

2022-2023

THÈSE

pour le

DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE

Qualification en OPHTALMOLOGIE

Profil métabolomique chez les patients atteints de glaucome primitif à angle ouvert

OUATTARA Sorayah

Née le 10/10/1995 à Paris XIVe (75)

Sous la direction de M. GOHIER Philippe

Membres du jury

Monsieur le Professeur REYNIER Pascal | Président

Monsieur le Docteur GOHIER Philippe | Directeur

Madame le Docteur CAIGNARD Angélique | Membre

Monsieur le Docteur MAINGUY Adam | Membre

Soutenue publiquement le :
16 Octobre 2023



**FACULTÉ
DE SANTÉ**

UNIVERSITÉ D'ANGERS

ENGAGEMENT DE NON PLAGIAT

Je, soussignée OUATTARA Sorayah,
déclare être pleinement consciente que le plagiat de documents ou d'une
partie d'un document publiée sur toutes formes de support, y compris l'internet,
constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée.
En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées
pour écrire ce rapport ou mémoire.

signé par l'étudiante le **01/10/2023**

SERMENT D'HIPPOCRATE

« Au moment d'être admis(e) à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité. Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux. Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité. J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences. Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis(e) dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçu (e) à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs. Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité. Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonoré (e) et méprisé(e) si j'y manque ».

LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTÉ DE SANTÉ D'ANGERS

Doyen de la Faculté : Pr Nicolas Lerolle

Vice-Doyen de la Faculté et directeur du département de pharmacie :

Pr Frédéric Lagarce

Directeur du département de médecine : Pr Cédric Annweiler

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

ABRAHAM Pierre	PHYSIOLOGIE	Médecine
ANGOULVANT Cécile	MEDECINE GENERALE	Médecine
ANNWEILER Cédric	GERIATRIE ET BIOLOGIE DU VIEILLISSEMENT	Médecine
ASFAR Pierre	REANIMATION	Médecine
AUBE Christophe	RADIOLOGIE ET IMAGERIE MEDICALE	Médecine
AUGUSTO Jean-François	NEPHROLOGIE	Médecine
BAUFRETON Christophe	CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIOVASCULAIRE	Médecine
BELLANGER William	MEDECINE GENERALE	Médecine
BENOIT Jean-Pierre	PHARMACOTECHNIE	Pharmacie
BIERE Loïc	CARDIOLOGIE	Médecine
BIGOT Pierre	UROLOGIE	Médecine
BONNEAU Dominique	GENETIQUE	Médecine
BOUCHARA Jean-Philippe	PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE	Médecine
BOUET Pierre-Emmanuel	GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE	Médecine
BOURSIER Jérôme	GASTROENTEROLOGIE ; HEPATOLOGIE	Médecine
BOUVARD Béatrice	RHUMATOLOGIE	
BRIET Marie	PHARMACOLOGIE	Médecine
CALES Paul	GASTROENTEROLOGIE ; HEPATOLOGIE	Médecine
CAMPONE Mario	CANCEROLOGIE ; RADIOTHERAPIE	Médecine
CAROLI-BOSC François-Xavier	GASTROENTEROLOGIE ; HEPATOLOGIE	Médecine
CASSEREAU Julien	NEUROLOGIE	Médecine
CONNAN Laurent	MEDECINE GENERALE	Médecine

COPIN Marie-Christine	ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES	Médecine
COUTANT Régis	PEDIATRIE	Médecine
CUSTAUD Marc-Antoine	PHYSIOLOGIE	Médecine
CRAUSTE-MANCIET Sylvie	PHARMACOTECHNIE HOSPITALIERE	Pharmacie
DE CASABIANCA Catherine	MEDECINE GENERALE	Médecine
DESCAMPS Philippe	GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE	Médecine
D'ESCATHA Alexis	MEDECINE ET SANTE AU TRAVAIL	Médecine
DINOMAS Mickaël	MEDECINE PHYSIQUE ET DE READAPTATION	Médecine
DUBEE Vincent	MALADIES INFECTIEUSES ET TROPICALES	Médecine
DUCANCELLE Alexandra	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE ; HYGIENE HOSPITALIERE	Médecine
DUVAL Olivier	CHIMIE THERAPEUTIQUE	Pharmacie
DUVERGER Philippe	PEDOPSYCHIATRIE	Médecine
EVEILLARD Mathieu	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE	Pharmacie
FAURE Sébastien	PHARMACOLOGIE PHYSIOLOGIE	Pharmacie
FOURNIER Henri-Dominique	ANATOMIE	Médecine
FOUQUET Olivier	CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIOVASCULAIRE	Médecine
FURBER Alain	CARDIOLOGIE	Médecine
GAGNADOUX Frédéric	PNEUMOLOGIE	Médecine
GOHIER Bénédicte	PSYCHIATRIE D'ADULTES	Médecine
GUARDIOLA Philippe	HEMATOLOGIE ; TRANSFUSION	Médecine
GUILLET David	CHIMIE ANALYTIQUE	Pharmacie
HAMY Antoine	CHIRURGIE GENERALE	Médecine
HENNI Samir	MEDECINE VASCULAIRE	Médecine
HUNAUT-BERGER Mathilde	HEMATOLOGIE ; TRANSFUSION	Médecine
IFRAH Norbert	HEMATOLOGIE ; TRANSFUSION	Médecine
JEANNIN Pascale	IMMUNOLOGIE	Médecine
KEMPF Marie	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE ; HYGIENE HOSPITALIERE	Médecine
KUN-DARBOIS Daniel	CHIRURGIE MAXILLO-FACIALE ET STOMATOLOGIE	Médecine
LACOEUILLE FRANCK	RADIOPHARMACIE	Pharmacie

LACCOURREYE Laurent	OTO-RHINO-LARYNGOLOGIE	Médecine
LAGARCE Frédéric	BIOPHARMACIE	Pharmacie
LARCHER Géraud	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRES	Pharmacie
LASOCKI Sigismond	ANESTHESIOLOGIE-REANIMATION	Médecine
LEBDAL Souhil	UROLOGIE	Médecine
LEGENDRE Guillaume	GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE	Médecine
LEGRAND Erick	RHUMATOLOGIE	Médecine
LERMITE Emilie	CHIRURGIE GENERALE	Médecine
LEROLLE Nicolas	REANIMATION	Médecine
LUNEL-FABIANI Françoise	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE ; HYGIENE HOSPITALIERE	Médecine
MARCHAIS Véronique	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE	Pharmacie
MARTIN Ludovic	DERMATO-VERNEROLOGIE	Médecine
MAY-PANLOUP Pascale	BIOLOGIE ET MEDECINE DU DEVELOPPEMENT ET DE LA REPRODUCTION	Médecine
MENEI Philippe	NEUROCHIRURGIE	Médecine
MERCAT Alain	REANIMATION	Médecine
PAPON Nicolas	PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE	Pharmacie
PASSIRANI Catherine	CHIMIE GENERALE	Pharmacie
PELLIER Isabelle	PEDIATRIE	Médecine
PETIT Audrey	MEDECINE ET SANTE AU TRAVAIL	Médecine
PICQUET Jean	CHIRURGIE VASCULAIRE ; MEDECINE VASCULAIRE	Médecine
PODEVIN Guillaume	CHIRURGIE INFANTILE	Médecine
PROCACCIO Vincent	GENETIQUE	Médecine
PRUNIER Delphine	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE	Médecine
PRUNIER Fabrice	CARDIOLOGIE	Médecine
RAMOND-ROQUIN Aline	MEDECINE GENERALE	Médecine
REYNIER Pascal	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE	Médecine
RICHARD Isabelle	MEDECINE PHYSIQUE ET DE READAPTATION	Médecine
RICHOMME Pascal	PHARMACOGNOSIE	Pharmacie
RODIEN Patrice	ENDOCRINOLOGIE, DIABETE ET MALADIES METABOLIQUES	Médecine

ROQUELAURE Yves	MEDECINE ET SANTE AU TRAVAIL	Médecine
ROUGE-MAILLART Clotilde	MEDECINE LEGALE ET DROIT DE LA SANTE	Médecine
ROUSSEAU Audrey	ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES	Médecine
ROUSSEAU Pascal	CHIRURGIE PLASTIQUE, RECONSTRUCTRICE ET ESTHETIQUE	Médecine
ROUSSELET Marie-Christine	ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES	Médecine
ROY Pierre-Marie	MEDECINE D'URGENCE	Médecine
SAULNIER Patrick	BIOPHYSIQUE ET BIOSTATISTIQUES	Pharmacie
SERAPHIN Denis	CHIMIE ORGANIQUE	Pharmacie
SCHMIDT Aline	HEMATOLOGIE ; TRANSFUSION	Médecine
TESSIER-CAZENEUVE Christine	MEDECINE GENERALE	Médecine
TRZEPIZUR Wojciech	PNEUMOLOGIE	Médecine
UGO Valérie	HEMATOLOGIE ; TRANSFUSION	Médecine
URBAN Thierry	PNEUMOLOGIE	Médecine
VAN BOGAERT Patrick	PEDIATRIE	Médecine
VENARA Aurélien	CHIRURGIE VISCERALE ET DIGESTIVE	Médecine
VENIER-JULIENNE Marie-Claire	PHARMACOTECHNIE	Pharmacie
VERNY Christophe	NEUROLOGIE	Médecine
WILLOTEAUX Serge	RADIOLOGIE ET IMAGERIE MEDICALE	Médecine

MAÎTRES DE CONFÉRENCES

BAGLIN Isabelle	CHIMIE THERAPEUTIQUE	Pharmacie
BASTIAT Guillaume	BIOPHYSIQUE ET BIOSTATISTIQUES	Pharmacie
BEAUVILLAIN Céline	IMMUNOLOGIE	Médecine
BEGUE Cyril	MEDECINE GENERALE	Médecine
BELIZNA Cristina	MEDECINE INTERNE	Médecine
BELONCLE François	REANIMATION	Médecine
BENOIT Jacqueline	PHARMACOLOGIE	Pharmacie
BESSAGUET Flavien	PHYSIOLOGIE PHARMACOLOGIE	Pharmacie
BERNARD Florian	ANATOMIE ; discipline hospit : NEUROCHIRURGIE	Médecine
BLANCHET Odile	HEMATOLOGIE ; TRANSFUSION	Médecine

BOISARD Séverine	CHIMIE ANALYTIQUE	Pharmacie
BRIET Claire	ENDOCRINOLOGIE, DIABETE ET MALADIES METABOLIQUES	Médecine
BRIS Céline	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE	Pharmacie
CAPITAIN Olivier	CANCEROLOGIE ; RADIOTHERAPIE	Médecine
CHAO DE LA BARCA Juan-Manuel	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE	Médecine
CHEVALIER Sylvie	BIOLOGIE CELLULAIRE	Médecine
CLERE Nicolas	PHARMACOLOGIE / PHYSIOLOGIE	Pharmacie
COLIN Estelle	GENETIQUE	Médecine
DERBRE Séverine	PHARMACOGNOSIE	Pharmacie
DESHAYES Caroline	BACTERIOLOGIE VIROLOGIE	Pharmacie
DOUILLET Delphine	MEDECINE D'URGENCE	Médecine
FERRE Marc	BIOLOGIE MOLECULAIRE	Médecine
FORTRAT Jacques- Olivier	PHYSIOLOGIE	Médecine
GUELFF Jessica	MEDECINE GENERALE	Médecine
HAMEL Jean-François	BIostatistiques, Informatique Médicale	Médicale
HELESBEUX Jean- Jacques	CHIMIE ORGANIQUE	Pharmacie
HERIVAUX Anaïs	BIOTECHNOLOGIE	Pharmacie
HINDRE François	BIOPHYSIQUE	Médecine
JOUSSET-THULLIER Nathalie	MEDECINE LEGALE ET DROIT DE LA SANTÉ	Médecine
JUDALET-ILLAND Ghislaine	MEDECINE GENERALE	Médecine
KHIATI Salim	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE	Médecine
LANDREAU Anne	BOTANIQUE/ MYCOLOGIE	Pharmacie
LEGEAY Samuel	PHARMACOCINETIQUE	Pharmacie
LEMEE Jean-Michel	NEUROCHIRURGIE	Médecine
LE RAY-RICHOMME Anne-Marie	PHARMACOGNOSIE	Pharmacie
LEPELTIER Elise	CHIMIE GENERALE	Pharmacie
LETOURNEL Franck	BIOLOGIE CELLULAIRE	Médecine
LIBOUBAN Hélène	HISTOLOGIE	Médecine
LUQUE PAZ Damien	HEMATOLOGIE BIOLOGIQUE	Médecine
MABILLEAU Guillaume	HISTOLOGIE, EMBRYOLOGIE ET CYTOGENETIQUE	Médecine
MALLET Sabine	CHIMIE ANALYTIQUE	Pharmacie

MAROT Agnès	PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE	Pharmacie
MESLIER Nicole	PHYSIOLOGIE	Médecine
MIOT Charline	IMMUNOLOGIE	Médecine
MOUILLIE Jean-Marc	PHILOSOPHIE	Médecine
NAIL BILLAUD Sandrine	IMMUNOLOGIE	Pharmacie
PAILHORIE Hélène	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE	Médecine
PAPON Xavier	ANATOMIE	Médecine
PASCO-PAPON Anne	RADIOLOGIE ET IMAGERIE MEDICALE	Médecine
PECH Brigitte	PHARMACOTECHNIE	Pharmacie
PENCHAUD Anne-Laurence	SOCIOLOGIE	Médecine
PIHET Marc	PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE	Médecine
POIROUX Laurent	SCIENCES INFIRMIERES	Médecine
PY Thibaut	MEDECINE GENERALE	Médecine
RINEAU Emmanuel	ANESTHESIOLOGIE REANIMATION	Médecine
RIOU Jérémie	BIostatistiques	Pharmacie
RIQUIN Elise	PEDOPSYCHIATRIE ; ADDICTOLOGIE	Médecine
RONY Louis	CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE ET TRAUMATOLOGIQUE	Médecine
ROGER Emilie	PHARMACOTECHNIE	Pharmacie
SAVARY Camille	PHARMACOLOGIE-TOXICOLOGIE	Pharmacie
SCHMITT Françoise	CHIRURGIE INFANTILE	Médecine
SCHINKOWITZ Andréas	PHARMACOGNOSIE	Pharmacie
SPIESSER-ROBELET Laurence	PHARMACIE CLINIQUE ET EDUCATION THERAPEUTIQUE	Pharmacie
TEXIER-LEGENDRE Gaëlle	MEDECINE GENERALE	Médecine
VIAULT Guillaume	CHIMIE ORGANIQUE	Pharmacie

AUTRES ENSEIGNANTS

PRCE		
AUTRET Erwan	ANGLAIS	Santé
BARBEROUSSE Michel	INFORMATIQUE	Santé
FISBACH Martine	ANGLAIS	Santé
O'SULLIVAN Kayleigh	ANGLAIS	Santé
RIVEAU Hélène	ANGLAIS	

PAST		
CAVAILLON Pascal	PHARMACIE INDUSTRIELLE	Pharmacie
DILÉ Nathalie	OFFICINE	Pharmacie
GUILLET Anne-Françoise	PHARMACIE DEUST PREPARATEUR	Pharmacie
MOAL Frédéric	PHARMACIE CLINIQUE	Pharmacie
PAPIN-PUREN Claire	OFFICINE	Pharmacie
KAASSIS Mehdi	GASTRO-ENTEROLOGIE	Médecine
GUITTON Christophe	MEDECINE INTENSIVE- REANIMATION	Médecine
SAVARY Dominique	MEDECINE D'URGENCE	Médecine
POMMIER Pascal	CANCEROLOGIE- RADIOTHERAPIE	Médecine
PICCOLI Giorgina	NEPHROLOGIE	Médecine
PLP		
CHIKH Yamina	ECONOMIE-GESTION	Médecine

REMERCIEMENTS

Je souhaite remercier Monsieur Gohier en sa qualité de chef de service. Merci de m'avoir accueillie au sein du service.

Je remercie également Monsieur Reynier qui m'a beaucoup aidé ces derniers mois. Merci pour ses conseils sa patience et son engagement pour la thèse.

Merci à Jeanne Muller, Cinzia Bocca et Mathieu Michel pour leur immense implication dans ma thèse.

Merci à mes chers Maîtres ici présents Angélique Caignard et Adam Mainguy.

Merci à mes chefs qui m'ont accompagnée tout au long de l'internat : Damien, Adib, Maxime, Sophie, Victor, Marta, Valentin, Jérôme, Wassil, Nassim, Samira..

Merci à mes cointernes du service pour leur présence depuis plusieurs années Guillaume, Camille, Anaïs, Anne-Laure, Marin, Tristan, Alix, Mathieu, Laurie, Thibault, Majid, Marion, Yasmina, Arthur, Anthony, Mohamed, Juliette, Cyrille, Godefroy, Jofrey.

Merci aux paramédicaux du service Maryline, Laurence, Mélanie, Agnès, Lucie, Monique, Elisabeth et aux IBODES notamment Romain, Laurine, Roxane.

Merci à la grande équipe des 4 services pour leur accueil chaleureux au cours de mon hors filière.

Merci à ma mère et mon père sans qui je ne serais pas là.

Merci à ma sœur et mon frère présents depuis toujours.

Merci à mes amis d'enfance Mariama, Anissa, Renée, Béatrice qui m'accompagnent depuis toute petite.

Merci à mes amis du Collège et du Lycée et leurs histoires drôles : Behia, Suzanne, Axelle, Amine, Justine, Juliette, Clara, Nolwenn, Kevin

Merci aux copains de la Faculté, ses années sont passées très vite grâce à vous. Je suis fière de nous tous : Hajar, Ebru, Léa, Rafaëlle, Ryma, Nawel, Cécile, Léa, Shabnam, Sangsong. Valentine, Léa, Laure, Pierre

Merci aux copains de l'Internat pour leur présence, leur aide et tous ces bons moments passés ensemble Fériel, Adèle, Loïc, Delphine, Clémentine, Sarah, Jean, Léa

Liste des abréviations

[illegible]

Plan

LISTE DES ABREVIATIONS

RESUME

INTRODUCTION

1. Rappels anatomiques

2. Définitions

3. Glaucome à angle ouvert

3.1. Physiopathologie

3.2. Facteurs de risque

3.3. Traitement

3.4. Diagnostic et suivi

4. Introduction à la métabolomique

4.1. Définitions

4.2. Méthodologie

4.3. Contexte dans le service

4.4. Revue de la littérature sur le glaucome à angle ouvert

MÉTHODES

1. Population étudiée

2. Méthode du dosage du Nicotinamide et MéthylNicotinamide

3. Méthode de l'analyse métabolomique

RÉSULTATS

1. Dosage du Nicotinamide et du MéthylNicotinamide

2. Analyse métabolomique

2.1. Glaucomes versus témoins

2.2 Glaucomes mineurs et modérés versus glaucomes sévères

DISCUSSION ET CONCLUSION

BIBLIOGRAPHIE

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

TABLE DES MATIERES

PROFIL METABOLOMIQUE CHEZ LES PATIENTS ATTEINTS DE GLAUCOME PRIMITIF A ANGLE OUVERT

Auteurs : OUATTARA Sorayah*, GOHIER Philippe*, REYNIER Pascal**

Affiliations : *Service d'Ophtalmologie, CHU Angers, **Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHU Angers

RESUME

Introduction : Le glaucome est l'une des premières causes de cécité dans le monde. Il s'agit d'un enjeu majeur de société par la gravité de la maladie et le coût qu'elle entraîne. La forme majoritaire est le glaucome à angle ouvert. Plusieurs mécanismes seraient intriqués, notamment le stress oxydatif, la baisse de la production énergétique via les mitochondries, le déficit en neurotrophines et la modification des tissus de soutien. Des études réalisées antérieurement dans le service ont montré des profils métaboliques spécifiques et un déficit en nicotinamide (vitamine B3) chez les sujets atteints de glaucome en comparaison aux témoins.

Sujets et Méthodes : Il s'agit d'une étude rétrospective portant sur les échantillons sanguins de patients inclus au sein d'une collection biologique par le service d'Ophtalmologie du CHU d'Angers. Les plasmas de 68 patients atteints de glaucome selon différents stades de sévérité ainsi que 23 patients témoins ont été inclus afin de déterminer s'il existe des différences de concentration en nicotinamide sanguin et de profil métabolique entre les différents stades du glaucome, en comparaison avec une population témoin.

