

Université de Lille 2
Année Universitaire 2015/2016
Faculté des sciences pharmaceutiques et biologiques

**THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**Soutenue publiquement le 14 Septembre 2016
Par M. DUFÉTEL Charles**

La Dégénérescence Maculaire Liée à l'Age : physiopathologies, prises en charge thérapeutiques actuelles et thérapies à venir.

Membres du jury :

Président : Madame Martin Françoise, Maitre de Conférences au Laboratoire de Physiologie.

Assesseurs : Monsieur Carnoy Christophe, Maitre de Conférences au Laboratoire d'Immunologie.

Monsieur Margaron Fabrice, Docteur en Médecine, Ophtalmologiste à Villeneuve d'Ascq.

Membre extérieur : Monsieur Petit Gilles, Docteur en Pharmacie à Arras.



Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE
CEDEX

☎ 03.20.96.40.40 - 📠 : 03.20.96.43.64



Université Lille 2 – Droit et Santé

Président :
Vice-présidents :

Professeur Xavier VANDENDRIESSCHE
Professeur Alain DUROCHER
Professeur Régis BORDET
Professeur Eric KERCKHOVE
Professeur Eric BOULANGER
Professeur Frédéric LOBEZ
Professeur Damien CUNY
Professeur Benoit DEPREZ
Professeur Murielle GARCIN
Monsieur Pierre RAVAUX
Monsieur Larbi AIT-HENNANI
Monsieur Antoine HENRY

Directeur Général des Services :

Monsieur Pierre-Marie ROBERT

Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Doyen :
Vice-Doyen, 1^{er} assesseur :
Assesseur en charge de la pédagogie
Assesseur en charge de la recherche
Assesseur délégué à la scolarité
Assesseur délégué en charge des
relations internationales
Assesseur délégué en charge de la vie étudiante

Professeur Damien CUNY
Professeur Bertrand DECAUDIN
Dr. Annie Standaert
Pr. Patricia Melnyk
Dr. Christophe Bochu

Pr. Philippe Chavatte
M. Thomas Morgenroth

Chef des services administratifs :

Monsieur Cyrille PORTA

Liste des Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie
Mme	CAPRON	Monique	Immunologie
M.	DECAUDIN	Bertrand	Pharmacie Galénique
M.	DINE	Thierry	Pharmacie Clinique
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie
M.	DUTHILLEUL	Patrick	Hématologie
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie

M.	LUYCKX	Michel	Pharmacie Clinique
M.	ODOU	Pascal	Pharmacie Galénique
M.	DEPREUX	Patrick	Chimie Organique (ICPAL)

Liste des Professeurs des Universités

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Physique
M.	BERTHELOT	Pascal	Chimie Thérapeutique 1
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie – Pharmacie Clinique
M.	CHAVATTE	Philippe	Chimie Thérapeutique 2
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences Végétales et Fongiques
M.	CUNY	Damien	Sciences Végétales et Fongiques
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Physique
M.	DEPREZ	Benoît	Chimie Générale
Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie Générale
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences Végétales et Fongiques
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie
Mme	GAYOT	Anne	Pharmacotechnie Industrielle
M.	GOOSSENS	Jean François	Chimie Analytique
Mme	GRAS	Hélène	Chimie Thérapeutique 3
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie Cellulaire
M.	LUC	Gerald	Physiologie
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie Thérapeutique 2
Mme	MUHR – TAILLEUX	Anne	Biochimie
Mme	PAUMELLE-LESTRELIN	Réjane	Biologie Cellulaire
Mme	PERROY – MAILLOLS	Anne Catherine	Droit et économie Pharmaceutique
Mme	ROMOND	Marie Bénédicte	Bactériologie
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie
M.	SERGHÉRAERT	Eric	Droit et économie Pharmaceutique
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie Industrielle
M.	STAELS	Bart	Biologie Cellulaire
M	TARTAR	André	Chimie Organique
M.	VACCHER	Claude	Chimie Analytique
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie Organique
M.	MILLET	Régis	Chimie Thérapeutique (ICPAL)

Liste des Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	BALDUYCK	Malika	Biochimie
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie
M.	LANNOY	Damien	Pharmacie Galénique
Mme	ODOU	Marie Françoise	Bactériologie
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacie Galénique

Liste des Maitres de Conférences

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	AGOURIDAS	Laurence	Chimie Thérapeutique 2
Mme	ALIOUAT	Cécile Marie	Parasitologie (90%)
M.	ANTHERIEU	Sébastien	Toxicologie
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie
Mme	BANTUBUNGI	Kadiombo	Biologie Cellulaire
Mme	BARTHELEMY	Christine	Pharmacie Galénique
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie
M	BELARBI	Karim	Pharmacologie
M.	BERTHET	Jérôme	Physique
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie Industrielle
M.	BOCHU	Christophe	Physique
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie
Mme	CACHERA	Claude	Biochimie
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie
Mme	CARON	Sandrine	Biologie Cellulaire (80%)
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie (80%)
Mme	CHARTON	Julie	Chimie Organique (80%)
M	CHEVALIER	Dany	Toxicologie
M.	COCHELARD	Dominique	Biomathématiques
Mme	DANEL	Cécile	Chimie Analytique
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie (80%)
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques
Mme	DUMONT	Julie	Biologie Cellulaire
M.	FARCE	Amaury	Chimie Thérapeutique 2
Mme	FLIPO	Marion	Chimie Organique
Mme	FOULON	Catherine	Chimie Analytique
M.	GELEZ	Philippe	Biomathématiques
Mme	GENAY	Stéphanie	Pharmacologie Galénique
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie
Mme	HAMOUDI	Chérifa Mounira	Pharmacotechnie Industrielle
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie
M.	KAMBIA	Kpakpaga Nicolas	Pharmacologie
M.	KARROUT	Youness	Pharmacotechnie Industrielle
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie Thérapeutique 1
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie Analytique
Mme	LEHMANN	Hélène	Droit et Economie Pharmaceutique
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie Analytique
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie
M.	MOREAU	Pierre Arthur	Sciences végétales et fongiques
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie Industrielle
Mme	NEUT	Christel	Bactériologie
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques
M.	PIVÀ	Frank	Biochimie

Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques
Mme	RIVIERE	Céline	Pharmacognosie
Mme	ROGER	Nadine	Immunologie
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie Industrielle
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie
M.	WILLEMAGNE	Baptiste	Chimie Organique
M.	WELTI	Stéphane	Sciences Végétales et Fongiques
M.	YOUS	Saïd	Chimie Thérapeutique 1
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques

M.	FURMAN	Christophe	Pharmacobiochimie (ICPAL)
Mme	GOOSSENS	Laurence	Chimie Organique (ICPAL)
Mme	LELEU-CHAVAIN	Natascha	ICPAL

Professeurs Agrégés

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	MAYES	Martine	Anglais
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et Economie Pharmaceutique

Professeurs Certifiés

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	HUGES	Dominique	Anglais
Mlle	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeur Associé - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	DHANANI	Alban	Droit et Economie Pharmaceutique

Maîtres de Conférences ASSOCIES - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	BERTOUX	Elisabeth	Pharmacie Clinique - Biomathématiques
M.	BRICOTEAU	Didier	Biomathématiques
M.	CUCCHI	Malgorzata	Information Médicale
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacie Clinique

M.	GILLOT	François	Droit et économie Pharmaceutique
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacie Clinique
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques

AHU

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	DEKYNDT	Bérengère	Pharmacie Galénique
M.	PEREZ	Maxime	Pharmacie Galénique

Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX
Tel. : 03.20.96.40.40 - Télécopie : 03.20.96.43.64
<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.

Remerciements

Je tiens à remercier Madame MARTIN, ma présidente de thèse, d'avoir accepté de faire partie de mon jury et de contribuer à ma soutenance de thèse.

Je remercie également Monsieur CARNOY, pour sa participation en tant que conseiller de thèse et surtout pour les heures consacrées à la relecture de cet ouvrage, ainsi que pour ses conseils qui m'ont été bénéfique.

Je suis très honoré que Monsieur MARGARON, Ophtalmologiste, soit présent et apporte son savoir au profit de ma soutenance. Je l'en remercie.

Sans oublier Monsieur Gilles PETIT, Pharmacien à Arras, qui s'est investi dans mon apprentissage, m'a formé tout au long de mon cursus et qui en ce jour participe à la remise de mon titre de Docteur en Pharmacie. Je le remercie pour sa bienveillance et pour toutes ses années passées au sein de son officine.

L'ensemble des professeurs de l'université de la faculté de pharmacie de Lille 2 qui m'ont donné les connaissances nécessaires pour devenir pharmacien, pour cela je les en remercie.

Pour leur soutien sur tous les plans et dans tous les moments, je remercie mes parents et mon petit frère Louis. Un grand merci aussi pour tout ce que vous m'avez inculqué et appris. Votre soutien infaillible m'a permis de me construire et de réussir ses six années d'études.

Une pensée me vient également pour Monsieur Tonton qui a contribué à mon bonheur, de mes premiers pas à ce jour, et qui j'espère sera toujours aussi présent dans ma vie future.

À Mamie Tuture, merci pour tes confitures qui m'ont gardé en forme pendant ses six années et tes appels du mercredi soir.

Tout au long de l'écriture de cette thèse, j'ai pu comprendre la complexité du rôle d'aidant. Et pour cela je suis reconnaissant du bien-être que Ginette a apporté à mon grand-père durant toutes ces années.

Je pense également à toutes les personnes que j'ai rencontrées au cours de mon cursus. D'autant plus à mon petit groupe d'amis : Juliette, Marion, Remy, Elodie, Gabrielle, Sandra, Kelly et Madeline qui m'ont accompagné sur les bancs de faculté.

Je remercie ma famille et toutes les personnes qui ont fait le déplacement, pour m'accompagner et me soutenir dans ce moment important de ma nouvelle vie de pharmacien. Mais également toutes les personnes qui sont avec moi par la pensée.

Enfin, je tiens à remercier tout particulièrement Manon, ma compagne, que j'ai rencontrée sur les bancs de la fac. Elle a su me soutenir à la fois dans mes études, dans ma vie de tous les jours, ainsi que dans la rédaction de cet ouvrage. Je la remercie pour l'amour qu'elle m'apporte.

J'ai aussi une pensée émue envers toutes les personnes qui nous ont quittés, et qui auraient été très fiers de moi aujourd'hui.



À mon grand-père...

Table des matières

Introduction :	14
I. Généralités :	15
1. Rappels anatomiques sur l'œil :	15
A. Le globe oculaire :	17
a) Les Tuniques du globe oculaire :	17
b) La Rétine :	18
c) Milieux transparents du globe oculaire :	24
B. Les annexes oculaires :	24
a) La conjonctive :	24
b) Les paupières :	24
c) Le système lacrymal :	25
d) Les muscles oculomoteurs :	25
2. Définition de la DMLA :	25
II. Diagnostic et signes cliniques de la DMLA :	26
III. Physiopathologie des DMLAs :	34
1. Physiopathologie de la DMLA sèche :	34
A. Rôle de l'épithélium pigmentaire :	34
B. Formation des drusens et membrane de Bruch :	35
C. Atteinte de la Choroïde dans la DMLA :	42
D. Synthèse de la physiopathologie de la DMLA sèche :	42
2. Physiopathologie de la DMLA exsudative :	45
A. Rôle du VEGF :	45
B. L'angiogenèse au sein de la DMLA :	51
C. Pathogénie de la DMLA exsudative :	56
IV. Facteurs de risques de DMLA :	59
1. Facteurs de risques constitutionnels :	59
A. L'âge :	59
B. Sexe :	59
C. L'origine ethnique :	60
D. La couleur de l'iris :	60
2. Facteurs de risques environnementaux :	60
A. Le stress oxydatif :	60

B.	Le Tabac, et les antécédents de Tabagisme :	64
C.	L'hypertension artérielle et les accidents cardiovasculaires :	67
D.	Les dyslipidémies ou facteurs de l'athérosclérose :	69
E.	L'exposition aux Ultraviolets :	71
V.	Immunité et DMLA :	73
1.	Immunité Innée et DMLA :	74
A.	Rôle du complément dans la DMLA :	74
a)	Généralités sur le complément :	74
b)	Polymorphisme génétique et rôle des macrophages:	75
c)	Le Facteur H du complément :	76
B.	Rôle des cellules microgliales dans la DMLA :	79
2.	Immunité adaptative et DMLA :	80
VI.	Traitements des DMLAs :	82
1.	Traitements de la DMLA sèche et traitements préventifs :	82
A.	Composition de ces compléments alimentaires :	83
a)	La lutéine :	83
b)	La zéaxanthine :	87
c)	La Vitamine E :	87
d)	La Vitamine C :	87
e)	Le Zinc :	88
f)	Le Cuivre :	88
g)	Huiles de poissons dont Oméga-3 et 6 (DHA, EPA, DPA) :	88
h)	Extrait de <i>Vitis Vinifera</i> :	89
B.	Etudes concernant l'efficacité de ces compléments alimentaires :	90
C.	Prise en charge au comptoir des patients atteints de DMLA :	93
a)	La Prévention :	93
b)	Le Dépistage :	94
c)	La dispensation des médicaments :	94
d)	Education à la santé :	96
2.	Traitement Anti-VEGF : comparaison, réponse au traitement :	98
A.	Traitements anti-VEGF utilisés dans la DMLA exsudative :	98
a)	Le Bévacizumab : Avastin®	99
b)	Le Ranibizumab = LUCENTIS®	103
c)	Aflibercept : Eylea®	110
B.	Etudes comparatives des différents anti-VEGF :	114
C.	Facteurs influençant la réponse aux différents traitements anti-VEGF :	116
a)	Facteurs cliniques :	117

b)	Facteurs génétiques :.....	119
c)	Résistance au ranibizumab et au bevacizumab : switch vers l'aflibercept, une solution thérapeutique ?	123
3.	Intérêt des corticoïdes injectés dans le traitement de la DMLA humide :	125
VII.	Les dernières recherches et avancés portant sur la DMLA :.....	131
1.	De nouvelles cibles thérapeutiques :	131
A.	Les anticorps monoclonaux ciblant l'angiogénèse :	131
a)	Sonepcizumab :	132
b)	Volociximab :.....	133
c)	Tanibirumab :.....	133
B.	Des anticorps monoclonaux ciblant le système du complément : une nouvelle cible ? 134	
a)	Lampalizumab :	135
b)	Eculizumab :	138
c)	LGF-316 :.....	138
d)	Anticorps anti-MASP-2 (OMS-721) :	139
e)	Anticorps anti Facteur B du complément et anti properdin :.....	139
2.	Le peptide -amyloïde : nouvelle cible !?.....	140
A.	Des thérapies anti- -amyloïde dans la DMLA ?.....	147
a)	RN6G (PF-04382923) :.....	147
b)	GSK933776 :	147
3.	L'utilisation des cellules souches dans la DMLA :.....	148
A.	Généralités sur les cellules souches :	148
B.	Production de RPE à partir de cellules souches :.....	150
C.	Utilisation des cellules souches pour traiter la DMLA :	158
a)	Modélisation de la DMLA :.....	159
b)	Thérapie cellulaire :	159
4.	DMLA et maladie de Parkinson, une corrélation ?.....	162
	Conclusion:.....	167
	Bibliographie.....	169

Introduction :

L'homme possède cinq sens : l'ouïe, le toucher, l'odorat, le goût et la vision, chacun d'entre eux sont nécessaires pour l'ensemble de nos actes de la vie quotidienne. En effet, il est très difficile pour chacun d'entre nous, de s'imaginer perdre l'un de ses sens. Imaginez-vous ne serais-ce que l'espace d'une minute être sourd, ou encore aveugle. Ne pouvant plus lire, ni écrire, ni même conduire, il vous serait alors très difficile d'accomplir tous les actes de la vie courante et vous deviendriez alors dépendant.

La DMLA ou dégénérescence maculaire liée à l'âge est une pathologie qui touche l'un des plus importants de nos sens : la vision. Cette pathologie encore peu connue, est en augmentation constante dans le monde entier. En effet avec l'augmentation de l'espérance de vie, on voit apparaître de plus en plus ce type de pathologie. Malgré les progrès médico-pharmaceutiques, il est très difficile de retrouver la vue à l'heure actuelle à la suite d'une DMLA. Les principaux traitements qui existent à ce jour ont pour objectif de limiter l'évolution de la maladie vers une forme plus sévère, et de conserver le plus longtemps possible une vision centrale efficace, voire de l'améliorer. Ces traitements vont donc permettre de limiter le retentissement de la pathologie sur la qualité de vie des patients.

Au cours de cette thèse, nous verrons qu'il y a deux types de dégénérescence maculaire liée à l'âge : la forme atrophique ou forme sèche et la forme exsudative ou humide. Pour chacune d'elles, nous verrons leur physiopathologie, les différents facteurs de risque, le rôle qu'à l'immunité dans le processus pathologique et l'épidémiologie de cette pathologie. Puis dans une seconde partie nous verrons les principaux traitements qui existent pour traiter ses différentes formes : les anti-VEGF, les compléments alimentaires (mode d'action, effets indésirables, cibles pharmacologiques). Nous effectuerons une comparaison des différentes thérapeutiques anti-VEGF et exposerons les conseils associés utiles lors de la délivrance d'une ordonnance. Dans une troisième partie, nous verrons que cette pathologie dégénérative peut être reliée à d'autres maladies neuro-dégénératives tel que la maladie de Parkinson ou encore la maladie d'Alzheimer, avec comme point commun des facteurs génétiques et le rôle majeur du stress oxydant dans ces différentes pathologies. Pour finir, un point sera fait sur les thérapeutiques à venir dans les prochaines années.

I. Généralités :

L'œil est l'organe qui permet la vision, il nous apporte un grand nombre d'informations afin que nous puissions évaluer notre environnement (relief, couleurs, distance, formes...). L'œil fonctionne d'une manière simple, il reçoit des signaux lumineux qu'il va focaliser sur la rétine, ces signaux sont alors transformés en messages nerveux et sont envoyés au cerveau via le nerf optique. Néanmoins, ce mécanisme cache la complexité anatomique, ainsi que la physiologie complexe, de cet organe. Chacun des éléments qui composent l'œil possède une fonction essentielle. Nous allons donc voir dans cette première partie, l'anatomie de la rétine, ce qui nous permettra de mieux appréhender la physiopathologie de la DMLA par la suite.

1. Rappels anatomiques sur l'œil :

L'œil se compose du globe oculaire qui se situe dans l'orbite, une cavité osseuse délimitée par 7 os de la face : l'os frontal, l'os zygomatique, l'os maxillaire, l'os sphénoïde, l'os palatin, l'os ethmoïde et l'os lacrymal.

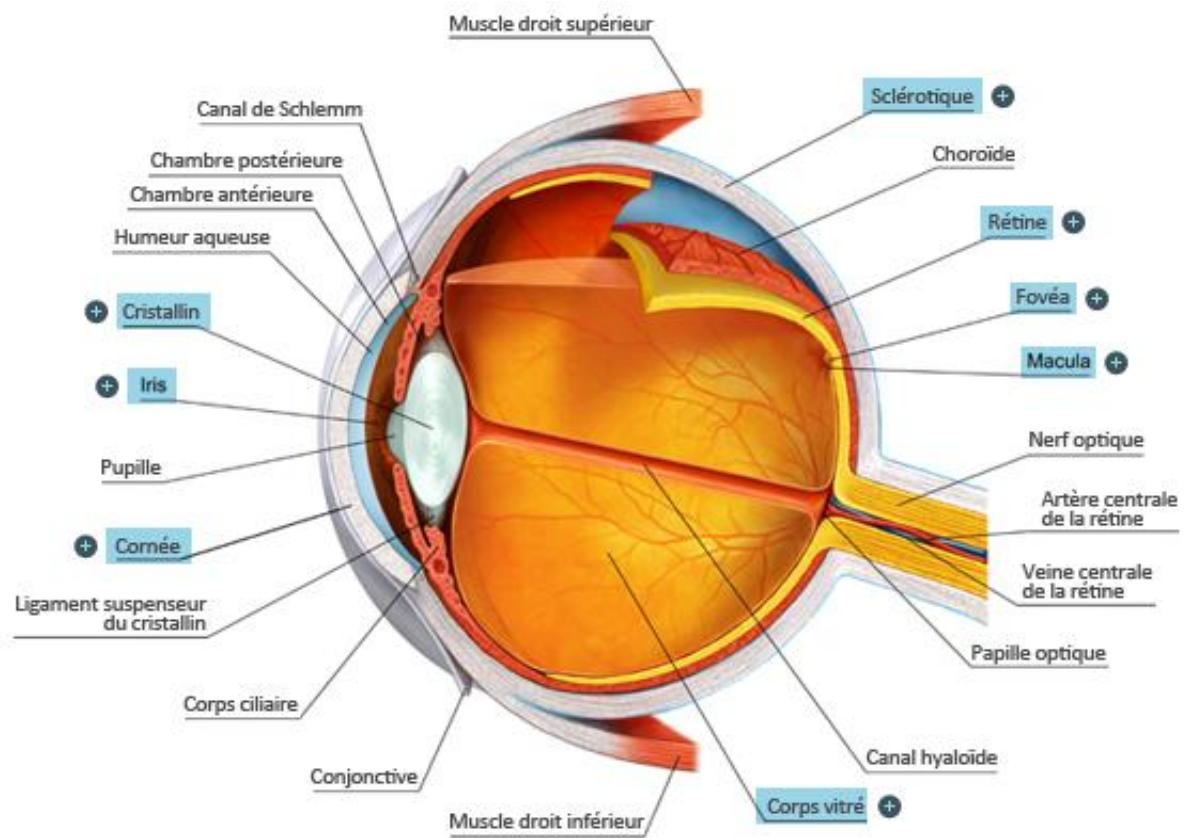


Figure n°1 : Anatomie de l'œil – Ce schéma représente l'œil en coupe longitudinale, ce qui permet de montrer l'ensemble des couches du globe oculaire, dont en arrière : la rétine (constituée de photorécepteurs, permettant la vision ; en jaune), la choroïde (permettant la vascularisation des cellules périphériques ; en rouge), la sclérotique (permettant de protéger l'œil, et étant en contact direct avec les muscles du globe oculaire ; en blanc). On peut voir aussi sur ce schéma les points importants pour la vision détaillée que sont la macula et la fovéa. En avant, on retrouve le cristallin, la pupille et la cornée (Association, 2016).

A. Le globe oculaire :

a) Les Tuniques du globe oculaire :

Le globe oculaire est une sphère d'environ 24 mm de diamètre, qui pèse 7 grammes, pour un volume de 6,5 cm³. Il est formé d'une coque externe résistante qui se compose de trois tuniques concentriques (Figure n°1) :

➤ une tunique fibreuse (blanchâtre), c'est la tunique la plus externe du globe oculaire, elle se compose de la sclère et de la cornée. Cette première est une enveloppe blanche et opaque, faiblement vascularisée et innervée. Elle se compose principalement de fibres élastiques et de collagènes, qui donnent à la sclère une très grande résistance mécanique et permettent donc d'assurer la protection des éléments sensoriels de l'œil. La cornée correspond au prolongement de la sclère en avant, elle possède donc les mêmes caractéristiques que la sclère, hormis qu'elle soit quant à elle transparente. La cornée est le premier milieu traversé par les rayons lumineux, et joue un rôle important dans la réfraction des rayons lumineux.

➤ une tunique uvéale (rouge-orangée) représente la tunique médiale du globe oculaire, elle se compose de : l'iris, le corps ciliaire et la choroïde. L'iris se trouve dans la partie antérieure du globe oculaire. On le compare souvent à un diaphragme percé en son centre par la pupille. L'iris se compose de muscles lisses, circulaires et radiaires, qui lui permettent de réguler la quantité de lumière pénétrant dans l'œil, grâce à des contractions et à des dilatations réflexes.

La choroïde, située dans la partie postérieure du globe oculaire, est très vascularisée, cela joue d'ailleurs un rôle majeur. En effet, cette vascularisation permet d'assurer la nutrition des cellules photoréceptrices de la rétine.

Les corps ciliaires se trouvent entre l'iris et la choroïde. Ils se composent des muscles ciliaires. Ceux-ci permettent l'accommodation, c'est-à-dire qu'ils permettent de modifier la courbure du cristallin. A côté de ces muscles, se trouve les procès ciliaires qui vont permettre de sécréter l'humeur aqueuse, qui va s'écouler dans la chambre antérieure de l'œil.

➤ une tunique nerveuse, appelée également rétine (jaune).

b) La Rétine :

La rétine fait moins de 500 μm d'épaisseur. Elle correspond à la tunique la plus interne du globe oculaire. Bien qu'elle soit très fine, la rétine est l'organe essentiel de la vision. Elle se compose de 10 couches différentes (Figure n°2).

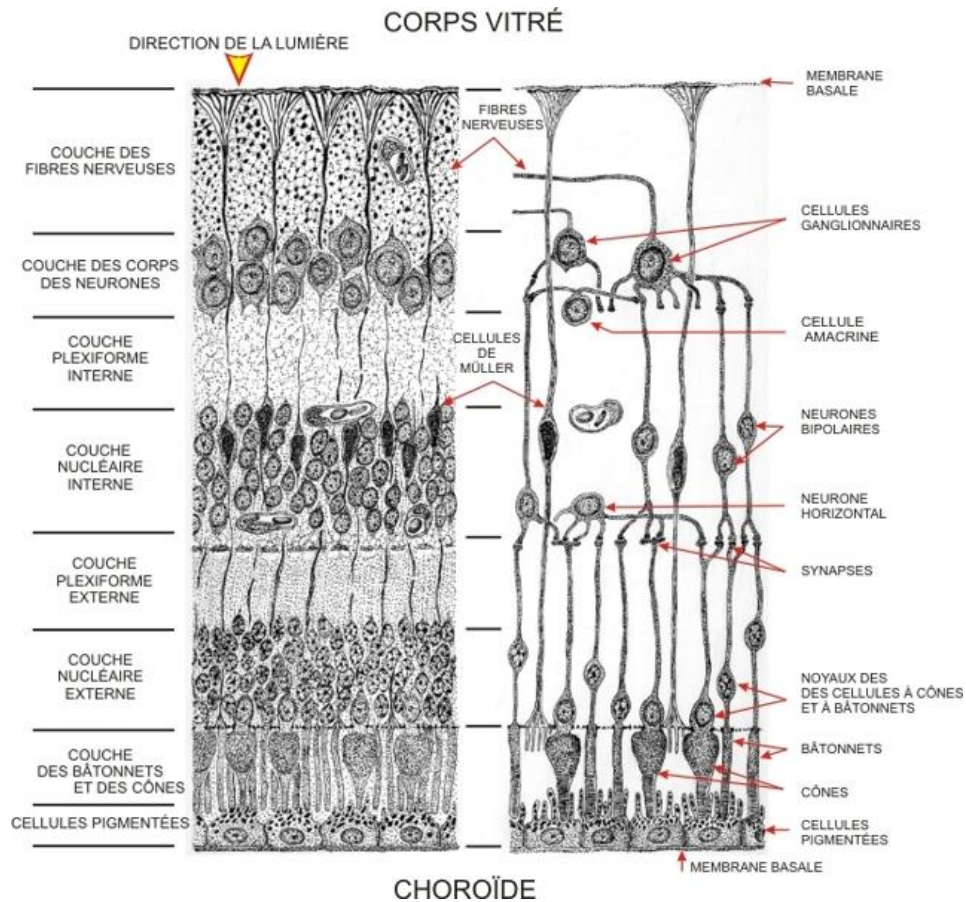


Figure n°2 : Coupe histologique de la rétine – schéma illustrant les 10 couches de la rétine, ainsi que la visualisation de l'influx nerveux émanant des cellules pigmentées. (Clermont Y, 2016)

En partant de la couche la plus externe, il y a :

- **L'épithélium pigmentaire :** qui se compose d'une seule couche de cellules hexagonales dites pigmentaires, car elles contiennent de la mélanine. Ce pigment est synthétisé par l'épithélium pigmentaire. Il lui permet d'absorber les excès de photons qui arrivent au niveau de la rétine. Cela limite donc la quantité de lumière réfléchi et diffractée à l'intérieur de l'œil. Cette couche est essentielle au fonctionnement normal de la rétine, et plus particulièrement pour le bon fonctionnement des photorécepteurs présents à sa surface. En effet, l'épithélium pigmentaire se trouve entre les photorécepteurs et la choroïde, à laquelle il adhère fortement grâce à la membrane de Bruch. La couche des photorécepteurs étant dépourvue de capillaires nourriciers, la nutrition des photorécepteurs est assurée par la

choriocapillaire (partie interne de la choroïde qui est très richement vascularisée). Les échanges entre les photorécepteurs et les choriocapillaires sont facilités grâce à la présence de nombreuses villosités aux pôles basaux et apicaux des cellules épithéliales. D'autant plus, que les cellules épithéliales sont liées entre elles par des jonctions serrées, qui rendent impossible le passage passif de molécules à travers cette épithélium.

L'épithélium pigmentaire joue aussi un rôle essentiel dans la phagocytose des segments externes des photorécepteurs. Les villosités présentes au pôle apical des cellules épithéliales s'insinuent entre les segments externes et permettent leur phagocytose. Le cytoplasme des cellules épithéliales renferme donc des vacuoles d'endocytose, qui vont fusionner avec les lysosomes, contenant les enzymes nécessaires à la lyse des membranes des segments externes. Après leur digestion, certains composants seront réutilisés par l'épithélium, d'autres par les photorécepteurs, ou bien ils seront éliminés via la choroïde. Ce processus est indispensable à la survie des photorécepteurs, car il permet un renouvellement rapide et permanent de leurs segments externes.

Enfin l'épithélium pigmentaire est aussi impliqué dans le stockage de nombreux facteurs de croissance, ainsi que dans le métabolisme et le stockage de la vitamine A.

- **Les cellules photoréceptrices :** qui se distinguent en deux types de photorécepteurs : les cônes et les bâtonnets (Figure n°3). Le photorécepteur forme une unité fonctionnelle avec l'épithélium pigmentaire sous-jacent (épithélium uni-stratifié entre la choroïde et les photorécepteurs).

Les photorécepteurs sont formés de 2 segments : internes et externes, reliés entre eux par un cil connecteur. Le segment externe correspond à la partie photosensible, il se constitue d'un empilement de disques (environ 1000 disques). Ce sont ces disques qui sont en permanence phagocytés par l'épithélium pigmentaire. C'est au niveau de la membrane de ces disques que l'on retrouve des molécules photosensibles telles que la rhodopsine, qui vont permettre la phototransduction. Le segment interne contient quant à lui tous les organites nécessaires au métabolisme de la cellule.

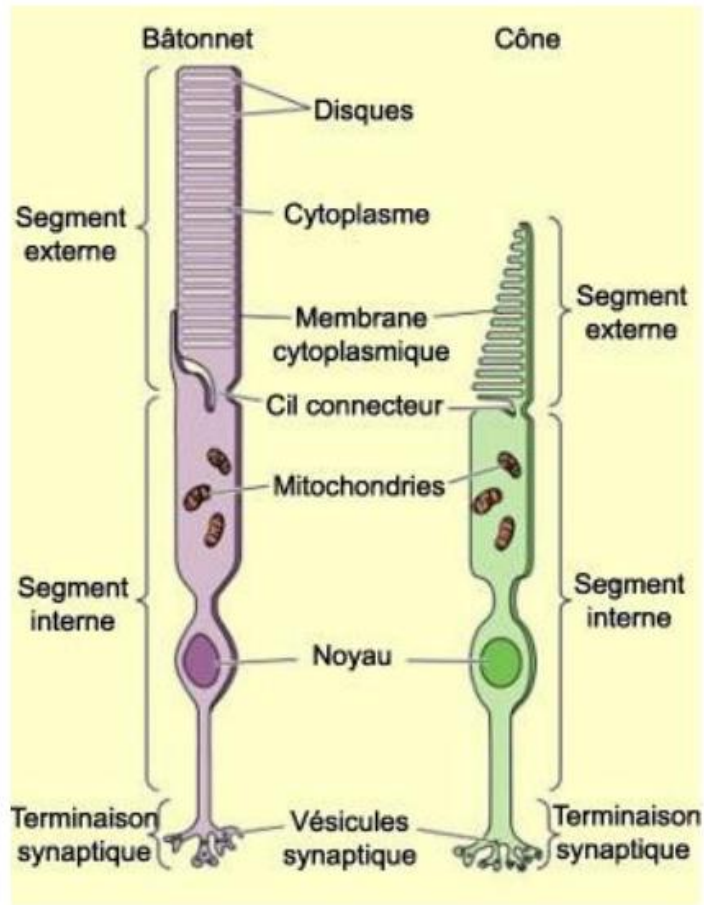


Figure n°3 : Schéma d'un bâtonnet et d'un cône – le bâtonnet (à droite) est plus long que le cône (à gauche) en raison du nombre de disques que comporte leur segment externe respectif. En ce qui concerne le segment interne, grâce à ce schéma, il est possible de voir qu'il se constitue de la même manière, quel que soit le type de photorécepteur.

Les cônes se retrouvent principalement au niveau de la fovéa et constituent donc un rôle très important dans la vision. Les cônes sont moins présents au niveau de la rétine périphérique. En effet, ceux-ci assurent la vision diurne, donc la perception des couleurs et la résolution des détails fins.

Tandis que les bâtonnets se trouvent principalement au niveau de la rétine périphérique, avec une densité maximale au niveau de la région péri-maculaire. Quant à eux, les bâtonnets sont sensibles à de faible intensité, c'est-à-dire qu'ils jouent un rôle plus important dans la vision nocturne et la perception des contrastes. (Figure n°4)

Répartition du nombre de cônes et bâtonnets sur la rétine

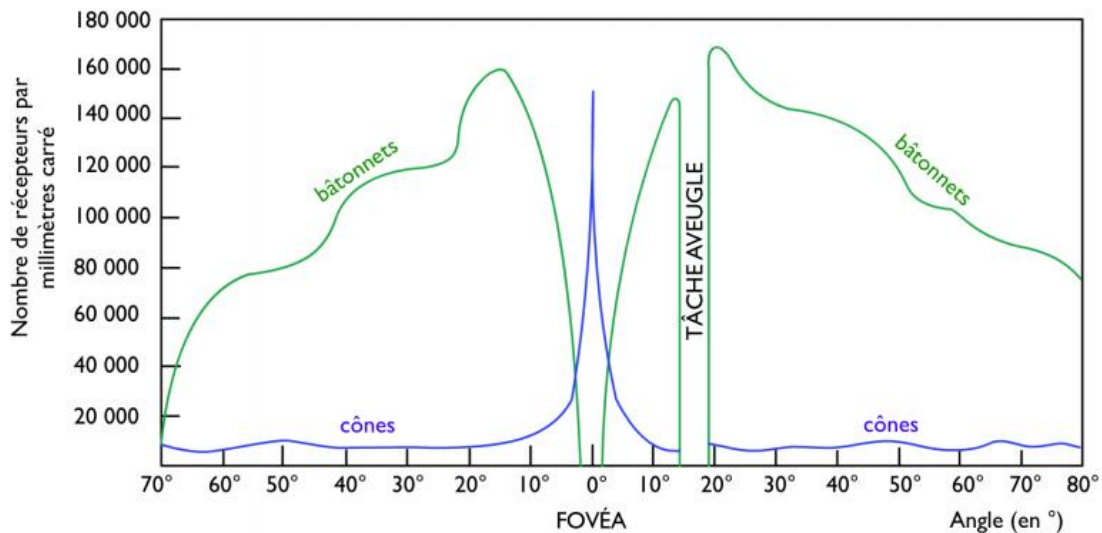


Figure n° 4: Répartition du nombre de cônes et de bâtonnets sur la rétine – Ce graphique illustre la répartition des différents types de photorécepteurs au sein de la rétine. Cela permet de mettre en évidence que les bâtonnets sont principalement présents sur l'ensemble de la rétine, sauf sur la fovéa. Pour ce qui est des cônes, ils se trouvent principalement au niveau de la fovéa, et en de très faible quantité sur le reste de la rétine. Un seul point est dépourvu de photorécepteur : la tâche aveugle, lieu d'implantation du nerf optique. (Lycée, 2015)

- **La membrane limitante externe :** c'est une zone d'interaction entre les segments internes des photorécepteurs et les cellules gliales de Müller via des jonctions adhérentes ou serrées.
- **La couche Granuleuse externe :** elle se compose des corps cellulaires des photorécepteurs, où se trouve le noyau.
- **La couche réticulée externe :** c'est une zone de transition entre la rétine sensorielle et la rétine cérébrale. La couche réticulée externe correspond au lieu de formation des synapses entre les photorécepteurs (cellules sensorielles) et les cellules nerveuses.
- **La couche granuleuse moyenne :** elle contient les noyaux des cellules nerveuses et des cellules gliales de Müller.
- **La couche réticulée interne :** elle correspond au lieu de formation des synapses entre les cellules nerveuses et les cellules ganglionnaires.
- **La couche granuleuse interne :** elle contient les noyaux des cellules ganglionnaires. Ce sont des neurones de taille importante qui collectent l'information visuelle pour la transmettre au système nerveux central.

- **La couche des fibres optiques :** cela correspond aux axones des cellules ganglionnaires. Ils convergent vers la papille pour former le nerf optique.
- **La couche limitante interne :** membrane qui sépare la rétine du corps vitré.

La rétine est vascularisée par deux réseaux : le réseau vasculaire rétinien, (qui vascularise les couches rétinienne internes). Le réseau vasculaire choroïdien, (qui apporte les nutriments et l'oxygène nécessaire à l'homéostasie de la rétine externe, qui est dépourvue de capillaires). Cette vascularisation est donc indirecte car cela se fait au travers de l'épithélium pigmentaire.

Point centrale de la rétine : la macula. Cette zone est essentielle pour la rétine, en raison de sa localisation. En effet, elle se situe au centre de la rétine, exactement où se forme l'image de l'objet regardé. La macula n'occupe que 3% de la surface rétinienne, et pourtant elle transmet 90% de l'information visuelle. Cette zone permet la vision centrale, et la vision fine, elle est donc essentielle à la vision détaillée (Figure n°5).

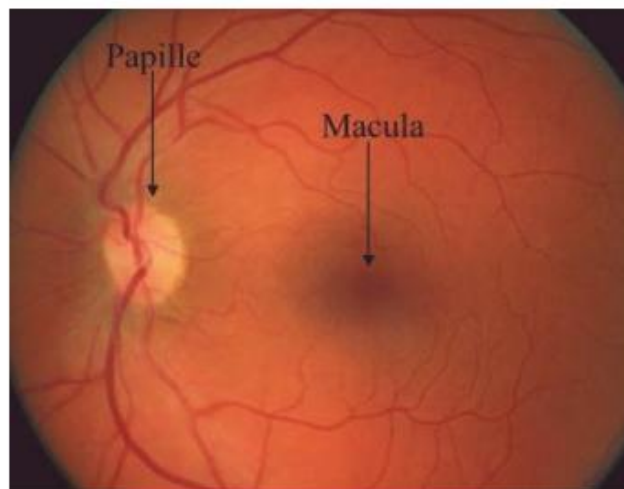


Figure n°5: Fond d'œil mettant en évidence la macula. (Soueid, 2009)

La région maculaire mesure 5,5 mm de diamètre. Il est possible de la diviser en plusieurs zones concentriques (Figure n°6):

- La fovéa : mesure en moyenne 1,5 mm de diamètre, c'est la zone centrale de la macula. Elle forme une dépression dont le centre est appelé fovéola (0,35 mm de diamètre). La fovéola est la zone la plus mince de la rétine, elle est très riche en cônes et constitue la zone d'acuité visuelle maximale de l'œil. Cette zone est aussi très riche en pigments maculaires. Il est important de noter que cette zone n'est

vascularisée que par le réseau vasculaire choroïdien, car la fovéola est dépourvue de capillaires rétiens.

- La zone parafovéolaire : c'est dans cette zone que la rétine est la plus épaisse.
- La zone périfovéolaire.

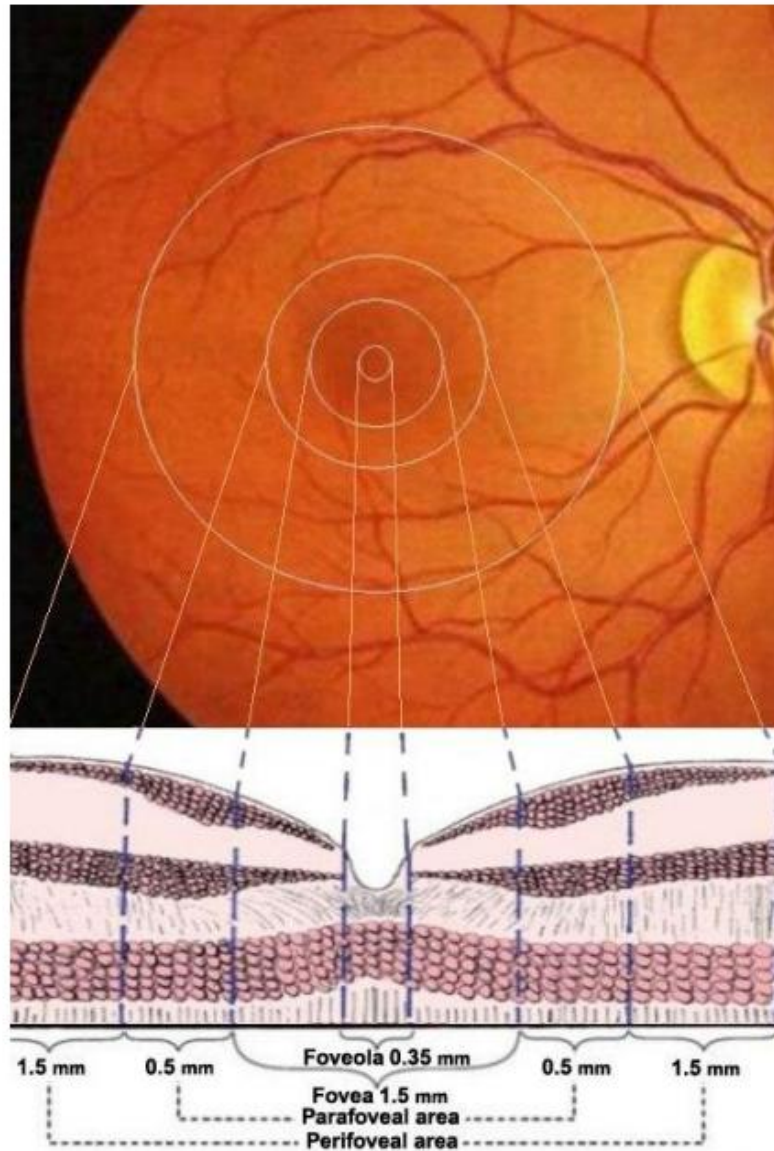


Figure n°6 : Les différentes zones de la région maculaire (fond d'œil et coupe) – *Fond d'œil* permettant de visualiser les différentes zones de la macula, avec une coupe histologique en parallèle, qui permet quant à elle de visualiser l'épaisseur de la rétine en fonction de la zone maculaire. (Davydov, 2011)

c) Milieux transparents du globe oculaire :

- L'humeur aqueuse : elle se situe entre la cornée et le cristallin. Elle est sécrétée par les procès ciliaires et est éliminée par le canal de Schlemm au niveau de l'angle irido-cornéen. Elle permet d'avoir le tonus oculaire. (Bernard, 2016)
- Le cristallin : c'est une lentille transparente, biconvexe, qui se trouve entre l'iris et le vitré. Elle n'est pas innervée, ni vascularisée, ses échanges métaboliques se font donc par diffusion. Grâce à sa plasticité, le cristallin peut modifier ses courbures pour permettre l'accommodation. (Bernard, 2016)
- Le corps vitré : c'est une substance transparente, semi-liquide, qui se trouve entre le cristallin et la rétine. Elle occupe 60% du volume du globe oculaire. Le corps vitré se compose essentiellement d'eau, mais aussi de fibrilles de collagène et d'acide hyaluronique. Cela permet donc de conserver la forme et la fermeté du globe oculaire. (Bernard, 2016)

B. Les annexes oculaires :

Cela comprend la conjonctive, les paupières, le système lacrymal et les muscles oculomoteurs.

a) La conjonctive :

C'est une muqueuse transparente, fine et richement vascularisée qui tapisse la face interne des paupières, ainsi que la face antérieure du globe oculaire. La conjonctive sert donc à protéger le globe oculaire des agressions extérieures.

b) Les paupières :

Les paupières jouent essentiellement un rôle de protecteur vis-à-vis des agents extérieurs (poussières, lumière, chaleur...). Elles assurent aussi l'hydratation de la couche cornée, en permettant d'étaler les larmes. Les paupières sont de nature cutanéomembraneuse. Elles sont au nombre de deux pour chaque œil : l'une inférieure et l'autre supérieure.

c) Le système lacrymal :

Cela se compose d'une glande principale et des glandes accessoires palpébrales. Les larmes sécrétées par ces glandes sont acheminées vers la surface oculaire par de nombreux canaux excréteurs. Elles permettent de lubrifier, et de nettoyer la cornée. Les larmes sont ensuite recueillies au niveau du sac lacrymal puis éliminées via les fosses nasales par les voies lacrymales.

d) Les muscles oculomoteurs :

Il y a six muscles oculomoteurs qui vont permettre de maintenir le globe oculaire et de le mettre en mouvement.

2. Définition de la DMLA :

La dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA) est une pathologie dégénérative, chronique et invalidante, qui touche la rétine, et comme son nom l'indique, elle touche plus particulièrement la macula. Or, comme nous avons pu le voir précédemment, cette région est responsable de la vision centrale, la DMLA touche donc la vision centrale. Tandis que la vision périphérique reste quant à elle inchangée. Le plus souvent, cette pathologie débute après 50 ans. En fonction du niveau d'évolution de la maladie, on distingue deux stades :

- Stade précoce : c'est la maculopathie liée à l'âge (MLA). Cela peut toucher un seul œil sur deux.
- Stade de DMLA proprement dit. Tout comme pour la maculopathie liée à l'âge, la DMLA peut être unilatérale ou bilatérale. De plus, dans ce stade, on distingue deux formes cliniques, pouvant parfois coexister au sein d'un même œil :
 - Forme atrophique (ou sèche) : cette forme se définit par une atrophie de la macula, liée à une disparition progressive des photorécepteurs et des cellules de l'épithélium pigmentaire au niveau de la région maculaire.
 - Forme exsudative (humide ou néovasculaire) : cette pathologie se caractérise par la destruction de la macula suite à la formation de néovaisseaux issus de la vascularisation choroïdienne.

La DMLA est donc une pathologie complexe, nous verrons la physiopathologie de ces différentes formes de la maladie. Ce qui nous permettra de détailler par la suite, les traitements utilisés à ce jour, et les nouvelles cibles thérapeutiques à venir.

II. Diagnostic et signes cliniques de la DMLA :

La DMLA est une pathologie qui altère la vision centrale, tout en gardant intacte la vision périphérique. Cette caractéristique de la pathologie est due à l'atteinte de la macula, qui est responsable de la vision centrale. La DMLA est principalement rencontrée chez les personnes âgées comme son nom l'indique, mais des formes précoces peuvent apparaître dès l'âge de 50 ans.

Cette pathologie ne se traduit pas directement par la perte de la vision centrale, en effet cela n'apparaît que dans les stades avancés de la maladie. Auparavant des signes discrets apparaissent, avant qu'apparaissent ces symptômes caractéristiques. Il ne faut donc pas négliger les signes précoces, afin que la prise en charge thérapeutique de la maladie se fasse avant l'aggravation des lésions. D'autant plus que ces dernières sont irréversibles et qu'elles peuvent induire la cécité (acuité visuelle inférieure à $1/10^{\text{ème}}$). Toute baisse de vision chez les personnes qui prennent de l'âge ne doit donc pas être mise sur le compte du vieillissement naturel et nécessite un suivi ophtalmologique optimal. Car, lorsqu'une DMLA est prise en charge précocement, des mesures sont à mettre en œuvre pour permettre aux patients de tirer le meilleur bénéfice possible de leur vision résiduelle et de s'adapter progressivement à la diminution de la vision centrale. De plus les thérapeutiques actuelles vont permettre de limiter la progression de la maladie, mais ne peuvent en aucun cas restaurer les parties dégradées de la rétine. Néanmoins certains traitements ont montré chez certains patients une augmentation de l'acuité visuelle.

Les 4 signes évocateurs de la DMLA sont (Figure n°7) :

- **La diminution de la sensibilité aux contrastes** : cela peut se traduire par une sensation de manque de lumière pour lire et écrire ; ou encore par une sensation d'images ternes ou jaunies.
- **La diminution de l'acuité visuelle** : cela se ressent par une difficulté à percevoir les détails. Il est important de noter que ce symptôme peut apparaître très rapidement.
- **La déformation des lignes droites** : cela se traduit par la perception des lignes droites de manière ondulée.
- **L'apparition d'une tache centrale sombre ou scotome** : ce terme désigne une lacune immobile dans le centre du champ visuel. Cela peut se traduire par un regard fixe et immobile, lié à la non perception dans une zone de la

rétine. Cela peut donner à l'entourage une impression que la personne regarde dans le vide lorsqu'elle leur adresse la parole.

Les 4 symptômes potentiellement évocateurs d'une DMLA

Baisse de la sensibilité aux contrastes



Baisse de l'acuité visuelle



Déformation des lignes droites



Tache grise-noire au centre de la vision



Figure n°7 : Illustration des 4 symptômes principaux de la DMLA. (la vision du futur, 2015)

Cette pathologie n'atteint pas systématiquement les deux yeux en même temps, cela peut tout de même arriver, mais l'atteinte du deuxième œil peut se produire au bout d'un an, de dix ans, voire même ne jamais se déclarer.

Au niveau diagnostique, un premier test simple existe : le test de la Grille d'Amsler, ce test est réalisable par le patient seul à son domicile. Cette grille correspond à un carré de 10x10 centimètres, quadrillé de 19 lignes horizontales et verticales espacées de 5mm, et en son centre se trouve un point. Lors de la réalisation de ce test, la personne doit se cacher un œil, positionner la grille à une distance confortable de lecture et fixer le point central de la grille. Lorsque la personne regarde la grille, trois cas de figure peuvent apparaître (Figure n°8):

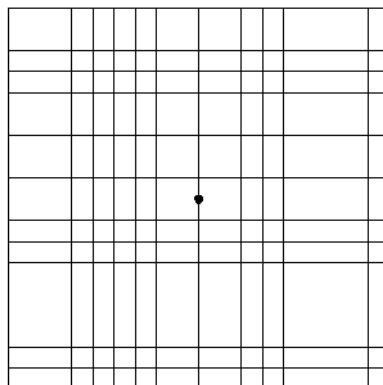


Figure n°8 : La grille d'Amsler – cet outil est utilisé pour le dépistage de la DMLA, une personne atteinte de cette pathologie, verra les lignes se déformer. (Pharmaceuticals., 2014)

- Soit la personne voit le point central parfaitement et voit les lignes alentours non déformées. Le test est alors normal, la personne n'exprime pas les symptômes de la DMLA et ne semble donc pas être atteinte par cette pathologie.
- Soit la personne voit le point central mais celui-ci apparaît d'une manière voilée et les lignes autour semblent être déformées. Il faut alors que la personne note toutes les imperfections qu'elle perçoit et qu'elle prenne rapidement un rendez-vous chez l'ophtalmologiste. Il pourra alors mettre en place des examens complémentaires qui permettront ou non de diagnostiquer l'atteinte par une DMLA.
- Soit la personne ne voit pas du tout le point central, ou il n'apparaît que lorsqu'elle regarde avec le pourtour de l'œil. Il faut alors prendre un rendez-vous chez le spécialiste.

Il faut ensuite recommencer le test en cachant le second œil.

Ce test peut aussi servir de test de contrôle de l'évolution de la pathologie, il peut donc être recommandé de le réaliser régulièrement par les patients atteints de la DMLA.

Suite à ce test, lors du rendez-vous pris chez l'ophtalmologiste par le patient, le docteur va procéder à différents tests pour poser le diagnostic de DMLA. Tout d'abord, il va déterminer l'acuité visuelle de près et de loin, grâce à l'échelle EDTRS. Les échelles EDTRS sont au nombre de trois, et ont été conçues il y a une vingtaine d'années. Leur nom provient du nom de la première étude à laquelle, elles ont servi : *Early Treatment Diabetic Retinopathy Study*. (Figure n°9).

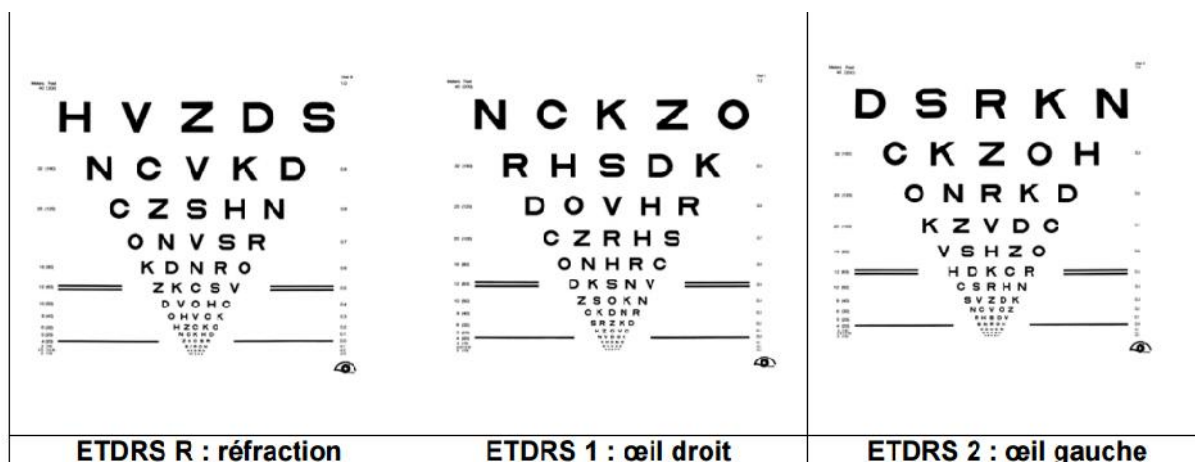


Figure n°9 : Les 3 échelles EDTRS – l'échelle R sert à mesurer la réfraction du patient, l'échelle 1 permet de tester l'œil droit et l'échelle 2 teste l'œil gauche. Chaque échelle se compose de 14 lignes de 5 lettres chacune. Les lettres de chaque ligne sont plus hautes que celles de la ligne inférieure d'un coefficient constant (égal à 1,2589, soit racine cubique de 2). L'une des principales caractéristiques des échelles EDTRS découle de ce choix : une baisse d'acuité visuelle de trois lignes équivaut à un doublement de l'angle d'acuité visuelle, quelle que soit l'acuité visuelle d'origine. Sur le côté gauche de chaque échelle, il y a l'acuité visuelle de Snellen correspondante pour chaque ligne. Pour utiliser l'échelle, elle doit être placée sur une boîte lumineuse. (Zanlonghi, 2002)

L'ophtalmologiste mesure l'acuité visuelle du patient, en procédant de la manière suivante :

- Il éteint la lumière dans la salle de rendez-vous et installe le patient à 4 mètres de l'échelle, le test peut alors démarrer. A cette distance les niveaux d'acuité visuelle s'échelonnent entre 0,1 (1/10) et 2 (20/10). L'ophtalmologiste peut déterminer l'acuité visuelle de Snellen, lorsque le patient parvient à lire au minimum 3 lettres sur 5.
- Si l'acuité visuelle est inférieure à 2/10, la mesure doit être refaite à 1 mètre sur les six premières lignes de l'échelle EDTRS.
- Chaque œil doit être testé séparément.
- Le patient doit lire lentement chaque lettre (1 lettre par seconde) en commençant par la gauche. L'ophtalmologiste doit l'encourager à lire le maximum de lettres, et à bouger si nécessaire pour pouvoir distinguer le plus de lettres possibles.
- Le score est constitué par le nombre de lettres correctement lues.

Cette échelle est très intéressante dans le cadre de la DMLA, car elle permet de déterminer à la lettre près le gain ou la perte d'acuité visuelle dans le cadre d'une basse vision.

