

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.

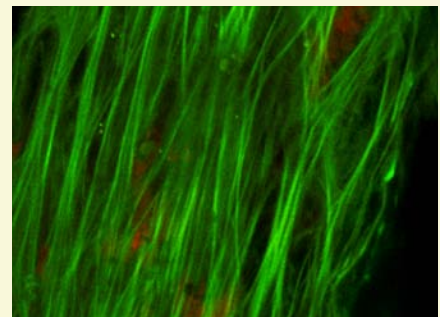
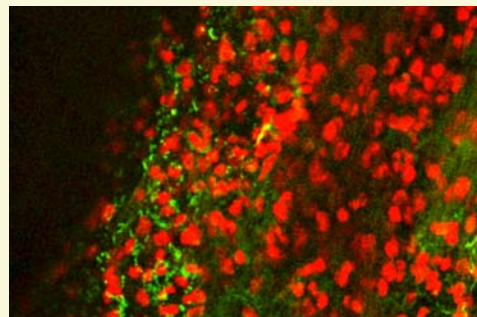
L'accumulation de ce produit est donc susceptible d'augmenter l'altération du trabéculum au cours du glaucome. Cependant, comme le chlorure de benzalko-

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*).

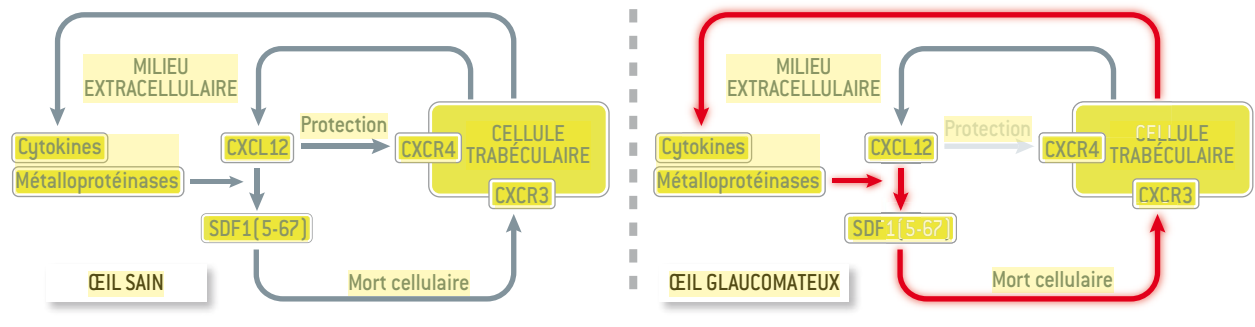
LA TRABÉCULOPATHIE : UN ÉQUILIBRE PERTURBÉ ?

Les mécanismes qui conduisent à l'altération du trabéculum dans les glaucomes à angle ouvert sont encore inconnus, même si nombre de protéines ont été recensées comme impliquées dans ces mécanismes : on connaît des acteurs potentiels, mais pas encore l'enchaînement de réactions qui conduit à la trabéculopathie. Parmi ces acteurs, plusieurs membres d'une famille de petites protéines produites par les cellules et libérées dans le milieu extracellulaire, les cytokines, sont particulièrement abondantes dans l'humeur aqueuse des patients atteints d'un glaucome à angle ouvert.

Les auteurs ont mis en évidence un mécanisme par lequel une telle modification du milieu extracellulaire pourrait dégrader le trabéculum. Dans le trabéculum d'un œil sain, une protéine

libérée par les cellules, la chimiokine CXCL12, participe à la stabilisation du nombre de cellules trabéculaires (à gauche) : en se liant à son récepteur CXCR4 sur ces cellules, elle les protège. Et quand les cellules sont trop nombreuses, des cytokines et des enzymes [métalloprotéinases] qu'elles produisent clivent la chimiokine en une forme tronquée – SDF1(5-67) – qui, elle, induit la mort des cellules via son récepteur CXCR3.