Résultats : Une tendance à un taux plus bas de nicotinamide chez les glaucomes les plus sévères et l'existence de profils métaboliques distinguant les stades de sévérité ont été identifiés mais sans atteindre les seuils de significativité.

Conclusion : La taille de l'effectif exploré et l'hétérogénéité métabolique des patients ne nous ont pas permis d'obtenir des résultats significatifs mais la tendance observée nous encourage à poursuivre l'étude par l'augmentation de la taille de l'effectif étudié.

INTRODUCTION

Le glaucome est la troisième cause de cécité, toutes causes confondues, dans le monde après les troubles réfractifs non corrigés et la cataracte (1). Il s'agit de la première cause de cécité non réversible avant la dégénérescence maculaire liée à l'âge (2). Cela représente environ 79 millions d'individus atteints dans le monde et près de 11 millions de cas de cécité bilatérale dans le monde (2). Sa prévalence varie de 0.7 à 7% selon les études et selon les populations étudiées, par exemple en Inde, il est estimé à 2.2% de la population, en Afrique du Sud à 5.3%, aux Etats-Unis à 1.86% (3). Ces différences sont expliquées par des études et des définitions non uniformes mais aussi par la prévalence qui diffère en fonction des populations. En France, on estime jusqu'à plus d'un million le nombre de personnes atteintes. Le glaucome est la seconde cause de cécité après le diabète dans les pays industrialisés et représente 15% des cas de cécité.

Le glaucome est le nom donné à un ensemble de maladies neurodégénératives avec altérations structurelles (pertes des cellules ganglionnaires, altération de l'aspect du nerf optique), possibles altérations fonctionnelles (acuité visuelle, sensibilité de perception visuelle) et pression intraoculaire normale ou élevée.

1. Rappels anatomiques

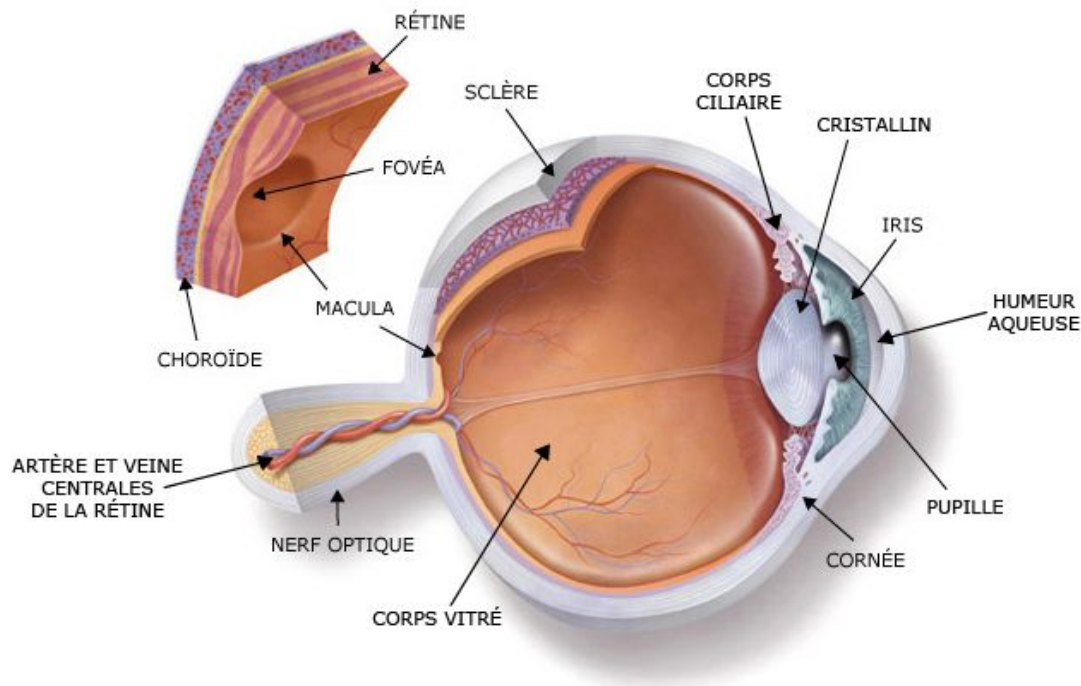


Figure 1. Schéma de l'œil. D'après Dr Leninger.

L'œil est l'organe qui assure la vision, c'est un système optique puissant mettant en œuvre des lentilles convergentes (cornée, cristallin) et des milieux transparents (humeur aqueuse, vitré) visant à focaliser les rayons lumineux sur la rétine. L'information est convertie au sein de la rétine en signal électrique, transmis au système nerveux central via le nerf optique par intégration cérébrale.

On sépare souvent l'œil en deux portions, d'une part, le segment antérieur comprenant la cornée, l'iris et le cristallin, les corps ciliaires, la chambre antérieure avec l'humeur aqueuse et d'autre part, le segment postérieur avec le vitré, la rétine et la choroïde. On peut aussi séparer l'œil en trois couches différentes : la sclère, l'uvée et la rétine.

La cornée est une lentille puissante transparente et avasculaire qui s'enchéasse à la partie antérieure de la sclère au niveau du limbe cornéen avec une forme de hublot. La cornée joue un rôle indispensable pour la vision.

L'uvée est constituée de la choroïde, de l'iris et des corps ciliaires.

La choroïde est un tissu vasculaire nourricier pour la partie externe de la rétine notamment l'épithélium pigmentaire. L'iris est un véritable diaphragme circulaire ouvert en son centre, la pupille, qui contrôle la quantité de lumière pénétrant dans l'œil. Le corps ciliaire est composé des procès et du muscle ciliaire. Les procès ciliaires sont le lieu de production de l'humeur aqueuse et correspondent également au site d'insertion de la zonule, ligament suspenseur du cristallin. Le muscle ciliaire permet l'accommodation par les changements de forme du cristallin transmis par la zonule.

Le vitré est un tissu avasculaire constitué essentiellement de fibrilles de collagène et d'acide hyaluronique. Ce gel joue un rôle biomécanique, en conservant le tonus et la forme du globe et en jouant un rôle nutritif. Le vitré n'a pas de renouvellement et ne participe pas à l'homéostasie de la pression intraoculaire.

La rétine comprend la rétine neurosensorielle et l'épithélium pigmentaire. Elle tapisse la sclère sur sa face interne en avant de la choroïde. C'est un tissu nécessitant une forte consommation en oxygène en raison de son activité métabolique élevée.

L'épithélium pigmentaire joue un rôle trophique, de recyclage et d'échange dans métabolisme cellulaire des photorécepteurs.

La rétine neurosensorielle est composée de plusieurs couches bien distinctes composées de différentes cellules jouant un rôle dans la transmission de l'information :

- la couche des photorécepteurs (segments externes et internes des photorécepteurs, soit les cônes et les bâtonnets)
- la couche nucléaire externe (corps cellulaires des photorécepteurs)
- la couche plexiforme externe (jonction entre les photorécepteurs et les cellules bipolaires)
- la couche nucléaire interne (corps cellulaires des cellules bipolaires, horizontales, amacrines, associée à aux corps cellulaires des cellules de Müller)

- la couche plexiforme interne (synapses des cellules bipolaires et des cellules ganglionnaires)
- la couche des cellules ganglionnaires (corps des cellules ganglionnaires)
- la couche des fibres nerveuses (axones des cellules ganglionnaires).

De plus, il faut noter la présence de cellules gliales, il s'agit des cellules de Müller, des cellules de la microglie et des astrocytes qui ont des rôles neuroprotecteurs, neurotrophiques, participant à l'homéostasie locale et à la barrière hémato-rétinienne.

La rétine compte environ 1 million de fibres nerveuses. La plupart sont concentrées dans la macula, zone qui assure l'essentiel de la vision.

Ces fibres nerveuses convergent vers la papille ou la tête du nerf optique. L'aspect de la papille varie en fonction des individus, par la taille, l'orientation, l'excavation, et l'anneau neurorétinien. L'excavation correspond à la partie centrale sans fibres nerveuses. Chez la plupart des individus, le diamètre horizontal est plus important que le diamètre vertical. L'anneau neurorétinien correspond à la portion de la papille comprenant les fibres nerveuses. On parle souvent de rapport cup/disc (taille de l'excavation verticale sur taille du diamètre total vertical) pour avoir une idée de l'aspect de la papille. Un rapport cup/disc supérieur à 0,7 ou une asymétrie serait un facteur de risque de développer un glaucome.

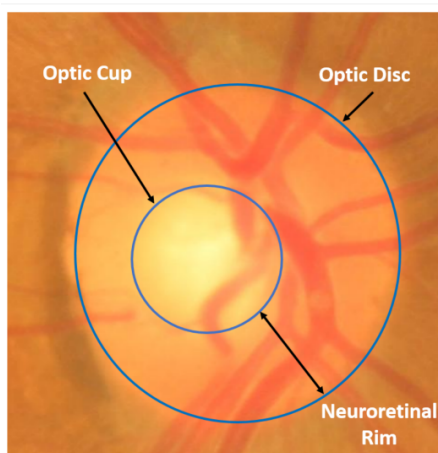


Figure 2. Représentation de la tête du nerf optique. D'après Dr Al Bander.

La sclère constitue l'enveloppe protectrice de l'œil et permet de maintenir sa forme et son tonus. La sclère est perforée par la lame criblée qui permet aux fibres nerveuses et aux troncs vasculaires un cheminement postérieur. La lame criblée est composée de plusieurs lamelles de tissu conjonctif poreux composé de collagène et d'élastine où passent les fibres optiques. Il s'agit d'une zone jouant un rôle trophique avec la présence de cellules de la glie (astrocytes) et de microvaisseaux. C'est aussi une zone de vulnérabilité anatomique majeure pour le nerf optique où des contraintes mécaniques peuvent s'exercer sur les fibres nerveuses.

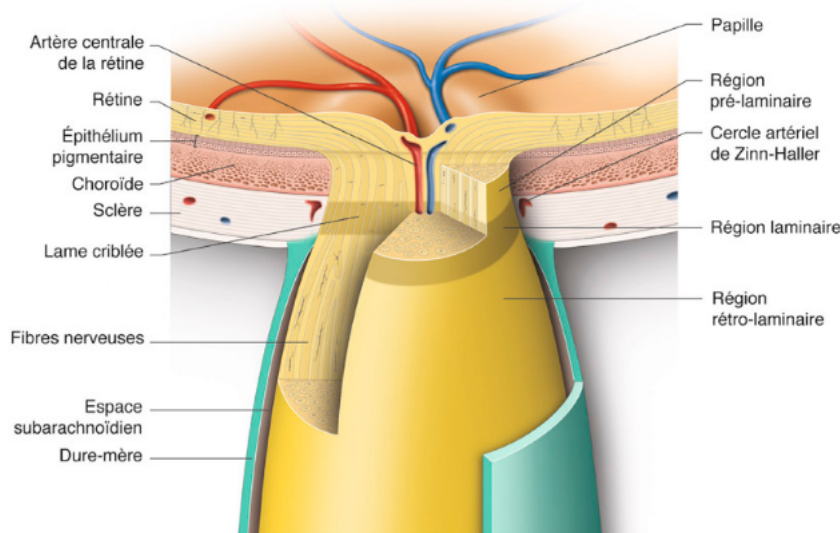


Figure 3. Représentation schématique du nerf optique. D'après le rapport sur le Glaucome de la Société Française d'Ophtalmologie.

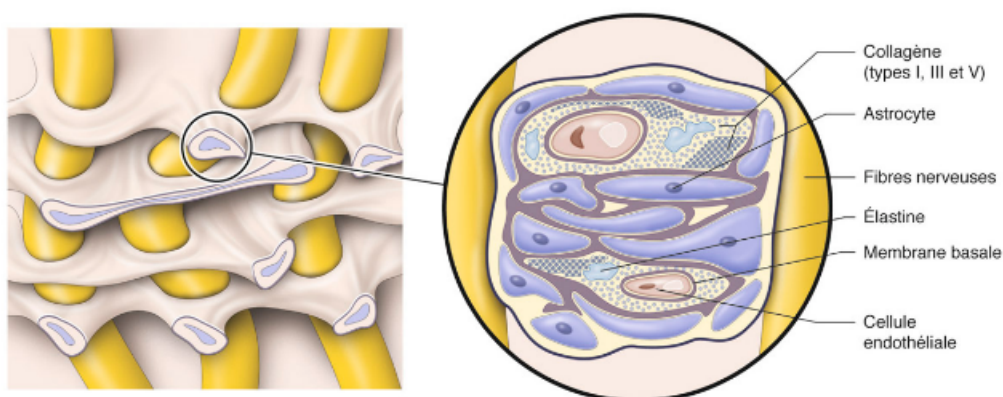


Figure 4. Représentation de la lame criblée. D'après le rapport sur le Glaucome de la Société Française d'Ophtalmologie.

Dans sa portion rétrolaminaire, le nerf optique voit apparaître une myélinisation des axones via les oligodendrocytes. Il est enveloppé par les gaines du système nerveux central, de l'extérieur vers l'intérieur, la dure-mère, l'arachnoïde et la pie-mère, avec le liquide céphalorachidien entourant la pie-mère. Via le canal optique de l'os sphénoïde, le nerf optique pénètre la boîte crânienne. Les axones vont plus ou moins décusser au niveau du chiasma optique et vont se projeter sur les voies ipsilatérales ou controlatérales pour réaliser leur synapse dans le corps géniculé latéral.

On sait d'ailleurs que des facteurs de croissance neuronaux essentiels sont transportés de manière rétrograde depuis les synapses intracérébrales vers corps cellulaires situés dans la rétine interne, en plus du flux antérograde.

L'information est alors transmise à d'autres parties cérébrales notamment les cortex visuels primaires et secondaires.

2. Définitions : un glaucome ou des glaucomes ?

Le glaucome est une neurodégénérescence caractérisée par l'apoptose des cellules ganglionnaires. Il se traduit par une perte irréversible de fibres nerveuses sur le plan anatomique. Il s'agit d'un ensemble de maladies avec des mécanismes différents. L'augmentation de la pression intraoculaire est souvent associée.

On différencie les glaucomes primaires ou secondaires, à angle ouvert ou fermé, à pression intraoculaire normale ou élevée.

Dans les glaucomes à angle ouvert, on peut distinguer :

Le glaucome à angle ouvert primaire qui débute classiquement après 50 ans. Il existe une résistance à l'écoulement de l'humeur aqueuse. Il représente environ 70% de tous les glaucomes. La forme dite juvénile, rare, débute entre 5 ans et 18 ans majoritairement.

Le glaucome à angle ouvert secondaire à une pathologie. On peut citer le glaucome pseudoexfoliatif, le glaucome pigmentaire, le glaucome uvéitique, le glaucome cortisonique, le glaucome post traumatique, le glaucome phacolytique, glaucome néovasculaire, le glaucome lié à une pathologie tumorale etc ...

Le glaucome à pression normale : la pression intraoculaire est dans la norme. On suppose qu'il est lié à une hypoperfusion des vaisseaux rétiens et des tissus de soutien. Une hypotension artérielle nocturne est souvent associée. Il est fréquent en Asie notamment au Japon.

Dans les glaucomes à angle fermé, on peut distinguer :

Le glaucome à angle fermé primaire qui se caractérise par un angle iridocornéen étroit, en lien avec une anomalie anatomique idiopathique pouvant toucher l'iris, les corps ciliaires, le cristallin.

Le glaucome à angle fermé secondaire qui peut être en lien avec une séclusion pupillaire, un syndrome iridocornéen, une tumeur, une antéversion du cristallin pathologique, un syndrome uvéal..

Enfin, il existe le glaucome congénital, débutant en général avant l'âge de 3 ans. On observe le plus souvent une malformation de l'angle iridocornéen. La plupart des cas sont sporadiques mais il existe environ 30% de cas héréditaires par une transmission autosomique récessive. Il peut être secondaire à des pathologies systématiques qui donnent des anomalies iridocornéennes.

Il faut différencier une hypertonie oculaire simple d'un glaucome. En effet, le diagnostic de glaucome nécessite par définition une hypertonie et une atteinte des cellules nerveuses rétiniennes pouvant s'associer ou non à une atteinte fonctionnelle. On sait que 2 à 9% des sujets hypertones seront menés à développer un glaucome par la suite (4).

Il faut également différencier les glaucomes des autres neuropathies optiques. En effet, l'atrophie des nerfs optiques et l'atteinte du champ visuel peuvent être retrouvés dans d'autres pathologies. L'interrogatoire, le contexte, l'examen clinique documentant l'aspect de l'excavation, la présence d'une pâleur de la papille, une acuité visuelle abaissée, le champ visuel et l'imagerie cérébrale permettent souvent d'évoquer les diagnostics différentiels. On peut citer les neuropathies optiques inflammatoires, compressives, infiltratives, post radiques, carcinomateuses, infectieuses et héréditaires.

Nous emploierons à présent le terme de glaucome pour parler du glaucome à angle ouvert pour fluidifier nos propos.

3. Glaucome à angle ouvert

Le glaucome à angle ouvert est donc une neuropathie dégénérative caractérisée par une perte des cellules ganglionnaires secondaire à une hypertonie oculaire et sans anomalie de l'angle iridocornéen. On observe ainsi des modifications anatomiques de la tête du nerf optique avec une majoration de l'excavation menant à terme à une disparition de l'anneau neurorétinien. Sur le plan fonctionnel on observe une atteinte du champ visuel touchant d'abord la périphérie avec une évolution centripète. A long terme, on peut observer un champ visuel tubulaire qui

peut par la suite être lui-même touché. L'acuité visuelle est longtemps conservée mais dans les stades tardifs elle finit par s'effondrer, parfois brutalement. Du fait de l'absence de symptômes aux stades précoces, c'est une maladie souvent diagnostiquée tardivement en l'absence de suivi ophtalmologique.

3.1. Physiopathologie

3.1.1 Homéostasie de la pression intraoculaire

L'humeur aqueuse est produite en permanence par l'épithélium ciliaire situé au niveau de la portion antérieure des corps ciliaires, médiée par le système sympathique via les nerfs ciliaires. Sa composition diffère de celle du plasma sanguin du fait de la présence d'une barrière hémato-aqueuse et de transports cellulaires actifs ou passifs par diffusion.

L'humeur aqueuse est hypertonique et plus acide que le plasma, elle présente un excès en acide ascorbique. Il existe un taux plus élevé en acide lactique et en ion chlore, tandis qu'on observe un taux plus faible en sodium, bicarbonate, dioxyde de carbone et glucose par rapport au plasma. L'humeur aqueuse joue un rôle majeur dans l'apport de protéines essentielles ou l'élimination des produits du métabolisme, pour l'ensemble des structures intraoculaires du segment antérieur, notamment pour les structures avasculaires comme la cornée ou encore le cristallin. L'humeur aqueuse véhicule également un ensemble de chimiokines pouvant agir sur les différents tissus.

La pression intraoculaire normale est en moyenne à 15 ± 6 mmHg. L'homéostasie pressionnelle est assurée par la régulation de l'humeur aqueuse, via sa sécrétion et son excrétion.

D'une part, il existe une sécrétion continue de l'humeur aqueuse suivant un rythme nycthéméral, médiée par le système sympathique essentiellement. De nombreux facteurs peuvent influencer son débit, notamment l'âge, une inflammation locale des corps ciliaires, des

agents pharmacologiques (bêtabloquants, alpha-adrénergiques, inhibiteurs de l'anhydrase carbonique, mannitol...) etc.

D'autre part, le drainage physiologique de l'humeur aqueuse s'effectue par deux voies, la voie trabéculaire et la voie uvéosclérale, par gradient de pression.

