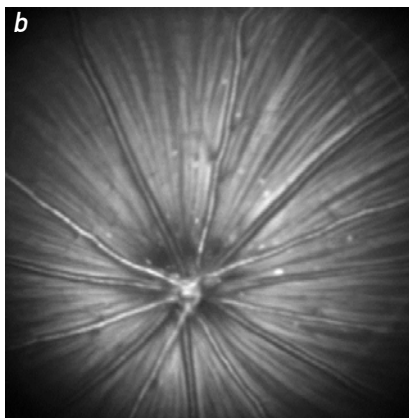
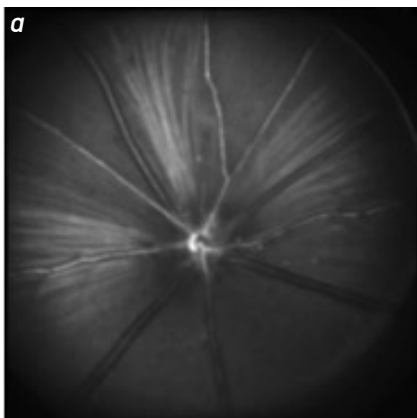




2. UN RAT ATTEINT D'UN GLAUCOME perd des neurones de la rétine, comme chez l'homme. Observés au microscope, ils ne sont plus que quelques-uns à se rejoindre pour former le nerf optique (a). En revanche, un réseau normal est maintenu (b) lorsque le rat est traité au moyen d'une molécule étudiée par les auteurs (un antagoniste du récepteur CXCR3).

perturbée. Ces associations facilitent la vie des patients en diminuant le nombre d'instillations quotidiennes. Surtout, elles améliorent la tolérance locale, car les gouttes, en contrepartie de leur efficacité, restent irritantes pour les yeux qui les reçoivent pendant des dizaines d'années.

De fait, l'enjeu de la tolérance est devenu, après celui de l'efficacité, la principale cible de l'industrie pharmaceutique et des spécialistes du glaucome. En particulier, la découverte que le conservateur des collyres lui-même crée des irritations parfois difficilement supportables (sécheresse oculaire, réactions allergiques, inflammation des paupières, larmolement...) a conduit à une prise de conscience : un traitement mal toléré sera soit non pris, avec des oublis volontaires ou non, soit peu efficace sur des yeux devenant de plus en plus fragilisés. En d'autres termes, un œil *maltraité* devient à la longue un œil *mal traité*.

Ne pas conserver... les conservateurs

La réglementation exige que tout flacon de collyre contienne un conservateur pour éviter, ou plutôt retarder, la contamination de la solution après son ouverture. Ces conservateurs doivent tuer les germes susceptibles de devenir pathogènes lors d'une éventuelle introduction à la surface de l'œil, mais sans altérer les tissus oculaires – une gageure que l'industrie pharmaceutique tente de résoudre depuis des décennies.

Nombre de médicaments à action locale, efficaces et en général bien tolérés, ont ainsi été mis à la disposition des

■ LES AUTEURS

Christophe BAUDOUIN, professeur et chef de service au Centre hospitalier national d'ophtalmologie des Quinze-Vingts, est directeur de l'équipe Chimioquinas et glaucome, à l'Institut de la vision, à Paris.

Alexandre DENOYER, docteur en médecine et ès sciences, est ophtalmologiste au Centre hospitalier des Quinze-Vingts et chercheur Inserm à l'Institut de la vision.

William ROSTÈNE est directeur de recherche émérite Inserm à l'Institut de la vision.

■ BIBLIOGRAPHIE

F. Brignole-Baudouin *et al.*, A new safety concern for glaucoma treatment demonstrated by mass spectrometry imaging of benzalkonium chloride distribution in the eye, *PLoS One*, vol. 7, e50180, 2012.

A. Denoyer *et al.*, CXCR3 antagonism of SDF-1(5-67) restores trabecular function and prevents retinal neurodegeneration in a rat model of ocular hypertension, *PLoS One*, vol. 7, e37873, 2012.