Si l'acuité visuelle est diminuée, l'ophtalmologiste va alors réaliser un fond d'œil. Le fond d'œil est un examen réalisé par un ophtalmologiste qui lui permet d'observer la rétine et ses vaisseaux, la macula et la papille optique (la tête du nerf optique). Pour pouvoir observer

la rétine, l'ophtalmologiste doit pouvoir traverser la cornée, le cristallin et le corps vitré mais lorsque l'on éclaire l'œil, il y a un phénomène d'accommodation qui se produit et donc la pupille est alors en myosis. Ce qui n'empêche pas la réalisation de l'examen avec les appareils actuels, mais celui-ci reste néanmoins plus facile et plus précis lorsque la pupille est dilatée. L'ophtalmologiste peut donc prescrire au patient un collyre mydriatique (Figure n°10) tel que le Mydriaticum 0,5%® (Tropicamide), la Néosynéphrine Faure® 5% ou 10% (Chlorhydrate de Phényléphrine).



Figure n°10 : Photographie d'un patient ayant reçu l'instillation d'un collyre mydriatique dans l'œil - *Pupille dilatée à gauche (ayant reçu le collyre), pupille non dilatée à droite (normale).*

Il est important de rappeler que ces collyres sont strictement contre-indiqués en cas de glaucome par fermeture de l'angle, car ceux-ci peuvent générer une hypertension intra-oculaire et donc aggraver la pathologie préexistante. Ces médicaments ont aussi un passage systémique et peuvent donc générer chez certaines personnes une hypertension, il ne faut donc pas les associer à d'autres médicaments hypertenseurs. Lors de la délivrance de ce type de médicament, il faut préciser au patient qu'en raison de l'effet recherché pour réaliser l'examen, la mydriase, sa vision risque d'être altérée (de devenir flou), il ne pourra donc pas reprendre la conduite après son examen, d'autant plus que la durée moyenne d'action de ces collyres est de 2 heures. Nous lui conseillerons donc de se faire accompagner par l'un de ses proches au rendez-vous. Le jour de l'examen, le patient doit mettre ses gouttes dix à quinze minutes avant l'heure prévue de l'examen. Pour rassurer le patient, il faut lui dire que l'examen n'est pas douloureux, mais que celui-ci est très éblouissant. L'examen se réalise à l'aide d'un ophtalmoscope, c'est un appareil qui projette de la lumière au travers de l'œil du patient, et qui permet par un système de miroirs et de lentilles d'amplifier le fond d'œil du patient.

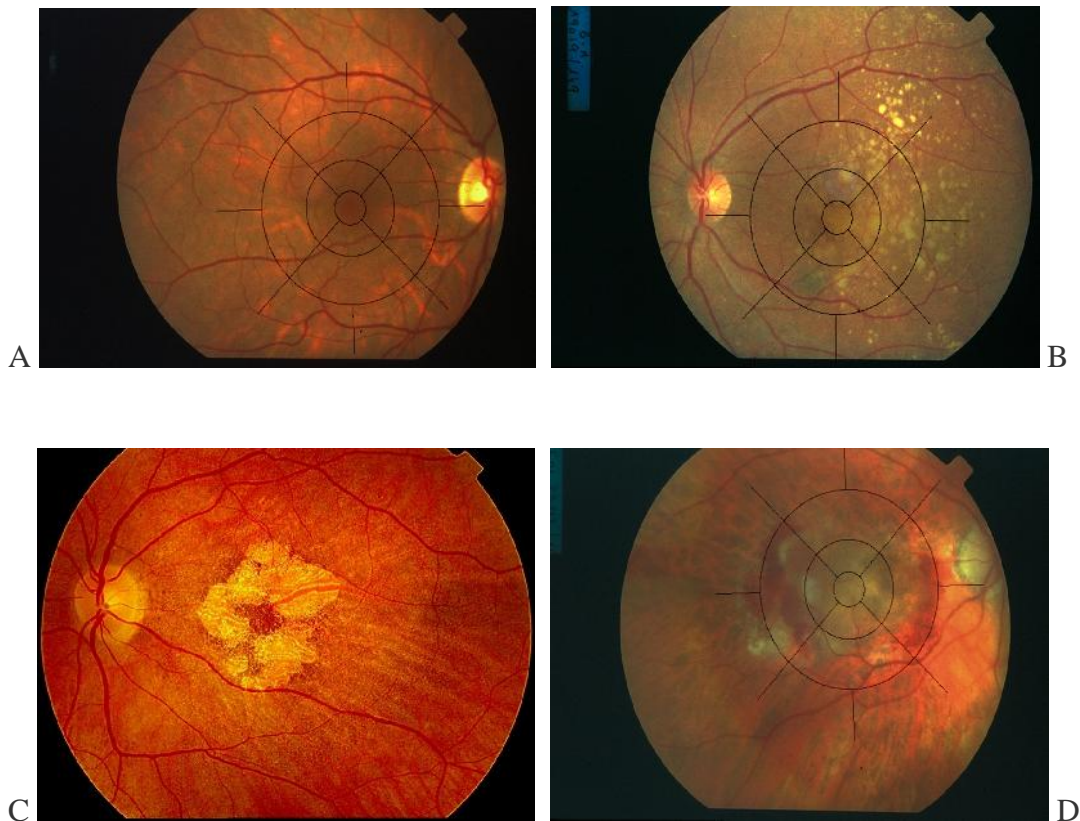


Figure n° 11 : Photographies de différents fonds d'œil -

A - Normal : Au centre de la cible se trouve la macula, lieu essentiel de la vision des détails, elle se trouve dans une zone avasculaire. Le point lumineux sur la droite correspond à la papille, qui correspond anatomiquement à la tête du nerf optique, c'est aussi le lieu de passage des artères et veines centrales de la rétine.

B - DMLA Précoce : on peut voir sur ce fond d'œil la présence de grands Drusens séreux qui sont éparpillés sur l'ensemble de la rétine. Ils vont par la suite, s'accumuler au niveau de la macula.

C - DMLA sèche : on peut voir sur ce fond d'œil qu'il y a la présence de Drusens au niveau de la macula, ce qui va altérer la vision du patient.

D - DMLA Exsudative : sur ce fond d'œil, on peut constater qu'il y a la présence d'une néo-vascularisation au niveau de la macula. De plus, il y a de petites hémorragies, liées à la fragilité de ces néo vaisseaux. (F., 2014)

D'autres examens peuvent permettre de diagnostiquer la DMLA exsudative ou atrophique:

❖ **l'angiographie rétinienne** : Cet examen nécessite également l'utilisation d'un collyre mydriatique. Une infirmière doit injecter ensuite un colorant fluorescent : la fluorescéine ou le vert d'indocyanine, cela se fait le plus souvent au pli du coude. Ces colorants peuvent induire des nausées, et il faut prévenir le patient qu'une coloration des selles et des urines pendant plusieurs jours est possible. Puis l'ophtalmologiste va utiliser un ophtalmoscope qui va émettre des flashes plus ou moins puissants pour prendre des photos du fond d'œil, comprenant tous les détails de la vascularisation (Figure n°12). Cet examen ne

de 5 à 10 minutes, mais une surveillance de 30 minutes est nécessaire après la réalisation de cet examen, en raison de l'injection de produits et du risque potentiel d'allergies.

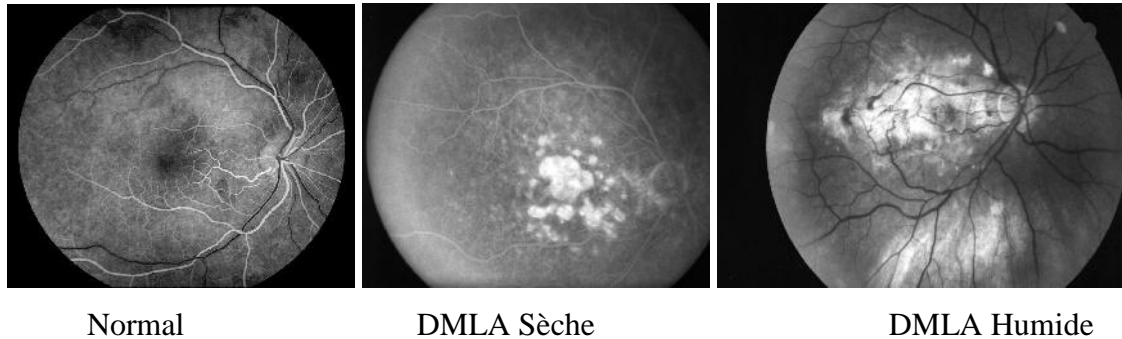


Figure n° 12 : photographies illustrant l'angiographie rétinienne – *lorsque l'œil est normal, il est possible de voir au cours de cet examen le réseau vasculaire (en blanc sur l'image). Lorsque le patient est atteint de DMLA sèche, des taches blanchâtres apparaissent, elles correspondent aux drusens. Enfin, en ce qui concerne la DMLA humide, l'examen révèle la présence de taches blanchâtre vaste au sein de la rétine. C'est lié, à la fuite des néovaisseaux rétiniens, et donc à l'épanchement du produit de contraste.* (L'oeil, s.d. 2015)

❖ **la tomographie par cohérence optique :** c'est une technique d'imagerie non invasive et sans contact utilisant la réflexion de rayons lasers. L'observation de la structure anatomique de la rétine en coupe est permise avec une précision de l'ordre de 5 à 10 μm (Figure n°13). Il est possible alors d'observer les différentes couches constitutives de la rétine, et identifier la présence de néovascularisation potentielle lors de certaines pathologies rétiniennes telles que la DMLA. Cet examen est indolore, il ne nécessite pas de préparation particulière et ne dure que quelques minutes.

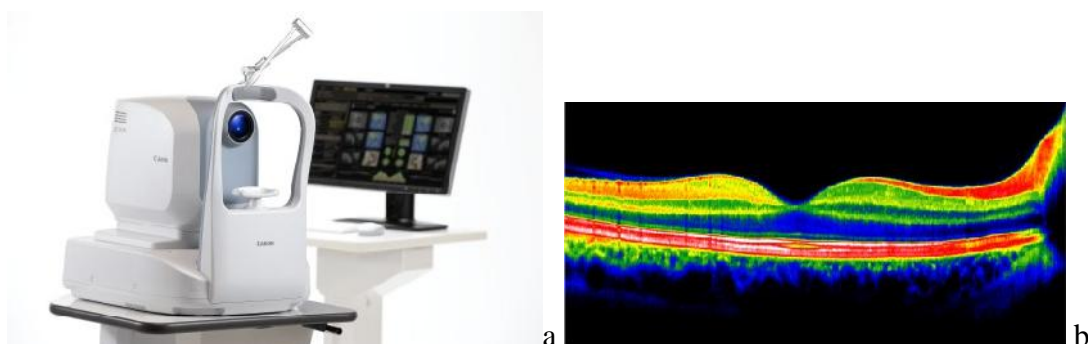


Figure n°13 : Tomographie par cohérence optique – *a) La tomographie par cohérence optique est une technique d'imagerie non invasive et sans contact qui utilise la réflexion des faisceaux lasers afin de visualiser des structures anatomiques en coupe. Cela permet d'obtenir l'épaisseur de la macula et de la papille optique avec une précision de l'ordre de 5 à 10 μm . b) Rétine normale.*

Cet examen peut se faire aussi pour contrôler l'évolution de la DMLA humide, chez les patients étant traités par des anti-VEGF (Figure n°14).

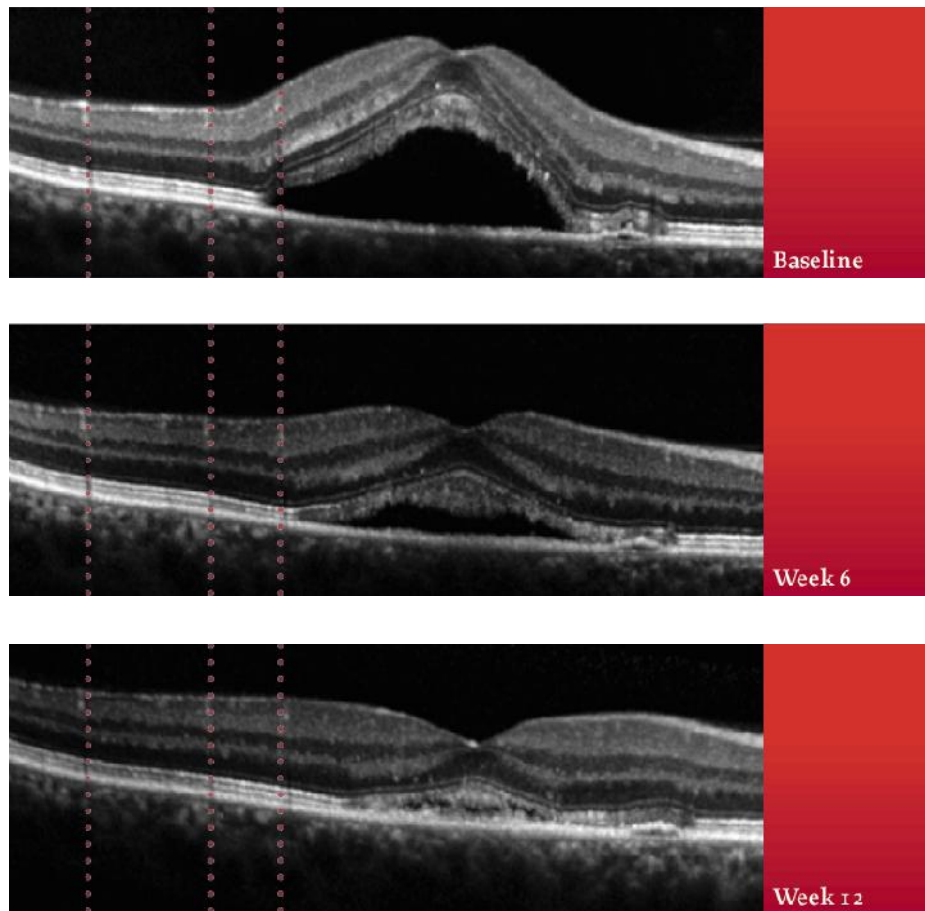


Figure n°14 : Évolution de la tomographie par cohérence optique chez un patient atteint par la DMLA, recevant des injections intra-vitréennes – cette figure nous montre l'efficacité du traitement anti-VEGF chez ce patient, en effet au début on peut voir que l'épaisseur de la paroi rétinienne est importante en raison de la présence de néo-vaisseaux. A 6 semaines de traitement, la tomographie par cohérence optique, permet de mettre en évidence une efficacité du traitement, avec une réduction du soulèvement de la paroi. Enfin, à 12 semaines, la paroi semble avoir repris pratiquement sa forme initiale, ce qui témoigne de l'efficacité du traitement chez ce patient. (Madar, 2013)

On peut voir qu'en début de traitement il y a un soulèvement au niveau de la rétine, plus particulièrement au niveau de la choroïde, ce qui induit une déformation de la couche épithéliale rétinienne pigmentaire et donc une désorganisation des photorécepteurs. Grâce à l'utilisation d'un OCT Heidelberg (appareil qui a la capacité de replacer les coupes OCT au bon endroit), on a pu suivre la régression de ces néo-vaisseaux choroïdiens suite des injections intra vitréennes chez un même patient. Après 12 semaines de traitements, on peut voir que cette néo-vascularisation semble être résorbée.

III. Physiopathologie des DMLAs :

1. Physiopathologie de la DMLA sèche :

A. Rôle de l'épithélium pigmentaire :

La DMLA atrophique ou dite « sèche » se caractérise par une atrophie de l'épithélium pigmentaire rétinien, et par une diminution du nombre de photorécepteurs au sein de la macula. Cette forme de DMLA est la plus commune, elle représente en effet 80 à 90% des DMLA. Elle évolue lentement, et débute tout d'abord par une atteinte du pourtour de la macula, mais en une dizaine d'années les zones cicatricielles peuvent atteindre la fovéa, point primordial pour la vision fine, qui se trouve au centre de la macula. Elle engendre donc une baisse progressive de l'acuité visuelle, et peut également affecter la perception des couleurs.

La DMLA est une pathologie liée à une modification de la survie de l'épithélium pigmentaire qui présente un rôle essentiel dans la survie des photorécepteurs. Au cours du vieillissement physiologique, il est normal que cet épithélium s'altère. L'épithélium pigmentaire présente deux fonctions essentielles : délivrer les nutriments et éliminer les déchets issus de la phagocytose des photorécepteurs sus-jacents. La première fonction peut être altérée et engendrer la mort des cellules environnantes, en particulier des photorécepteurs. Ce qui engendre une baisse de l'acuité visuelle.

- **Altération du transport des fluides au sein de l'épithélium pigmentaire :**

Différentes études ont montré que l'épithélium pigmentaire présente un rôle primordial dans le transport de fluides. Il a été montré que les photorécepteurs sont les cellules qui présentent le métabolisme oxydatif le plus important, de ce fait d'importantes quantités d'eau métabolique sont produites et doivent être éliminées. L'épithélium pigmentaire va permettre d'assurer l'osmolarité de la matrice entre les photorécepteurs et l'adhésion à la membrane de Bruch. Lorsque l'épithélium vieillit selon un processus physiologique normal, le débit de transport liquidien au travers de celui-ci ne semble pas être altéré. Ce débit est de $0,11\mu\text{L/h/mm}^2$. Ce fluide qui passe au travers de l'épithélium pigmentaire, arrive au niveau de la membrane de Bruch pour ensuite être éliminé dans la circulation choroïdienne. Il a été montré que chez les patients atteints de DMLA, la conductivité hydraulique de cet épithélium est altérée. Cette altération de transport des fluides par l'épithélium pigmentaire induit une accumulation de liquide entre la membrane de Bruch et l'épithélium pigmentaire, générant un décollement de l'épithélium pigmentaire, lié à la

présence d'un œdème maculaire. Cet œdème augmente la distance par rapport à la source nutritive que constitue la choroïde, ce qui peut conduire à des lésions métaboliques de l'épithélium pigmentaire et de la rétine neurosensorielle, aboutissant à la mort cellulaire.

- **Altération de la fonction d'élimination des déchets de phagocytose des photorécepteurs par l'épithélium pigmentaire :** Lors du processus de vieillissement il y a une diminution du transport de métaux essentiels tels que le fer, le cuivre, le zinc, ou encore le sélénium, liée à une altération des protéines de transport. Or ces métaux sont souvent des catalyseurs des réactions enzymatiques qui interviennent lors des réactions d'oxydoréductions. On a alors un processus antioxydant ralenti, mais aussi un déficit de renouvellement de la chaîne respiratoire mitochondriale et un processus de détoxification par les cytochromes P450 qui est ralenti. La diminution de la résistance aux dommages oxydatifs peut être la base du processus normal de vieillissement mais aussi de la DMLA. Cela génère une diminution des déchets issus des photorécepteurs, ce qui aboutit à une accumulation de lipofuscine et à une accumulation de débris au sein même des cellules de l'épithélium pigmentaire. Cela peut générer la mort des cellules, et donc l'activation de la réaction inflammatoire, qui mettrait en cause le complément.

De plus, cette accumulation de lipides va interférer avec les flux de fluides provenant des cellules épithéliales pigmentaires au travers de la membrane de Bruch, il y a alors accumulation de ces fluides au sein des cellules, engendrant un stress au niveau des cellules. La lipofuscine va s'accumuler dans les cellules épithéliales pigmentaires, et altère les fonctions lysosomiales de ces cellules ainsi que le métabolisme du cholestérol.

B. Formation des drusens et membrane de Bruch :

La DMLA atrophique est liée à la formation de petits drusens et à leur accumulation au niveau de la macula, plus particulièrement au sein de la membrane de Bruch. Ces drusens sont constitués de lipides et de protéines qui s'accumulent sous l'épithélium pigmentaire rétinien, altérant la membrane de Bruch. Revenons sur leur formation et sur le processus physiologique normal de vieillissement.

La membrane de Bruch est une couche tissulaire formée par l'épithélium pigmentaire et les choriocapillaires. Il s'agit plus précisément d'un tissu conjonctif comportant la partie la plus interne de la choriocapillaire et la partie la plus externe de l'épithélium pigmentaire. Cette membrane comporte cinq couches, de la plus externe à la plus interne, on retrouve la

lame basale de la choriocapillaire, une couche de collagène externe, une couche élastique et une couche de collagène interne. L'épaisseur de cette membrane est de deux micromètres chez le jeune de 20 ans.

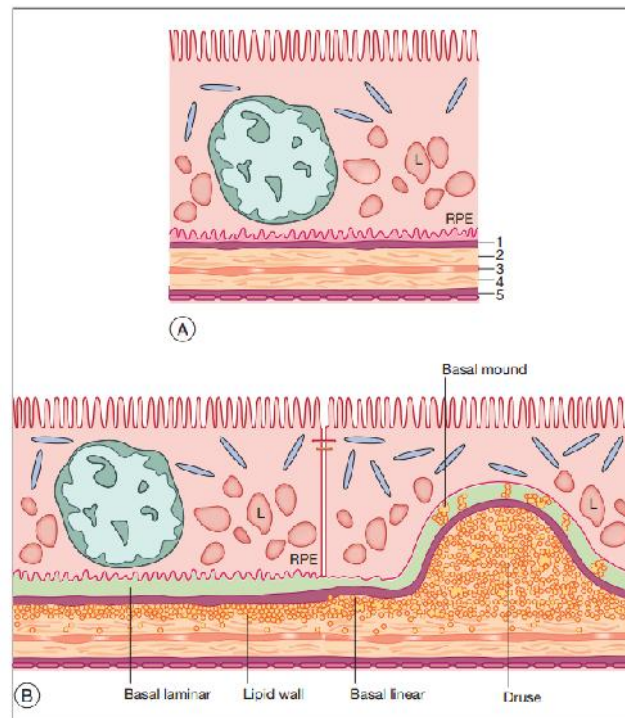


Figure n°15 : La membrane de Bruch et les lésions caractéristiques liées à la DMLA - *A Membrane de Bruch normale, avec ses 5 couches : 1 – lamina basale, 2 – couche de collagène interne, 3 – couche élastique, 4 – couche de collagène externe et 5 – lamina basale avec l'endothélium choriocapillaire (cellules fenestrées), L - lipofuscine. B Yeux agés ayant des dépôts laminaires basaux (DLam) et des dépôts linéaire basaux (Dlin) et leurs précurseurs. On peut voir que Dlin, les drusens et la couche lipidique occupent le même compartiment tissulaire. Par endroit, des accumulations de DLam et de matériaux mous forment les drusens mous (Curcio CA, 2011).*

Lors du processus normal de vieillissement, avec les années, l'épaisseur de cette membrane augmente, car il y a :

- une augmentation du nombre de liaisons de collagène au sein de la couche élastique de cette membrane, ainsi qu'une calcification de cette couche qui apparait.
- une augmentation des dépôts lipidiques au sein de la membrane de Bruch, en effet on retrouve des débris membranaires ou vésiculaires, qui se composent majoritairement de phospholipides membranaires en bicouches.
- une modification structurelle du collagène de cette membrane, en effet les fibres de collagène deviennent moins solubles avec l'âge. Lors du vieillissement, il apparait aussi que la membrane de Bruch comporte de la pentosidine et de la carboxyméthyllysine, ce sont des

produits finaux de glycation qui se trouvent notamment dans les dépôts laminaires basaux et dans les drusens séreux. Or ces produits finaux de glycation vont interférer avec la protéolyse enzymatique des protéines ; cela va donc réduire la synthèse et la dégradation des protéines. Ces produits finaux de glycation, vont donc favoriser la liaison des fibres de collagènes entre eux, une diminution de la taille des pores au sein de la membrane de Bruch apparaît, réduisant la perméabilité de celle-ci.

Se surajoutant aux altérations des couches de collagène de la membrane de Bruch, les protéines de la matrice extracellulaire des membranes basales, particulièrement celles de l'épithélium pigmentaire rétinien, semblent modifiées. En effet, en réalisant le marquage immuno-histochimique des protéines de la matrice, il a été mis en évidence que la quantité de collagène IV et de laminine, diminuent de manière naturelle avec l'âge au sein de la membrane basale de l'épithélium pigmentaire.

Au cours du processus physiologique normal de vieillissement, ces modifications structurelles expliquent la diminution de l'hydroperméabilité de la membrane de Bruch. Ce qui se traduit par une diminution de la circulation des fluides. Par conséquent les protéines de grosses taille et les lipides s'accumulent dans les différentes couches de la membrane de Bruch. Il a été mis en évidence que ce phénomène, se traduit par une diminution des propriétés hydrophiles de la membrane et par une élévation des propriétés lipophiles ; ce phénomène s'accroît exponentiellement dès l'âge de 50 ans.

Il a été démontré au cours d'une étude que ce sont surtout des liquides peroxydés qui sont retrouvés au sein de la membrane. Ceux-ci sont dérivés des acides gras polyinsaturés à longue chaîne, en particulier de l'acide docosahexanoïque et l'acide linoléique normalement présents dans les segments externes des photorécepteurs. (Christine A. Curcio, 2009)

On distingue différents types de dépôts au sein de l'épithélium sous-rétinien, en effet on a les dépôts basaux laminaires (DBLam) et les dépôts basaux linéaires (DBLin). Le premier type de dépôts, les DBLam correspondent à des éléments de la membrane des photorécepteurs qui ne sont pas totalement dégradés en raison d'une défaillance des fonctions lysosomiales des cellules, donc cela comprend du cholestérol estérifié et non estérifié. Cela s'accompagne aussi de résidus de fibres de collagènes (collagène de type IV et VI), mais aussi de fibronectine, de la vitronectine, des metalloproteases 7 (MMP-7), des débris de lipoprotéines le facteur 3 et 5B de la voie du complément ; ce qui traduit que la pathologie présente une composante inflammatoire au cours de son processus. Ces DBLam se retrouvent principalement entre la membrane plasmique et la lame basale de l'épithélium rétinien

pigmentaire. Chez le sujet âgé, il est normal de retrouver ce type de couche au sein de la membrane de Bruch, mais il ne faut pas que cela s'accumule et dépasse les 15 μm d'épaisseur comme dans la DMLA. En raison de sa composition et du processus de formation de ce DBLam, il a été établi que ce sont d'excellents témoins du stress que les cellules du réticulum endoplasmique peuvent subir. D'après les études réalisées sur la composition des DBLam, il a été mis en évidence que ces dépôts présents au sein de cette couche la membrane de Bruch sont en fait des précurseurs de la constitution des drusens. Car, ces dépôts passeraient par la suite au sein des DBLin, pour finir par former les drusens (Figure n°16).

Les DBLin qui seraient issus des DBLam, ne sont pas visibles cliniquement et se constituent majoritairement de lipides solides et de particules solides de lipoprotéines ApoE et ApoB. Les drusens mous sont très similaires morphologiquement. Ces DBLin peuvent donc être à l'origine des drusens mous.

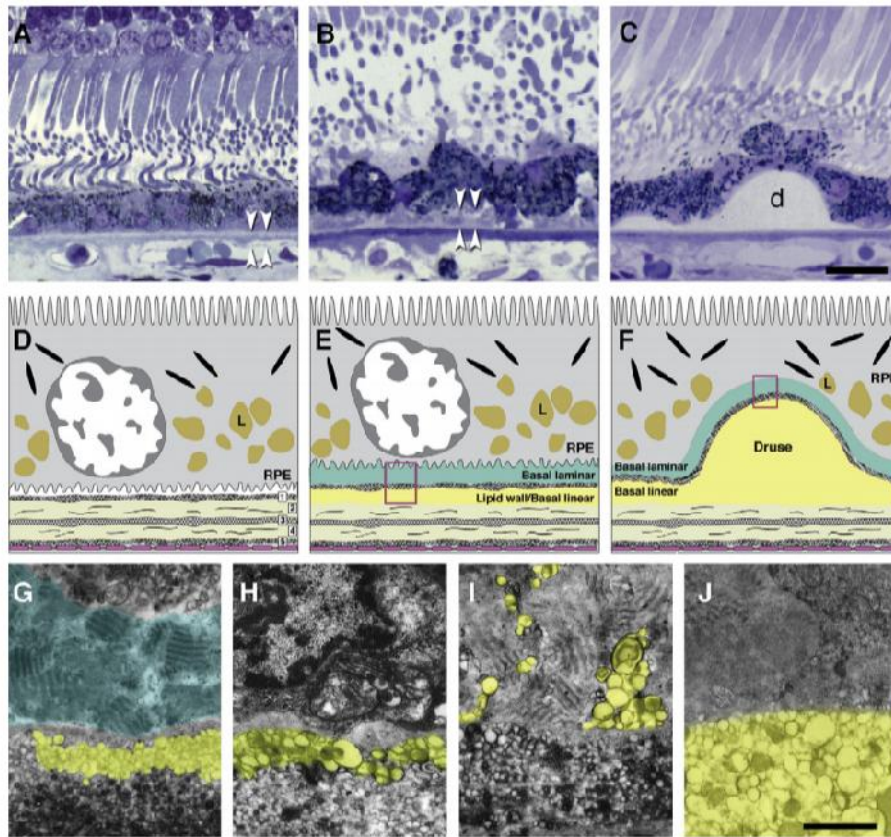


Figure n°16 : La membrane de Bruch et les lésions liées à la DMLA –

A-C : des sections de 1µm colorées au bleu de toluidine. A- RPE et membrane de Bruch normales (témoin). B- des dépôts basal externes perturbent le RPE. C- des drusens (d).

D-F : schémas des lésions extracellulaires. D- la membrane de bruch se constitue de 5 couches dans l'œil normale : 1-la lamina basal du RPE, 2-couche de collagène interne, 3-couche élastique, 4-couche de collagène externe, 5-lamina basale de l'endothélium des choriocapillaires, L-lipofuscine. E- un œil atteint de DMLA a de dépôts laminaire basales (DBlam) et des dépôts linéaire basales (DBlin) et leur précurseurs, la couche lipidique. F- les drusens, les DBlin, la couche lipidique occupe le même plan. (Christine A. Curcio, 2009)

Il existe quatre types différents de drusens :

- **Les drusens miliaires ou drusens durs** : à l'examen ophtalmologique, ils sont sphériques, jaunâtres, aux bords bien délimités, amorphes ; ils mesurent moins de 125 µm. Ils sont constitués de matériel hyalin situé entre la couche de collagène interne de la membrane de Bruch et la lame basale de l'épithélium pigmentaire. En grossissant, ces drusens vont perdre en densité et peuvent confluer entre eux pour former de plus gros drusens. En regard de ces drusens l'épithélium pigmentaire va dégénérer et se dépigmenter.

- **Les dépôts linéaires basaux ou drusens diffus** : ils constituent eux aussi, des dépôts entre la couche de collagène interne et la membrane basale de l'épithélium pigmentaire. Mais ils sont de structure plutôt granuleuse, vésiculaire, amorphe.

- **Les drusens séreux** : ceux-ci sont de taille plus importante et leurs extensions sont caractérisées cliniquement par des lésions jaunâtres, rondes, mais sans limites nettes et souvent confluentes. Ils se retrouvent au même niveau que les drusens miliaires, c'est-à-dire entre la membrane basale de l'épithélium pigmentaire et la couche de collagène interne de la membrane de Bruch. Les drusens séreux sont moins homogènes, avec apparition de granules et de vésicules en leur sein, des calcifications et des débris cellulaires peuvent apparaître. En regard de ces drusens, des hyper- ou hypo-pigmentations se forment alors sur l'épithélium pigmentaire, évoluant vers une atrophie progressive de l'épithélium pigmentaire et la résorption des drusens séreux.

- **Les dépôts laminaires basaux** : ils forment une fine couche externe à la membrane basale de l'épithélium pigmentaire qui ne peut pas être distinguée cliniquement au biomicroscope. Ceux-ci représentent le phénomène normal de vieillissement, retrouvé chez les plus de 70 ans. Ils se trouvent entre la membrane basale et la membrane cytoplasmique des cellules de l'épithélium pigmentaire (Sarks, 2007).

D'un point de vue constitutionnel (Tableau n°1), les drusens diffèrent par la composition chimique de leurs dépôts lipidiques. En effet, certains drusens se composent majoritairement de phospholipides alors que d'autres vont principalement être constitués de lipides neutres.

Dans une étude de Hermans en 2002, la laminine et le collagène de type IV ont été détectés à la face interne des DBLam, mais le constituant majeur qui a été mis en évidence est la vitronectine ; qui a été également décrite au sein des drusens. La coloration positive des DBLam au PAS, au bleu Alcian et au trichrome de Masson est cohérente avec la présence de composants de la membrane basale, tels que l'héparane sulfate et le collagène. De plus, cette étude a montré la présence de MMP-2 et MMP-9 régulant la matrice extracellulaire. Elles

sont présentes aux surfaces basolatérales des cellules de l'épithélium pigmentaire. Les TIMP-2 et TIMP-3 sont préférentiellement localisées à la surface externe de DBLam. Dans tous les spécimens analysés, il a été mis en évidence aussi la présence de complexes activés du complément C3 et C5b-9 au sein de DBLam. Cela peut suggérer une activation spontanée du complément en l'absence d'immunoglobulines. Il a été démontré lors d'une étude de 2005 par Edwards que le risque de DMLA est augmenté chez les patients ayant un polymorphisme génétique particulier du facteur H du complément. En effet, il a été mis en évidence que cette modification génétique du facteur H induit une activation incontrôlée du complément C3. Ce qui impliquerait que la dysrégulation de l'activation du complément joue un rôle majeur dans la pathogénie de la DMLA. Le rôle de l'immunité semble évident dans cette pathologie. La vitronectine présente dans ces DBLam a une place fondamentale dans l'inactivation des complexes d'attaque membranaires. Donc la présence de la vitronectine dans ces DBLam protégeraient les cellules de l'épithélium pigmentaire.

Table 20.3 (online) Localized components of drusen

Component	Phase	Direct assay	Abundance	References
Lipoproteins (EC, UC, phospholipid)	P	✓	All drusen; >40% of hard druse volume; EC pools in soft drusen	122, 239, 240
Apolipoproteins (apoB, A-I, C-I, E)	P	apoE ✓	60–100% of hard drusen; higher rates in periphery than macula	152, 154, 240
Melanin/lipofuscin granules	P		6% of hard and soft drusen	122
Cells (dendritic, others)	P		3–6% of hard drusen only	122, 241
Amyloid vesicles (0.25–10 µm)	P		2% of hard drusen, 40% of compound drusen, frequent in eyes with many drusen, some AMD eyes	122, 136, 239, 242
Calcification	P	✓	43% of macular hard drusen, 1.8% of soft drusen, 2% of peripheral hard drusen	122
Clusterin, TIMP3, vitronectin, apolipoprotein E, complement factor H, complement components 8, 9	D	✓	Reliably detected; abundance inferred	143, 191
Components of classic, lectin, alternative, terminal complement pathways; C3 fragments indicating activation	D	Some ✓	Many pathway components evidence key role of complement	243
RGR-d	D		All drusen	244
αA- and αB-crystallin	D	✓	NA: higher in BrM, more in AMD drusen	150, 191
Ubiquitin	D		Most drusen in most eyes	245
Exosome markers CD63, CD81, and LAMP2	P		NA	246
Bestrophin, membrane-bound	P		NA	247
Carbohydrates	D		All drusen	191
Zinc	D	✓	Many drusen	138

EC, esterified cholesterol; UC, unesterified cholesterol; P, particulate; D, dispersed; NA, not available; AMD, age-related macular degeneration; BrM, Bruch's membrane; localization methods: immunohistochemistry, histochemistry, immunogold transmission electron microscopy. Direct assays: proteomics, Western blot, microprobe, synchrotron X-ray fluorescence for zinc. Varying estimates of particulate druse components are due to differences in location of samples and druse types examined.

Tableau n°1 : les différents composants des drusens durs et mous (Curcio C. e., 2009).

C. Atteinte de la Choroïde dans la DMLA :

La DMLA n'est pas seulement liée à l'apparition de drusens au sein de la membrane de Bruch, en effet d'autres atteintes physiologiques vont être responsables de cette pathologie. Tout d'abord, la choroïde peut être altérée. La choroïde joue une fonction essentielle pour l'épithélium pigmentaire, la rétine, et les photorécepteurs. En effet, la circulation choroïdienne permet d'apporter à ces éléments structurels l'oxygène et les nutriments (surtout du glucose) nécessaires à leur homéostasie. Le glucose est alors métabolisé au sein des cellules rétiniennes, qui possèdent un métabolisme glycolytique et oxydatif permettant de synthétiser de l'énergie cellulaire sous forme d'adénosine tri-phosphate (ATP). Cette énergie joue une fonction importante dans le maintien de l'activité neuronale rétinienne. Les interactions métaboliques entre l'épithélium pigmentaire et les photorécepteurs sont indispensables au maintien de leur intégrité physique, mais aussi à celle de la choriocapillaire.

Au cours du processus physiologique normal de vieillissement de la choroïde, les modifications liées à l'âge d'un point de vue fonctionnel et morphologique que subissent les cellules des vaisseaux choroïdiens, peuvent engendrer une baisse de la libération des substances vasoactives par l'endothélium vasculaire. Ces substances jouent un rôle essentiel dans la régulation du débit choroïdien, car ce dernier est maintenu grâce à la vasoconstriction induite par ces substances, et par une pression de perfusion moyenne augmentée.

D. Synthèse de la physiopathologie de la DMLA sèche :

D'une manière générale, le processus biopathologique de la DMLA sèche se résume en 8 étapes distinctes (Figure n°17) :

- 1) les lipoprotéines plasmatiques sont véhiculées pour délivrer les nutriments lipophiles (vitamine E (Loane E, 2008), caroténoïdes, cholestérol (Tserentsoodol N, 2006)) aux photorécepteurs via l'épithélium pigmentaire rétinien. Les récepteurs pour le LDL et le HDL plasmatique sont fonctionnels in vitro et in vivo. Les éléments nutritifs sont extraits de ces lipoprotéines par l'épithélium pigmentaire rétiniens pour les fournir aux photorécepteurs.

- 2) les protéines connues dans le métabolisme plasmatique du HDL se trouvent dans l'espace sous-rétinien. Elles semblent constituer une voie rapide d'acquisition de cholestérol non-estérifié pour les photorécepteurs, peut être via des particules liant le HDL. Des études

ont montré que la DHA est recyclée dans les photorécepteurs (Bazan NG, 1992;318:295–306.).

- 3) les lipoprotéines de la membrane de Bruch sont traditionnellement issues de l'assemblage de plusieurs lipides, comme d'autres lipoprotéines ApoB. L'excès de cholestérol non estérifié est cytotoxique pour la cellule. Il doit donc être évacué par l'épithélium pigmentaire rétinien. Cependant, le cholestérol non estérifié peut être estérifié par l'enzyme ACAT-2, ce qui induit un important taux de cholestérol estérifié dans la membrane de Bruch. Les acides gras, essentiellement le linéolate, pourraient venir de l'excès d'HDL et de LDL. Des particules isolées de lipoprotéines ont montré la présence de rétinyl en leur sein, ce qui pourrait nous amener à dire qu'elles viennent d'un efflux de la voie du retinol. L'épithélium pigmentaire rétinien est responsable de deux mécanismes de recyclage : la DHA provenant des segments externes est recyclée vers la partie apicale des photorécepteurs ; et les lipoprotéines plasmatiques sont réassemblées et recyclées pour retourner dans le plasma de manière basolatérale. Dans le même temps d'autres mécanismes qui déchargent en cholestérol non estérifié sont présent dans l'épithélium rétinien pigmentaire.

- 4) la clairance des particules de lipoprotéines à travers la membrane de Bruch se produit vraisemblablement par diffusion, et par transcytose à travers les choriocapillaires et le plasma. Cependant l'accumulation importante de cholestérol estérifié très hydrophobe, dès le début de l'âge adulte, peut expliquer la diminution du transport des molécules hydrophiles à travers la membrane de Bruch vers l'épithélium rétinien pigmentaire (Ethier CR, 2004).

- 5) les lipoprotéines capturées dans la membrane de Bruch, au fil du temps, peuvent conduire à la formation d'une paroi lipidique externe à la lame basale de l'épithélium pigmentaire rétinien.

- 6) au fil du temps des espèces ayant des propriétés nocives sont formées telles que l'hydroperoxyde de linéolate, le ketocholesterol. L'hydroperoxyde de linéolate est un constituant majeur des plaques d'athérosclérose. Il possède des propriétés chimiotactiques, pro-inflammatoires, et cytotoxiques. Les processus oxydatifs et non-oxydatifs amènent à la dégradation des composés des lipoprotéines, causant la formation de particules de débris des lipoprotéines. Ces accumulations de débris de lipoprotéines induit la formation des drusens, des dépôts laminaires basaux, spécifique de la DMLA. Cela finit par provoquer une véritable marée noire au sein de la membrane de Bruch.

- 7 et 8) ce scénario est précurseur de la néovascularisation choroïdienne qui est issue de l'inflammation (Spaide, 2003). Et génère la DMLA exsudative.

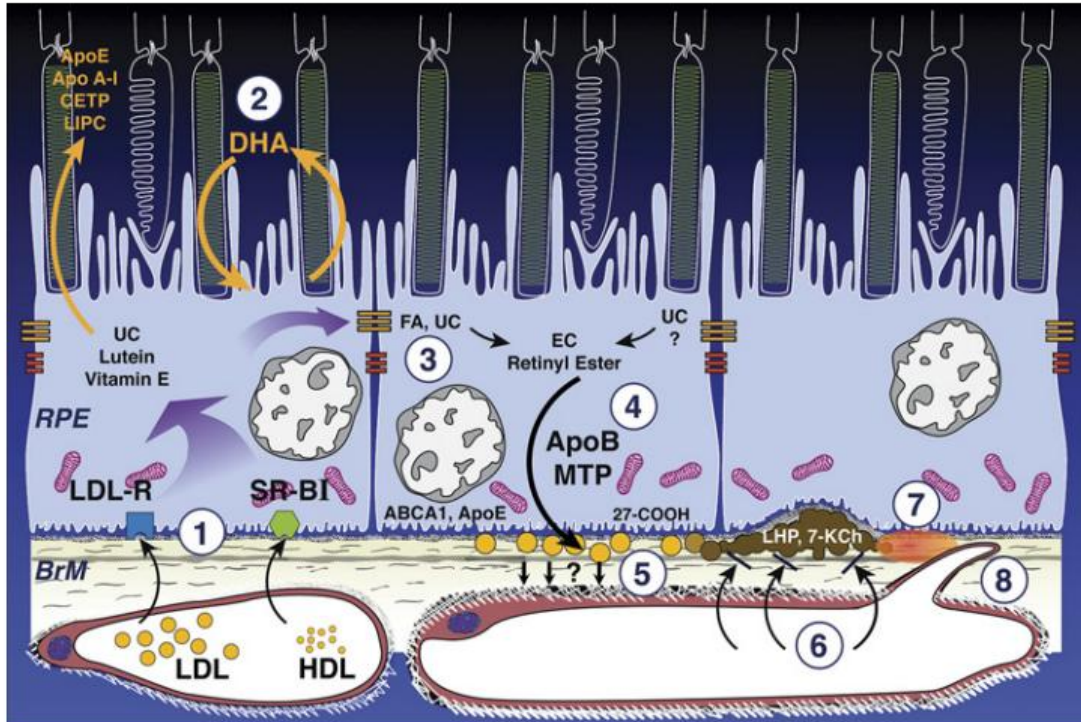


Figure n°17 : Mécanismes physiopathologiques de la DMLA sèche –

- 1) Les LDL et HDL plasmatiques libèrent des nutriments lipophiles qui sont capté par les récepteurs du LDL et par les récepteurs scavenger de type I de classe B (SR-BI) présents au niveau de la membrane basolatérale du RPE.
- 2) Les protéines classiquement associées au métabolisme plasmatique du HDL sont exprimées dans l'espace sub-rétinien et peuvent être impliqué dans le renouvellement rapide du cholestérol non estérifié au sein de la rétine neurosensorielle. La DHA est cyclisé entre le RPE et la rétine.
- 3) L'apolipoprotéine B sécrétée en basolatérale, est assemblée à partir de nombreuses sources, incluant des lipoprotéines plasmatiques, la synthèse endogène de lipides et/ou des produits de dégradation des photorécepteurs. Les acides gras, plus particulièrement le linoléate, vient en grande partie des lipoprotéines plasmatiques. Le cholestérol non estérifié, provient de plusieurs sources, de plus il est ré-estérifié.
- 4) Le RPE exprime à la fois des apolipoprotéines B et des protéines de transfert des triglycérides micromiales, et secrète des particules riches en cholestérol estérifié au sein de la membrane de Bruch (cercle jaune), où ils sont retenu et parfois éliminés à travers l'endothélium des choriocapillaires.
- 5) Les particules lipoprotéiques commencent à s'accumuler pendant la vie adulte pour des raisons inconnues, construisant une couche externe à la lamina basale (le mur lipidique).
- 6) Au fil du temps, peut être à cause de espèces réactives de l'oxygène issu de la mitochondrie voisine, des espèces toxiques/pro-inflammatoires telles que le lineoleate hydroperoxyde et le 7-ketocholesterol apparaissent. Ces particules pourraient fusionner pour former des debris issus des lipoprotéines, le principal composant des dépôts linéaire basaux et des drusens mous.
- 7) L'inflammation est provoquée dans la membrane de Bruch. 8) la néovascularisation de Type I en découle. (Christine A Curcio, 2011, Dec.)

2. Physiopathologie de la DMLA exsudative :

A. Rôle du VEGF :

La DMLA touche la vision centrale, en effet la maladie génère une altération de la zone centrale de la rétine, nommée la macula. La forme exsudative de la maladie correspond à la prolifération anormale de nouveaux vaisseaux sanguins au sein de la rétine, plus particulièrement au sein de la choroïde. Le plus souvent, elle apparaît secondairement à une DMLA sèche. On parle donc de néo-vascularisation choroïdienne ou sous rétiniennne, la choroïde est une couche de la paroi du globe oculaire, elle se situe entre la rétine et la sclérotique. Cette néoformation de vaisseaux sanguins pathologiques est liée à la présence de facteurs de croissance appelés VEGF : *Vascular Endothelial Growth Factor*. Le VEGF joue un rôle central dans l'angiogenèse, il est sécrété par les cellules endothéliales elles-mêmes. Il a été établi que le génome humain contient cinq gènes codant pour cinq familles distinctes de VEGF nommée VEGF-A, PlGF (*Placenta Growth Factor*), VEGF-B, VEGF-C et VEGF-D. Les VEGF sont des glycoprotéines homodimériques qui se constituent de deux sous-unités de 120 à 200 acides aminés de long chacune, soit environ 40 kDa. Au total, il existe 3 types de récepteurs du VEGF : VEGF-R1, R2 et R3 (N, 2004). Ceux-ci ont différentes affinités pour les différents types de VEGF, il a pu être déterminé que le récepteur 1 du VEGF lie principalement le VEGF-A, B et le PlGF, tandis que le récepteur 2 lie majoritairement le VEGF-A et avec une affinité moindre le VEGF-C et D, qui sont principalement fixés au récepteur 3. Structurellement, les VEGF comportent huit ponts disulfures entre des résidus cystéines qui possèdent des positions précises. Les deux monomères des VEGF sont organisés de manière anti-parallèle pour former un dimère, avec la présence de récepteurs sur chaque pôle du dimère (Figure n°18). Dans le cadre de la DMLA exsudative, le principal facteur de croissance concerné dans la prolifération des néo-vaisseaux est la famille A (VEGF-A). Celle-ci contient cinq sous-types (VEGFA-121, VEGFA-145, VEGFA-165, VEGFA-189 et VEGFA-206) (De Vries C, 1992) liés à l'existence de 8 exons différents au sein du gène codant pour le VEGF-A et dont l'épissage alternatif au cours du processus de transcription en ARN messager est à l'origine de ces 5 isoformes. Pour pouvoir agir sur les cellules et induire la prolifération des cellules endothéliales, ces facteurs de croissances doivent se lier à leur récepteur.

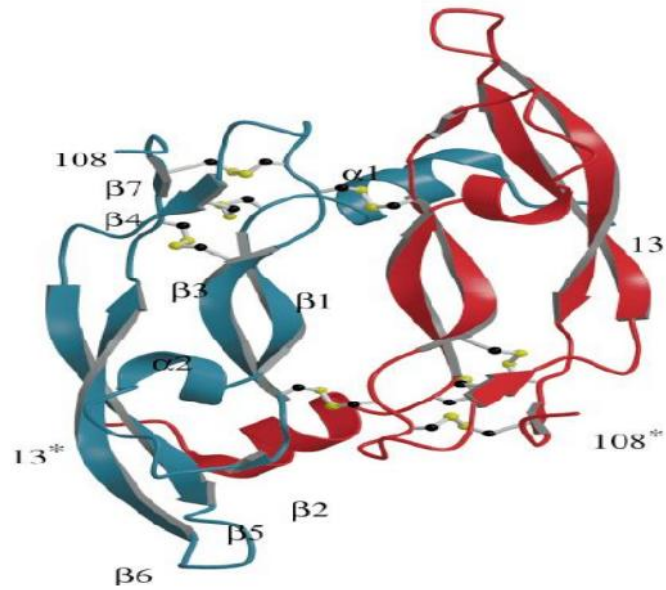


Figure n°18 : Représentation en ruban de la structure du dimère du VEGF - Un monomère est coloré en bleu et l'autre en rouge. Les ponts disulfures sont représentés par des traits blancs pour les liaisons et par des boules jaunes pour les atomes de soufre. Les éléments de la structure secondaire d'un des monomères sont nommés : $\alpha 1$ (résidus 1 à 24), S1 (27-34), $\alpha 2$ (35-39), S2 (46-48), S3 (51-58), S4 (67-69), S5 (73-83), S6 (89-99) et S7 (103- 105). Les extrémités des deux monomères sont numérotés 13 et 108 pour le monomère bleu et 13* et 108* pour le monomère rouge.

Les différents facteurs de croissance VEGF-A peuvent se lier à différents types de récepteurs VEGF-R1/Flt1 et VEGF-R2, nécessitant la présence de co-récepteur tel que la neuropilline ou les *heparan sulphate proteoglycans* (HSPGs). Ces récepteurs du VEGF font parties de la superfamille des récepteurs à tyrosine kinase. Ils se composent d'un domaine extracellulaire d'environ 750AA, organisé en 7 domaines extracellulaires de la superfamille des immunoglobulines (Figure n°19). Le domaine extracellulaire est suivi par une région transmembranaire unique, un domaine juxta-membranaire possédant une activité tyrosine kinase qui assure la transduction du signal vers le noyau (Grünewald FS, 2010).

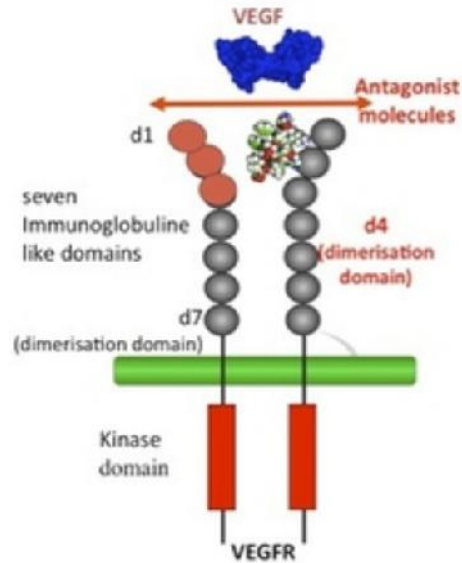


Figure n°19 : Structure moléculaire des VEGF-R – sur ce schéma, il est possible de voir que le VEGF-R se compose d'une partie intra-cellulaire possédant une activité tyrosine kinase. Et une partie extracellulaire constituée de 7 domaines, faisant partie de la superfamille des immunoglobulines (d1 à d7). Ceux-ci vont permettre la fixation du VEGF au récepteur, sauf lorsqu'une molécule antagoniste est déjà fixé sur ces domaines. (CNRS, 2011).

En ce qui concerne la DMLA, c'est le VEGF-R1 et 2 qui vont principalement expliquer le processus physiopathologique de la maladie. La liaison du ligand sur le récepteur 1 se fait grâce à l'Ig2 ; tandis que pour le VEGF-R2 cela se fait au niveau de l'Ig3. Ces récepteurs sont principalement exprimés au niveau des cellules endothéliales du réseau vasculaire. Il a été mis en évidence que l'activité de ces récepteurs à tyrosine-kinase est régulée par la disponibilité des ligands. Ces ligands sont produits en cas d'hypoxie, car le déficit en oxygène induit une stabilisation des facteurs inductibles par l'hypoxie (HIF) qui vont alors se lier spécifiquement à des promoteurs du VEGF-A et donc générer sa production. De la même manière, l'hypoxie va agir sur la production des récepteurs au VEGF de type 1. Lorsque le ligand va se fixer sur le récepteur, on va avoir une dimérisation de celui-ci, ce qui va alors permettre une autophosphorylation des récepteurs et une activation de la protéine G. La régulation négative du VEGFR-2 est réalisée par les phosphotyrosine phosphatases tel que la *Src homology Phosphatase 1* (SHP1) et la SHP2. Les récepteurs peuvent être dégradés par l'action du protéasome, qui comprend l'internalisation et la dégradation du récepteur au sein des lysosomes de la cellule. Cela nécessite l'activation de la protéine kinase C (PKC) qui est dépendante de la phosphorylation du récepteur C-terminal.

Les différents VEGF-R jouent un rôle important dans l'embryogenèse, plus particulièrement dans le développement cardiovasculaire des cellules souches hématopoïétiques et du système lymphatique.

Le VEGF-R2 joue un rôle majeur dans la néovascularisation. Lorsque le VEGF-A se fixe au niveau de son récepteur, l'activité kinase est maximale si l'autophosphorylation induite se produit au niveau de la tyrosine 1054 ou de la tyrosine 1059. Il a été montré qu'en cas de phosphorylation de la tyrosine 1175, on a activation de la phospholipase C gamma (PLC) qui génère alors une activation de la MAPK (*mitogen activated protein kinase*). Cela active alors la cascade ERK1/2 (*extracellular signal regulated kinase 1/2*) et la prolifération des cellules endothéliales. La PLC active la protéine kinase C, via la production de diacylglycérol et l'augmentation intracellulaire du calcium. Une autre voie intervenant sur la survie des cellules endothéliales est liée à la phosphorylation de la tyrosine 1175 du VEGF-R2. Suite à l'autophosphorylation, il y a fixation de Shb sur la tyrosine phosphorylée, qui va générer une activation de PI3K (phosphatidylinositol 3'kinase). La sérine/thréonine kinase AKT/PKB est alors activée, ce qui va induire la survie des cellules endothéliales. De plus, AKT/PKB régule la production d'oxyde nitrique par activation de l'endothéliale NO synthase, cela va donc jouer sur la perméabilité vasculaire. Un autre lieu de fixation important de la phosphorylation est la tyrosine 951, qui va ensuite générer l'adhésion et l'activation des cellules T adaptatrices spécifiques (TSA_d) qui jouent un rôle majeur dans la prolifération des cellules endothéliales. Le TSA_d peut réguler l'activation du Src qui est impliqué dans la perméabilité vasculaire. Le VEGFR-2 est considéré comme le principal médiateur des effets mitogéniques et prolifératifs du VEGF-A, ce qui entraîne la cascade de signalisation par phosphorylation du récepteur. Les signaux intracellulaires induits sont divers (71) :

- prolifération cellulaire par l'activation des protéines kinases ERKs (*Extracellular SignalRegulated Protein Kinases*).
- survie cellulaire. Les cellules endothéliales vasculaires des vaisseaux immatures requièrent des signaux de survie, en l'absence desquels une apoptose est induite.
- induction de la perméabilité vasculaire provoquant l'extravasation de protéines plasmatiques comme la fibrine. Il se constitue un gel de fibrine extracellulaire qui forme un substrat pour la croissance endothéliale vasculaire.
- migration cellulaire. Le VEGF lié à son récepteur induit une activation de plusieurs intégrines, ce qui augmente l'adhésion et la migration cellulaire.

Le VEGF-R1, lorsqu'il fixe le VEGF-A, est connu pour induire une réponse biologique significative concernant la migration des macrophages et monocytes, pour avoir une action sur l'hématopoïèse et sur le recrutement des cellules souches hématopoïétiques, ainsi que sur la régulation du pool de cellules endothéliales durant le développement. Dans l'embryogenèse, le VEGF-R1 jouerait un rôle de « piège » pour le VEGF-A afin de réguler la fixation du VEGF-A sur ce dernier. Le VEGF-A se lie au VEGFR-1 avec une affinité au moins 10 fois supérieure à celle pour le VEGFR-2 mais l'activité kinasique qui en résulte est inférieure (Figure n°20).

Les VEGF-R3 sont plus impliqués dans la formation du réseau lymphatique.