La voie trabéculaire est la voie majoritaire, elle représente 70 à 90% du drainage. Elle s'effectue via le trabéculum, tissu conjonctif lamellaire et lacunaire composé de collagène et d'élastine et entouré de cellules endothéliales trabéculaires, situé à l'angle entre l'iris et la cornée (l'angle iridocornéen). L'humeur aqueuse est ensuite évacuée dans le canal de Schlemm, drain circulaire à l'arrière de la cornée, et rejoint la circulation générale via les veines aqueuses. On sait que les pores du trabéculum peuvent se resserrer ou s'ouvrir en fonction de certains stimuli pharmacologiques, en particulier adrénergiques. Ainsi on peut constater une ouverture des pores par les agonistes des récepteurs bêta-adrénergiques et des modifications de la matrice extracellulaire par les prostaglandines. En effet, il existe une richesse en microfilaments d'actine sur les membranes des cellules endothéliales trabéculaires, cette protéine permet aux cellules de plus ou moins se rapprocher ou s'amarrer à la matrice extracellulaire. Ainsi, le trabéculum est un tissu contractile et dynamique qui permet un écoulement de l'humeur aqueuse par gradient de pression. Il existe également une action du muscle ciliaire : sa contraction étire le trabéculum (5).

La voie uvéosclérale est la voie mineure, qui représente 10 à 30% du drainage. Elle est médiée au travers des tissus du stroma irien et de la base du corps ciliaire jusqu'à l'espace suprachoroïdien. L'humeur aqueuse traverse ensuite directement la sclère via les espaces périvasculaires puis est drainée par les vaisseaux lymphatiques de la conjonctive. Cette voie diminue avec l'âge.

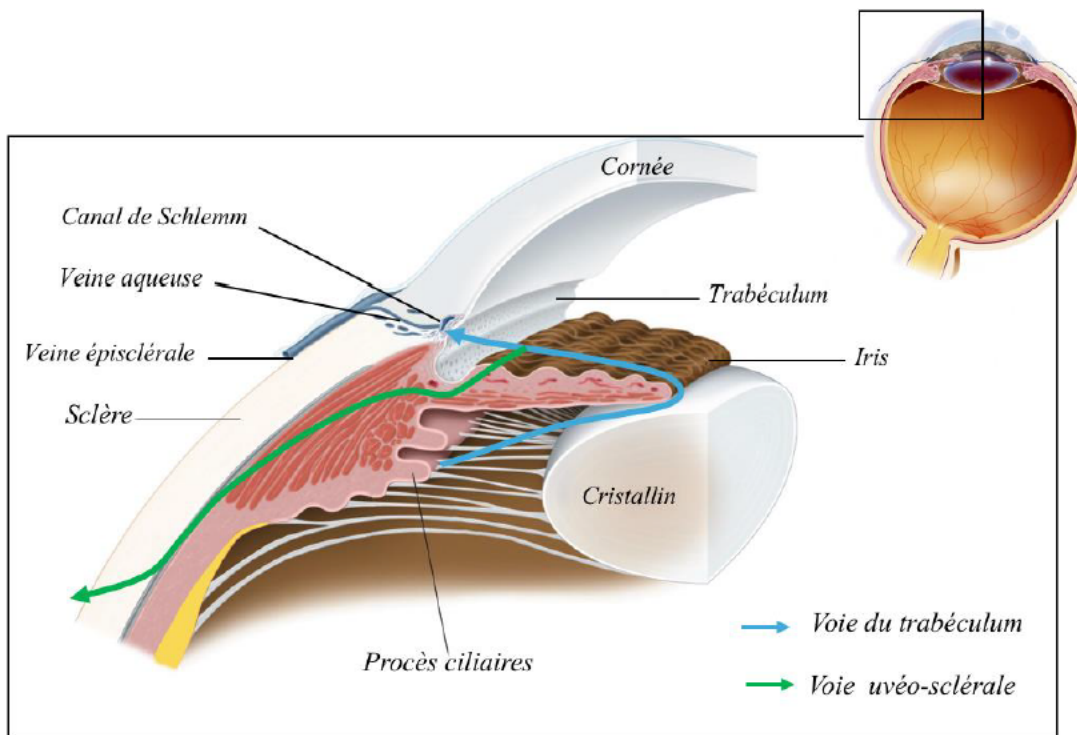


Figure 5. Voies d'élimination de l'humeur aqueuse. D'après « The cataractcourse.com ».

Des études ont montré que la sécrétion n'est pas augmentée dans les cas d'hypertonie oculaire ou de glaucome, il s'agit majoritairement d'un ralentissement de l'excrétion (6).

3.1.2 Pathogénèse

Plusieurs mécanismes seraient intriqués dans la physiopathogénie du glaucome à angle ouvert. La neuropathie est précédée en général d'une élévation de la pression intraoculaire.

D'une part, il semblerait exister une mort cellulaire trabéculaire précoce chez les patients atteints de glaucome. Ainsi les cellules endothéliales trabéculaires sont moins nombreuses par rapport aux sujets sains, probablement du fait de modifications structurales d'adhérence à la matrice extra cellulaire et des jonctions serrées (7). On observe également dans le trabéculum une majoration de fibroblastes activés, de macrocytes, de neutrophiles associés à des cytokines pro inflammatoires IL-6, IL-1 β , TNF- α , TGFB-1, responsables d'une dérégulation endothéliale, d'une fibrose par épaissement de certaines fibres élastiques de collagène et un remodellement de la matrice extracellulaire occasionnant une obstruction progressive du

trabéculum (5,8). Ces modifications anatomiques seraient responsables de l'augmentation de résistance à l'écoulement de l'humeur aqueuse et donc de l'hypertonie.

La théorie biomécanique évoque un lien entre l'hypertonie, responsable d'une agression mécanique sur les axones au sein de la lame criblée par compression, cisaillement ou torsion ainsi qu'une hypoxie locale secondaire à une ischémie des capillaires de la tête du nerf optique, de la lame criblée et de la rétine péripapillaire par hypoperfusion chronique ou spasme vasculaire, menant à un stress cellulaire (9). En effet, il existerait des modifications anatomiques tels qu'un collapsus des feuillets de la lame criblée avec un déplacement postérieur, un remodelage histologique en lien avec l'altération des fibres d'élastine, des modifications métaboliques et vasculaires survenant à un stade précoce du glaucome (10).

De plus, les éléments de soutien du tissu neuronal rétinien sont également atteints avec une modification de la matrice extracellulaire, une activation astrocytaire, des cellules microgliales et des cellules de Müller diminuant les facteurs neurotrophiques gliaux, menant à une augmentation de facteurs neurotoxiques tels que, le Monoxyde d'azote (NO) ou encore le Tumor Necrosis Factor alpha (TNF- α), et majorant des contraintes mécaniques sur les cellules ganglionnaires.

D'autre part, il a été démontré qu'on observe des anomalies structurales au sein des cellules ganglionnaires notamment une perte de dendrites et donc une altération des synapses (11), avec une modification des flux rétrogrades axonaux des principaux facteurs trophiques neuronaux notamment le Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) et le Nerve Growth Factor (NGF). En effet, la plupart des facteurs neurotrophiques sont d'origine centrale et viennent des synapses du corps géniculé latéral. Ces modifications structurales rendent les cellules ganglionnaires plus sensibles au stress oxydant. Il a même été démontré une perte de cellules nerveuses dans le corps géniculé et le cortex cérébral, montrant que le glaucome est une maladie neurodégénérative (12).

De plus, l'hypoxie chronique serait responsable d'une dysfonction mitochondriale au sein des cellules ganglionnaires, menant à une baisse de production énergétique et une majoration des espèces réactives à l'oxygène (13,14).

La mitochondrie est une organelle essentielle à la survie cellulaire. Il en existe plusieurs centaines par cellules, ce chiffre étant augmenté dans les cellules nécessitant une consommation énergétique importante. La mitochondrie permet la production d'ATP, élément clé du métabolisme énergétique cellulaire, lié à la dégradation oxydative du glucose et des acides gras. La mitochondrie participe également aux voies de signalisation cellulaire assurant le cycle cellulaire, la différenciation cellulaire ou encore l'apoptose. Le métabolisme de la mitochondrie serait donc altéré par l'hypoxie ou le stress mécanique, rendant la cellule ganglionnaire plus fragile avec une diminution de l'apport énergétique cellulaire et d'autre part des signaux pro-apoptotiques. La forte demande énergétique physiologique des cellules ganglionnaires conduit également à la formation de déchets toxiques résultants du métabolisme mitochondrial, les espèces réactives à l'oxygène.

L'ensemble de ces éléments concourent à une apoptose cellulaire des cellules ganglionnaires. L'apoptose est un phénomène actif médié par deux voies principales : la voie mitochondriale et la voie extrinsèque. La voie intrinsèque ou mitochondriale met en œuvre une perméabilité anormale de la membrane mitochondriale qui entraîne une libération de facteurs pro apoptotiques comme le Cytochrome c et l'AIF (Apoptosis-Inducing Factor) conduisant à la voie des caspases. La voie extrinsèque est médiée notamment par le TNF- α ou encore le FAS-Ligand qui se fixent sur les récepteurs membranaires de la cellule.

En plus de ces éléments, d'autres facteurs pourraient exercer un rôle comme la suractivation du système glutamatergique neurotoxique, l'augmentation des espèces réactives à l'oxygène

Ainsi, on peut affirmer que l'apoptose des cellules ganglionnaires serait liée au stress oxydatif, à des altérations de la production énergétique via les mitochondries, un déficit en neurotrophines et une modification des tissus de soutien soumis à de l'inflammation locale. Cependant, nous n'avons pas encore entièrement élucidé l'ensemble de la cascade physiopathologique (15).

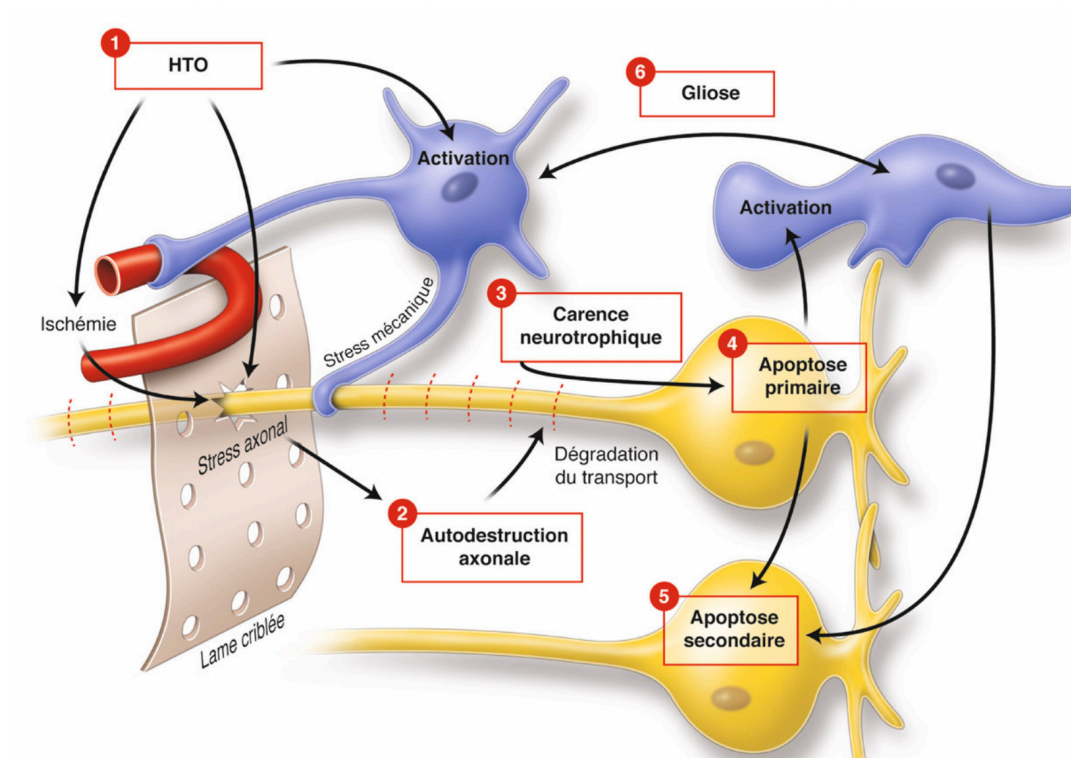


Figure 6. Modélisation des grands mécanismes pathogéniques. D'après le rapport sur le Glaucome de la Société Française d'Ophtalmologie.

3.2. Facteurs de risque

Il s'agit d'une maladie multifactorielle dont tous les déterminismes ne sont pas encore connus.

Le principal facteur de risque est la pression intraoculaire (PIO). La PIO normale se situe entre 10 et 21 mmHg. Cependant certains facteurs peuvent minorer ou majorer la pression intraoculaire. Par exemple, la PIO peut être sous-évaluée par une cornée fine, un syndrome sec ou être surévaluée par une cornée épaisse, un excès de larme, un blépharospasme.

Un autre facteur de risque majeur est l'âge. En effet, 90% des patients atteints de glaucome ont plus de 55 ans. Dans les pays dits développés, le vieillissement démographique explique pourquoi le nombre de patients est en forte augmentation.

L'origine ethnique constitue un facteur de risque important, en effet, les Afro-caribéens sont les plus touchés. Les Hispaniques présentent également une prévalence plus importante que les Européens et les Asiatiques.

L'hérédité constitue un autre facteur de risque. Cela suggère un déterminisme génétique important. Plusieurs gènes ont ainsi été associés au glaucome. Les formes autosomiques dominantes sont toutefois très rares et représentent moins de 5% des formes de glaucome, seuls quatre gènes ont été identifiés (GLC1A, GLC1E, GLC1G et GLC1O).

La myopie, notamment forte, est souvent associée au glaucome. 11% des patients myopes forts vont ainsi développer un glaucome. Cela pourrait s'expliquer par une augmentation des contraintes mécaniques au niveau de la lame criblée et d'une hypoxie locale du fait de l'allongement du globe.

Il existe d'autres facteurs de risque tels que les facteurs de risque cardiovasculaire (diabète, l'hypertension artérielle, l'apnée du sommeil), la prise de corticoïdes, les facteurs environnementaux comme les pesticides et l'alimentation (16).

3.3. Traitement

Le traitement vise à tenter d'atteindre et rester à une pression intraoculaire cible, calculée pour chaque patient en fonction du stade initial de glaucome, de la progression, de la pression intraoculaire initiale et de son espérance de vie. Il est impératif de préserver la qualité de vie et la santé du patient avec le moins d'effets indésirables possible. L'arsenal thérapeutique comprend d'une part, les traitements médicaux avec les collyres anti-glaucomateux. Il existe quatre classes principales : les bêtabloquants, les inhibiteurs de l'anhydrase carbonique, les agonistes alpha-2-adrénergiques (réduisant la sécrétion d'humeur aqueuse) et les prostaglandines (augmentant l'excrétion d'humeur aqueuse).

On peut ensuite citer les traitements par trabéculoplastie de l'angle iridocornéen par laser Argon (ALT), par laser sélectif (SLT) ou laser micropulsé (MLT). Ils visent à remodeler le trabéculum et faciliter l'évacuation de l'humeur aqueuse.

Et enfin nous pouvons citer les techniques chirurgicales. On peut les classer par les techniques peu invasives avec les MIGS (Minimally Invasive Glaucoma Surgery) dont la place reste encore à définir et les techniques plus invasives dites filtrantes : la sclérectomie profonde non perforante et la trabéculectomie.

Dans les cas de glaucome réfractaires, le cycloaffaiblissement par laser diode vise à diminuer la production d'humeur aqueuse en détruisant une partie des corps ciliaires. Il existe également plusieurs systèmes de valves et de drains.

3.4. Diagnostic et suivi

Le diagnostic de glaucome sera donné en consultation d'ophtalmologie après interrogatoire, examen clinique et examens complémentaires.

On s'aidera en première intention de la mesure de la pression intraoculaire. L'analyse anatomique s'appuie sur la gonioscopie qui s'attache à vérifier l'ouverture et l'aspect de l'angle iridocornéen et l'examen du segment antérieur pour rechercher des signes de glaucome secondaire. Dans un second temps, l'aspect de la tête du nerf optique et les examens complémentaires tels que les rétinoscopes ou l'imagerie par Tomographie en Cohérence Optique (OCT) peuvent étayer le diagnostic. Sur le plan fonctionnel, l'examen du champ visuel automatisé des 24 degrés (zone où se situe la majorité des cellules ganglionnaires rétiniennes) est l'examen de référence. Il n'existe pas de relation linéaire entre l'atteinte structurelle et fonctionnelle. Il faut savoir qu'on retrouve une atteinte fonctionnelle à partir de 30 à 50% de perte de fibres optiques.

On peut classer les glaucomes en trois groupes de sévérité en fonction de l'atteinte du champ visuel des 24 degrés centraux selon la classification de Hodapp-Parrish-Anderson : les glaucomes peu sévères avec un MD supérieur à -6dB, les modérés avec un MD entre -6 et -12dB et enfin les glaucomes sévères avec un MD inférieur à -12dB. La déviation individuelle (MD) est un indice calculé lors de la réalisation du champ visuel. Il s'agit de la différence entre la sensibilité rétinienne du patient avec des témoins du même âge.

Cependant, près de 50% des patients atteints de glaucome en France ne se savent pas atteints. Cette méconnaissance du public s'explique par un début et une évolution insidieuse asymptomatique. Un dépistage systématique doit avoir lieu pour diagnostiquer et traiter tôt les formes débutantes. Chez les patients traités, l'inobservance du traitement médical est estimée à 50% du fait d'oubli, de la non-compréhension de la maladie ou des effets secondaires (sécheresse oculaire, sensation d'irritation, réaction allergique, rougeur conjonctivale, pousse des cils, ...). Il s'agit d'une maladie assez méconnue des patients eux-mêmes (17).

Le suivi sera nécessairement régulier et sera réalisé au mieux deux fois par an une fois la maladie stabilisée. L'ophtalmologue évaluera également la tolérance du traitement. Une fois le

glaucome diagnostiqué, nombreux sont les patients qui vont se dégrader malgré une PIO cible atteinte au bout de plusieurs années.

Il s'agit d'un véritable enjeu de société, en France on estime le nombre de patients atteints à plus de 1 million (il évoluera à 1,5 millions en 2025). On estime qu'il touche 2% de la population après 40 ans et 10% de la population après 70 ans (18). Le coût direct annuel moyen par patient est de plusieurs centaines d'euros par an (médicaments, hospitalisation, chirurgies, consultations et examens complémentaires, transport, aides à domicile) et s'accroît en fonction du stade de sévérité. Cependant, par le handicap et la dépendance, ce coût augmente et s'élève à plus de 10 000 euros par patients par an (16 000 euros par patients en moyenne en Europe) (19). Cela équivaut à un coût non négligeable pour la société. Enfin, cette maladie aux stades sévères réduit significativement la qualité de vie des patients (dépendance, risque de chutes, dépression, difficultés pour trouver un emploi, ...).

La recherche vise donc à développer plusieurs axes, notamment la compréhension de la physiopathogénie, le développement de nouveaux traitements ou encore le développement de traitements neuroprotecteurs.

4. Introduction métabolomique

4.1. Définitions

La métabolomique correspond à l'étude et la caractérisation de l'empreinte chimique retrouvée à un instant donné et miroir de processus biologiques du métabolisme. Lindon et Nicholson la définissent comme "le profilage systématique des métabolites et des voies métaboliques dans

les organismes entiers par l'étude des biofilms et des tissus" permettant ainsi de définir l'état physiologique ou pathologique d'une personne (20).

Les métabolites sont des petites molécules intermédiaires ou issues du métabolisme cellulaire par catabolisme et/ou anabolisme comprenant les vitamines, les acides aminés, les alcools, les glucides, les acides gras, les phospholipides, les antioxydants, Le métabolome est ainsi l'ensemble des molécules de poids moléculaire inférieur à 1000 Daltons. Ainsi l'analyse quantitative ou qualitative des métabolites, équivaut à une « signature métabolomique » pouvant varier à l'échelle cellulaire, d'un organe ou à l'échelle intraindividuelle (en fonction de l'état clinique, du moment de la journée) et à l'échelle interindividuelle.

Une autre notion, la métabonomique, étudie les modifications du métabolisme général des organismes résultant de perturbation d'origine pathologique, génétique, nutritionnelle ou toxique.

Les processus biologiques s'intègrent dans une relation complexe entre gènes, ARN, protéines et métabolites. Les facteurs environnementaux modifient en permanence ces interactions. Tandis que la génétique peut s'interpréter comme le programme initial de ce système, la métabolomique s'avère être un instantané des interactions et processus cellulaires. On peut aussi dire que les gènes définissent ce qui pourrait arriver et les métabolites définissent ce qui est arrivé. On peut ainsi définir et différencier un certain phénotype à plusieurs échelles (cellulaire, tissulaire ou humaine).

