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 du Docteur 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 Cédric ANNWEILER
Vice-Doyen de la Faculté et directeur du département de pharmacie : Pr Sébastien FAURE
Directeur du département de médecine : Pr Vincent DUBEE

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
BELONCLE François	REANIMATION	Médecine
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	Médecine
BRIET Marie	PHARMACOLOGIE	Médecine
CAMPONE Mario	CANCEROLOGIE ; RADIOTHERAPIE	Médecine
CAROLI-BOSC François-Xavier	GASTROENTEROLOGIE ; HEPATOLOGIE	Médecine
CASSEREAU Julien	NEUROLOGIE	Médecine
CLERE Nicolas	PHARMACOLOGIE / PHYSIOLOGIE	Pharmacie
COLIN Estelle	GENETIQUE	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
DERBRE Séverine	PHARMACOGNOSIE	Pharmacie
DESCAMPS Philippe	GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE	Médecine
D'ESCATHA Alexis	MEDECINE ET SANTE AU TRAVAIL	Médecine

DINOMAIS Mickaël	MEDECINE PHYSIQUE ET DE READAPTATION	Médecine
DUBEE Vincent	MALADIES INFECTIEUSES ET TROPICALES	Médecine
DUCANCELLE Alexandra	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE ; HYGIENE HOSPITALIERE	Médecine
DUVERGER Philippe	PEDOPSYCHIATRIE	Médecine
EVEILLARD Matthieu	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
GUILET David	CHIMIE ANALYTIQUE	Pharmacie
HUNAULT-BERGER Mathilde	HEMATOLOGIE ; TRANSFUSION	Médecine
JEANNIN Pascale	IMMUNOLOGIE	Médecine
KAZOUR François	PSYCHIATRIE	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
LANDREAU Anne	BOTANIQUE/ MYCOLOGIE	Pharmacie
LASOCKI Sigismond	ANESTHESIOLOGIE-REANIMATION	Médecine
LEBDAI Souhil	UROLOGIE	Médecine
LEGENDRE Guillaume	GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE	Médecine
LEGRAND Erick	RHUMATOLOGIE	Médecine
LEMEE Jean-Michel	NEUROCHIRURGIE	Médecine
LERMITE Emilie	CHIRURGIE GENERALE	Médecine
LEROLLE Nicolas	REANIMATION	Médecine
LIBOUBAN Hélène	HISTOLOGIE	Médecine
LUQUE PAZ Damien	HEMATOLOGIE BIOLOGIQUE	Médecine
MARCHAIS Véronique	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE	Pharmacie
MARTIN Ludovic	DERMATO-VENEREOLOGIE	Médecine
MAY-PANLOUP Pascale	BIOLOGIE ET MEDECINE DU DEVELOPPEMENT ET DE LA REPRODUCTION	Médecine
MENEI Philippe	NEUROCHIRURGIE	Médecine
MERCAT Alain	REANIMATION	Médecine
ORVAIN Corentin	HEMATOLOGIE ; TRANSFUSION	Médecine
PAISANT Anita	RADIOLOGIE	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
PY Thibaut	MEDECINE GENERALE	Médecine
RAMOND-ROQUIN Aline	MEDECINE GENERALE	Médecine
REYNIER Pascal	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE	Médecine
RIOU Jérémie	BIOSTATISTIQUE	Pharmacie
RINEAU Emmanuel	ANESTHESIOLOGIE REANIMATION	Médecine
RIQUIN Elise	PEDOPSYCHIATRIE ; ADDICTOLOGIE	Médecine
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

AMMI Myriam	CHIRURGIE VASCULAIRE ET THORACIQUE	Médecine
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
BENOIT Jacqueline	PHARMACOLOGIE	Pharmacie
BERNARD Florian	ANATOMIE	Médecine
BESSAGUET Flavien	PHYSIOLOGIE PHARMACOLOGIE	Pharmacie
BLANCHET Odile	HEMATOLOGIE ; TRANSFUSION	Médecine
BOISARD Séverine	CHIMIE ANALYTIQUE	Pharmacie
BOUCHER Sophie	ORL	Médecine
BRIET Claire	ENDOCRINOLOGIE, DIABETE ET MALADIES METABOLIQUES	Médecine
BRILLAND Benoit	NEPHROLOGIE	Médecine
BRIS Céline	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE	Pharmacie
BRUGUIERE Antoine	PHARMACOGNOSIE	Pharmacie
CAPITAIN Olivier	CANCEROLOGIE ; RADIOTHERAPIE	Médecine
CHABRUN Floris	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE	Pharmacie
CHAO DE LA BARCA Juan-Manuel	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE	Médecine
CHOPIN Matthieu	MEDEECINE GENERALE	
CODRON Philippe	NEUROLOGIE	Médecine
DEMAS Josselin	SCIENCES DE LA READAPTATION	Médecine
DESHAYES Caroline	BACTERIOLOGIE VIROLOGIE	Pharmacie
DOUILLET Delphine	MEDECINE D'URGENCE	Médecine
FERRE Marc	BIOLOGIE MOLECULAIRE	Médecine
FORTRAT Jacques-Olivier	PHYSIOLOGIE	Médecine
GHALI Maria	MEDECINE GENERALE	Médecine
GUELFF Jessica	MEDECINE GENERALE	Médecine
HADJ MAHMOUD Dorra	IMMUNOLOGIE	Pharma
HAMEL Jean-François	BIOSTATISTIQUES, INFORMATIQUE MEDICALE	Médicale
HAMON Cédric	MEDECINE GENERALE	Médecine
HELESBEUX Jean-Jacques	CHIMIE ORGANIQUE	Pharmacie
HERIVAUX Anaïs	BIOTECHNOLOGIE	Pharmacie
HINDRE François	BIOPHYSIQUE	Médecine
JOUSSET-THULLIER Nathalie	MEDECINE LEGALE ET DROIT DE LA SANTE	Médecine
JUDALET-ILLAND Ghislaine	MEDECINE GENERALE	Médecine
KHIATI Salim	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE	Médecine
LEFEUVRE Caroline	BACTERIOLOGIE ; VIROLOGIE	Médecine
LEGEAY Samuel	PHARMACOCINETIQUE	Pharmacie
LEPELTIER Elise	CHIMIE GENERALE	Pharmacie
LETOURNEL Franck	BIOLOGIE CELLULAIRE	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
PAILHORIES Hélène	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE	Médecine
PAPON Xavier	ANATOMIE	Médecine
PASCO-PAPON Anne	RADIOLOGIE ET IMAGERIE MEDICALE	Médecine
PENCHAUD Anne-Laurence	SOCIOLOGIE	Médecine
PIHET Marc	PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE	Médecine
PIRAUX Arthur	OFFICINE	Pharmacie
POIROUX Laurent	SCIENCES INFIRMIERES	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

ATER		
BARAKAT Fatima	CHIMIE ANALYTIQUE	Pharmacie
ATCHADE Constantin	GALENIQUE	Pharmacie
PRCE		
AUTRET Erwan	ANGLAIS	Santé
BARBEROUSSE Michel	INFORMATIQUE	Santé
COYNE Ashley	ANGLAIS	Santé
O'SULLIVAN Kayleigh	ANGLAIS	Santé
RIVEAU Hélène	ANGLAIS	
PAST-MAST		
AUBRUCHET Hélène		
BEAUVAIS Vincent	OFFICINE	Pharmacie
BRAUD Cathie	OFFICINE	Pharmacie
CAVAILLON Pascal	PHARMACIE INDUSTRIELLE	Pharmacie
DILÉ Nathalie	OFFICINE	Pharmacie
GUILLET Anne-Françoise	PHARMACIE DEUST PREPARATEUR	Pharmacie
MOAL Frédéric	PHARMACIE CLINIQUE	Pharmacie
CHAMPAGNE Romain	MEECINE PHYSIQUE ET READAPTATION	Médecine
KAASSIS Mehdi	GASTRO-ENTEROLOGIE	Médecine
GUITTON Christophe	MEDECINE INTENSIVE-REANIMATION	Médecine
LAVIGNE Christian	MEDECINE INTERNE	Médecine
PICCOLI Giorgina	NEPHROLOGIE	Médecine

POMMIER Pascal	CANCEROLOGIE-RADIOTHERAPIE	Médecine
SAVARY Dominique	MEDECINE D'URGENCE	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 et de m'avoir tant appris.