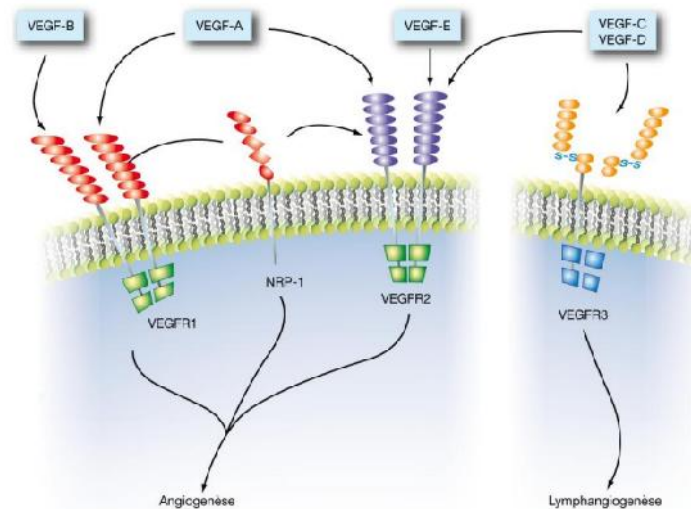


Figure n°20 : Affinité des membres de la famille du VEGF pour les récepteurs Tyrosine Kinase et les Neuropilines (NRP-1) – cette figure permet d'illustrer l'affinité des différentes chimiokines (VEGF) pour les différents récepteurs. Le VEGF-A est capable de se lier au VEGF-R1 et VEGF-R2 et NRP-1, tandis que le VEGF-B ne se lie qu'au VEGF-R1 et le VEGF-E se lie au VEGF-R2. Alors que le VEGF-C et VEGF-D se lie au VEGF-R2 et VEGF-R3. Or la liaison au VEGF-R1 et VEGF-R2 de ces facteurs de croissances induit l'angiogenèse.

Il a été mis en évidence que pour avoir une certaine homéostasie de l'angiogenèse, il y a un système qui permet de contrebalancer l'effet du VEGF (Luo L, 2013). En effet une partie soluble du récepteur VEGF-R1/Flt-1 nommée sFlt-1 va avoir pour fonction de piéger le VEGF empêchant donc l'activité néo-vasculaire sur les cellules endothéliales. Ce sFlt-1 est exprimé dans les cellules épithéliales du cristallin, ainsi que par les cellules épithéliales pigmentaires et par les photorécepteurs. Il jouerait un rôle de maintien de la non-vascularisation de la cornée et des tissus à l'extérieur de la rétine. La dégénérescence

maculaire liée à l'âge de type exsudative serait due à un défaut d'expression de ce facteur endogène anti-angiogénique sFlt-1 par les cellules photoréceptrices et par les cellules épithéliales pigmentaires. Cela engendrerait une potentialisation de l'action du VEGF sur les cellules endothéliales, et donc la prolifération de néovaisseaux au sein de la choroïde (Shibuya, 2014 Jan).

D'après les dernières découvertes scientifiques, en plus de l'hypoxie, le taux de VEGF est aussi augmenté à cause du stress oxydant et d'un dérèglement du système inflammatoire. Celui-ci engendre une production de cytokines pro-inflammatoires et de VEGF.

Il est aussi important de noter qu'en plus des facteurs de croissance vasculaire, d'autres molécules sont impliquées dans ce phénomène. En effet, l'angiogenèse dépend aussi de l'interaction contrôlée entre les cellules et la matrice extracellulaire. Ces interactions se font via les intégrines (lien entre la matrice et le cytosquelette extracellulaire) et les systèmes protéolytiques qui dégradent des constituants matriciels. Il a donc pu être prouvé que l'activation des intégrines α_3 et α_5 de la membrane cellulaire par des ligands insolubles de la matrice extracellulaire, comme la fibronectine ou la vitronectine, sont indispensables à la formation de néo-vaisseaux.

Les métalloprotéases semblent aussi jouer un rôle essentiel dans la néovascularisation. Il existe près de 25 métalloprotéases, dont certaines d'entre-elles participeraient à la libération de facteurs de croissance tel que le VEGF. Alors que d'autres auraient un effet plutôt inhibiteur en produisant des facteurs inhibiteurs de l'angiogenèse tel que l'angiostatine (fragment du plasminogène) ou encore l'endostatine (fragment du collagène XIII). Cela serait principalement lié au MMP-2 et MMP-9 pour ce qui est de la néovascularisation dans la DMLA. Il existe de manière naturelle des inhibiteurs physiologiques de l'activité catalytique des MMPs tels que l' α_2 -macroglobuline (α_2M) et les TIMPs (*Tissue Inhibitors of Metalloproteinases*). L' α_2M est l'inhibiteur des protéases le plus polyvalent du plasma. En effet, elle inhibe de manière irréversible la plupart des endopeptidases quelle que soit la classe à laquelle elles appartiennent telles que la trypsine, la plasmine, la thrombine et les MMPs... Il semble que les protéases doivent pouvoir pénétrer à l'intérieur de l' α_2M , puis elles scindent une ou plusieurs liaisons peptidiques qui provoquent une modification de conformation de l' α_2M , entraînant l'impossibilité pour la protéase de ressortir qui est alors irréversiblement piégée.

Tandis que les TIMPs sont des protéines exprimées par de très nombreux types cellulaires. Elles sont présentes dans la majorité des tissus et des fluides de l'organisme. La famille des TIMPs comprend au moins quatre isoformes chez le rat désigné sous les noms de TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3 et TIMP-4. Ces inhibiteurs partagent une forte homologie de structure (entre 37 et 51%) et chaque TIMP comporte douze cystéines formant six ponts disulfures qui organisent la molécule en deux domaines. Qui sont responsables de la formation des boucles impliquées dans la liaison avec l'enzyme. Ils forment avec les MMPs des complexes équimolaires non covalents de haute affinité. Ils régulent le taux de MMPs fonctionnelles par deux mécanismes distincts :

- en inhibant l'activité enzymatique par liaison de leurs domaines N-terminaux aux sites catalytiques des MMPs.
- en empêchant l'activation d'une pro-MMP par une autre MMP par liaison de leurs domaines C-terminaux aux domaines C-terminaux de certaines pro-MMPs. (MA., 1997)

B. L'angiogenèse au sein de la DMLA :

L'angiogenèse, ou encore néovascularisation est un mécanisme complexe qui est indispensable au développement des différents organes lors du développement du fœtus. En effet, ce mécanisme permet le développement de nouveaux vaisseaux à partir de structures endothéliales préexistantes. Cependant, ce processus reste utile tout au long de la vie, même chez l'adulte pour répondre aux besoins de l'angiogenèse physiologique. Néanmoins, il peut arriver que ce processus ne soit plus contrôlé dans certaines conditions pathologiques tels que l'inflammation, la croissance tumorale ou dans le cadre de la DMLA.

La croissance de néo-vaisseaux est régulée par un ensemble de facteurs pro-angiogéniques et anti-angiogéniques (Tableau n°2).

Tableau n°2 : liste non exhaustive des facteurs pro-angiogéniques et anti-angiogéniques (Soubrane, 2007) :

Facteurs de croissance angiogéniques :	Inhibiteurs de l'angiogenèse :
Angiopoïétine-1	2-Méthylœstradiol
-œstradiol	Angiopoïétine-2
Facteur de croissance épidermique (EGF)	Angiostatine
Facteur de croissance fibroblastique (FGF)	Antithrombine-III
Facteur de croissance hépatocytaire (HGF)	Cartilage derived inhibitor (CDI)
Facteur de croissance semblable à l'insuline	Combrestatine A4-phosphate
Intégrines	Canstatine
Interleukine-1 (IL-1)	Fragment du complément CD-59
Interleukine-8 (IL-8)	Endostatine
Leptine	Héparitinase
Metalloprotéinases (MMPs)	Human chorionic gonadotropin (hCG)
Chimiokines	Facteur dérivé de l'EPR
Facteur de croissance placentaire (PIGF)	Interféron , ,
Facteur dérivé de l'EPR (PEDF)	Interleukine 4, 12, 18
Facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGF)	Placental Ribonuclease Inhibitor
Inhibiteur de l'activateur du plasminogène (PAI-1)	Platelet factor-4 (PF-4)
TGF-	Prolactine
TNF-	Somatostatine
Activateur du plasminogène de type urokinase (u-PA) ou tissulaire (t-PA)	Inhibiteur tissulaire des MMPs (TIMPs)
Facteur de croissance endothéliale (VEGF)	Thrombospondine-1 (TSP-1)
	Tumstatine
	Vasostatine

Les cellules endothéliales vasculaires ont une importante capacité de se diviser sous l'influence de divers stimulus, tel que l'hypoxie. L'hypoxie va engendrer l'expression d'un grand nombre de gènes impliqués dans l'apport d'oxygène, donc le VEGF, les facteurs de croissance placentaires PIGF, PDGF- , FGF-2 et l'angiopoïétine 2.

L'étape initiale du processus de l'angiogenèse c'est donc l'hypoxie tissulaire, qui induit l'expression des gènes pro-angiogéniques. Cela est rendu possible par la liaison du facteur de transcription HIF-1 (hypoxia induce factor 1) à un élément de réponse à l'hypoxie le HRE

(*hypoxia responsive element*) situé sur le promoteur des gènes cibles. En condition d'hypoxie on a accumulation de la sous unité HIF-1 dans le noyau cellulaire ; cela va alors aboutir à l'activation des gènes porteurs de la séquence HER, et donc par conséquence à une néovascularisation. Il a pu être mis en évidence que ce phénomène est particulièrement actif pour le VEGF, car après fixation de l'HIF-1, le taux de VEGF est multiplié par trente en quelques minutes.

Des études récentes, ont montré que la DMLA est associé à un processus inflammatoire important, qui inclus des complexes immuns, l'activation du complément et l'infiltration de macrophages. Ces macrophages vont participer à la dégradation de la couche externe du collagène où la membrane de Bruch est amincie, ce qui va donc faciliter la pénétration des néovaisseaux. Le complément est donc un facteur de risque génétique dans la DMLA, car il favorise la progression des néo-vaisseaux par activation des macrophages.

Au cours de la néovascularisation, il a été démontré expérimentalement que ce processus s'accompagne de nombreuses réactions cellulaires et moléculaires. Par immunohistochimie, des comptages montrent que les cellules de ces néovaisseaux se composent à 20% de macrophages, 25% de cellules endothéliales, 11% de cellules musculaire lisse et 12% par des cellules de l'épithélium pigmentaire ; parmi les 32% restant aucune cellule n'exprimerait des marqueurs d'origine endothéliale ou inflammatoire ou dérivés de l'épithélium pigmentaire. Il a pu être mis en évidence que les polynucléaires neutrophiles sont les principaux leucocytes infiltrant lors de la réaction, ceux-ci vont alors induire une réaction inflammatoire et la libération de facteurs pro-angiogéniques, dont le VEGF. Les neutrophiles sont présents principalement au cours des 3 premiers jours au niveau des lésions induisant une néovascularisation. Il a aussi pu être mis en évidence que chez les souris neutropéniques, que le taux de VEGF est nettement diminué. (Shao Z, 2013)

Dans le modèle classique de l'angiogenèse, les cellules endothéliales sont recrutées à partir des capillaires préexistant du voisinage. Cependant, des études récentes montrent que des précurseurs circulants des cellules endothéliales peuvent contribuer à l'angiogenèse dans les tissus adultes. Cela reproduit à l'identique la vasculogenèse qui se déroule au cours de la période embryonnaire. Ce serait sous l'influence de chimiokines, tel que le SDF-1, qui favorise l'adressage des précurseurs circulants. On distingue plusieurs types de cellules souches, en particulier les cellules souches multipotentes dont les cellules hématopoïétiques de la moelle osseuse et du sang du cordon ombilical. Ces cellules sont hébergées dans les tissus fœtaux ou adultes, bien qu'elles soient déjà engagées dans un programme tissulaire spécifique, elles conservent leurs capacités de renouvellement et peuvent donner naissance à

de nombreux types cellulaires différents. Les cellules souches hématopoïétiques peuvent donc former des cellules endothéliales, et peuvent donc participer à la néovascularisation. Elles ne sont pas obligées de se différencier en cellules endothéliales pour participer à ce processus, en effet elles peuvent aussi devenir des cellules musculaires lisses, des macrophages, en astrocytes... Ces cellules multipotentes ont également la capacité de se fixer au niveau des lésions de l'épithélium pigmentaire, ce qui engendre la néovascularisation.

Une étude récente montre que les macrophages jouent un rôle prédominant dans le développement de la néovascularisation. En effet les macrophages infiltrants sont présents en grande quantité au niveau de la microglie présente dans les lésions choroïdienne. La concentration important en macrophages au niveau de ces lésions, pourrait s'expliquer par la sécrétion d'une chimiokine : MCP-1/CCL-2. Les macrophages joueraient donc un rôle fondamental dans l'initiation des lésions de la choroïde et plus particulièrement dans la néovascularisation (Rutar M, 2016).

Il y a trois mécanismes principaux qui interviennent dans la néovascularisation :

- Le *sprouting* ou bourgeonnement (Figure n°21). Léonard de Vinci avait émis une hypothèse par analogie sur le développement du cœur et du réseau vasculaire. Il suggère que le réseau vasculaire se développe comme un arbre à partir d'une graine (cœur) par germination (*sprouting*) des racines (artères). L'angiogenèse par *sprouting* a été le premier mécanisme identifié. Au cours du *sprouting*, les cellules endothéliales sont tout d'abord activées par fixation des facteurs de croissance sur les récepteurs présents au sein de la membrane de ces cellules. La libération d'enzymes et de protéases va induire la dégradation de la membrane basale et de la matrice extracellulaire. Il s'en suit alors une phase de migration orientée des cellules endothéliales à l'aide de molécules d'adhésion nommés intégrines, puis il y a prolifération cellulaire au sein de la matrice. Enfin, les cellules endothéliales s'organisent par différenciation et polarisation, en structures tubulaires avec une nouvelle lame basale. Certains de ces néovaisseaux peuvent se fixer aux vaisseaux préexistants et établir une continuité avec leur lumière. Afin de stabiliser ces néovaisseaux immatures, les cellules endothéliales vont induire la mise en place de la paroi vasculaire et la matrice extracellulaire va se régénérer. Ce procédé est contrôlé par une balance de facteurs pro- et antiangiogéniques. (P. C. , 2003)

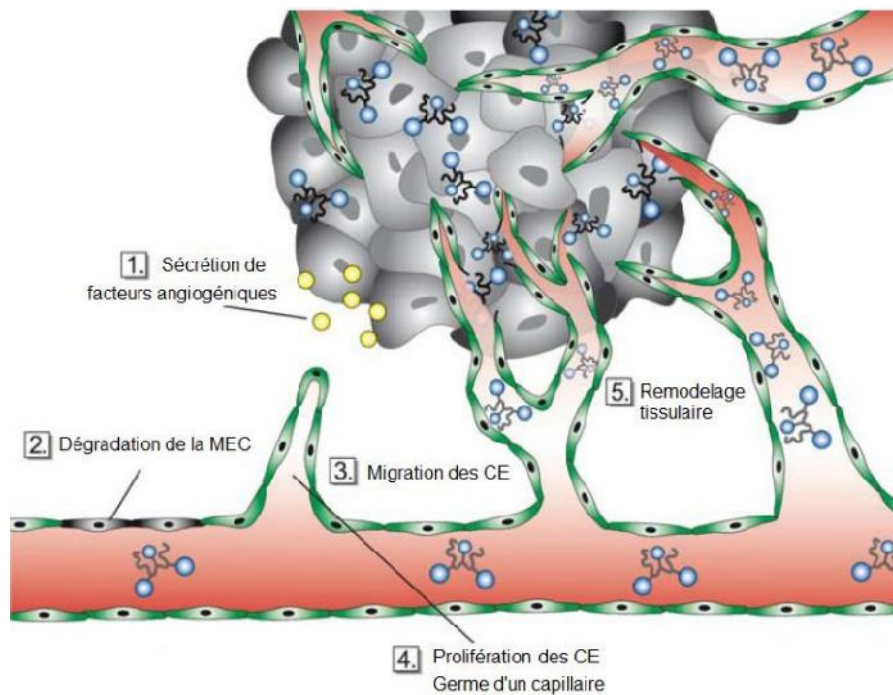


Figure n°21 : Étapes principales de l'angiogénèse par bourgeonnement – *Lors de l'angiogénèse, on a sécrétion de facteurs angiogéniques (VEGF..), cela induit alors une dégradation de la matrice extracellulaire, il se produit alors une migration des cellules endothéliales vasculaires. Cette migration induit la prolifération d'un nouveau capillaire. Puis intervient le remodelage tissulaire.*

- L'intussusception : en physiologie, cela désigne le mode d'accroissement d'un organisme ou d'une cellule vivante, par la pénétration et l'incorporation de matériaux et/ou d'éléments nutritifs empruntés au monde extérieur (Figure n°22). Contrairement à l'angiogénèse par bourgeonnement qui est un mécanisme bien défini, l'angiogénèse par intussusception (*splitting*) est un concept relativement récent, découvert de manière fortuite par Peter H. Burri et son équipe en 1990 alors qu'ils travaillaient sur la transformation du réseau capillaire dans les poumons chez le rat et l'humain. Elle se caractérise par un élargissement et une séparation (*split*) des vaisseaux déjà formés. Elle ne nécessite pas une prolifération importante des cellules endothéliales mais plutôt un réarrangement des structures préformées. Elle se décompose en quatre étapes. Tout d'abord, les parois des deux capillaires opposés entrent en contact et forment un pont inter-endothélial d'environ 1 μm de diamètre. Il s'ensuit une réorganisation des jonctions intercellulaires de l'endothélium avec une perforation centrale de la bicouche endothéliale pour permettre aux facteurs de croissance et aux cellules de pénétrer dans le lumen. Puis, un cœur interstitiel appelé pilier est formé entre les deux nouveaux vaisseaux au niveau de la zone de contact qui est envahie par les péricytes et les

myofibroblastes. Enfin, ces cellules se déposent en fibres de collagène afin de fournir une matrice extracellulaire pour le grossissement des capillaires sans qu'elles changent de structure. Ce mécanisme angiogénique prédomine par exemple dans les poumons qui contiennent des précurseurs endothéliaux intrinsèques qui sont initialement vascularisés par vasculogénèse. (Burri PH, 2002)

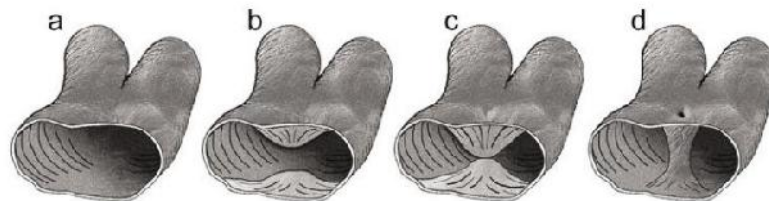


Figure n°22 : Étapes principales de l'angiogenèse par intussusception - *Le procédé commence par l'avancée des deux parois opposées du lumen (a-b). Après que le contact ait été établi (c), la bicouche endothéliale est perforée et un pilier est formé (d).* (Haymo Kurz, 1 April 2003)

- La septation : ce phénomène s'expliquerait par le fait que des cellules endothéliales pousseraient à l'intérieur des vaisseaux préexistants, ce qui formerait alors de nouveaux canaux vasculaires séparés.

C. Pathogénie de la DMLA exsudative :

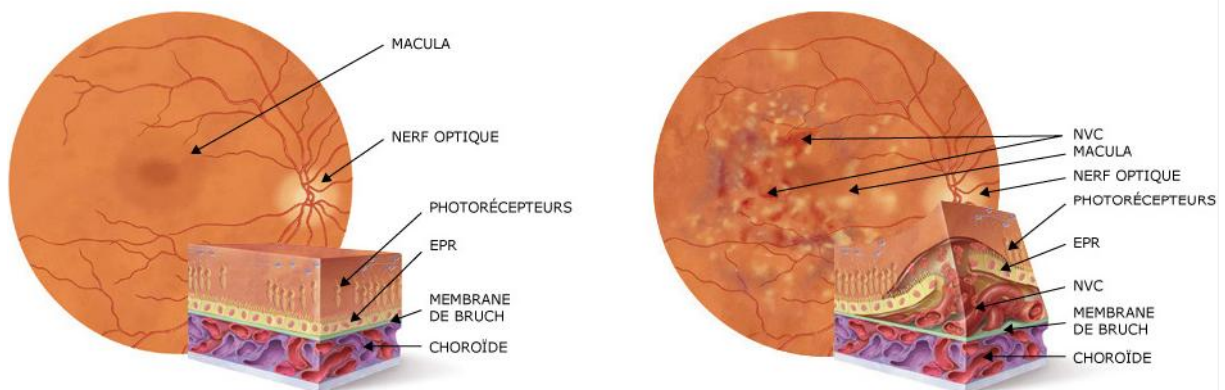


Figure n°23 : Physiopathologie de la DMLA exsudative – *Dans la figure de gauche, on peut voir la structure normale de la paroi du globe oculaire. Elle se compose de la choroïde (partie la plus externe), en contact étroit avec la membrane de Bruch. Au-dessus se trouve l'épithélium rétinien membranaire (EPR) et les photorécepteurs. Dans la figure de droite, on peut voir la paroi oculaire d'une personne atteinte de la DMLA exsudative. La choroïde prolifère de manière anormale entre la membrane de Bruch et l'épithélium rétinien pigmentaire (EPR), c'est la néovascularisation choroïdienne (NVC). Cela engendre une altération structurelle de l'EPR et par conséquent, une altération structurelle des photorécepteurs.* (Liege, 2009)

Comme nous l'avons vu précédemment, la DMLA exsudative a pour origine la DMLA sèche, donc dans un premier temps au cours du processus physiopathologique, il y a la formation de drusens, liée à différents dépôts de lipides, protéines, glycoprotéines qui vont s'accumuler et altérer la perméabilité de la membrane de Bruch. Cela induit, une hypoxie au niveau des cellules de l'épithélium pigmentaire rétinien, mais aussi une réaction du système immunitaire et donc une prolifération de macrophages et de monocytes, qui sécrètent des facteurs pro-angiogéniques.

Il y a donc une néovascularisation qui se produit au niveau de la choroïde, ce qui peut induire un décollement de l'épithélium pigmentaire, c'est-à-dire un clivage entre la membrane basale de l'épithélium pigmentaire et la couche de collagène interne de la membrane de Bruch (Figure n°23).

L'apparition d'œdèmes engendre alors une déstabilisation des cellules épithéliales pigmentaires de la rétine. Ce phénomène est responsable d'un décollement de cette couche cellulaire, et lorsque ce décollement devient trop important, il est possible que la couche cellulaire épithéliale pigmentaire finisse par se déchirer.

Par contiguïté, les photorécepteurs présents à la surface de la couche épithéliale pigmentaire vont à leur tour subir ces différents phénomènes pathologiques, et être déstabilisés. Ce qui engendre alors une altération de la vision centrale importante.

Ce phénomène d'œdèmes et de déchirures de la couche épithéliale pigmentaire de la rétine peut se compliquer de déchirures au sein de la néovascularisation, car celle-ci étant formée de manière rapide, cette vascularisation est peu solide, de plus leur paroi est hyper-perméable. Dans le cas, d'une rupture des néo-vaisseaux, on aura une hémorragie intra-rétinienne ou sous rétinienne, ce qui aggrave le pronostic de cette pathologie car ces petits saignements vont laisser des traces cicatricielles sur la rétine, et détruisent progressivement la macula.

En ce qui concerne la DMLA exsudative, il a été mis en évidence qu'un défaut de remplissage choroïdien induit des altérations fonctionnelles. L'altération du débit sanguin au niveau de la circulation choroïdienne rétro-fovéale contribuerait également au processus de néovascularisation caractéristique de la DMLA exsudative. En effet, il a été mis en évidence que l'ischémie de la choroïde joue un rôle fondamentale dans le développement de néo-vaisseaux (Grunwald 2005). Ce développement néovasculaire pourrait s'expliquer par la libération de médiateurs de la néovascularisation par les cellules endothéliales en raison de l'ischémie. Il est probablement la conséquence des modifications du métabolisme des couches adjacentes externes de la rétine, suite à la baisse du débit choroïdien.

En raison de la présence des drusens, qui augmentent l'épaisseur de la membrane de Bruch et diminuent la perméabilité. On a une augmentation de la distance de diffusion entre les choriocapillaires et les photorécepteurs. S'ajoute à ça, une baisse du débit de la choroïde, ce qui va favoriser l'hypoxie tissulaire. Or cela représente un stimulus essentiel à la libération par les cellules endothéliales, des facteurs vaso-prolifératifs. Une rupture d'équilibre se produit alors, entre les facteurs d'inhibition (PEDF : facteur dérivés de l'épithélium pigmentaire) et les facteurs vasoprolifératifs (VEGF). Ce qui induit la prolifération de vaisseaux anormaux à partir des choriocapillaires, ceux-ci prolifèrent sous l'épithélium pigmentaire rétinien, au sein des interstices de la membrane de Bruch et progressent par la suite dans l'espace sous rétinien entre l'épithélium pigmentaire et les photorécepteurs.

Dans la forme néovasculaire, l'adaptation des résistances tissulaires est limitée, il y a donc une élévation du débit sanguin par élévation de la pression sanguine au niveau de ces néo-vaisseaux. En raison de cette pression importante et de la genèse récente de ces vaisseaux, ceux-ci finissent par céder, ce qui peut générer des extravasations du contenu vasculaire et donc engendrer les lésions typiques de cette forme : hémorragie, exsudats...

IV. Facteurs de risques de DMLA :

1. Facteurs de risques constitutionnels :

A. L'âge :

Le plus grand facteur de risque de cette pathologie est l'âge. Au cours du processus physiopathologique naturel il y a apparition de drusens au sein de la rétine, d'une altération naturelle du mécanisme physiologique des mitochondries, ce qui augmente le stress oxydatif. Il a donc été mis en évidence au cours de différentes études que cela représente le principal facteur de risque de DMLA. La prévalence de la DMLA augmente exponentiellement avec l'âge, elle touche 1% de la population caucasienne avant 60 ans, alors qu'après 75 ans cela représente 3,5% de la population. De plus, il a été établi que la DMLA touche près 10% des plus de 90 ans.

Selon l'étude EUREYE menée dans 7 pays européens, la prévalence de la DMLA dans cette population est de 3,3% chez le plus de 65 ans, avec un rapport de 2 formes exsudatives pour 1 forme atrophique (néanmoins les formes mixte étaient considérées comme exsudative). (Soubrane, 2007)

B. Sexe :

Du point de vue du genre, certaines études ont montré que la DMLA serait plus présente chez la femme que chez l'homme. Ce résultat peut être biaisé du fait que les femmes ont une espérance de vie supérieure à celle des hommes. En effet la prévalence de la DMLA augmentant de manière exponentielle en fonction de l'âge. Une des explications plausibles à cette différence de prévalence pourrait être la perte de l'effet protecteur des œstrogènes contre l'athérosclérose après la ménopause. Néanmoins, à ce jour, nous avons peu de données pour affirmer ou infirmer cette hypothèse.

C. L'origine ethnique :

En ce qui concerne l'origine ethnique, il a été montré que le risque de développer une DMLA est plus important dans les populations blanches (5,4%) que dans les populations noires (2,4%). Parmi les populations blanches, il est plus rare de développer des drusens chez les japonais (4,6%) et chez les hispaniques (4,2%) (Etude MESA : Diana E. Fisher B. E., 2016). Ces différences entre couleur de peau, peuvent s'expliquer par des facteurs génétiques, mais aussi par des différences de concentrations en mélanine au niveau de la choroïde. Pour ce qui est du moindre développement de drusens, chez les japonais, cela pourrait être lié à une forte consommation de saumon et donc d'oméga-3, tel que la DHA.

D. La couleur de l'iris :

Il a été montré que la couleur de l'iris peut jouer sur la protection de la rétine. En effet les yeux de couleurs foncées stockeraient mieux le zinc dans la choroïde. Ce qui protégerait mieux la rétine vis-à-vis des dommages que peut engendrer l'exposition à la lumière bleue.

2. Facteurs de risques environnementaux :

A. Le stress oxydatif :

Bien que l'oxygène soit un élément indispensable à la vie, il peut être néfaste via des réactions d'oxydation, qui vont altérer les tissus. Ce phénomène contribue à la sénescence des tissus et au développement des maladies liées au vieillissement.

La rétine est un organe très sensible au stress oxydatif, elle présente plusieurs caractéristiques qui la rendent vulnérable aux réactions d'oxydation :

- La pression partielle en oxygène est élevée au niveau de l'épithélium pigmentaire : 50 à 70 mmHg
- La rétine est riche en acides gras polyinsaturés, qui sont des substrats idéaux pour les réactions d'oxydation.
- La rétine contient de nombreux chromophores. Ce sont des groupements d'atomes qui comportent une alternance de doubles et simples liaisons. Ils sont modifiés structurellement lors de l'absorption d'un photon. Ce qui va permettre la libération de glutamate par le photorécepteur et générer l'influx nerveux. Mais ces chromophores,

produisent des espèces réactives de l'oxygène, lorsqu'ils sont exposés à la lumière visible.

Or l'exposition prolongée à des espèces réactives de l'oxygène peut engendrer des dommages biomoléculaires, pouvant se traduire par une mort cellulaire. Cependant il existe des réactions antioxydantes enzymatiques ou non, pour diminuer les dommages liés à ces espèces réactives de l'oxygène. De même, qu'il existe des mécanismes de réparation et d'élimination cellulaire (Figure n°24).

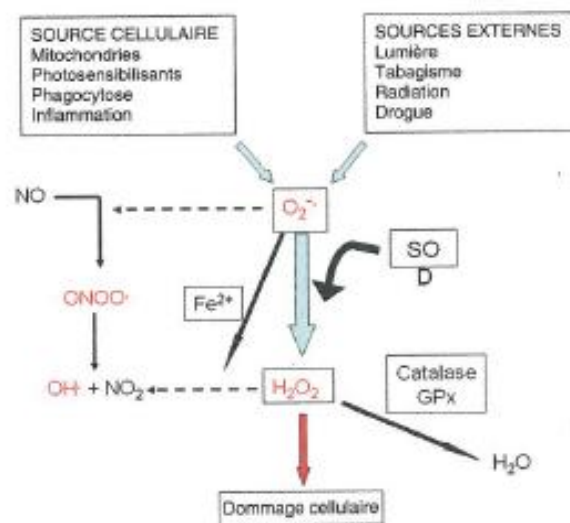


Figure n°24 : Génération des espèces oxygénées réactives et défenses anti-oxydantes – O_2^- anion superoxyde, NO monoxyde d'azote, H_2O_2 peroxyde d'hydrogène, OH^\cdot radical hydroxyle, $ONOO^\cdot$ peroxynitrite, Fe^{2+} ion ferreux, SOD superoxyde dismutase, GPx glutathion peroxydase. (Soubrane, 2007).

Parmi les espèces réactives de l'oxygène, il y a les radicaux libres. Ce sont des composés chimiques qui contiennent un ou plusieurs électrons. Les agents fortement oxydants sont le peroxyde d'hydrogène et molécules oxygénées à niveau énergétique élevé. Ils peuvent endommager par oxydation les acides nucléiques, les lipides et les protéines. De manière plus précise, on compte au sein des espèces réactives de l'oxygène : l'anion superoxyde (O_2^-), le radical hydroxyle (OH^\cdot), le monoxyde d'azote (NO), les radicaux peroxydes lipidiques et l'anion peroxynitrite. Ils proviennent pour la plupart de la respiration cellulaire, en effet les mitochondries libèrent des électrons lors du cycle respiratoire, ce qui va favoriser la production d'espèces réactives de l'oxygène. Ces électrons libérés altèrent les enzymes mitochondriales ce qui forme alors des espèces encore plus réactives à l'oxygène tel que les radicaux hydroxyles ; par réaction de Fenton. Les espèces réactives à l'oxygène peuvent

réagir avec les lipides et les protéines pour former des peroxydes lipidiques. Une seconde voie de peroxydation lipidique existe au niveau des cellules, cela passe par le monoxyde d'azote (NO) qui est synthétisé à partir d'une enzyme qui convertit la L-arginine en citrulline en libérant du monoxyde d'azote. Ce dernier peut alors se combiner à l'anion superoxyde pour former le peroxyde d'azote, qui est une espèce réactive de l'oxygène pouvant engendrer la peroxydation lipidique. Quel que soit le composé initiateur, la peroxydation conduit à la formation de peroxydes susceptibles de propager l'oxydation des lipides par réaction en chaîne.

En plus des espèces réactives de l'oxygène détaillées plus haut, il y a également la présence importante d'oxygène singulet dans l'ensemble des cellules, et plus particulièrement dans les cellules de la rétine. Cet oxygène singulet est produit par voie photochimique majoritairement au sein de ces cellules, car elles sont fortement exposées à la lumière. Cela se produit par transfert d'énergie des molécules photosensibilisantes à l'oxygène, ce qui met l'oxygène dans cet état excité. L'oxygène singulet peut alors former des espèces réactives de l'oxygène, tel que l'anion superoxyde.

La formation d'espèces réactives de l'oxygène est un processus physiologique normal, qui est compensé par l'organisme via les antioxydants et les différents mécanismes de réparation cellulaires mis en place. Néanmoins le stress cellulaire peut augmenter la synthèse de ces espèces réactives de l'oxygène, les capacités anti-oxydantes des cellules sont alors dépassées. Ce qui conduit à l'accumulation de molécules altérées, en particulier au sein des cellules de l'épithélium pigmentaire, ce qui finit par conduire à l'altération de ces cellules.

La phagocytose quotidienne des segments externes des photorécepteurs induit la production d'espèces réactives de l'oxygène.

L'ensemble de ces processus contribuent au vieillissement physiologique normal de la rétine, mais en cas de stress oxydatif important il est possible que l'on entre dans un processus pathologique générant une altération de la vision.

Au sein de chaque cellule, il existe différents mécanismes qui permettent de diminuer l'effet néfaste des espèces réactives de l'oxygène. La résistance à l'oxydation peut se faire par l'activation des systèmes antioxydants ou par le biais de systèmes de réparation. Ils vont permettre de réparer ou éliminer les molécules endommagées par l'oxydation.

Un antioxydant est une substance, qui a une faible concentration, comparée à celle du substrat oxydable. Il permet de diminuer ou de prévenir l'oxydation de ce substrat. Deux types d'antioxydants existent les enzymatiques et les non enzymatiques. Les antioxydants

enzymatiques sont principalement les superoxydes dismutases, la catalase et les glutathion peroxydases. Tout d'abord les superoxydes dismutases sont des enzymes présentes dans l'ensemble des cellules de l'organisme. Elles permettent de réaliser la réaction chimique suivante, via l'activité catalytique du cuivre et du zinc (cytosol) ou encore du manganèse (mitochondrie) :



L'action des dismutases entraîne donc la production d'eau oxygénée et d'oxygène. Or l'eau oxygénée est un précurseur du radical hydroxyle produit par la réaction de Fenton. Il faut que cette substance soit rapidement éliminée par la cellule pour éviter sa toxicité. Cette détoxification se fait par l'action de la catalase : $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$, qui se trouve dans le cytosol et les péroxysomes des cellules; et de la glutathion peroxydase : $\text{H}_2\text{O}_2 + 2\text{GSH} \rightarrow \text{GSSG} + 2\text{H}_2\text{O}$, dont l'action peut être dépendante ou non du sélénium.

En plus des antioxydants enzymatiques, les défenses contre les espèces réactives de l'oxygène dépendent de l'apport alimentaire d'antioxydants tel que l'acide ascorbique (vitamine C), l'alpha-tocophérol (vitamine E) et les caroténoïdes. La vitamine C va agir comme réducteur vis-à-vis des espèces réactives de l'oxygène telles que le radical hydroxyle, l'anion superoxyde et les radicaux peroxydes. La vitamine E, qui se trouve principalement dans les membranes cellulaires joue un rôle d'inhibiteur de la peroxydation lipidique. Tandis que les caroténoïdes tel que la zéaxanthine et la lutéine vont agir sur les singulets de l'oxygène. Une synergie d'action existe entre les antioxydants alimentaires que sont la zéaxanthine, l'acide ascorbique et l'alpha-tocophérol vis-à-vis des espèces réactives de l'oxygène. C'est-à-dire qu'ils sont plus efficace lorsqu'ils sont présents ensemble au sein des cellules. Une supplémentation en antioxydants alimentaires peut être nécessaire parfois, mais il ne faut pas que celle-ci soit trop importante, car cela peut engendrer une action pro-oxydante de ces composés.

Malgré ces systèmes de défenses, certaines espèces réactives de l'oxygène peuvent échapper à leur action et altérer les protéines, les lipides et l'ADN cellulaire. Les protéines oxydées vont être éliminées par dégradation via le protéasome ou par les lysosomes. En cas d'altération de l'ADN, un système d'excision des bases oxydées se met en place au sein des cellules, afin de restaurer de manière plus importante l'ADN nucléaire que l'ADN mitochondriale. Cela montre le rôle important des mitochondries au sein du vieillissement cellulaire.

Dans le cadre d'une DMLA, les concentrations sériques de la glutathion réductases, de la glutathion peroxydase et de la superoxyde dismutase diminuent. Tout comme des enzymes

essentielles à la dégradation des espèces réactives de l'oxygène, ainsi qu'une baisse de la concentration en vitamine E. Cela s'ajoute à la baisse naturelle du taux de glutathion, d'acide ascorbique et d'alpha-tocophérol plasmatique, liés au processus physiologique de vieillissement. Donc les fonctions antioxydantes de la neurorétine et de l'épithélium pigmentaire diminuent avec l'âge, et encore plus en cas de DMLA. Une baisse de l'efficacité de ces enzymes est également notable. L'échappement des espèces réactives de l'oxygène à la détoxification et la baisse des systèmes de défenses naturels contribue à une lente élaboration de lésions moléculaires, qui vont se manifester au sein des yeux du sujet âgés sous forme d'une dégénérescence maculaire.

Au sein de la rétine, comme dans l'ensemble des cellules du corps, les espèces réactives de l'oxygène sont formées à partir de l'oxygène et de la lumière. Car ces facteurs vont favoriser la formation photochimique d'espèces réactives de l'oxygène. Dans la rétine, c'est principalement lié à différents chromophores qui vont interagir avec la lumière, que sont principalement : la vitamine A, la lipofuscine, la mélanine, les flavines, la porphyrine et les caroténoïdes.

B. Le Tabac, et les antécédents de Tabagisme :

De nombreuses études épidémiologiques montrent une corrélation entre le fait d'avoir fumé ou de continuer à fumer, et le fait d'avoir une DMLA. La plupart des études montrent que le tabac multiplie le risque de faire une DMLA par 2 ou 3 par rapport aux non-fumeurs.

Selon l'étude EUREYE de 2007, sur une population de 2260 personnes près de 158 cas de DMLA se sont déclarés, avec un odds ratio de faire une DMLA exsudative de 2,6 chez les fumeurs et un risque de faire une DMLA atrophique de 4,8 dans cette même population. Alors que chez les anciens fumeurs, le risque de faire une DMLA n'est que de 1,7.

Enfin dans l'étude *Blue Mountains Study* de 2002, il a été mis en évidence que le fait de fumer engendre un développement de la DMLA, à un âge plus précoce que chez les non-fumeurs. Et que celui-ci est en moyenne abaissé de 10 ans. L'âge moyen d'entrée dans la DMLA est de 67 ans chez les fumeurs contre 77 ans chez les non-fumeurs (Gopinath B, 2010).

Aujourd'hui, il est donc prouvé que le tabac contribue à la forme exsudative de la DMLA, cependant sa participation à la forme atrophique reste incertaine. Quatre hypothèses sont défendues par les scientifiques pour expliquer le rôle du tabac dans la DMLA :

- le risque de DMLA pourrait être lié aux effets du tabac sur le flux sanguin.

- les produits formés dans les fumées de tabac pourraient stimuler l'angiogénèse.
- le tabac augmente le stress oxydant en provoquant la formation d'espèces réactives de l'oxygène et en diminuant le taux d'antioxydants.
- le tabac serait responsable d'une réduction de l'épaisseur de la choroïde.

Les mécanismes de contribution du tabac à l'apparition d'une DMLA, ne sont pas encore totalement élucidés. Néanmoins des arguments permettent de soutenir l'hypothèse selon laquelle le tabac agit via un stress oxydant au sein de cette pathogénésie. La fumée de cigarette est formée de près de 4700 composés chimiques. Dans la phase gazeuse, il a pu être mis en évidence 10^{15} molécules d'espèces réactives de l'oxygène. En effet, les goudrons contiennent des radicaux organiques qui réagissent avec l'oxygène pour former des anions superoxydes et des radicaux hydroxyles. Il a été démontré lors de différentes études, dont celle de Bamonti en 2006, que le sérum des fumeurs présente des modifications importantes dues à l'oxydation, avec une élévation des marqueurs de la peroxydation lipidique et des protéines oxydés. Cependant, leur taux a tendance à diminuer à l'arrêt du tabac.

De plus, il a aussi été mis en évidence que le taux plasmatique en antioxydants des fumeurs est diminué par rapport à celui des non-fumeurs. Chez le fumeur, il y a donc une diminution des concentrations sériques en caroténoïde (lutéine, zéaxanthine). De même, pour les concentrations en vitamine C, en sélénium, en zinc et en vitamine E. Cependant il faut noter que ces taux peuvent aussi varier en fonction de l'alimentation des personnes (étude de Galan en 2005).

Chez le fumeur, il a aussi été constaté une altération des mitochondries, qui affecte leur ADN, pouvant engendrer des lésions au niveau des mitochondries présentes dans la rétine et donc augmentée la formation d'espèces réactives de l'oxygène.

Selon l'étude de Seddon en 2006, la consommation de cigarette est corrélée avec l'expression de médiateurs pro-inflammatoires comme la protéine C, la prostagladine F2alpha, l'IL-6. En raison des dernières découvertes montrant que la DMLA est associée à plus de 50% à un polymorphisme génétique du facteur H du complément. Il a donc été soumis lors de cette étude que la présence de ce gène associée à un mode de vie, tel que le tabagisme, augmente significativement le risque d'avoir une DMLA, comparativement à chacun des facteurs pris séparément.

Enfin, il est possible que le stress oxydant que génère le tabac, puisse avoir un effet délétère sur les précurseurs endothéliaux circulants qui sont associés à la DMLA. Cela serait dû à la diminution du taux de monoxyde d'azote après la prise d'une cigarette. Car le NO est un

régulateur important de la mobilisation est du recrutement des précurseurs endothéliaux dans la rétine.

Des études récentes montrent que le tabac diminuerait l'épaisseur de la choroïde, ce qui pourrait aussi majorer le risque de DMLA. Car il a été montré que l'épaisseur de la choroïde était diminuée chez les malades. L'étude Sigler (Sigler EJ, 2014) a montré que l'épaisseur de la choroïde fluctue en fonction de l'exposition ou non à la cigarette. Au cours de cette étude, les scientifiques ont recueilli leurs données à partir d'un panel de patients sélectionnées en fonction de plusieurs critères. 147 patients ont été intégrés dont 38 ayant des drusens, 60 patients avec une DMLA atrophique précoce et 49 patients sains. Cette étude consistait à mesurer l'épaisseur de la choroïde de chacun des patients, afin de calculer l'épaisseur moyenne de celle-ci par catégorie de patient (E J Sigler, 2014). Les résultats furent les suivants (Figure n°25):

Photographic and optical coherence tomography characteristics by group and smoking history in patients undergoing macular choroidal thickness evaluation^a

Group (n=147)	Soft drusen >125 μ m	Subretinal drusenoid deposits	Pigmentary abnormality	Mean age (years) ^b	Mean spherical refraction (diopters) ^b	Mean macular choroidal thickness (μ m)	Mean pack-years ^b
Normal (n=49)	0	0	0	77 \pm 6.5	0.02 \pm 0.23	235 \pm 49	—
Smoker (n=18)							14.5 \pm 9.6
Nonsmoker (n=31)							0
Drusen (n=38)	38	0	0	77 \pm 6.2	0.03 \pm 0.41	161 \pm 39 ^c	—
Smoker (n=15)	15						16 \pm 13
Nonsmoker (n=23)	23						0
AMD (n=60)	60	42	60	79 \pm 7.1	0.05 \pm 0.32	115 \pm 40 ^d	—
Smoker (n=34)	34	29	34				18 \pm 16
Nonsmoker (n=26)	26	13	26				0

Figure n°25 : Résultats de l'étude portant sur la relation entre le tabac et l'épaisseur de la choroïde – chez des patients d'une moyenne d'âge indentique, il est possible de constater que les mesures obtenues par OCT montrent que l'épaisseur moyenne diminue en fonction de la présence d'un pathologie ou non. (E J Sigler, 2014)

L'étude a mis en évidence que dans l'ensemble des patients, l'épaisseur de la choroïde chez les patients ayant des antécédents de fumeurs ($148\pm 63\mu\text{m}$), est significativement plus fine que chez les non-fumeurs ($181\pm 65\mu\text{m}$). Pour les patients présentant des drusens, l'épaisseur de la choroïde est significativement plus fine, en cas d'antécédents de cigarette ($121\pm 41\mu\text{m}$), par rapport aux non-fumeurs ($146\pm 46\mu\text{m}$).

Il a été prouvé au cours de cette étude que l'épaisseur de la choroïde est fonction de la consommation journalière de cigarettes, et donc du nombre de paquets années (Figure n°26).

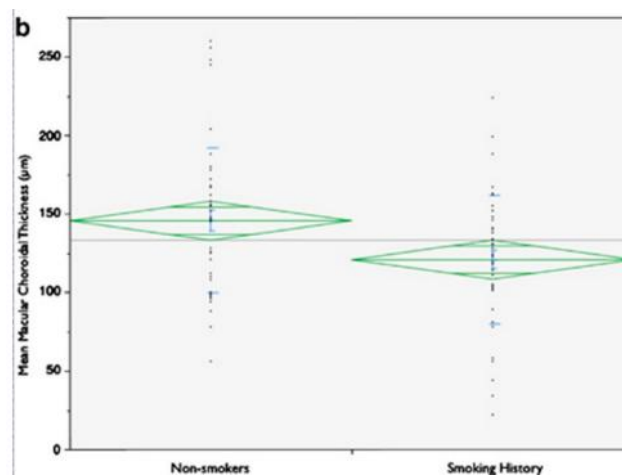


Figure n°26 : Graphique illustrant l'épaisseur choroïdienne moyenne chez les fumeurs (ou ancien) et les non-fumeurs atteints de DMLA – chez les personnes ayant fumé, l'épaisseur de la choroïde est moins importante que chez les non fumeurs, favorisant la pathogénie de la DMLA. (E J Sigler, 2014)

Pour toutes ces raisons, il a pu être établi que le tabac représente un important facteur de risque dans cette pathologie. Il est essentiel de prévenir les fumeurs de ce risque, car c'est l'un des seuls facteurs de risque évitable. Les personnes fumant au moins 20 cigarettes par jour, sont 2 à 3 fois plus à risque de développer une DMLA.

C. L'hypertension artérielle et les accidents cardiovasculaires :

Différentes études ont montré que l'hypertension artérielle est significativement associée à un risque accru de développer une DMLA. Dans l'étude AREDS, une association significative a pu être faite entre le développement d'une DMLA exsudative (stade 3 et 5) et l'hypertension artérielle avec des risques relatifs. En effet, un risque relatif de 1,19 (1,03-1,38)

a pu être établi pour le stade 3 de la DMLA, et de 1,45 (1,20-1,76) pour le stade 5 de la DMLA.

Dans une seconde étude, intitulée *Los Angeles Latino Eye Study*, l'hypertension artérielle diastolique est associée avec un risque d'avoir une DMLA exsudative, qui est multiplié par 3 ($p=0,02$), après appariement pour le sexe, l'âge et le statut par rapport au tabac. Elle a révélé aussi qu'une augmentation de 10 mmHg de la pression artérielle diastolique engendre une multiplication par 2 du risque de développer une DMLA. Cette étude retrouve aussi une association significative entre tension artérielle diastolique supérieure ou égale à 85 mmHg et la présence de drusens séreux confluent, avec un Odds Ratio de 1,3 (IC 95%, 1,06-1,72, $p=0,02$).

D'autres études ont quant à elles, montrées une absence de corrélation entre l'hypertension artérielle et le risque d'avoir une DMLA. Tel que l'étude *Beaver Dam Study*, ou encore l'étude *Blue Mountains Eye Study* qui n'ont pas montré d'associations significatives.

Néanmoins, lorsque nous analysons l'ensemble de ces études, il est possible de conclure à une association minime entre DMLA et hypertension artérielle, car ils ont des risques relatifs assez proches de 1. De plus, la comparaison de ces études n'est pas toujours aisée, car dans certaines études, des interactions sont possible avec des médicaments considérés comme protecteurs de la DMLA (statine, diurétiques thiazidiques...).

Une corrélation entre la survenue d'AVC et de DMLA, a pu être faite en 2006 par Wong et Klein, en effet dans la population étudiée, ceux qui avaient une MLA précoce avait une prédisposition plus élevée à faire un AVC (4,8% vs 2,14%), avec un odds ratio de 1,87.

Dans une seconde étude : *Beaver Dam Study* réalisée par Klein et coll. en 2007 que l'on a une association significative entre DMLA et maladie cardiovasculaire avec un risque relatif de 7,53 (IC 95% 2,78-20,41). De même, le rapport n°13 de l'AREDS a mis en évidence une surmortalité d'origine cardiovasculaire chez les patients atteints de DMLA.

L'étude *Atherosclerosis Risk in Community* portant sur près de 16000 personnes dans 4 régions des États-Unis, a permis de mettre en évidence que la DMLA apparaît être significativement associée au risque de maladie coronarienne, avec un risque relatif de 3,05 (IC95%, 1,14-8,17). A l'inverse, une étude rétrospective réalisée entre 2001 et 2003 sur 15771 patients atteint de DMLA exsudative et 46 408 témoins a permis d'étudier les taux d'infarctus du myocarde et d'accidents vasculaire cérébraux ischémiques au sein de ces 2 populations. Cela a révélé qu'il n'y avait pas de lien entre la DMLA et les accidents thromboemboliques artériels.

Ces études se révèlent encore une fois, être contradictoires, cela peut se justifier par la complexité de ces études. En effet, pour être réalisée, ces études doivent avoir des groupes de personnes homogènes, appariées pour l'âge, le sexe, l'origine ethnique, mais aussi pour les antécédents tabagiques et la prise de certains médicaments. De plus, l'âge constitue un facteur de risque majeur d'avoir une DMLA, comme nous avons pu le voir précédemment, tout comme pour les pathologies cardiovasculaires (hypertension artérielle, AVC, infarctus du myocarde...). Il est donc normal de pouvoir établir une corrélation entre ces pathologies, même dans l'hypothèse où elles ne partagent pas les mêmes mécanismes physiopathologiques. (Leveziel N, 2009)

D. Les dyslipidémies ou facteurs de l'athérosclérose :

Les drusens, principaux éléments responsables de la forme atrophique de la DMLA, se constituent majoritairement de lipides. Des études ont donc été faites sur la corrélation entre les hyperlipidémies et le risque de développer une DMLA.

Certaines études ont montré que les lipides s'accumulent progressivement avec l'âge, générant une destruction progressive de la membrane de Bruch. Cela se compose principalement de lipides neutres isolés et de phospholipides (principaux constituant de membrane cellulaires). Les gros drusens contiennent majoritairement des lipides neutres, alors que les plus petits se composent majoritairement de phospholipides. Cette accumulation de lipides est souvent associée à un décollement de l'épithélium pigmentaire.

Au sein de modèles animaux recevant un régime hypercholestérolémiant, une accumulation de lipides dans la membrane de Bruch se produit, avec un épaissement des couches de collagène, des vacuoles lipidiques dans l'épithélium pigmentaire et des dépôts au niveau des astrocytes épirétiniens. Rudolf a pu observer dans son étude de 2005, qu'il y avait une augmentation de l'expression du VEGF en cas de déficience en récepteur au LDL chez des modèles animaux.

Dans l'étude *Blue Mountains*, il a été mis en évidence que l'incidence de DMLA augmente inversement avec le taux de HDL-Cholestérol (OR : 0,74 IC 95% 0,56-0,99). Un rapport élevé en cholestérol total sur le taux de HDL-cholestérol est associé à un risque accru de DMLA. Selon certaines études, les lipides seraient associés à un risque accru de DMLA atrophique, mais ne seraient pas en cause dans la DMLA exsudative. (Étude *Beaver Dam*). En croisant les résultats de plusieurs études : *Blue Mountains*, *Beaver Dam* et *Rotterdam Study*,

l'augmentation du cholestérol total serait associée à un risque accru de DMLA atrophique (OR 1,08 pour 10 mg/dl) alors que pour la forme exsudative cela diminuerait le risque (OR 0,94 pour 10 mg/dl).

Néanmoins, certaines études ont montré que les lipides peuvent aussi avoir des effets protecteurs, en effet les acides gras polyinsaturés dont les oméga-3 et plus précisément l'acide docosahexaénoïque (DHA) jouent un rôle essentiel au sein de la rétine. Le DHA est primordial du point de vue structurel, au sein de la rétine il y a un renouvellement permanent des segments externes de photorécepteur pour réparer les dommages oxydatifs. Or le DHA joue un rôle essentiel dans ce processus, en effet le DHA représente 50% des acides gras présents au niveau des membranes externes des disques des segments externes des photorécepteurs. Il a aussi un rôle fonctionnel, car le DHA se lie à la rhodopsine, ce qui permet à la métarhodopsine de se lier à la transducine.

Le DHA joue aussi un rôle protecteur de la rétine, en effet il présente un rôle anti-apoptotique, il permet donc de promouvoir la survie de photorécepteurs et de diminuer leur apoptose. Le DHA permet d'augmenter l'expression du gène Bcl-2, principal gène anti-apoptotique.

Son rôle protecteur rétinien est aussi dû à l'action anti-inflammatoire de cette molécule. Le DHA possède des dérivés métaboliques tels que la neuroprotectine D1 (NPD1) qui est une molécule présentant des propriétés anti-apoptotique, mais aussi une action anti-inflammatoire par blocage de la migration des lymphocytes T. Le DHA agit aussi en inhibant l'expression de cytokines, de molécules d'adhésion cellulaires et de l'isoforme 165 du VEGF. Ce qui peut présenter un effet bénéfique vis-à-vis du développement de néovaisseaux au sein de la forme exsudative de la DMLA.

Or l'homme est dépendant de ses apports alimentaires en acide linoléique et en acide linoléiques ce sont des acides gras essentiels, car il ne possède pas la Δ^5 et Δ^6 désaturase. En effet, à partir de l'acide linoléique, le foie va synthétiser la DHA. Donc, pour prévenir l'apparition de DMLA ou l'aggravation de la pathologie, il peut être préconisé de prendre des compléments alimentaires à base d'oméga-3, et plus spécifiquement à base de DHA. Il est préférable de prendre cet oméga-3 en particulier, car des études ont montré que les autres, tels que l'acide linoléique ou l'acide licosapentaénoïque sont moins efficaces chez le rat. Pour que cette supplémentation soit efficace, il est préconisé d'avoir un apport quotidien de 400 mg pour commencer à observer une diminution de la progression de la maladie. D'autres études ont montré que cette substance est très bien supportée dans la population, même à des doses plus élevées de 1200 mg/jour. Il semblerait que la dose

journalière doit être comprise entre 500 mg et 1000 mg pour voir apparaître une élévation du taux sérique en DHA significative. Cette molécule est souvent mise en association avec de la vitamine E au sein des capsules de compléments alimentaire, car cela permet de limiter l'oxydation de la DHA.

Selon une méta-analyse de Chong et coll. en 2008 concernant la consommation d'oméga-3 et de poissons, il a pu être mis en évidence que la consommation élevée d'oméga-3 serait associée à une diminution du risque de 38% de développer une DMLA (OR 0,62 IC 95% 0,48-0,82). Une consommation de poissons au moins 2 fois par semaines seraient quant à elle associée à une diminution du risque de DMLA.

E. L'exposition aux Ultraviolets :

Une étude réalisée par la chercheuse Emilie Arnault et ses collaborateurs (Emilie Arnault, 2013 Aug 23) a exposé des cellules épithéliales rétiniennes de porc à différentes longueurs d'onde en présence d'un des composants de la lipofuscine. Cette expérience est issue du fait qu'il est connu depuis plusieurs années que la lumière bleue a un impact néfaste sur la rétine. En effet lorsque la rétine est atteinte de la DMLA, il y a une accumulation de lipofuscine qui se produit, or celle-ci absorbe la lumière bleue, ce qui provoque la mort des cellules de l'épithélium pigmentaire. Cette étude a donc été menée pour déterminer plus précisément les longueurs d'onde responsables de cette toxicité, afin d'affiner la protection des personnes malades.