La métabolique complète donc les autres "omiques", après l'étude des gènes (génomique), ARN messagers (transcriptomique) et des protéines (protéomique). La métabolomique serait un meilleur reflet des phénotypes cellulaires, découlant des gènes après une régulation post transcriptionnelle médiée par l'environnement cellulaire.

Cette approche scientifique n'est pas récente. Déjà 4000 ans avant notre ère, les savants de Chine se basaient sur l'étude de l'urine par le goût et l'odeur afin de porter le diagnostic de diabète.

Chance et Williams sont parmi les premiers à publier en 1955 une étude sur la métabolomique, ils parleront de médecine individuelle dès les années 1956 (21).

La métabolomique se développe rapidement et devient populaire dans de plus en plus de domaines de la santé, notamment l'oncologie, la pharmacologie, la toxicologie, la nutrition... Ce n'est qu'avec l'avènement des banques de données que l'on observe une croissance exponentielle des recherches. Des bases de données spécialisées telles que Human Metabolome Database (HMDB), Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG), METLIN database etc... permettent de répertorier et de partager une grande partie du génome, du transcriptome, protéinome et du métabolome. Beaucoup de métabolites restent encore à découvrir. Wishart estime que le nombre de métabolites dans le corps avoisine un million (22). La base de données HMDB en répertorie 132 000 caractérisés actuellement.

Devant de nombreux enjeux de société tels que le cancer, le diabète, la démence, les maladies cardiovasculaires, la pollution etc., cette branche de la science vise à comprendre la physiopathologie et les interactions entre la génétique et l'environnement. Cette approche permet également de mieux comprendre certaines interactions intracellulaires et la régulation des voies métaboliques.

Les progrès dans ce domaine pourraient à long terme aider à développer des molécules ciblant précisément certains processus cellulaires, améliorer le dépistage, le suivi, la classification ou encore le traitement de maladies chroniques ou tumorales.

4.2. Méthodologie en métabolomique

Dans l'approche métabolomique, deux types d'études sont possibles, les études ciblées et les études non ciblées (23).

Les études non ciblées sont réalisées pour générer une hypothèse comme comprendre des différences de signature métabolique entre deux cohortes de patients. Le but est de détecter le maximum de métabolites dans l'échantillon. Les études ciblées, elles, se concentrent sur un faible nombre de métabolites, cette méthode permet de vérifier des hypothèses, comme la compréhension d'une voie métabolique ou d'interactions intracellulaires ou intercellulaires, elle est ainsi plus précise.

Dans les études cliniques, le métabolome est très variable et dépend de plusieurs facteurs : comorbidités, médicaments, âge, régime alimentaire, tissu étudié, etc. Plusieurs échantillons sont disponibles pour les analyses métabolomiques : sang, plasma, liquide cébrospinal, urines, selles, larmes ou encore humeur aqueuse notamment en ophtalmologie. La préparation des échantillons vise à préparer le tissu pour une extraction des métabolites et à arrêter toute activité métabolique. Les méthodes les plus fréquentes sont la spectrométrie de masse (MS) et la spectroscopie par résonance magnétique nucléaire haute résolution (Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy High Resolution, NMR HR) couplées à la chromatographie en phase gazeuse (Gaz Chromatography) ou liquide (Liquid Chromatography).

La chromatographie en phase liquide est une technique de séparation et d'analyse des composants d'un mélange en utilisant une phase mobile liquide (solvant ou éluant) qui traverse une phase stationnaire. Cette méthode repose sur les différentes interactions entre les différents composants de l'échantillon avec la phase mobile en fonction de la polarité, du poids moléculaire et de leurs propriétés chimiques. Dans un premier temps, la préparation consiste

à dissoudre l'échantillon. Une colonne avec la phase stationnaire est ensuite montée. L'échantillon est mélangé avec la phase mobile. La phase mobile (solvant) traverse ensuite la phase stationnaire et transporte les composants de l'échantillon. Les différents composants sont ensuite détectés puis analysés. C'est donc une technique qui permet de séparer, identifier et quantifier les différents composants de l'échantillon.

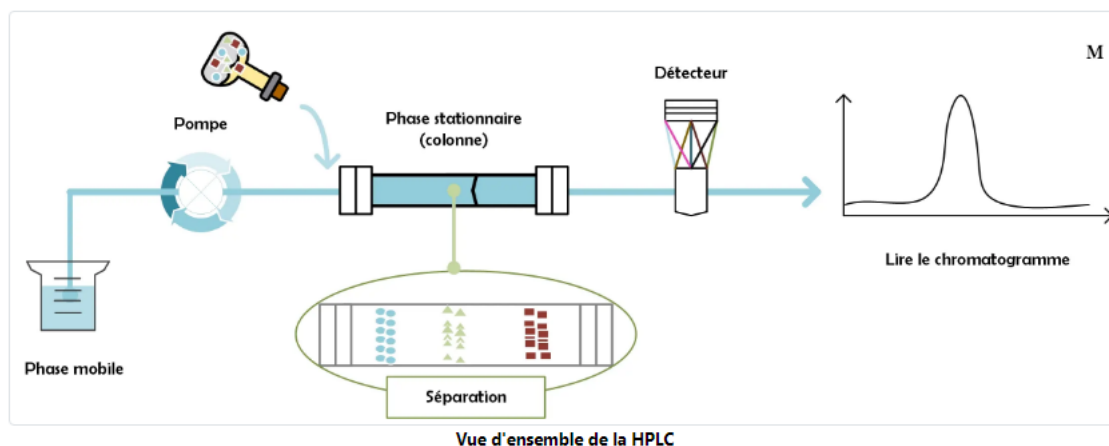


Figure 7. Schéma du principe de chromatographie. D'après « microbiologieclinique.fr »

Le principe de base de la spectrométrie de masse consiste à convertir une molécule en ions chargés dans un premier temps (ionisation). Cela nécessite souvent une destruction du tissu étudié. La molécule subit ensuite une accélération dans un champ électrique. Les ions sont séparés en fonction de leur rapport masse sur charge (m/Z). Ces ions sont ensuite repérés par un détecteur qui mesure le signal en fonction du rapport masse/charge (m/Z). Les données recueillies génèrent un spectre de masse. Le spectre de masse est ensuite analysé pour identifier les molécules et déterminer leur quantité grâce aux bases de données existantes et aux algorithmes d'identification. La spectrométrie de masse est ultra-sensible et permet de détecter un grand nombre de métabolites notamment dans les études ciblées. Cette technique est souvent associée à la chromatographie.

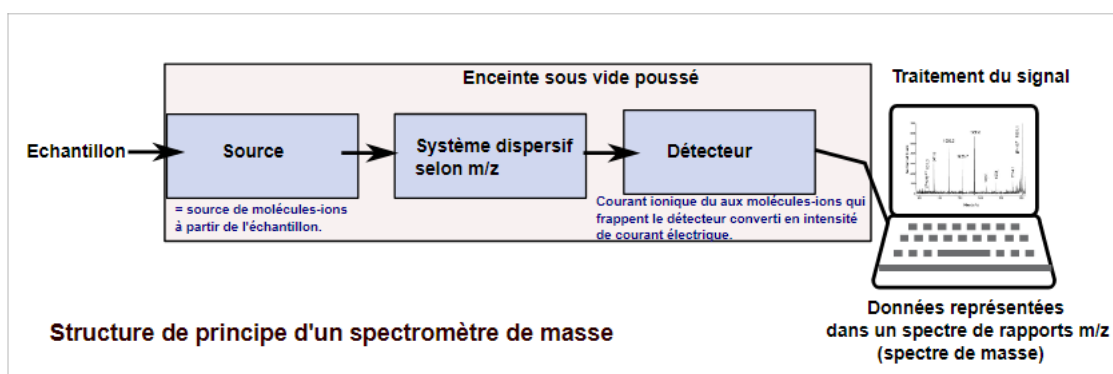


Figure 8. Schéma du principe de la spectrométrie de masse. D'après Mr JF Perrin.

Le principe de base de la spectroscopie repose sur l'interaction entre la matière et le rayonnement électromagnétique (généralement de la lumière visible, infrarouge, ultraviolet, micro-ondes, ou des rayons X). Lorsque la lumière traverse ou interagit avec un échantillon, certaines longueurs d'onde spécifiques sont absorbées, émises ou diffusées par les molécules présentes dans l'échantillon. La spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN) est une technique particulière qui utilise le champ magnétique pour étudier l'interaction entre les noyaux atomiques et les ondes. Elle permet une analyse quantitative, est plus reproductible et ne détruit pas les tissus. Cette technique est plus rapide mais est moins sensible que la spectrométrie de masse et requiert de grands volumes d'échantillons. La spectroscopie est plus rapide et permet de détecter une centaine de métabolites par jour versus la spectrométrie de masse qui peut détecter plusieurs centaines métabolites mais est plus lente.

Cependant, la complexité de préparation, le prix et le large volume de données résultant de ces analyses nécessitant un temps incompressible pour traduire ces données en informations analysables et identifier les métabolites, constituent un frein à une pratique courante.

La validation de ces études est aussi limitée à la taille des échantillons, le manque d'évaluation à long terme ou de standardisation des procédés.

A l'avenir, certains métabolites détectés pourraient être utilisés comme biomarqueurs pour définir un état pathologique, pour le dépistage, le suivi, la prédiction de la réponse au traitement et prédire certains effets indésirables de certains médicaments.

En ophtalmologie, plusieurs études ont été menées dans différents domaines (23).

On peut citer les exemples de Santiago et al. qui ont étudié les modifications métaboliques intrarétiniennes dans un modèle de diabète chez le Rat (24), Li et al. qui ont étudié le vitré chez des patients présentant des proliférations vitréorétiniennes ou des décollements de rétine (25), des études chez des patients présentant des uvéites (26) ou encore une DMLA (27). Risa et al. ont étudié l'effet des brûlures chimiques basiques sur les yeux de rats. Cette étude confirmait l'intérêt d'un traitement par vitamine C dans les brûlures chez l'homme (28).

La métabolomique dans le cadre du glaucome est en plein essor. La découverte de marqueurs biologiques pourrait permettre de mieux détecter à des stades précoces la maladie, de détecter les patients non répondeurs rapidement voire de cibler de nouvelles thérapies.

4.3. Contexte dans le service

Des études précédentes dans le service ont été menées avec nos collections biologiques de tissus (sang et humeur aqueuse essentiellement) de patients suivis en ophtalmologie au CHU d'Angers.

Goncalves et al. ont montré que la diminution de la vitamine 25OHD sérique est associée à la présence de glaucome à angle ouvert mais que la baisse n'est pas corrélée à la sévérité du glaucome (29).

Mace et al. ont recherché un lien entre vitamine D dans l'humeur aqueuse et glaucome, les données de la littérature étant contradictoires. Il n'a pas été retrouvé de corrélation entre la baisse de vitamine D et le glaucome. L'étude était cependant limitée par la taille des échantillons (30).

Buisset et al. ont comparé les profils métaboliques de l'humeur aqueuse de 26 patients présentant un glaucome à angle ouvert versus 26 patients témoins. 23 métabolites ont été identifiés dont 13 étaient significativement différents. Les résultats suggèrent une altération des métabolites impliqués dans l'osmoprotection (taurine et créatinine), la neuroprotection (spermine, taurine, carnitine), le métabolisme des acides aminés (7 acides aminés et trois acylcarnitines) et le remodelage des membranes cellulaires drainés par l'humeur aqueuse (hydroxyproline et phospholipides) (31).

Leruez et al. ont recherché la signature métabolique des syndromes pseudoexfoliatifs qui sont la seconde cause de glaucome secondaire à angle ouvert, en comparant 18 patients malades versus 18 témoins présentant une cataracte. Sur un total de 151 métabolites détectés, 16 étaient significativement modifiés. On notait une augmentation en dérivés de la carnitine (octanoyl-carnitine, décanoyl-carnitine), les acides aminés à chaîne ramifiée (isoleucine, leucine, valine), et la tyrosine, tandis que l'on observait une diminution des concentrations de spermidine, spermine et de leur précurseur l'acétylornithine. À noter que le profil métabolique rejoignait en partie celui de l'insulinorésistance bien qu'aucun lien entre la pseudoexfoliation et l'insulinorésistance n'ait été établi (32).

Dans un autre article publié par Leruez et al., la comparaison du plasma de 36 patients souffrant de glaucome à angle ouvert versus 27 témoins souffrant de cataracte a montré une signature métabolomique liée à une accumulation de substrats énergétiques mitochondriaux (hexoses, acylcarnitines de chaînes courtes et moyennes) avec des marqueurs de sénescence (augmentation des phosphatidylcholines et diminution spermine, spermidine, acyl-carnitines

de chaînes longues). La présence de ces biomarqueurs renforçait les hypothèses d'un dysfonctionnement mitochondrial participant à la physiopathologie du glaucome (33).

Kouassi et al. ont étudié le profil métabolomique chez 30 patients glaucomateux et 30 témoins. Il a été identifié 9 métabolites significativement différents entre les groupes. On observait une diminution des concentrations de nicotinamide, hypoxanthine, xanthine, 1-méthyl-6,7-dihydroxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline et une augmentation N-acétyl-L-Leucine, arginine, RAC-glycérol 1-myristate, 1-oléoyl-RAC-glycérol, cystathionine. Les modifications touchant le nicotinamide, la N-acétyl-L-Leucine, et l'arginine étaient les plus discriminantes (34).

Une autre étude menée par Kouassi et al. a montré une diminution du taux de nicotinamide sérique chez les patients souffrant d'un glaucome à angle ouvert (35).

4.4. Revue de la littérature des études concernant le glaucome à angle ouvert.

De nombreuses études sur le sujet sont disponibles dans la littérature.

Une revue de la littérature a été réalisée sur des études animales (avec glaucome génétiquement programmé ou induction d'un modèle de glaucome) et des études cliniques. On y retrouve différents échantillons constitués de sérum, plasma, humeur aqueuse, larmes, vitré, tissu neuronal et nerf optique (36), avec différentes techniques mêlant la spectroscopie avec chromatographie et la spectroscopie NMR. A été étudié en majorité le glaucome chronique à angle ouvert mais d'autres glaucomes à angle ouverts sont aussi étudiés. On s'intéresse parfois uniquement à un métabolite ou au contraire à découvrir un profil métabolique spécifique.

4.4.1. Lipides

On retrouve une altération des phospholipides dans le sang (37,38), le trabéculum (39) ou l'humeur aqueuse (40–42) des patients glaucomateux. On observe une altération également des sphingophospholipides, plus particulièrement des sphingomyélines, dans le sérum ou l'humeur aqueuse (37,38,43–45).

On observe une altération des lipides en général phospholipides, triglycérides et cholestéryl esters (40,46,47). Les études sont controversées avec une association inverse parfois (48). Une revue montre qu'une hyperlipidémie est fortement associée à glaucome (49) ainsi que les facteurs de risque cardiovasculaires (50). Les triglycérides semblent particulièrement touchés (37) (51).

4.4.2. Stress oxydatif

De nombreuses études ont montré un lien entre le stress oxydant intracellulaire et le glaucome, on peut observer une hausse des métabolites issus de l'oxydation des acides gras (52) et une réduction des capacités antioxydante cellulaire et parfois un ADN plus altéré (43,53–58).

Dans certaines études les auteurs montrent que certains métabolites peuvent directement influencer l'écoulement de l'humeur aqueuse (59).

Tanito et al. ont montré un lien entre la réduction de capacité de réponse au stress oxydatif et dégradation champ visuel et élévation de la PIO chez 200 patients atteints de glaucome (60). Deux autres études montrent une diminution des capacités de réduction antioxydante qui influe sur la PIO chez patients atteints de glaucome à angle ouvert et de glaucome pseudoexfoliatif (61,62).

4.4.3. Vitamines

Une méta analyse entre vitamines et glaucome montre que les vitamines A et C semblent protéger du glaucome (63). Après étude du régime alimentaire, la prise de fer et de sélénium pourrait être associée au glaucome tandis que le glutathione et les nitrites contenus dans les végétaux verts pourraient être protecteurs (64).

Le lien avec la vitamine D est ambigu. Les études sont parfois contradictoires et ne retrouvent pas toujours d'association (64). Cependant l'ensemble des données montre que le vitamine D dans l'humeur aqueuse ou le sang est inversement associé à une majoration du risque de développer un glaucome (47) (43) (65–69).

Une étude montre que le métabolisme de la vitamine C fait partie de la régulation de la pression oculaire et est inversement proportionnel à la PIO. La vitamine C est présente à forte dose dans l'humeur aqueuse et ferait partie des premiers métabolites régulateurs du stress oxydatifs (70,71).

4.4.4 Dysfonction mitochondriale

Il existe une dysfonction mitochondriale en lien avec la sévérité du glaucome menant à une baisse des acides aminés nécessaires aux voies métaboliques de base et donc une baisse de la fourniture énergétique. On peut citer par la exemple la voie de l'acylcarnitine (37). Ces changements se produisent secondairement au stress oxydatif (13,72,73).

4.4. 5. Nicotinamide

Le Nicotinamide Adénine Dinucléotide (NAD) est un élément clé du métabolisme mitochondrial. Ce métabolite est essentiel pour le fonctionnement cellulaire du fait de sa participation à la fabrication d'ATP, la protection contre les radicaux libres, la réparation de l'ADN. C'est

également un inducteur enzymatique. Chez les mammifères, la production de NAD est possible via trois voies : de novo à partir du Tryptophane, du métabolisme de la niacine (ou vitamine B3) et par le nicotinamide et sa voie accessoire avec la Nicotinamide Ribosine.

On sait que les niveaux de NAD déclinent avec l'âge, cette perte serait donc un facteur de vulnérabilité des cellules ganglionnaires (74). En effet les cellules ganglionnaires font face à un stress métabolique avec une déplétion en métabolites clés, qui les contraint à utiliser la voie du métabolisme des acides gras. L'oxydation des acides gras peut augmenter la formation de radicaux libres et avoir un effet néfaste à long terme. Plusieurs études montrent que le nicotinamide est neuroprotecteur et augmente l'activité des cellules ganglionnaires en améliorant le métabolisme mitochondrial et est sûr en termes d'effets secondaires (14,75–80).

Chez l'homme, un essai randomisé en double aveugle montre que l'adjonction en nicotinamide et en pyruvate améliore les performances lors de la réalisation du champ visuel à court de terme de patients suivis pour un glaucome modéré (81). Une autre étude dans un essai en double aveugle randomisé, montre que la supplémentation en nicotinamide pendant six semaines améliore les fonctions visuelles de la rétine interne chez des patients atteints, en s'appuyant sur l'électrophysiologie et le champ visuel (82). Une étude randomisée est en cours pour vérifier si l'administration de Nicotinamide diminue la perte en fibres nerveuses chez des patients atteints de glaucome (83).

4.4.6. Acides aminés

En réalisant des méta analyses, les principales voies métaboliques altérées seraient les voies de l'arginine et la glycine. On note fréquemment une diminution des acylcarnitines (marqueurs de dysfonctionnement mitochondrial), une diminution de la spermidine, spermine, créatine

(rôle dans la neuroprotection) et une augmentation du glutamate qui est neurotoxique (37,38,43,47,84,85).

Le glaucome à angle ouvert est une neuropathie dont nous ne maîtrisons pas encore totalement la physiopathologie. Cette étude est dans la continuité de celles déjà réalisées dans le service en partant des postulats relevés par Kouassi et al., Leruez et al. et Buisset et al.. Il avait été retrouvé une signature métabolomique chez les patients glaucomateux. De plus, on retrouvait un taux sanguin de nicotinamide plus bas chez les patients atteints. Ce travail vise à vérifier ces hypothèses et apporter de nouveaux éléments.

Suite à ces travaux réalisés sur des cohortes de patients glaucomateux sans distinction de leur gravité, le présent travail vise à déterminer s'il existe des différences de concentration en nicotinamide sanguin et de profil métabolique entre les différents stades du glaucome, en comparaison avec une population témoin.