Je remercie également Monsieur REYNIER, qui m'a beaucoup aidée pour ce projet ces derniers mois. Merci pour ses conseils, sa patience et son engagement pour la thèse.

Merci à mes chers Maîtres ici présents, Angélique CAIGNARD et Adam MAINGUY, d'avoir accepté d'être membres du jury.

Merci à Jeanne MULLER, Cinzia BOCCA et Mathieu MICHEL pour leur immense implication dans ce projet.

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

Merci à mes co-internes du service pour leur présence depuis plusieurs années : Guillaume, Camille, Benjamin, Laurie, Thibault, Anaïs, Anne-Laure, Marin, Aude, Tristan, Alix, Majid, Mathieu, Anthony, Arthur, Mohamed, Juliette, Cyrille, Godefroy, Jofrey, Jérôme.
Yasmina et Marion, merci pour tous ces fous rires, j'ai hâte de travailler à nouveau avec vous.

Merci aux paramédicaux du service : Maryline, Laurence, Mélanie, Agnès, Lucie, Monique, Élisabeth, et aux IBODE : Romain, Laurine, Roxane.

Merci aux orthoptistes : Yann, Élise, Morgane, Audrey, Cassandra, Amandine, Arnaud, Perrine.

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

À ma mère, Rahamatou Madeleine GARBA, et mon père, Sinaly OUATTARA, sans qui je ne serais pas là, qui m'ont toujours poussée à faire au mieux, dans la simplicité et la générosité.
À ma grand-mère, Martine, qui ne vit que pour sa famille.
À ma sœur, Mariam et à mon frère, Ousmane, présents depuis toujours, pour le pire et surtout le meilleur.

Au reste de la famille, ici et là-bas.

À mes amies d'enfance: Mariama, Anissa, Renée, Béatrice.
À mes amis du collège et du lycée, malgré nos parcours différents, j'espère vous avoir toujours à mes côtés : Behia, Suzanne, Axelle, Amine, Justine, Juliette, Clara, Nolwenn, Kevin, Myriam.
Aux copains de la faculté, ces années sont passées très vite grâce à vous. Je suis fière de nous tous : Hajar, Ebru, Léa, Rafaëlle, Ryma, Nawel, Cécile, Léa, Shabnam, Sangsong, Zoé, Paul, Tristan, Valentine, Léo, Laure, Pierre, Sana, Bertille, Clémentine, Emmanuelle, Cindy, Sofia, Tahra.
Aux copains de l'internat, pour leur présence, leur aide et tous ces moments passés ensemble : Fériel, Adèle, Loïc, Delphine, Clémentine, Sarah, Jean, Léa et tous les autres.

Un grand merci à vous tous, qui m'avez façonnée au cours de toutes ces années.

« La meilleure façon de prédire l'avenir est de l'inventer. » — Alan Kay

Liste des abréviations

AIF	Apoptosis-inducing Factor
ATP	Adénosine TriPhosphate
AV	Acuité Visuelle
BDNF	Brain-derived Neurotrophic Factor
DMLA	Dégénérescence Maculaire Liée à l'Age
EI	Electron Ionisation
GCAO	Glaucome chronique à angle ouvert
IL-6	Interleukine 6
IMC	Indice de Masse Corporelle
LOD	Limite de Détection
LOQ	Limite de Quantification
LLOQ	Limite basse de quantification
MD	Mean Deviation
MIGS	Minimally Invasive Glaucoma Surgery
MNR	Nuclear Magnetic Resonance
MS	Mass Spectrometry
NAD	Nicotinamide Adénine Dinucléotide
NGF	Nerve Growth Factor
PCA	Analyse en composante principale
PIO	Pression intraoculaire
QC	Quality Control
RNFL	Retinal Nerve Fiber Layer
SLT	Selective Laser trabeculoplasty
TGFB-1	Transforming Growth Factor Beta
TNF-α	Tumeur Necrosis Factor Alpha

Plan

SERMENT D'HIPPOCRATE

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

RESUME

INTRODUCTION

1. Rappels anatomiques
1.1. Segment antérieur
1.1.1. Cornée et cristallin
1.1.2. Uvée
1.2. Segment postérieur
1.2.1. Vitré
1.2.2. Rétine
1.2.3. Sclère péripapillaire
1.2.4. Nerf optique

2. Définitions : un glaucome ou des glaucomes ?
2.1. Glaucomes à angle ouvert
2.2. Glaucomes à angle fermé
2.3. Glaucome congénital
2.4. Diagnostics différentiels

3. Glaucome à angle ouvert
3.1. Physiopathologie
3.1.1. Homéostasie de la pression intraoculaire
3.1.2. Pathogénèse
3.2. Facteurs de risque
3.3. Traitement
3.4. Diagnostic et suivi

4. Introduction métabolomique
4.1. Définitions
4.2. Méthodologie en métabolomique
4.2.1. Chromatographie
4.2.2. Spectrométrie de masse
4.2.3. Spectroscopie
4.2.4. Limites et perspectives
4.3. Contexte dans le service
4.4. Revue de la littérature des études concernant le glaucome à angle ouvert
4.4.1. Lipides
4.4.2. Stress oxydatif
4.4.3. Vitamines et oligoéléments
4.4.4. Dysfonction mitochondriale
4.4.5. Nicotinamide
4.4.6. Acides aminés

MÉTHODES

1. Population étudiée
2. Méthode de dosage du nicotinamide et du 1-méthylnicotinamide
3. Méthode de l'analyse métabolomique

RÉSULTATS

1. Dosage du Nicotinamide et du Méthylnicotinamide
2. Analyse métabolomique

2.1. Glaucome versus témoins
2.2. Glaucomes mineurs à 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 À 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 en raison de la gravité de la maladie et du 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 des 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, ainsi que l'existence de profils métaboliques distinguant les stades de sévérité, ont été identifiées, 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, devant 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 (2). Sa prévalence varie de 0,7 à 7 % selon les études et les populations étudiées. Par exemple, en Inde, elle est estimée à 2,2 % de la population, en Afrique du Sud à 5,3 %, et aux États-Unis à 1,86 % (3). Ces différences s'expliquent par des méthodologies et des définitions non uniformes, mais aussi par une prévalence qui varie selon les populations.

En France, on estime 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 terme « glaucome » désigne un ensemble de maladies neurodégénératives, associant des altérations structurelles (perte des cellules ganglionnaires, altération de l'aspect du nerf optique), d'éventuelles altérations fonctionnelles (acuité visuelle, sensibilité visuelle), et une pression intraoculaire normale ou élevée.

1. Rappels anatomiques

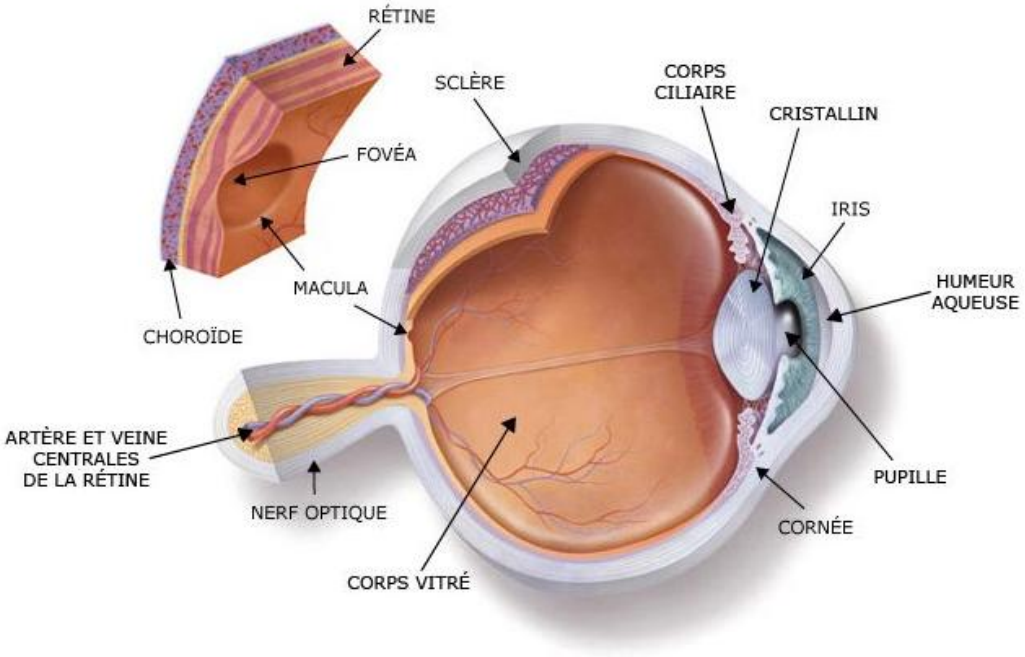


Figure 1. Schéma de l'oeil. D'après Dr Leninger.