Pour déterminer cela, des longueurs d'onde de différentes fréquences ont été envoyées sur des cellules épithéliales rétiniennes de porc enrichies en A2E (N-retinylidene-N-retinylethanolamine). Ce dernier est un pigment visuel pouvant être impliqué dans cette phototoxicité. Or la lumière responsable de ce traumatisme au niveau rétinien fait partie du spectre de la lumière bleue (comprise entre 380 nm et 500 nm). Afin de déterminer avec le plus de précision possible les longueurs d'ondes impliquées, les essais ont été faits en faisant varier ces longueurs d'onde de 10 nm. Les cellules épithéliales pigmentaires rétiniennes de porc ont donc dans un premier temps été enrichies en A2E à différentes concentrations (12,5µM, 20µM et 40µM). Puis elles ont été exposées pendant 18 heures à une longueur d'onde comprise entre 380 et 520 nm. Les cellules sont ensuite restées pendant une durée de 6h dans le noir, puis les scientifiques ont évalué la viabilité cellulaire, le taux de nécrose et d'apoptose des cellules grâce à l'essai Apotox-Glo Triplex®. Quelque soit la concentration

en A2E, la perte cellulaire est plus importante lorsque les longueurs d'ondes sont comprises entre 415 et 455 nm, avec un pic à 430 nm. En effet, la diminution de la viabilité cellulaire est corrélée à une augmentation de l'activité apoptotique des cellules. Aucune activité nécrotique n'a pu être mise en évidence sur les cellules restées dans le noir. Cette étude a donc permis de définir le spectre précis (415-455 nm) de la lumière responsable de l'atteinte de l'épithélium rétinien pigmentaire in vitro dans la DMLA. La lumière bleue est donc la lumière principalement responsable de cette atteinte. Par ailleurs, les chercheurs ont pu mettre aussi en évidence que ces longueurs d'ondes présentent une légère toxicité pour les cellules pigmentaires, même en l'absence de l'A2E. Ce qui suggère que la rétine possède une certaine sensibilité à ces longueurs d'ondes, y compris chez les personnes non atteintes de la DMLA. Cette étude va donc permettre de cibler plus spécifiquement les ondes lumineuses dans la création de lunettes photo-protectrices. Afin de perturber le plus faiblement possible les fonctions visuelles et non visuelles essentielles de l'œil.

En partenariat avec un fabricant de verres de lunettes, cette étude a permis la mise au point de verres capables de réfléchir une fraction de ces longueurs d'ondes toxiques. Ces lunettes permettent de préserver au mieux la vision des couleurs, ne sont pas stigmatisantes pour les porteurs, contrairement aux traditionnelles lunettes à verres jaunes. Ces lunettes sont disponibles en pharmacie (Figure n°27).



V. Immunité et DMLA :

C'est dans les années 70, que les premières études ont mis en évidence le rôle important de l'inflammation au sein de la pathogénie de la DMLA. La réaction inflammatoire est souvent associée à la mise en place d'un mécanisme immunologique. Comme vu précédemment, les membranes néovasculaires contiennent de nombreux types cellulaires dont des macrophages, des cellules dendritiques et des cellules multi nucléées.

Au sein de la DMLA atrophique, des cellules inflammatoires apparaissent au bord des zones d'atrophie de l'épithélium pigmentaire ont été mise en évidence. Dans la forme exsudative, les cellules inflammatoires interviennent dans l'altération de la membrane de Bruch, ce qui permet la migration des cellules endothéliales dans l'espace sous-rétinien. Il a aussi été mis en évidence la présence de protéines de l'inflammation au sein des cellules de l'épithélium pigmentaire adjacentes aux drusens, tel que la CRP (*C-Reactive Protein*). C'est une protéine qui est sécrétée en phase aiguë de l'inflammation dont la concentration augmente lors des infections ou des maladies auto-immunes. Tout comme les protéines du complément. Au sein des drusens, il y a des molécules de l'inflammation dont des immunoglobulines, de la vitronectine... Une étude de 2004 réalisée par Seddon a montré une corrélation entre le taux de CRP plasmatique et la survenue d'une DMLA, en effet cette étude a permis de constater que le taux plasmatique moyen de la CRP chez le sujet sains est de 2,7 mg/l alors que chez les patients ayant une DMLA sévère, ce taux s'élevait à 3,4 mg/l. (Seddon JM, 2005)

En raison de ces découvertes, l'apparition des drusens serait favorisée par une inflammation chronique des cellules de l'épithélium pigmentaire. Cette inflammation engendrerait leurs altérations progressives et leurs dégénérescences. Il y a alors formation de débris cellulaires qui se déposent entre la membrane de Bruch et la membrane basale des cellules de l'épithélium pigmentaire. Ce qui constituerait le stimulus d'une réaction inflammatoire chronique aboutissant à leurs encapsulations et à la formation des drusens.

Dans les conditions physiologiques et pathologiques, le système immunitaire a un rôle primordial dans le processus de remodelage vasculaire. Le lien entre l'angiogenèse et l'inflammation a pu être fait dans la physiopathologie de maladies sévères dont les cancers, l'athérosclérose et les désordres oculaires.

En effet, les macrophages sont très présents au niveau de la membrane de Bruch, située près des drusens et des néovaisseaux choroïdiens. Ces macrophages sont activés par la MCP (*Monocyte Chemotactic Protein*). La MCP est produite par les cellules de l'épithélium pigmentaire. Une fois activés, les macrophages présents au sein des néovaisseaux vont sécréter du VEGF et du TNF. Ce qui contribue au développement des néovaisseaux choroïdiens. Ce processus pathologique semble donc être lié à l'activation du système de l'immunité innée, et constitue un événement précoce dans l'angiogenèse pathologique au sein de la DMLA. L'immunité innée est donc un élément clé de la néovascularisation pathologique que connaît cette maladie. Par l'activation des macrophages et la sécrétion de VEGF, il y a prolifération des cellules endothéliales, leur migration et la formation de néo-vaisseaux, qui ont la capacité de s'anastomoser facilement.

1. Immunité Innée et DMLA :

A. Rôle du complément dans la DMLA :

a) Généralités sur le complément :

La voie du complément fait partie de l'immunité non spécifique, elle permet donc au système immunitaire de s'attaquer de manière non spécifique aux molécules du non-soi ; cela constitue donc la première ligne de défense contre les éléments pathologiques. Il existe différentes protéines du complément qui sont numérotées de C1 à C9, ces protéines sont pour la plupart des zymogènes, cela signifie qu'elles nécessitent un clivage protéolytique afin d'acquérir leur activité enzymatique.

Les protéines du complément ont 3 rôles principaux :

- Le recrutement et l'activation des cellules inflammatoires : cela confère à la voie du complément un mécanisme puissant d'initiation et d'amplification de l'inflammation. Les protéines du complément activées, vont stimuler le chimiotactisme et l'activation des cellules de l'inflammation : macrophages, polynucléaires neutrophiles... cela permet aussi de provoquer la libération d'histamine par les mastocytes, ce qui va augmenter la perméabilité vasculaire et donc faciliter le passage des cellules inflammatoires hors des vaisseaux sanguins.

- La destruction des cellules cibles : les protéines activées du complément C5 à C9 polymérisent et forment un complexe d'attaque membranaire appelé MAC. Ce complexe va alors former des pores au travers de la membrane de la cellule cible et donc entraîne la cytolyse et la destruction des cellules pathogènes.
- L'opsonisation des micro-organismes : certaines protéines du complément peuvent se fixer sur des corps étrangers, ce qui va engendrer la fixation des fragments C3 et C4 sur la membrane cellulaire. Puis il y a activation des cellules phagocytaires via leurs récepteurs pour le complément. La phagocytose va alors se mettre en place pour éliminer ce micro-organisme.

Le système du complément est composé de 3 voies d'activation distinctes :

- La voie classique : les anticorps vont activer le complément, via la fixation de l'anticorps sur l'antigène.
- La voie alternative : l'activation de cette voie repose sur le clivage du facteur C3 en C3a et C3b. Le C3b va alors se déposer sur toutes les structures en contact avec le plasma. Dès lors que celui-ci se lie à une molécule du non-soi, il va se lier au facteur B, ce qui active la cascade du complément.
- La voie des lectines.

b) Polymorphisme génétique et rôle des macrophages:

Il a été démontré qu'un polymorphisme génétique du complément peut être associé à une maladie neurodégénérative, telle que la DMLA. En effet de récentes études ont montré que la voie du complément régule étroitement la néovascularisation pathologique de la rétine. Une complémentarité entre l'immunité innée et les processus angiogéniques oculaires a été mise en évidence. Au cours d'essais sur des animaux atteints des rétinopathies induites par l'oxygène. Les chercheurs se sont intéressés au facteur C3 et C5 du complément. Ils ont pu voir qu'en cas de déficit induit en facteur C3 du complément, une élévation de la prolifération vasculaire est notable. De plus, ils ont aussi pu montrer qu'en cas de blocage sélectif ou de déficit fonctionnel du facteur C5a, il y a une augmentation de l'angiogénèse. Cela suggère donc que l'activation de la voie du complément aurait un effet préventif vis-à-vis de l'angiogénèse. Cependant les effets anti-angiogéniques du facteur C3 et C5 sont médiés par les macrophages. In vivo, la baisse du taux de macrophages augmente la néo-vascularisation

dépendante du complément. En outre l'activation du complément entraîne les macrophages vers un phénotype anti-angiogénique ; qui inhibe directement la prolifération des cellules endothéliales.

Par la suite des études complémentaires ont été réalisées, ciblant plus spécifiquement la voie alternative du complément. Chez des souris présentant une rétinopathie induite par l'oxygène dépourvues de facteur B du complément, il a été mis en évidence une augmentation de la prolifération des néovaisseaux. De plus, la délétion en facteur B du complément n'a pas d'effet sur les voies de signalisation du VEGF, ce qui semble suggérer que le complément pourrait directement agir sur les cellules endothéliales. Les études suivantes ont montré que l'interaction du facteur B avec la membrane par le biais du C3b est une étape clé dans la formation du complexe C3 convertase. Cette dernière se lie ensuite à la cellule cible pour engendrer sa mort. Le facteur B du complément a été associé au néovaisseaux rétinien, tandis que l'inhibiteur de convertase CD55 reste restreint à la vascularisation normale. Donc, une déficience en facteur B du complément altère le ciblage des cellules endothéliales par le complexe C3 convertase, ce qui génère une accumulation de néo-vaisseaux. Etant donné le rôle du système du complément dans différents processus biologiques, l'activation sélective de la voie du complément combinée à des cibles spécifiques cellulaires prouve qu'il y a un mécanisme qui prévient les dommages collatéraux des tissus.

c) Le Facteur H du complément :

Enfin, le facteur H du complément jouerait un rôle majeur dans le processus physiopathologique de la DMLA. En effet le facteur H du complément est une protéine plasmatique de 155 kDA synthétisée par le foie, il se compose de 20 domaines de protéines de contrôle du complément (CCP). Ce facteur possède différents récepteurs, dont :

- Des récepteurs pour la CRP
- Des récepteurs pour l'héparine
- Des récepteurs pour le facteur C3b du complément

Le facteur H du complément est codé par un gène au niveau du chromosome 1 (1q32). En cas de fixation d'héparine ou de la CRP sur les récepteurs spécifiques que possède le facteur H, l'affinité du facteur H pour le C3b augmente. Le facteur H inhibe la formation de la C3 convertase dans la voie alternative du complément par compétition avec le facteur B. Le facteur H génère aussi une dégradation de la C3 Convertase, en déplaçant le facteur B. Enfin

le facteur H du complément agit aussi comme co-facteur du facteur I, pour inactiver le C3b en iC3b.

Au sein de l'organisme, le C3b se fixe sur tous les éléments en contact avec le sang. Lorsque le C3b se lie au facteur B, la cascade est activée et la lyse cellulaire survient.

Le facteur H du complément assure un rôle protecteur pour les cellules du soi vis-à-vis de la voie alterne du complément. La présence du facteur H inhibe en effet la fixation du C3b au facteur B et dégrade le C3b déjà formé (Figure n°28).

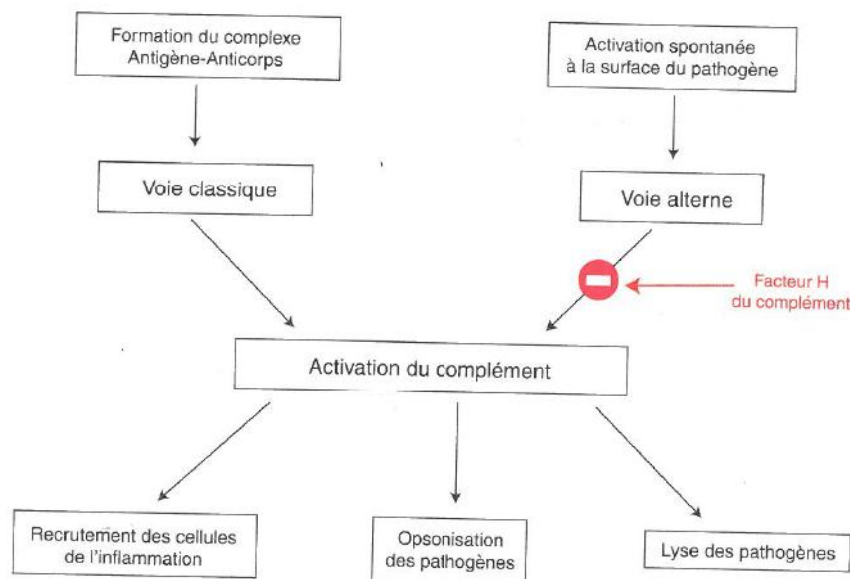


Figure n°28 : Rôle du facteur H du complément. Une mutation du gène du facteur H peut entraîner l'activation de la voie alternative du complément et une inflammation chronique.

Une étude a montré qu'un polymorphisme génétique était présent chez 20 à 50% des patients atteints de DMLA, pour le gène codant pour le facteur H du complément (1q32). Cela entraîne une modification structurelle de la protéine du facteur H. Elle se traduit par une substitution au niveau du 402^{ème} acide aminé (tyrosine → histidine) ; d'où le nom de cette modification : Tyr402His ou Y402H. Or cette région de la protéine est essentielle pour la fixation au niveau du facteur H de la CRP et de l'héparine. Cela peut altérer la fonction du facteur H et entraîner l'activation de la voie alterne du complément au sein des cellules de l'épithélium pigmentaire et de la choroïde. Pour pouvoir agir, le facteur H du complément doit se fixer au niveau des tissus, via fixation sur une molécule d'héparane-sulfate. L'héparane sulfate est un glycosaminoglycane (GAG) qui est présent à la surface de toutes les cellules, celui-ci se compose de protéines essentielles, et possède un rôle essentiel dans le développement, dans la différenciation cellulaire, les signaux et l'homéostasie tissulaire. Or,

le variant CFH Y402H requiert un plus haut degré de sulfatation pour avoir une haute affinité de liaison. Cependant l'allotype Y402 possède une meilleure affinité pour l'héparane sulfate, il peut donc interagir avec une plus large gamme d'héparane sulfate dans les tissus.

Différents motifs d'héparane sulfate sont présents au niveau des différentes couches de la rétine et de la choroïde. Au sein de la membrane de Bruch, il est possible de retrouver différentes gammes d'héparane sulfate, incluant des structures 6-O sulfatés, 2-O sulfatés et 3-O sulfatés, ainsi que des structures avec un faible taux de sulfatation. Or le variant 402H du facteur H du complément requiert la présence de ces sulfatations (2-O et 6-O) pour se lier à la membrane de Bruch, tandis que dans la forme Y402, il n'y a pas besoin de sulfatations. Une baisse de la fixation de l'héparane sulfate chez les patients porteur du variant 402H, est donc expliquée. Ces différences locales de structures de l'héparane sulfate peuvent jouer un rôle sur la modulation de la formation des néovaisseaux. L'épithélium pigmentaire rétinien, la membrane de Bruch et la choroïde sont des sites qui entrent en contact avec les composés du complément via le sang, ils requièrent donc une intense régulation afin de prévenir toute activation du complément non voulue. Cette dernière conduirait à la déposition de C3b et à l'amplification du complément. Les cellules peuvent être protégées contre le complément via de nombreux facteurs endogènes régulateurs tel que le CD55, le CD35, le CD46 et le CD59. Tandis que la matrice extracellulaire (telle que les membranes basales) ne possèdent pas ces régulateurs et nécessitent l'activation du facteur H du complément. En cas de mutation 402H, il y a donc une activation plus facile de la voie alterne du complément au niveau de la membrane de Bruch, ce qui engendre aussi la production de médiateurs pro-inflammatoires. Ceci pourrait entraîner une inflammation chronique locale pouvant être à l'origine de la DMLA, d'autant plus qu'il a été montré que la mutation génétique n'entraîne pas d'élévation systémique de l'activation du complément. Alors qu'il a été clairement démontré que chez les homozygotes Y402H, il y a de hauts niveaux d'activation du complément au niveau de la membrane de Bruch et de la choroïde, ainsi qu'une élévation des facteurs inflammatoires. De même l'allèle 402H entraîne une diminution de l'interaction entre le facteur H et la CRP, ce qui se traduit par une augmentation de l'inflammation et de l'activation du complément dans la macula. Ces éléments pourraient être à l'origine de la DMLA.

B. Rôle des cellules microgliales dans la DMLA :

Les macrophages jouent un rôle fondamental dans la physiopathologie de la DMLA, comme expliqué précédemment. En fonction du contexte tissulaire, les macrophages peuvent être activés classiquement M1 ou alternativement M2. Les différentes sous-populations de macrophages sont caractérisées par des marqueurs spécifiques, par l'expression de diverses cytokines, par l'expression de divers récepteurs et par leurs fonctions effectives. Une classification plus récente des macrophages a proposé de se baser sur leurs conditions d'activation. Les macrophages pro-inflammatoires M1 sont anti-angiogéniques, ils expriment à de haut niveau le TNF- α , IL-12, IL-6, IL-1, la metalloprotéase 9 et la nitrite oxyde synthetase. En comparaison, les macrophages M2 sont pro-angiogéniques, ils interviennent donc lors de la cicatrisation des plaies et se caractérisent par moins de marqueurs; néanmoins, ils expriment l'IL-10, le CD163 et le TGF- β . Chez un modèle animal de souris présentant une DMLA exsudative, il a été mis en évidence un changement de polarisation des macrophages M1 en macrophages M2, qui expliquerait donc la prolifération de néovaisseaux chez la souris âgée. Un changement similaire a pu être observé au niveau des macrophages chez les patients atteints de DMLA, avec donc une prédominance de la voie alternative d'activation de macrophage (M2) au niveau oculaire chez ces patients. (Karlstetter M, 2014)

Dans la rétine, les macrophages résidents (cellules microgliales) sont essentiels pour le développement des vaisseaux sanguins. Durant le développement ou lors d'un contexte pathologique, le remodelage vasculaire rétinien par les cellules microgliales est médié par la sécrétion de facteurs angiogéniques, de cytokines ou des régulateurs de la matrice extracellulaire. Des nouvelles recherches sur l'angiogenèse non dépendante du VEGF ont montré que la voie de signalisation de la Neuropilline-1 (NRP-1) joue un rôle important dans la relation entre les cellules endothéliales et les cellules rétiniennes environnantes. L'activation de la neuropilline-1 par les signaux des cellules de la matrice extracellulaire induit la phosphorylation d'intégrines cibles tels que la paxicilline et par conséquent active le remodelage, et donc la mobilité des cellules endothéliales. Cependant la neuropilline-1 est un co-récepteur du VEGF, cette étude a démontré que la sécrétion de neuropilline-1 par les cellules de la matrice extracellulaire altère la régulation de la migration cellulaire. Ces découvertes suggèrent que le signal de la neuropilline-1 est impliqué dans les processus physiologiques et pathologiques de l'angiogenèse oculaire. (Plein A, 2014)

Les cellules microgliales régulent également la croissance des néo-vaisseaux via des médiateurs inflammatoires qui ciblent les neurones adjacents. Il a été démontré sur des modèles animaux, présentant une rétinopathie induite par l'oxygène, que l'activation des cellules microgliales résulte de la surexpression d'IL1. Cela engendre une production de Sémaphorine 3A par les cellules ganglionnaires rétiniennes (via les signaux de l'IL-1R). Le facteur semaphorine 3A pro-apoptotique sécrété va induire la mort des cellules endothéliales. Cependant un blocage sélectif de l'IL1 peut prévenir la cascade cytotoxique, qui mène à la dégénération vasculaire (Figure n°29).

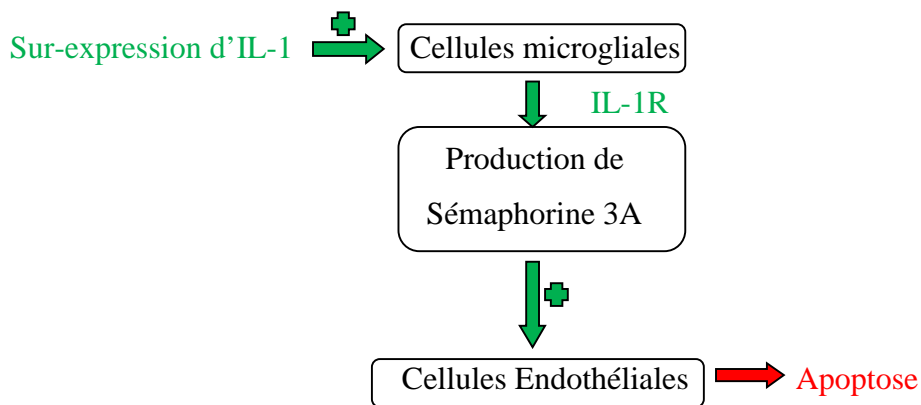


Figure n°29 : Rôle des cellules microgliales dans la régulation de la néovascularisation rétinienne.

Donc les cellules microgliales contribuent au développement des vaisseaux rétiniens, et jouent aussi un rôle primordial dans la modulation de la néo-vascularisation rétinienne.

2. Immunité adaptative et DMLA :

L'immunité adaptative joue un rôle dans la promotion de l'angiogenèse pathologique, au niveau oculaire. En effet, les cellules T helper peuvent jouer un rôle dans les stades avancés de la DMLA. Les cellules Th17 sont des effecteurs des cellules T CD4+, qui préférentiellement produisent de l'IL-17, après stimulation de marqueurs de surface spécifique ou par activation via des agents pathogènes. L'IL-17 est une cytokine pro-inflammatoire qui cible principalement les cellules épithéliales, endothéliales, intestinales. En cas de déficit en IL-17, on aura donc des pathologies auto-immunes. Des composés du complément, tel que le C5a, sont impliqués dans l'expression de l'IL-17 et l'IL-22 par les

cellules T CD4+. Chez les patients atteints de DMLA, le taux de cytokines est augmenté dans leur sérum.

De plus, une autre étude a montré que le promoteur IL-17RC, un composé du complexe IL-17 récepteur, était significativement hypométhylé chez les patients ayant une DMLA. Cela a été associé à une augmentation de l'expression de l'IL-17RC au niveau du sang périphérique, de la rétine et de la choroïde des patients ayant une DMLA. Une étude secondaire à ce résultat, a étudié l'état de méthylation du promoteur IL-17RC, mais cela n'a pas montré de différences significatives entre les patients atteints de DMLA et les patients sains du même âge. Bien que l'IL-17 n'ait pas d'effet sur la croissance de néovaisseaux, il peut potentialiser l'effet des facteurs pro-angiogéniques tels que le VEGF, le bFGF (*Fibroblaste Growth Factor*) et le HGF (*Hépatocyte Growth Factor*). Des recherches plus récentes ont montré que la production combinée d'IL-17 depuis les cellules T et l'immunité lymphoïde cellulaire étaient responsables de l'augmentation de la néovascularisation observée dans des modèles expérimentaux de néovascularisation choroïdienne.

Néanmoins, le rôle précis de l'IL-17 au niveau de la régulation de l'angiogenèse oculaire n'est pas encore élucidé totalement.

Les composés du complément et la peroxydation lipidique peuvent induire des épitopes spécifiques de l'oxydation. Ces derniers peuvent alors fonctionner comme des antigènes pour une réponse immunitaire. Le carboxyethyl pyrrole (CEP) est un exemple d'épitope qui est un fragment d'oxydation de la DHA. Le CEP a montré chez l'animal, sa capacité à initier des dommages au niveau du réticulum pigmentaire épithéliale. Ces dommages sont similaires à ceux retrouvés au sein des rétines de patients atteints par une DMLA. De plus, les scientifiques ont constaté une élévation du taux de CEP au niveau des yeux de donneurs atteints de DMLA. Ils ont également pu identifier dans le plasma des donneurs, la présence d'auto-anticorps anti-CEP. Le mécanisme par lequel le CEP induit une réponse immunitaire, est sûrement lié à l'activation des lymphocytes T par des macrophages M1 activés. Malgré la relation entre le CEP et les épitopes avec le phénotype de la DMLA sèche, le lien avec l'angiogénèse pathologique et la DMLA humide doit encore être élucidé.

Enfin d'autres publications ont mis en évidence l'existence d'anticorps dirigés contre certains constituants de la rétine chez des patients atteints de DMLA, ces anticorps seraient principalement dirigés contre les astrocytes et les cellules de l'épithélium pigmentaire. (Anderson 2002).

VI. Traitements des DMLAs :

1. Traitements de la DMLA sèche et traitements préventifs :

A ce jour, il n'existe pas de traitement spécifique pour traiter la DMLA sèche. En effet les seuls traitements disponibles visent à limiter la progression de la maladie vers des stades plus avancés. Il est donc important de rappeler au patient que l'auto-surveillance à l'aide de la grille d'Amsler est indispensable. Il faut le réaliser de manière périodique afin de déterminer toute évolutivité fonctionnelle de la maladie, et donc de prendre rendez-vous chez son spécialiste si nécessaire.

Néanmoins les traitements préventifs semblent avoir des résultats concluant, même si certaines études sont contradictoires. En raison de la physiopathologie de la maladie, la micronutrition semble jouer un rôle majeur dans la pathologie. Nous allons tout d'abord voir les principaux compléments alimentaires qui sont à ce jour disponibles en pharmacie. Ensuite, nous étudierons l'intérêt de leur composition.

Dans la prévention de l'évolution de la DMLA, il existe différents médicaments :



Valeurs nutritionnelles	Pour 2 capsules/jour	% D.M.R.*	% A.I.R.**
Huile de poisson :	1015 mg	/	1 [†]
Acides gras oméga 3	600 mg	/	1 [†]
D.I.A.	350 mg	/	1 [†]
Vitamine E	30 mg ET (Équivalent-tocophérol)	100 %	250 %
Vitamine C	130 mg	100 %	225 %
Zinc	15 mg	100 %	150 %
Lutéine	10 mg	/	1 [†]
Zéaxanthine	2 mg	/	1 [†]

* Valeur Journalière Maximale ** Apports Journaliers recommandés [†] Pas d'A.I.R. Ce produit

Figure n°30 : Preservision 3[®] – illustration et composition nutritionnelle.

Ce médicament se prend à raison de 2 capsules par jour, à prendre au cours d'un repas afin de faciliter l'absorption, avec un grand verre d'eau. Il faut dire au patient que ce traitement n'a d'effet que sur le long court, Il faut donc le rassurer en cas d'oubli exceptionnel, c'est le plus souvent sans conséquences.

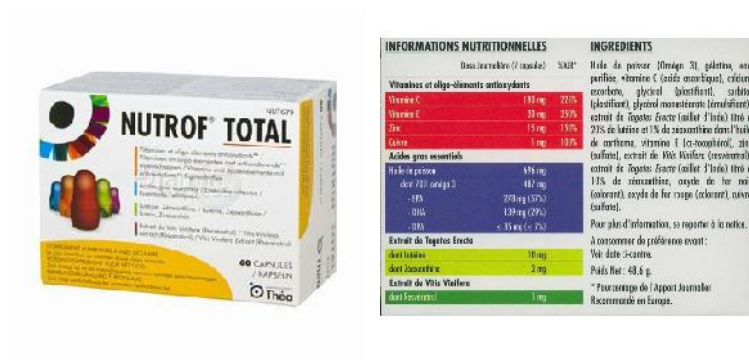


Figure n°31 : Nutrof Total® – Illustration et composition nutritionnelle.



Figure n°32 : Macula-Z® – illustration et composition nutritionnelle.

A. Composition de ces compléments alimentaires :

a) La lutéine :

Cette molécule se compose d'une longue chaîne de carbone (Figure n°33) avec alternativement des doubles liaisons et des simples liaisons. A chacune de ces extrémités se trouve un cycle hexényl lié à un groupe hydroxyle. Cette molécule appartient au groupe des caroténoïdes, elle est présente au niveau de la macula. Ce sont d'ailleurs ces pigments xanthophylles qui lui confèrent sa couleur jaune caractéristique, lors de la réalisation d'un fond d'œil. L'ensemble des composés xanthophylles présents au niveau de la macula : lutéine, zéaxanthine, méso-zéaxanthine permettent de protéger cette région sensible de l'œil, vis-à-vis des rayons lumineux issus du soleil (UV-B). Mais ils ne sont pas synthétisés par les êtres humains, ces composés ne sont produits que par les plantes, les bactéries, les algues et certains champignons. Leur concentration au sein de l'organisme est donc dépendante de la consommation en légumes, fruits, ou produits animaux tel que les œufs.

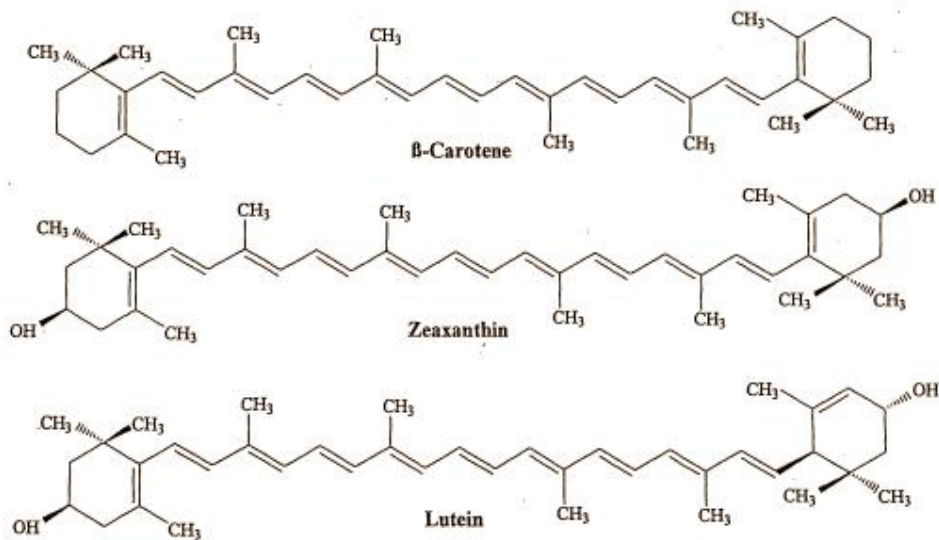


Figure n°33 : Illustration des dérivés du groupe des -carotènes : lutéine, zéaxanthine, - carotène. (ergo-log, 2014)

i) Variation de l'absorption en fonction de l'alimentation :

Lors de la prise alimentaire de composés xanthophylles, c'est-à-dire lorsque de la lutéine est ingérée dans la ration alimentaire, elle est absorbée au niveau du tractus intestinale par les enterocytes. Elle y est absorbée en fonction de sa forme : libre ou estérifiée, et de la quantité de graisse ingérés simultanément à la prise de lutéine. En effet, il est important de noter que lorsque la lutéine est prise sous forme libre, elle se retrouve dans le compartiment plasmatique avec une concentration 20% supérieure à celle obtenue avec la forme estérifiée. Avant l'absorption intestinale, la lutéine est hydrolysée par les enzymes gastro-intestinales telle que la cholestérol estérase. Lorsqu'elle est prise simultanément avec un repas riche en graisse, cela va favoriser la solubilisation des esters de lutéine dans la phase grasseuse et stimuler l'activation et la libération des enzymes essentielles à leur hydrolyse. La biodisponibilité de la lutéine est plus sensible à un régime contenant des matières grasses. Certaines études ont montré qu'en présence d'un régime faible en graisse, l'absorption de la lutéine peut être 2 fois plus faible qu'avec un régime riche en graisse. Une fois dans les entérocytes, la lutéine est incorporée dans les chylomicrons, elle est alors transportée dans la circulation sanguine où elle est présente sous forme libre non estérifiée. Il semblerait que ce soit le HDL-cholesterol qui joue un rôle majeur dans le transport de la lutéine au sein de la rétine, car des publications sur la supplémentation alimentaire en lutéine ont montré que les patients avaient une meilleure élévation de la densité optique des pigments maculaires, lorsqu'ils avaient un taux élevé de HDL-C.

Une fois au sein de la rétine, la lutéine va se lier à un site de liaison que possède les - tubulines. Ces -tubulines sont très présentes au niveau des cellules photoréceptrices et des pigments maculaires. La lutéine présente au niveau des photorécepteurs représente 10 à 25% des caroténoïdes de la rétine. La lutéine est aussi très abondante au niveau de l'épithélium rétinien pigmentaire grâce à la présence de récepteur scavenger de classe B type I (SR-B1). Ce récepteur fonctionne par présentation du complexe circulant plasmatique : HDL-Lutéine ; en effet il a été mis en évidence chez des poulets ayant une déficience d'origine génétique en HDL que le taux de lutéine est diminué au sein de la rétine spécifiquement (cela n'affecte pas le cœur, le foie, ou encore le jaune d'œuf), d'où le rôle majeur du HDL dans le transport de la lutéine au niveau rétinien. Les oméga-3 sont des précurseurs du HDL-c tels que les acides gras à chaînes polyinsaturés. L'étude se base sur la densité optique pigmentaire maculaire. Cette dernière a permis de mettre en évidence que ces oméga-3 amènent une élévation du HDL-c plasmatique et donc une meilleure absorption de la lutéine au niveau rétinien.

ii) Impact du tabac sur la concentration en lutéine :

Au niveau rétinien, l'absorption en lutéine et en zéaxanthine semblent être plus importante lorsqu'il n'y a pas de prise alimentaire riche en -carotène simultanée. De plus, il a aussi été prouvé que l'absorption de la lutéine au niveau rétinien est plus faible lorsque le patient est fumeur.

iii) Rôle de la lutéine :

➔ **Filtre de la lumière bleue** : il a été démontré que la lutéine absorbe la lumière bleue entre 390 et 540 nm, avec un pic d'absorption maximale autour de 446nm. Or ces longueurs d'onde sont connues pour induire des dommages sur la rétine. Lorsque la lutéine agit comme filtre de la lumière bleue au sein du cristallin et des pigments maculaires, cela permet de protéger les sous-couches rétiniennes tels que les photorécepteurs.

➔ **Effet anti-oxydant** : la rétine nécessite de fortes concentrations en oxygène pour son métabolisme aérobie. Divers réactifs intermédiaires de l'oxygène sont donc formés et présents à ce niveau, tel que le peroxyde d'hydrogène, les radicaux hydroxyles et l'oxygène singulet. Ces réactifs intermédiaires peuvent causer des dommages sur les lipides présents dans la rétine, tels que l'acide docoséhexaénoïque (DHA). La peroxydation de ces acides gras polyinsaturés, présents dans les membranes cellulaires des photorécepteurs, peuvent nuire à

leur fonctionnement. Il a été montré que ces composés réactifs de l'oxygène peuvent induire l'apoptose des photorécepteurs, alors que la lutéine va bloquer cette lyse cellulaire provoquée par l'H₂O₂ ou le paraquat.

→ **Effet sur la réponse immunitaire :** ces effets ont été décrits sur plusieurs espèces d'oiseaux, de souris, de chats et de chiens. Chez la souris, il a pu être mis en évidence que la lutéine augmente la réponse vis-à-vis d'un antigène lors d'une réponse par un Ac LT dépendant, par rapport à une réponse non Ac LT dépendante. Néanmoins, il n'y a pas encore d'études qui ont prouvé ce résultat chez l'homme.

→ **Effet sur l'inflammation :** durant l'inflammation, la lutéine semble piéger les espèces réactives de l'oxygène qui sont générées au cours du processus inflammatoire. L'effet de la lutéine sur les niveaux d'H₂O₂ peut affecter les voies intracellulaires conduisant à la production de molécules pro-inflammatoires. Lors d'investigations menées sur des souris, il a été administré 10mg/kg de lutéine avant l'application de spots lumineux pour leur provoquer une DMLA néo-vasculaire artificielle. Une réduction notable du volume de néovascularisation choroïdienne allant de 553µm³ (non traités) à 401µm³ (traités) a pu être révélée. Il a aussi été mis en évidence une diminution de l'infiltration des macrophages dans l'aire néo-vasculaire, et une diminution significative de l'expression de CCL-2, VEGF et ICAM dans l'épithélium rétinien pigmentaire des animaux traités par lutéine.

De plus, lors d'essais in vitro, il a été mis en évidence que la lutéine à une concentration de 10 µg/ml permet d'inhiber le TNF- α . Ce dernier induit l'expression d'ICAM-1 et CCL-2 par les cellules endothéliales de culture. De même, de hautes concentration de lutéine (>100 µg/ml) permettent de diminuer l'expression du VEGF et CCL-2. Il a aussi pu être prouvé que la lutéine est capable d'inhiber l'induction d'expression du NF-Kb via le TNF-

La lutéine semble jouer un rôle majeur dans la pathogénèse de la DMLA et donc dans la prévention des patients vis-à-vis d'une évolutivité de leur maladie.

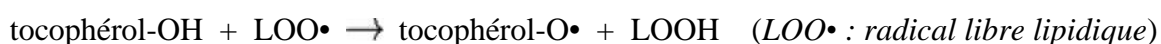
Dose recommandée : en raison de ses propriétés à long terme dans la prévention de la progression de la DMLA, la dose recommandée de lutéine est de 10 à 20 mg par jour. Cela peut être apporté par l'alimentation ou par les compléments alimentaires présentés ci-dessus. Il est possible de trouver de la lutéine au sein des aliments suivants : le chou frisé, les épinards, la courge d'été, le brocoli, les pois verts, le maïs, les œufs.

b) La zéaxanthine :

C'est un second composé xanthophylle qui est présent au niveau de la rétine. Il s'accumule aussi au niveau de la macula et la protège des ultra-violets, mais aussi des réactions oxydatives. On en retrouve dans les aliments tels que les épinards, le chou, les choux de Bruxelles...

c) La Vitamine E :

Cette vitamine se compose de plusieurs anti-oxydants, cependant l'alpha-tocophérol est la forme la plus largement présente au niveau du sang et des tissus. Cette forme de la vitamine E se retrouve principalement au niveau des noix, des légumes verts et des huiles végétales. La vitamine E joue un rôle d'anti-oxydant au niveau de la rétine, ce qui va permettre de stopper les radicaux libres en les neutralisant, réduisant donc leur nocivité. Cela se fait par la réaction suivante :



Certaines études n'ont pas trouvé d'association entre la vitamine E et la DMLA. Alors que le rapport n°22 de l'étude AREDS a trouvé une association positive entre la prise importante de -carotène, de vitamine C et vitamine E et la diminution du risque d'avoir une DMLA néovasculaire. En raison des études discordantes, il est supposé à ce jour que la vitamine E a une action synergique avec d'autres nutriments ayant une action dans la DMLA.

d) La Vitamine C :

C'est un anti-oxydant (Figure n°34) qui protège les lipides, les carbo-hydrates, et les acides nucléiques des radicaux libres et des espèces réactives de l'oxygène. Certaines études ne rapportent pas d'effet de la vitamine C sur la DMLA. Néanmoins, l'étude AREDS a montré une diminution du risque de développer une DMLA chez les patients ayant pris l'association testée.

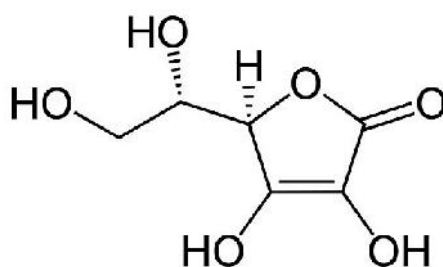


Figure n°34 : structure de la vitamine C.

e) Le Zinc :

C'est un élément essentiel, à l'état de traces dans le corps humain. Il agit comme co-facteur enzymatique, plus particulièrement de la superoxyde dismutase et de la catalase. Cela lui confère des propriétés anti-oxydantes. Le zinc est stocké et transféré dans les métallothionéines. Ce sont des protéines à rôles multiples qui sont considérés comme un réservoir intracellulaire de zinc et de cuivre. Elles contrôlèrent leur homéostasie en échangeant ces oligoéléments avec d'autres protéines. La prise alimentaire de zinc (>50 mg/jour), peut donc induire un déficit en cuivre. En effet lorsque les métallothionéines contiennent beaucoup de zinc, elles ne peuvent plus fixer le cuivre. Un déséquilibre dans l'homéostasie de ces ions est alors possible, par diminution de l'absorption intestinale du cuivre. Cet oligo-élément est présent dans notre alimentation au sein des huîtres, de la viande rouge, du pain complet, du jaune d'œuf, du foie, des légumes secs et des poissons.

Dès 1988, il a été mis en évidence que le zinc joue un rôle dans la DMLA. Cet essai a regroupé 151 patients, qui présentaient une perte visuelle plus faible chez les personnes qui avaient pris du zinc après 12 et 24 mois de suivi. Il a été mis en évidence qu'après 10 ans de supplémentation en zinc, le risque relatif de développer un DMLA était de 0,56.

f) Le Cuivre :

C'est un oligo-élément essentiel à l'état de trace qui est capable d'accepter et de donner facilement des électrons, dont l'homéostasie est étroitement corrélée avec celle du zinc. Le cuivre a été ajouté à la composition AREDS, car de hauts niveaux de zinc peuvent provoquer une anémie par déficit en cuivre. Cela s'explique par le fait que le cuivre joue un rôle important dans le métabolisme du fer, et donc par voie de conséquences dans la synthèse de l'hémoglobine. Cet oligoélément est présent dans de nombreux aliments, tels que les huîtres, les escargots, les lentilles, les pois chiches, le foie de veau, les calamars, les champignons... A ce jour, il n'y a pas d'étude qui ont montré l'efficacité du cuivre dans la prévention de la DMLA.

g) Huiles de poissons dont Oméga-3 et 6 (DHA, EPA, DPA) :

Les oméga-3 ont été étudiés dans la prévention de la DMLA, en raison de leur implication dans les maladies coronariennes et dans d'autres types de maladies rétinienne dégénératives. Les oméga-3 principalement étudiés dans la DMLA incluent l'acide α -linoléique, la DHA et l'EPA. Tandis que les oméga-6, incluent l'acide linoléique et l'acide arachidonique. Une

étude portant sur 42743 femmes et 29746 hommes, suivis pendant 10 à 12 ans, ou 567 sujets ont développé une DMLA. Durant cette étude, la quantité de graisses alimentaires était mesurée par réalisation d'un questionnaire périodique sur l'alimentation. Les analyses statistiques ont révélé qu'il y a une élévation du risque de DMLA chez les personnes qui ont une ration alimentaire riche en graisses. Les aliments qui contribuent principalement au risque accru de DMLA sont le bœuf, le porc, l'agneau ; en particulier s'ils sont riches en acide - linoléique ou en graisses totales. Par contre, ces études ont aussi révélé un rôle protecteur des oméga-3 chez les individus qui consomment beaucoup d'acides gras mono-insaturés et d'acides gras poly-insaturés.

En outre, une consommation accrue d'acides gras saturés engendre une élévation du risque de développer une DMLA au cours de certaines études. Néanmoins, au cours de l'étude CAREDS, une corrélation s'est révélée entre les effets d'une prise alimentaire riche en graisses et l'âge du patient. En effet, un risque plus élevé de DMLA a été observé chez les femmes de moins de 75 ans qui consomment beaucoup d'acide gras saturés, alors qu'une corrélation inverse était faite chez les femmes de plus de 75 ans.

h) Extrait de *Vitis Vinifera* :

Cela provient de la vigne rouge, issu de la famille des *Vitaceae*. Cette plante est connue dans le monde entier pour la boisson alcoolisée qu'elle permet de fabriquer : le vin. Elle est utilisée dans le traitement de l'insuffisance veineuse et des hémorroïdes, avec la spécialité : Endotélon®. Elle possède des propriétés veinotoniques et vasculoprotectrices, en raison de la présence de flavonoïdes au sein des pépins de raisins.

Ce sont plus particulièrement les propriétés des oligo-proanthocyanidines qui vont agir au niveau de la vue. Une étude de 1988 portant sur une centaine de patients a montré que la résistance à l'éblouissement était plus importante chez les patients traités par ces extraits par rapport à ceux qui n'en prenaient pas. De même, pour la vision nocturne, cette dernière étant elle aussi améliorée.

La vigne rouge contient aussi du resvératrol, qui est un polyphénol de la classe des stilbènes, cette molécule est présente au sein des raisins, des mûres, des cacahuètes. Il y a donc du resvératrol dans le vin, ce qui est à l'origine du French Paradoxe. Cette expression correspond au faible taux de maladies cardiovasculaires dans le sud-ouest de la France, malgré une forte consommation de graisses animales. En effet, cette molécule présente tout d'abord des propriétés anti-oxydantes, qui peuvent être intéressantes au niveau de la rétine. Elle possède

des groupes hydroxyles phénoliques Ar-OH qui permettent de fournir des hydrogènes aux radicaux peroxydes L-OO° et les neutralisent donc sous forme d'hydroxydes : L-OOH.

Réaction d'oxydo-réduction : $\text{Ar-OH} + \text{L-OO}^\circ \rightarrow \text{Ar-O}^\circ + \text{L-OOH}$

En plus de ces propriétés, le resvératrol possède des propriétés anti-inflammatoires, qui lui confèrent un potentiel d'action encore plus important dans la DMLA. En effet, comme nous avons pu le voir précédemment, la pathogénèse de la DMLA est liée à une réponse inflammatoire anormale. Le resvératrol peut avoir une action importante sur CXCL-11, une chimiokine impliquée dans le recrutement cellulaire, au niveau des cellules proches des drusens dans l'épithélium rétinien pigmentaire. Cette étude a mis en évidence que les cytokines pro-inflammatoires TNF- , IL-1 et IFN- peuvent activer l'expression de CXCL-11 dans les cellules de l'épithélium rétinien pigmentaire. Les chercheurs ont aussi mis en évidence que le resvératrol a la capacité d'atténuer la production de CXCL-11 au sein des cellules traitées par les cytokines pro-inflammatoires. La dose de 50 µM de resvératrol est suffisante pour réduire l'expression de l'ARN messager de CXCL-11 et la sécrétion de la protéine CXCL-11. Le resvératrol agit en bloquant l'activation du signal de la voie de transduction de NF-Kb par le TNF- , l'IL-1 et l'IFN- . Les analyses western-blot ont mis en évidence qu'au sein des cellules traitées par resvératrol, il y avait une diminution importante de la formation de phospho-NF-Kb p65. La présence de resvératrol au sein des cellules du RPE permettait de diminuer de près de 50% le taux d'activation de NF-Kb par les cytokines. Cela pourrait justifier l'action de cette molécule dans la pathogénèse de la DMLA, avec une suppression de la réponse inflammatoire du RPE et donc de la production résultante de CXCL-11, impliquée dans la DMLA.

Dans le cadre de la prévention de la progression des dommages de la DMLA avec le temps, il est donc recommandé de prendre 200 à 300 mg de *vitis vinifera* par jour.

B. Etudes concernant l'efficacité de ces compléments alimentaires :

Les études AREDS 1 et 2 sont des études américaines, prospectives, interventionnelles, multicentriques. Dans le rapport n°8 de l'AREDS 1, une évaluation de l'effet protecteur des anti-oxydants à hautes doses vis-à-vis de la DMLA, a été réalisée. Au cours de cette étude, les patients ont reçu: 500 mg/jour de vitamine C, 400 mg/j de vitamine E, 15 mg/jour de - carotènes, et 80 mg/jour de zinc. Bien qu'à ce jour, il n'existe pas de formulation identique sur le marché français, l'efficacité de ces anti-oxydants dans la prévention de la progression de la pathologie a pu être démontré. En effet, chez les patients recevant ces doses d'anti-

oxydant et de zinc, une diminution de 25% d'atteinte du second œil à 5 ans de suivi a pu être observée.

Une seconde étude intitulée AREDS 2, visait à évaluer le remplacement des β -carotènes, présents initialement dans la formulation AREDS par de la lutéine/zéaxanthine et/ou des oméga-3. Une diminution du taux de zinc en raison de l'apparition de nouvelles études entre AREDS 1 et AREDS 2, qui montraient une meilleure absorption du zinc autour de 25 mg/jour. Cette étude a donc inclus 4203 patients âgés de 50 à 85 ans. Elle a permis de mettre en évidence que l'association lutéine/zéaxanthine et oméga-3, ne permet pas de réduire de manière plus significative le risque de progression vers une DMLA avancée. Cependant, en raison des risques que confèrent les β -carotènes, dont une élévation de l'incidence des cancers du poumon chez les fumeurs ou anciens fumeurs. Cette étude recommande donc l'utilisation de la lutéine (10 mg) et de la zéaxanthine (2 mg) dans la prévention de la progression de la DMLA vers des stades plus avancés. En ce qui concerne, le zinc, il n'y a eu aucun effet significatif concernant une diminution de son taux lors de la supplémentation journalière. L'étude AREDS 2 n'a donc établi aucune recommandation concernant son dosage. Néanmoins, à ce jour l'effet de la lutéine/zéaxanthine à long terme n'a pas pu être évalué au cours de cette étude, et des effets indésirables inconnus pour le moment peuvent apparaître.

Classification de l'AREDS :

Au cours de cette étude, une grille de classification simplifiée a été établie. Elle correspond à une échelle de risque de développer une DMLA à 5 ans. Cela se base sur la présence ou l'absence des éléments suivants, et leur attribue un poids déterminé :

- Gros drusen (plus de 125 μ m) = 1 point.
- Hyperpigmentation = 1 point.
- Drusen intermédiaire (63 à 125 μ m) aux deux yeux, en l'absence de gros drusens = 1 point.
- Néovaisseaux choroïdien sur une œil = 2 points.

En additionnant ces précurseurs sur les deux yeux, on détermine un score prédictif du risque de DMLA à 5 ans (Tableau n°3). Ceux-ci, sont répartis sur une échelle comportant 5 stades :

- Stade 0 : 0,5% de risque de développer une DMLA.
- Stade 1 : 3% de risque de développer une DMLA.
- Stade 2 : 12% de risques de développer une DMLA.
- Stade 3 : 25% de risques de développer une DMLA.
- Stade 4 : 50% de risques de développer une DMLA.

Tableau n°3 : risques prospectifs de DMLA avérée à 5 ans selon le stade de précurseurs au fond d'œil selon le rapport n°18 du groupe de travail de l'AREDS.

Critères	Œil controlatéral indemne de DMLA avérée.	Œil controlatéral avec DMLA avérée.
1 point	3 %	
2 points	12 %	15 %
3 points	25 %	35 %
4 points	47 %	53 %

Indications des thérapeutiques préventives (Figure n°35) :

- ✓ Avant l'âge de 50 ans : il est recommandé de diminuer l'IMC en dessous de 25, de lutter contre le tabagisme. Il faut aussi mettre en place un traitement de l'hypercholestérolémie en cas de dyslipidémie.
- ✓ Individus présentant des drusens miliaires non confluent ou des modifications pigmentaires (stade 1 et 2 de la classification AREDS) : en fonction de l'âge du patient, un apport supplémentaire en lutéine et/ou en DHA peut être conseillé. En effet, si le patient présente des drusens miliaires à l'âge de 90 ans, cela peut être considéré comme une évolutivité normale de la maladie, alors qu'à 50 ans cela est plus préoccupant et nécessite une supplémentation.
- ✓ Patients présentant des drusens séreux et/ou drusens bleus (Stade 3 de l'AREDS) : chez ces patients ayant un plus haut risque d'évolution défavorable de la maladie, la supplémentation en Zinc et en vitamines anti-oxydante a démontré son efficacité, et doit donc être proposé avant une bilatéralisation de la maladie.
- ✓ Patients atteints d'une forme exsudative de la DMLA sur 1 œil : en raison du risque accru de développement de la maladie au sein du second œil (élévation du risque de 12% chaque année), il est important d'avoir un suivi ophtalmologique régulier, une auto-surveillance accrue et une supplémentation en DHA.

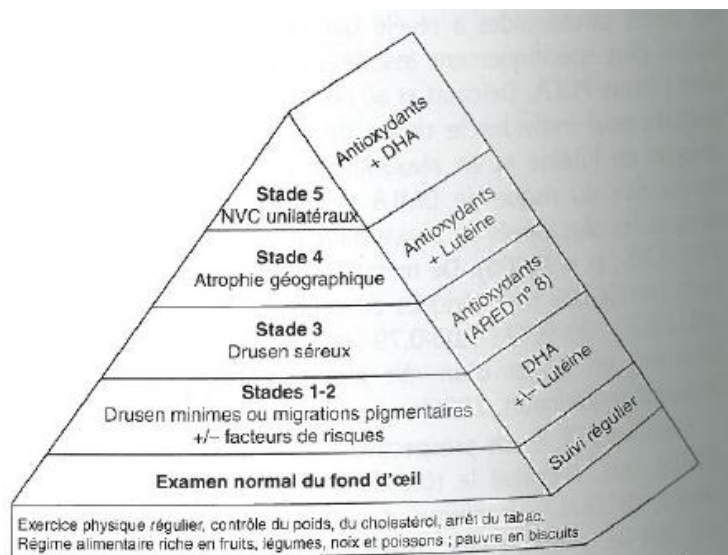


Figure n° 35 : Pyramide du traitement préventif de la DMLA fondée sur l'examen du fond d'œil, à partir de 55 ans.

C. Prise en charge au comptoir des patients atteints de DMLA :

L'article n°38 de la loi HPST (Hôpital, Patients, Santé, Territoire) de 2009, reconnaît aux pharmaciens de nouvelles missions. L'une d'elle intègre le fait que le pharmacien d'officine doit contribuer aux soins de premier recours, qui comprennent la prévention, le dépistage, la dispensation des médicaments et l'éducation pour la santé. Dans le cadre de la DMLA, le pharmacien d'officine peut répondre à l'ensemble de ces missions.

a) La Prévention :

Le pharmacien en tant que professionnel de santé, se doit de relayer les campagnes d'information concernant la DMLA au près du grand public. Il doit être capable de répondre aux différentes interrogations des patients concernant cette pathologie. Le pharmacien peut rappeler au patient, les premiers signes évocateurs de la DMLA (baisse de l'acuité visuelle, déformation des lignes droites, apparition d'une tâche sombre dans le centre de la vision, sensation de manque de lumière pour lire). Il doit aussi être capable de conseiller le patient sur la conduite à tenir en cas d'apparition de l'un de ces symptômes. A savoir, orienter le patient vers la consultation en urgence de son ophtalmologiste. Enfin, le pharmacien peut aussi prévenir la DMLA, en préconisant aux personnes à risque (antécédents familiaux de DMLA, présence de facteurs de risques...) de se faire dépister régulièrement. Dès l'âge de 55 ans, une

visite chez l'ophtalmologiste annuelle est conseillée. En ce qui concerne les mesures hygiéno-diététiques, il pourra aussi conseiller aussi à l'ensemble de ces patients à risque d'avoir un régime alimentaire riche en oméga-3, en lutéine, zéaxanthine, en vitamines C et E, en acide gras et en oligoéléments. Pour cela, le pharmacien pourra conseiller à ses patients de manger :

- des légumes (choux, épinards, brocolis, navet, carottes, céleris..) au moins 4 fois par semaine.
- des poissons gras riche en oméga-3 (saumon, hareng, truite, thon, maquereau) au moins 2 fois par semaine.
- de favoriser les huiles de colza et de noix pour assaisonner ses salades.
- de favoriser les fruits riches en Vitamines E et C tels que le kiwi, les agrumes, le cassis, les fraises, les mangues, les mûres, les groseilles... et les légumes : poivrons, brocolis, fenouil, épinard... → au moins 1 crudité et 1 fruit à chaque repas. Ne pas hésiter à agrémenter ses plats de persil ou autres herbes hachées.
- de manger de la viande rouge, ou d'autres produits de la mer au moins 2 fois par semaines. Cela permet d'apporter en quantité suffisante les oligo-éléments importants. Le pain complet est également conseillé.

b) Le Dépistage :

Le pharmacien est le professionnel de santé de proximité pour la majorité des français. Ce qui lui confère un rôle majeur dans le dépistage. Il est important que le pharmacien rappelle au patient ayant déjà une DMLA, de surveiller le second œil en réalisant le test de la grille d'Amsler. Le pharmacien doit donc rappeler au patient la nécessité de réaliser ce test simple au moins 1 fois par mois, pour pouvoir traiter le plus tôt possible toute apparition de la maladie. Car, comme nous l'avons vu les traitements actuels ne servent qu'à maintenir l'acuité visuelle, il est donc préférable de ne pas attendre trop longtemps avant de se faire traiter. Un diagnostic précoce est donc essentiel pour ne pas avoir une baisse visuelle importante et donc préserver la qualité de vie des patients.

c) La dispensation des médicaments :

Chez les patients atteints de DMLA exsudative, lors de son rôle de dispensation, le pharmacien doit être capable de répondre aux différentes interrogations des patients. En effet, la procédure d'une injection en intra-vitréen peut faire peur à la plupart des patients. Le pharmacien doit donc être présent pour expliquer aux patients comment se déroule le geste de

l'ophtalmologiste, le rassurer sur le fait que cela est indolore. Cela permet d'améliorer l'observance du patient, et que sa pathologie ne s'aggrave pas. Il est important de préciser au patient, qu'il ne sera pas en mesure de conduire suite à l'injection et qu'il doit se faire accompagner. Lors de la dispensation de ces médicaments, il faut aussi rappeler aux patients les mesures à respecter concernant la chaîne du froid pour conserver ces médicaments.