MÉTHODES

1. Population étudiée

Il s'agit d'une étude rétrospective sur collection biologique réalisée au CHU d'Angers au sein du service d'Ophtalmologie avec autorisation de CPP (N° DC-2016-27000 et AC-2016-2799) respectant les principes éthiques de la convention d'Helsinki. Un consentement écrit et oral a été recueilli systématiquement pour chaque patient avant inclusion. Une lettre d'information a été donnée pour expliquer les objectifs de la biocollection. Les prélèvements ont eu lieu le matin à jeun entre octobre 2020 et mai 2023. Nous avons recruté 68 patients atteints de glaucome chronique à angle ouvert et 23 patients témoins atteints de cataracte au sein du service d'Ophtalmologie au CHU d'Angers. Un interrogatoire, recueillant les traitements généraux et locaux ainsi que les antécédents, a tout d'abord été réalisé chez tous les participants. Dans un second temps, a été conduit un examen ophtalmologique comprenant l'évaluation de l'acuité visuelle avec échelle décimale de Monoyer (convertie en logMAR pour l'analyse), l'examen à la lampe à fente, une tonométrie de Goldmann et l'examen du fond d'œil. Les sujets atteints de glaucome ont également bénéficié d'une tomographie par cohérence optique (OCT, Cirrus device, Carl Zeiss Meditech, Dublin, CA) et un champ visuel automatisé 24.2 (Humphrey field analyser, Carl Zeiss, Dublin, CA). Le diagnostic de glaucome a été basé sur les critères suivants : une PIO > 21mmHg, un déficit focal ou diffus à l'OCT papillaire, une excavation papillaire avec un rapport cup/disc supérieur ou égal à 0,7, une chambre antérieure profonde, une absence d'argument pour un glaucome secondaire et autres pathologies ophtalmologiques. Le diagnostic de cataracte était quant à lui posé à l'aide de l'examen à la lampe à fente.

Les cas de glaucomes ont été séparés en glaucome mineurs et modérés et en glaucome sévères en prenant en compte les valeurs de la déviation moyenne (MD). Pour les glaucomes mineurs, la valeur absolue était inférieure à 6dB, pour les glaucomes modérés, la valeur absolue était comprise entre 6 et 12 dB, et pour les glaucomes sévères, la valeur absolue était supérieure à 12 dB; selon le critère de Hoddap-Parrish-Anderson. Les indices de fiabilité retenus étaient un taux de faux positif et faux négatif inférieur à 15% et une perte de fixation inférieure à 20%.

Les témoins ont été sélectionnés avec les critères d'inclusion suivants : présence d'une cataracte lors de l'examen pré-opératoire, pression intraoculaire normale, et l'absence de signe de glaucome chronique à angle ouvert et aucune autre pathologie rétinienne. Les critères de non-inclusion étaient l'antécédent de glaucome ou toute autre pathologie ophtalmologique ou neuropathie optique. Une patiente du groupe témoin a été exclue car elle prenait un traitement hypotonisant.

Les tableaux 1 et tableau 2 reprennent les principales caractéristiques des différentes populations étudiées. Le résultat était considéré comme significatif avec une p value inférieure à 0.05. On n'observait pas de différence significative en comparant l'âge, le sexe ratio, les comorbidités (hypertension, dyslipidémie, diabète, dysthyroïdie, etc..).

Le tableau 3 reprend les différences entre les groupes de sévérité de glaucome. On observe de manière non surprenante que chez les glaucomes sévères, l'acuité visuelle, le RNFL et le MD étaient plus bas. La proportion de patients opérés était également significativement plus haute chez les glaucomes sévères par rapport aux autres glaucomes. On observait plus de patients sous monothérapie chez les glaucomes mineurs à modérés et notamment plus de bétabloquants.

Le tableau 4 compare les glaucomes sévères et les témoins. L'acuité visuelle n'était pas différente chez les glaucomes sévères par rapport aux témoins probablement du fait qu'ils présentent plus ou moins une cataracte. La PIO n'était pas non plus différente statistiquement entre les groupes.

	Glaucomes (n = 68)	Témoins (n = 23)	p value
Age moyen	74	71	0,25
Femmes %	43 (29)	52 (12)	0,42
Acuité visuelle (LogMAR)	+0,07	+0,1	0,10
PIO moyenne (mmHg)	14	15	0,46
Pachymétrie moyenne (µm)	527	-	
RNFL moyen (µm)	68	-	
MD moyen (en dB)	-6,34	-	
Groupe			
Glaucome mineur à modéré %	59 (40)	-	
Glaucome sévère %	34 (23)	-	
Traitements %	91 (62)		
Bêta bloquant	66 (45)	-	
Analogues des Prostaglandines	80 (55)	-	
Alpha-2 adrénergique	7 (5)	-	
Inhibiteur de l'anhydrase carbonique	20 (14)	-	
Laser	45 (31)	-	
Chirurgie	41 (28)	-	
Monothérapie	28 (19)	-	
Bithérapie	4 (28)	-	
Trithérapie	17 (12)	-	
Quadrithérapie	3 (2)	-	

Indice de Masse Corporelle (IMC), Acuité visuelle moyenne (AV), Retinal Nerve Fiber Layer (RNFL), Pression intraoculaire (PIO), Mean Deviation (MD). Collyres hypotonisants : Bêta bloquants (BB), Analogues de Prostaglandines, Inhibiteurs de l'anhydrase carbonique (IAC), Analogues alpha 2 adrénergiques. Laser : Selective Laser trabeculoplasty (SLT) et/ou laser cyclodiode. Chirurgie : trabéculotomie ou MIGS. Occlusion veineuse : occlusion de branche veineuse ou occlusion de veine centrale de rétine.

Tableau 1. Caractéristiques de l'examen ophtalmologique des patients glaucomateux versus les témoins

	Glaucomes (n = 68)	Témoins (n = 23)	p value
Age moyen	74	71	0,25
Femmes %	43 (29)	52 (12)	0,42
IMC moyen (kg/m²)	24	25	0,55
Diabète %	6 (4)	0	0,23
Hypertension %	48 (33)	43 (10)	0,67
Dyslipidémie %	34 (23)	35 (8)	0,93
Dysthyroïdie %	1 (1)	8 (2)	0,42
Traitement antihypertenseur %	48 (33)	43 (10)	0,67
Statines/Fibrates %	34 (23)	33 (8)	0,93
Antiagrégants plaquettaires %	29 (20)	22 (5)	0,48
Antidiabétiques oraux %	6 (4)	0	0,23
Insuline %	0	0	-
Corticoïdes %	0	0	-

Tableau 2. Caractéristiques démographiques et comorbidités des patients glaucomateux versus les témoins

	Glaucomes Mineurs à Modérés (n = 40)	Glaucomes Sévères (n = 23)	p value
Age moyen	74	76	0,40
Femmes %	45 (18)	3 (7)	0,26
IMC moyen (kg/m²)	25,8	23,6	0,58
PIO moyenne (mmHg)	15	13,5	0,05
MD moyen (dB)	-2	-13,5	<0.001*
RNFL moyen (µm)	73	59	<0.001*
Acuité visuelle (LogMAR)	+0,045	+0,1	0,04*
Comorbidités %			
Diabète	5 (2)	9 (2)	0,56
Hypertension artérielle	48 (21)	49 (11)	0,72
Dyslipidémie	33 (13)	35 (9)	0,60
Dysthyroïdie	0	4 (1)	0,18
Traitements ophtalmologiques			
Traitement local %	90 (36)	96 (22)	0,42
Monothérapie	65 (15)	13 (3)	0,04*
Bithérapie	61 (14)	47 (11)	0,32
Trithérapie	21 (5)	3 (7)	0,08
Quadrithérapie	8 (2)	0	0,28
Famille des hypotonisants %			
Bêta bloquant	57 (23)	82 (19)	0,04*
Analogues de Prostaglandines	80 (32)	82 (19)	0,80
Inhibiteur de l'anhydrase carbonique	20 (8)	26 (6)	0,58
Alpha-2 adrénergique	7 (3)	8 (2)	0,87
Laser %	40 (16)	61 (14)	0,11
Chirurgie %	23 (9)	74 (17)	<0.001*
Occlusion veineuse %	5 (2)	4 (1)	0,91

*significativité statistique

Indice de Masse Corporelle (IMC), Acuité visuelle moyenne (AV), Retinal Nerve Fiber Layer (RNFL), Pression intraoculaire (PIO), Mean Deviation (MD). Collyres hypotonisants : Bêta bloquants (BB), Analogues de Prostaglandines, Inhibiteurs de l'anhydrase carbonique (IAC), Analogues alpha 2 adrénrgiques. Laser : Selective Laser trabeculoplasty (SLT) et/ou laser cyclodiode. Chirurgie : trabéculectomie ou MIGS. Occlusion veineuse : occlusion de branche veineuse ou occlusion de veine centrale de rétine.

Tableau 3. Comparaison des données démographiques, des comorbidités et des antécédents ophtalmologiques entre les groupes de glaucome mineurs à modérés versus les glaucomes sévères.

	Glaucomes Sévères (n = 23)	Témoins (n = 23)	p value
Age moyen	76	71	0,16
Femmes %	30 (7)	54 (13)	0,07
Acuité visuelle (LogMAR)	+0.11	+0.10	0,80
PIO (mmHg)	13.50	15	0,07
IMC moyen (kg/m ²)	23,6	25	0,72
Diabète %	9 (2)	0	0,15
Hypertension %	49 (11)	43 (10)	0,77
Dyslipidémie %	35 (9)	35 (8)	0,76
Dysthyroïdie %	4 (1)	8 (2)	0,55
Traitements antihypertenseur %	49 (11)	43 (10)	0,77
Statines/fibrates %	35 (9)	35 (8)	0,76
Antiagrégants plaquettaires %	35 (8)	22 (5)	0,33
Antidiabétiques oraux %	9 (2)	0	0,15
Insuline %	0	0	-
Corticoïdes %	0	0	-

Tableau 4 : Caractéristiques démographiques et des comorbidités entre les groupes de glaucomes sévères et de patients témoins.

2. Méthode de dosage du nicotinamide et du 1-méthyl nicotinamide

Dans le but de doser dans le plasma le nicotinamide et de son métabolite, le 1-méthyl nicotinamide, une méthode chromatographique en phase liquide couplée à un spectromètre de masse en tandem (LC-MS/MS) a été développée et validée. Ceci a permis d'associer le pouvoir de séparation d'une HPLC (high pression liquid chromatography) Agilent 1200 à la sensibilité et sélectivité du spectromètre de masse Qtrap 5500 de la société Sciex. Les essais de faisabilité sur les échantillons biologiques ont permis d'optimiser la méthode d'extraction et de déterminer une gamme de concentration de travail. Brièvement, les protéines présentes dans 30 µl de plasma fortifié avec 10 µL d'étalon interne à 10 µg/ml ont été précipitées avec un mélange méthanol/eau (95/5, volume final = 1 mL). Après une forte

agitation, les échantillons ont été centrifugés à 14000 RPM pendant 10 min à 4°C. Le surnageant ainsi obtenu a été évaporé à température ambiante avant d'être repris dans 300 µL de phase mobile (90% acétonitrile et 10% d'eau) pour être analysé.

Pour cela, une colonne HILIC de la société Phenomenex (Kinetex 1.7 µm, 50 mm × 2.10 mm, 100 Å), dont la particularité est de retenir les molécules polaires, a été choisie. Le nicotinamide, le 1-méthylnicotinamide et les étalons internes ont ensuite été élués avec un gradient à 400 µL/min qui est passé progressivement de 90% d'acétonitrile et 10% d'eau ultrapure à 30 % d'acétonitrile et 70% d'eau ultrapure. Pour favoriser l'ionisation des molécules et optimiser le pH d'élution, la phase mobile a été complétée avec 100 mM de formiate d'ammonium et 0.2% d'acide formique.

Les molécules ont ensuite été ionisées par un électrospray (EI) travaillant en mode positif et détectées en utilisant le mode MRM (Multiple Reaction Monitoring). Dans ce cas l'ion parent, par exemple le nicotinamide sous sa forme protoné suite à l'ionisation (123.055 Daltons), est dans un premier temps sélectionné, ensuite fragmentée (à 30 volts) et la quantification se fait sur l'un de ces ions caractéristique (80.05 Daltons). Dans le tableau ci-dessus sont résumés les transitions d'intérêts avec les énergies de collision (CE). Les résultats ont été dans un premier temps analysé par le logiciel de chez Sciex, Analyst 1.7, et ensuite transposés dans un tableur Excel.

ID	Q1 Mass (Da)	Q3 Mass (Da)	CE (volts)
Nicotinamide	123.055	80.05	30
1-CH3-nicotinamide	137.071	78.034	35
Nicotinamide d4	127.080	84.075	25
N-Methyl-C13D4-nicotinamide	141.090	110.060	25

Tableau 5. Masse et voltage par composant. CE = Collision Energy.

Afin de doser de façon fiable le nicotinamide et le 1-méthyl nicotinamide, une gamme de calibration en 7 points (incluant le point 0) a été réalisée dans le méthanol, pour ensuite diluer 30 μ L de chaque point avec 10 μ L d'étalon interne dans 300 μ L de phase mobile (volume final). Il a été choisi de travailler directement avec la phase mobile car à notre connaissance il n'existe pas de plasma déplété en nicotinamide ou en 1-méthyl nicotinamide. Les points de calibration permettent, en corrélant le signal obtenu par la molécule et son étalon interne à la quantité connue, d'établir une droite et ainsi de quantifier précisément la concentration dans des échantillons d'intérêt.

Le dosage du nicotinamide a ainsi pu être validé sur 7 jours pour une gamme de linéarité allant de 2 ng/mL à 40 ng/mL. Plus précisément, chaque jour une nouvelle gamme de calibration a été réalisée et validée via l'utilisation de contrôles qualité à trois concentrations différentes (QC bas, moyen et haut à 6, 12 et 24 ng/mL respectivement) (Figure 9). Ceci a permis entre autre de valider certains paramètres dont la sélectivité (détection de la molécule dans les blancs), la pureté de l'étalon interne (détection de la molécule dans le point 0 inférieure à 5% de l'EI), la limite de détection (LOD), La limite de quantification (LOQ) et la limite basse de quantification (LLOQ) avec sa répétabilité et son exactitude vérifiées, ainsi que le rendement d'extraction, l'exactitude, la répétabilité et la fidélité intermédiaire pour les 3 niveaux de QC et l'effet matrice (tableau 6). La stabilité du nicotinamide aux 3 concentrations QC a pu être vérifiée après 4 cycles de congélation/décongélation, après 1 mois de conservation à -20°C, après 30h dans le passeur d'échantillons à 4°C et 1h à température ambiante.

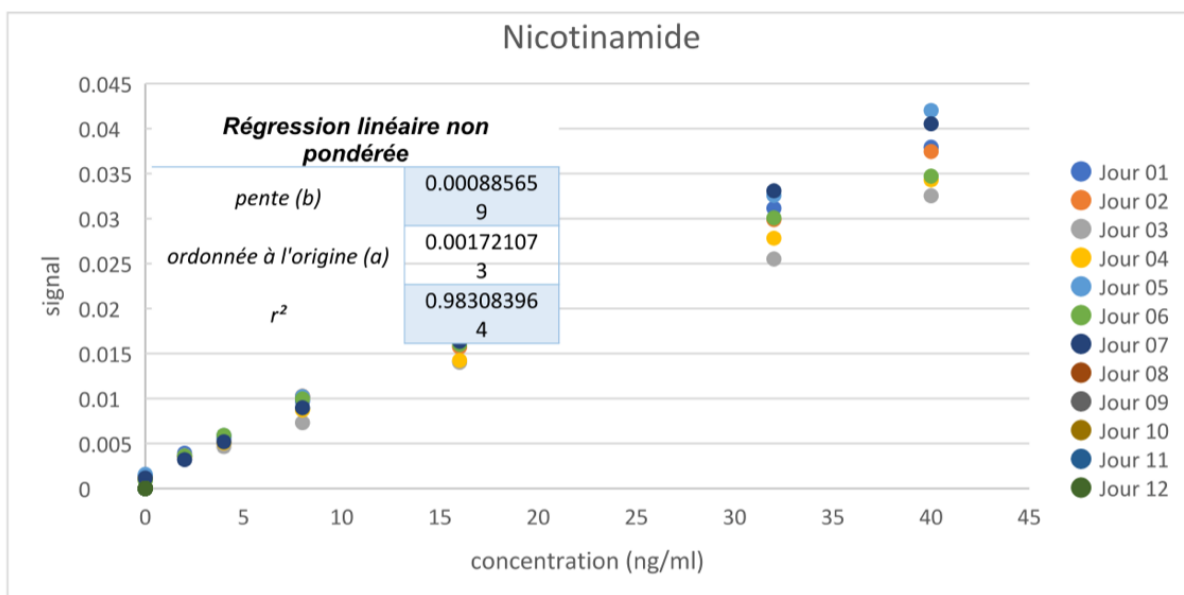


Figure 9. Résumé des points de droite de calibration obtenus au cours des 7 jours de validation pour le nicotinamide. La pente, l'ordonnée à l'origine et le r^2 sont indiqués.

Nicotinamide	LLOQ (2 ng/ml)	QC Bas (6 ng/ml)	QC Moyen (12 ng/ml)	QC Haut (24 ng/ml)
Répétabilité	13.6% (<25%)	3.3% (<20%)	5.3% (<15%)	3.8% (<15%)
Exactitude	6.0% (<25%)	3.9% (<20%)	3.4% (<15%)	% (<15%)
Fidélité intermédiaire		11.8% (<20%)	10.7% (<15%)	8.5% (15%)
Rendement d'extraction		84.7%	85.9%	82.2%
Effet matrice	11.7%			
LOD	0.66 ng/ml			
LOQ	2 ng/ml			

Tableau 6 : Paramètres de validation pour le nicotinamide.

Les mêmes paramètres sont en cours de validation pour la 1-méthylnicotinamide qui, contrairement au nicotinamide, ne dispose pas d'EI équivalent deutéré à ce jour. Seule l'aire du 1-méthylnicotinamide a été prise en compte car le N-Méthyl-C13D4-nicotinamide, avec des propriétés physico chimiques différentes, s'est montré un bon indicateur pour les paramètres intra-jours mais pas inter-jours. Le dosage a pu être validé sur 7 jours pour une gamme de linéarité allant de 5 ng/ml à 100 ng/ml. Plus précisément, chaque jour une nouvelle gamme de calibration a été réalisée et validée via l'utilisation de contrôles qualité à trois concentrations différentes (QC bas, moyen et haut à 15, 30 et 60 ng/ml respectivement) (Figure 10). Ceci a permis entre autres de valider certains paramètres dont la sélectivité (détection de la molécule

dans les blancs), la LOD, LOQ, la LLOQ avec sa répétabilité et son exactitude vérifiées, l'exactitude, la répétabilité et la fidélité intermédiaire pour les 3 niveaux de QC (tableau 7). Reste à déterminer l'effet matrice.

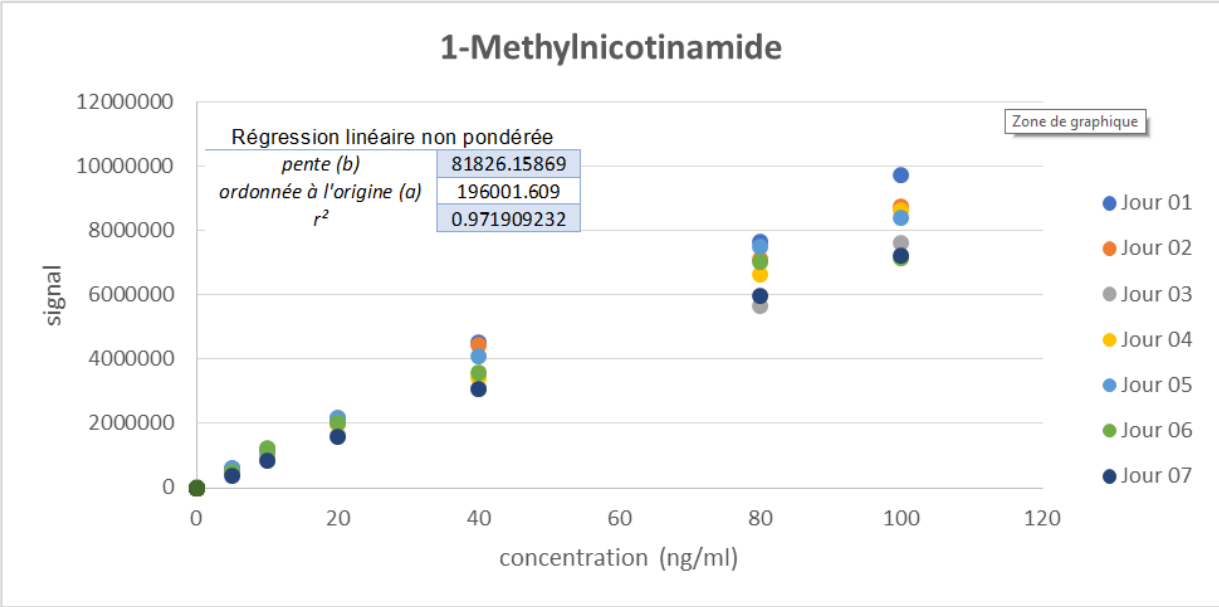


Figure 10. Résumé des points de droite de calibration obtenus au cours des 7 jours de validation pour le 1-méthylNicotinamide. La pente, l'ordonnée à l'origine et le r2 sont indiqués.