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 y est convertie en signal électrique, transmis au système nerveux central via le nerf optique, pour être ensuite intégré au niveau cérébral.

On sépare souvent l'œil en deux portions : d'une part, le segment antérieur, comprenant la cornée, l'iris, le cristallin, les corps ciliaires et la chambre antérieure contenant l'humeur aqueuse ; d'autre part, le segment postérieur, composé du vitré, de la rétine et de la choroïde. On peut également diviser l'œil en trois couches distinctes : sclère, uvée et rétine (Figure 1).

1.1. Segment antérieur

1.1.1. Cornée et cristallin

La cornée est une lentille puissante, transparente et avasculaire, enchâssée dans la partie antérieure de la sclère au niveau du limbe cornéen, avec une forme de hublot. Elle joue un rôle indispensable dans la vision. Son épaisseur (pachymétrie) peut varier d'un individu à l'autre.

Le cristallin est une lentille également puissante, permettant l'accommodation grâce à l'action du muscle ciliaire.

1.1.2. Uvée

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

L'iris est un véritable diaphragme circulaire, ouvert en son centre par la pupille, qui contrôle la quantité de lumière pénétrant dans l'œil.

Le corps ciliaire est composé des procès ciliaires 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 via la zonule.

1.2. Segment postérieur

1.2.1. Vitré

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 oculaire, et en jouant un rôle nutritif.

Le vitré ne se renouvelle pas et ne participe pas à l'homéostasie de la pression intraoculaire.

1.2.2. Rétine

La rétine tapisse la sclère sur sa face interne, en avant de la choroïde (tissu vasculaire nourricier pour la partie externe de la rétine). C'est un tissu à activité métabolique élevée, nécessitant une forte consommation d'oxygène.

Elle se compose de la rétine neurosensorielle et de l'épithélium pigmentaire.

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

La rétine neurosensorielle est formée de plusieurs couches bien distinctes, composées de différentes cellules impliquées dans la transmission de l'information visuelle :

- Couche des photorécepteurs : segments externes et internes des photorécepteurs (cônes et bâtonnets)
- Couche nucléaire externe : corps cellulaires des photorécepteurs
- Couche plexiforme externe : jonctions entre les photorécepteurs et les cellules bipolaires
- Couche nucléaire interne : corps cellulaires des cellules bipolaires, horizontales, amacrines, ainsi que des cellules de Müller
- Couche plexiforme interne : synapses des cellules bipolaires avec les cellules ganglionnaires
- Couche des cellules ganglionnaires : corps cellulaires des cellules ganglionnaires
- Couche des fibres nerveuses : axones des cellules ganglionnaires

De plus, on retrouve des cellules gliales : les cellules de Müller, les cellules de la microglie et les astrocytes, qui ont des rôles neuroprotecteurs et neurotrophiques, et participent à l'homéostasie locale ainsi qu'à la constitution de la barrière hémato-rétinienne.

La rétine contient environ 1 million de fibres nerveuses, concentrées pour la plupart dans la macula, zone assurant l'essentiel de la vision.

Ces fibres convergent vers la papille, ou tête du nerf optique (Figure 2). L'aspect de la papille varie selon les individus, notamment en termes de taille, d'orientation, d'excavation et d'anneau neurorétinien.

L'excavation correspond à la partie centrale dépourvue de 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 contenant les fibres nerveuses. On parle souvent de rapport cup/disc (rapport entre la taille de l'excavation verticale et celle du diamètre total vertical) pour décrire l'aspect de la papille.

Un rapport cup/disc supérieur à 0,7 ou une asymétrie constituent un facteur de risque de développement d'un glaucome.

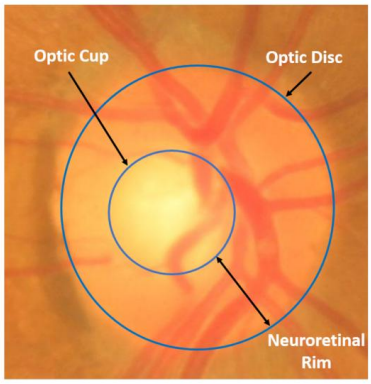


Figure 2. Représentation de la tête du nerf optique. D'après Dr Al Bander.

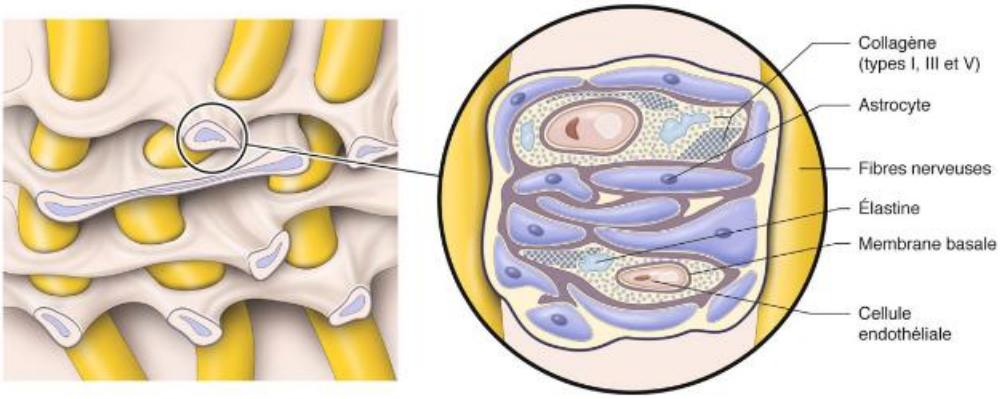


Figure 3. Représentation de la lame criblée. D'après le Rapport sur le Glaucome de la Société Française d'Ophtalmologie.

1.2.3. Sclère péripapillaire

La sclère constitue l'enveloppe protectrice de l'œil et permet de maintenir sa forme ainsi que son tonus. Elle est perforée par la lame criblée, qui permet aux fibres nerveuses et aux troncs vasculaires de cheminer vers l'arrière.

La lame criblée est composée de plusieurs lamelles de tissu conjonctif poreux, constitué de collagène et d'élastine, au travers desquelles passent les fibres nerveuses (Figure 3).

Il s'agit d'une zone jouant un rôle trophique, avec la présence de cellules gliales (astrocytes) et de microvaisseaux.

C'est également une zone de vulnérabilité anatomique majeure pour le nerf optique, où des contraintes mécaniques peuvent s'exercer sur les fibres nerveuses.

1.2.4. Nerf optique

On peut diviser le nerf optique en trois portions, selon sa relation avec la lame criblée : une portion pré-laminaire (tête du nerf optique), une portion laminaire et une portion rétro-laminaire. Dans sa portion rétro-laminaire, les axones du nerf optique deviennent myélinisés par les oligodendrocytes.

Le nerf est entouré par les gaines du système nerveux central : de l'extérieur vers l'intérieur, la dure-mère, l'arachnoïde et la pie-mère, cette dernière étant baignée par le liquide céphalorachidien.

Le nerf optique pénètre la boîte crânienne via le canal optique de l'os sphénoïde.

Les axones décussent plus ou moins au niveau du chiasma optique, pour se projeter sur les voies ipsilatérales ou controlatérales, avant de faire synapse dans le corps géniculé latéral.

L'information est ensuite transmise à d'autres structures cérébrales, notamment les cortex visuels primaires et secondaires.