En ce qui concerne les médicaments utilisés en prévention dans le cadre de la DMLA sèche, le pharmacien doit être capable de conseiller le patient. Ces médicaments sont le plus souvent prescrits par l'ophtalmologue, mais le patient peut être amené à avoir des questions auxquelles, le pharmacien doit être capable de répondre. Par exemple :

- ***A quoi sert ce médicament ?***

→ ce complément alimentaire présente un intérêt pour prévenir la DMLA, on l'utilise à la fois dans les formes précoces de la maladie, mais aussi dans les formes tardives (DMLA sèche ou humide). Il est aussi possible de les utiliser en prévention si vous présentez des facteurs de risques importants de déclarer une DMLA.

- ***Sont-ils efficaces réellement pour prévenir la DMLA ?***

→ une étude importante a révélé que la prise quotidienne de vitamines et de zinc à hautes doses diminue de 25% la probabilité de développer une DMLA chez les personnes à haut risque de développer une DMLA, à 5 ans. Ces compléments alimentaires, permettent donc de restaurer le statut anti-oxydant, et donc de lutter contre le stress oxydatif à l'origine du vieillissement de l'œil et de la DMLA. Ils contiennent aussi de la lutéine et de la zéaxanthine, ainsi que des acides gras de la famille des oméga-3 qui possèdent un effet protecteur au niveau de la rétine.

- ***Comment faut-il prendre ce complément alimentaire ?***

→ pour favoriser l'absorption de ces composants, il est préférable de le prendre au cours du repas, ce qui permettra d'augmenter son efficacité. Il est important de le prendre en continu, et de respecter les doses prescrites afin d'obtenir les bénéfices escomptés. La prise de ce complément alimentaire doit s'accompagner d'une prise alimentaire variée et équilibrée ; à cela, peut s'ajouter aussi les recommandations concernant l'activité physique et le tabac.

- ***Pourquoi dois-je prendre un complément alimentaire alors que je fais déjà des piqûres dans mon œil malade ?***

→ les piqûres que l'ophtalmologue réalise dans votre œil ont pour but de réduire la formation de nouveaux vaisseaux, qui sont responsables de votre perte visuelle. Le médecin vous préconise de prendre des compléments alimentaires pour préserver votre deuxième œil,

car cette maladie se bilatéralise fréquemment. La prise d'un traitement par voie intravitréenne n'empêche donc pas la prise de ce complément alimentaire.

- ***Y-a-t-il des risques concernant la prise de ces compléments alimentaires ?***

→ la fabrication des compléments alimentaires est soumise à une réglementation stricte, le pharmacien est en charge de ne vous délivrer que des produits d'origine contrôlée, répondant donc à ces normes. Ce qui n'est pas forcément le cas sur internet, par exemple. De plus, ces produits sont suivis par un système de surveillance en France, afin de protéger la santé des consommateurs, c'est la nutrivigilance. Cela permet de recenser tous les effets indésirables d'un complément alimentaire, et de tirer la sonnette d'alarme si nécessaire, afin de retirer les produits potentiellement néfastes du marché.

- ***Ce complément alimentaire ne va pas interférer avec tout ce que je prends déjà ?***

→ lors de la prescription de ce type de complément alimentaire, le pharmacien devra vérifier que le patient ne prend pas d'autres compléments alimentaires, pour éviter tout risque de surdosage. Il faudra aussi surveiller la prise ou non d'anti-coagulant de type antivitamine K (Previscan[®], Coumadine[®], Sintron[®]), car les oméga-3 peuvent augmenter l'effet anti-coagulant de ces produits. Un avis médical peut donc être nécessaire, car le traitement devra potentiellement être réajusté.

d) Education à la santé :

Dans le cadre de la DMLA, les entretiens pharmaceutiques ne sont pas encore mis en place à ce jour, néanmoins le pharmacien peut tout de même éduquer le patient. Il est important que le patient comprenne ce qu'est sa pathologie, afin d'améliorer son observance. En effet, le patient sera plus observant s'il comprend sa pathologie, or il ne pourra malheureusement pas rechercher des informations par lui-même car la DMLA rend la lecture difficile. Pour cela, il faudra employer des mots simples, compréhensibles, mais aussi savoir être à son écoute et empathique.

Les patients atteints de la DMLA perdent petit à petit la vision, et par conséquent leur autonomie. Des gestes simples de la vie quotidienne deviennent compliquer à réaliser. Par exemple, il devient difficile à la personne de lire son journal, de conduire, puis arrive la perte de l'écriture, et enfin les difficultés à se nourrir soi-même (incapacité à couper sa viande, à piquer ses aliments dans son assiette...). Cela peut aller jusqu'à l'impossibilité de regarder la télévision, l'incapacité de reconnaître ses proches. A chaque nouvelle perte d'autonomie, c'est une nouvelle épreuve pour le moral de la personne, qui plus est lorsqu'elle a été active durant

toute sa vie et autonome. Il est donc essentiel que le pharmacien soit là, pour écouter le patient et l'accompagner au mieux dans sa maladie. Le pharmacien doit savoir réorienter le patient vers les différents professionnels de santé qui peuvent l'aider à surmonter la maladie. Par exemple, le pharmacien peut réorienter son patient vers un psychologue pour qu'il puisse parler de sa maladie, de son ressenti ; ou vers un psychiatre si le pharmacien voit que la situation du patient le fait tomber dans la dépression. Le pharmacien doit apporter les aides techniques possibles pour faciliter la vie de la personne malade, mais aussi celle de son entourage. Différents instruments d'aide à l'autonomie sont possibles pour ces patients :

- Les écrans agrandisseur d'image par exemple, pour faciliter la lecture et l'écriture des patients.

- Pour ce qui est des traitements médicamenteux autres que pour la DMLA, le pharmacien peut proposer dans un premier temps d'écrire sur les boîtes le nom du médicament en gros caractère pour faciliter la prise. Si, malgré cette aide, le patient éprouve toujours des difficultés pour la prise de ses médicaments, le pharmacien pourra lui proposer de réaliser son pilulier à la semaine. Voir de lui réaliser une préparation de doses à administrer chaque mois, s'il en est équipé au sein de son officine.

- Avec la perte visuelle, il devient difficile pour la personne de téléphoner à ses proches, il est donc essentiel de trouver un téléphone fixe avec de grosses touches pour que la personne puisse les distinguer. De même pour les téléphones portables, bien que cela soit plus rare, il existe aujourd'hui des téléphones avec un bouton d'urgence afin d'appeler directement ses proches en cas de problèmes.

- L'utilisation d'un système d'appel d'urgence avec pendentif, peut être indispensable en cas de chute pour prévenir ses proches.

- Il est important aussi que le pharmacien se propose de venir chez son patient pour faire le tour de sa maison, afin de vérifier tout risque de chutes (fil qui traîne, tapis, chaussons inadaptés...) et d'y remédier si possible avec l'aide des proches. Lors de cette visite, le pharmacien pourra aussi faire le tour de l'armoire à pharmacie pour éliminer tous les médicaments non nécessaires au domicile et éliminer tous les médicaments périmés.

- L'altération visuelle ne permet plus à la personne de lire seul sa montre, il faut savoir qu'il existe des montres parlantes, qui permettent à la personne de savoir l'heure en appuyant sur le cadran.

- Les télécommandes des téléviseurs sont bien souvent très complexes pour les personnes âgées de nos jours. Il existe donc des télécommandes simplifiés pour les malvoyants.

- Avec la progression de la maladie, l'altération visuelle peut s'amplifier (surtout avec la DMLA sèche). Le patient peut devenir incapable de regarder sa télévision, il est possible de lui conseiller d'acheter un retroprojecteur afin d'agrandir au maximum l'image.

- Pour ce qui est des personnes seules, il leur est difficile de faire la cuisine elle-même, lorsque la pathologie est à un stade avancé. Il faut donc leur préconiser d'appeler leur mairie, car bien souvent il y a des services d'aides à disposition des personnes âgées pour leur fournir les repas, leur faire le ménage, voire même la toilette.

- En France, les aidants sont peu souvent considérés à leur juste valeur, bien qu'eux aussi souffrent parfois de la situation. Il est pourtant important de les écouter eux aussi, afin de les soutenir dans leur démarche, pour éviter que leur état de santé se dégrade également. En effet, un « bonjour monsieur » involontaire du malade, lié à la perte visuelle ; et le morale des aidants peut être atteint.

Le pharmacien d'officine a donc un rôle d'écoute, d'éducation et d'accompagnement essentiel à jouer dans cette pathologie.

2. Traitement Anti-VEGF : comparaison, réponse au traitement :

A. Traitements anti-VEGF utilisés dans la DMLA exsudative :

Les principales thérapies de la DMLA exsudative se composent de médicaments agissant sur la formation des néovaisseaux (Figure n°36). La cible thérapeutique actuellement utilisée est le VEGF, jouant un rôle essentiel dans le processus de l'angiogénèse. Les principales molécules utilisées sont donc des anti-VEGF. Ils vont limiter la formation de néovaisseaux (Figure n°37).

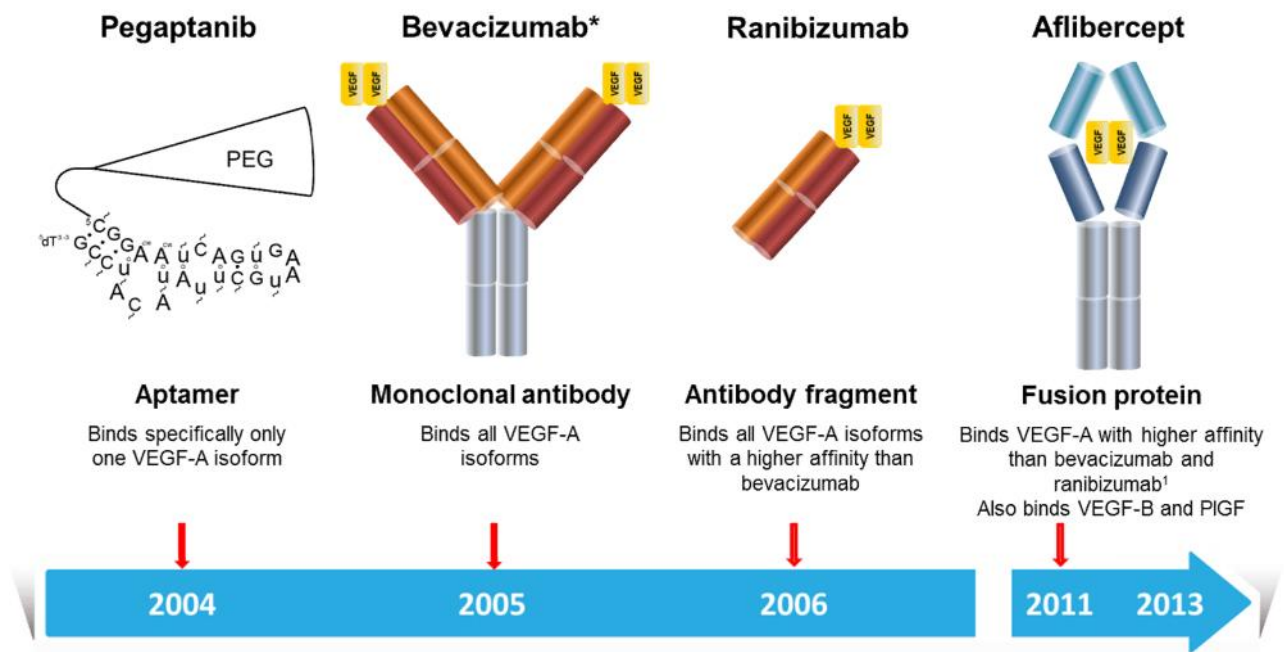


Figure n°36 : Anti-VEGF utilisés dans la DMLA - le bevacizumab est un anticorps monoclonal se liant aux isoformes du VEGF-A, le ranibizumab est un fragment d'anticorps se liant aux isoformes du VEGF-A avec une meilleure affinité que le bevacizumab, l'Aflibercept est une protéine de fusion que se lie au VEGF-A, au VEGF-B, et au PlGF. (Pharma, 2015)

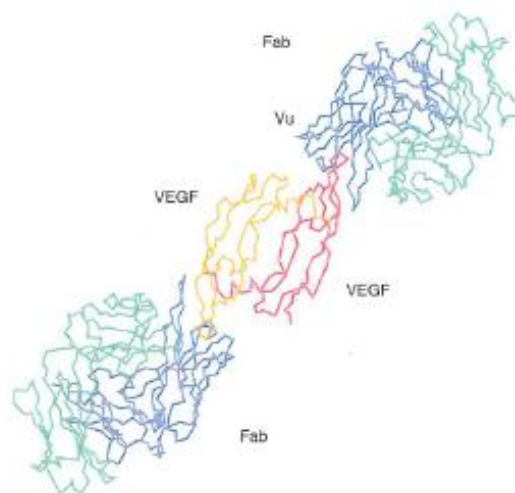


Figure n°37 : Interaction entre le VEGF (jaune et rouge) et deux fragments Fab d'anticorps dirigés contre le VEGF (en vert et bleu). (Soubrane, 2007)

a) Le Bévacicumab : Avastin®

Structure : Le bévacizumab est un anticorps monoclonal humanisé de type IgG1 de 148kDa, qui va se lier à toutes les isoformes du VEGF et inhibe leur activité (Figure n°38). Il s'agit

d'une IgG modifiée par transfert des fragments Fab anti-VEGF d'origine murine. Il a été développé en 2004 par les laboratoires Roche.

Cette molécule possède une moins bonne constante d'affinité vis-à-vis du VEGF que le ranibizumab. Néanmoins sa demi-vie est deux fois plus longue que celle du ranibizumab avec 5,6 jours, contre 3,2 pour le ranibizumab.

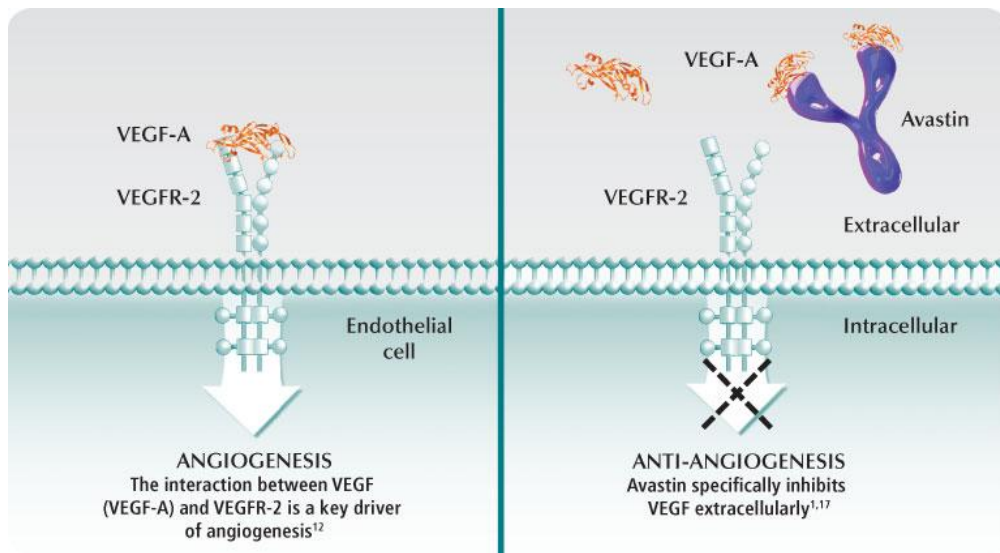


Figure n°38 : Illustration de l'activité de l'Avastin[®] sur l'angiogénèse – sur la partie gauche de l'image, le VEGF-A se fixe sur le VEGF-R2 présent à la surface des cellules endothéliales et induit l'angiogénèse. Sur la partie de droite, on peut voir qu'en présence d'Avastin, le VEGF-A est capté par l'avastin, ce qui empêche la liaison au VEGF-R2 et donc empêche l'angiogénèse. (Genetech, 2016)

Utilisation : L'Avastin[®] est une molécule ayant des indications pour le traitement des cancers. Ce n'est que par la suite qu'elle a été utilisée hors AMM dans la DMLA. L'Avastin[®] présente donc des indications dans :

- Le cancer du sein métastatique : traitement de 1^{ère} ligne du cancer du sein métastatique, en association avec le paclitaxel ou de la capécitabine. A une posologie de 10mg/kg tous les 15 jours, ou de 15mg/kg toutes les 3 semaines.
- Le cancer colorectale métastatique : en association avec de la fluoropyrimidine à raison de 5 mg/kg à 7,5 mg/kg toutes les 2 à 3 semaines.
- Le cancer bronchique non à petites cellules non opérable : traitement initial en association avec des sels de platines, puis en monothérapie par du bévacicumab.
- Le cancer du rein avancé ou métastatique : traitement de première ligne en association avec de l'interféron alfa-2a ; à raison de 10 mg/kg toutes les 2 semaines.

- Le cancer épithéliale avancé de l’ovaire, des trompes de Fallope ou péritonéale primitif chez la femme : cela se fait le plus souvent en association avec de la carboplatine et du paclitaxel.
- Le cancer du col de l’utérus : s’utilise en association avec du paclitaxel et cisplatine ou paclitaxel et topotécan. A raison de 15 mg/kg d’Avastin® toutes les 3 semaines.

Le bévacicumab n’existe que sous la forme intra-veineuse, et s’utilise donc sous cette forme dans le traitement des cancers. Il va agir sur les tumeurs en diminuant leur prolifération. En effet, cette molécule étant un anti-VEGF, elle va inhiber la prolifération de l’angiogénèse, nécessaire au développement de néovaisseaux, essentiels à la nutrition des cellules tumorales, et donc à la croissance tumorale.

Néanmoins, après la découverte du ranibizumab et de son efficacité dans la forme humide de la DMLA, le bévacicumab a été utilisé hors AMM pendant plusieurs années. Le bévacicumab étant disponible à l’hôpital sous un seul type de conditionnement, des flacons de 4mL à la concentration de 25 mg/mL. Or dans le cadre de la DMLA, la dose finale injectée doit être de 1,25 mg dans 50 µL. Le reconditionnement de ce médicament est actuellement fait au sein des pharmacies hospitalières sous hôte à flux laminaire, et consiste en la mise de 100 µL de substrat à la concentration initiale dans une seringue de 1 mL. En raison de l’utilisation de plus en plus fréquente de cette molécule dans le cadre de la DMLA, de nombreuses données sont apparues concernant l’efficacité, la tolérance et la sécurité d’utilisation de cette molécule dans ce contexte thérapeutique.

En Octobre 2014, l’ANSM a donc demandé au laboratoire Roche, qui commercialise la molécule, l’ensemble des données qu’il a pu recueillir. Cela a permis à l’ANSM de délivrer une RTU : Recommandation Temporaire d’Utilisation afin de mieux encadrer l’utilisation hors AMM de l’Avastin® dans la DMLA. Cette RTU est entrée en vigueur le 1^{er} septembre 2015, obligeant le laboratoire à développer une forme ophtalmologique de ce médicament. Cette RTU sera renouvelable au bout de trois ans, en fonction des résultats de sécurité et d’efficacité qui vont paraître au cours de ces années.

Mode d’administration : l’Avastin® a reçu en Juin 2015 une autorisation temporaire d’utilisation dans le cadre de la DMLA néovasculaire émanant du directeur général de l’ANSM, puis il a reçu l’autorisation de remboursement par le ministre de la santé au mois d’Aout 2015.

La dose d'Avastin® administrée doit être de 1,25 mg, ce qui équivaut à 0,05 mL. Cette injection doit être réalisée en milieu hospitalier par un professionnel de santé capable de réaliser les injections intra vitréennes. L'ANSM ordonne que les seringues prêtes à l'emploi soient préparées par les pharmacies à usage intérieur des établissements de santé ayant la capacité de réaliser des préparations injectables, celles-ci devant respecter les bonnes pratiques de préparation. L'ensemble des données concernant la réalisation de ces préparations (prescripteur, nom du patient, spécialité, n° de lot, n° d'enregistrement de la préparation, ...) doivent être conservés pour avoir la meilleure traçabilité possible.

En ce qui concerne le schéma de posologie, l'ANSM rappelle qu'il doit y avoir au minimum 4 semaines entre chaque injection intra vitréenne. Et que le traitement devra être initié à raison de 1 injection par mois, jusqu'à ce que l'acuité visuelle maximale soit atteinte ou que la maladie ne montre plus de signes d'évolutivité (absence de diminution de l'acuité visuelle). Puis l'intervalle de temps entre chaque injection devra être réévalué par le médecin pour maintenir l'acuité visuelle.

L'ANSM rappelle aussi que les patients traités par le bévacizumab en injection intra vitréenne peuvent suivre le protocole « treat and extend ». Les injections intra-vitréennes peuvent donc être espacées lorsque l'acuité visuelle maximale est atteinte et/ou lorsqu'il n'y a plus de signes d'évolutivité de la maladie, jusqu'à ce qu'il y ait réapparition de signes de la maladie. L'intervalle de traitement ne devant pas être prolongé de plus de 2 semaines à la fois. En cas de réapparition de signes de la maladie, l'intervalle entre les injections doit être réduit en conséquence.

b) Le Ranibizumab = LUCENTIS®

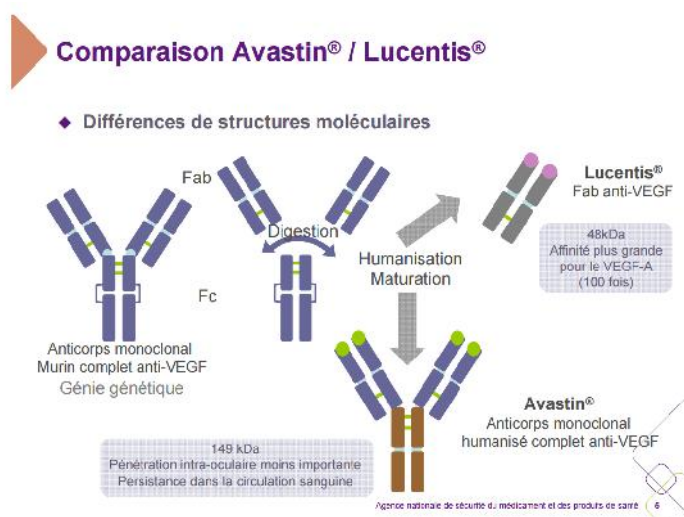


Figure n°39 : Comparaison entre le Bêvacizumab et le Ranibizumab – le bevacizumab est un anticorps monoclonal, il comporte donc deux chaînes lourdes et deux chaînes légères. Tandis que le ranibizumab est un fragment d'anticorps et ne contient donc le fragment Fab d'un anticorps.

Cette molécule a été mise sur le marché pour la première fois en 2006, aux États-Unis après avoir reçu l'autorisation par la FDA (*Food and Drug Administration*). Le ranibizumab (Figure n°39) est un fragment Fab d'anticorps monoclonal recombinant de souris et d'humain. Cet anticorps monoclonal humanisé est produit au sein de cellules d'*Escherichia Coli* par la technologie de l'ADN recombinant. Il est donc constitué de deux parties :

- Une partie humanisée qui vise à diminuer l'antigénicité de cette molécule, c'est-à-dire diminuer les risques de réactions immunitaires vis-à-vis du médicament.
- Une partie murine, qui présente une grande affinité de liaison au VEGF. Cette partie de la molécule, lui permet de se fixer au niveau du VEGF-A, ainsi que sur ses différentes isoformes (VEGF110, VEGF121, VEGF165) responsables en grande partie de la néo-vascularisation présente dans la physiopathologie de la DMLA humide. Cette liaison va donc empêcher la liaison au VEGF-R1 et VEGF-R2, qui est en cause dans l'initialisation de l'angiogénèse choroïdienne. Le ranibizumab se fixe au niveau de l'acide aminé 80 du VEGF-121 et 165.

Sa demi-vie est de 3,2 jours, cela est lié à la taille moléculaire. En effet, elle joue un rôle majeur sur la diffusion vitréo-rétinienne. De plus la membrane de Bruch peut agir comme une barrière supplémentaire à la diffusion dans la choroïde, entraînant une accumulation de la molécule dans l'épithélium pigmentaire rétinien.

Le Ranibizumab a été évalué dans différentes études en double aveugle, avant d'être commercialisé. Cela regroupe deux études, l'étude ANCHOR et MARINA, sur une durée totale de traitement de 2 ans, chez 1323 patients (dont 879 traités par le ranibizumab).

Etude MARINA : cette étude s'est conduite sur 716 patients atteints de DMLA présentant des néovaisseaux choroïdiens occultes. Deux doses de ranibizumab 0,3 mg (238 patients) et 0,5 mg (240 patients) ont été comparées à des injections simulées (temoins). Le critère principal de stabilisation de la vision (est une perte de moins de quinze lignes d'acuité visuelle à l'examen final par rapport à l'examen initiale). Il a été rempli dans 92% des yeux traités contre 52,9% dans le groupe non traité. Tandis que le critère secondaire est l'amélioration de l'acuité visuelle et/ou plus d'acuité visuelle par rapport à l'inclusion a été constaté dans 33,3% des patients traités contre 3,8% pour les non traités. Il a pu être mis en évidence au cours de cette étude que les patients traités par le ranibizumab 0,5 mg ont un gain de 21,4 lettres d'acuité visuelle par rapport au groupe non injecté. (Tableau n°4)

Etude ANCHOR : cette étude a cherché à comparer la photothérapie dynamique au traitement par le ranibizumab. Le ranibizumab agit en empêchant la fixation du VEGF sur son récepteur, alors que la photothérapie dynamique réalise quant à elle, une occlusion directe des néovaisseaux choroïdiens. Cette étude s'est réalisée sur 426 patients (Figure n°40). Elle a pu mettre en évidence que le ranibizumab présente une meilleure efficacité. En effet, avec le ranibizumab, les résultats à 24 mois ont montré que les patients avaient une perte d'acuité visuelle de moins de 15 lettres dans 89,9% des cas, alors qu'avec la photothérapie dynamique, cela n'est que de 65,7%. De même en ce qui concerne les gains d'acuité visuelle, le ranibizumab est meilleur avec une amélioration de 15 lettres ou plus dans 41% des cas, alors qu'il n'est présent que dans 6,3% des cas pour la photothérapie dynamique.

Mesure du résultat	Mois	FVF2598g (MARINA)		FVF2587g (ANCHOR)	
		Injection simulée (n = 238)	Lucentis 0,5 mg (n = 240)	PDT par la vertéporfina (n = 143)	Lucentis 0,5 mg (n = 140)
Perte < 15 lettres d'acuité visuelle (%) ^(a) (conservation de la vision, critère principal)	Mois 12	62 %	95 %	64 %	98 %
	Mois 24	53 %	90 %	66 %	90 %
Gain ≥ 15 lettres d'acuité visuelle (%) ^(a)	Mois 12	5 %	34 %	5 %	40 %
	Mois 24	4 %	33 %	5 %	41 %
Variation moyenne de l'acuité visuelle (lettres)[ET] ^(a)	Mois 12	- 10,5 (16,6)	+ 7,2 (14,4)	- 9,5 (16,4)	+ 11,3 (14,6)
	Mois 24	- 14,9 (18,7)	+ 6,6 (16,5)	- 9,8 (17,5)	+ 10,7 (16,5)

^(a) p < 0,01.

Tableau n° 4 : Résultats à 12 mois et à 24 mois dans l'étude Marina et Anchor.

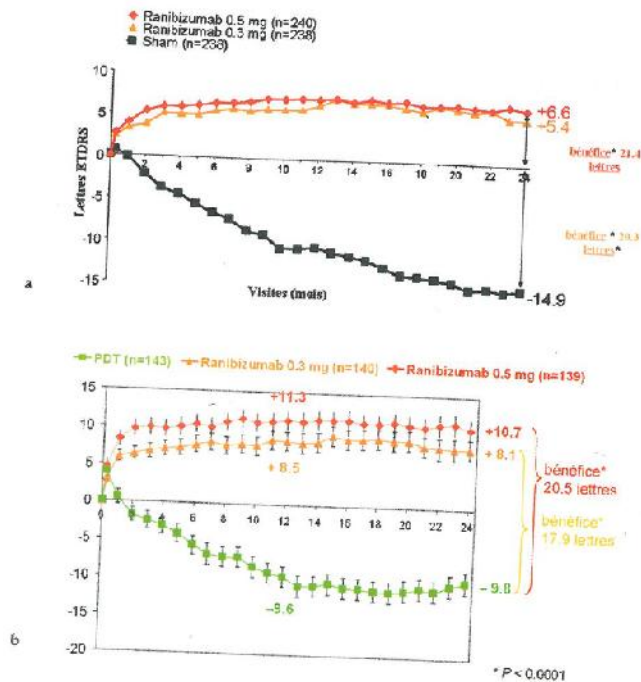


Figure n°40 : Évolution de l'acuité visuelle moyenne à 24 mois, traités par ranibizumab 0,3 mg et 0,5 mg, dans l'étude MARINA (a) et ANCHOR (b) – (a) Le nombre de lettres EDTRS est nettement diminué chez les témoins, tandis que chez les personnes traitées par Ranibizumab, il y a un gain visuel. (b) de même, lors de l'étude ANCHOR. Un bénéfice de 20,5 lettres EDTRS apparaît chez les gens traités par le ranibizumab par rapport aux témoins (Soubrane, 2007).

Mode d'administration : Le ranibizumab s'injecte en intra-vitréen (Figure n°41), cela est donc réalisé par un ophtalmologiste.

- Avant l'injection :

- Anesthésie : l'œil est anesthésié par un collyre anesthésiant, type Cebesine®.
- Désinfection : la paupière et la surface oculaire sont désinfectées par un produit antiseptique pour limiter le risque d'infections.
- Déroulement : le patient est installé en position semi-assise ou allongée, puis on lui place un champ opératoire stérile et un écarteur à paupières est mis en place.
- Injection : l'ophtalmologiste peut alors procéder à l'injection à travers la sclère (partie blanche de l'œil) à l'aide d'une aiguille très fine. Cela se fait à un endroit précis de l'œil afin de ne pas altérer la vision, et ne dure que quelques secondes.

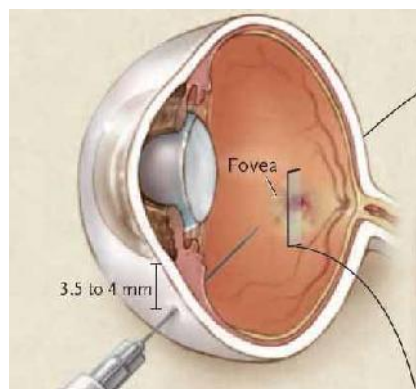


Figure n°41: Illustration d'une injection intra-vitréenne – l'injection se fait 3,5 à 4 mm en dessous de la pupille. L'aiguille est alors orientée en direction de la fovéa.

- Désinfection : un collyre antibiotique est ensuite administré pour prévenir toutes infections liées à l'injection.

- Après l'injection :

- Il est possible qu'une rougeur apparaisse dans le blanc de l'œil, au niveau de l'injection.
- Il est possible d'avoir des tâches dans la vision.
- Il est possible de devoir instiller un collyre antibiotique durant quelques jours.
- Si l'œil devient rouge, sensible à la lumière, douloureux ; il peut être nécessaire de consulter votre ophtalmologiste en urgence.
- Certaines activités peuvent vous être déconseillées par votre spécialiste. (ex : conduite automobile).

Fréquence d'administration :

L'étude PIER (Figure n°42) porta sur 184 patients, elle visait à trouver la meilleure fréquence d'administration, chez les patients atteints de DMLA exsudative ayant des néovaisseaux occultes. Lors des 3 premiers mois de traitement, il était administré une fois par mois du ranibizumab 0,3 ou 0,5 mg ou des injections simulées (témoins). Puis par la suite, les patients ne recevaient plus qu'une injection tous les 3 mois. Il a alors été mis en évidence une stabilisation de la vision à 1 an, chez 90% des patients traités par du ranibizumab 0,5 mg, contre 83% pour le ranibizumab 0,3 mg et 49% chez les patients non traités. Après une augmentation initiale (suite à l'administration de doses mensuelles), l'acuité visuelle des patients a diminué en moyenne lors d'administrations trimestrielles, pour revenir à la valeur initiale au 12^{ème} mois. Cet effet a été conservé à 2 ans chez la plupart des patients traités par le

ranibizumab (82 %). Une initiation précoce du traitement serait associée à une meilleure préservation de l'acuité visuelle.

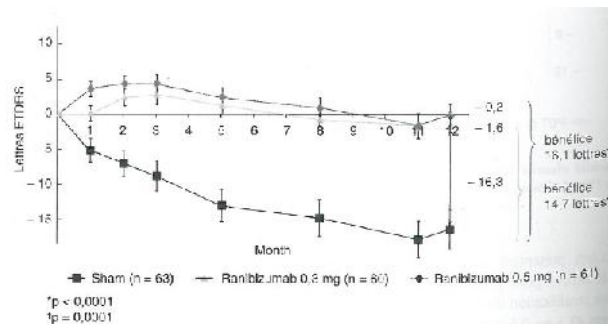


Figure n°42: Évolution de l'acuité visuelle moyenne (lettres), entre les groupes traités par ranibizumab à 0.3 mg et 0.5 mg en injection trimestrielle après trois injections mensuelles et le groupe non traité dans l'étude PIER – il est possible de voir que les témoins ont en moyenne une perte visuelle de 14,7 lettres EDTRS par rapport au patient traités par ranibizumab à 1 an (Soubrane, 2007).

D'après les études PIER, MARINA et ANCHOR, une nouvelle stratégie thérapeutique a été élaborée, en ce qui concerne le rythme d'injections. Celui-ci a été divisé en deux périodes :

- La première période fixe qui correspond à une injection mensuelle pendant les trois premiers mois de traitement. Cela va permettre d'obtenir un effet plateau au niveau de l'efficacité.
- Une seconde période de maintien avec une fréquence d'injection variable, en fonction de l'acuité visuelle, de l'aspect des lésions en angiographie à la fluorescéine.

Les dernières publications rapportent que les patients qui reçoivent du Lucentis® moins d'une fois par mois, gardent tout de même la même efficacité que celle obtenue en début de traitement avec une injection par mois. Après initialisation du traitement avec une injection par mois pendant trois mois, les injections peuvent être espacées à tous les 3 mois en espaçant petit à petit les injections de 15 jours ; ce protocole se nomme : « treat-and-extend ». Néanmoins, l'ophtalmologiste peut décider de rapprocher les injections en cas d'évolutivité de la maladie, ce qui permettra d'avoir de nouveau un gain d'acuité visuelle. Une surveillance mensuelle s'avère donc nécessaire avec ce type de thérapie, pour surveiller l'évolution de la pathologie ou non. Cette surveillance consiste en la réalisation d'une évaluation de l'acuité visuelle, un examen biomicroscopique, une angiographie à la fluorescéine et en infrarouge à l'indocyanine, et une OTC ; ce type de surveillance doit être réalisée pendant au moins 6

mois. En cas d'évolutivité de la maladie, une photothérapie dynamique peut être réalisée quinze jours avant l'injection de ranibizumab prévue.

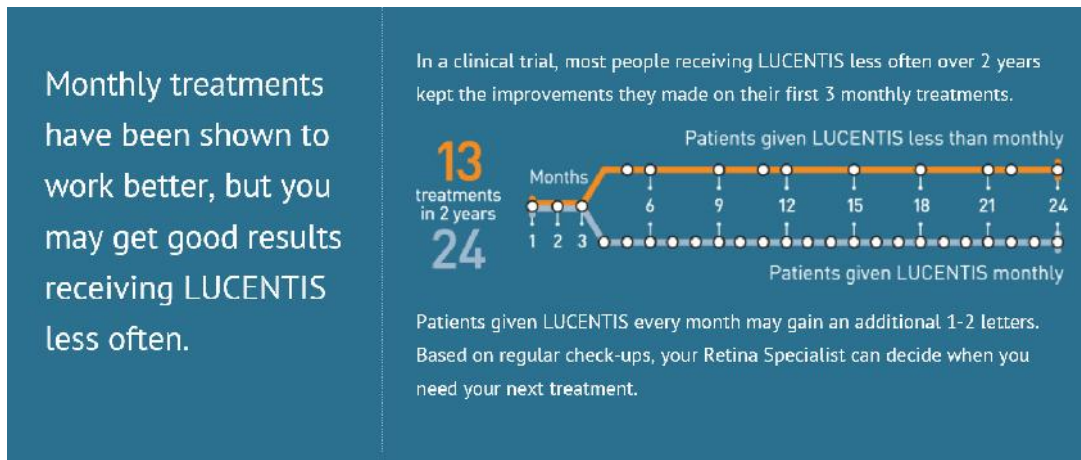


Figure n°43 : Schéma illustrant les différents protocoles d'injection et montrant qu'une seule injection trimestrielle est suffisante après 3 injections mensuelles.

Effets indésirables et risques liés au mode d'injection :

- Effets indésirables concernant l'injection : touchent 0,1% des patients :
 - o Infection sévère de l'œil.
 - o Apparition d'une cataracte (opacification du cristallin).
 - o Apparition d'un décollement de la rétine.
 - o Apparition d'une inflammation intra-oculaire.
 - o Augmentation de la pression intra-oculaire. Cela nécessite donc une surveillance de cette dernière, par l'ophtalmologiste, pendant la semaine qui suit l'injection.
 - o AVC, infarctus du myocarde...

Effets indésirables concernant le Lucentis® :

- o Affections ORL : rhinopharyngites, toux.
- o Affections Oculaires :
 - Très fréquent : hyalite, décollement du vitré, hémorragies rétinienne, troubles visuels, douleurs oculaires, corps flottants vitréens, hémorragies conjonctivales, irritations oculaires, sensation de corps étranger dans l'œil, sécrétion lacrymale accrue, blépharite, sécheresse oculaire, hyperhémie oculaire, prurit oculaire.
 - Fréquent : dégénérescence rétinienne, affection de la rétine, décollement de la rétine, déchirure rétinienne, décollement de l'épithélium pigmentaire rétinien,

déchirure de l'épithélium pigmentaire rétinien, baisse de l'acuité visuelle, hémorragies vitréennes, affections vitréennes, uvéite, iritis, iridocyclite, cataracte, cataracte sous-capsulaire, opacification de la capsule postérieure, kératite ponctuée, abrasion de la cornée, effet Tyndall dans la chambre antérieure, vision trouble, hémorragie au point d'injection, hémorragies oculaires, conjonctivite, conjonctivite allergique, sécrétions oculaires, photopsie, photophobie, gêne oculaire, œdème palpébral, douleur palpébrale, hyperhémie conjonctivale.

- Peu fréquent : cécité, endophtalmie, hypopyon, hyphéma, kératopathie, synéchie de l'iris, dépôts cornéens, œdème cornéen, stries cornéennes, douleur au point d'injection, irritation au point d'injection, sensation intraoculaire anormale, irritation palpébrale.
 - Affection rhumatismale : douleurs articulaires.
 - Affection bronchique : toux, infections.
 - Affection immunitaire : Hypersensibilité.
 - Affection hématologique : anémie.
 - Affection intestinale : nausée.
 - Affection du système nerveux : céphalées.
 - Affection psychique : anxiété.
 - Infections et infestations : rhinopharyngite et infections des voies urinaires.
 - Affections respiratoires : toux.
 - Affections de la peau et du tissu sous-cutané : réactions cutanées de type allergique (rash, urticaire, prurit).
 - Affections musculosquelettiques : arthralgies.
 - Affection plus grave : risque d'accidents thromboemboliques artériels suite à l'injection intra vitréenne d'anti-VEGF, notamment d'infarctus du myocarde et d'accidents vasculaires cérébraux.

Il a été montré dans l'ensemble des différentes études (soit sur 1483 patients) que le traitement par Lucentis® est majoritairement bien supporté chez les patients, avec l'absence pour la majeure partie d'entre eux d'apparition d'effets indésirables graves. Les principaux effets mineurs observés sont : des douleurs oculaires, des flocons vitréens, une élévation transitoire de la pression intra-oculaire.

D'un point de vue systémique, en ce qui concerne l'hypertension artérielle et la protéinurie il n'y a pas eu de différence significative entre les patients traités par ranibizumab et ceux témoins.

Traitements combinés :

Ranibizumab + Photothérapie dynamique : une étude a montré que l'association des deux traitements permettait d'avoir une baisse de moins de trois lignes d'acuité chez 90% des patients, alors qu'elle n'est que de 68% dans le groupe photothérapie seule. Cette étude proposée d'avoir une injection tous les mois de ranibizumab et de faire une évaluation angiographique tous les trois mois, avec la possibilité de faire une nouvelle séance de photothérapie en fonction de l'évolution observée.

Seul 27,6% des patients ont nécessité des retraitements par photothérapie chez les patients traités par ranibizumab, alors que cela fût nécessaire chez 91% des patients traités par photothérapie seule.

➔ L'association Ranibizumab + photothérapie dynamique donne de bons résultats !

c) Aflibercept : Eylea®

Structure :

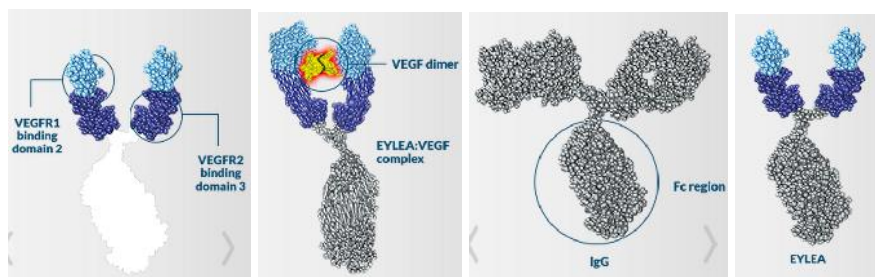


Figure n°44 : illustration du lucentis - (Regeneron Pharmaceuticals, 2016)

Eylea® est un médicament qui a été mis sur le marché en novembre 2012 en Europe, alors qu'il avait déjà fait ses preuves durant l'année 2011 aux États-Unis. L'Aflibercept (Figure n°44) est une protéine de fusion recombinante composée du second domaine de liaison du VEGF-R1, du troisième domaine de liaison du VEGF-R2, qui sont fusionnés au fragment Fc de l'IgG1 humaine. Ce récepteur soluble est produit par la technique de l'ADN recombinant au sein de cellules ovariennes K1 d'hamster chinois. Puis il subit des processus de purifications différents de ceux utilisés pour former les autres médicaments à base d'Aflibercept. Ces

derniers sont utilisés pour traiter les cancers. La molécule est aussi mise dans des solutions tampons afin qu'il n'y ait pas de soucis lorsque le médicament est injecté en intra-vitréen, notamment afin d'éviter les éventuelles irritations oculaires. Son poids moléculaire est de 115 kDa, il est donc significativement plus élevé que celui du ranibizumab qui n'est que de 48 kDa, mais significativement plus léger que le bévacizumab qui fait 149 kDa. Cela va permettre à l'aflibercept d'avoir une demi vie 36% plus élevée que celle du ranibizumab, ce qui va se révéler être essentielle pour le patient. Ce poids moléculaire intermédiaire lui confère une demi-vie intravitréenne de 7,1 jours et lui permet d'avoir une durée d'action clinique d'environ 75 jours. Cela dépasse d'un mois l'activité intra-vitréenne du ranibizumab.

Cette molécule va agir comme un leurre soluble de récepteur. En effet, celui-ci peut se lier aux VEGF-A, VEGF-B et PlGF avec une affinité supérieure à celle de leurs récepteurs naturels. Ce qui permet donc d'inhiber leur liaison et l'activation de leur récepteur spécifique. La constante d'affinité (Kd) de l'aflibercept pour le VEGF-165 est de 0,49 pmol/L, alors que celle du ranibizumab n'est que de 49 pmol/L, et que celle du bévacizumab n'est que de 58 pmol/L. Ce qui signifie donc que l'aflibercept a une affinité 100 fois plus grande, que les autres anti-VEGF vis-à-vis de leur cible commune.

Sa demi-vie d'élimination est aussi supérieure à celle du ranibizumab, elle varie entre 1 et 17 jours, notamment à cause du fragment Fc et la présence de molécules de glycosylation.

Une molécule d'Eylea[®] se lie à une molécule de VEGF-A, ce qui va minimiser le risque de formation de complexe immun multimérique hétérogène. De plus, cette molécule ne se lie pas aux cellules de l'épithélium pigmentaire, ce qui permet aussi de diminuer le risque de formation de complexes immuns. Sa structure confère à cette molécule une faible immunogénicité, ce qui est un avantage considérable pour ce type de molécule. Il n'y a pas d'accumulation au niveau plasmatique de cette molécule, même lorsqu'elle est injectée toutes les 4 semaines.

Mécanisme d'action : le VEGF-A (isoforme 121, 165, 189, 206), le VEGF-B, et le PlGF appartiennent à la famille des facteurs angiogéniques, qui agissent comme :

- de puissants agents mitogènes
- de puissants agents chimiotactiques
- activateur de l'angiogénèse

L'Aflibercept va agir comme leurre vis-à-vis du VEGF-A et du PlGF, et inhibe l'angiogénèse et la perméabilité vasculaire. Le PlGF agirait en synergie avec le VEGF-A dans la promotion de la pathologie vasculaire lors de la DMLA humide.

Posologie : La posologie dans la DMLA actuellement est d'une injection intravitréenne d'Eylea® 2 mg tous les mois pendant trois mois. Puis d'une injection d'Eylea® 2 mg tous les deux mois. Car le produit n'a pas une meilleure efficacité s'il est injecté tous les mois.

Une table ronde d'experts aux Royaume-Unis a établi des recommandations sur le protocole thérapeutique de l'Aflibercept au-delà d'un an de traitement (McKibbin M, 2015). Ces experts ont établi l'algorithme suivant (Figure n°45), à partir de l'analyse de différentes études :

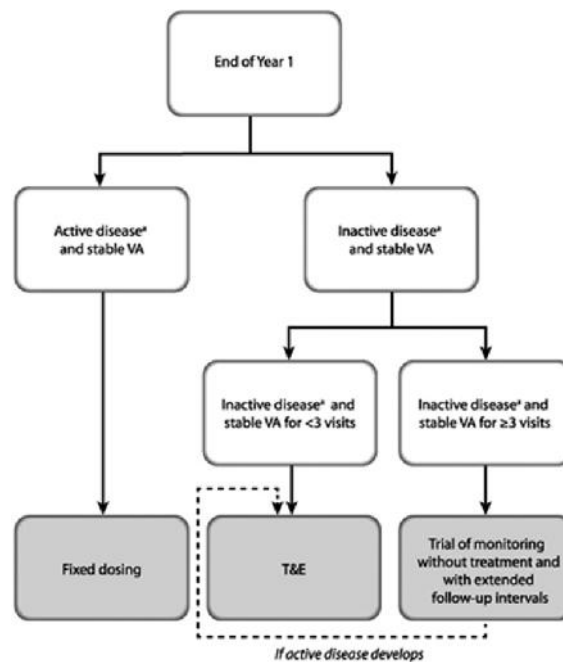


Figure n°45 : Algorithme pour le traitement de la DMLA par Aflibercept au-delà d'un an. (McKibbin M D. H., 2015)

Cet algorithme propose donc trois choix thérapeutiques au médecin :

- Fixed dosing : cela consiste en la réalisation d'une injection d'aflibercept tous les deux mois avec suivi régulier par OTC. Cela va préférentiellement se faire chez les patients qui présentent une maladie active, malgré une acuité visuelle stable au terme de la 1^{ère} année de traitement. Par la suite, le patient peut évoluer vers le « *Treat and Extend* » en fonction des résultats périodiques de ses examens oculaires.
- Treat and Extend : le but de cette approche thérapeutique est de trouver l'intervalle de temps optimal entre les injections, afin que le patient puisse obtenir une

stabilisation de son acuité visuelle et un contrôle de sa maladie. La dose thérapeutique minimale est en moyenne d'une injection toutes les 12 semaines. Cela nécessite un suivi OTC et de l'acuité visuelle rapproché. Il est possible, à tout moment de raccourcir l'intervalle de traitement si l'acuité visuelle diminue. De même, si l'imagerie en OTC est significative d'une évolutivité de la maladie. Ce type de schéma thérapeutique peut être proposé aux patients qui présentent une maladie inactive et une acuité visuelle stable lors des 3 dernières visites. Le « *Treat and Extend* » est un schéma posologique qui permet de diminuer la contrainte du traitement pour le patient, mais aussi de diminuer le coût de celui-ci.

- *Trial of monitoring without treatment an with extended follow-up intervals* : l'arrêt des traitements impose la réalisation d'une OTC et d'un examen d'acuité visuelle sans injection. Les visites ultérieures doivent progressivement s'espacer dans le temps. La première intervient 4 semaines après la dernière injection de la 1^{ère} année, la suivante intervient 10 semaines après, puis 12. En cas de réapparition d'une pathologie active, le patient doit entrer de nouveau dans la stratégie *Treat and Extend*, en démarrant par une injection toutes les 8 semaines puis en passant à une injection toutes les 12 semaines. Cette stratégie peut être mise en place chez les patients qui présentent une maladie inactive et une acuité visuelle stable depuis plus de 3 examens. Cela peut aussi inclure tout patient répondant à ces critères au cours de la 2^{ème} année de traitement.

Dans tous les cas, la décision du schéma thérapeutique doit être prise en concertation entre le patient et le médecin.

Autres indications d'Eylea® :

- œdème maculaire diabétique.
- baisse d'acuité visuelle liée à un œdème maculaire secondaire, à une occlusion de branches veineuses rétiniennes ou de la veine centrale de la rétine.

Effets indésirables :

- Risque de réaction allergique (même si l'immunogénicité de cette protéine semble être faible). Un risque d'allergie persiste en raison de la composition de la molécule.
- Affections oculaires :
 - Diminution de l'acuité visuelle, hémorragies de la conjonctive.

- Déchirure de l'épithélium pigmentaire rétinien, décollement de l'épithélium pigmentaire rétinien, dégénérescence de la rétine, hémorragie du vitré, cataracte, cataracte nucléaire, cataracte sous-capsulaire, cataracte corticale, érosion de la cornée, abrasion de la cornée, élévation de la pression intraoculaire, vision trouble, corps flottants vitréens, œdème cornéen, décollement du vitré, douleurs au point d'injection, douleurs oculaires, sensation de corps étrangers dans les yeux, augmentation de la sécrétion lacrymale, œdème de la paupière, hémorragie au site d'injection, kératite ponctuée, hyperhémie conjonctivale, hyperhémie oculaire.
- Cécité, endophtalmie, décollement de la rétine, déchirure de la rétine, inflammation de l'iris, uvéite, iridocyclite, opacification du cristallin, défaut de l'épithélium cornéen, irritation au site d'injection, sensation intraoculaire anormale, irritation palpébrale, inflammation de la chambre antérieure.

Mode d'administration : L'injection intravitréenne d'aflibercept requiert les mêmes précautions que l'injection de ranibizumab. Elle doit être réalisée par un ophtalmologiste dans des conditions d'asepsie stricte.

B. Études comparatives des différents anti-VEGF :

L'étude CATT est une étude américaine publiée en Avril 2011, qui visait à montrer la non infériorité du bévacizumab par rapport au ranibizumab (Tableau n°5). Elle a évalué deux rythmes de traitement : le traitement à la demande VS le traitement mensuel en fonction du résultat visuel à un an. C'était donc une étude de non-infériorité, qui a été réalisé sur 1208 patients et elle fût multicentrique. Les patients inclus avaient une DMLA avec des lésions néovasculaires actives. Ils ont été répartis en 4 groupes :

- Groupe 1 : injection mensuelle de ranibizumab intra-vitréenne à 0,50 mg.
- Groupe 2 : injection intra-vitréenne de ranibizumab 0,50 mg à la demande.
- Groupe 3 : injection mensuelle intra-vitréenne de bévacizumab 1,25 mg.
- Groupe 4 : injection intra-vitréenne à la demande de bévacizumab 1,25 mg.

Pour évaluer l'efficacité des traitements, ils ont donc étudié principalement l'acuité visuelle ; et secondairement, le gain d'acuité visuelle supérieure à 15 lettres, le nombre d'injections, l'évolution de l'épaisseur rétinienne en OCT, les effets indésirables, le coût du traitement et le changement de taille de lésions en angiographie.

Tableau n°5 : Résultats de l'étude CATT. (Santé, 2012)

Critère de jugement à un an (critère principal)	Ranibizumab mensuel (n = 284)	Bevacizumab mensuel (n = 265)	Ranibizumab à la demande (n = 285)	Bevacizumab à la demande (n = 271)	p
Variation moyenne d'acuité visuelle à un an par rapport au départ (nombre de lettres)	8,5 +/- 14,1	8,0 +/- 15,8	6,8 +/- 13,1	5,9 +/- 15,7	0,16
Nombre moyen de traitements	11,7 +/- 1,5	11,9 +/- 1,2	6,9 +/- 3,0	7,7 +/- 3,5	< 0,001
Variation moyenne d'épaisseur maculaire centrale en OCT par rapport à la base (mm)	- 196 +/- 176	-164 +/- 181	- 168 +/- 186	- 152 +/- 178	0,03
Variation moyenne de la taille de la lésion en angiographie	0,0 +/- 2,1	0,1 +/- 1,9	0,2 +/- 2,5	0,5 +/- 2,6	0,047

Effets indésirables	Ranibizumab mensuel (n = 301)	Bévacizumab mensuel (n = 286)	Ranibizumab à la demande (n = 298)	Bévacizumab à la demande (n = 300)	p	
					Entre les groupes	Entre les molécules
Décès	4 (1,3)	4 (1,4)	5 (1,7)	11 (3,7)	0,18	0,22
Accident thromboembolique	7 (2,3)	6 (2,1)	6 (2)	8 (2,7)	0,97	0,85
Endophtalmie	2 (0,7)	4 (1,4)	0	0	0,03	0,45

A un an de suivi, l'étude CATT (Tableaux 5, 6,7) a donc montré la non infériorité du bévacizumab par rapport au ranibizumab administré mensuellement ou à la demande, en ce qui concerne la variation moyenne de l'acuité visuelle.

Cette étude a été poursuivie à deux ans, au cours desquels les scientifiques ont gardé les mêmes groupes. Cependant pour les groupes 1 et 3, qui recevaient des injections mensuelles, les patients ont été divisés en deux sous-groupes : ceux qui continuaient à recevoir des injections mensuelles et ceux qui sont passés à des injections à la demande.

Tableau n°6 : Effets indésirables apparus au cours de l'étude CATT à 2 ans de suivi :

Effets indésirables	Ranibizumab (n = 599), n (%)	Bévacizumab (n = 586), n (%)	p
Décès	32 (5,3)	36 (6,1)	0,62
Accident thromboembolique	28 (4,7)	29 (5,0)	0,89
Un ou plusieurs effets indésirables graves	190 (31,7)	234 (39,9)	0,004
Endophtalmie	4 (0,7)	7 (1,2)	0,38

Tableau n°7 : Résultats de l'étude CATT à 2 ans :

Critère de jugement à deux ans Critères secondaires	Ranibizumab mensuel (n = 134)	Ranibizumab « switched » (n = 265)	Bevacizumab mensuel (n = 285)	Bevacizumab « switched » (n = 271)
Variation moyenne d'acuité visuelle à deux ans (écart type)	- 0,3 +/- 11,1	- 1,8 +/- 11,2	- 0,6 +/- 10,3	- 3,6 +/- 12,1

Les autres critères secondaires évalués sont présentés dans le chapitre traitant du bevacizumab.