W. Rostène *et al.*, Neurochemokines : a menage a trois providing new insights on the functions of chemokines in the central nervous system, *J. Neurochem.*, vol. 118, pp. 680-694, 2011.

ophtalmologistes, médicaments où peu à peu disparaissaient les produits les plus toxiques ou allergisants, tels le mercure ou la chlorhexidine. Aussi, à première vue, à l'exception de quelques cas d'allergie aiguë survenant dans les heures ou les jours suivant l'instauration d'un traitement, la plupart des médicaments de l'ophtalmologie moderne semblent bien tolérés, même en utilisation prolongée.

Pourtant, une évaluation plus fine montre que la surface oculaire et, par là même, le confort des patients, sont souvent beaucoup plus touchés qu'il n'y paraît par ces traitements locaux. Dans une étude réalisée en 2002, Wolfgang Bernauer, de l'Université de Zurich, estime que 24 pour cent des maladies de la surface oculaire sont dues à un traitement local. Outre les simples problèmes de confort, des anomalies graves peuvent se développer à bas bruit et ne se manifester que tardivement, parfois de façon inattendue.

Le chlorure de benzalkonium : plus toxique qu'il n'y paraît

Au laboratoire, nous avons montré que le chlorure de benzalkonium, devenu le principal conservateur des collyres modernes en raison du taux assez faible d'allergies à court terme associées, perturbe l'œil en surface et en profondeur. Dans les collyres, sa concentration varie entre 0,004 et 0,02 pour cent. À de telles concentrations, cette molécule pouvait être toxique non seulement pour les germes contre lesquels il doit lutter, mais aussi pour la surface oculaire, car il déstabilise le film lacrymal.

Sécrété en permanence par l'œil, le film lacrymal protège sa surface (il forme aussi les larmes lorsqu'il s'échappe de l'œil). Il est constitué de trois couches dont deux, une couche de cellules nommées mucocytes et une phase lipidique, sont essentielles à sa stabilité et à la protection de la surface oculaire. Or même à très faible concentration (celle des collyres actuellement commercialisés), le chlorure de benzalkonium détruit les mucocytes et dissout la phase lipidique, ce qui entraîne une sécheresse oculaire. De plus, la sécheresse oculaire provoque un stress osmotique (la concentration des composés de part et d'autre de la cornée n'est plus à l'équilibre) qui accentue la toxicité du conservateur.

De fait, nombre de patients se plaignent que les gouttes aggravent leurs symptômes et préfèrent arrêter les instillations, quitte à retrouver la sécheresse d'avant traitement, plutôt que de subir les sensations de brûlures procurées par les collyres. Quant aux nombreux patients qui restent fidèles à leur prescription et mettent leur douleur sur le compte de la maladie sous-jacente, ils s'enferment dans un cercle vicieux où le collyre soulage temporairement, par son effet lubrifiant, mais en même temps induit une instabilité supplémentaire du film lacrymal qui entraîne des instillations de plus en plus fréquentes.

Les études cliniques à court terme ne retrouvent en général que peu d'effets toxiques spectaculaires. Toutefois, sur le

long terme et sur des yeux fragilisés, les conservateurs produisent des modifications profondes des systèmes de défense oculaires et des réactions inflammatoires à bas bruit (*voir l'encadré ci-dessous*). Ces effets sont particulièrement visibles dans le cas du glaucome, où la surface oculaire est en principe normale au début de la maladie. En revanche, dans des pathologies elles-mêmes inflammatoires, telles que les allergies chroniques ou les syndromes secs, les symptômes dus à la maladie préexistante sont difficiles à distinguer des aggravations dues aux conservateurs des collyres. Dans le doute, la suppression du conservateur (ou au moins la diminution de sa concentration lorsqu'il est nécessaire) est une étape indispensable dans le traitement de ces pathologies.

Des formulations sans conservateur sont actuellement de plus en plus développées en pharmacologie ophtalmologique. Jusqu'alors considéré comme neutre et sans intérêt, le conservateur fait désormais l'objet de recherches visant soit à éviter son instillation dans l'œil (développement de flacons permettant de le filtrer avant la libération de la goutte), soit à concevoir de nouveaux conservateurs peu ou pas toxiques.