1-Mehtylnicotinamide	LLOQ (1 ng/ml)	QC Bas (3 ng/ml)	QC Moyen (6 ng/ml)	QC Haut (10 ng/ml)
Répétabilité	19.6% (<25%)	3.9% (<20%)	7.8% (<15%)	4.9% (<15%)
Exactitude	-0.49% (<25%)	1.6% (<20%)	-1.3% (<15%)	-1.6% (<15%)
Fidélité intermédiaire		14.2% (<20%)	8.9% (<15%)	8.1% (15%)
Rendement d'extraction		83%	100%	114.6%
LOD	0.17 ng/ml			
LOQ	0.33 ng/ml			

Tableau 7 : Paramètres de validation pour le 1-méthylNicotinamide.

3. Méthode de l'analyse métabolomique

Une analyse métabolomique quantitative ciblée a été réalisée à l'aide du kit MxP® Quant 500 (Biocrates Life Sciences AG, Innsbruck, Autriche). Utilisé avec un spectromètre de masse (QTRAP 5500 ; SCIEX, Villebon-sur-Yvette, France), ce kit permet de quantifier jusqu'à 630 métabolites endogènes issus de 26 classes biochimiques réparties comme suit : alcaloïdes (n = 1), oxyde d'amines (n = 1), acides aminés (n = 20), acides aminés apparentés (n = 30), acides biliaires (n = 14), amines biogènes (n = 9), hydrates de carbone (n = 1), acides carboxyliques (n = 7), crésols (n = 1), acides gras (n = 12), hormones et apparentés (n = 4), indoles et dérivés (n = 4), nucléobases et apparentés (n = 2), vitamines et cofacteurs (n = 1), acylcarnitines (n = 40), lysophosphatidylcholines (n = 14), phosphatidylcholines (n = 76), sphingomyélines (n = 15), céramides (n = 28), dihydrocéramides (n = 8), hexosylcéramides (n = 19), dihexosylcéramides (n = 9), trihexosylcéramides (n = 6), esters de cholestéryle (n = 22), diglycérides (n = 44) et triglycérides (n = 242). L'analyse par injection de flux couplée à la spectrométrie de masse à haute résolution (FIA-MS/MS) a été utilisée pour analyser les lipides et les hexoses. La chromatographie liquide (LC-MS/MS) a été utilisée pour analyser les autres métabolites polaires. Deux kits MxP® Quant 500 ont été utilisés pour quantifier le métabolome des échantillons, un kit pouvant contenir jusqu'à 80 échantillons.

Tous les réactifs utilisés dans cette analyse étaient de qualité LC-MS et achetés à VWR (Fontenay-sous-Bois, France) et Merck (Molsheim, France). La préparation et l'analyse des échantillons ont été effectuées conformément au manuel d'utilisation du kit Biocrates. Chaque échantillon de plasma a été soigneusement vortexé après décongélation et centrifugé à +4°C pendant 5 minutes à 5000 g. Ensuite, 10 microlitres de chaque échantillon ont été ajoutés au filtre du puits supérieur de la plaque à 96 puits. Les métabolites ont été extraits et dérivés

pour la quantification des acides aminés et des amines biogènes. Enfin, les extraits ont été dilués avec le solvant de fonctionnement de la MS avant d'être analysés par FIA et LC-MS/MS. Trois contrôles de qualité (CQ) constitués d'échantillons de plasma humain à trois niveaux de concentration - faible (QC1), moyen (QC2) et élevé (QC3) - ont été utilisés pour évaluer les performances de l'essai analytique. Une dilution en série en sept points des calibrateurs a été ajoutée à la plaque du kit à 96 puits afin de générer des courbes d'étalonnage pour la quantification des acides aminés et des amines biogènes. Comme contrôle de qualité supplémentaire, un pool composé d'un mélange de plusieurs échantillons a été testé 3 fois sur chaque kit.

Les analyses univariées des métabolites ont été réalisées à l'aide de tests U de Mann-Whitney avec correction de Benjamini-Hochberg. Les tests ont été considérés comme statistiquement significatifs si la valeur p corrigée était inférieure à 0,05. Une analyse multivariée non supervisée en composantes principales (ACP) a été utilisée pour identifier les valeurs aberrantes ainsi que les groupes spontanés. Enfin, un pipeline de « machine learning » a été utilisé pour analyser l'ensemble des données.

RÉSULTATS

1. Dosage du Nicotinamide et du MéthylNicotinamide

Une fois ces méthodes d'analyse validées, nous avons dosé ces deux composés chez nos patients et nos témoins. Bien qu'il existe une tendance à une diminution du taux de nicotinamide, normalisé ou non selon l'âge, chez les glaucomes sévères par rapport aux autres groupes de glaucome et aux témoins, ce résultat n'est pas statistiquement significatif (Figure 11 ci-dessous)

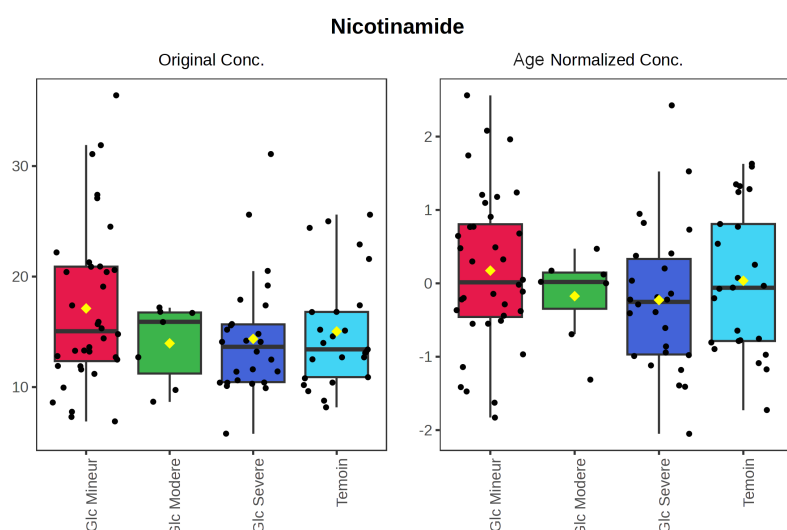


Figure 11. Comparaison de la concentration en Nicotinamide en analyse univariée et selon l'âge.

Cette tendance de diminution du taux de nicotinamide chez les glaucomes sévères n'est pas retrouvée pour le méthylNicotinamide. Mais le ratio nicotinamide/méthylNicotinamide reproduit cependant cette tendance non significative. (Figures 12 et 13 ci-dessous). Ces résultats sont similaires qu'ils soient ou non normalisés selon l'âge des patients et des témoins.

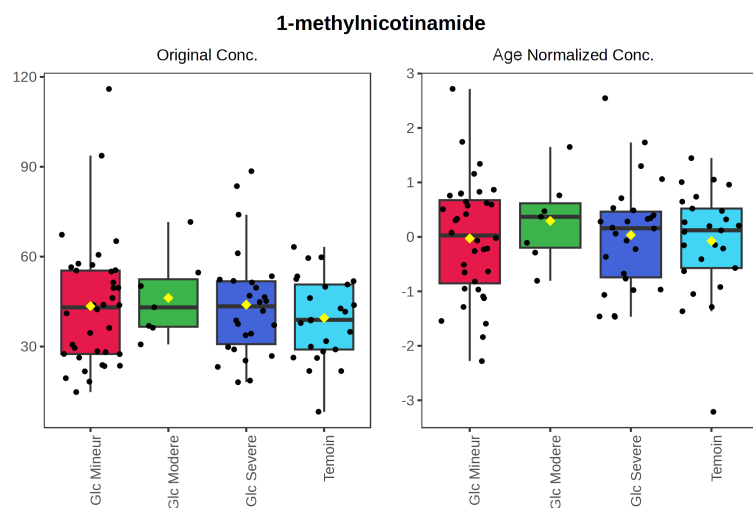


Figure 12. Comparaison de la concentration en 1-méthylnicotinamide en analyse univariée et selon l'âge.

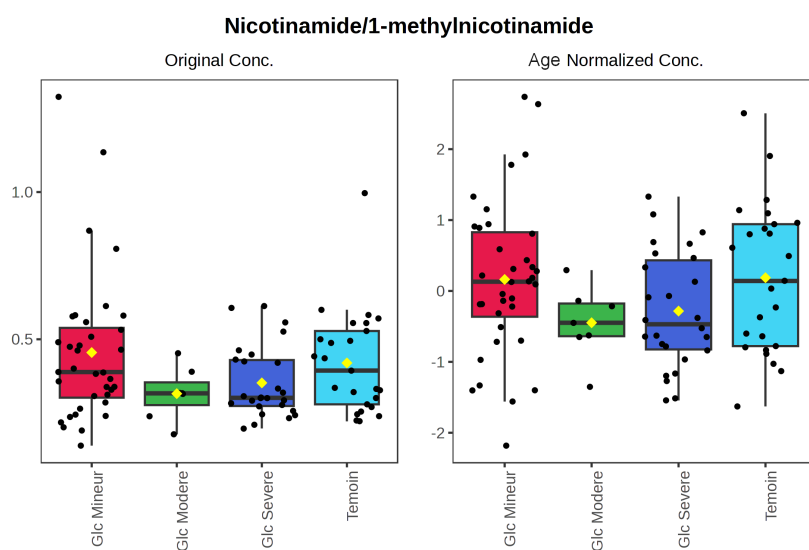
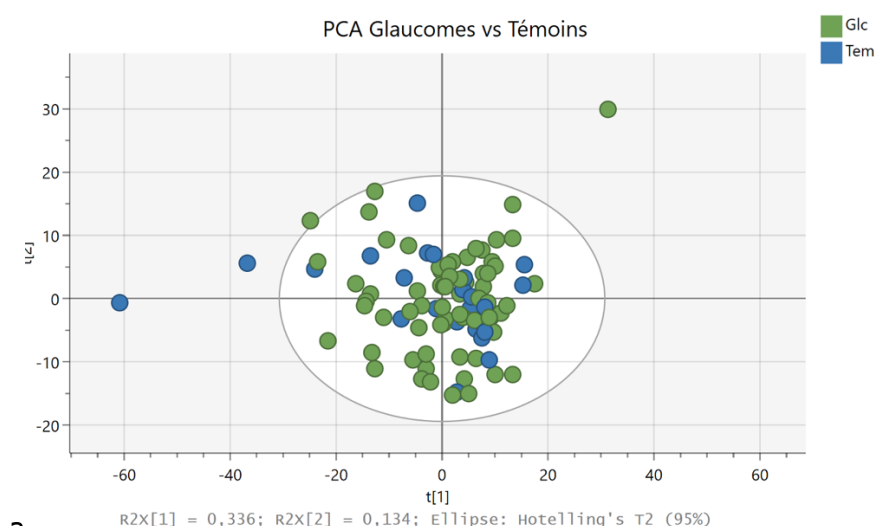


Figure 13. Comparaison de la concentration Nicotinamide/1-méthylnicotinamide en analyse univariée et selon l'âge.

2. Analyse métabolomique

2.1. Glaucomes versus témoins

Concernant l'analyse métabolomique, l'analyse en composante principale (PCA) ne montre pas de séparation entre les groupes glaucomes et témoins. Ceci signifie que les profils métabolomiques ne distinguent pas spontanément les deux groupes (Figure 14). En analyse univariée, l'indoxyle sulfate (Ind-SO₄) est significativement augmenté dans le groupe glaucome par rapport au groupe témoin ($p = 0.02$), tandis que le triglycéride 18:2_36.0 est significativement abaissé ($p = 0.03$). Il convient cependant d'appliquer une correction du risque alpha (false discovery rate) compte tenu des dosages multiples qui ont été réalisés ce qui augmente les chances de voir apparaître des valeurs significatives. En appliquant cette correction ces deux métabolites ne sont plus significatifs (Figure 14). Enfin, aucun modèle significatif permettant de prédire l'appartenance au groupe glaucome ou témoin en fonction des profils métabolomiques n'a pas été obtenu (Figure 14). La « heat map » montre une très grande hétérogénéité inter-individuelle des concentrations en métabolites et qu'aucun métabolite ne se trouve plus fréquemment augmenté ou abaissé dans un groupe par rapport à l'autre.



a

Variable	P-Value	P-Value (corrected)	Fold Change
Ind-SO4	0.019481	1.0	1.441219
TG 18:2_36:0	0.032672	1.0	0.713833
TMAO	0.058033	1.0	1.726010
Cer d18:2/22:0	0.080110	1.0	0.828555
Hex-Cer d18:1/24:0	0.081589	1.0	0.880555
5-AVA	0.087686	1.0	0.765498
Hex-Cer d18:1/16:0	0.089354	1.0	0.895214
CE 20:1	0.093764	1.0	1.633216

b

c

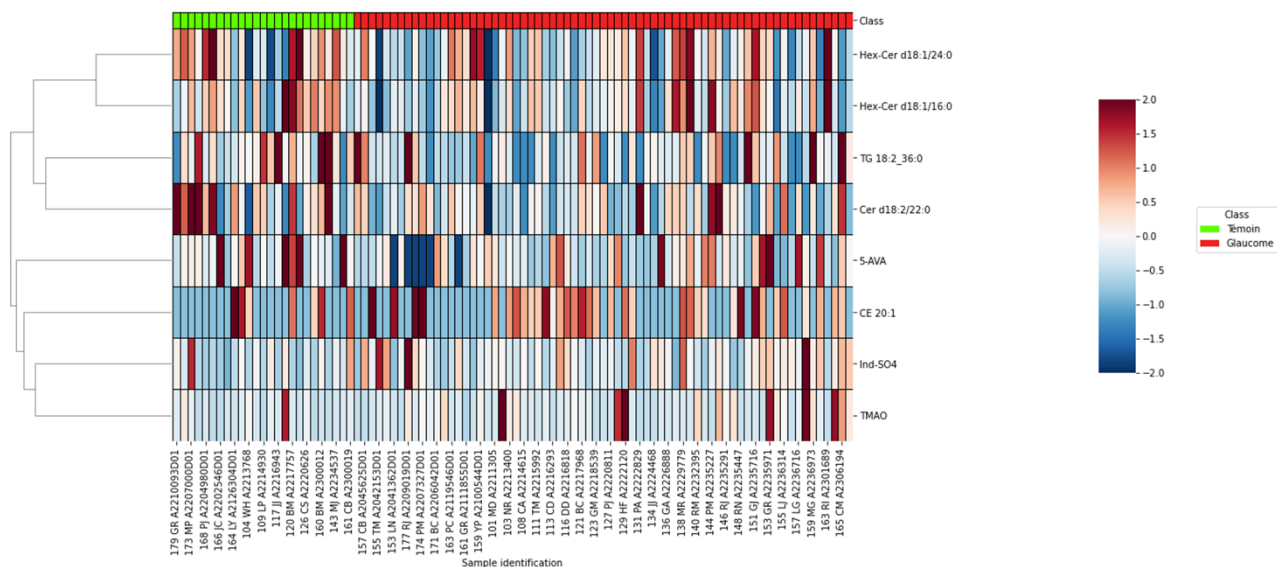


Figure 14 : Comparaison d'un groupe comportant tous les glaucomes par rapport au groupe témoin.

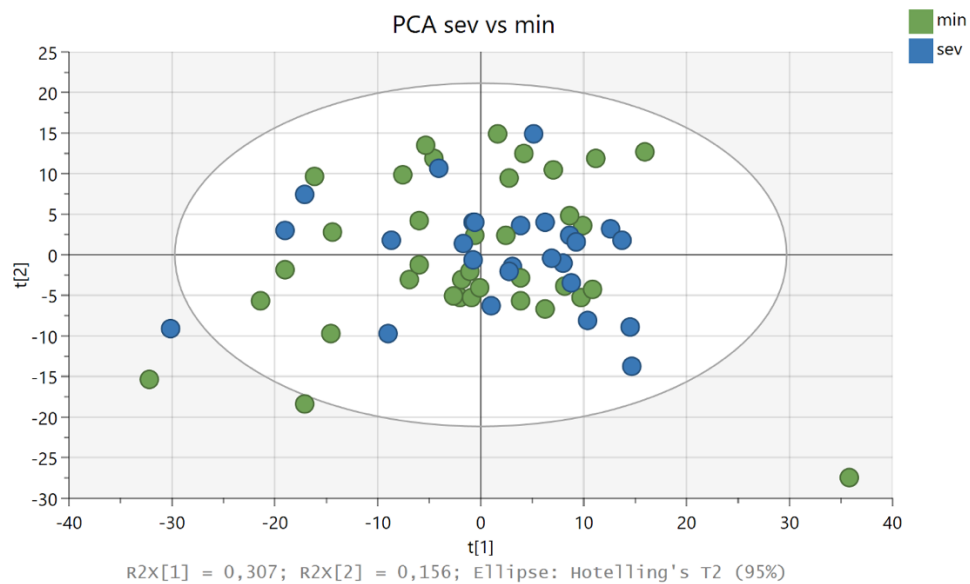
a. Analyse en composante principale (PCA).

b. Analyses univariées sans et avec correction du risque alpha.

c. « Heat Map » schématisant les taux de métabolites en fonction de l'appartenance des patients au groupe glaucome ou témoin.