Critère de jugement à deux ans Critères secondaires	Ranibizumab mensuel (n = 134)	Bevacizumab mensuel (n = 129)	Ranibizumab à la demande (n = 264)	Bevacizumab à la demande (n = 251)
Critère secondaire Variation moyenne d'acuité visuelle à deux ans par rapport au départ (nombre de lettres)	8,8 +/- 15,9	7,8 +/- 15,5	6,7 +/- 14,6	5 +/- 17,9

L'étude CATT montre une non-infériorité à J+2 ans, entre le traitement à la demande et le traitement mensuel dans la DMLA exsudative (IC : -2,4 avec IC95% : [-4,8 ; -0,1]). Il n'y a pas non plus de différences en termes d'effets indésirables thrombo-emboliques entre le bévacizumab et le ranibizumab (P=0,89) et en terme de décès (P=0,62). Néanmoins, cette étude a permis de mettre en évidence que le nombre d'effets indésirables graves est plus important avec le bévacizumab (P=0,0009).

C. Facteurs influençant la réponse aux différents traitements anti-VEGF :

L'impact négatif de la DMLA sur la qualité de vie est lié à l'altération visuelle. En effet cela affecte la mobilité, mais aussi le bien-être émotionnel. Il a été montré que les patients atteints de DMLA présentent de plus hauts risques de chute, de dépression. La cécité et la déficience visuelle ont des coûts pour la société. Aux États-Unis les coûts annuels médicaux étaient estimés à 575 millions de Dollars en 2004, avant l'apparition des traitements anti-VEGF. En 2008, suite à leur apparition, le coût annuel est passé à près de 724 millions de dollars. À ce coût, vient s'ajouter les coûts indirects qui correspondent aux années de vie perdus en raison de l'incapacité, et à la mortalité prématurée.

En France l'injection de ranibizumab coûte 738,29€, celle d'aflibercept coûte 730,38€ ce qui représente des coûts considérables pour la sécurité sociale. Il est donc nécessaire de trouver des facteurs prédictifs des résultats thérapeutiques attendus chez un patient donné. Cela permettra d'une part de faire des économies, mais aussi de traiter de manière plus optimale le patient. Enfin ces recherches, sur les facteurs influençant l'efficacité des traitements peuvent potentiellement permettre de faire avancer la recherche et par conséquent, permettre de trouver de nouvelles thérapeutiques. (Mitchell P, 2011)

a) Facteurs cliniques :

Il a été amplement prouvé lors des essais cliniques de phase III (Marina, Anchor, CATT, Pronto) que l'âge, l'acuité visuelle et la taille des lésions de néovascularisation jouent un rôle dans la réponse des patients à leur traitement par anti-VEGF. Plus l'âge d'inclusion est élevé, moins la réponse au traitement sera bonne. De même, plus la taille des lésions initiales est grande, moins bonne sera la réponse. Enfin, une bonne acuité visuelle initiale prédispose à de plus grands risques de perte d'acuité visuelle.

D'autres études ont montré que l'existence de traitements antérieurs, tels que la photothérapie dynamique ou les injections intra-vitréennes de triamcinolone, influencent négativement les résultats anatomiques et fonctionnels obtenus par les anti-VEGF.

La pression intra-oculaire semble également jouer un rôle majeur dans la réponse aux traitements anti-VEGF chez les patients atteints de DMLA. Une pression intra-oculaire trop élevée peut être responsable d'une diminution d'efficacité des traitements.

Le type de lésions lié à la néovascularisation choroïdienne peut aussi influencer la réponse au traitement. En effet, on distingue différents types de lésions : occultes, classiques ou classiques prédominantes. Il a été établi que les lésions principalement classiques sont associées à des gains visuels plus faibles et à des récurrences plus fréquentes, ce qui nécessite plus d'injections que la forme occulte. Mais cela reste controversé à ce jour.

Certaines études ont mis en évidence que des caractéristiques à l'OTC initiale pouvaient influencer la réponse aux traitements. Certains éléments ont donc été classés comme prédictifs d'efficacité, comme la présence d'une fosse fovéale, l'absence d'un tissu fibrovasculaire central, un segment externe normal. Alors qu'une augmentation de l'épaisseur centrale de la fovéa et une élévation de l'épithélium rétinien pigmentaire sont associées à un plus faible gain d'acuité visuelle à 12 mois de traitement. Les déchirures de l'épithélium

rétinien pigmentaire, sont présentes dans 13 à 17% des formes néo-vasculaires de la DMLA. En effet, une déchirure importante de l'épithélium rétinien pigmentaire peut entraîner une perte importante d'acuité visuelle, même avec une suppression totale du VEGF, surtout lorsque la fovéa est atteinte. Cependant, une étude n'a pas retrouvé que ces caractéristiques de l'OTC étaient prédictives de la réponse aux traitements, cela pouvant être lié aux appareils d'OTC qui ne sont pas toujours très reproductibles dans leur mesures.

Un autre facteur important dans la réponse au traitement est la durée entre la découverte de la maladie et la mise en place du traitement. Une étude (Lim. And col) a montré qu'une durée de plus de 21 jours entre la découverte de la pathologie et la mise en place du traitement se révèle être un facteur de risque pour la perte de vision après 12 mois de suivi.

Un détachement de l'épithélium rétinien pigmentaire, avant la mise en place du traitement peut se révéler être un risque de plus faible réponse au traitement. Plus la hauteur du détachement de l'épithélium pigmentaire est importante, plus l'aplatissement de celui-ci est modérée, et donc les résultats fonctionnelles et anatomiques se révèlent être moins bons. En effet, une étude rétrospective a été réalisée à l'hôpital ophtalmologique de l'université Jules Gonin de Lausanne (Suisse) par Ali Dirani et ses associés, portant sur 115 yeux de patients atteints de DMLA néo-vasculaire jamais traitée auparavant. Il a pu être mis en évidence que quelque soit l'anti-VEGF utilisé (Ranibizumab ou Aflibercept), l'évolution de la meilleure acuité visuelle après injection des doses de charges était liée aux types de lésions néo-vasculaires choroïdiennes pré-existantes et à la meilleure acuité visuelle mesurée initialement ($P=0,025$ et $P=0,001$, respectivement). Cela a aussi révélé que les yeux ayant un détachement de l'épithélium pigmentaire à prédominance séreuse sont associés à une plus haute décroissance de la hauteur de détachement de l'épithélium pigmentaire après injection des doses de charges. Enfin, cette étude a mis en évidence que l'aflibercept semble avoir une efficacité plus grande sur le détachement de l'épithélium pigmentaire après les trois premières injections mensuelles. Cela s'est traduit au cours de l'étude par une réduction de 66 μm supplémentaires en moyenne de l'épaisseur du détachement de l'épithélium pigmentaire chez les patients traités par Aflibercept, par comparaison avec ceux traités par le ranibizumab ($P=0,022$). Cette différence peut être liée aux modes d'action supplémentaires qu'à l'aflibercept, en agissant sur le VEGF-B et le PlGF, en plus d'agir sur le VEGF-A. Cela a aussi été vérifié par une analyse rétrospective de l'étude VIEW 1 et 2, lors de laquelle, les yeux traités par aflibercept se sont révélés comme ayant un affaiblissement plus important de l'épaisseur du détachement de l'épithélium pigmentaire, à 52 et 96 semaines, par rapport aux

patients traités par ranibizumab. Néanmoins, quelque soit le médicament utilisé la réponse fonctionnelle fût la même.

En outre, en plus de l'ensemble de ces facteurs, les hémorragies sub-réiniennes peuvent causer une perte visuelle secondaire importante, en générant une atrophie fovéale ou une fibrose.

Donc, pour débiter un traitement par anti-VEGF, il est important que le patient soit pris en charge précocement. Lorsque la maladie a déjà évolué les dommages engendrés peuvent être irréversibles. Il est aussi important de savoir que l'intégrité des cellules photoréceptrices, l'épaisseur centrale rétinienne initiale, les dommages tissulaires, l'état d'avancé de la fibrose, la déchirure de l'épithélium rétinien pigmentaire, l'atrophie progressive et l'importance des hémorragies réiniennes sont des facteurs importants dans la réponse aux traitements anti-VEGF, quel que soit le schéma posologique choisi.

b) Facteurs génétiques :

Les aspects pharmacogénétiques peuvent avoir un rôle important dans l'identification des non-répondeurs, et dans la prise en charge des patients atteints de DMLA néo-vasculaire. En effet, si les génotypes ou haplotypes non répondeurs aux anti-VEGF étaient déterminées, la mise en place du traitement des personnes atteintes de DMLA néo-vasculaire ne se ferait qu'après réalisation d'une étude pharmacogénétique. Cela permettrait de choisir efficacement l'anti-VEGF à utiliser, ainsi que sa posologie. Le développement de la pharmacogénétique semble donc être indispensable dans la mise en place du traitement de la DMLA néovasculaire. En effet, il a pu être montré au cours de l'étude MARINA sur le ranibizumab, qu'environ 34% des patients ont gagné plus de 15 lettres EDTRS à 12 mois de traitement, alors que dans le même temps 4,5% des patients ont perdu plus de 15 lettres EDTRS. Ce qui prouve que la réponse au ranibizumab n'est pas identique d'un individu à l'autre et que des biomarqueurs génétiques peuvent prédire la réponse aux anti-VEGF. Actuellement, il existe plusieurs gènes qui semblent être en relation avec la réponse aux traitements. Il est tout de même important de noter que ce sont des polymorphismes nucléotidiques simples qui servent de biomarqueurs à ce jour :

- Les gènes des facteurs de croissance du VEGF : comme nous l'avons vu précédemment la famille du VEGF se compose de 6 membres : VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, PIGF et VEGF-E. Qui se lient à trois types de récepteurs : VEGF-

R1, -R2 et -R3. Il a été mis en évidence que le succès des traitements anti-VEGF est lié à différents polymorphismes nucléotidiques du VEGF-A. Une meta-analyse récente a montré que le polymorphisme nucléotidique simple du VEGF-A avec la présence du C-nucléotide en rs833061 ou TT en rs1413711 peuvent être associés avec la pathogénèse de la DMLA humide. En raison de cette découverte, il a été supposé que les polymorphismes au sein du VEGF-A peuvent prédire la réponse des patients aux traitements anti-VEGF. Au sein de la littérature, 4 polymorphismes nucléotidiques simples : rs699947, rs1413711, rs699946, rs302500 ont été corrélés à la réponse aux traitements anti-VEGF (Tableau n°8).

En ce qui concerne le rs699947, deux études de la population ont montré que les patients ayant le génotype CC, ont de meilleures chances de répondre aux ranibizumab (Lazzeri S F. M., 2013). A l'inverse, dans la population asiatique, il a été prouvé que c'est le génotype AA de ce polymorphisme qui est plus susceptible de répondre aux traitements que les génotypes CC et CA. Néanmoins des études viennent contredire ces premiers résultats (Park UC, 2014).

Pour le rs1413711, sa corrélation avec la réponse au traitement est aussi incertaine. Certaines études ont montré que la présence d'un nucléotide C en rs1413711 est associée avec une amélioration marquée de l'acuité visuelle à six mois, mais d'autres études plus longues viennent contredire cette étude (McKibbin M A. M., 2012).

Le génotype GG de rs699946 est corrélé à une meilleure acuité visuelle à 1 an de traitement par bevacizumab, mais cela n'a pas été le cas, lors d'une étude coréenne.

Les génotypes TT ou TC de rs 3025000 ont une réponse positive au traitement par ranibizumab, l'acuité visuelle a augmenté de +8,8 lettres (+/-1,2) à 3 mois, +8,3 lettres (+/-1,3) à 6 mois et +4,9 lettres (+/-1,3) à 1 an. Par comparaison avec le génotype CC qui a eu un plus faible gain d'acuité visuelle : + 3,9 lettres (+/-1,3) à 3 mois, +0,2 lettres (+/- 1,2) à 6 mois et +0,6 lettres (+/-1,5) à 1 an.

Néanmoins, la plupart de ces études se sont vues être infirmer ou confirmer par d'autres études. A ce jour, il est donc difficile d'établir l'existence de biomarqueurs spécifiques de la réponse aux traitements dans la DMLA à ce jour. Il est possible d'affirmer que le polymorphisme nucléotidique du VEGF-A rs833069 n'est pas associé avec une réponse aux traitements.

En raison de l'activité du VEGF-A sur le VEGF-R2 au cours du processus physiopathologique de l'angiogénèse, de nombreuses études ont été faites sur le polymorphisme nucléotidique impactant sur le VEGF-R2. Il a été récemment démontré

que les génotypes CC et CT du rs4576072 ou du rs6828477 du VEGF-R2 étaient plus susceptible de mieux répondre au ranibizumab que le génotype TT (Fauser S, 2015).

Tableau n°8 : Tableau montrant les différentes études génétiques réalisées sur le gène du VEGF et la réponse aux traitements anti-VEGF :

Table 1 – Single nucleotide polymorphisms in VEGFA investigated to determine if their genotype correlated with patients' responses to anti-VEGF treatment (studies that demonstrated a correlation are shaded in dark gray)							
SNP	Genotype: outcome (± SE)	N	Duration of study (study design)	Country of study	Treatment (regimen)	Age range of study population (mean ± SD years)	Author of study (year published)
rs699947	AC: +6.3 letters CC: +8.6 letters AA: -1.8 letters (P = 0.019)	64 ^a	2 months (prospective)	Italy	RBZ (monthly)	76.3 ± 7.5	Lazzeri et al (2013) ⁴¹
	AC: +0.035 ± 0.03 logMAR CC: 0 (used as reference) AA: +0.048 ± 0.04 logMAR (P = 0.23; not significant alone, but was when considered with other genotypes)	397	3 months (case series)	The Netherlands, Germany, Canada	RBZ (monthly)	nr	Smailhodzic et al (2012) ³⁸
	Associated with VA at 1 month of treatment (P < 0.05), but not at 3 months (P = 0.314)	83	6 months (retrospective)	Japan	BVZ (single)	72.2 ± 8.6	Imai et al (2010) ³⁹
	The AA genotype had a higher chance of favorable response at Month 5 of treatment compared with the CC and CA genotypes (OR, 3.61; 95% CI, 1.42–9.18, P = 0.0071)	273	5 months (prospective)	Korea	RBZ (monthly)	69.5 ± 8.5	Park et al (2014) ³²
	No association between VA and genotype found	141 ^a	Up to 1182 days (prospective)	Germany	BVZ (PRN)	77 ± 8	Boltz et al (2012) ⁶
	AC: no change CC: no change AA: non-significant increase in logMAR (+0.13 ± 0.05 logMAR estimated from graph) (P = 0.257)	173	Mean follow-up period 13.1 months; range 3.0–35.5 months (retrospective)	Japan	BVZ (PRN)	74.9 (SD nr)	Nakata et al (2011) ³⁶
	No association found between responders/non-responders (determined by OCT) and genotype (between CC and (CA+AA) genotypes: P = 0.787)	96 ^a	Up to 2 years (retrospective and prospective)	Finland	BVZ (monthly)	78.0 (range: 54–89 years)	Hautamaki et al (2013) ³⁵
	No association found between good responders/poor responders (determined by VA and OCT) and genotype	106	12 months (prospective)	USA	BVZ, RBZ (PRN)	80.8 ± 6.8 (good responders) 75.7 ± 8.5 (poor responders)	Wang et al (2012) ³⁷
	TC: +5.8 ± 14.8 (SD) letters CC: +7.4 ± 11.8 letters TT: +1.3 ± 12.7 letters (between TT and TC+CC: P = 0.11)	104	6 months (prospective)	UK	RBZ (PRN)	81.5 ± 6.3	McKibbin et al (2011) ³⁴
	No association between VA and genotype found No association between VA and genotype found (P = 0.399)	141 ^a 168	Up to 1182 days (prospective) 6 months (prospective)	Germany China	BVZ (PRN) RBZ (PRN)	77 ± 8 69.4 ± 7.3	Boltz et al (2012) ⁶ Yuan et al (2013) ³³
SNP	Genotype: outcome (± SE)	N	Duration of study (study design)	Country of study	Treatment (regimen)	Age range of study population (mean ± SD years)	Author of study (year published)
rs609946	AG: no change GG: significant change (-0.12 ± 0.1 logMAR, estimated from graph) AA: no change (between GG and (AG+AA): P = 0.044)	1/3	Mean follow-up period 13.1 months; range 3.0–35.5 months (retrospective)	Japan	BVZ (PRN)	74.9 (SD nr)	Nakata et al (2011) ³⁶
	No association between VA and genotype found	273	5 months (prospective)	Korea	RBZ (monthly)	69.5 ± 8.5	Park et al (2014) ³²
rs3025000	TT or CT: +4.9 ± 1.3 letters CC: +0.6 ± 1.5 letters (P = 0.01)	201	12 months (prospective)	Australia	RBZ [and a minority with BVZ] (PRN)	78.1 ± 6.7	Abedi et al (2013) ⁷
	SNPs whose genotypes had with no positive correlation with response to anti-VEGF treatment rs1570360, ^{34,41} rs3024994, ² rs3025042, ² rs3025047, ² rs3025035, ² rs3025030, ² rs3025010, ^{2,47} rs3025039, ^{6,52,63} rs2146303, ²⁸ rs3025034, ²⁸ rs2010903, ^{6,32} rs633061 ⁵² and rs233009, ^{1,55,86,67}						

BVZ, bevacizumab; CI, confidence intervals; logMAR, logarithm of minimum angle of resolution; nr, not reported; OCT, optical coherence tomography; OR, odds ratio; PRN, pro re nata; RBZ, ranibizumab; SD, standard deviation; SE, standard error; VA, visual acuity; VEGF, vascular endothelial growth factor.
^a The study design included a statistical power calculation to determine the appropriate sample size to test the association between an SNP and visual acuity outcome.

- **Les gènes liés au complément :** l'association entre les gènes du complément et la DMLA a été faite en 2005, lorsque quatre études différentes ont montré qu'un seul polymorphisme nucléotidique du facteur H du complément (Y402H ; rs1061170) seraient responsable à 50% de la DMLA. Il a été montré que les polymorphismes du facteur H du complément et du facteur 3 du complément jouent un rôle dans la réponse au traitement anti-VEGF. L'étude Chen et coll a montré que les sujets homozygotes pour le nucléotide C du polymorphisme génétique rs1061170 (aussi connu sous le nom Y402H) ont une réponse diminuée aux anti-VEGF par rapport à ceux qui expriment le génotype TT. Une étude de Menghini et coll (Menghini M, 2012) a démontré que le génotype CT du rs1061170 est plus susceptible de répondre aux traitements anti-VEGF, à 12 et 24 mois d'analyse.

Inversement, les personnes ayant le génotype CC du rs 1061170 sont plus susceptibles d'avoir de mauvaise réponse aux anti-VEGF à 12 et 24 mois ($p=0,0174$ et $p=0,0236$) par rapport au génotype CT ou TT.

Un autre polymorphisme nucléotidique dans la famille du gène lié au complément, le polymorphisme nucléotidique tCFH ou rs800292 a été mis en évidence comme étant prédictateur de réponse aux traitements. Les individus avec le génotype CT ou TT ont démontré une élévation de l'acuité visuelle plus marquée que ceux ayant le génotype CC.

Néanmoins, malgré des études qui sont venues confirmer ces résultats, d'autres les ont infirmés. Il est donc à ce jour difficile de tirer des conclusions précises sur les biomarqueurs prédisant la réponse aux traitements anti-VEGF, au sein des gènes du complément.

- Les gènes de l'interleukine : de nombreux types cellulaires, présents au sein de l'épithélium rétinien pigmentaire peuvent produire de l'IL-8 en réponse à la présence de monocytes ou d'autres interleukines. Le génotype AA du polymorphisme nucléotidique rs4073 de l'IL-8 est observé plus fréquemment chez les patients non répondeurs au bévécizumab.

- Le gène de susceptibilité à la maculopathie lié à l'âge 2 (ARSM-2) et le gène HTRA-1 : le gène ARSM-2 est le principal gène de susceptibilité pour la DMLA avec le gène du CFH (Y402H). En raison de la proximité entre ARSM-2 et HTRA-1 sur le locus 10q26, il est difficile de dissocier leur implication dans la DMLA. Quatre études ont trouvé que les génotypes GT ou GG, pour le polymorphisme nucléotidique de rs10490924 (ARSM-2) sont associés à une meilleure augmentation de l'acuité visuelle en réponse aux anti-VEGF, par rapport au génotype TT. Ce polymorphisme aurait un impact important sur les voies de signalisation extracellulaire. Une étude cumulative des allèles du VEGF-A (rs699947), du CFH (rs1061170) et d'ARSM-2 (rs10490924) ont montré de mauvais taux de réponse aux traitements.

Le second gène du locus 10q26 : HTRA-1 exprime une sérine protéase, qui jouerait un rôle dans la dégradation de la matrice extracellulaire. Une étude de Tong et coll a montré une corrélation entre le génotype AA de rs11200638 du HTRA-1 et le risque de développer une DMLA (risque 8.5 fois plus grand). De plus, ils étaient plus susceptibles de répondre aux traitements anti-VEGF que ceux qui expriment le génotype GG.

- Autres gènes liés à la réponse aux anti-VEGF :

- Gène de l'apolipoprotéine E : l'apolipoprotéine E est une protéine qui joue un rôle essentiel dans le métabolisme et le transport des lipides plasmatiques et tissulaires. L'apoE a trois isoformes qui diffèrent par leurs structures et leurs propriétés physiques : E2, E3 et E4. Plusieurs études ont démontré un plus haut risque de développer une DMLA chez les personnes présentant le polymorphisme APOE 2, en comparaison avec les variants 3 et 4. En particulier, pour le variant 4, qui peut avoir un effet protecteur car il faciliterait l'efflux de lipides à travers la membrane de Bruch et le stress oxydatif. Une étude portant sur l'apolipoprotéine E a montré, que la présence de l'allèle 4 permet d'avoir de meilleurs résultats aux traitements, que l'allèle 2.

- Gènes de l'angiogénèse : Comme la néo-vascularisation choroïdienne joue un rôle majeur dans la perte visuelle, des études ont été faites sur les gènes de l'angiogénèse. Des études se sont donc focalisées sur ces gènes : FDZ4 (rs10896563) et LRP5 (rs3736228). Cependant les résultats se sont avérés contradictoires. (Fauser S, 2015)

c) Résistance au ranibizumab et au bevacizumab : switch vers l'aflibercept, une solution thérapeutique ?

La récente introduction des médicaments anti-VEGF, dans les thérapies de la DMLA exsudative, a considérablement changé le pronostic de cette maladie. Cependant, un pourcentage variable de patients présente une réponse insuffisante aux traitements. En effet, bien que des essais cliniques chez des patients atteints de DMLA humide primitive, ont montré que l'utilisation d'injection intra-vitréenne mensuelle de ranibuzumab peut permettre à 90% des malades d'avoir une perte de moins de 15 lettres EDTRS à 2 ans, et que l'acuité visuelle peut être augmentée chez 40% des yeux traités. L'étude CATT a montré que du fluide maculaire est détectable chez 53,2% des patients traités pendant 1 an par des injections mensuelles de ranibizumab et chez 51,5% des patients traités pendant 2 ans. Or, ce fluide persistant peut être responsable d'une déficience visuelle. La vision perdue peut être due à une évolutivité du processus pathologique ou liée à un processus pharmacologique. Les processus pharmacologiques possibles sont les suivants :

- la progression naturelle de la DMLA sous-jacente
- un trop faible nombre d'injection de médicament anti-VEGF
- une perte d'efficacité du médicament au cours du temps.

Plusieurs études ont en effet montré une réduction de la réponse anatomique avec le ranibizumab et le bévacizumab au cours du temps. Ce qui n'a pour le moment pas été rapporté avec l'aflibercept. Différents termes ont été utilisés pour décrire cette découverte clinique,

allant de tachyphylaxie à résistance, ou encore non répondeurs. Enfin, il existe la notion de résistance innée définissant les patients, qui n'ont jamais répondu de manière fonctionnelle aux différents traitements anti-VEGF. Pour pallier cette résistance, plusieurs stratégies thérapeutiques ont été mises en place tel que le passage à une autre thérapeutique, ou l'augmentation de la concentration des injections d'anti-VEGF, ou une élévation de la fréquence des injections. Cela a permis de retrouver une réponse anatomique et fonctionnelle chez certains patients, recevant de plus hauts dosages de ranibizumab.

Une méta-analyse (Lazzeri S, 2015) regroupant 21 études, dont 5 études prospectives et 16 études rétrospectives, soit un total de 1066 yeux qui avaient tous une DMLA traitée par des injections intra-vitréennes d'anti-VEGF et qui ont été switchés vers l'aflibercept en intra-vitréen. Les 5 études prospectives (portant sur 157 patients) ont montré des résultats anatomiques satisfaisants avec une diminution significative de l'épaisseur moyenne de la macula à 3 mois de suivi, qui était de $-52,42 \mu\text{m}$ ($P < 0,05$). Malgré un nombre important d'injections précédentes d'anti-VEGF (29,55 inj/patient avec des différences entre chaque étude), et un délai entre la dernière injection de ranibizumab ou de bécavizumab et la première injection d'aflibercept de 30 jours. En ce qui concerne les résultats fonctionnels, l'acuité visuelle initiale était en moyenne de 64,83 lettres EDTRS, après 6 mois le changement moyen était de +4,14 lettres EDTRS.

Les 16 études rétrospectives, ont inclus 909 yeux et les résultats anatomiques ont montré une réduction moyenne de l'épaisseur centrale de la macula de $35,51 \mu\text{m}$ après la première injection d'aflibercept et de $79,27 \mu\text{m}$ à 3 mois de suivi. Cela, malgré un nombre important d'injections d'anti-VEGF précédentes (21,22 inj/patient en moyenne).

Cette étude a donc montré que l'aflibercept se révèle actif, sur la DMLA exsudative qui est évolutive malgré un traitement mensuel par ranibizumab ou bécavizumab. Cela peut être lié au fait, que les anciens anti-VEGF ne se lient qu'au VEGF-A, alors que l'aflibercept se lie aussi au VEGF-B et au PlGF. De plus cette dernière a une affinité de liaison 100 fois supérieure à celle du ranibizumab et du bécavizumab, et a aussi une durée d'action allongée.

Il est important de noter que pour modifier la thérapeutique choisie, un sevrage est nécessaire, qui plus est pour le switch : ranibizumab ou bevacizumab → aflibercept. Car il se peut que lorsque l'aflibercept est administré tôt. C'est-à-dire avant que l'organisme n'ait éliminé totalement l'injection précédente de ranibizumab ou de bevacizumab, il y ait une compétition vis-à-vis du VEGF-A et donc une diminution de l'efficacité du médicament chez les personnes non-répondeuses aux anciens anti-VEGF. Il peut donc être préconisé une période de sevrage de 4 à 5 semaines chez les patients avant toute administration d'aflibercept. Un

second élément peut influencer les résultats thérapeutiques de l'aflibercept, c'est le nombre d'injections précédentes d'anti-VEGF qu'a eu le patient.

Une hypothèse physiopathologique a été émise au sein de cette revue. Elle suppose que la résistance initiale aux traitements anti-VEGF peut être liée au niveau de VEGF-A dans le corps vitreux. En effet, des études ont montré que chez les patients de mauvais pronostic, le niveau de VEGF-A était plus élevé que chez les autres. Ce qui signifie qu'il faudrait augmenté les doses de médicaments, mais cela n'augmente l'activité que de moitié.

Enfin, une autre explication concernant la tachyphylaxie aux anti-VEGF serait la régulation positive des facteurs pro-angiogéniques (tels que le VEGF-B, le PlGF et le TNF) et la régulation négative des facteurs anti-angiogéniques (tel que les Thrombospondines). Ces éléments submergeraient alors les effets des anti-VEGF. Cela se traduit en moyenne par une diminution de l'efficacité thérapeutique au bout de la 10^{ème} injection intra-vitréenne.

3. Intérêt des corticoïdes injectés dans le traitement de la DMLA humide :

En thérapeutique, il existe plusieurs glucocorticoïdes différents. Certaines molécules proviennent de modifications chimiques qui sont apportées au cortisol, ce sont des analogues semi-synthétiques. Tandis que d'autres sont synthétisées intégralement, on parle donc d'analogues synthétiques. L'ensemble de ces molécules conserve la structure de base du cortisol : -stérol.

Les molécules médicamenteuses ne diffèrent que par des modifications au niveau des 4 cycles centraux de la molécule. Ceci peut jouer sur l'absorption, la liaison aux protéines plasmatiques, le métabolisme et le site d'action de la molécule.

Les corticoïdes présentent de nombreuses propriétés médicamenteuses :

- Diminution de la transcription des cytokines pro-inflammatoires.
- Diminution de la synthèse des prostanoïdes, par action sur la phospholipase A2, ce qui abaisse la synthèse d'acide arachidonique, prostaglandines et leucotriènes.
- Diminution de l'expression des molécules d'adhésion.
- Diminution de la différenciation des macrophages et donc de leurs activités anti-infectieuses.
- Inhibiteur des polynucléaires neutrophiles.
- Diminution de la prolifération des fibroblastes et du collagène.
- Inhibiteur de la production et de la maturation des lymphocytes B.

→ Les corticoïdes présentent donc des propriétés anti-inflammatoires et immunosuppressives.

L'ensemble de ces effets est lié à deux types d'effets :

- Effets non génomiques : les corticoïdes ont un effet stabilisateur sur les membranes cellulaires. Cela limite l'activité cellulaire en modifiant les échanges membranaires en ions. La libération des médiateurs tels que l'histamine et l'acétylcholine est donc inhibée.
- Effets génomiques : les corticoïdes ont une action sur les récepteurs stéroïdes intracellulaires (GRE). La transcription de gènes responsables de la production des protéines anti-inflammatoires tel que la lipocortine et l'IL-10, va donc être activée. Mais cela va aussi interagir sur les facteurs de transcription de NF-Kb et APB-1.

Ils présentent donc des propriétés anti-inflammatoires, qui peuvent potentiellement être intéressantes dans le traitement de la DMLA. En effet, nous avons pu voir que la pathogénie de la DMLA présente une composante inflammatoire importante. Notamment dans la forme exsudative, avec l'amplification du processus d'angiogenèse pathologique.

Activité anti-angiogénique des glucocorticoïdes :

Les premières études datent des années 50. Les glucocorticoïdes ont des actions très larges, dont des actions anti-angiogéniques par diverses voies. Ces actions interviennent sur toutes les étapes de la formation de néovaisseaux. Les glucocorticoïdes pourraient intervenir sur (Figure n°46) :

- ✓ Des réactions induites par les stimuli : l'hypoxie induit des facteurs de transcription comme l'hypoxia Inducible Factor (HIF), mais aussi le NF- κ B.
- ✓ La production des facteurs angiogéniques. Ils sont réprimés non seulement au niveau génomique mais aussi au niveau non génomique (VEGF, IL-1 , TNF..).
- ✓ Les metalloprotéases et autres protéases qui lysent la membrane basale des vaisseaux.
- ✓ La cyclo-oxygénase. Par l'intermédiaire de la PGE2, elle stimule la production de récepteurs au VEGF dans les cellules endothéliales de la rétine.
- ✓ L'activation des cellules résidentes. En particulier les macrophages et la microglie sont désactivés par les glucocorticoïdes.

- ✓ Le recrutement de cellules inflammatoires par l'intermédiaire du VEGF et des chimiokines.

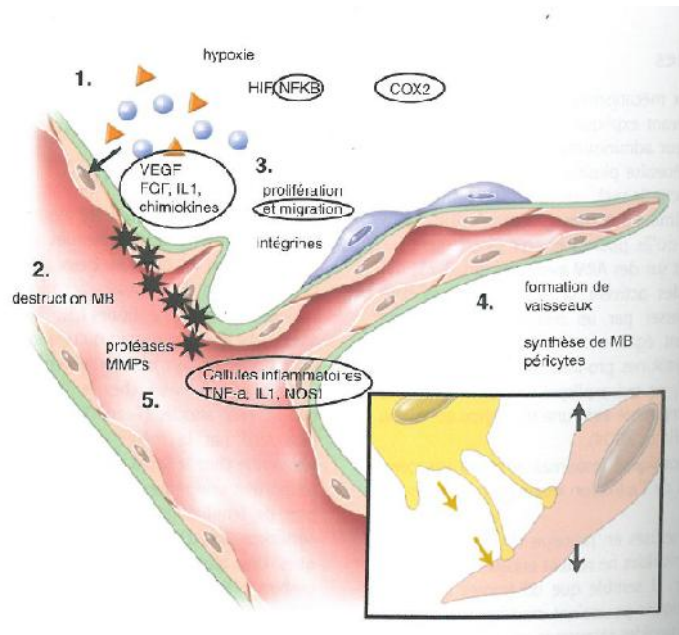


Figure n°46 : Synthèse des différents sites d'action des glucocorticoïdes, dans l'angiogénèse.

Intérêt de l'acétonide de triamcinolone dans le traitement de la DMLA humide :

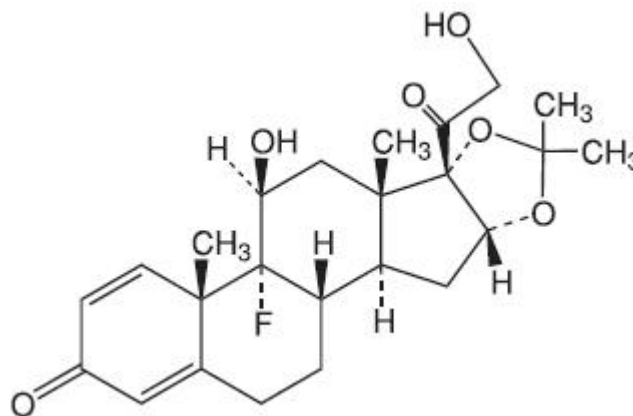


Figure n°47 : Structure de l'acétonide de triamcinolone.

L'acétonide de triamcinolone (Figure n°47) est un glucocorticoïde possédant une activité anti-inflammatoire locale cinq fois plus forte que l'hydrocortisone et une durée d'action plus longue que les autres stéroïdes (3 mois en intra-vitréen). Il a tout d'abord été utilisé en monothérapie dans le traitement de la maculopathie oedémateuse diabétique, pour son effet anti-oedémateux. Puis il a été utilisé en traitement adjuvant de la photothérapie dynamique pour le traitement des formes complexes de néovascularisation choroïdienne. Aujourd'hui,

diverses études ont montré son intérêt en bithérapie ou en tri-thérapie dans la prise en charge de la DMLA. Alors que les premières études, réalisées en monothérapies, n'ont montré aucun bénéfice thérapeutique. Cependant, il a été prouvé que l'acétonide de triamcinolone, agit en inhibant l'action du VEGF lors de la néovascularisation choroïdienne ; tout comme il agit sur l'IL-6, une chimiokine intervenant dans l'angiogénèse. Malgré ces données, cette molécule ne possède pas d'AMM pour le moment, et s'utilise donc hors AMM.

Une étude portant sur 10 patients montre l'intérêt des corticoïdes, dans la prise en charge des patients atteints d'une DMLA humide, traités par bevacizumab ou ranibizumab. Ces patients présentaient un décollement séro-rétinien avec œdème maculaire. Un bilan de leur acuité visuel et une angiographie initiale leur a été fait. Un mois après l'injection concomitante de bevacizumab ou de ranibizumab en intra-vitréen et de triamcinolone en péri-oculaire. Une nouvelle OTC et une acuité visuelle ont été réalisées. Le résultat a ensuite été comparé à 10 patients qui n'avaient reçu que l'injection d'anti-VEGF. Le groupe ayant bénéficié d'une injection d'anti-VEGF (Bevacizumab ou Ranibizumab) combinée à une sous-ténonienne de triamcinolone, présente une meilleure acuité visuelle ETDRS ($p=0.02$) que le groupe de patients sans injection de triamcinolone. Chez qui, on note une disparition plus rapide du décollement séro-rétinien et de l'œdème maculaire à l'OCT de contrôle de 1 mois. La satisfaction des patients était meilleure chez les patients ayant bénéficié d'une injection combinée avec la triamcinolone. Donc l'injection sous-ténonienne de triamcinolone peut être utile, en association avec une injection intravitréenne de Bevacizumab ou de Ranibizumab, en cas de DMLA humide avec décollement séro-rétinien et œdème maculaire associé.

Une seconde étude comprenant 25 yeux atteints de néovaisseaux choroïdiens liés à une DMLA sous-jacente, recevant 1 mg de bevacizumab en intravitréen et 4 mg de triamcinolone en intravitréen. Une évaluation des résultats a été faite à 7 jours, 1, 3, 6, 9, 12 mois par mesure de l'acuité visuelle, réalisation d'une OTC, et d'une angiographie à la fluorescéine. Les résultats de cette étude ont mis en évidence, que l'utilisation de triamcinolone chez les patients non-répondeurs aux traitements anti-VEGF seule, était une bonne alternative thérapeutique. En effet, la bithérapie a permis d'observer une inversion de la perte de vision chez ces patients et une amélioration anatomique significative a pu être observée par OTC (Veritti D, 2013).

Une troisième étude, portant sur 61 yeux a montré que l'acétonide de triamcinolone présente aussi un intérêt thérapeutique dans la prise en charge des patients présentant des néovaisseaux

choroïdiens, lorsque ce médicament est utilisé en association avec la photothérapie dynamique. Quelque soit le caractère étudié : acuité visuelle ou régression anatomique des symptômes (évalué par OTC). Cette évolution favorable s'avère meilleure lorsque l'injection de 25mg de triamcinolone intervient 16h après la photothérapie, à noter qu'une seconde cure peut être réalisée trois mois après, s'il y a persistance de diffusion à l'angiographie à la fluorescéine (Becerra EM, 2011).

Actuellement, au vu de ces dernières études, il a été établi que l'acétonide de triamcinolone peut être administré chez les patients présentant une acuité visuelle supérieure à 5/10, et lorsqu'il s'agit d'un œil fonctionnellement unique. De plus, la voie sous-ténonienne doit être préférée à celle intra-vitréenne. Car les complications infectieuses intra-oculaire sont inexistantes par cette voie, alors qu'avec une injection intra-vitréenne des risques sont présents : endophtalmie, hypopion... En revanche les effets indésirables, tels que l'hypertonie oculaire, l'évolution d'une cataracte sous-jacente, ou encore l'apparition d'un ptosis restent présents avec cette voie d'administration.

Intérêt de l'acétate d'anécortave dans le traitement de la DMLA humide :

C'est un stéroïde modifié, qui ne présente pas les propriétés des corticoïdes (Figure n°48). Contrairement aux anti-VEGF, il n'a pas d'action sur les récepteurs des anti-VEGF mais agit en aval de sa formation, à un niveau intracellulaire.

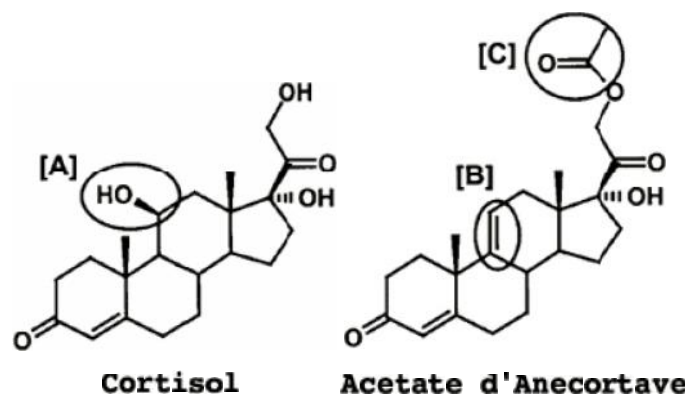


Figure n°48 : Comparaison structurale de l'acétate d'anécortave vs le cortisol (S.Slakter, s.d.).

Cette molécule a été mise en place à partir du cortisol dans le but de réduire les effets indésirables causés par les corticoïdes, dont principalement l'hypertonie oculaire (présente chez 20 à 50% des patients) et l'opacification du cristallin. C'est en ajoutant une double liaison en C9-C11 et en réalisant une déshydroxylation en 11 que la molécule a pu perdre ses

propriétés glucocorticoïdes. Les premières études cliniques ont montré que ces modifications structurelles ont permis d'inhiber les principaux effets indésirables causés par les corticoïdes. L'acétate d'anécortave inhibe l'angiogénèse, en agissant à deux niveaux sur la cascade protéolytique :

- Régulation de la production de facteurs de croissance, tels que le VEGF et l'IGF-1. Ce sont de chimiokines essentielles à l'initiation de l'angiogénèse, et à la migration cellulaire.
- Inhibition de la production de métalloprotéases qui sont nécessaires à la migration orientée des cellules endothéliales. En effet, l'acétate d'anécortave (Figure n°49) inhibe l'expression de la proforme inactive de la matrix métalloprotéinase-3 (pro-MMP3) et de l'activateur urokinase-like du plasminogène (uPA) ; et en activant par ailleurs l'expression de l'inhibiteur du plasminogène (PAI). (Liu C, 2005)

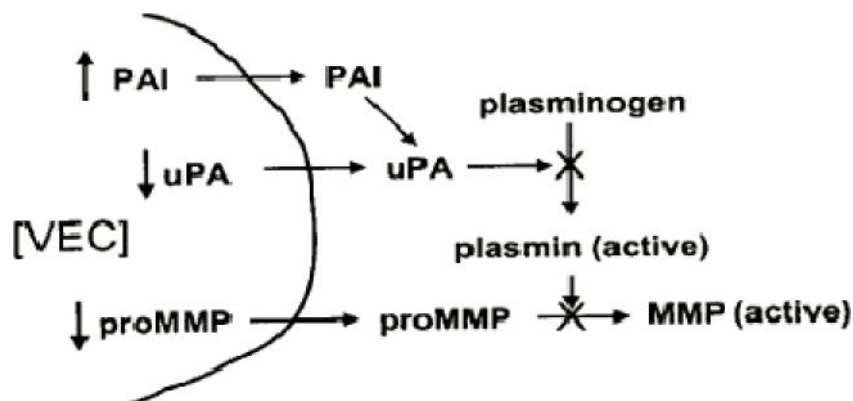


Figure n°49 : Mode d'action sur les MMP de l'acétate d'anécortave (Soubrane, 2007).

Les premières études ont montré que cette molécule présente un intérêt dans le traitement de la DMLA, lorsqu'elle est associée à la photothérapie dynamique.

VII. Les dernières recherches et avancés portant sur la DMLA :

1. De nouvelles cibles thérapeutiques :

Comme nous avons pu le voir dans le début de cette thèse, cette maladie implique le système du complément. En raison des nombreux polymorphismes génétiques, qui ont été identifiés comme étant responsable de l'activation de la voie alternative du complément, la majeure partie des recherches actuelles se focalisent sur cette voie. Actuellement les principales recherches médicamenteuses se focalisent donc sur :

- ✓ De nouveaux anticorps monoclonaux (Figure n°50)
- ✓ Les différents moyens possible pour inactiver la voie du complément
- ✓ Une nouvelle cible : le peptide β -amyloïde ?

A. Les anticorps monoclonaux ciblant l'angiogénèse :

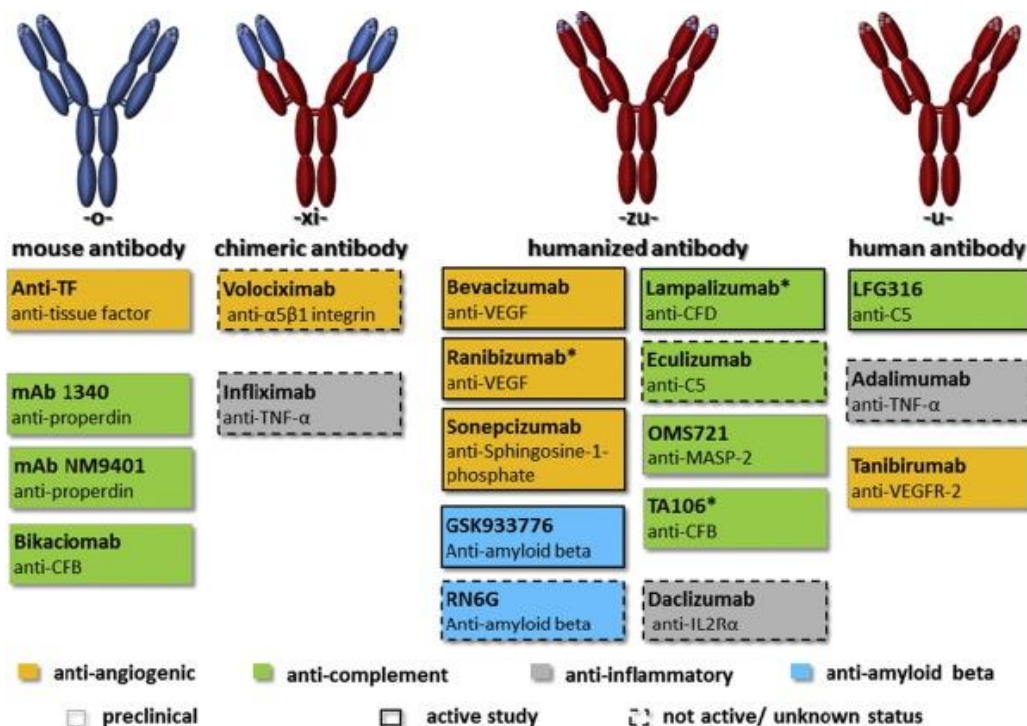


Figure n°50 : Les nouveaux anticorps ciblant l'angiogénèse – de droite à gauche : anticorps dérivés de souris, anticorps chimérique, anticorps humanisés et anticorps d'origine humaine. Il y a actuellement 6 anticorps anti-angiogéniques, 8 anticorps anti-complément, 2 anti-inflammatoires et 2 nouveaux anticorps anti- amyloïde.

a) Sonepcizumab :

Le sonepcizumab est un anticorps murin de type IgG1K humanisé, qui se lie à la forme non oxydée de la sphingosine-1-phosphate. Cette molécule est un lipide pléiotropique bioactif, qui est retrouvé dans le sang, où elle est associée au HDL. C'est un messenger extracellulaire qui agit par activation de nombreux récepteurs liés à la protéine G. Ces derniers sont impliqués notamment dans de nombreux processus physiologiques ciblant les lymphocytes et les cellules endothéliales vasculaires. En inhibant cette molécule, cela va avoir un effet anti-perméable au niveau des cellules impliquées dans l'angiogénèse, il a donc un effet anti-angiogénique, anti-inflammatoire et des propriétés anti-fibrotiques (N. O'Brien, 2009).

Le sonepcizumab va inhiber la sphingosine-1-phosphate, présente dans les fluides extracellulaires et va donc l'empêcher d'intégrer avec les récepteurs de la sphingosine-1-phosphate. Cela va permettre de supprimer la néovascularisation rétinienne et choroïdienne par de nombreuses voies. En plus d'intégrer avec la croissance des cellules endothéliales, cette inhibition va permettre aussi de réduire l'activation du système immunitaire à ce niveau. Mais aussi, de réduire la croissance des fibroblastes et de réguler les facteurs de croissance du tissu conjonctif, qui sont impliqués dans la pathogénèse de la DMLA (S. He, 2003).

Des études animales (B. Xie, 2009) ont montré que le blocage de la sphingosine-1-phosphate permet :

- Une inhibition de la formation des lésions oculaires, et de limiter l'influx des macrophages au niveau de la néovascularisation choroïdienne, chez un modèle murin.
- L'innocuité de cette molécule chez les primates.
- Un effet préventif vis-à-vis des cicatrices oculaires, chez un modèle de rat avec glaucome.
- La présence d'un œdème de la paupière supérieure chez le lapin, suite à l'injection intra-oculaire du sonepcizumab. Cependant, pas d'autres effets indésirables ont été signalés.

Des études sont actuellement en cours sur le sonepcizumab. Les premiers résultats concernant des études de phase I sur l'administration de ce médicament chez des patients atteints de DMLA humide sont prometteurs. En effet, les patients ont reçu des injections mensuelles de sonepcizumab de 0,2 à 2 mg. Les résultats obtenus montrent une diminution moyenne de 30% de la taille des lésions, chez la plupart des patients non répondeurs aux traitements anti-VEGF classiques (ranibizumab, bevacizumab, aflibercept).

Actuellement, cette molécule est en phase IIa, les premiers résultats sont attendus prochainement (Cornelia Volz, 2015).

b) Volociximab :

Le volociximab est un anticorps IgG4 chimérique (82% humain, 18% murin). Il cible l'intégrine $\alpha_5\beta_1$, qui est exprimé dans le développement vasculaire. Cette molécule va permettre d'agir sur l'angiogénèse de manière totalement indépendante vis-à-vis du VEGF. En effet, le volociximab va agir en inhibant l'interaction fibronectine - intégrine $\alpha_5\beta_1$ au niveau des cellules vasculaires. Cela va avoir un effet pro-apoptotique sur la prolifération des cellules endothéliales vasculaires (V. Ramakrishnan, 2006).

De plus, les molécules anti- $\alpha_5\beta_1$ ont montré un effet inhibiteur sur la croissance des vaisseaux sur plusieurs modèles animaux atteints de néovascularisation choroïdienne (T. Nakajima, 2014).

Des essais de phase I ont été débuté sur 63 patients atteints de DMLA humide entre 2008 et 2012, mais ceux-ci n'ont pas été menés à terme, car la société qui détient cette molécule à préférer se concentrer sur une autre molécule, un anti *platelet derived growth factor*. Actuellement, aucune étude n'est en cours sur cette molécule, cela reste donc une piste de thérapeutique pour l'avenir (Rep., 2013).

c) Tanibirumab :

C'est un anticorps humain ciblant le VEGF-R2. Il a été initialement développé pour traiter des cancers. Comme nous l'avons vu précédemment, le VEGF-R2 joue un rôle majeur dans la néovascularisation, cette molécule va donc inhiber l'angiogénèse au niveau de la choroïde et de la rétine en bloquant ces récepteurs. Cela va empêcher la fixation des différents types de VEGF sur ce récepteur.

Cette molécule est actuellement en phase préclinique, et les premiers essais menées chez des rats ayant eu une néovascularisation induite par laser ont montré une diminution de la formation des lésions, qui était corrélée à la concentration de produit reçue (J. Kim, 2014).

B. Des anticorps monoclonaux ciblant le système du complément : une nouvelle cible ?

Le système du complément est un pont important entre le système immunitaire inné et le système immunitaire adaptatif. Il est activé par 3 voies différentes :

- La voie classique via la liaison entre les anticorps et C1q.
- La voie des lectines via la liaison de lectines liant le manose à des résidus carbone hydrate présents sur des agents infectieux.
- La voie alternative qui est initiée par la protéolyse spontanée de C3 et donc par la formation de C3b. La C3 Convertase est activée grâce aux constituants des surfaces microbiennes tels que les polysaccharides.

Durant l'activation, des produits de clivage sont produits et agissent comme des anaphlatoxines (C3a, C5a) ou des opsomères (C3b) pour la microglie ou les autres cellules immunes.

Toutes les voies convergent vers le clivage de C5 en C5a et C5b. L'interaction de C5b avec C6, C7, C8 et C9 résulte en un complexe protéique ciblant les cellules. Ce complexe d'attaque membranaire C5b-C9 provoque la lyse indésirable des cellules.

Au niveau oculaire, le système local du complément est continuellement actif et sous étroit contrôle via des protéines régulatrices, telles que le facteur H du complément (CFH) et le facteur I soluble du complément ou encore par des protéines liées à la membrane : CD46-CD55, qui peuvent être modifiées lors de certaines conditions pathologiques. Plusieurs études ont montré le rôle du complément dans la physiopathologie de la DMLA, avec la présence notamment de iC3b, CD46, CD59 dans les drusens de patients présentant une DMLA. Mais aussi via la présence de variants communs de gènes chez les patients atteints de DMLA, tels que CFH, CFI, C3, CFHR1/3, C2/CFB, ARSM2/HTRA-1.

Cela fait donc du système du complément une nouvelle cible thérapeutique. D'autant plus que celui-ci se compose de plus de 30 protéines, ce qui offre de nombreuses opportunités pour développer des anticorps. Et donc de s'orienter vers une thérapeutique individualisée de la DMLA, en ciblant des protéines exprimées par un variant génétique particulier (Cornelia Volz, 2015).

a) Lampalizumab :

Le facteur D du complément est une sérine protéase (23,5kDa) qui clive le facteur B dans le complexe C3bB permettant la formation de la C3 convertase (C3bBb) de la voie alternative (K.J. Katschke, 2012). Le facteur D est naturellement présent dans le plasma humain, à de très faibles concentrations. C'est un facteur limitant de la voie alternative du complément. Ce facteur est principalement produit par les adipocytes, alors que pour la majorité des autres facteurs du complément, cela se fait dans le foie. En effet, il a été mis en évidence que le taux de facteur D est corrélé avec l'IMC, et donc avec la quantité de tissus adipeux.

Le tissu adipeux n'est plus seulement considéré comme un important stockage d'énergie. Il est aujourd'hui vu comme un organe métaboliquement actif, en raison de son relargage de cytokines pro-inflammatoires et de cytokines anti-inflammatoires. Le facteur D est aussi produit par les macrophages.

Des études récentes ont montré que les taux de facteur D étaient plus élevés chez les patients atteints de DMLA, que chez les patients non porteurs. La présence au niveau de la choroïde du facteur D, et son rôle majeur dans la régulation de la voie alternative du complément ont ouvert de nouvelles cibles pour le traitement de la DMLA, en visant la répression de ce facteur (Yuan Tian, 2015).

Le lampalizumab est un anticorps monoclonal Fab humanisé du mAb 166-32 murin anti-facteur D. Un anticorps à chaîne légère κ et avec un fragment de chaîne lourde VH7, qui permet de former la liaison avec l'antigène. Cela va donc permettre d'inhiber la liaison du facteur D du complément au C3bB. Cet anticorps va donc empêcher le clivage du facteur B du complément. Or le facteur D du complément est un élément initiateur de la voie alternative du complément. De plus, cette molécule est 38 fois moins exprimée au niveau de l'œil par rapport au reste du corps, cela va donc permettre d'avoir une inhibition locale à de plus faible concentration, et donc de limiter les risques d'effets indésirables systémiques potentiels.

Etude de Phase I (D. V Do, 2014) : cette étude s'est déroulée sur 18 patients (de 50 à 85 ans) présentant une atrophie géographique liée à une DMLA (sans néovascularisation). Ils ont reçu des injections intra-vitréennes de cette molécule. Les patients ont été répartis dans des cohortes de 3 personnes en fonction des dosages qu'ils recevaient (0,1mg ; 0,5mg ; 1mg ; 2mg ; 5 mg ; 10mg). Tous les patients ont été suivis pendant 90 jours après l'injection pour vérifier la tolérance et la sécurité. Il n'y a pas eu d'effets indésirables oculaires ou systémiques majeurs rapportés lors de cette étude. Les seuls effets indésirables rapportés ont

été des hémorragies sous conjonctivales ou encore des sensations de corps étrangers. Ces éléments étaient en rapport avec l'injection intra-vitréenne, et non avec le médicament en lui-même.

Étude MAHALO : étude de phase II concernant le lampalizumab (Figure n°51). Cette étude a comparé des injections de lampalizumab mensuelles et bimensuelles, à des injections témoins. Les patients étaient divisés en 2 groupes d'injections témoins (mensuelle ou bimensuelle, avec 21 participants pour chaque groupes) et en 2 groupes recevant du lampalizumab mensuellement (n=43) ou bimensuellement (n=44). Après 18 mois d'études, chez ces 129 patients, les premières conclusions ont été tirées. L'étude pouvait être poursuivie par les patients qui le souhaitaient (Holz, September, 2013).