Les chimiokines, des régulateurs clés

Aux côtés de ces recherches sur les conservateurs, d'autres visent à comprendre les mécanismes qui régissent la trabéculopathie associée au glaucome à angle ouvert, afin d'y déceler de nouvelles

Le chlorure de benzalkonium : toxique en profondeur

P principal conservateur des collyres actuels, le chlorure de benzalkonium est efficace pour éliminer les germes, mais son utilisation n'est pas anodine pour l'œil. Cette molécule lipophile (ayant une affinité pour les lipides) se lie rapidement aux membranes cellulaires, rompt les jonctions entre les cellules et pénètre en profondeur dans les tissus de l'œil.

Chez l'animal, une étude pharmacologique a montré qu'une semaine après l'instillation d'une seule goutte de chlorure de benzalkonium à une concentration standard, la molécule est encore détectée dans la conjonctive (cette membrane située sous la paupière sécrète le mucus du film lacrymal). Son accumulation au fil des ans peut ainsi conduire à des doses toxiques, susceptibles de pénétrer en profondeur.

Parmi les cibles du chlorure de benzalkonium, le trabéculum, situé quelques dixièmes de millimètre au-dessous de la conjonctive et de la cornée, représente un tissu particulièrement sensible, car il est lui-même atteint au cours du glaucome (*voir la figure ci-contre*). Cette maladie entraîne une raréfaction des cellules, une densification des molécules qui entourent les cellules (la matrice extracellulaire) et une réaction inflammatoire

conduisant à un cycle auto-entretenu de mort cellulaire. Ces dernières années, différents travaux ont montré que le chlorure de benzalkonium reproduit ces différents stades *in vitro* sur des cellules trabéculaires humaines.

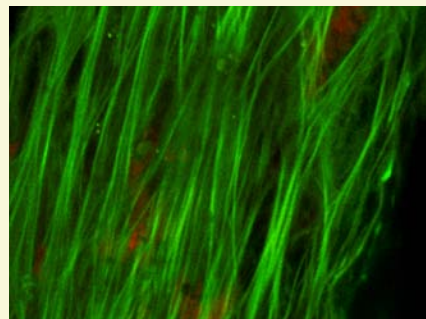
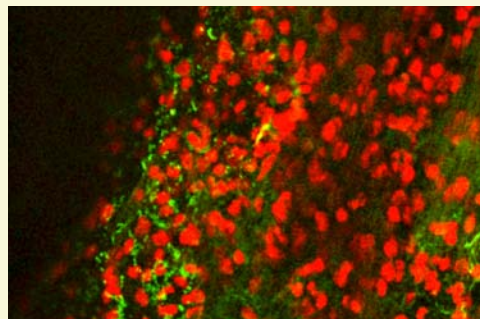
L'accumulation de ce produit est donc susceptible d'augmenter l'altération du trabéculum au cours du glaucome. Cependant, comme le chlorure de benzalko-

nium est associé à un médicament faisant baisser la pression, il est difficile de déterminer l'impact de son éventuelle toxicité sur une remontée de la pression. Il pourrait s'agir d'une baisse d'efficacité du médicament. Or chez 40 pour cent des personnes atteintes d'un glaucome, la pression augmente à nouveau après quelques années d'un traitement, et on doit lui associer un autre médicament.

La toxicité et l'accumulation du chlorure de benzalkonium dans le trabéculum sont un sujet de controverse, car elles remettent en question certains dogmes sur l'innocuité des adjuvants médicamenteux et sur la tolérance des médicaments

proposés par l'industrie au vu des seules études cliniques. Cependant, il a été montré que le chlorure de benzalkonium, à forte dose, peut entraîner une trabéculopathie toxique, avec diminution de l'évacuation d'humeur aqueuse à travers un trabéculum altéré et, par suite, augmentation de la pression oculaire. Quant à l'atteinte des structures profondes, elle aussi controversée, nous l'avons montrée en 2012 : nous avons détecté le conservateur par spectrométrie de masse dans l'angle iridocornéen, le trabéculum et même le nerf optique après instillation pendant plusieurs mois chez un animal sain.

- Ch. B. A. D. et W. R.



OBSERVÉ AU MICROSCOPE confocal, un trabéculum humain glaucomateux (*à droite*) présente une raréfaction extrême de cellules trabéculaires (*en rouge*) et une densification de la matrice extracellulaire (*en vert*), par rapport à un trabéculum sain (*à gauche*).