Par son augmentation lors d'un glaucome à angle ouvert, la concentration de cytokines et de métalloprotéinases dans le milieu extracellulaire perturberait cet équilibre en faveur de la forme tronquée (à droite) : elles augmenteraient le clivage de la chimiokine, ce qui diminuerait son effet protecteur et favoriserait la mort des cellules du trabéculum.



pistes thérapeutiques. Nous avons ainsi montré que des molécules participant au déclenchement des réactions inflammatoires, des chimiokines, sont impliquées dans l'altération du trabéculum.

Les chimiokines sont de petites protéines qui ont un puissant effet « chimioattractant » sur certaines cellules immunitaires : produites et libérées en quantité par des cellules « en détresse », elles se lient aux cellules immunitaires via des récepteurs, entraînant leur migration et leur activation sur le site perturbé – l'inflammation. Ce n'est pas leur seule fonction. Produites aussi en plus faible concentration en dehors des conditions inflammatoires, elles régulent la communication entre les cellules, leur viabilité et la composition du milieu extracellulaire dans leur environnement proche.

Or les altérations du trabéculum constatées au cours d'un glaucome à angle ouvert recoupent plusieurs de ces fonctions. Le trabéculum sain est constitué de cellules entourées de protéines fibreuses – la matrice extracellulaire –, l'ensemble formant un tissu poreux qui laisse passer l'humeur aqueuse. Lors d'un glaucome à angle ouvert, les cellules trabéculaires se raréfient, la matrice se densifie et une réaction inflammatoire se produit.

Nous avons donc émis l'hypothèse qu'une ou plusieurs chimiokines et leurs récepteurs pourraient être impliqués dans la trabéculopathie glaucomateuse. Nous nous sommes intéressés en particulier à une chimiokine nommée CXCL12. Pourquoi celle-ci ? Parce qu'il avait été montré en 2006 que cette protéine peut être clivée par des enzymes du milieu extracellulaire et que sa forme tronquée, nommée SDF-1(5-67), a un autre rôle : alors que CXCL12 favorise la viabilité des cellules en se liant à leur surface à son principal récepteur, nommé CXCR4, sa forme tronquée entraîne la mort des cellules par l'intermédiaire d'un autre récepteur, CXCR3. Ces travaux suggéraient que l'environnement extracellulaire pouvait conditionner la fonction de CXCL12 en modifiant son affinité pour certains récepteurs. La trabéculopathie glaucomateuse pouvait-elle être liée à une perturbation de ce conditionnement ?

C'est en effet ce que nous avons observé. Nous avons d'abord vérifié que la chimiokine CXCL12 et ses récepteurs CXCR3 et CXCR4 étaient bien présents dans les trabéculums de patients glaucomateux et sur une lignée de cellules humaines de trabéculum. Ensuite, nous avons recherché si les cellules trabéculaires produisaient la forme tronquée de CXCL12 et dans quelles

conditions. Nous avons ainsi montré que les cellules trabéculaires produisent CXCL12 et sa forme tronquée sous le contrôle de diverses protéines libérées par les cellules dans le milieu extracellulaire : dans le trabéculum sain, il existe un équilibre entre la chimiokine CXCL12, qui favorise la viabilité cellulaire via son récepteur CXCR4, et sa forme tronquée, qui induit la mort cellulaire en se liant à son récepteur CXCR3. Lors d'un glaucome à angle ouvert, on détecte dans le milieu extracellulaire une augmentation de la quantité des protéines qui contrôlent cet équilibre. Cette augmentation perturberait l'équilibre en faveur de la forme tronquée, donc en faveur de la mort cellulaire.

Cibler les récepteurs des chimiokines

De plus, chez le rat atteint d'un glaucome, quand on empêche la forme tronquée de se lier à son récepteur (en bloquant l'accès à l'aide d'un « antagoniste », une molécule qui empêche la chimiokine d'agir sur son récepteur), la fonction du trabéculum est restaurée, la pression diminue et la dégénérescence des neurones de la rétine est inhibée ; la fonction visuelle est ainsi protégée pendant plusieurs mois (voir la figure 2).