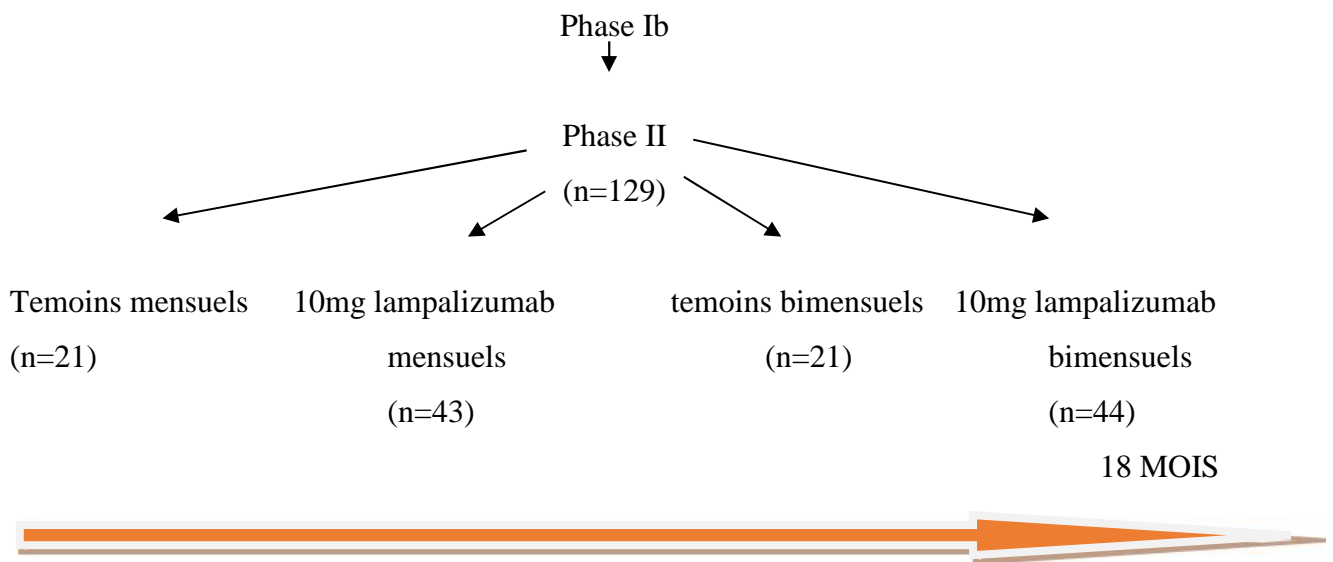


Figure n°51 : Schématisation de l'étude MAHALO.

Cette étude a porté sur une majorité de personnes d'origine européenne. la moyenne d'âge du groupe témoin était de 78,5 ans, celle du groupe recevant les injections mensuelles de lampalizumab était de 80,4 ans, et celles du groupe ayant reçu des injections bimensuelles était de 77,4 ans. Au début de l'étude la moyenne des lettres EDTRS était similaire dans tous les groupes, de même pour la superficie de l'aire d'atrophie géographique.

Les résultats de cette étude ont montré une diminution de la taille de l'atrophie géographique de 20,4% en moyenne par rapport au départ avec un P-value < 0,2. Il a pu être montré grâce à l'autofluorescence et aux photographies couleurs du fond d'œil que l'effet bénéfique du traitement apparaît dès le 6^{ème} mois de traitement par lampalizumab, et perdure jusqu'au 18^{ème} mois de traitement. En revanche, il ne semble pas y avoir de différences

significatives au niveau de l'extension de l'atrophie géographique, entre les patients traités mensuellement et ceux traités bimensuellement (Querques G, 2014).

Une analyse plus spécifique des résultats a été réalisée. En effet, une analyse comparative a été faite chez les patients présentant des biomarqueurs explorateurs de mutation pour CFH, C3, C2/BFC et du facteur I du complément. Cela a révélé que chez les patients présentant ces biomarqueurs, il y avait une diminution de 44% de l'aire d'atrophie géographique par rapport au groupe témoin ($p < 0,005$; $n = 28$). Il est à noter que dans le groupe témoins, les personnes ayant une mutation du facteur I du complément ont plus d'atrophie que ceux qui n'en ont pas. Cela met donc en évidence que les résultats de l'étude ont été amplifiés chez les patients ayant une mutation du facteur I, car celui-ci agit en aval du facteur D et du facteur H du complément dans la voie alternative du complément.

Il est nécessaire que cette molécule soit testée sur un plus grand nombre de personnes pour déterminer si elle est efficace et sûre (en terme de sécurité d'utilisation). Des essais de phase III au niveau international sont donc, en cours de réalisation, sous les noms suivants : CHROMA et SPECTRI incluant 936 patients. Ces études ont pour but d'évaluer la variation moyenne de la lésion d'atrophie géographique à 1 an et l'effet sur la fonction visuelle à 2 ans, chez des patients recevant du lamaplizumab 10 mg toutes les 4 à 6 semaines. Les premiers résultats des études de phase II représentent un espoir majeur pour les personnes atteintes de la forme sèche de la maladie. D'autant plus qu'ils n'ont pas de traitements médicamenteux efficace pour le moment. Le lamaplizumab est le 1^{er} anticorps thérapeutique ayant un effet dans la DMLA, via une action ciblant le système du complément.

En outre, l'étude de A Yang en 1992 a montré que lorsque l'on supplémente en lutéine des personnes ($n = 72$) atteintes de DMLA précoce, à raison de 10 mg de lutéine par jour pendant 12 mois, il y a une décroissance mensuelle significative : 0,11 $\mu\text{g/ml}$ du facteur D plasmatique. Ce qui permet à 1 an d'avoir une décroissance de 51% en moyenne (allant de 2,3 $\mu\text{g/ml}$ à 1,0 $\mu\text{g/ml}$). Tandis que chez les personnes sous placebo, la baisse moyenne était de 0,5 $\mu\text{g/ml}$ à 1 an.

Les niveaux de C3d ont diminué chez les personnes traitées au cours du temps, mais une légère augmentation statistiquement significative est apparue entre le 8^{ème} et le 12^{ème} mois. Avec le placebo, on a une augmentation continue non significative de C3d et C5b-9. Cette étude n'a pas été reproduite pour le moment, mais elle semble mettre en évidence un lien entre la supplémentation en lutéine et le taux de facteur D.

Le mécanisme qui relie la lutéine au taux de facteur D, n'est pas encore connu. Mais, il est important de noter que le tissu graisseux est le principal producteur de facteur D et que c'est aussi un important site de stockage de la lutéine, de la zéaxanthine et de la méso-zéaxanthine. Il est supposé que la lutéine agit en bloquant la translocation du facteur κ b nucléaire au niveau du noyau. Et qu'elle inhibe la synthèse de différentes cytokines. Donc elle agirait de la même manière pour réguler la synthèse du facteur D (Smailhodzic, 2012).

b) Eculizumab :

C'est une immunoglobuline κ IgG2/4 murine humanisée, elle est capable de se lier à la chaîne du facteur C5 du complément (Ac anti-C5). Cela va inhiber le clivage pro-inflammatoire de C5a en C5b. Le C5b est impliqué dans la formation du complexe d'attaque membranaire du complément (C5b-9), il va initier la cytolysse et l'activation cellulaire. Le C5a est un médiateur inflammatoire qui induit la migration cellulaire, l'adhésion cellulaire et la libération de cytokines par les cellules ayant des récepteurs pour le C5a. L'eculizumab agit sur la génération de ces fragments de protéines et ont montré des effets sur le blocage du complément, inhibant donc la néovascularisation (H.F. Langer, 2010).

Cette molécule a tout d'abord été approuvée pour le traitement de l'hémoglobinurie paroxystique nocturne. Elle est maintenant commercialisée pour le syndrome hémolytique et urémique atypique, ainsi que pour d'autres maladies liées au complément.

Étude COMPLETE : C'est une étude de phase II, randomisée, réalisée en double aveugle. Elle a porté sur 30 patients qui avaient une atrophie géographique secondaire à une DMLA. Ces patients ont reçu des doses d'eculizumab en intra-veineux allant de 600 mg toutes les 4 semaines à 1200 mg toutes les 2 semaines, pendant une durée de 24 semaines. Puis, les chercheurs ont évalué la régression de l'atrophie géographique, et l'acuité visuelle des patients. A 26 semaines, comme à 52 semaines, il n'y avait pas de différences significatives entre les patients ayant reçu le placebo et ceux ayant reçu l'eculizumab (Z. Yehoshua, 2014).

c) LGF-316 :

C'est une IgG1 totalement humaine qui cible le facteur C5 du complément humain. Elle inhibe le système du complément. Les expériences in vitro ont montré la liaison stochiométrique de 1 IgG1 à 2 molécule de C5 humain avec une forte affinité : 12,1 pM.

Une étude de phase I avec escalade de doses et de sécurité, avec une seule injection allant de 0,15 à 5 mg de LGF-316, a été réalisée chez des patients atteints de DMLA sèche ou humide.

Aucun effet indésirable majeur n'a été publié, plusieurs essais de phase II se sont donc mis en place et sont actuellement en cours.

Dans une première étude, des patient avec une atrophie géographique ont été traité pendant 18 mois avec le LGF-316. La croissance des lésions d'atrophie géographique et la fréquence des effets indésirables sont en cours d'étude, les résultats sont attendus pour 2018. Une seconde étude est en cours chez des patients atteints de DMLA humide, elle va évaluer l'efficacité du LGF-316 en combinaison avec les thérapies anti-VEGF. On saura si des injections intra-veineuse allant de 10 à 20 mg/kg peuvent permettre de reduire les administrations d'anti-VEGF et les effets indésirables liés à l'atrophie géographique (Cornelia Volz, 2015).

d) Anticorps anti-MASP-2 (OMS-721) :

C'est une immunoglobuline G humanisée dirigée contre MASP-2 (*mannan-binding lectin-associated serine protease 2*). La MASP-2 est nécessaire pour traduire la liaison des complexes de reconnaissance des lectines dans l'activation du complément. Le blocage in-vitro de MASP-2 inhibe la formation de C3b qui provenait de l'activation de la voie des lectines (W.J. Schwaeble, 2011).

Dans un modèle murin avec DMLA humide provoquée par photocoagulation au laser, a montré une diminution de l'expression du VEGF, et une réduction de 30% des lésions chez les souris déficientes en MASP-2 par rapport aux témoins. Dans une seconde étude, l'anticorps anti-MASP-2 a été injecté en intra-péritonéale avant la photocoagulation laser, cela a permis de diminuer de 50% la néovascularisation choroïdienne.

Dans une étude de phase I, OMS-721 a bien été toléré en IV et en SC, et l'inhibition de la voie des lectines a été obtenue. Cette molécule est actuellement en essai clinique de phase II pour les microangiopathies thrombotiques, et en développement pré-clinique pour la DMLA (Cornelia Volz, 2015).

e) Anticorps anti Facteur B du complément et anti properdin :

Le facteur B du complément est une sérine protéase qui est active dans les premières étapes de la cascade alternative du complément. Cependant, la concentration du facteur B n'est pas significativement augmentée chez les patients présentant une DMLA. Seule une modeste augmentation des produits de clivages du facteur B (facteur Ba) a été montré. Néanmoins, une accumulation du facteur B du complément a été mise en évidence au niveau de la membrane de Bruch, et au sein de la choroïde des patients atteints de DMLA.

Actuellement, il y a deux anticorps différents anti-facteur B :

- TOA-106 : c'est un fragment d'anticorps humanisé ayant un motif de glycosylation modifié pour réduire les fonctions immunitaires effectrices.
- Bikaciomab : c'est un IgG murin.

Ces molécules sont actuellement en étude sur des animaux dans le cadre de la recherche sur la DMLA, mais les résultats n'ont pas encore été publiés à ce jour.

La properdin est un régulateur positif de la voie alternative du complément. Cette protéine se lie à la C3 et C5 convertase, et permet de stabiliser une boucle d'auto-amplification. A ce jour, deux anticorps monoclonaux de souris ont été développés : mab 1340 et NM9401. Ils se lient spécifiquement à la properdin et inhibent la voie alternative *in vitro*. Ces molécules n'ont pas encore été testées dans le cadre des pathologies oculaires liées à l'âge (C. Kemper, 2010).

2. Le peptide β -amyloïde : nouvelle cible !?

La DMLA est une pathologie multifactorielle comme nous avons pu le voir précédemment, elle est due à de nombreux facteurs environnementaux, mais aussi génétiques. C'est aussi une maladie dégénérative, qui induit la perte des fonctions visuelles, via une atrophie des photorécepteurs et de l'épithélium rétinien sous-jacent. Or, des études récentes ont mis en évidence que les cellules ganglionnaires rétiniennes et que les cellules de l'épithélium rétinien pigmentaire, sont des sources majeures de synthèse et de sécrétion de β -amyloïde au sein de l'œil postérieur (K., 2011). De plus, il a été mis en évidence des taux plus ou moins élevés de β -amyloïde dans des rétines âgées en lien avec la progression de la DMLA. D'après ces éléments, le β -amyloïde jouerait un rôle crucial dans la physiopathologie de la DMLA (Benilova I, 2012).

Le β -amyloïde est une protéine très pénétrante et hautement toxique qui va cibler les neurones, c'est un élément clé des maladies neurodégénératives. Le gène de protéines précurseurs de l'amyloïde (APP) se trouve sur le chromosome 21q21 et code pour une glycoprotéine de membrane exprimée ubiquitairement dont les isoformes principales sont APP751, APP770 et APP695 (Yoshida T, 2005). La transcription de l'APP se fait principalement au niveau des cellules ganglionnaires choroïdiennes et des cellules du RPE chez l'homme. Il existe deux voies distinctes pour réaliser le processus protéolytique de l'APP :

-voie amyloïdogène : clivages successifs de l'APP par les enzymes β et γ secretase qui produit le $A\beta$ -amyloïde, avec un poids moléculaire d'environ 4 kDa.

-voie non amyloïdogène.

Il existe environ une vingtaine d'espèce d'amyloïde, cela est dû à des mutations au niveau des enzymes de clivages, mais aussi à des modifications post-traductionnelles. Mais les formes prédominantes sont celles avec 40 et 42 résidus (Luhers T, 2005).

A ce jour, le rôle du $A\beta$ -amyloïde dans la rétine âgée n'est pas encore bien compris. Mais, il y a déjà des preuves qui montrent que le $A\beta$ -amyloïde est impliqué dans la DMLA :

o Génération de $A\beta$ -amyloïde constitutif dans la rétine normale :

La rétine et le système nerveux central partagent une origine commune. Ils dérivent tous les deux du développement du tube neural. De plus avec l'âge, la rétine et le cerveau développent des dépôts extracellulaires associés à des pathologies dégénératives, appelés respectivement drusens ou plaques séniles. Il n'est donc pas surprenant qu'il y ait des similarités de composition entre ces deux entités, dont le $A\beta$ -amyloïde ; ou encore l'amyloïde P, l'apolipoprotéine 6, les immunoglobulines, des protéines du complément, des matrices de membrane basale, des protéoglycanes... ainsi que d'autres médiateurs inflammatoires qui témoignent de l'inflammation locale : Fe^{3+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} ... ces similitudes entre plaques séniles et drusens sont de mauvais pronostics, et suggèrent que des mécanismes similaires peuvent conduire à des changements dégénératifs dans le cerveau et la rétine (Prakasam A, 2010).

Des études ont montré que les cellules ganglionnaires rétinienne et l'épithélium rétinien pigmentaire expriment la protéine précurseur de l'amyloïde, et elles ont toute la machinerie nécessaire pour générer le $A\beta$ -amyloïde.

o Facteurs rétinien d'amyloïde augmentés avec l'âge : la croissance des dépôts $A\beta$ -amyloïdes peut être vu comme une altération de la balance entre la synthèse augmentée de $A\beta$ -amyloïde par rapport à la diminution de la capacité à éliminer ces agrégats. Il a été mis en évidence chez des souris que le taux de neprilysine (qui élimine le $A\beta$ -amyloïde) est diminué. Tandis que l'activité β -sécrétase est plus élevée au sein des cellules senescentes du RPE. Ce qui indique que la capacité d'élimination diminue avec l'âge, alors que la production de $A\beta$ -amyloïde augmente (Wang J, 2012).

Au cours de cette étude (Hoh KJ, 2010), il a été mis en évidence que l'accumulation de ces $A\beta$ -amyloïdes se fait initialement entre la membrane de Bruch et le RPE, c'est-à-dire au même endroit qu'apparaissent les premiers signes évocateurs DMLA (dépôts laminaux latéraux, dépôts laminaux basaux, drusens...), à proximité immédiate de la couche de collagène

interne de la membrane de Bruch. Puis, entre le 3^{ème} mois et le 12^{ème} mois d'étude chez les souris, le β -amyloïde va s'accumuler dans le segment externe des photorécepteurs.

L'analyse d'yeux humains post-mortem, allant de 31 ans à 90 ans, a montré une tendance similaire d'augmentation de l'immunocoloration des β -amyloïdes dans la pointe apicale des photorécepteurs (Figure n°52).

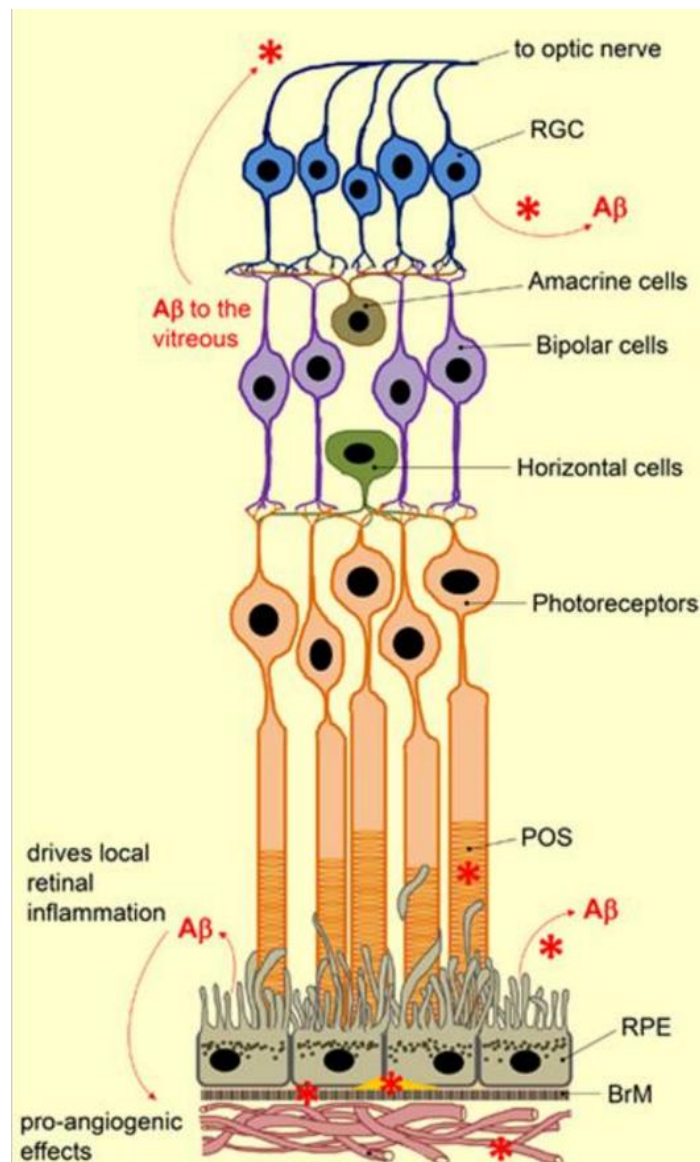


Figure n°52 : illustration des différentes sources de β -amyloïdes et d'aggrégation de ce peptide au sein de la rétine âgée (J A Ratnayaka, 2015 Aug).

○ Aggrégation de β -amyloïde est impliquée dans les étapes clés de la DMLA : les preuves examinées jusqu'à présent confirment que le β -amyloïde joue un rôle central dans la DMLA. Une petite étude (Dentchev T, 2003) composée de 9 rétines atteintes de DMLA, et un

nombre équivalent de témoins, a montré que les drusens contenant des β -amyloïdes ne sont présents que chez les patients atteints de DMLA. Sur 4 des 9 rétines atteintes de DMLA, il y a eu une réactivité positive aux β -amyloïdes, et dans 2 rétines il y avait des β -amyloïdes à des stades précoces de la DMLA atrophique. Malgré un nombre insuffisant d'échantillons, cela montre que les β -amyloïdes ont un rôle primordial dans la pathogénicité de la DMLA.

Des études ont aussi mis en évidence, que les β -amyloïdes étaient présents au sein de composants vésiculaires à l'intérieur des drusens, appelés : vésicules amyloïdes. Ces vésicules font entre de 0,25 μm à 10 μm , 10 à 15 μm , 10 à 20 μm (Isas JM, 2010). La forme de ces vésicules est variable : sphère allongée, vésicules issues du bourgeonnement ou issues du phénomène de fusion (Figure n°54). Une analyse plus poussée des vésicules amyloïdes a révélé qu'il y a une importante organisation interne, avec des couches annulaires concentriques de différentes concentrations en électrons liées par une enveloppe dense en électrons, de 100 nm. Au sein de ces structures, l'amyloïde a été mis en évidence grâce à des anticorps réactifs. Il est réparti de manière homogène.

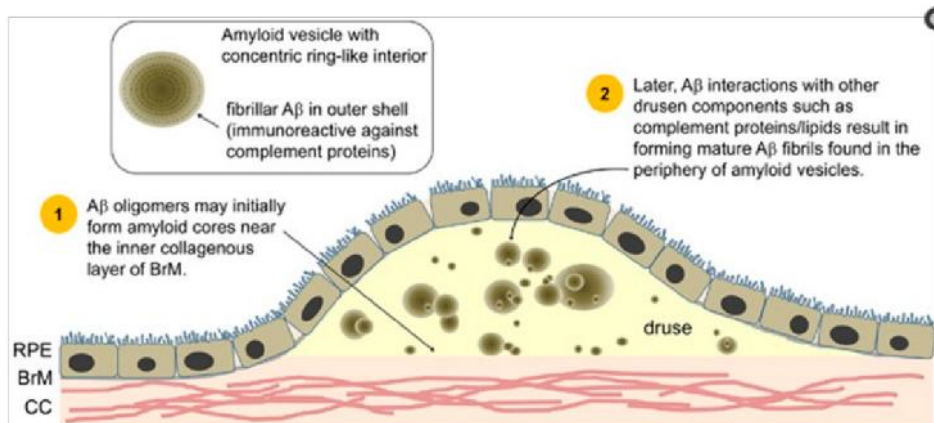


Figure n°53 : Organisation des β -amyloïdes au sein des drusens - la présence de β -amyloïdes est plus importante chez les personnes ayant des drusens. Ce peptide s'organise au sein de sphères, et forme des vésicules amyloïdes. Lesquelles peuvent occuper une grande partie des drusens et former des sites d'activation potentiels du complément (J A Ratnayaka, 2015 Aug).

○ Activation d'un microenvironnement pro-inflammatoire et pro-angiogénique causée par les dépôts β -amyloïde rétinien : l'exposition expérimentale de cellules rétiniennes, de l'épithélium rétinien pigmentaire et de la choroïde à des β -amyloïdes peut induire des changements fondamentaux, dont une inflammation rétinienne locale. Cela a pu être constaté sur plusieurs modèles animaux : poisson, tigre, lapin, rat et œil humain post-mortem. Un examen systématique de ces résultats révèle une tendance à l'apparition progressive d'effets inflammatoires et pro-angiogéniques. Cette tendance est liée à la présence de β -amyloïde dans la rétine vieillissante. Aujourd'hui, nous sommes capable de distinguer les changements

précoces de la DMLA liés au β -amyloïde, de ceux qui apparaissent plus tardivement. De tels changements sont susceptibles d'être déclenchés, et chroniquement soutenus par un cocktail toxique de β -amyloïdes. Ils sont facilement alimentés par plusieurs réservoirs tels que l'environnement immédiat du RPE, le liquide vitré, le revêtement externe des photorécepteurs et dans les drusens sous rétiniens. En outre, ces événements précoces sont susceptibles de se produire bien avant l'apparition des premiers stades cliniques de la DMLA, et cela comprend une altération des gènes clés de l'inflammation. En effet, il a été mis en évidence sur des cultures de cellules fœtales humaines de RPE que lorsqu'on les met en présence de β -amyloïde 40 pendant 24h, il y a une élévation des taux de cytokines pro-inflammatoires dont l'IL-1 et l'IL-8 (Kurji KH, 2010). Une seconde étude a montré que la surexpression d'IL-8, et de MMP-9 sous traitement par β -amyloïde 40 coïncide avec la senescence du RPE, alors que l'IL-8 lui-même est un inducteur puissant de la chimiotaxie. Cette dernière corrélée avec l'amplification de la réponse inflammatoire et de la néovascularisation (Cao L, 2013). Cela s'est révélé aussi être vrai sur des modèles animaux, par exemple chez des rats. Il leur était administré du β -amyloïde 40, des taux élevés de cytokines pro-inflammatoires : IL-1, IL-6, IL-8 et TNF- α au sein du RPE et de la neurorétine ont été retrouvés. De plus, l'élévation de la caspase 1 et de NLRP3 indiquent que l'inflammasome rétinien est activé, or celui-ci est impliqué dans la DMLA (Liu RT, 2013).

En ce qui concerne le système du complément, qui nous l'avons vu est impliqué dans la pathogénie de la DMLA. Il est lui aussi impliqué dans certaines pathologies neurodégénératives tel que la maladie d'Alzheimer, dans lesquels les peptides β -amyloïdes peuvent induire une inflammation chronique dans le cerveau, via l'activation de voies du complément de manière directe ou indirecte (Akiyama H, 2000). Les chercheurs se sont donc servis de ce constat pour effectuer des recherches dans le cadre de la DMLA. Une étude réalisée sur des yeux humains post-mortem a montré que la synthèse du facteur H (un régulateur important de la voie alternative du complément), se trouve au même endroit que son ligand C3b/iC3b dans des vésicules contenant du β -amyloïde au sein des drusens (Johnson LV, 2002). Le facteur H et les complexes d'attaques membranaires sont accumulés le long de la surface des vésicules amyloïdes dans l'interface RPE/choroïde et sont plus présents dans les régions maculaires des donneurs avec antécédents de DMLA. Cela a été confirmé par une seconde étude sur des yeux post-mortem. Elle a mis en évidence la présence de iC3b (produit activé de C3) à proximité des vésicules amyloïdes et au même endroit que les dépôts β -amyloïde. Grâce à ces expériences, cela a permis de mettre en évidence que les β -amyloïdes activent le complément, au cours de la pathogénie de la DMLA.

Le RPE a un rôle central dans la DMLA, plus particulièrement dans le maintien de la barrière hémato-rétinienne, et dans le maintien de l'homéostasie de l'environnement rétinien. Des changements structurels conduits par les β -amyloïde au sein des monocouches cellulaires du RPE, ont été mis en évidence in vivo. En effet, il a été injecté des β -amyloïde 42 oligomériques au sein de rétines in vivo, ce qui a engendré une désorganisation des filaments d'actine et des complexes de jonctions, en l'absence d'apoptose. Cela s'est aussi traduit par une hypopigmentation du RPE et une altération des photorécepteurs (dont la perte des segments externes).

De plus, le β -amyloïde est bien connu au niveau du cerveau pour sa capacité à générer des espèces réactives de l'oxygène, c'est aussi le cas au niveau de la rétine, ce qui induit une accumulation de lipofuscine au sein des cellules du RPE.

Au cours des derniers stades de la DMLA, la toxicité des β -amyloïdes est cumulative. L'étude de Yoshida T (*The potential role of amyloid beta in the pathogenesis of age-related macular degeneration*, 2005) montre que l'exposition de cellules du RPE humain de culture à 1-25 μ mol/l de β -amyloïde 40 pendant 24h induit une élévation de l'expression du VEGF pro-angiogénique et une diminution simultanée du PEDF (*pigment epithelium derived factor*). La monocouche du RPE apparaît être la seule source de VEGF dans l'environnement rétinien. Elle sécrète différentes isoformes de VEGF à travers sa surface basolatérale vers les choriocapillaires. Or le VEGF a un rôle essentiel dans le développement de la néovascularisation choroïdienne. La capacité du β -amyloïde à augmenter les taux de VEGF à proximité de la barrière hémato-rétinienne, par des mécanismes directs et éventuellement des cibles inflammatoires indirectes, peuvent aider à expliquer la pathogénie de la DMLA.

○ Facteur de risques favorisant l'aggrégation des β -amyloïdes dans la DMLA :

La nature hétérogène de l'étiologie de la DMLA suggère que la pathologie est déclenchée par la convergence de multiples facteurs de risques. Ceux-ci se composent à la fois de facteurs génétiques et épigénétiques tel que l'alimentation. Lorsque nous faisons le parallèle avec la maladie d'Alzheimer, une pathologie neurodégénérative liée, elle aussi, la formation de peptide β -amyloïde, il est possible de constater sur des souris Tg 2576 que la perturbation générée par le β -amyloïde sur la barrière hémato-encéphalique est similaire à celle générée par ce même peptide β -amyloïde sur la barrière hémato-rétinienne (Biron KE, 2011). L'apolipoprotéine E encode pour une glycoprotéine responsable du transport du cholestérol, est fortement exprimée dans la rétine. Elle est susceptible d'y jouer un rôle dans le maintien de la fonction rétinienne normale. La fréquence des allèles Apo E (2, 3, 4) n'est pas la même dans la maladie d'Alzheimer et dans la DMLA (McKay GJ, 2011). Par exemple, dans

la maladie d'alzheimer, il a été mis en évidence que l'allèle 4 confère un risque dose dépendant plus élevé de déclencher la maladie plus précocément. Tandis que l'allèle 2 a un effet bénéfique, en retardant l'âge d'apparition de la maladie. Cela lui confère donc un rôle bénéfique. Dans la cadre de la DMLA, les études n'ont pas émise les mêmes conclusions. En effet, elles ont révélé que c'est l'allèle 4 qui protège contre la DMLA. Les sujets homozygotes 2 présentent un risque plus élevé de développer une DMLA à un stade avancé. L'haplotype 4 semblerait améliorer la perméabilité de la membrane de Bruch, ce qui pourrait faciliter le transport des lipides et donc réduire l'accumulation des débris sous rétiens qui sont associés à la formation de drusens. De plus, l'isoforme 4 est aussi impliquée dans le transport des pigments maculaires : lutéine et zéaxanthine. Un important facteur régulant les effets de l'Apo E est leurs interactions avec le β -amyloïde. Les différentes isoformes d'Apo E ont différentes affinités de liaison en fonction du génotype. Ce dernier affecte donc la clairance du β -amyloïde et son oligomérisation.

Le cholestérol est un composé essentiel pour la régulation de la fluidité membranaire, la perméabilité membranaire et les propriétés électriques des cellules eucaryotes. Des études sur le cholestérol, ont montré chez des souris dont l'alimentation était enrichie en cholestérol que le nombre de pathologies liés au β -amyloïde augmente. Tandis que l'utilisation des médicaments hypocholestérolémiant permet de diminuer considérablement les risques liés au β -amyloïde, et donc la maladie d'Alzheimer (Ricciarelli R, 2012). Cependant la nature réelle, de l'interaction entre le β -amyloïde et le cholestérol, n'est pas encore totalement élucidée. Une étude suggère que le cholestérol pourrait moduler la formation de β -amyloïde et sa clairance. Une étude sur des cellules du RPE de souris C57BL/6 a montré que le cholestérol conduit à une augmentation significative de la production de β -amyloïde, tandis que l'activité des enzymes de dégradation (néprilysine et β -secretase anti-amyloïdogenique) est diminuée. De plus, ces souris ont aussi développé des dépôts sur le RPE, qui étaient enrichis en β -amyloïde (Wang J, *Cholesterol enhances amyloid beta deposition in mouse retina by modulating the activities of Abeta-regulating enzymes in retinal pigment epithelial cells.*, 2012). Cela a pu être reproduit chez des lapins blancs de nouvelle-zélande. La prise alimentaire élevée de cholestérol et de graisses saturées est aujourd'hui pointée du doigt comme étant un facteur de risque à long terme. Car ces études ont révélé que la prise excessive de cholestérol, chez le lapin et les souris, induit aussi l'apparition de drusens, l'augmentation des espèces réactives de l'oxygène et une apoptose des cellules rétiennes (Curcio CA, 2011).

A. Des thérapies anti-amyloïde dans la DMLA ?

Nous avons pu voir que le amyloïde est un peptide hautement toxique. Il est capable de provoquer une inflammation locale, et il est impliqué dans des étapes clés de la DMLA mais aussi de la maladie d'Alzheimer, ce qui en fait une nouvelle cible thérapeutique. Des similarités ont été trouvées dans les plaques séniles d'Alzheimer et les drusens de la DMLA, ce qui est en faveur de mécanismes moléculaires partagés à certaines étapes de la maladie (Yoshida T O.-M. K., 2005).

Néanmoins pour faire des essais cliniques à ce jour, il est difficile d'avoir un modèle animal, strictement identique à ce qui se produit chez l'homme. En effet, par exemple, chez les souris, il n'y a pas de macula (J.-D. Ding, 2008).

Actuellement, des anticorps anti-peptide amyloïde sont à l'étude :

a) RN6G (PF-04382923) :

C'est un anticorps humanisé de type IgG2 qui cible le peptide C terminal du amyloïde (A₋₄₀ et A₋₄₂). Cependant, il ne cible pas la protéine précurseur de l'amyloïde non pathogène. L'application intra-péritonéale de RN6G, dans un modèle de souris ayant une DMLA, a permis de réduire la pathologie. En effet, les niveaux de amyloïde dans les dépôts sub-rétiniens ont été diminués. De plus, cette étude a aussi permis de mettre en évidence que la fonction visuelle et le RPE, n'étaient protégés que lorsque l'on traite les souris contre le A₋₄₀ et A₋₄₂ (B.B. Berger, 2013).

Ensuite, une étude (J.R. Heyen, 2014) a été menée sur 3 singes cyanomolgus. Eux aussi ont reçu du RN6G, cependant ils sont morts après avoir développé une maladie à immun-complexe. Alors que, les essais réalisés chez des patients atteints de DMLA sèches, n'ont pas révélé d'effets indésirables sévères (NCT00877032). Les effets indésirables, les plus communs étaient des céphalées et des irritations. Au cours de l'essais de phase I, des doses uniques et des doses croissantes ont été administrées en intra-veineuse (de 0,3 à 40 mg/kg), et après 24 semaines. Les résultats n'ont pas montré de changements en terme d'acuité visuelle. Une étude de phase II a été réalisée, avec l'injection de 11 doses en IV chez des patients présentant un atrophie géographique, mais les résultats n'ont pas encore été publié.

b) GSK933776 :

C'est un anticorps monoclonal humanisé de type IgG1 dirigé contre la partie N-terminal du amyloïde. Sur ce dernier, deux mutations ont été introduites pour inactiver les

fonctions effectrices de la partie Fc et améliorer le profil de sécurité de cet anticorps. Il est actuellement en étude de phase II, afin d'évaluer la sécurité et l'efficacité de ce traitement chez 184 patients atteints d'atrophie géographique. L'étude va évaluer l'évolution de l'aire d'atrophie géographique à J0, et après 3 ou 6 injections d'Ac anti-amyloïde. Les résultats de cette étude sont attendus au cours de cette année (GlaxoSmithKline, 2014).

3. L'utilisation des cellules souches dans la DMLA :

A. Généralités sur les cellules souches :

Les cellules souches sont essentielles grâce à leur deux propriétés distinctes :

- Autorenewement infini. Les divisions se produisent de manière asymétrique, où au moins l'une des deux cellules filles a les traits de la cellule souche.
- Conservation d'un état indifférencié, tout en ayant un haut potentiel de différenciation.

Il est possible de classer les différents types de cellules souches disponibles dans le corps humain, en fonction de leur potentiel de différenciation :

Cellules totipotentes : elles ont la capacité de se différencier soit en tissu embryonnaire ou en tissu extra-embryonnaire.

Cellules pluripotentes : elles peuvent former tous les tissus embryonnaires (ectoderme, endoderme, mésoderme).

Cellules multipotentes : elles sont capables de se différencier en un nombre limité de types cellulaires somatiques.

Il est aussi possible de les classer en fonction de leur origine, il est donc possible de distinguer :

- ✓ Les cellules souches embryonnaires humaines sont issues d'une masse cellulaire interne non différenciée de l'embryon, au stade de blastocyste (J4-J5). Celles-ci sont pluripotentes. Elles sont donc de grands espoirs pour la thérapeutique, si elles peuvent être utilisées pour remplacer des tissus endommagés chez les patients atteints d'une maladie dégénérative. Les premiers essais cliniques ont révélé que ces cellules semblent être prometteuses. De plus, elles présentent de très faibles risques d'instabilité génétique, phénotypique et de rejet de greffe. Seul problème de ces cellules souches embryonnaires humaines : l'éthique. Car, pour isoler ces cellules à partir du blastocyste, il n'y a pas d'autre choix que de détruire le blastocyste. D'autres approches ont été réalisées pour isoler des cellules embryonnaires à des stades

précoces de développement, sans détruire l'embryon, mais elles se sont révélées moins efficaces, bien qu'elles aient fait leurs preuves.

- ✓ Les cellules souches peuvent aussi être originaire du tissu fœtale, tels que les cellules fœtales du RPE, qui sont considérées comme multipotentes. Une autre source de cellules multipotentes est le tissu du cordon ombilical. Enfin il y a aussi les cellules souches dérivées de tissus adultes, elles sont capables de maintenir et régénérer un tissu donné pendant la vie. Ces cellules sont souvent à un état de croissance arrêté, avec un cycle cellulaire ralenti. Cependant, elles peuvent entrer de nouveau dans un cycle cellulaire à la demande (ex : une blessure tissulaire) et donnent alors lieu à des progéniteurs tissulaires hautement prolifératifs et différenciés. En ce qui concerne la DMLA et les pathologies rétinienne, les progéniteurs de cellules rétinienne sont très intéressants. En effet ce type de cellules a été retrouvé dans la rétine humaine immature. Elle y représente une population cellulaire immature qui est responsable de la production de tous les types cellulaires neuronaux rétiniens, dont la glie de Müller. Les cellules progénitrices rétinienne révèlent des propriétés identiques aux cellules souches, avec la capacité d'autorenouvellement *in vitro* et une capacité restreinte de différenciation entre différents neurones rétiniens définis. Néanmoins, ces cellules semblent être à ce jour difficilement utilisables en raison des difficultés d'isolation. Elles nécessitent un tissu fœtal ou post mortem viable.
- ✓ En 2006, un nouveau type de cellules souches est apparu : les iPSc (cellules Souches Pluripotentes Induites). Ce type de cellules souches est produit à partir de cellules somatiques adultes. Elles sont ensuite reprogrammées en cellules pluripotentes ressemblant fortement aux cellules souches embryonnaires humaines. Cela est rendu possible par la surexpression de 4 facteurs de transcription : OCT3/4, Sox-2, KLF-4 et c-Myc OU OCT-4, Sox-2, Nanog et Lin-28 (Takahashi K, 2007). Les iPSc ont les caractéristiques essentielles des cellules souches embryonnaires humaines vis-à-vis de leur morphologie, de la prolifération, des antigènes de surfaces, de l'expression des gènes, des statuts épigénétiques, des gènes spécifiques de cellules et de l'activité télomérase. De plus, elles ont la capacité de se différencier dans tous les types cellulaires somatiques du corps humain, et servent donc de source illimitée de cellules humaines définies. De nouvelles techniques de production des iPSc sont apparues pour éviter les intégrations et l'utilisation de transgènes. Les scientifiques se sont aperçus que cela pouvait générer une altération de la différenciation de ces cellules ;

mais aussi des mutations, étant tout deux des risques de pathologies associées au traitement. Ces nouvelles techniques de production incluent :

- L'utilisation de vecteurs non intégratifs, tels que le virus Sendrii, les vecteurs épisomales ou des minicercles d'ADN (Warren L, 2010).
- L'excision de vecteurs après l'intégration, via le système CRE/Lox-P (Chakraborty S, 2013).
- De l'ADN libre délivré aux facteurs directement comme des protéines ou des ARN messagers.
- L'induction chimique via de petites molécules (Jung D, 2014).

Ces alternatives ont toutes été des succès, mais elles sont plus compliquées à mettre en place. Il faut également noter que dans les cas de transplantations autologues, il y a eu moins de rejets immunitaires, donc cela est moins problématique. Les dernières études ont montré que les hiIPS ont révélé des variations clonales, montrant l'acquisition de variations génomiques en plus des modifications épigénétiques, révélant qu'ils ont une plus forte proportion d'instabilité génomique que les cellules souches embryonnaires, avec une moyenne plus élevée de mutations. Cela est malgré l'exclusion de c-Myc, l'un des facteurs de transcription surexprimé pour produire les IPS, qui avait comme désavantage d'être un proto-oncogène. Les raisons de ces modifications épigénétiques ne sont pas encore élucidées, tout comme l'impact de ces différences dans les chromosomes épigénétiques et leurs conséquences biologiques.

A ce jour, l'instabilité génomique est reconnue comme un frein majeur à l'expansion du champs des thérapies cellulaires. La prise de conscience de la plasticité du génome humaine préconise fortement l'utilisation du dépistage génétique comme mesure de contrôle de qualité pour attester de la sécurité des cellules souches produites (Brandl C, 2015).

B. Production de RPE à partir de cellules souches :

Dans le cadre de la DMLA, les types cellulaires qui présentent un intérêt sont : l'endothélium vasculaire, les photorécepteurs, et le RPE. Ces trois types cellulaires sont cependant difficilement accessibles directement sur un patient, il faut donc les produire par technologie hiIPSc (Adams W, 2013). Il a été montré que l'endothélium vasculaire produit par cette technique est capable d'exprimer la riche plasticité fonctionnelle et phénotypique de l'endothélium vasculaire primaire mature. A ce jour, des progrès ont été fait dans la détermination des stimuli essentiels pour la différenciation des hiIPSc en différentes cellules

neuronales, dont les cellules humaines précurseurs des photorécepteurs. De plus, une étude a pu mettre en évidence que ces photorécepteurs dérivés des hiPSc ont des caractéristiques immunocytochimiques et des propriétés électrophysiologiques proches des cellules endogènes (Jin Z, 2011).

Le RPE ayant un rôle prépondérant dans la physiopathologie de la DMLA, et dans la perte visuelle présente au sein de cette maladie ; le processus de différenciation des cellules souches en ce type de cellules a été très étroitement étudié. Plusieurs protocoles ont été établis pour permettre la différenciation des cellules pluripotentes humaines en cellules du RPE, ces cultures ont comme caractéristique principale de donner des populations cellulaires pures de cellules fonctionnelles, possédant de nombreux traits du RPE natif. Il a pu être identifié 4 paramètres clés pour ces cellules, le 4 P : polygonales, pigmentées, polarisées, phagocytaires (Singh R, 2013).

En effet, le RPE possède différentes caractéristiques, qu'il faut parvenir à reproduire à partir des cellules souches :

Caractéristiques moléculaires et structurelles : les cellules du RPE sont caractérisées par une distribution asymétrique des molécules de surface et une compartimentation des organites dans le cytoplasme. Les différences morphologiques sont importantes, avec un pôle basal et un pôle apicale constitués de microvillosités qui permettent d'augmenter la surface des cellules apicales, mais aussi d'envelopper le segment interne et médian des photorécepteurs. Les organites et les filaments de cytosquelette sont localisés différemment le long de l'axe apico-basale. En effet, le noyau et les mitochondries se trouvent principalement du côté basale. Tandis qu'au pôle apicale se trouve principalement les mélanosomes pigmentés. De plus, durant la différenciation cellulaire, des jonctions adhérentes sont formées grâce à des cadhérines, nommées cadhérine 2 et 3. Ensuite se forme des filaments d'actine pour constituer les jonctions adhérentes. Ce remodelage touche le cytosquelette, et permet le développement de territoires distincts de membrane apicale, basale et latérales, hébergeant chacun des protéines spécifiques. La présence de jonctions GAP, dans la membrane latérale de ces cellules, permet la communication intercellulaire avec les cellules adjacentes. Ces jonctions GAP sont constituées de connexine 43, qui jouerait un rôle dans la différenciation des cellules du RPE. La pompe Na^+/K^+ ATPase se trouve principalement au niveau apicale de ces cellules, alors que pour la plupart des cellules épithéliales, elle se trouve au niveau basolatérale. Ceci est lié au fait, que les cellules du RPE ont une polarité inversée par rapport aux autres cellules épithéliales (Bertolotti E, 2014).

Fonction du RPE dans le renouvellement des photorécepteurs externes : le RPE a plusieurs fonctions essentielles pour la vision. L'une des plus importantes fonctions du RPE est le renouvellement et la dégradation du segment externe des photorécepteurs. En effet, la phagocytose du segment externe des photorécepteurs suit un rythme circadien, et est déclenchée par la lumière. Grâce à l'altération coordonnée des pointes des segments externes des photorécepteurs, et à leurs renouvellements constants, une longueur constante des segments externes de photorécepteurs est maintenue. La liaison diurne des segments externes des photorécepteurs est liée à l'intégrine $\alpha 5$, via la sécrétion d'une glycoprotéine MFG-E8 qui agit comme ligand. Tandis que le récepteur scavenger CD36, une glycoprotéine transmembranaire du RPE, agit en augmentant la détection des phospholipides oxydés mais en aucun cas, comme ligand. L'internalisation des segments externes des photorécepteurs nécessite la présentation de la tyrosine kinase proto-oncogène c-Mer (MERTK). Un récepteur tyrosine kinase activé par FAK (focal adhesion kinase), un régulateur en aval de l'intégrine $\alpha 5$.

5. Les ligands de MERTK, comme GAS6 (protéine spécifique arrêtant la croissance), Tubby et la protéine S, jouent un rôle important dans la phagocytose des segments externes des photorécepteurs (Caberoy N, 2010).

Rôle du RPE dans le cycle visuel : le RPE assure le recyclage des rétinoïdes dans le cycle visuel.

Polarisation du RPE : les photorécepteurs sont étroitement imbriqués avec les microvillosités du RPE. Cela est nécessaire pour maintenir la rétine sur un plan fixe, indispensable au système optique. En effet, cela permet les échanges en oxygène et en nutriments depuis les choriocapillaires vers les photorécepteurs. Cet échange est étroitement régulé par le RPE. La nature serrée de l'espace subrétinien entre le RPE et la rétine nécessite des fluides pour être préservée. Dans les conditions physiologiques, les aquaporines (des tunnels protéiques pour l'eau) permettent le transport de l'eau depuis la partie apicale vers la partie basale des cellules du RPE à une moyenne de 2 à 18 $\mu\text{L}/\text{cm}^2/\text{h}$ (Stamer W, 2003). La présence de jonctions serrées autour des cellules du RPE forme une barrière contre le passage de substances, depuis les capillaires fenestrés choroïdiens vers la rétine. De plus, il a pu être mis en évidence qu'il existe un trafic spécifique des ions au sein du RPE, ceux-ci peuvent aller soit de la rétine vers la choroïde ou inversement. Le RPE transporte activement le Cl^- et le HCO_3^- depuis la rétine vers la choroïde, et le Na^+ dans le sens opposé. En effet, le Cl^- entre à travers la membrane apicale grâce à un cotransporteur $\text{Na}^+/\text{K}^+ / 2\text{Cl}^-$ et il est excrété au niveau de la membrane basolatérale grâce à la présence du canal CFTR et du bestrophine-1 (protéine formant un tunnel anionique). Les canaux ioniques dans les cellules du RPE sont

importants pour amortir les changements ioniques en réponse au stimuli lumineux. En effet, la lumière induit une baisse de la concentration en ion K^+ dans l'espace sous rétinien. Cela engendre une hyperpolarisation de la membrane apicale du RPE et une activation des canaux K^+ rectificateurs. La conductance K^+ est coupée électriquement à la conductance basolatérale Cl^- . Ce couplage est important pour amortir la composition chimique de l'espace sous rétinien. Le RPE sécrète aussi des facteurs trophiques, tel que le PEDF (pigmented epithelium derived factor), une protéine impliquée dans la survie et le fonctionnement normal de la rétine. En effet son taux est diminué chez les personnes ayant un processus dégénératif rétinien (Wang Y, 2013). Du coté basal, le RPE sécrète le VEGF-A, nécessaire pour maintenir la circulation choroïdienne (P., 2013).

Pigmentation du RPE : la mélanogénèse dans le RPE est fondamentale pour la vue. Car, une pigmentation réduite engendre des pertes visuelles. La mélanine est synthétisée dans un organite intracellulaire appelé le mélanosome. La biogénèse des mélaosomes nécessite des étapes séquentielles de maturation impliquant des changements morphologiques et moléculaires.

Pour que l'on puisse utiliser la thérapie cellulaire pour traiter la DMLA, il faut parvenir à produire ces cellules en quantité suffisante. Tout en parvenant à constituer des cellules qui réunissent l'ensemble des caractéristiques énoncées précédemment. Le transplant doit se composer au minimum de 40000 à 60000 cellules de RPE pour pouvoir remplacer l'aire maculaire. Pour cela différentes techniques ont été mise en place :

➤ **Production de RPE à partir de cellules souches embryonnaires ou de cellules pluripotentes** : Les cellules souches embryonnaires ont été envisagées comme une source importante pour générer le RPE in vitro, dans une quantité suffisante afin de le transplanter (Ramsden C, 2013). Les méthodes de différenciation pour les cellules souches humaines sont basées sur des procédures de cultures spontanées ou définies. En effet, pour induire la différenciation spontanée, les cellules souches embryonnaires ont été cultivées sur une couche de cellules stromales. Lorsqu'il a été retiré de ce milieu le facteur de croissance des fibroblastes, des clones pigmentés sont apparus et ont été isolés pour être cultivés (Kawasaki H, 2002). Un second protocole existe, mais il requiert que les cellules souches soient d'abord cultivées sur un corps embryotaire. Puis qu'elles soient étalées sur des boîtes de pétri revêtues par de la laminine et de la fibronectine, jusqu'à ce qu'elles forment des colonies pigmentées. Le tissu de RPE, formé par ces méthodes, exprime beaucoup de protéines spécifiques du RPE, forme des jonctions serrées et montre une polarité apico-basale. Les

méthodes moléculaires dirigées pour différencier le RPE, depuis les cellules souches embryonnaires, étaient basées sur le blocage des voies de signalisation Nodal et Wnt, ou sur une exposition à la nicotinamide et à l'activine A, ou sur le traitement avec du bFGF, de l'acide rétinolique et Sonic hedgehog.

Les cellules pigmentées, dérivées des cellules souches embryonnaires, pourraient former une monocouche cellulaire avec des faisceaux d'actine polygonaux (tel que définis par la coloration avec l'actine fluorescente), et avec des jonctions serrées (comme le montre la localisation de la protéine Zona Occludens 1 (ZO1)). De plus, ces cellules se sont révélées capables d'exprimer le PAX-6 au même niveau que le RPE fœtal, et le MITF, un régulateur de la différenciation du RPE.

L'analyse ultrastructurale de ces cellules a révélé que le RPE, dérivé des cellules souches embryonnaires, forme un tissu polarisé avec des microvillosités apicales. De plus, la microscopie électronique a montré que les mélanosomes se trouvent majoritairement du côté apical des cellules. Néanmoins, le processus de différenciation cellulaire nécessite un temps de culture long.

Compte tenu de l'origine de ces cellules souches embryonnaires, un problème éthique majeur se pose, il a donc été développé les cellules souches pluripotentes induites (iPSC) pour contourner ce problème. Ces iPSC ont toutes les caractéristiques des cellules souches embryonnaires (autorenouvellement et pluripotence), mais elles ont l'avantage de ne pas provenir d'embryons humains. En outre, les iPSC peuvent provenir du patient lui-même, ce qui permettra de développer des thérapies cellulaires personnalisées. De plus, le modèle de différenciation en RPE a été appliqué aux iPSC de modèles humains et murins avec succès, montrant leur équivalence aux cellules souches embryonnaires.

Les premiers essais cliniques ont été réalisés. Les essais pré-cliniques sur des souris atteintes de dégénérescence rétinienne, consistent en l'injection par voie subrétinienne de cellules souches embryonnaires humaines de RPE. Il a pu être mis en évidence un sauvetage de l'acuité visuelle spatiale lorsqu'au moins 50000 cellules avaient été transplantées. D'autant plus, que les yeux traités ont maintenu un meilleur seuil de luminescence 5 mois après la chirurgie, par rapport à l'œil controlatéral non traité. Enfin, la transplantation sub-rétinienne de RPE humain, chez des souris mutantes RPE65rd12/RPE65rd12 âgées de 2 jours, a confirmé l'absence d'apparition de tumeurs, issues des cellules transplantées. En effet, l'étude de sécurité a montré que le RPE, dérivé des cellules souches, ne formait pas de tératomes lorsqu'il était injecté à des souris NIH III en déficit immunitaire.

Cela a donc ouvert les voies de l'application clinique chez les patients. Une lignée cellulaire de cellules souches embryonnaires dérivées du RPE, appelée MA09-bRPE, a été utilisée dans des essais cliniques de phase I et II. Les cellules MA09-bRPE étaient injectées dans l'espace sub-maculaire d'un patient atteint de STGD (maladie de Stargardt) et d'un patient atteint de DMLA sèche. Le suivi à 4 mois a révélé qu'il n'y avait pas de formation de tératome, ni de perte de vision dans les yeux traités, et quelques améliorations visuelles ont été rapportées (Schwartz S, 2012).

➤ **Les RPE adultes comme source de RPE :** Les cellules du RPE mature sont du point de vue mitotique quiescentes, sous le contrôle de plusieurs paramètres physiologiques de l'œil. En effet, plusieurs études ont montré que chez les amphibiens, le RPE peut proliférer et régénérer du RPE et des neurones rétiniens, suite à une blessure. Cela témoigne du fait que le RPE a la capacité de s'auto-réparer, via ses propres stimuli. De même, la plasticité des cellules humaines du RPE a pu être mise en évidence dans des conditions pathologiques. Par exemple, dans les vitreo-rétinopathies prolifératives, lors desquelles les cellules épithéliales du RPE se transforment en mésenchyme.

Les premières cultures de RPE issues de donneurs humains, ont révélé une hétérogénéité cellulaire, avec la présence de deux populations cellulaires distinctes. Or, il a été récemment découvert que l'une de ces deux populations possède la capacité d'auto-renouvellement in vitro, ainsi que la pluripotentialité. Après la dissociation des cellules du RPE issus de donneurs humains, les cellules pigmentées étaient capables de réactiver la prolifération lorsqu'elles étaient cultivées sur un substrat contenant des facteurs de croissance issus du sérum. Les cellules pouvaient atteindre la confluence et former une monocouche pavée qui exprime plusieurs gènes spécifiques du RPE, mais à des niveaux plus faibles par rapport au RPE adulte. Ces cellules exprimaient fortement c-MYC et KLF-4, mais pas d'autres marqueurs cellulaires comme OCT-4 et Nanog. Environ 10% de la culture cellulaire primaire a pu être repiquée, et s'entendre in-vitro pour former de nouvelles monocouches pavimenteuses de RPE (Salero E, 2012).

Cependant la source d'origine humaine des cellules de RPE ouvre d'intéressantes perspectives pour la transplantation autologue, mais l'expression de gènes impliqués dans la prolifération cellulaire et les cancers dans ces cultures peut agir comme un frein à l'utilisation de cette source tissulaire pour la thérapie cellulaire. Il y aurait un risque potentiel de développer des tumeurs, suite à la transplantation cellulaire. Néanmoins, la différenciation complète in vitro d'une monocouche de RPE mature a été montrée comme limitant ces effets néfastes potentiels.

➤ **Les Neurosphères rétiniennes comme source de RPE :** les cellules souches rétiniennes ont été identifiées dans les corps ciliaires adultes, et ces cellules peuvent être cultivées in vitro comme des neurosphères pigmentées. Ce processus nécessite la dissection de l'épithélium ciliaire, suivi de la dissociation des cellules et de leurs cultures à de très faibles densités pour produire des clones flottants de cellules pigmentées appelés : neurosphères rétiniennes (Ballios B, 2012). L'analyse moléculaire de ces cellules a montré qu'elles dérivent des cellules épithéliales ciliaires pigmentées, exprimant de faibles niveaux de P-cadhérine. Les neurosphères rétiniennes (RNS) pigmentées peuvent être obtenues à partir de différents types de donneurs (rat, homme, souris, cochon, lapin). Elles sont visibles après une semaine de culture sur un milieu sans sérum (DMEM-12), avec des doses définies de facteurs de croissance, et en présence d'hormones. Mais les RNS ont révélé une capacité limitée d'expansion in vitro, car seule une faible proportion de cellules dans une neurosphère a la capacité d'auto-renouvellement. Il a donc fallu améliorer les protocoles de culture in-vitro et la propagation cellulaire, pour obtenir des quantités cellulaires suffisantes. Les chercheurs ont donc ajouté du PEDF dans les milieux de culture. En comparant les RNS aux cellules souches, il a été découvert que les RNS expriment plus fortement des facteurs de transcription neuroblastique rétinien (PAX-6, CHX-10 et RAX) mais moins fortement Nanog, OCT-3, OCT-4 et SOX-2. Ces découvertes suggèrent que les RNS contiennent des cellules ayant les caractéristiques des progéniteurs rétiniens, dont une faible proportion de cellules souches. La différenciation des RNS issu de souris en RPE murin a nécessité la culture des RNS murins sur une matrice extracellulaire de Engerelbreth-Holm-Swarm murin sarcoma, et de changer le milieu de culture DMEM-12 par du DMEM (sans bFGF). Ce milieu DMEM était supplémenté par différentes hormones (hydrocortisone, acide linoléique, insuline, transferrine, putrescine, triiodothyronine), et a permis de générer une monocouche de RPE (Demontis G, 2012).