2.2. Glaucomes modérés/mineurs versus glaucomes sévères

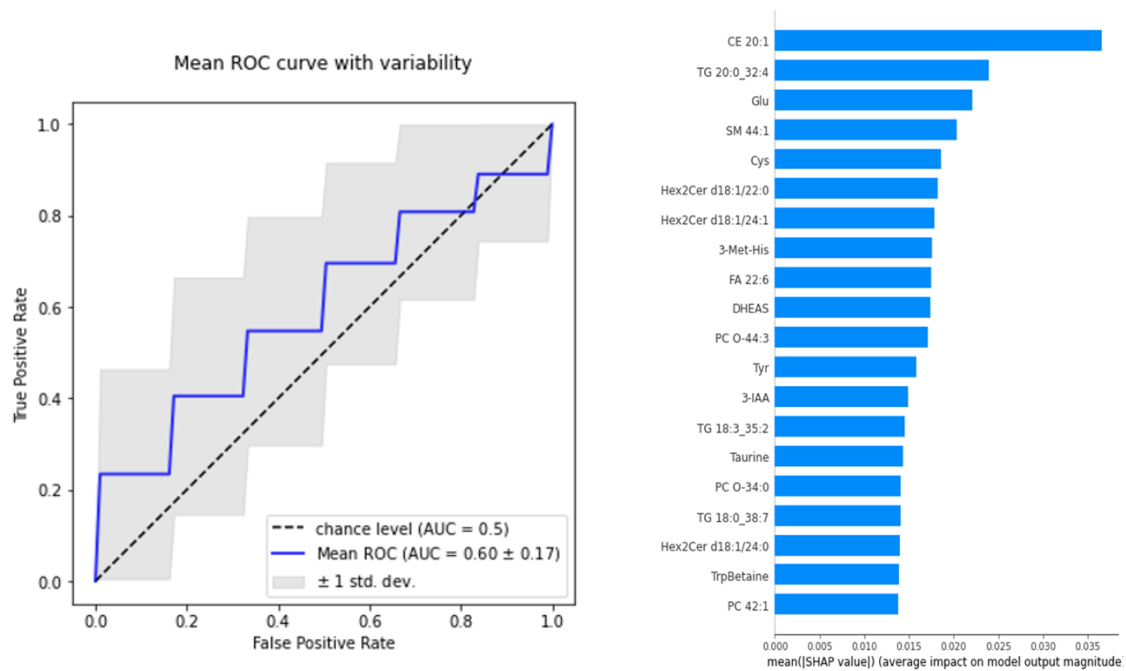
Une comparaison entre les glaucomes modérés/mineurs et les glaucomes sévères a ensuite été réalisée (Figure 15). L'analyse en composante principale ne montre pas de séparation entre les deux groupes, ce qui signifie que les profils métabolomiques des glaucomes modérés et sévères ne semble pas différents. L'analyse univariée révèle six métabolites dont la concentration est significativement modifiée lorsque l'on compare les deux groupes. La 3-méthyl-histidine est abaissée dans les glaucomes sévères ($p = 0.007$), un céramide (Hex2Cer d18:1/24:1) est augmenté dans les glaucomes sévères ($p = 0.02$), la phosphatidylcholine (PC O-28:1) est augmentée dans les glaucomes sévères ($p = 0.02$), la tryptophane-bétaine est aussi augmentée dans les glaucome sévères ($p = 0.04$), l'acide glutamique est abaissé dans les glaucomes sévères ($p = 0.04$), et le diglycéride 16:1_18:1 est augmenté dans les glaucomes sévères ($p = 0.04$). Cependant ces métabolites ne sont plus significatifs lorsque l'on applique la correction du risque alpha. La capacité de prédiction de l'appartenance à l'un ou l'autre groupe sur la base des profils métabolomiques est modeste puisque seul un AUC à 0,60 a pu être obtenu par régression logistique. Les métabolites participant à cette capacité prédictive sont donnés dans le tableau et l'histogramme de la Figure 15 ci-dessous). On retrouve, parmi ces métabolites ayant le plus de poids dans le modèle prédictif, un cholestérol ester, un triglycéride, une sphingomyéline, l'acide glutamique, la 3-méthyl-histidine, et deux céramides. Enfin, la « Heat Map » montre à nouveau une forte hétérogénéité des concentrations en métabolites et qu'aucun ne se distingue comme systématiquement augmenté ou diminué dans le groupe des glaucome sévères par rapport au groupe des glaucomes modérés/mineurs.



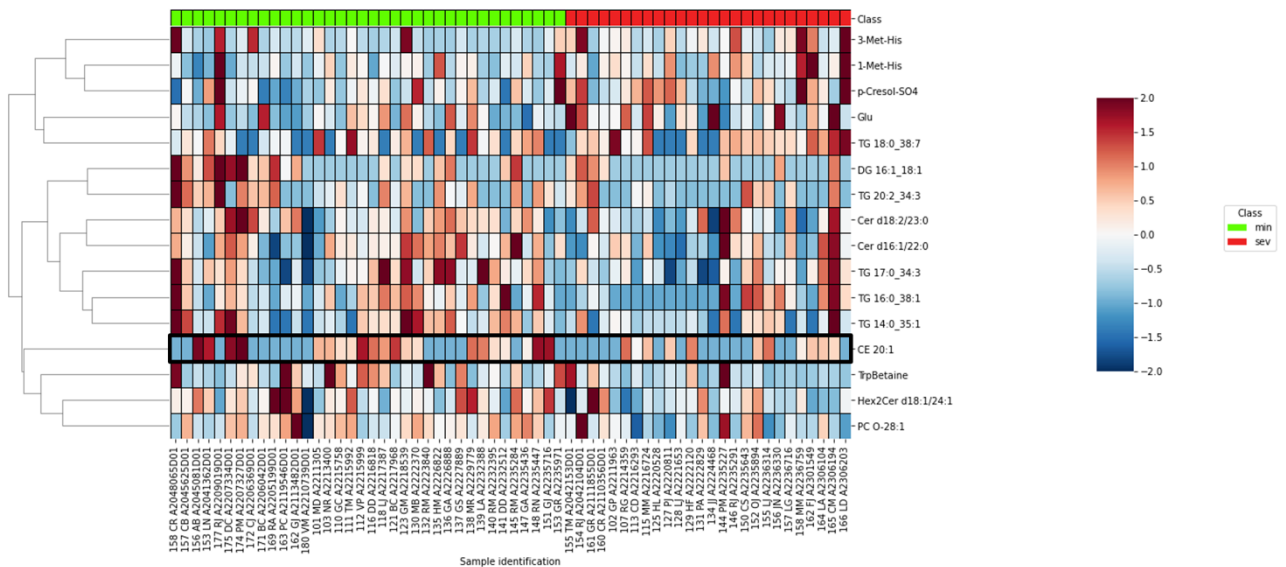
a.

Variable	P-Value	P-Value (corrected)	Fold Change
3-Met-His	0.006575	0.871214	1.900594
Hex2Cer d18:1/24:1	0.018936	0.871214	0.811369
PC O-28:1	0.021226	0.871214	0.895289
TrpBetaine	0.037838	0.871214	0.513641
Glu	0.043524	0.871214	1.243149
DG 16:1_18:1	0.044204	0.871214	0.418803
1-Met-His	0.060657	0.871214	1.172201
TG 17:0_34:3	0.061600	0.871214	0.756953
TG 20:2_34:3	0.063924	0.871214	0.548988
TG 16:0_38:1	0.067095	0.871214	0.673659
p-Cresol-SO4	0.070026	0.871214	1.261841
Cer d18:2/23:0	0.072249	0.871214	0.890742
Cer d16:1/22:0	0.072252	0.871214	0.891328
TG 18:0_38:7	0.073864	0.871214	1.329306
TG 14:0_35:1	0.081309	0.871214	0.712152
CE 20:1	0.081492	0.871214	0.566258

b



C



d

Figure 15 : Comparaison d'un groupe comportant les glaucomes mineurs et modérés par rapport au groupe de glaucomes sévères.

- Analyse en composante principale (PCA).
- Analyses univariées sans et avec correction du risque alpha.
- Analyse en régression logistique avec la courbe ROC et les coefficients en régression logistique
- « Heat Map » schématisant les taux de métabolites en fonction de l'appartenance des patients au groupe de glaucomes mineurs et modérés ou au groupe de glaucomes sévères.

DISCUSSION ET CONCLUSION

L'ensemble des données de la littérature montre que le glaucome est une maladie multifactorielle dont nous sommes en train de découvrir la physiopathologie. L'hypertonie oculaire est à l'origine d'une agression mécanique et chimique des cellules ganglionnaires. En réponse à cette agression, on constate des anomalies structurelles des cellules et du métabolisme intracellulaire menant à un stress oxydatif et une dysfonction mitochondriale. Les tissus de soutien finissent par participer à ces phénomènes nocifs en créant un environnement inflammatoire, menant à l'apoptose des cellules. Le seul moyen thérapeutique dont nous disposons est de diminuer la pression intraoculaire. Or, nombreux sont les patients dont le glaucome progresse malgré une baisse de la pression intraoculaire. Il existe donc une demande urgente pour mieux définir la maladie et avoir des thérapeutiques ciblées plus efficaces et avec moins d'effets secondaires. Le nicotinamide, ciblant la neuroprotection des cellules ganglionnaires de la rétine est un exemple d'innovation thérapeutique qui pourrait émerger dans les prochaines années.

On peut imaginer dans un avenir proche, une meilleure détection des patients à risque de réponse insuffisante au traitement ou d'évolution rapide grâce au développement de biomarqueurs. De plus, une approche par supplémentation vitaminique pourrait voir le jour. On peut citer les études AREDS-1 et AREDS-2 dans la dégénérescence liée à l'âge (DMLA) qui ont montré qu'avec un régime alimentaire riche en antioxydants (vitamine C, vitamine E, caroténoïdes dont la lutéine et la zéaxanthine) et riche en zinc, on pouvait ralentir de 20% la progression de la maladie. De nombreuses cibles sont en cours d'exploration notamment le glutamate, les récepteurs sigma, les endothélines, le TNF- α . Enfin, un autre volet de la recherche vise aussi à établir une neuroprotection efficace en étudiant les rôles des antioxydants, de la vitamine B3 (nicotinamide) et des flavinoïdes notamment.

Nos résultats montrent une tendance à un plus faible taux de nicotinamide et à l'existence d'un profil métabolique spécifique chez les glaucomes les plus sévères par rapport aux formes modérées et mineures et au groupe contrôle. Ces résultats ne sont cependant pas significatifs. Cela nous encourage à poursuivre les inclusions afin d'augmenter la puissance de l'effectif étudié.

Il existe plusieurs limites à notre étude, outre cette faible taille de l'échantillon exploré, en partie due aux difficultés de recrutement durant la pandémie de covid-19. Le groupe contrôle est constitué de patients présentant une cataracte d'indication chirurgicale. On ne peut donc pas considérer les patients inclus dans ce groupe comme totalement sains à proprement parler. Une perturbation dans ce groupe du métabolisme de la vitamine B3 ou du métabolisme de manière plus générale pourrait fausser les résultats. Les patients glaucomateux ont des traitements locaux ou généraux pouvant parfois influencer les résultats. Par exemple, nous avons voulu limiter le nombre de patients sous statines mais ils représentaient près de 30% du total des patients. La séparation en groupes de glaucomes de sévérité différente repose sur les derniers champs visuels et est parfois difficile à établir en l'absence d'un suivi régulier. Enfin, beaucoup de patients prennent des compléments alimentaires en automédication et l'interrogatoire est souvent insuffisant pour infirmer la prise de nicotinamide présent dans de nombreux composés polyvitamiques, sans que les patients n'en connaissent la présence. Enfin, il faut sans doute noter l'hétérogénéité des patients sur le plan métabolique, compte tenu de leurs comorbidités respectives, et leurs différences de mode de vie et d'alimentation. Il est probable que cette hétérogénéité puisse masquer certaines caractéristiques métaboliques dues au glaucome, et donc abaisser la puissance statistique de notre étude,

Concernant le nicotinamide, une étude réalisée dans un modèle murin de glaucome et publiée dans Science en 2017 a révélé son importance tant sur le plan physiopathologique que thérapeutique. Deux premiers essais pilotes ont montré des résultats encourageants qui seront testés à plus large échelle dans les nombreux essais qui se mettent en place dans le monde. Notre équipe à Angers a été la première à mettre en évidence un déficit en nicotinamide dans le sang des patients glaucomateux et une nouvelle étude vient de révéler que ce déficit était aussi présent dans l'humeur aqueuse. Le dosage de cette vitamine aurait donc un intérêt comme facteur de risque prédisposant au glaucome. Cependant, comme le montre le présent travail nous risquons de nous heurter à la grande hétérogénéité du taux de nicotinamide sanguin chez les individus, d'autant plus qu'il est souvent présent dans les compléments alimentaires sans que les patients le sache réellement. La question que nous avons posée dans ce travail était de déterminer si les formes les plus sévères étaient associées à une carence plus importante en nicotinamide ce qui irait dans le sens de son importance physiopathologique. La tendance à un taux plus bas chez les patients les plus sévères que nous observons et que nous devons essayer de confirmer sur un plus large effectif, semble aller dans le sens de cette hypothèse. Outre l'augmentation des effectifs, il vaudrait mieux pouvoir contrôler les traitements et compléments alimentaires pris par les patients pour limiter ce biais potentiel.

Concernant la métabolomique, elle émerge comme une approche prometteuse pour comprendre la physiopathologie du glaucome. En analysant les différents liquides et tissus biologiques, la métabolomique offre une image globale des altérations métaboliques pouvant précéder la maladie et pouvant contribuer à son développement. Les avancées scientifiques dans la détection de métabolites, notamment en spectrométrie de masse mais aussi le développement de bases de données ont permis de faire avancer la recherche. Cela permet donc de discuter de nouvelles stratégies diagnostiques avec de nouveaux biomarqueurs ou de

développer de nouvelles thérapeutiques ciblées. Par exemple, notre équipe a identifié pour la première fois le déficit en nicotinamide du glaucome par une approche métabolomique sans a priori au départ. Nous avons identifié plusieurs métabolites dont les concentrations varient en fonction du stade de gravité du glaucome. Leurs valeurs sont significatives en analyse univariée, sans toutefois passer le seuil très stringent de la correction du risque alpha. L'approche « machine learning » a permis d'identifier un modèle de prédiction du groupe de sévérité avec un AUC de 0,6. Cet AUC est modeste mais il nous encourage à augmenter la puissance de l'étude. Là encore, cette étude des profils métabolomiques devra donc se poursuivre sur un effectif plus large et des sous-groupes de sévérité plus homogènes.

En conclusion, le glaucome est un ensemble de maladies dont la physiopathogénie n'est pas encore totalement élucidée. La forme majoritaire, le glaucome à angle ouvert est lié à plusieurs dysfonctionnements qui s'opèrent dans un premier temps à une échelle locorégionale avec des modifications anatomiques et physiologiques des structures telles que le trabéculum, la neurorétine, la lame criblée et à dans un second temps à une échelle cellulaire avec des anomalies métaboliques au sein des cellules ganglionnaires. Le but de notre étude était d'étudier les différents métabolites sanguins afin de déterminer s'il existait un profil spécifique chez les patients glaucomateux en fonction de leur groupe de sévérité. Elle n'a pas mis en évidence de différence statistiquement significative mais une tendance à un taux plus bas de nicotinamide dans le glaucome sévère semble se dégager, ainsi qu'une tendance à l'existence de profils métabolomiques spécifiques liés à la sévérité. Ces travaux doivent se poursuivre en augmentant les effectifs et en essayant de constituer des groupes de patients les plus homogènes possible.

BIBLIOGRAPHIE

1. GBD 2019 Blindness and Vision Impairment Collaborators, Vision Loss Expert Group of the Global Burden of Disease Study. Causes of blindness and vision impairment in 2020 and trends over 30 years, and prevalence of avoidable blindness in relation to VISION 2020: the Right to Sight: an analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet Glob Health*. févr 2021;9(2):e144-60.
2. Quigley HA. Number of people with glaucoma worldwide. *Br J Ophthalmol*. 1 mai 1996;80(5):389-93.
3. Nduaguba C, Lee RK. Glaucoma screening: current trends, economic issues, technology, and challenges. *Curr Opin Ophthalmol*. avr 2006;17(2):142-52.
4. Haute Autorité de Santé [Internet]. [cité 17 sept 2023]. Dépistage et diagnostic précoce du glaucome : problématique et perspectives en France. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/c_500229/fr/depistage-et-diagnostic-precoce-du-glaucome-problematique-et-perspectives-en-france
5. Tektas OY, Lütjen-Drecoll E. Structural changes of the trabecular meshwork in different kinds of glaucoma. *Exp Eye Res*. 30 avr 2009;88(4):769-75.
6. Beneyto Martin P, Fernández Vila PC, Pérez Martinez TM, Aliseda Pérez D. A fluorophotometric study on the aqueous humor dynamics in primary open angle glaucoma. *Int Ophthalmol*. sept 1992;16(4-5):311-4.
7. Yang X, Liu B, Bai Y, Chen M, Li Y, Chen M, et al. Elevated pressure downregulates ZO-1 expression and disrupts cytoskeleton and focal adhesion in human trabecular meshwork cells. *Mol Vis*. 16 nov 2011;17:2978-85.
8. Taurone S, Ripandelli G, Pacella E, Bianchi E, Plateroti AM, De Vito S, et al. Potential regulatory molecules in the human trabecular meshwork of patients with glaucoma: Immunohistochemical profile of a number of inflammatory cytokines. *Mol Med Rep*. 1 févr 2015;11(2):1384-90.
9. Chidlow G, Wood JPM, Casson RJ. Investigations into Hypoxia and Oxidative Stress at the Optic Nerve Head in a Rat Model of Glaucoma. *Front Neurosci*. 24 août 2017;11:478.
10. Bastelica P, Labbé A, El Maftouhi A, Hamard P, Paques M, Baudouin C. Rôle de la lame criblée dans la pathogenèse du glaucome. Une revue de la littérature. *J Fr Ophtalmol*. 1 oct 2022;45(8):952-66.
11. Agostinone J, Di Polo A. Chapter 10 - Retinal ganglion cell dendrite pathology and synapse loss: Implications for glaucoma. In: Bagetta G, Nucci C, éditeurs. *Progress in Brain Research [Internet]*. Elsevier; 2015 [cité 1 oct 2023]. p. 199-216. (New Trends in Basic and Clinical Research of Glaucoma: A Neurodegenerative Disease of the Visual System, Part A; vol. 220). Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079612315000692>
12. Gupta N, Yücel YH. What Changes Can We Expect in the Brain of Glaucoma Patients?

Surv Ophthalmol. 1 nov 2007;52(6, Supplement):S122-6.

13. Chrysostomou V, Rezaie F, Truance IA, Crowston JG. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in glaucoma. *Curr Opin Pharmacol*. 1 févr 2013;13(1):12-5.

14. Osborne NN. Pathogenesis of ganglion "cell death" in glaucoma and neuroprotection: focus on ganglion cell axonal mitochondria. In: Nucci C, Cerulli L, Osborne NN, Bagetta G, éditeurs. *Progress in Brain Research* [Internet]. Elsevier; 2008 [cité 17 août 2023]. p. 339-52. (Glaucoma: An Open Window to Neurodegeneration and Neuroprotection; vol. 173). Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079612308011242>

15. Rapport SFO 2014 - Glaucome primitif à angle ouvert .

16. Bertaud S, Aragno V, Baudouin C, Labbé A. [Primary open-angle glaucoma]. *Rev Med Interne*. juill 2019;40(7):445-52.

17. Konstas AG, Maskaleris G, Gratsonidis S, Sardelli C. Compliance and viewpoint of glaucoma patients in Greece. *Eye Lond Engl*. oct 2000;14 Pt 5:752-6.

18. Inserm [Internet]. [cité 19 août 2023]. Glaucome · Inserm, La science pour la santé. Disponible sur: <https://www.inserm.fr/dossier/glaucome/>

19. Poulsen P, Buchholz P, Walt J, Christensen TL, Thygesen J. Cost analysis of glaucoma-related-blindness in Europe. *Int Congr Ser*. 1 sept 2005;1282:262-6.

20. Lindon JC, Nicholson JK, Holmes E. *The Handbook of Metabonomics and Metabolomics*. Elsevier; 2011. 573 p.

21. Chance B, Williams GR. RESPIRATORY ENZYMES IN OXIDATIVE PHOSPHORYLATION. *J Biol Chem*. nov 1955;217(1):383-93.

22. Wishart DS. Metabolomics for Investigating Physiological and Pathophysiological Processes. *Physiol Rev*. oct 2019;99(4):1819-75.

23. Tan SZ, Begley P, Mullard G, Hollywood KA, Bishop PN. Introduction to metabolomics and its applications in ophthalmology. *Eye*. juin 2016;30(6):773-83.

24. Santiago AR, Garrido MJ, Cristóvão AJ, Duarte JMN, Carvalho RA, Ambrósio AF. Evaluation of the Impact of Diabetes on Retinal Metabolites by NMR Spectroscopy. *Curr Eye Res*. 1 nov 2010;35(11):992-1001.

25. Li M, Li H, Jiang P, Liu X, Xu D, Wang F. Investigating the pathological processes of rhegmatogenous retinal detachment and proliferative vitreoretinopathy with metabolomics analysis. *Mol Biosyst*. 1 avr 2014;10(5):1055-62.

26. Guo J, Yan T, Bi H, Xie X, Wang X, Guo D, et al. Plasma metabonomics study of the patients with acute anterior uveitis based on ultra-performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 1 juin 2014;252(6):925-34.