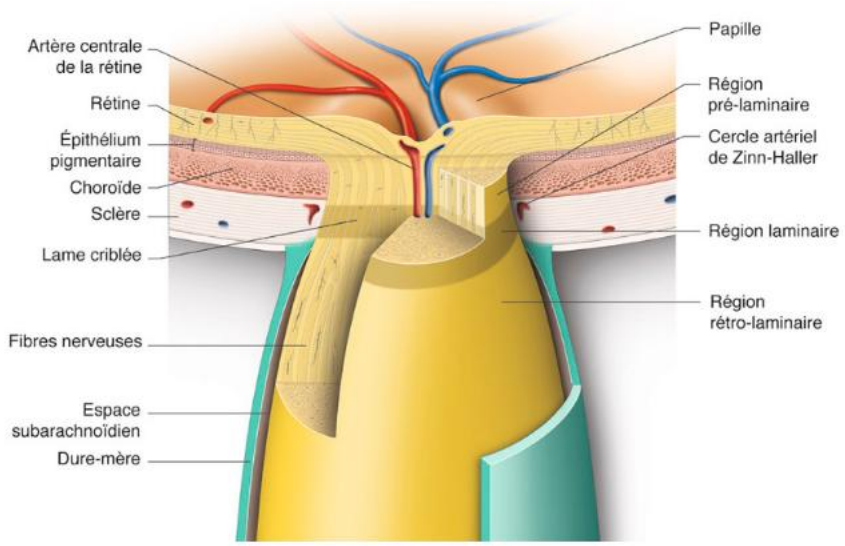


Figure 4. Représentation schématique du nerf optique. D'après le rapport sur le Glaucome de la Société Française d'Ophtalmologie.

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 aux mécanismes variés. L'augmentation de la pression intraoculaire y est souvent associée.

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

2.1. 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 et 18 ans.
- Le glaucome à angle ouvert secondaire, lié 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, le glaucome néovasculaire, le glaucome tumoral, etc.

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

2.2. Glaucomes à angle fermé

On distingue :

- Le glaucome à angle fermé primaire, caractérisé par un angle iridocornéen étroit, en lien avec une anomalie anatomique idiopathique pouvant toucher l'iris, les corps ciliaires ou le cristallin.
- Le glaucome à angle fermé secondaire, lié à une pathologie, qui peut être : une sécclusion pupillaire, un syndrome iridocornéen, une tumeur, une luxation du cristallin, un syndrome uvéal, etc.

2.3. Glaucome congénital

Il débute généralement avant l'âge de 3 ans. On observe le plus souvent une malformation de l'angle iridocornéen. La plupart des cas sont sporadiques, mais environ 30 % sont héréditaires, avec une transmission autosomique récessive. Il peut être secondaire à des pathologies systémiques responsables d'anomalies iridocornéennes.

2.4. Diagnostics différentiels

Il est important de différencier une hypertonie oculaire simple d'un glaucome. En effet, le diagnostic de glaucome repose, par définition, sur l'association d'une hypertonie oculaire et d'une atteinte des cellules nerveuses rétiniennes, avec ou sans atteinte fonctionnelle. On estime que 2 à 9 % des sujets hypertones développeront un glaucome par la suite (4).

Il faut également distinguer les glaucomes des autres neuropathies optiques. L'atrophie des nerfs optiques et l'atteinte du champ visuel peuvent être retrouvées dans d'autres pathologies. L'interrogatoire, le contexte clinique, l'examen du fond d'œil (aspect de l'excavation, pâleur de la papille), l'évaluation de l'acuité visuelle, du 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 désormais le terme "glaucome" pour désigner le glaucome à angle ouvert, afin de 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 constate une atteinte du champ visuel, touchant d'abord la périphérie, avec une évolution centripète. À long terme, on peut observer un champ visuel tubulaire, qui peut lui-même être altéré par la suite. 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, il s'agit d'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, sous le contrôle du système sympathique via les nerfs ciliaires. Sa composition diffère de celle du plasma sanguin en raison 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. En effet, elle contient un excès d'acide ascorbique, d'acide lactique et d'ions chlorure, tandis que les taux de sodium, bicarbonate, dioxyde de carbone et glucose y sont plus faibles par rapport au plasma. Elle joue un rôle majeur dans l'apport de protéines essentielles et dans l'élimination des produits du métabolisme pour l'ensemble des structures intraoculaires du segment antérieur, notamment les structures avasculaires telles que la cornée et le cristallin. L'humeur aqueuse véhicule également un ensemble de chimiokines pouvant agir sur les différents tissus.

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

D'une part, la sécrétion continue de l'humeur aqueuse suit un rythme nycthéméral, principalement médié par le système sympathique. De nombreux facteurs peuvent influencer son débit, notamment l'âge, une inflammation locale des corps ciliaires, ainsi que 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, suivant un gradient de pression.

La voie trabéculaire est la voie majeure, représentant 70 à 90 % du drainage. Elle s'effectue via le trabéculum, un tissu conjonctif lamellaire et lacunaire composé de collagène et d'élastine,

entouré de cellules endothéliales trabéculaires, situé à l'angle entre l'iris et la cornée (angle iridocornéen). L'humeur aqueuse est ensuite évacuée dans le canal de Schlemm, un drain circulaire à l'arrière de la cornée, puis rejoint la circulation générale via les veines aqueuses. Les pores du trabéculum peuvent se resserrer ou s'ouvrir en fonction de certains stimuli pharmacologiques, en particulier adrénergiques. Par exemple, les agonistes des récepteurs bêta-adrénergiques entraînent l'ouverture des pores, tandis que les prostaglandines modifient la matrice extracellulaire. Le trabéculum est riche en microfilaments d'actine situés sur les membranes des cellules endothéliales trabéculaires, protéine qui permet aux cellules de se rapprocher ou de s'amarrer à la matrice extracellulaire. Ainsi, le trabéculum est un tissu contractile et dynamique, régulant l'écoulement de l'humeur aqueuse par gradient de pression. Le muscle ciliaire participe également à ce mécanisme : sa contraction étire le trabéculum (5). La voie uvéosclérale, voie mineure, représente 10 à 30 % du drainage. Elle est médiée par le passage de l'humeur aqueuse à travers les 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, avant d'être drainée par les vaisseaux lymphatiques de la conjonctive. Cette voie diminue avec l'âge.

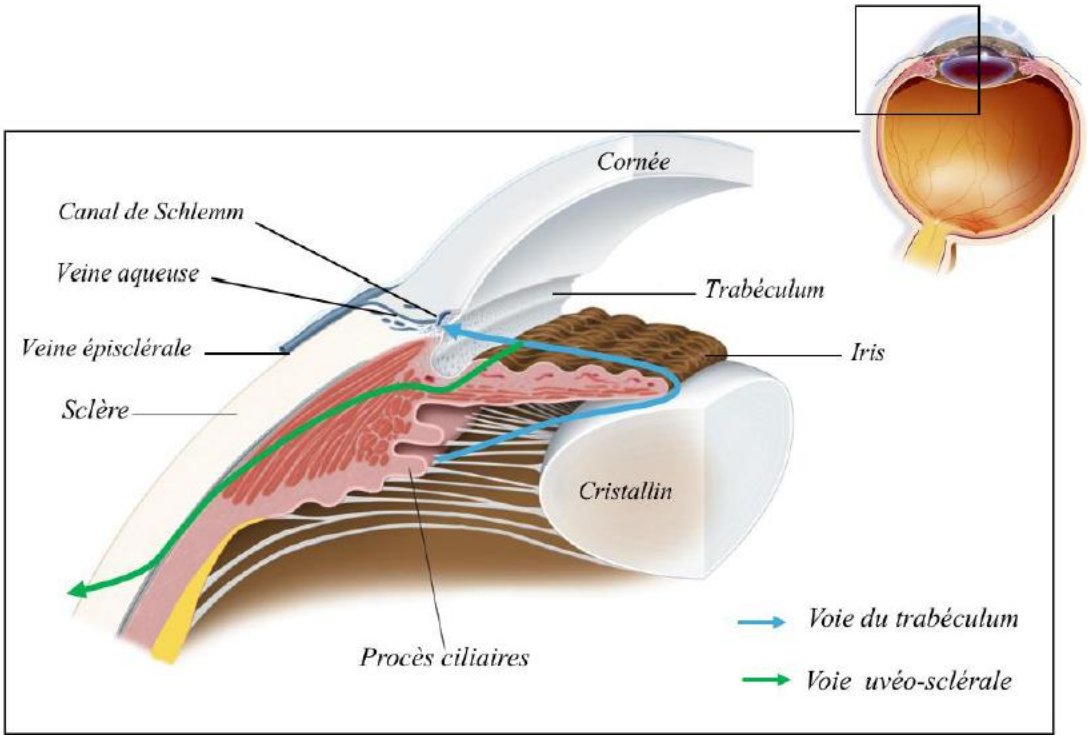


Figure 5. Voies d'élimination de l'humeur aqueuse. D'après « Thecataractcourse.com ».