Initialement, les cellules sortaient des RNS et perdaient leur pigmentation, mais après 7 jours de culture, lorsqu'elles atteignent la confluence, la pigmentation cellulaire réapparaît. Pendant ce temps de culture, les cellules se différencient spécifiquement en RPE, comme le montre le changement d'expression des différentes isoformes du gène Mitf. En effet, les cellules différenciées en RPE expriment spécifiquement l'isoforme h-Mitf. In vitro, les cellules différenciées expriment les enzymes de la biosynthèse de la mélanine (tyrosinase, protéine 1 liée à la tyrosinase, la Dopachrome tautomerase), ainsi que des gènes importants pour la biogénèse des mélanosomes et leurs transports tels que Pmel 17, Matp, Oca2, Oa1, Mlna et Myo7a. Un long temps de différenciation a été nécessaire pour détecter l'expression de

marqueurs caractéristiques du RPE mature, tel que Rpe-65, l'enzyme du cycle visuel. A ce temps de différenciation, les cellules montraient un phénotype polarisé caractérisé par la localisation de Bestrophine-1 dans la membrane basolatérale, et la localisation d'Ezrine, de α 5-intégrine et de la pompe Na^+/K^+ ATPase au niveau apicale. L'analyse en microscopie électronique a aussi montré des melanosomes à différents stades de différenciation et avec une forme allongée typique des mélanosomes de RPE. Cette étude a aussi montré l'activité de phagocytose des cellules de RPE dérivées des RNS. Elles ont pu absorber les segments externes des photorécepteurs par liaison à l'intégrine α 5 et par une internalisation médiée par la tyrosine kinase MER (Mertk).

Les cellules issues des corps ciliaires ont étéensemencées à la densité de 20000 cellules/mL et cultivées dans un milieu DMEM-12 additivé avec un supplément N2, 20 ng/mL de EGF et 20 ng/mL de bFGF. Des clones libres sont apparus au bout de 2 à 3 jours de culture. Ces clones se composaient de cellules pigmentées, qui n'étaient pas attachées au milieu de culture de la boîte de pétri. Après 7 jours de culture, les RNS atteignèrent un diamètre d'environ 100 μm . Pour déterminer le moment optimal afin d'induire la différenciation cellulaire, les chercheurs ont étudié la prolifération cellulaire. Pour cela, ils ont exposé les RNS à 10 μM de 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) pendant 3h. Puis ils ont suivi, via des anticorps anti-BrdU immunofluorescence, l'intégration de nouveaux nucléotides dans l'ADN. Les cellules étaient plus prolifératives durant les premiers jours de culture. Le nombre de cellules prolifératives a diminué avec le temps, et il n'y avait plus de prolifération après 9 jours de culture. En se basant sur ces essais de prolifération, les scientifiques ont décidé de débiter la différenciation des neurosphères en RPE à partir du 7^{ème} jour de culture.

Cette différenciation cellulaire en feuillet de RPE se déroule en plusieurs étapes. Tout d'abord, il y a une étape de dissociation, qui est permise par un traitement des RNS pendant 30 min par de l'Accutase[®]. Ensuite, les cellules dissociées sontensemencées à une concentration de 23000 cellules/cm² pendant 2 jours avec un milieu de croissance contenant du bFGF et du EGF. Au 3^{ème} jour, les facteurs de croissance sont retirés. Les cellules prolifèrent ensuite d'une manière moins importante, tout en se pigmentant, pour finir par former une monocouche de RPE après 21 jours de culture.

D'un point de vue moléculaire, les caractéristiques des feuillets de RPE issus des RNS ont été étudié. Via l'immunocoloration, les scientifiques ont pu étudié le type de jonction entre les cellules. En effet, en utilisant des anticorps anti-ZO1, les scientifiques ont pu mettre en évidence que ZO1 est présent après 21 jours de différenciation, et permet d'identifier les membrane polygonales de ces cellules. Les chercheurs ont aussi étudié la polarité de ces

cellules, pour vérifier si elles respectent bien celles, des cellules du RPE naturel. Pour cela, ils ont donc évalué la présence de 3 marqueurs différents :

- 5-intégrine : qui se trouve au pôle apicale du RPE, car il est nécessaire à la phagocytose des segments externes des photorécepteurs. Sa présence au pôle apicale des cellules a pu être mise en évidence tout au long de la différenciation.
- Ezrine : qui a une localisation apicale à J7 et J21.
- Blestrophine-1 : elle se trouve normalement au niveau basolatérale des cellules du RPE, ce qui a pu se vérifier en tout point de la différenciation.

La protéine RPE65 était présente dans les cellules de RPE après 21 jours de différenciation in vitro, mais à une quantité plus faible que dans les cellules de RPE normale. En ce qui concerne, le facteur de transcription MITF, c'est un élément clé de la différenciation. Il a pu être mis en évidence qu'il était exprimé à de hauts niveaux après 21 jours de différenciation. De telle manière qu'ils sont plus importants que dans certains RPE humain. Néanmoins, cette étude a aussi révélé que le PEDF (un facteur neuroprotecteur) était exprimé plus faiblement dans les cellules issues des RNS que dans les cellules de RPE humain. En outre, l'étude de l'expression du gène OA1, codant pour la biogenèse des mélanosomes, a montré que celui-ci était exprimé d'une plus forte manière dans les cellules in vitro à J21. Cela pouvant être lié au fait que les cellules de culture n'avaient pas encore fini totalement leur maturation (Aruta C, 2011).

C. Utilisation des cellules souches pour traiter la DMLA :

Les cellules souches peuvent être utilisées de deux manières différentes pour permettre la recherche d'un nouveau traitement dans la DMLA :

- Soit en étant utilisée comme source cellulaire pour effectuer des transplantations au sein des yeux de patients atteints de DMLA → thérapie cellulaire.
- Soit en servant de source pour modéliser la DMLA, afin de ressembler le plus fidèlement possible au RPE humain malade pour essayer des nouvelles molécules. Cela permet d'étudier d'une manière plus spécifique les mécanismes physiopathologiques de cette maladie, qui rappelons le, restent encore à ce jour incertains.

a) Modélisation de la DMLA :

Dans la DMLA, il y a différents types cellulaires d'intérêts : l'endothélium vasculaire, les photorécepteurs, et le RPE. Tous les trois ne sont pas facilement accessibles chez les patients mais peuvent être reproduit par la technologie des hiPSC. En effet, à partir des hiPSC, il est possible de produire un endothélium vasculaire qui possède la plasticité fonctionnelle et phénotypique de celui issu de l'homme mûre. De plus des progrès significatifs ont été fait dans la détermination des stimuli de développement qui conduisent à la différenciation des hiPSC en neurones (dont les neurones rétinien). Enfin des travaux récents se sont basés sur la génération des cellules ganglionnaires rétinien à partir des cellules souches embryonnaires humaines ou des hiPSC.

En raison de son rôle physiopathologique primordiale dans la DMLA, le RPE représente un intérêt particulier pour les chercheurs dans le modelage in vitro et dans la différenciation à partir des cellules souches. A partir des hiPSC, il est aussi possible de former des cellules de RPE pathologiques, en réponse à un stimuli pathologique.

Un étude récente de Chang et al. a montré que les cellules dérivées des hiPSC de patients ayant une atrophie géographique suite à une DMLA, ont une défense anti-oxydative diminuée, rendant ces cellules sensibles aux dommages oxydatifs. De plus lors de cette étude, il a été mis en évidence que le curcumin protège les cellules de la mort cellulaire induite par l' H_2O_2 et augmente les effets cytoprotecteurs vis-à-vis du stress oxydatif. Ce qui a amené les auteurs à conclure que le curcumin pourrait être utilisé pour restaurer les fonctions du RPE (Chang Y, 2014).

Il est possible par la suite d'imaginer de futurs modèles complexes in vitro, incluant le RPE, la membrane de Bruch, les choriocapillaires sous jacent, afin de se rapprocher au maximum de la réalité. Cela permettrait d'étudier les cellules ayant des altérations génétiques simples, afin d'élucider les interactions physiopathologiques entre les différents types cellulaires impliqués. A ce jour, plusieurs modèles de co-culture du RPE, avec les cellules endothéliales par exemple, ont été décrit et peuvent être spécifiquement utilisé pour étudier la DMLA néovasculaire.

b) Thérapie cellulaire :

Il y a actuellement plusieurs essais cliniques en cours dans le monde, sur les thérapies cellulaires dans le cadre de la DMLA. Des essais cliniques (phase I et II) ont été mené sur les cellules souches embryonnaires. Ces derniers ont été transplantés en sub-rétinien, en tant que

suspension cellulaire pour le traitement de la DMLA et de la STGD (étude NCT01344993 et NCT01226628). Les premiers rapports ont confirmé que le traitement était sûr, mais l'efficacité reste pour le moment à l'étude. La communauté scientifique est encore entrain de débattre sur la meilleure source de cellules pour la transplantation de RPE. En 2012, la première application thérapeutique de transplantation de cellules souches a été menée chez l'homme, via des injections sub-rétiniennes de cellules de RPE dérivées de cellules souches embryonnaires humaines. Une récente étude de suivi a montré que 4 patients sur 9 atteints de la DMLA avaient eu une amélioration de leur acuité visuelle. Mais que seules quelques-unes des cellules transplantées avaient réussi à survivre dans la zone directe de la lésion d'atrophie géographique. Cette étude souligne que les cellules de RPE transplantées étaient majoritairement présentes autour des zones lésionelles du RPE. De plus, la membrane de Bruch âgée et malade ne permet pas de garantir la survie et la différenciation des cellules de RPE transplantées. Il faut réussir à former des cellules matures appropriées, mais aussi gérer l'environnement cellulaire. Les limites techniques et cliniques doivent être également considérées, tel que le nombre d'injections subrétiniennes nécessaires pour être efficace, ou encore de transplantations rétiniennes nécessaires, mais aussi les réponses immunogéniques et les problèmes éthiques.

En effet, comme nous avons pu le voir, il existe plusieurs types de sources cellulaires pour la transplantation du RPE : le tissu fœtale, les cellules de RPE adulte, les cellules souches embryonnaires et les IPS. Parmi eux, les IPS et les cellules souches embryonnaires présentent des propriétés intéressantes en terme d'immunogénicité. Pour les IPS, il y a la possibilité d'utiliser une source autologue. Les cellules souches embryonnaires sont donc allogéniques et peuvent ne pas être adaptées au patient bénéficiaire du traitement. Cela peut donc induire une réponse immunitaire de l'hôte et entraîner un rejet de la greffe. Un traitement par immunosuppresseur reste néanmoins possible, mais leurs effets indésirables sont importants. Le développement de technologies capables de réduire l'immunogénicité des cellules de RPE cultivées in vitro, ou capable d'assurer la compatibilité immunologique avec le patient, permettraient de faciliter grandement l'application des thérapies cellulaires. Les IPS expriment de bas niveaux de CMH de classe I, et de protéines 2-microglobuline à leur surface, mais l'expression de ces protéines augmente suite à la différenciation du RPE. Donc les greffes de RPE différenciées in vitro, dérivés d'IPS allogéniques peuvent évoquer une réponse immunitaire, avec des rejets subséquents. Cependant, la procédure d'injection peut induire des degrés d'inflammation au niveau des tissus. En outre, lors de cette procédure, il

peut y avoir un reflux des cellules transplantées dans la vitrée, qui peut être dangereux et causé une vitréorétinopathie.

Les implants d'une suspension cellulaire de RPE adulte ont été essayés comme des transplants autologues mais des inconvénients sont apparus, en raison de la difficulté à collecter suffisamment de cellules pour repeupler l'aire maculaire et dans la compétence limitée des cellules en suspension à s'attacher à la membrane de Bruch malade, pour former une monocouche de RPE fonctionnelle chez les patients atteints de DMLA. A ce jour, la transplantation d'une monocouche de RPE polarisée tel un feuillet, est le protocole le plus prometteur pour le sauvetage de la vision des patients. Car la polarité apico-basale est indispensable au fonctionnement du RPE, elle permet d'assurer la barrière hémato-rétinienne. Les microvillosités permettent la phagocytose des segments externes des photorécepteurs et le transfert des rétinoïdes dans le cycle visuel. Des chercheurs ont évalué l'impact de la forme de transplantation sur des singes : cellules en suspension VS feuillets de RPE. Cela a permis de montrer que la transplantation de feuillets permet d'avoir moins de risques de vitréorétinopathie (due à l'accumulation de liquide dans la vitrée) et d'avoir une meilleure précision pour cibler le RPE qu'avec les suspensions cellulaires. En effet, le feuillet de RPE transplanté restait en place, au niveau du site transplanté, alors que la suspension cellulaire avait tendance à partir vers la vitrée et générer une vitréorétinopathie. La réalisation d'autogreffes de feuillets de RPE a permis aussi de mettre en évidence que les signes de rejet étaient plus faibles à 1 an de suivi. Pour produire ces feuillets de RPE, il faut utiliser des échaffauds artificiels, qui permettent de remplacer la membrane de Bruch malade. Mais ces techniques chirurgicales, sont beaucoup plus complexes que les simples injections sub-rétiniennes. De plus, les matériaux biodégradables utilisés pour former les feuillets de RPE peuvent être à l'origine d'une inflammation, tandis que les membranes non dégradables peuvent finir par séparer le RPE des sous-couches choroïdiennes qui le nourrissent, ainsi que les photorécepteurs (Brandl C, 2015, Bertolotti E, 2014, Song M, 2015).

Les thérapies sont donc en pleine évolution, elles ne sont pas encore opérationnelles à ce jour. Mais les premières transplantations de cellules souches, chez les patients atteints de DMLA, s'avèrent être prometteuses. Il faut que les scientifiques parviennent à s'affranchir des difficultés de production et de transplantation dans un premier temps pour permettre à cette technologie d'être applicable en thérapeutique. D'autant plus, que cette thérapeutique est le seul espoir pour les patients atteints de DMLA sèche d'avoir un traitement efficace à ce jour, pour éviter de perdre la vue progressivement de manière irréversible et définitive.

4. DMLA et maladie de Parkinson, une corrélation ?

La maladie de parkinson est un syndrome neurologique caractérisé par des difficultés de mouvements, une rigidité, des tremblements et une posture instable. Les facteurs de risques incluent l'exposition à des drogues ou à des toxines (Mena Ma, 2006), des infections (Casals J, 1998), ou des attaques vasculaires (Thanvi B, 2005). La maladie de parkinson vasculaire apparaît être une importante cause de maladie de parkinson chez les personnes âgées qui ont des facteurs de risques tel que l'hypertension artérielle, le diabète, et l'hyperlipidémie. Tandis que la maladie de parkinson idiopathique, la deuxième maladie neurodégénérative la plus commune, est une maladie de parkinson sans aucune cause évidente. Vu qu'aucune cause sous-jacente n'a pu être identifiée, la maladie de parkinson est caractérisée comme une maladie neurodégénérative liée à l'âge qui se développe à partir de plusieurs facteurs : l'âge, la prédisposition génétique, l'exposition environnementale. Ces derniers sont les même que pour la DMLA, et ciblent la neurodégénération.

Comme vu précédemment, la DMLA est la 1^{ère} cause de perte visuelle chez les personnes âgées des pays occidentaux, mais aussi une maladie commune chez les personnes âgées d'origine ethnique chinoise et taiwanèse. Bien que les chinois présentent de plus faibles taux de prévalence pour les DMLA précoces et tardives, par rapport aux occidentaux. Comme la maladie de Parkinson, la pathogénèse de la DMLA n'est pas encore tout à fait comprise. A ce jour, la DMLA est caractérisée de maladie rétinienne neurodégénérative. Plusieurs études moléculaires suggèrent que le stress oxydatif, l'inflammation chronique, l'altération des processus cellulaires et de la dégradation des composants de dysfonctionnements cellulaires, et l'altération de l'homéostasie neuronale sont des voies biologiques communes des maladies neurodégénératives associées à l'âge (Ambati J, 2012). Par conséquent, les mécanismes pathologiques contribuant à la DMLA tardive peuvent aussi être associés avec le développement de la maladie de Parkinson. En effet, elles partagent toutes les deux des voies de pathogénèse et des facteurs de risques communs.

Une étude réalisée sur la population d'origine chinoise, de taiwan, a étudié le risque de développer une maladie de parkinson, 3 ans après le diagnostic d'une DMLA néovasculaire. Ces patients ont été comparés à une population saine durant la même période. Les résultats de cette étude ont montré que la moyenne d'âge des 877 sujets atteints de DMLA était de 66,7 ans +/- 12,3 ans et de 66,6 ans pour les 8770 personnes sans atteintes néovasculaires. En ce qui concerne le sexe, chez les hommes la moyenne d'âge était de 67,7 ans chez les malades et de 67,5 ans chez les cas témoins ($p=0,707$). Alors que chez les femmes elles étaient respectivement de 65,2 et 65,7 ans ($p=0,438$). L'étude a aussi révélé que les sujets avec une

DMLA néovasculaire étaient plus facilement atteints d'hyperlipidémie, de diabète, d'hypertension et de maladies coronariennes que les sujets témoins (Shiu-Dong C, 2014). (Tableau n°9)

Tableau n°9 : Caractéristiques et comorbidités des sujets atteints de DMLA VS sujet sans DMLA.

Variable	Subjects With Neovascular Age-Related Macular Degeneration (n = 877)		Comparison Patients Without Neovascular Age-Related Macular Degeneration (n = 8770)		P Value
	Total No.	%	Total No.	%	
Hyperlipidemia	284	33.5	2033	23.2	<.001
Diabetes	290	33.1	1785	20.4	<.001
Hypertension	503	57.4	4516	51.5	<.001
Coronary heart disease	259	29.5	2219	25.3	.006
Monthly Income					.001
NT\$1-15,840	506	57.7	4612	52.6	
NT\$15 841-25 000	247	28.2	3096	35.3	
≥NT\$25 001	124	14.1	1062	12.1	
Geographic region					.036
Northern	442	50.4	4110	46.9	
Central	169	19.3	2017	23.0	
Southern	236	26.9	2406	27.4	
Eastern	30	3.4	237	2.7	

NT = New Taiwan (in 2011, the average exchange rate was US\$1 = NT\$29.7).

En ce qui concerne l'incidence de la maladie de parkinson durant les 3 années de suivi, parmi tous les sujets échantillonnés, 69 ont reçu le diagnostic de maladie de parkinson (0,72%). Le taux d'incidence de la maladie de parkinson, durant ces 3 années de suivis, était de 5,32 (IC95% : 3,03 – 8,72) pour 1000 personnes-années chez les sujets atteints de DMLA néovasculaire. Alors qu'il n'était que de 2,09 pour les personnes non atteintes de DMLA néovasculaire. L'analyse logarithmique a révélé que les sujets avec une DMLA néovasculaire avaient un taux de survie sans maladie de parkinson significativement plus faible que les sujets témoins (p<0,001). (Tableau n°10)

Tableau n°10 : Incidence et odds ratio.

Presence of Parkinson Disease	Total (n = 9647)		Subjects With Neovascular Age-Related Macular Degeneration (n = 877)		Comparison Patients Without Neovascular Age-Related Macular Degeneration (n = 8770)	
	No.	%	No.	%	No.	%
Three-year follow-up period						
Yes	69	0.72	14	1.60	55	0.63
Incidence rate per 1000 person-years (95% CI)	2.38 (1.87-3.00)		5.32 (3.03-8.72)		2.09 (1.59-2.70)	
Crude hazard ratio ^a (95% CI)	-		2.60 ^c (1.42-4.75)		1.00	
Adjusted hazard ratio ^b (95% CI)	-		2.57 ^c (1.42-4.64)		1.00	

CI = confidence interval.

a Hazard ratios were calculated using the stratified Cox proportional regression (stratified on sex, age group, and urbanization level).

b Adjusted for subject's monthly income, geographic region, hypertension, diabetes, hyperlipidemia, and coronary heart disease.

c $P < .01$.

Les résultats de cette étude fournissent la 1^{ère} preuve épidémiologique d'une association entre la DMLA néovasculaire et une maladie de Parkinson ultérieure. D'ailleurs les publications suggèrent que la DMLA est associée avec des facteurs de risques de maladies cardiovasculaires ou vasculaires (tels que l'hypertension, le diabète et l'hyperlipidémie). Lesquels ont été reconnus comme étant des facteurs de risques de la maladie de parkinson vasculaire (Hayman L, 2000). Donc une association possible entre ces deux maladies est attribuable aux effets des facteurs de risques vasculaires. Mais notre analyse suggère également que ces facteurs de risques vasculaires ne sont pas les seuls mécanismes responsables de cette association. En effet, les mécanismes de la DMLA et de la maladie de Parkinson sont légèrement similaires. Chez les patients atteints de la DMLA, l'altération du système d'autophagie induit un repliement protéique et une accumulation. Cela génère un déséquilibre de l'homéostasie neuronale, et donc contribue à l'accumulation de la lipofuscine dans les cellules du RPE. Similairement, l'altération du système de l'autophagie et de la voie de l'ubiquitine du protéasome, l'autre mécanisme majeur par lequel les protéines sont dégradées, engendrent également une accumulation de l'alpha-synucléine dans les neurones des patients atteints de la maladie de parkinson (Burbulla LF, 2011).

Un autre mécanisme commun sous-jacent à la DMLA et à la maladie de Parkinson : l'inflammation chronique. Le polymorphisme génétique majeur associé à la DMLA sont le facteur H et B du complément et 2 gènes du complément. Ces derniers rendent incapable la

production de protéines inhibant l'activation de la cascade du complément. Cela montre l'implication de l'inflammation dans le développement de la DMLA (DG., 2011). De plus, il y a de nombreuses preuves qui montrent que les processus inflammatoires, impliquant les cellules et les molécules inflammatoires, les complexes immuns et l'activation du complément, jouent un rôle majeur dans le développement de la néovascularisation choroïdienne. L'activation des cellules microgliales, des cellules immunitaires résidentes se trouvant dans la rétine et dans le locus niger, peuvent déclencher des réponses inflammatoires fortes, et donc exacerber les maladies dégénératives rétinienne et la neurodégénération dopaminergique dans la maladie de Parkinson (Buschini E, 2011).

La rétine et le cerveau sont tous les deux sensibles au stress oxydatif car ils sont riches en acides gras polyinsaturés. Ils consomment de grandes quantités d'oxygène par rapport à d'autres tissus. Le stress oxydatif interagit avec de nombreux processus cellulaires engendrant la maladie de Parkinson. Par exemple, il y a la perturbation de la voie ubiquitine du protéasome, le repliement et l'aggrégation de la protéine et le dysfonctionnement mitochondrial. Comme les fonctions anti-oxydantes diminuent avec l'âge, la production d'espèces réactives de l'oxygène et les dommages oxydatifs augmentent dans la rétine, et contribuent ainsi à l'initiation et à la progression de la DMLA. Les éléments de preuves que l'inflammation et l'altération autophagique peuvent stimuler la production d'espèces réactives de l'oxygène et provoquer le stress oxydatif, soulignent l'importance du stress oxydatif dans la pathogénèse commune de la DMLA et de la maladie de Parkinson.

L'âge est l'un des facteurs de risque majeurs responsable de nombreuses pathologies neurodégénératives, tels que la DMLA, la maladie de Parkinson, la maladie d'Alzheimer. Or, des études moléculaires ont démontré que ces maladies neurodégénératives partagent des particularités physiopathologiques communes, dont le stress oxydatif, la neuro-inflammation, un dysfonctionnement lysosomal et mitochondrial, et des capacités altérées dans la dégradation et la formation des protéines. De plus, plusieurs études immunohistochimiques ont montré que de nombreux composants du complément sont détectés dans la rétine des patients atteints de DMLA, ainsi que dans le cerveau des patients atteints de Parkinson ou d'Alzheimer (Mc Geer PL, 1988) (Anderson DH, 2010).

Bien que cette étude n'ait été réalisée que sur une population d'origine asiatique, les résultats ont révélé une corrélation entre la DMLA et la maladie de Parkinson. Néanmoins, cette étude n'a pas pris en compte plusieurs variables : le tabagisme, les habitudes alimentaires, les facteurs environnementaux, les antécédents familiaux. Ces derniers peuvent modifier ces

résultats. Il est donc nécessaire de réaliser de nouvelles recherches à ce sujet, sur des populations plus étendues pour pouvoir vérifier les résultats de cette étude. Si de nouveaux résultats venaient confirmer cette étude, cela permettrait aux scientifiques d'avoir de nouveaux axes de recherches afin de trouver de nouvelles thérapeutiques pour ces différentes pathologies.

Conclusion:

La DMLA est une pathologie complexe en raison de son caractère multifactorielle et polygénique, dont la physiopathologie reste à ce jour peu comprise. L'arrivée des traitements anti-angiogéniques, en 2006, a bouleversé la prise en charge thérapeutique de cette maladie. Leur efficacité a largement été prouvée, par rapport à la photothérapie dynamique, ce qui leur confère à ce jour une place de première ligne dans le traitement de la DMLA exsudative.

Cette pathologie doit être prise en charge le plus tôt possible, afin que la progression de la maladie soit ralentie au maximum par les différents traitements qui existent à ce jour. Le pharmacien peut jouer un rôle majeur dans l'accompagnement des patients au travers de cette pathologie, en rappelant les mesures hygiéno-diététiques. Il se doit de participer au dépistage cette pathologie, lors des journées mondiales de la macula. Elles se déroulaient cette année du 27 juin au 1^{er} juillet 2016. Elles proposaient à ses patients un test simple : la grille d'Amsler. Le pharmacien d'officine a aussi un rôle à jouer dans l'accompagnement des patients au cours de sa maladie, au travers d'un accompagnement psychologique, mais aussi de la mise en place de différentes aides techniques qui pourraient améliorer leurs qualités de vie. La délivrance des médicaments doit donc s'accompagner de différents conseils personnalisés.

Afin de mieux prendre en charge la DMLA et de réduire l'altération visuelle, que génère cette pathologie, la recherche concernant les mécanismes physiopathologiques doit être poursuivie. Le parallèle qui a pu être fait avec les autres maladies neurodégénératives (Alzheimer et Parkinson) mérite d'être approfondi par les chercheurs, ce qui permettra de découvrir de nouvelles cibles pharmacologiques.

La recherche concernant des nouveaux anticorps va permettre d'avoir prochainement des traitements contre la DMLA sèche, qui est pour le moment dépourvue de thérapeutiques. L'arrivée de la thérapie génique peut jouer un rôle dans la prise en charge de la DMLA, afin de choisir de manière optimale le type d'anticorps à utiliser pour chaque patient. En effet, comme vu précédemment, certains patients ne sont pas répondeurs et cela s'explique de manière génétique. En outre, les thérapies cellulaires qui sont en cours de développements devraient à terme être révolutionnaires pour la prise en charge de la DMLA. Les cellules souches donnent pour le moment de bons résultats en termes d'amélioration de l'acuité

visuelle. Ces dernières publications ne sont donc qu'un début, compte tenu de l'avancée de la science et donne un espoir au monde médical et aux patients.

Bibliographie

- A Yang, T. L. (1992). Carotenoid and retinol concentrations in serum, adipose tissue and liver and carotenoid transport in sheep, goats and cattle. *Australian Journal of Agricultural Research*, 43(8) 1809 - 1817.
- Adams W, Z. Y. (2013). Functional vascular, endothelium derived from human induced pluripotent stem cells. *Stem Cell Rep.*, (1):105-113.
- Akiyama H, B. S. (2000). Inflammation and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging.*, 21(3):383–421.
- Ambati J, F. B. (2012). Mechanisms of Age-related Macular degeneration. *Neuron*, 75:(1):26-29.
- Anderson DH, R. M. (2010). The pivotal role of complement system in aging and age-related macular degeneration: hypothesis re-visite. *Prog Retin Eye Res.*, 29(2):95-112.
- Aruta C, G. F. (2011). In vitro differentiation of retinal pigment epithelium from adult retinal stem cells. *Pigment Cell Melanoma Res*, (24):233-240.
- Association, B. R. (2016). *Pathologies*. Récupéré sur <http://www.brusselsretina.be/fr/pathologies-anatomy-of-the-eye.php>
- B. Xie, J. S. (2009). Blockade of sphingosine-1-phosphate reduces macrophage influx and retinal and choroidal neovascularization. *J. Cell. Physiol*, (218):192–198.
- B.B. Berger, P. G. (2013). Phase I, Masked, Placebo – controlled, single and multiple ascending intravenous dose studies evaluating systemic and ocular safety, tolerability, and visual acuity effects of RN6G (PF – 04382923) in subjects with dry, age-related macular degeneration. *ARVO Annu. Meet.*, Abstract.p4505.
- Ballios B, C. L. (2012). The adult retinal stem cell is a rare cell in the ciliary epithelium whose progeny can differentiate into photoreceptors. *Biol. Open.*, (1):237-246.
- Bazan NG, G. W. (1992;318:295–306.). Docosahexaenoic acid uptake and metabolism in photoreceptors: retinal conservation by an efficient retinal pigment epithelial cell-mediated recycling process. *Adv Exp Med Biol*. 1992;318:295–306., 318:295–306.
- Becerra EM, M. F. (2011). Clinical evidence of intravitreal triamcinolone acetonide in the management of age-related macular degeneration. *Curr Drug Targets*, 12(2):149-72.
- Benilova I, K. E. (2012). The toxic Aβ oligomer and Alzheimer's disease: an emperor in need of clothes. *Nat Neurosci.*, 15(3):349–357. .
- Bernard, J.-A. e. (2016, Février 13). *Oeil humain*. Récupéré sur Encyclopédie Universalis.: <http://www.universalis-edu.com>
- Bertolotti E, N. A. (2014). Stem cells as source for retinal pigment epithelium transplantation. *Progress in Retinal and Eye Research.*, (42):130-144.
- Biron KE, D. D. (2011). Amyloid triggers extensive cerebral angiogenesis causing blood brain barrier permeability and hypervascularity in Alzheimer's disease. *PLoS One.*, 6 (8:e23789).
- Brandl C, G. F. (2015). Tapping Stem Cells to target AMD: Challenges and Prospect. *J. Clin. Med.*, (2):282-303.
- Burbulla LF, K. R. (2011). Converging environmental and genetic pathways in the pathogenesis of Parkinson's disease. *J Neurol Sci*, 306:(1-2):1-8.
- Burri PH, D. V. (2002). Intussusceptive angiogenesis - th alternative to capillary sprouting. *Mol Aspects Med.*, 23(6S):S1-27.
- Buscchini E, P. A. (2011). Age related macular degeneration and drusen: neuroinflammation in the retina. *Prog Neurobiol*, 95(1):14-25.
- C. Kemper, J. A. (2010). Properdin: emerging roles of a pattern-recognition molecule. *Annu. Rev. Immunol*, (28):131–155.
- Caberoy N, Z. Y. (2010). Tubby and Tubby-like protein 1 are new MerTK ligand for phagocytosis. *Embo. J*, (29):3898-3910.

- Cao L, W. H. (2013). Abeta-induced senescent retinal pigment epithelial cells create a proinflammatory microenvironment in AMD. *Invest Ophthalmol Vis Sci.*, 54(5):3738–3750.
- Casals J, E. T. (1998). Postencephalitic parkinsonism - a review. *J Neural Transm*, 105:(6-7):645-676.
- Chakraborty S, C. N. (2013). A robust strategy for negative selection of Cre-LoxP recombination-based excision of transgenes in induced pluripotent stem cells. *PLoS One*.
- Chang Y, C. W. (2014). The generation of induced pluripotent stem cells for macular degeneration as a drug screening platform: identification of curcumin as a protective agent for retinal pigment epithelial cell against oxidative stress. *Front. Aging. Neurosci.*
- Christine A Curcio, M. J.-D. (2011, Dec.). The oil spill in ageing Bruch membrane. *Br J Ophthalmol*, 95(12): 1638–1645.
- Christine A. Curcio, M. J.-D. (2009). Aging, age-related macular degeneration, and the response-to-retention. *Progress in Retinal and Eye Research*, 28: 393–422.
- Clermont Y, L. M.-M. (2016, Avril 28). *Atlas d'histologie en microscopie optique*. Récupéré sur La rétine.: http://audilab.bmed.mcgill.ca/HA/html/eye_25_F.html
- CNRS. (2011). *Le récepteur au VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor Receptor)*. Récupéré sur Laboratoire de Cristallographie et RMN Biologiques: <http://lcrbw.pharmacie.univ-paris5.fr/spip.php?article146>
- Cornelia Volz, D. P. (2015). Antibody therapies and their challenges in the treatment of age-related macular degeneration. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, (95 part B):158–172.
- Curcio CA, J. M. (2011). The oil spill in ageing Bruch membrane. *Br J Ophthalmol.* , 95(12):1638–1645.
- Curcio, C. e. (2009). Aging, age-related macular degeneration, and the response-to-retention of apolipoprotein B-containing lipoproteins. *Progress in Retinal and Eye Research*, 393-422.
- Curcio, C. M. (2001). Accumulation of cholesterol with age in human Bruch's membrane. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 42, 265–274.
- D. V Do, D. P. (2014). A phase ia dose-escalation study of the anti-factor D monoclonal antibody fragment FCFD4514S in patients with geographic atrophy. *Retina*, (34):313–320.
- Davydov, A. (2011, Decembre 15). *Eye anatomy*. Récupéré sur Retina, Macula, Fovea, Foveola.: <http://www.forbestvision.com/retina-macula-fovea-foveola/>.
- De Vries C, E. J. (1992). The fms-like tyrosine kinase, a receptor for vascular endothelial growth factor. *Science.*, 255:989–991.
- Demontis G, A. C. (2012). Functional and molecular characterization of rod-like cells from retinal stem cells derived from the adult ciliary epithelium. *PLoS One*, (7):e33338.
- Dentchev T, M. A. (2003). Amyloid-beta is found in drusen from some age-related macular degeneration retinas, but not in drusen from normal retinas. *Mol Vis.*, 9:184-190.
- DG., T. (2011). Inflammation and age-related macular degeneration (AMD). *Semin Ophthalmol*, 26(3):192-197.
- Diana E. Fisher, B. E. (2016). Incidence of Age-Related Macular Degeneration in a Multi-Ethnic United States Population : The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Ophthalmology*.
- Diana E. Fisher, M. ., (s.d.). Incidence of Age-Related Macular Degeneration in a Multi-Ethnic United States Population : The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis.

- E J Sigler, J. C. (2014). Smoking and choroidal thickness in patients over 65 with early-atrophic age-related macular degeneration and normals. *Eye*, 28(7): 838–846.
- Emilie Arnault, C. B.-T.-A. (2013 Aug 23). Phototoxic Action Spectrum on a Retinal Pigment Epithelium Model of Age-Related Macular Degeneration Exposed to Sunlight Normalized Conditions. *PLoS One*, 8(8): e71398.
- ergo-log. (2014). *Lutein speeds up transformation from lazybones into athlete*. Récupéré sur <http://www.ergo-log.com/lutein-speeds-up-transformation-from-lazybones-into-athlete.html>
- Ethier CR, J. M. (2004). Ocular biomechanics and biotransport. *Annu Rev Biomed Eng.*, 6:249–273.
- F., S. (2014, Juin). *Dégénérescence Maculaire Liée à l'Age*. Récupéré sur Inserm: <http://www.inserm.fr/thematiques/neurosciences-sciences-cognitives-neurologie-psychiatrie/dossiers-d-information/degenerescence-maculaire-liee-a-l-age-dmla>
- Fausser S, G. N. (2015). Genetic predictive biomarkers of anti-VEGF treatment response in patients with neovascular age-related macular degeneration. *Genetics in ophthalmology?*, 138-152.
- Genetech, I. (2016). *AVASTIN*. Récupéré sur <http://www.avastin-hcp.com/about-avastin/proposed-moa>
- GlaxoSmithKline, G. S. (2014). *GlaxoSmithKline Study Register, Study Regist*. Récupéré sur <http://www.gsk-clinicalstudyregister.com/compounds/gsk933776#ps>
- Gopinath B, F. V. (2010). The effects of smoking and alcohol consumption on age-related hearing loss: the Blue Mountains Hearing Study. *Ear Hear*.
- Grünewald FS, P. A.-H. (2010). Structure–function analysis of VEGF receptor activation and the role of coreceptors in angiogenic signaling. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, (1804):567-580.
- H.F. Langer, K.-J. C. (2010). Complement-mediated inhibition of neovascularization reveals a point of convergence between innate immunity and angiogenesis. *Blood*, (116):4395–4403.
- Hayman L, S. A. (2000). Hypertension, cardiovascular disease, and age-related macular degeneration. Age-Related Macular Degeneration Risk Factors Study Group. *Arch Ophthalmol*, 118(3):351-358.
- Haymo Kurz, P. H. (1 April 2003). Angiogenesis and Vascular Remodeling by Intussusception: From Form to Function. *Physiology Published*, (18: 2, 65-70) .
- Hoh KJ, L. E. (2010). Viewing ageing eyes: diverse sites of amyloid Beta accumulation in the ageing mouse retina and the up-regulation of macrophages. *PLoS One*. 2010;5 (10:e13127., 5(10):e13127.
- Holz, F. (September, 2013). The MAHALO Phase II study: safety, tolerability and evidence of activity of lomalizumab (anti-factor D) in patients with geographic atrophy (GA) secondary to age-related Macular degeneration (AMD). *Eureta Meet.*, 28.
- Isas JM, L. V. (2010). Soluble and mature amyloid fibrils in drusen deposits. *Invest Ophthalmol Vis Sci.*, 51(3):1304–1310.
- J A Ratnayaka, L. C. (2015 Aug;). Dementia of the eye: the role of amyloid beta in retinal degeneration. *Eye (Lond)*., 29(8): 1013–1026.
- J. Kim, T. K.-A.-H. (2014). Intravitreal tanibirumab, a fully human monoclonal antibody against vascular endothelial growth factor receptor 2, partially suppresses and regresses laser-induced choroidal neovascularization in a rat model. *J. Ocul. Pharmacol. Ther.* .
- J.-D. Ding, J. L. (2008). Targeting age-related macular degeneration with Alzheimer's disease based immunotherapies: anti-amyloid-beta antibody attenuates pathologies in an age-related macular degeneration mouse model. *Vision. Res.*, (48):339–345.

- J.R. Heyen, J. R. (2014). Characterization, biomarkers, and reversibility of a monoclonal antibody-induced immune complex disease in cynomolgus monkeys. *Toxicol. Pathol.*, (42): 765–773.
- Jin Z, O. S. (2011). Modeling retinal degeneration using patient-specific induced pluripotent stem cells. *PLoS One.*, e17084.
- Johnson LV, L. W. (2002). The Alzheimer's A beta -peptide is deposited at sites of complement activation in pathologic deposits associated with aging and age-related macular degeneration. *Proc Natl Acad Sci USA.*, 99(18):11830–11835.
- Jung D, K. C. (2014). Reprogram or reboot: small molecules approaches for the production of induced pluripotent stem cells and direct cell reprogramming. *ACS Chem. Biol.*, (9):80-95.
- K., O.-M. (2011). Parallel findings in age-related macular degeneration and Alzheimer's disease. *Prog Retin Eye Res.*, 30(4):217–238.
- K.J. Katschke, P. W. (2012). Inhibiting alternative pathway complement activation by targeting the factor D exosite. *J. Biol. Chem.*, (287):12886–12892.
- Karlstetter M, L. T. (2014). Microglia in the aging retina. *Adv Exp Med Biol.*, 801:207-12.
- Kawasaki H, S. H. (2002). Generation of dopaminergic neurons and pigmented epithelia from primate ES cells by stromal cell-derived inducing activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, (99):1580-1585.
- Kurji KH, C. J. (2010). Microarray analysis identifies changes in inflammatory gene expression in response to amyloid-beta stimulation of cultured human retinal pigment epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci.*, 51(2):1151–1163.
- L. Wang, Z. Y. (2014). Blockage of tissue factor ameliorates the lesion of laser-induced choroidal neovascularization in mice. *Exp. Eye Res.*, (127):117–123.
- La rétine :les photorécepteurs rétiens génèrent des messages sensoriels.* (s.d.). Récupéré sur http://www.lyceedadultes.fr/sitepedagogique/documents/sciences/sciences1L/02_La_rétine_les_photorecepteurs_retiens_generent_des_messages_sensoriels.pdf
- Lazzeri S, F. M. (2013). VEGF-A polymorphism predict short-term functional response to intravitreal ranibizumab in exudative age-related macular degeneration. *Pharmacogenomics*, 14:623-30;.
- Lazzeri S, R. G. (2015). Aflibercept administration in neovascular age-related macular degeneration refractory to previous anti-vascular endothelial growth factor drugs: a critical review and new possible approaches to move forward. *Angiogenesis*, 18(4):397-432.
- Leveziel N, D. C. (2009). Epidemiology of aged related macular degeneration. *J Fr Ophtalmol.*, 32(6):440-51.
- Liege, E. O. (2009, Mars). *Rôle des protéinases et de leurs inhibiteurs dans les formes associées à une néovascularisation anormale sous-rétinienne. Caractérisation par l'étude de modèles animaux transgéniques et développements thérapeutiques.* . Récupéré sur <http://www.ophtalmo.ulg.ac.be/resumefrthesevl.html#DMLA>
- Liu C, G. X.-H. (2005). Local delivery of anecortave acetate inhibits the expression of retinal IGF-1/Igf61 receptor in the rat OIR model. *Invest Ophthalmol Vis Sci.*
- Liu RT, G. J. (2013). Inflammatory mediators induced by amyloid-beta in the retina and RPE in vivo: implications for inflammasome activation in age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013;54 (3):2225–2237., 54 (3):2225–2237.
- Loane E, N. J. (2008). Transport and retinal capture of lutein and zeaxanthin with reference to age-related macular degeneration. *Surv Ophthalmol.*, 53:68–81.
- l'oeil, C. d. (s.d.). *DMLA et maladie de Stargardt.* Récupéré sur <https://www.centreoeil.ch/tout-sur-loeil/les-affections-de-loeil/la-retine/dmla-et-maladie-de-stargardt>

- Luhrs T, R. C.-L. (2005). 3D structure of Alzheimer's amyloid-beta(1-42) fibrils. *Proc Natl Acad Sci USA.* , 102(48):17342–17347.
- Luo L, U. H.-C.-H. (2013). Photoreceptor avascular privilege is shielded by soluble VEGF receptor-1. *Elife.*, 2:e00324.
- Lycée. (2015). *La rétine : les photorécepteurs rétiniens génèrent des messages sensoriels*. Récupéré sur http://www.lyceedadultes.fr/sitepedagogique/documents/sciences/sciences1L/02_La_rétine_les_photorecepteurs_retiniens_generent_des_messages_sensoriels.pdf
- MA., M. (1997). The regulation of neovascularization by matrix metalloproteinases and their inhibitors. *Stem Cells.*, 15:180-189.
- Madar, J. (2013). *Centre d'Ophtalmologie La Ciota*. Récupéré sur L'OCT ou Tomographie en Cohérence Optique: <http://ophtalmo-madar-laciotat.com/le-materiel/l-oct-ou-tomographie-en-coherence-optique/>
- Mc Geer PL, I. S. (1988). Reactive microglia are positive for HLA-DR in the substantia nigra of Parkin's an Alzheimer Disease brains. *Neurology*, 38(8):1285-1291.
- McKay GJ, P. C. (2011). Evidence of association of APOE with age-related macular degeneration: a pooled analysis of 15 studies. *Hum Mutat.* 2011;32 (12:1407–1416., 32(12):1407–1416.
- McKibbin M, A. M. (2012). VEGF and HTRA1 promoter genotype may influence the response to intravitreal ranibizumab therapy for neovascular age-related macular degeneration. *Br J ophtalmol*, 96:208-12.
- McKibbin M, D. H. (2015). Aflibercept in wet AMD beyond the first year of treatment: recommendations by an expert redoundtable panel. *Eye*.
- McKibbin M, D. H. (2015). Aflibercept in wet AMD beyond the first year of treatment: recommendations by an expert roundtable panel. *Eye*, S1-S11.
- Mena Ma, d. Y. (2006). Drug induced parkinsonism. *Expert Opin Drug Saf*, 5(6):759-771.
- Menghini M, K.-G. B. (2012). Impact of loading phase, initial response and CFH genotype on the long term outcome of treatment for neovascular age-related macular degeneration. *PLoS One*, 7e:42014.
- Mitchell P, A. L. (2011). Cost effectiveness of treatments for wet age-related macular degeneration. *Pharmacoeconomics*, (2):107-31.
- N, F. (2004). Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. *Endocr Rev.*, 25:581-611.
- N. O'Brien, S. J. (2009). Production and characterization of monoclonal anti-sphingosine-1-phosphate antibodies. *J. Lipid Res*, (50):2245–2257.
- P., C. (2003). Angiogenesis in health and disease. *Nat Med*, 9:653-660.
- P., K. (2013). Emerging therapies for neovascular age-related macular degeneration: drug in the pipeline. *Ophthalmology*, (120):S11-S515.
- Park UC, S. J. (2014). Genetic factors associated with response to intravitreal ranibizumab in korean patients with neovascular age-related macular degeneration. *Retina*, 34:288-97.
- Phama, B. (2015, Novembre). *eylea*. Récupéré sur <http://www.eylea.com/international/?p=eylea-insight/kol-presentations/aflibercept-the-molecule/index.php>
- Pharmaceuticals., N. (2014, Juillet). *Test d'autosurveillance*. Récupéré sur DMLAinfo: <http://www.dmlainfo.fr/dmla-faites-le-test/test-dauto-surveillance/>
- Plein A, F. A. (2014). Neuropillin regulatio of angiogenesis, arteriogenesis and vascular permeability. *Microcirculation.*, (4):315-23.
- Prakasam A, M. A. (2010). Differential accumulation of secreted AbetaPP metabolites in ocular fluids. *J Alzheimers Dis.*, 20(4):1243–1253.

- Querques G, R. P. (2014). Treatment of Dry Age-Related Macular Degeneration. *Ophthalmic Res*, (52):107-115 .
- Ramsden C, P. M. (2013). Stem cells in retinal regeneration: past, present and future. *Development*, (140):2576-2585.
- Regeneron Pharmaceuticals, I. (2016). *Eylea aflibercept injection*. Récupéré sur <http://hcp.eylea.us/wet-amd/science-of-eylea.php>
- Rep., N. I. (2013). *Ophthotech Form 10-Q Quarterly Report*, . Récupéré sur Ophthotech Corporation: <http://investors.ophthotech.com/secfiling.cfm?filingID=1104659-13-83939&CIK=1410939>
- Ricciarelli R, C. E. (2012). Cholesterol and Alzheimer's disease: a still poorly understood correlation. *IUBMB Life.*, 64(12):931–935.
- Rutar M, P. J. (2016). Role of chemokines in shaping macrophage activity in AMD. *Adv Exp Med Biol*, 854:11-6.
- S. He, M. J. (2003). A role for connective tissue growth factor in the pathogenesis of choroidal neovascularization. *Arch. Ophthalmol.*, (121):1283–1288.
- S.Slakter, D. (s.d.). *Syndicat National des Ophtalmologistes de France* . Récupéré sur <http://www.snof.org/encyclopedie/dmla-et-les-nouveaux-traitements-anti-angiogenese>
- Salero E, B. T. (2012). Adult human RPE can be activated into a multipotent stem cell that produces mesenchymal derivatives. *Cell Stem. Cell.*, (10):88-95.
- Santé, C. d. (2012, Juin). *Dégénérescence maculaire liée à l'âge : prise en charge diagnostique et thérapeutique*. Récupéré sur Recommandations pour la pratique clinique.: http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2012-09/09r09_argu_dmla.pdf
- Sarks, S. C. (2007). Relationship of basal laminar deposit and membranous debris to the clinical presentation of early age-related macular degeneration. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 48, 968–977.
- Schwartz S, H. J.-C. (2012). Embryonic stem cell trials for macular degeneration: a preliminary report. *Lancet*, (379):713-720.
- Seddon JM, G. S. (2005). Progression of age-related macular degeneration: prospective assessment of C-reactive protein, interleukin 6, and other cardiovascular biomarkers. *Arch Ophthalmol.*, 123(6):774-82.
- Shao Z, F. M. (2013). Choroid sprouting assay: an ex vivo model of microvascular angiogenesis. *PLoS One*, 8(7):e69552.
- Shibuya, M. (2014 Jan). VEGF-VEGFR Signals in Health and Disease. *Biomol Ther (Seoul)*. 2014 Jan; 22(1): 1–9., 22(1): 1–9.
- Shiu-Dong C, J.-D. H.-C.-C.-J. (2014). Increased Risk of Parkinson Disease Following a diagnosis of Neovascular Age-Related Macular Degeneration: A retrospective Cohort Study. *Am J Ophthalmol*, 157:464-469.
- Sigler EJ, R. J. (2014). Smoking and choroidal thickness in patients over 65 with early atrophic age-related macular degeneration and normals. *Eye*, 28(7):838-46.
- Singh R, P. M. (2013). Functional analysis of serially expanded human IPS cell-derived RPE cultures. *Investig. Ophatalmol. Vis.*, (54):6767-6778.
- Smailhodzic, D. K. (2012). Risk alleles in CFH and ARMS2 are independently associated with systemic complement activation in age-related macular degeneration. *Ophthalmology*, (119):339-346;.
- Song M, B. K. (2015). Looking into the future: using induced pluripotent stem cells to build two and three dimensional ocular tissus for cell therapy and disease modeling. *Brain Research*.
- Soubrane, G. (2007). *Les DMLAs*. MASSON.
- Soueid, E. (2009). La dégénérescence maculaire liée à l'âge. *Le quotidien du médecin.*, 8495.

- Spaide RF, A. D. (2003;23:595–614.). Continuing medical education review: choroidal neovascularization in age-related macular degeneration—what is the cause? . *Retina*. 2003;23:595–614., 23:595–614.
- Stamer W, B. D. (2003). Aquaporin-1 channels in human retinal pigment epithelium: role in transepithelial water movement. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.*, (44):2803-2808.
- Study of human central nervous system stem cells in AMD*. (2015). Récupéré sur ClinicalTrials.gov: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT01632527>
- T. Nakajima, M. H. (2014). Mechanism for laser-induced neovascularization in rat choroid: accumulation of integrin chain-positive cells and their ligands. *Mol. Vis.*, (20):864–871.
- Takahashi K, T. K. (2007). Induction of pluripotent stem cells from postmortem adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*, (131):861-872.
- Thanvi B, L. N. (2005). Vascular parkinsonism - an important cause of parkinsonism in older people. *Age Ageing.*, 34:(3):114-119.
- Tserentsoodol N, S. J. (2006). Uptake of cholesterol by the retina occurs primarily via a low density lipoprotein receptor-mediated process. *Mol Vis.*, 12:1306–1318.
- V. Ramakrishnan, V. B. (2006). Preclinical evaluation of an anti-alpha5beta1 integrin antibody as a novel anti-angiogenic agent. *J. Exp. Ther. Onco*, (5):273–286 .
- Veritti D, S. V. (2013). Bevacizumab and triamcinolone acetate for choroidal neovascularization due to age-related macular degeneration unresponsive to anti-vascular endothelial growth factor. *J Ocul Pharmacol Ther.*, 29(4):437-41.
- W.J. Schwaebler, N. L. (2011). Targeting of mannan-binding lectin-associated serine protease-2 confers protection from myocardial and gastrointestinal ischemia/reperfusion injury. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, (108):7523–7528.
- Wang J, O.-M. K. (2012). Cholesterol enhances amyloid beta deposition in mouse retina by modulating the activities of Abeta-regulating enzymes in retinal pigment epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* , 424(4):704–709.
- Wang J, O.-M. K. (2012). Elevated amyloid production in senescent retinal pigment epithelium, a possible mechanism of subretinal deposition of amyloid in age-related macular degeneration. *Biochem Biophys Res Commun.*, 423(1):73–78.
- Wang Y, S. P. (2013). Pigment epithelium-derived factor reduces apoptosis and pro-inflammatory cytokine gene expression in a murine model of focal retinal degeneration. *ASN Neuro* , (5):309-319.
- Warren L, M. P. (2010). Highly efficient reprogramming to pluripotency and direct differentiation of human cells with synthetic modified mRNA. *Cell Stem Cell.*, (7):618-630.
- Yoshida T, O.-M. K. (2005). The potential role of amyloid beta in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *J Clin Invest.*, 115(10):2793–2800.
- Yoshida T, O.-M. K. (2005). The potential role of amyloid beta in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *J Clin Invest.*, 115(10):2793–2800.
- Yoshida T, O.-M. K. (2005). The potential role of amyloid beta in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *J Clin Invest.*, 115 (10):2793–2800.
- Yuan Tian, A. K. (2015). Lutein and Factor D: Two intriguing players in the field of age-related macular degeneration. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, (572):49-53.
- Z. Yehoshua, C. d. (2014). Systemic complement inhibition with eculizumab for geographic atrophy in age-related macular degeneration: the COMPLETE study. *Ophthalmology*, (121):693–701.
- Zanlonghi. (2002). *L'échelle ETDRS : la référence dans la mesure de l'acuité*. Récupéré sur 2002- revue édité par les laboratoire novartis: <http://www.ophtalmo.net/bv/Doc/2002-6150-XZ-ETDRS.pdf>

FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES DE LILLE
DIPLOME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
Année Universitaire 2015/2016

Nom : DUFÉTEL

Prénom : Charles

**Titre de la thèse : La Dégénérescence Maculaire Liée à l'Age :
physiopathologies, prises en charge thérapeutiques actuelles et thérapies à
venir.**

Mots-clés : Vision, immunologie, génétique, biologie, thérapie cellulaire, hygiène de vie, Parkinson, Alzheimer, lutéine, zéaxanthine, anti-VEGF, VEGF, drusens, Facteur D.

Résumé

La DMLA est une pathologie multifactorielle, génétique, environnementale, chronique et irréversible.

Sa prévalence après 50 ans est en augmentation. Ce phénomène est inquiétant. L'espérance de vie est en croissance constante.

En tant que pharmacien, et professionnel de santé, nous pouvons prévenir la DMLA en étant à l'écoute de nos patients. Les quatre signes cliniques à connaître sont le point noir au centre de la vue, l'apparition de lignes déformées, la baisse d'acuité visuelle et une baisse de la sensibilité aux contrastes.

En cas de doute, le pharmacien peut proposer la grille d'Amsler au comptoir puis rediriger vers l'ophtalmologiste.

Cette prise en charge précoce permet de baisser l'impact de la maladie.

La physiopathologie est encore, à ce jour, à l'étude.

Ce sujet est captivant en raison des prodigieuses avancées de ces dix dernières années. En effet, avec les découvertes en biologie cellulaire, en génétique et immunologie, les connaissances sur cette pathologie sont en révolution actuellement. Une mise à jour des connaissances est donc nécessaire pour aider le pharmacien à trouver sa place dans la prise en charge de cette pathologie.

Il est également important de sensibiliser les patients à la protection aux UV, avec le port de lunettes de soleil adaptées. Mais il faut également limiter l'exposition au tabac. L'hygiène de vie a également un rôle important. En effet, une alimentation équilibrée avec l'utilisation des acides gras insaturés plutôt que saturés (l'usage de l'huile d'olive plutôt que le beurre), peu d'ajout en sel et en sucre. Enfin l'éviction des oxydants est préférable, comme par exemple la sauce BBQ ou les aliments grillés.

Enfin, cette thèse abordera les thérapies actuelles et à venir.

En effet, la thérapie cellulaire et les thérapies géniques sont à ce jour un espoir pour le monde médical et ses patients. Les dernières découvertes montrent une corrélation entre Alzheimer, Parkinson et la DMLA ce qui nous donne une nouvelle vision de cette maladie.

Membres du jury :

Président : Madame Martin Françoise, Maître de conférences - Laboratoire de Physiologie.

Assesseurs : Monsieur Carnoy Christophe, Maître de conférences - Laboratoire d'Immunologie.

Monsieur Margaron Fabrice, Docteur en Médecine, Ophtalmologiste.

Membre extérieur : Monsieur Petit Gilles, Docteur en Pharmacie.