27. Osborn MP, Park Y, Parks MB, Burgess LG, Uppal K, Lee K, et al. Metabolome-Wide Association Study of Neovascular Age-Related Macular Degeneration. *PLOS ONE*. 27 août 2013;8(8):e72737.
28. Risa Ø, Sæther O, Midelfart A, Krane J, Čejková J. Analysis of immediate changes of water-soluble metabolites in alkali-burned rabbit cornea, aqueous humor and lens by high-resolution ¹H-NMR spectroscopy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 1 janv 2002;240(1):49-55.
29. Goncalves A, Milea D, Gohier P, Jallet G, Leruez S, Baskaran M, et al. Serum vitamin D status is associated with the presence but not the severity of primary open angle glaucoma. *Maturitas*. 1 août 2015;81(4):470-4.
30. Mace T. Relation entre glaucome primitif à angle ouvert et vitamine D : résultats de L'ETUDE EYE-D. Angers: Université Angers; 2021. p. 19.
31. Buisset A, Gohier P, Leruez S, Muller J, Amati-Bonneau P, Lenaers G, et al. Metabolomic Profiling of Aqueous Humor in Glaucoma Points to Taurine and Spermine Deficiency: Findings from the Eye-D Study. *J Proteome Res*. 1 mars 2019;18(3):1307-15.
32. Leruez S, Bresson T, Chao de la Barca JM, Marill A, de Saint Martin G, Buisset A, et al. A Plasma Metabolomic Signature of the Exfoliation Syndrome Involves Amino Acids, Acylcarnitines, and Polyamines. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 15 févr 2018;59(2):1025-32.
33. Leruez S, Marill A, Bresson T, de Saint Martin G, Buisset A, Muller J, et al. A Metabolomics Profiling of Glaucoma Points to Mitochondrial Dysfunction, Senescence, and Polyamines Deficiency. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 4 sept 2018;59(11):4355-61.
34. Kouassi Nzoughet J, Guehlouz K, Leruez S, Gohier P, Bocca C, Muller J, et al. A Data Mining Metabolomics Exploration of Glaucoma. *Metabolites*. févr 2020;10(2):49.
35. Kouassi Nzoughet J, Chao de la Barca JM, Guehlouz K, Leruez S, Coulbault L, Allouche S, et al. Nicotinamide Deficiency in Primary Open-Angle Glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 11 juin 2019;60(7):2509-14.
36. Milbeck SM, Bhattacharya SK. Alteration in Lysophospholipids and Converting Enzymes in Glaucomatous Optic Nerves. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 30 juin 2020;61(6):60.
37. Zeleznik O, Kang JH, Lasky-Su J, Eliassen AH, Frueh L, Clish C, et al. Plasma metabolomics of primary open-angle glaucoma in three prospective US cohorts and the UK Biobank [Internet]. *medRxiv*; 2022 [cité 1 mai 2023]. p. 2022.02.24.22271483. Disponible sur: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2022.02.24.22271483v1>
38. Wang Y, Hou XW, Liang G, Pan CW. Metabolomics in Glaucoma: A Systematic Review. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 6 mai 2021;62(6):9.
39. Aribindi K, Guerra Y, Lee RK, Bhattacharya SK. Comparative phospholipid profiles of control and glaucomatous human trabecular meshwork. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 30 avr

2013;54(4):3037-44.

40. Edwards G, Aribindi K, Guerra Y, Lee RK, Bhattacharya SK. Phospholipid profiles of control and glaucomatous human aqueous humor. *Biochimie*. 1 juin 2014;101:232-47.
41. Ho LTY, Osterwald A, Ruf I, Hunziker D, Mattei P, Challa P, et al. Role of the autotaxin-lysophosphatidic acid axis in glaucoma, aqueous humor drainage and fibrogenic activity. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 1 janv 2020;1866(1):165560.
42. Honjo M, Igarashi N, Kurano M, Yatomi Y, Igarashi K, Kano K, et al. Autotaxin-Lysophosphatidic Acid Pathway in Intraocular Pressure Regulation and Glaucoma Subtypes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1 févr 2018;59(2):693-701.
43. Barbosa-Breda J, Himmelreich U, Ghesquière B, Rocha-Sousa A, Stalmans I. Clinical Metabolomics and Glaucoma. *Ophthalmic Res*. 2018;59(1):1-6.
44. Aljohani AJ, Munguba GC, Guerra Y, Lee RK, Bhattacharya SK. Sphingolipids and ceramides in human aqueous humor. *Mol Vis*. 2013;19:1966-84.
45. Aljohani AJ, Edwards G, Guerra Y, Dubovy S, Miller D, Lee RK, et al. Human Trabecular Meshwork Sphingolipid and Ceramide Profiles and Potential Latent Fungal Commensalism. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 4 juin 2014;55(6):3413-22.
46. Cabrerizo J, Urcola JA, Vecino E. Changes in the Lipidomic Profile of Aqueous Humor in Open-Angle Glaucoma. *J Glaucoma*. 1 avr 2017;26(4):349-55.
47. Burgess LG, Uppal K, Walker DI, Roberson RM, Tran V, Parks MB, et al. Metabolome-Wide Association Study of Primary Open Angle Glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 30 juill 2015;56(8):5020-8.
48. Newman-Casey PA, Talwar N, Nan B, Musch DC, Stein JD. The Relationship Between Components of Metabolic Syndrome and Open-Angle Glaucoma. *Ophthalmology*. juill 2011;118(7):1318-26.
49. Wang S, Bao X. Hyperlipidemia, Blood Lipid Level, and the Risk of Glaucoma: A Meta-Analysis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1 mars 2019;60(4):1028-43.
50. Chen YY, Hu HY, Chu D, Chen HH, Chang CK, Chou P. Patients with Primary Open-Angle Glaucoma May Develop Ischemic Heart Disease More Often than Those without Glaucoma: An 11-Year Population-Based Cohort Study. *PloS One*. 2016;11(9):e0163210.
51. Pertl L, Mossböck G, Wedrich A, Weger M, Königsbrügge O, Silbernagel G, et al. Triglycerides and Open Angle Glaucoma – A Meta-analysis with meta-regression. *Sci Rep*. 10 août 2017;7:7829.
52. Umeno A, Tanito M, Kaidzu S, Takai Y, Horie M, Yoshida Y. Comprehensive measurements of hydroxylinoate and hydroxyarachidonate isomers in blood samples from primary open-angle glaucoma patients and controls. *Sci Rep*. 18 févr 2019;9(1):2171.

53. Zhou L, Li Y, Yue BY. Oxidative stress affects cytoskeletal structure and cell-matrix interactions in cells from an ocular tissue: the trabecular meshwork. *J Cell Physiol.* août 1999;180(2):182-9.
54. Koliakos GG, Befani CD, Mikropoulos D, Ziakas NG, Konstas AGP. Prooxidant-antioxidant balance, peroxide and catalase activity in the aqueous humour and serum of patients with exfoliation syndrome or exfoliative glaucoma. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 1 oct 2008;246(10):1477-83.
55. Munemasa Y, Ahn JH, Kwong JMK, Caprioli J, Piri N. Redox proteins thioredoxin 1 and thioredoxin 2 support retinal ganglion cell survival in experimental glaucoma. *Gene Ther.* janv 2009;16(1):17-25.
56. Majsterek I, Malinowska K, Stanczyk M, Kowalski M, Blaszczyk J, Kurowska AK, et al. Evaluation of oxidative stress markers in pathogenesis of primary open-angle glaucoma. *Exp Mol Pathol.* 1 avr 2011;90(2):231-7.
57. Nucci C, Di Pierro D, Varesi C, Ciuffoletti E, Russo R, Gentile R, et al. Increased malondialdehyde concentration and reduced total antioxidant capacity in aqueous humor and blood samples from patients with glaucoma. *Mol Vis.* 7 août 2013;19:1841-6.
58. Benoist d'Azy C, Pereira B, Chiambaretta F, Dutheil F. Oxidative and Anti-Oxidative Stress Markers in Chronic Glaucoma: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PloS One.* 2016;11(12):e0166915.
59. Kahn MG, Giblin FJ, Epstein DL. Glutathione in calf trabecular meshwork and its relation to aqueous humor outflow facility. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1 sept 1983;24(9):1283-7.
60. Tanito M, Kaidzu S, Takai Y, Ohira A. Association between systemic oxidative stress and visual field damage in open-angle glaucoma. *Sci Rep.* 11 mai 2016;6(1):25792.
61. Tanito M, Kaidzu S, Takai Y, Ohira A. Status of Systemic Oxidative Stresses in Patients with Primary Open-Angle Glaucoma and Pseudoexfoliation Syndrome. *PLOS ONE.* 26 nov 2012;7(11):e49680.
62. Tanito M, Kaidzu S, Takai Y, Ohira A. Correlation between Systemic Oxidative Stress and Intraocular Pressure Level. *PLOS ONE.* 17 juill 2015;10(7):e0133582.
63. Ramdas W, Schouten J, Webers C. The Effect of Vitamins on Glaucoma: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients.* 16 mars 2018;10(3):359.
64. The relation between dietary intake and glaucoma: a systematic review - Ramdas - 2018 - *Acta Ophthalmologica* - Wiley Online Library [Internet]. [cité 17 août 2023]. Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/aos.13662>
65. Vuković Arar Ž, Knežević Praveček M, Miškić B, Vataavuk Z, Vuković Rodriguez J, Sekelj S. Association between serum vitamin d level and glaucoma in women. *Acta Clin Croat.* 1 juin 2016;55.(2.):203-8.

66. Cho Y, Yun SP, Yoo WS, Kim RB, Cho MC, Kim SJ. Reduced 25-hydroxyvitamin D concentration in the aqueous humor of cataract patients with open-angle glaucoma. *Sci Rep.* 22 sept 2021;11(1):18785.
67. Yoo TK, Oh E, Hong S. Is vitamin D status associated with open-angle glaucoma? A cross-sectional study from South Korea. *Public Health Nutr.* avr 2014;17(4):833-43.
68. Kim HT, Kim JM, Kim JH, Lee MY, Won YS, Lee JY, et al. The Relationship between Vitamin D and Glaucoma: A Kangbuk Samsung Health Study. *Korean J Ophthalmol.* 6 déc 2016;30(6):426-33.
69. Abouzeid H, Samer CF. Vitamin D and Glaucoma: A Critical Review of the Literature. *J Ophthalmol.* 16 nov 2020;2020:e8071280.
70. Leite MT, Prata TS, Kera CZ, Miranda DV, De Moraes Barros SB, Melo Jr LA. Ascorbic acid concentration is reduced in the secondary aqueous humour of glaucomatous patients. *Clin Experiment Ophthalmol.* 2009;37(4):402-6.
71. Hysi PG, Khawaja AP, Menni C, Tamraz B, Wareham N, Khaw KT, et al. Ascorbic acid metabolites are involved in intraocular pressure control in the general population. *Redox Biol.* 1 janv 2019;20:349-53.
72. Zhou DB, Castanos MV, Geyman L, Rich CA, Tantraworasin A, Ritch R, et al. Mitochondrial Dysfunction in Primary Open-Angle Glaucoma Characterized by Flavoprotein Fluorescence at the Optic Nerve Head. *Ophthalmol Glaucoma.* 1 juill 2022;5(4):413-20.
73. Kamel K, Farrell M, O'Brien C. Mitochondrial dysfunction in ocular disease: Focus on glaucoma. *Mitochondrion.* 1 juill 2017;35:44-53.
74. John SW. Nutrition metabolism and glaucoma, lessons from mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 13 juill 2018;59(9):5348.
75. Durani Z, Gkotsi D, Chau D, Garway-Heath DF. The effects of Vitamin B3 on fibroblast mitochondrial function in glaucoma patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 13 juill 2018;59(9):6036.
76. Williams P, Harder J, Foxworth N, Cochran K, Philip V, Porciatti V, et al. Vitamin B 3 modulates mitochondrial vulnerability and prevents glaucoma in aged mice. *Science.* 17 févr 2017;355:756-60.
77. Williams PA, Harder JM, Cardozo BH, Foxworth NE, John SWM. Nicotinamide treatment robustly protects from inherited mouse glaucoma. *Commun Integr Biol.* 19 janv 2018;11(1):e1356956.
78. Chou TH, Romano GL, Amato R, Porciatti V. Nicotinamide-Rich Diet in DBA/2J Mice Preserves Retinal Ganglion Cell Metabolic Function as Assessed by PERG Adaptation to Flicker. *Nutrients.* 27 juin 2020;12(7):1910.
79. Zhang X, Zhang N, Chrenek MA, Girardot PE, Wang J, Sellers JT, et al. Systemic

Treatment with Nicotinamide Riboside Is Protective in Two Mouse Models of Retinal Ganglion Cell Damage. *Pharmaceutics*. 16 juin 2021;13(6):893.

80. Tribble JR, Otmani A, Sun S, Ellis SA, Cimaglia G, Vohra R, et al. Nicotinamide provides neuroprotection in glaucoma by protecting against mitochondrial and metabolic dysfunction. *Redox Biol.* juill 2021;43:101988.

81. De Moraes CG, John SWM, Williams PA, Blumberg DM, Cioffi GA, Liebmann JM. Nicotinamide and Pyruvate for Neuroenhancement in Open-Angle Glaucoma: A Phase 2 Randomized Clinical Trial. *JAMA Ophthalmol.* 1 janv 2022;140(1):11-8.

82. Improvement in inner retinal function in glaucoma with nicotinamide (vitamin B3) supplementation: A crossover randomized clinical trial - Hui - 2020 - Clinical & Experimental Ophthalmology - Wiley Online Library [Internet]. 2023 [cité 4 juin 2023]. Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/ceo.13818>

83. Leung CKS, Ren ST, Chan PPM, Wan KHN, Kam AKW, Lai GWK, et al. Nicotinamide riboside as a neuroprotective therapy for glaucoma: study protocol for a randomized, double-blind, placebo-control trial. *Trials*. 17 janv 2022;23:45.

84. Calandrella N, De Seta C, Scarsella G, Risuleo G. Carnitine reduces the lipoperoxidative damage of the membrane and apoptosis after induction of cell stress in experimental glaucoma. *Cell Death Dis.* 5 août 2010;1(8):e62.

85. Myer C, Perez J, Abdelrahman L, Mendez R, Khattri RB, Junk AK, et al. Differentiation of soluble aqueous humor metabolites in primary open angle glaucoma and controls. *Exp Eye Res.* 1 mai 2020;194:108024.

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Schéma de l'œil. D'après Dr Leninger.

Figure 2. Représentation de la tête du nerf optique. D'après Dr Al Bander.

Figure 3. Représentation schématique du nerf optique. D'après le rapport sur le Glaucome de la Société Française d'Ophtalmologie.

Figure 4. Représentation de la lame criblée. D'après le rapport sur le Glaucome de la Société Française d'Ophtalmologie.

Figure 5. Voies d'élimination de l'humeur aqueuse. D'après « The cataractcourse.com ».

Figure 6. Modélisation des grands mécanismes pathogéniques. D'après le rapport sur le Glaucome de la Société Française d'Ophtalmologie.

Figure 7. Schéma du principe de chromatographie. D'après « microbiologieclinique.fr »

Figure 8. Schéma du principe de la spectrométrie de masse. D'après Mr JF Perrin.

Figure 9. Résumé des points de droite de calibration obtenus au cours des 7 jours de validation pour le nicotinamide.

Figure 10. Résumé des points de droite de calibration obtenus au cours des 7 jours de validation pour le 1-méthylNicotinamide.

Figure 11. Comparaison de la concentration en Nicotinamide en analyse univariée et selon l'âge.

Figure 12. Comparaison de la concentration en 1-méthyl-nicotinamide en analyse univariée et selon l'âge.

Figure 13. Comparaison de la concentration en Nicotinamide/1-méthylNicotinamide en analyse univariée et selon l'âge.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Caractéristiques de l'examen ophtalmologique des patients glaucomateux versus les témoins.

Tableau 2. Caractéristiques démographiques et comorbidités des patients glaucomateux versus les témoins.

Tableau 3. Comparaison des données démographiques, des comorbidités et des antécédents ophtalmologiques entre les groupes de glaucome mineurs à modérés versus les glaucomes sévères.

Tableau 4. Caractéristiques démographiques et des comorbidités entre les groupes de glaucomes sévères et de patients témoins.

Tableau 5. Masse et voltage par composant.

Tableau 6. Paramètres de validation pour le nicotinamide.

Tableau 7. Paramètres de validation pour le 1-méthylnicotinamide.

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ABREVIATIONS	IX
RESUME	2
INTRODUCTION	3
1. Rappels anatomiques	4
2. Définitions.....	8
3. Glaucome à angle ouvert	10
3.1. Physiopathologie.....	11
3.2. Facteurs de risque	17
3.3. Traitement.....	18
3.4. Diagnostic et suivi	18
4. Introduction à la métabolomique	20
4.1. Définitions	20
4.2. Méthodologie	23
4.3. Contexte dans le service.....	26
4.4. Revue de la littérature sur le glaucome à angle ouvert.....	28
MÉTHODES	33
1. Population étudiée	33
2. Méthode du dosage du Nicotinamide et du MéthylNicotinamide.....	38
3. Méthode de l'analyse métabolomique.....	43
RÉSULTATS	45
1. Dosage du Nicotinamide et du MéthylNicotinamide	45
2. Analyse métabolomique	47
1. Glaucomes versus témoins	47
2. Glaucomes mineurs et modérés versus sévères	49
DISCUSSION ET CONCLUSION	52
BIBLIOGRAPHIE	56
LISTE DES FIGURES	63
LISTE DES TABLEAUX.....	64
TABLE DES MATIERES	65

Profil métabolomique chez les patients atteints de glaucome primitif à angle ouvert

RÉSUMÉ

Introduction : Le glaucome est l'une des premières causes de cécité dans le monde. Il s'agit d'un enjeu majeur de société par la gravité de la maladie et le coût qu'elle entraîne. La forme majoritaire est le glaucome à angle ouvert. Plusieurs mécanismes seraient intriqués, notamment le stress oxydatif, la baisse de la production énergétique via les mitochondries, le déficit en neurotrophines et la modification des tissus de soutien. Des études réalisées antérieurement dans le service ont montré des profils métaboliques spécifiques et un déficit en nicotinamide (vitamine B3) chez les sujets atteints de glaucome en comparaison aux témoins.

Sujets et Méthodes : Il s'agit d'une étude rétrospective portant sur les échantillons sanguins de patients inclus au sein d'une collection biologique par le service d'Ophthalmologie du CHU d'Angers. Les plasmas de 68 patients atteints de glaucome selon différents stades de sévérité ainsi que 23 patients témoins ont été inclus afin de déterminer s'il existe des différences de concentration en nicotinamide sanguin et de profil métabolique entre les différents stades du glaucome, en comparaison avec une population témoin.

Résultats : Une tendance à un taux plus bas de nicotinamide chez les glaucomes les plus sévères et l'existence de profils métaboliques distinguant les stades de sévérité ont été identifiés mais sans atteindre les seuils de significativité.

Conclusion : La taille de l'effectif exploré et l'hétérogénéité métabolique des patients ne nous ont pas permis d'obtenir des résultats significatifs mais la tendance observée nous encourage à poursuivre l'étude par l'augmentation de la taille de l'effectif étudié.

Mots-clés : glaucome, plasma, métabolomique, nicotinamide, spectrométrie de masse, chromatographie liquide, Angers

Metabolomic Profile in Patients with Primary Open-Angle Glaucoma

ABSTRACT

Introduction : Glaucoma is one of the leading causes of blindness worldwide. It represents a major societal concern due to the severity of the disease and the associated economic costs. The most common form is open-angle glaucoma. Several mechanisms are thought to be involved, including oxidative stress, decreased energy production via mitochondria, neurotrophin deficiency, and changes in supportive tissues. Previous studies conducted in the department have shown specific metabolic profiles and a deficiency in nicotinamide (vitamin B3) in individuals with glaucoma compared to controls.

Subjects and Methods : This is a retrospective study involving blood samples from patients included in a biological collection by the Department of Ophthalmology at Angers University Hospital. Plasma samples from 68 glaucoma patients at different stages of severity, as well as 23 control patients, were included to determine whether there are differences in blood nicotinamide concentration and metabolic profiles among different stages of glaucoma, compared to a control population.

Results : A trend towards lower nicotinamide levels in more severe cases of glaucoma and the presence of distinct metabolic profiles distinguishing severity stages were identified but did not reach the threshold of significance.

Conclusion : The sample size and metabolic heterogeneity of the patients did not allow us to obtain significant results, but the observed trend encourages us to continue the study by increasing the sample size.

Keywords : glaucoma, plasma, metabolomics, nicotinamide, mass spectrometry, liquid chromatography, Angers