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 impliqués dans la physiopathogénie du glaucome à angle ouvert. La neuropathie est généralement précédée d'une élévation de la pression intraoculaire. D'une part, une mort cellulaire trabéculaire précoce pourrait survenir chez les patients glaucomateux en raison de modifications structurelles affectant leur adhérence à la matrice extracellulaire et aux jonctions serrées (7). On observe également dans le trabéculum une augmentation des fibroblastes activés, des macrophages, des neutrophiles, associée à des cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-6, l'IL-1β, le TNF-α, et le TGF-β1. Ces facteurs sont responsables d'une dérégulation endothéliale, d'une fibrose par épaississement de certaines fibres élastiques de collagène, et d'un remodelage de la matrice extracellulaire, entraînant une

obstruction progressive du trabéculum (5,8). Ces modifications anatomiques augmenteraient la résistance à l'écoulement de l'humeur aqueuse, conduisant ainsi à l'hypertonie oculaire.

D'autre part, la théorie biomécanique propose un lien entre l'hypertonie oculaire, qui exerce des contraintes mécaniques sur les axones au niveau de la lame criblée (compression, cisaillement et torsion), et une hypoxie locale secondaire à une ischémie des capillaires de la tête du nerf optique, de la lame criblée et de la rétine péripapillaire. Celle-ci résulterait d'une hypoperfusion chronique ou de phénomènes de vasospasme, induisant un stress cellulaire (9). De plus, des modifications anatomiques sont observées au sein de la lame criblée, telles qu'un collapsus des feuillets avec un déplacement postérieur, un remodelage lié à l'altération des fibres d'élastine, ainsi que des modifications métaboliques et vasculaires survenant dès les premiers stades du glaucome (10).

Par ailleurs, les éléments de soutien du tissu neuronal rétinien sont également atteints : la matrice extracellulaire est modifiée, on observe une activation des astrocytes, des cellules microgliales et des cellules de Müller, qui diminuent les facteurs neurotrophiques gliaux. Cela entraîne une augmentation des médiateurs neurotoxiques tels que le monoxyde d'azote (NO) ou le tumor necrosis factor alpha (TNF-α) (11,12).

De plus, il a été démontré la présence d'anomalies structurales au sein des cellules ganglionnaires, notamment une perte dendritique avec altération des synapses (13), ainsi qu'une modification des flux rétrogrades axonaux des principaux facteurs trophiques neuronaux, notamment le brain-derived neurotrophic factor (BDNF) et le nerve growth factor (NGF) (14). La plupart de ces facteurs neurotrophiques sont d'origine centrale et proviennent des synapses du corps géniculé latéral. Ces altérations rendent les cellules ganglionnaires plus sensibles au stress oxydatif. On observe également une perte de cellules nerveuses dans le corps géniculé latéral et le cortex cérébral, confirmant que le glaucome est une maladie neurodégénérative (15).

Par ailleurs, l'hypoxie chronique induirait une dysfonction mitochondriale au sein des cellules ganglionnaires, entraînant une diminution de la production énergétique et une augmentation des espèces réactives à l'oxygène (16,17). La mitochondrie, organite essentiel à la survie cellulaire, est présente en plusieurs centaines d'exemplaires par cellule, particulièrement dans celles à forte consommation énergétique. Elle produit l'ATP (adénosine triphosphate), élément clé du métabolisme énergétique cellulaire via la dégradation oxydative du glucose et des acides gras, et intervient dans les voies de signalisation assurant le cycle cellulaire, la différenciation et l'apoptose. L'hypoxie et le stress mécanique altèrent le métabolisme mitochondrial, rendant la cellule ganglionnaire plus fragile par une baisse de l'apport énergétique et la mise en place de signaux pro-apoptotiques. La forte demande énergétique des cellules ganglionnaires engendre également la formation de déchets toxiques issus du métabolisme mitochondrial, notamment les espèces réactives à l'oxygène. Ces éléments concourent à l'apoptose des cellules ganglionnaires. Celle-ci est un phénomène actif médié par deux voies principales : la voie intrinsèque et la voie extrinsèque. La voie intrinsèque implique une perméabilité anormale de la membrane mitochondriale, libérant des facteurs pro-apoptotiques tels que le cytochrome C et l'apoptosis-inducing factor (AIF). La voie extrinsèque est médiée notamment par le TNF-α et le FAS-ligand, qui se fixent sur des récepteurs membranaires cellulaires.

En outre, d'autres facteurs pourraient intervenir, comme la suractivation du système glutamatergique (neurotoxique), l'augmentation des espèces réactives à l'oxygène générant un stress oxydatif toxique, ou encore l'apparition d'un différentiel de pression au sein de la lame criblée.

Ainsi, l'apoptose des cellules ganglionnaires résulterait du stress oxydatif, d'altérations de la production énergétique mitochondriale, d'un déficit en neurotrophines, et de modifications des tissus de soutien soumis à une inflammation locale. Cependant, l'ensemble de la cascade physiopathologique n'a pas encore été entièrement élucidé (18).

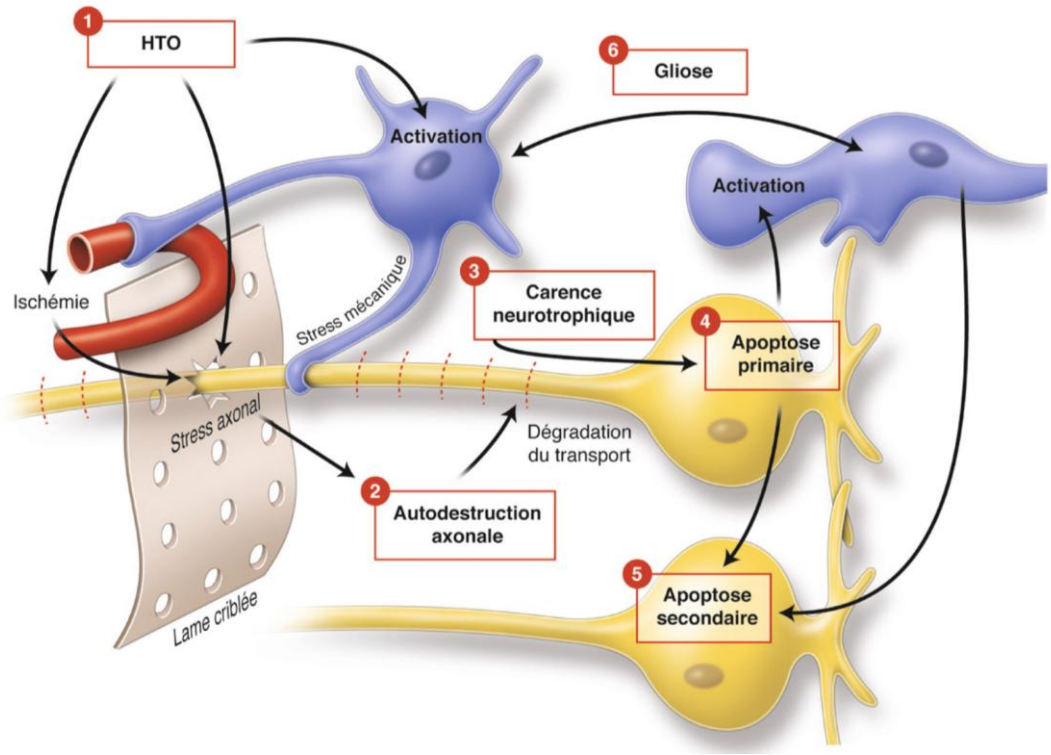


Figure 6. Modélisation des grands mécanismes pathogéniques. D'après le rapport sur le Glaucome de la Société Française d'Ophtalmologie.

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 en consultation. Par exemple, la PIO peut être sous-évaluée en cas de cornée fine ou de syndrome sec, et surévaluée en présence d'une cornée épaisse, d'un excès de larmes ou d'un blépharospasme.

Le facteur de risque majeur pour développer un glaucome est l'âge. En effet, 90 % des patients atteints ont plus de 55 ans. Dans les pays dits développés, le vieillissement démographique explique en grande partie la forte augmentation du nombre de cas.

L'origine ethnique constitue un autre facteur de risque important : les Afro-Caribéens sont les plus touchés. Les Hispaniques présentent également une prévalence plus élevée que les Européens et les Asiatiques.

