu J, Qi X, Wang J, Lu H. A study of the key genes and inflammatory signaling pathways involved in HLA-B27-associated acute anterior uveitis families. *Int J Mol Med* 2018;42:259–69. <https://doi.org/10.3892/IJMM.2018.3596/HTML>.
- [192] Smatlik N, Mortada N, Röcken M, Yazdi AS, Zierhut M. Mesalazine Suppresses Proinflammatory Cytokines in Patients with Acute Anterior Uveitis Independently

- of HLA-B27. *Ocul Immunol Inflamm* 2021;30:1369–77. <https://doi.org/10.1080/09273948.2021.1873396>.
- [193] Marques RE, Guabiraba R, Russo RC, Teixeira MM. Targeting CCL5 in inflammation. *Expert Opin Ther Targets* 2013;17:1439–60. <https://doi.org/10.1517/14728222.2013.837886>.
- [194] Kim TW, Chung H, Yu HG. Chemokine Expression of Intraocular Lymphocytes in Patients with Behçet Uveitis. *Ophthalmic Res* 2010;45:5–14. <https://doi.org/10.1159/000313546>.
- [195] Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nature Medicine* 2003 9:6 2003;9:669–76. <https://doi.org/10.1038/nm0603-669>.
- [196] Çekmen M, Evereklioglu C, Er H, Inalöz HS, Doganay S, Yürküz Y, et al. Vascular endothelial growth factor levels are increased and associated with disease activity in patients with Behçet's syndrome. *Int J Dermatol* 2003;42:870–5. <https://doi.org/10.1046/J.1365-4362.2003.01688.X>.
- [197] Suzuki K, Iwata D, Namba K, Hase K, Hiraoka M, Murata M, et al. Involvement of Angiopoietin 2 and vascular endothelial growth factor in uveitis. *PLoS One* 2023;18:e0294745. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0294745>.
- [198] Wang S, Song R, Wang Z, Jing Z, Wang S, Ma J. S100A8/A9 in inflammation. *Front Immunol* 2018;9:371351. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2018.01298/BIBTEX>.
- [199] Cron RQ, Binstadt B, Marie Reed A, Kasper M, Walscheid K, Laffer B, et al. The Phenotype of Monocytes in Anterior Uveitis Depends on the HLA-B27 Status 2018;9. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01773>.
- [200] Wang YQ, Dai XD, Ran Y, Cao Y, Lan CL, Guan JT, et al. Circulating S100A8/A9 Levels Reflect Intraocular Inflammation in Uveitis Patients. *Ocul Immunol Inflamm* 2020;28:133–41. <https://doi.org/10.1080/09273948.2018.1538461>.
- [201] Walscheid K, Heiligenhaus A, Holzinger D, Roth J, Heinz C, Tappeiner C, et al. Elevated S100A8/A9 and S100A12 Serum Levels Reflect Intraocular Inflammation in Juvenile Idiopathic Arthritis-Associated Uveitis: Results From a Pilot Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56:7653–60. <https://doi.org/10.1167/IOVS.15-17066>.
- [202] Chi ZL, Hayasaka Y, Zhang XY, Cui HS, Hayasaka S. S100A9-positive granulocytes and monocytes in lipopolysaccharide-induced anterior ocular inflammation. *Exp Eye Res* 2007;84:254–65. <https://doi.org/10.1016/J.EXER.2006.09.016>.
- [203] Onsy M, Hanna F. Down-regulation of expression of retinoid acid-related orphan receptor C (RORC) in systemic lupus erythematosus. Article in *Journal of Receptor and Signal Transduction Research* 2015. <https://doi.org/10.3109/10799893.2015.1075042>.
- [204] Tan J, Liu H, Huang M, Li N, Tang S, Meng J, et al. Small molecules targeting RORyt inhibit autoimmune disease by suppressing Th17 cell differentiation. *Cell Death & Disease* 2020 11:8 2020;11:1–14. <https://doi.org/10.1038/s41419-020-02891-2>.
- [205] Keustermans GCE, Hoeks SBE, Meerding JM, Prakken BJ, de Jager W. Cytokine assays: An assessment of the preparation and treatment of blood and tissue samples. *Methods* 2013;61:10–7. <https://doi.org/10.1016/J.YMETH.2013.04.005>.
- [206] Lissoni P, Rovelli F, Brivio F, Brivio O, Fumagalli L. Circadian Secretions of IL-2, IL-12, IL-6 and IL-10 in Relation to the Light/Dark Rhythm of the Pineal Hormone Melatonin in Healthy Humans. *Nat Immun* 1998;16:1–5. <https://doi.org/10.1159/000069464>.

- [207] Hagan S, Tomlinson A. Tear Fluid Biomarker Profiling: A Review of Multiplex Bead Analysis. *Ocul Surf* 2013;11:219–35. <https://doi.org/10.1016/J.JTOS.2013.04.004>.
- [208] Rojas-Carabali W, Mejía-Salgado G, Cifuentes-González C, Villabona-Martínez V, Barraquer-López ND, Valdés-Arias D, et al. Clinical relationship between dry eye disease and uveitis: a scoping review. *J Ophthalmic Inflamm Infect* 2023;13:1–15. <https://doi.org/10.1186/S12348-022-00323-0/TABLES/2>.
- [209] Mastropasqua L, Carpineto P, Ciancaglini M, Gallenga PE. Tear deficiency in Fuchs' intermediate uveitis. *Can J Ophthalmol* 1996;31:18–20.