Ces travaux montrent qu'une chimiokine et ses récepteurs sont impliqués dans le contrôle de la fonction et de la viabilité du trabéculum, et qu'en bloquant l'accès à un récepteur, CXCR3, on peut traiter chez l'animal l'élévation de pression oculaire et la neuropathie associée. Ces résultats ouvrent de nouvelles pistes thérapeutiques où l'on ciblerait spécifiquement certains récepteurs de chimiokines au cours du glaucome. Cette stratégie permettrait non seulement de réduire la pression oculaire, mais aussi, peut-être, de diminuer voire prévenir la trabéculopathie elle-même, donc le cœur de la maladie glaucomateuse.

Par le passé, les stratégies thérapeutiques visant les chimiokines dans d'autres pathologies, en particulier du système immunitaire, se sont souvent heurtées non pas à leur inefficacité, mais à la survenue d'effets secondaires délétères. De fait, les chimiokines et leurs récepteurs sont présents dans tout l'organisme, et inhiber leurs interactions *via* une molécule généralement administrée par voie orale ou par injection perturbe l'équilibre cellulaire et tissulaire de façon globale. En ophtalmo-

logie, la problématique est différente, car l'administration peut s'effectuer au contact de l'œil par l'emploi d'un collyre, et donc sans les effets d'un traitement administré par voie générale.

Le nerf optique, le parent pauvre

Qu'il s'agisse de viser les chimiokines ou d'autres cibles, toutes les stratégies de traitement du glaucome reposent encore sur l'abaissement de la pression intra-oculaire. Aucune approche pour protéger et *a fortiori* régénérer le nerf optique après destruction par un glaucome ne s'est révélée efficace en test clinique. Pourtant, *in vitro* ou *in vivo*, de nombreuses molécules ont le potentiel de réaliser une telle neuroprotection. Les plus étudiées sont les antagonistes des récepteurs du glutamate, une molécule qui assure la communication entre les neurones. Lors d'un glaucome, on observe un excès de ce neuromédiateur dans les zones de communication entre neurones (les synapses), qui entraîne la destruction du neurone. Les antagonistes étudiés sont

prometteurs, car ils ciblent ce phénomène. Néanmoins, la démonstration clinique demeure un échec.

D'autres molécules qui imitent un autre neuromédiateur (l'adrénaline), les alpha-2 agonistes, semblent donner des résultats intéressants en termes de neuroprotection. Un représentant de cette famille, la brimonidine, commercialisé comme collyre pour faire baisser la pression oculaire, a en effet une affinité pour des récepteurs présents à la surface des neurones de la rétine. Insufflée à une concentration suffisante, elle active des molécules qui protègent les neurones et favorise la sécrétion de facteurs neurotrophiques, des protéines qui assurent la croissance et l'entretien des neurones. Même si les résultats cliniques semblent prometteurs, en particulier ceux concernant de nouvelles approches de thérapie génique, il n'y a cependant pas de démonstration définitive de l'efficacité neuroprotectrice de ces traitements. Aussi, pour le moment, la meilleure neuroprotection semble donc rester l'abaissement de la pression intra-oculaire, quels qu'en soient les moyens. ■

Pour contribuer à la transmission de la culture mathématique, LE MAGAZINE **TANGENTE** ORGANISE

LES TROPHÉES tangente

DÉPÔT DES CANDIDATURES
AVANT LE 31 AOÛT 2014 MINUIT

Prix Bernard-Novelli

Soutenir les jeunes créateurs

Vous êtes collégiens, lycéens ?
Vous aimez concevoir des jeux logiques
faisant intervenir les mathématiques ?

Participez à ce concours
et transformez votre projet
en un produit mobile disponible
sur l'App Store et Google Play



Prix Tangente du livre

Donner envie d'en savoir plus

A partir du 15 juin, participez
à la sélection des ouvrages
en votant sur :
www.tropheestangente.com

Prix Tangente du meilleur article

Raconter les mathématiques

Envoyez-nous un article inédit vulgarisant un concept mathématique.
Le meilleur sera publié au sein du magazine *Tangente*



Inscriptions, informations et modalités de participation sur le site
www.tropheestangente.com