L'hérédité joue aussi un rôle significatif, suggérant un déterminisme génétique important. Plusieurs gènes ont été associés au glaucome. Les formes autosomiques dominantes sont toutefois très rares, représentant moins de 5 % des cas, avec seulement quatre gènes identifiés (GLC1A, GLC1E, GLC1G et GLC1O).

La myopie, notamment forte, est souvent associée au glaucome : environ 11 % des patients myopes forts développent un glaucome. Cela pourrait s'expliquer par une augmentation des contraintes mécaniques au niveau de la lame criblée, ainsi qu'une hypoxie locale liée à l'allongement du globe oculaire.

D'autres facteurs de risque existent, tels que les facteurs cardiovasculaires (diabète, hypertension artérielle, apnée du sommeil), la prise de corticoïdes, ainsi que des facteurs environnementaux comme l'exposition aux pesticides et l'alimentation (19).

3.3. Traitement

Le traitement vise à atteindre et maintenir une pression intraoculaire cible, déterminée individuellement pour chaque patient en fonction du stade initial du glaucome, de sa progression, de la pression intraoculaire de départ et de l'espérance de vie. Il est impératif de préserver la qualité de vie et la santé du patient tout en minimisant les effets indésirables.

L'arsenal thérapeutique comprend d'une part les traitements médicaux, principalement les collyres anti-glaucomateux. On distingue quatre classes principales : les bêtabloquants, les inhibiteurs de l'anhydrase carbonique, les agonistes alpha-2-adrénergiques (qui réduisent la sécrétion d'humeur aqueuse) et les prostaglandines (qui augmentent l'excrétion d'humeur aqueuse).

Ensuite, les traitements laser interviennent, notamment la trabéculoplastie de l'angle iridocornéen réalisée par laser Argon (ALT), laser sélectif (SLT) ou laser micropulsé (MLT). Ces techniques visent à remodeler le trabéculum et à faciliter l'évacuation de l'humeur aqueuse.

Enfin, on trouve les techniques chirurgicales, que l'on peut classer en deux catégories :

- techniques peu invasives, regroupées sous le terme MIGS (Minimally Invasive Glaucoma Surgery), dont la place reste encore à définir ;
- techniques invasives dites filtrantes, telles que la sclérectomie profonde non perforante et la trabéculectomie.

Dans les cas de glaucomes réfractaires, le cycloaffaiblissement par laser diode vise à diminuer la production d'humeur aqueuse en détruisant une partie des corps ciliaires. Par ailleurs, plusieurs dispositifs implantables, comme des valves et des drains, sont également disponibles.

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 rétinophotos 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 centraux (zone où se situe la majorité des cellules ganglionnaires rétiniennes) est l'examen de référence. À savoir qu'il n'existe pas de relation linéaire entre l'atteinte structurelle et fonctionnelle. On retrouve une atteinte fonctionnelle à partir de 30 % à 50 % de perte de fibres nerveuses.

La déviation moyenne (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. 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 -6 dB, les glaucomes modérés avec un MD entre -6 et -12 dB et enfin les glaucomes sévères avec un MD inférieur à -12 dB.

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 (20).

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 et traité, 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 évoluerait à 1,5 million en 2025). On estime qu'il touche 2 % de la population après 40 ans et 10 % de la population après 70 ans (21). Le coût direct annuel moyen par patient est de plusieurs centaines d'euros par an (médicaments, hospitalisations, 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 16 000 euros par patient par an en moyenne en Europe chez les cas les

plus graves (22). 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 à 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 biofluides et des tissus », permettant ainsi de définir l'état physiologique ou pathologique d'une personne (23).

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 1 000 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 intra-individuelle (en fonction de l'état clinique, du moment de la journée, de l'alimentation…) et à l'échelle interindividuelle. Une autre notion, la métabonomique, étudie les modifications du métabolisme général des organismes résultant d'une perturbation d'origine pathologique, génétique, nutritionnelle ou toxique.

Ainsi, 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 métabolomique complète donc les autres « omiques », après l'étude des gènes (génomique), des 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.

Cette approche scientifique n'est pas récente. Déjà 4 000 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 1956 (24).

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, du protéome et du métabolome. Beaucoup de métabolites restent encore à découvrir. Wishart estime que le nombre de métabolites dans le corps avoisine un million (25). 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 (26).

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 cérébrospinal, 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 (Gas Chromatography) ou liquide (Liquid Chromatography).

4.2.1. Chromatographie

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 composants de l'échantillon et la phase mobile, en fonction de leur polarité, poids moléculaire et propriétés chimiques.

Dans un premier temps, la préparation consiste à dissoudre l'échantillon. Une colonne contenant 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.

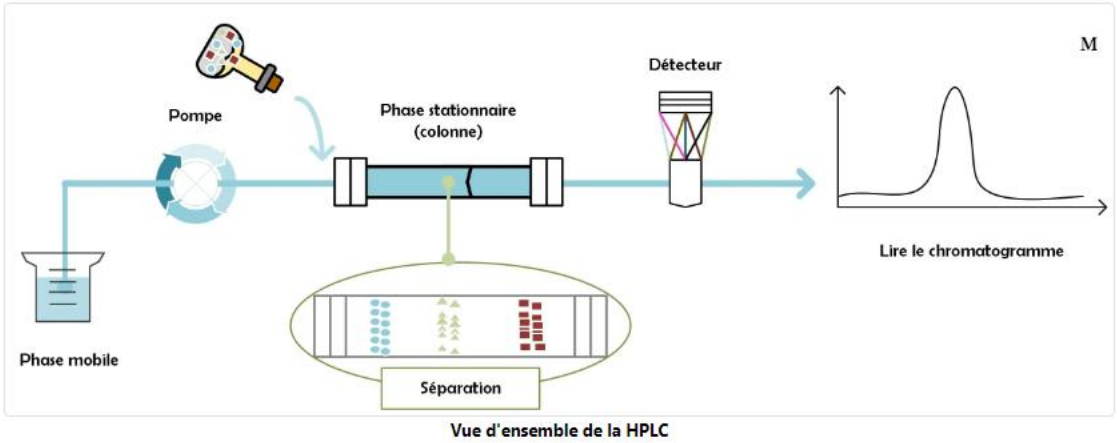


Figure 7. Schéma du principe de chromatographie. D'après « microbiologieclinique.fr ».

4.2.2. Spectrométrie de masse

Le principe de la spectrométrie de masse repose d'abord sur l'ionisation des molécules, c'est-à-dire leur conversion en ions chargés, ce qui implique souvent la destruction du tissu étudié. Les ions sont ensuite accélérés dans un champ électrique, puis séparés en fonction de leur rapport masse/charge (m/z), avant d'être détectés par un capteur qui mesure le signal associé à ce rapport.

Les données obtenues permettent de générer un spectre de masse, qui est ensuite exploité afin d'identifier les molécules et d'en déterminer la quantité à l'aide de bases de données et d'algorithmes d'identification.

La spectrométrie de masse est une technique ultrasensible, capable de détecter un grand nombre de métabolites, en particulier dans les approches ciblées.

Elle est fréquemment couplée à des méthodes de chromatographie.

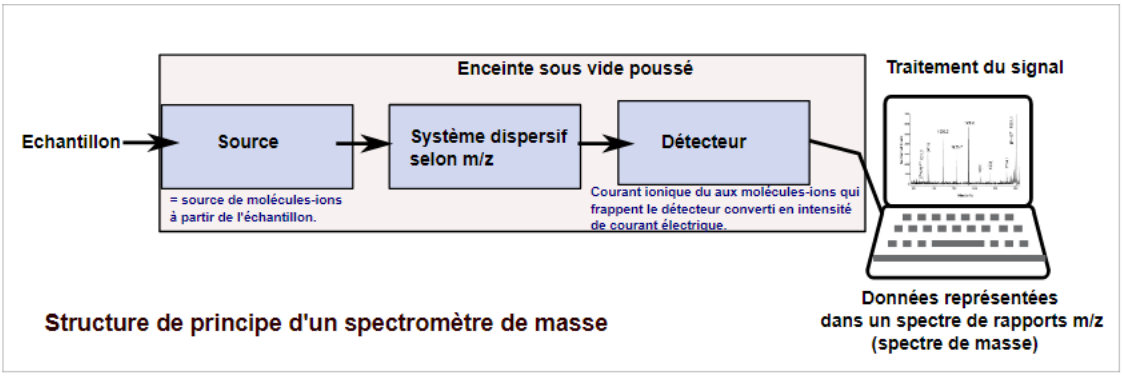


Figure 8. Schéma du principe de la spectrométrie de masse. D'après Mr JF Perrin.

4.2.3. Spectroscopie

Le principe de base de la spectroscopie repose sur l'interaction entre la matière et le rayonnement électromagnétique (généralement de la lumière visible ou infrarouge, des ultraviolets, des 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 un 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. La spectroscopie est plus rapide, permet de détecter une centaine de métabolites par jour, mais requiert de grands volumes d'échantillons et est moins sensible que la spectrométrie de masse, qui peut détecter plusieurs centaines de métabolites, moins rapidement.

4.2.4. Limites et perspectives

Cependant, la complexité de préparation, le prix et le volume important 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 par la taille des échantillons, le manque d'évaluation à long terme ou de standardisation des procédés.

Toutefois, dans un avenir proche, 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 la survenue d'effets indésirables de certains médicaments.

En ophtalmologie, plusieurs études ont été menées dans différents domaines (26).

On peut citer les exemples de Santiago et al., qui ont étudié les modifications métaboliques intrarétiniennes dans un modèle de diabète chez le rat (27) ; Li et al., qui ont étudié le vitré chez des patients présentant des proliférations vitréorétiniennes ou des décollements de rétine (28) ; des études chez des patients présentant des uvéites (29), ou encore une dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA) (30). 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 (31).

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, d'identifier les patients non répondeurs, 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 25(OH)D sérique est associée à la présence de glaucome à angle ouvert, mais que cette baisse n'est pas corrélée à la sévérité du glaucome (32).

Mace et al. ont recherché un lien entre la concentration en vitamine D dans l'humeur aqueuse et le 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 faible taille des échantillons (33).

Buisset et al. ont comparé les profils métaboliques de l'humeur aqueuse de 26 patients présentant un glaucome à angle ouvert à ceux de 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 (hydroxyproline et phospholipides) (34).

Leruez et al. ont recherché la signature métabolique des syndromes pseudoexfoliatifs en comparant 18 patients malades à 18 témoins présentant une cataracte. Sur un total de 151 métabolites détectés, 16 étaient significativement modifiés. On notait une augmentation des dérivés de la carnitine (octanoyl-carnitine, décanoyl-carnitine), des acides aminés à chaîne

ramifiée (isoleucine, leucine, valine), et de 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 (35).

Dans un autre article publié par Leruez et al., la comparaison du plasma de 36 patients souffrant de glaucome à angle ouvert à celui de 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 de la spermine, spermidine, acylcarnitines de chaînes longues). La présence de ces biomarqueurs renforçait les hypothèses d'un dysfonctionnement mitochondrial participant à la physiopathologie du glaucome (36).

Kouassi et al. ont étudié le profil métabolomique de 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-tétrahydroisoquinoline, et une augmentation de 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 (37).

Une autre étude menée par Kouassi et al. a montré une diminution significative du taux de nicotinamide sérique chez des patients souffrant d'un glaucome à angle ouvert en comparaison aux témoins (38).

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

De nombreuses études sont disponibles dans la littérature.

Une revue de la littérature a été réalisée à partir d'études animales (avec glaucome génétiquement programmé ou induction d'un modèle de glaucome) et d'études cliniques. On y retrouve différents échantillons constitués de sérum, de plasma, d'humeur aqueuse, de larmes, de vitré, de tissu neuronal et de nerf optique (39), avec différentes techniques mêlant la spectrométrie de masse, la chromatographie et la spectroscopie. Le glaucome chronique à angle ouvert a été majoritairement étudié, mais d'autres formes de glaucomes secondaires le sont également. On s'intéresse parfois uniquement à un métabolite, ou au contraire à la découverte d'un profil métabolique spécifique.

4.4.1. Lipides

On retrouve une altération des lipides chez les patients glaucomateux dans différents tissus, notamment dans le sang (40,41), le trabéculum (42) ou l'humeur aqueuse (43–45). On peut observer une altération des sphingophospholipides, plus particulièrement des sphingomyélines, dans le sérum ou l'humeur aqueuse (40,41,46–48). Les triglycérides semblent également particulièrement touchés (40,49).

Au total, il existe une altération métabolique que l'on retrouve dans les différentes familles de lipides : les phospholipides, les triglycérides et les cholestérylesters (43,50,51). Les études sont parfois controversées, avec une association inverse concernant le glaucome (52). Une revue de la littérature montre qu'une hyperlipidémie est fortement associée au glaucome (53), de même que les facteurs de risque cardiovasculaires (54).

4.4.2. Stress oxydatif

De nombreuses études ont montré un lien entre le stress oxydatif intracellulaire et le glaucome. Ainsi, on peut observer une hausse des métabolites issus de l'oxydation des acides gras (55) et une réduction des capacités antioxydantes cellulaires, et parfois un ADN plus altéré (46,56–61).

Dans certaines études, les auteurs montrent que certains métabolites peuvent directement influencer l'écoulement de l'humeur aqueuse (62).

Tanito et al. ont montré un lien entre la réduction de la capacité de réponse au stress oxydatif, la dégradation du champ visuel et l'élévation de la PIO chez 200 patients atteints de glaucome (63). Deux autres études montrent une diminution des capacités de réduction antioxydante qui influe sur la PIO chez des patients atteints de glaucome à angle ouvert et de glaucome pseudoexfoliatif (64,65).

4.4.3. Vitamines et oligoéléments

Une méta-analyse entre vitamines et glaucome montre que les vitamines A et C semblent protéger du glaucome (66). Après étude du régime alimentaire, la prise de fer et de sélénium pourrait être associée au glaucome, tandis que le glutathion et les nitrites contenus dans les végétaux verts pourraient être protecteurs (67).

Le lien avec la vitamine D est ambigu. Les études sont parfois contradictoires et ne retrouvent pas toujours d'association (67). Cependant, l'ensemble des données montre que la vitamine D dans l'humeur aqueuse ou le sang est inversement associée au risque de développer un glaucome (46,51,68–72).

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 oxydatif (73,74).

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 à une baisse de la fourniture énergétique. On peut citer par exemple la voie de l'acylcarnitine (40). Ces changements se produisent secondairement au stress oxydatif (16,75,76).

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, à la protection contre les radicaux libres et à 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, de l'aspartate, et du métabolisme de la niacine (ou vitamine B3).

On sait que les niveaux de NAD déclinent avec l'âge. Cette perte serait donc un facteur de vulnérabilité des cellules ganglionnaires (77). En effet, les cellules ganglionnaires font face à un stress métabolique avec une déplétion en métabolites clés, qui les contraignent 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, augmente l'activité des cellules ganglionnaires en améliorant le métabolisme mitochondrial et est sûr en termes d'effets secondaires (17,78–83).

Chez l'homme, un essai randomisé en double aveugle montre que l'adjonction de nicotinamide et de pyruvate améliore les performances lors de la réalisation du champ visuel à court terme chez des patients suivis pour un glaucome modéré (84). 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 les patients, en s'appuyant sur l'électrophysiologie et le champ visuel (85). Une étude randomisée est en cours pour vérifier si l'administration de nicotinamide diminue la perte de fibres nerveuses chez des patients atteints de glaucome (86).

4.4.6. Acides aminés

D'après les méta-analyses, les principales voies métaboliques altérées seraient les voies de l'arginine et de la glycine. On note aussi fréquemment une diminution des acylcarnitines (marqueurs de dysfonctionnement mitochondrial), une diminution de la spermidine, de la spermine, de la créatine, qui jouent un rôle dans la neuroprotection, et une augmentation du glutamate, qui est neurotoxique (40,41,46,51,87,88).

Ainsi, le glaucome à angle ouvert est une neuropathie dont la physiopathologie reste partiellement inconnue, mais les différentes études permettent d'en mieux comprendre les mécanismes.

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 à apporter de nouveaux éléments.

Pour donner 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 une collection biologique, réalisée au CHU d'Angers, au sein du service d'Ophtalmologie, avec l'autorisation du CPP (n° DC-2016-27000 et AC-2016-2799), respectant les principes éthiques de la déclaration d'Helsinki. Un consentement écrit et oral a été systématiquement recueilli pour chaque patient avant l'inclusion. Une lettre d'information a été remise pour expliquer les objectifs de la biocollection.

Les prélèvements ont eu lieu le matin à jeun, entre octobre 2020 et mai 2023. Nous avons ainsi recruté 68 patients atteints de glaucome chronique à angle ouvert et 23 patients témoins atteints de cataracte au sein du service d'Ophtalmologie du CHU d'Angers, afin de constituer la collection.

Un interrogatoire recueillant les traitements généraux et locaux, ainsi que les antécédents, a d'abord été réalisé chez tous les participants. Un examen ophtalmologique a ensuite été effectué, comprenant l'évaluation de l'acuité visuelle à l'aide de l'échelle décimale de Monoyer (convertie en logMAR pour l'analyse), un examen à la lampe à fente, une tonométrie de Goldmann et un examen du fond d'œil.

Les sujets atteints de glaucome ont également bénéficié d'une tomographie par cohérence optique (OCT, appareil Cirrus, Carl Zeiss Meditec, Dublin, CA) et d'un champ visuel automatisé des 24 degrés centraux (Humphrey Field Analyzer, Carl Zeiss, Dublin, CA).

Le diagnostic de glaucome a été posé sur les critères suivants : une PIO > 21 mmHg, 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, l'absence d'argument pour un glaucome secondaire, et l'absence d'autre pathologie ophtalmologique. Le diagnostic de cataracte était quant à lui posé à l'aide de l'examen à la lampe à fente.

Les cas de glaucome ont été répartis en glaucomes mineurs à modérés et en glaucomes sévères, en tenant compte des valeurs de la déviation moyenne (MD) :

- pour les glaucomes mineurs, la valeur absolue était inférieure à 6 dB ;
- pour les glaucomes modérés, la valeur absolue était comprise entre 6 et 12 dB ;
- pour les glaucomes sévères, la valeur absolue était supérieure à 12 dB, selon les critères de Hodapp-Parrish-Anderson.

Les indices de fiabilité retenus étaient : un taux de faux positifs et de faux négatifs inférieur à 15 %, et une perte de fixation inférieure à 20 %.

Les témoins ont été sélectionnés selon les critères d'inclusion suivants : présence d'une cataracte lors de l'examen préopératoire, pression intraoculaire normale, absence de signe de glaucome chronique à angle ouvert, et absence de toute autre pathologie ophtalmologique.

Les critères de non-inclusion comprenaient un antécédent de glaucome, toute autre pathologie ophtalmologique ou une neuropathie optique. Une patiente du groupe témoin a été exclue car elle recevait un traitement hypotonisant.

Les tableaux I et II reprennent les principales caractéristiques des différentes populations étudiées. Les tests de Student et du Khi-deux ont été utilisés pour comparer les groupes. Le résultat était considéré comme significatif pour une p-value inférieure à 0,05.

Aucune différence significative n'a été observée concernant l'âge, le sexe ou les comorbidités.

Le tableau III présente les différences entre les groupes selon la sévérité du glaucome. On observe, de manière logique, que chez les patients atteints de glaucome sévère, l'acuité visuelle, l'épaisseur du RNFL et le MD étaient plus bas. La proportion de patients opérés était également significativement plus élevée dans le groupe des glaucomes sévères par rapport aux autres. On observait par ailleurs davantage de patients sous monothérapie dans les glaucomes mineurs à modérés, avec une utilisation plus fréquente des bêtabloquants.

Le tableau IV compare les glaucomes sévères aux témoins. L'acuité visuelle n'était pas différente entre les glaucomes sévères et les témoins, probablement en raison de la présence de cataracte chez ces derniers. La PIO n'était pas significativement différente entre les deux groupes.

Tableau I. 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
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)	-	
Monothérapie	28 (19)	-	
Bithérapie	4 (28)	-	
Trithérapie	17 (12)	-	
Quadrithérapie	3 (2)	-	
Laser	45 (31)	-	
Chirurgie	41 (28)	-	

Indice de Masse Corporelle (IMC), Acuité visuelle moyenne (AV), Retinal Nerve Fiber Layer (RNFL), Pression intraoculaire (PIO), Mean Deviation (MD). Collyres hypotonisants : Bêta bloquants, Analogues de Prostaglandines, Inhibiteurs de l'anhydrase carbonique (IAC), Analogues alpha 2 adrénergiques. 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 II. Caractéristiques démographiques et comorbidités 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/m^2)	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 III. Comparaison des données démographiques, des comorbidités et des antécédents ophtalmologiques entre les groupes de glaucome mineurs à modérés versus les glaucomes sévères.

	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/m^2)	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 adrénergiques. 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 IV. Caractéristiques démographiques et des comorbidités entre les groupes de glaucomes sévères et de patients témoins.

	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	-

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

Dans le but de doser dans le plasma le nicotinamide et son métabolite, le 1-méthylnicotinamide, 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 pressure liquid chromatography) Agilent 1200 à la sensibilité et à la 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 14 000 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 protonée suite à l'ionisation (123,055 Daltons), est dans un premier temps sélectionné, ensuite fragmenté (à 30 volts) et la quantification se fait sur l'un de ces ions caractéristiques (80,05 Daltons). Dans le tableau V sont résumées les transitions d'intérêt avec les énergies de collision (CE). Les résultats ont été, dans un premier temps, analysés par le logiciel de chez Sciex, Analyst 1.7, et ensuite transposés dans un tableur Excel.

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

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

Afin de doser de façon fiable le nicotinamide et le 1-méthylnicotinamide, une gamme de calibration en 7 points (incluant le point 0) a été réalisée dans le méthanol, pour ensuite diluer 30 µL de chaque point avec 10 µL d'étalon interne dans 300 µL 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-méthylnicotinamide. 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 autres, 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 VI). 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 30 h dans le passeur d'échantillons à 4 °C et 1 h à température ambiante.

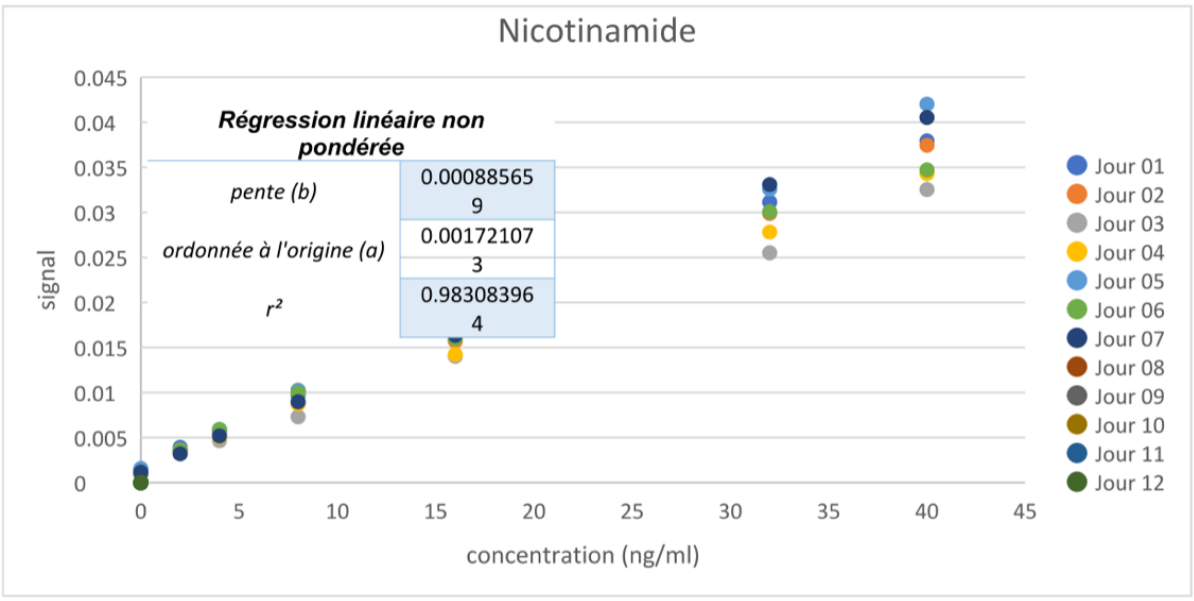


Figure 9. Résumé des points de droite de calibration obtenus au cours des 7 jours de validation pour le nicotinamide. La pente, l'ordonnée à l'origine et le r2 sont indiqués.

Tableau VI. Paramètres de validation pour le nicotinamide.

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			

Les mêmes paramètres sont en cours de validation pour le 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, la 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 VII). Reste à déterminer l'effet matrice.

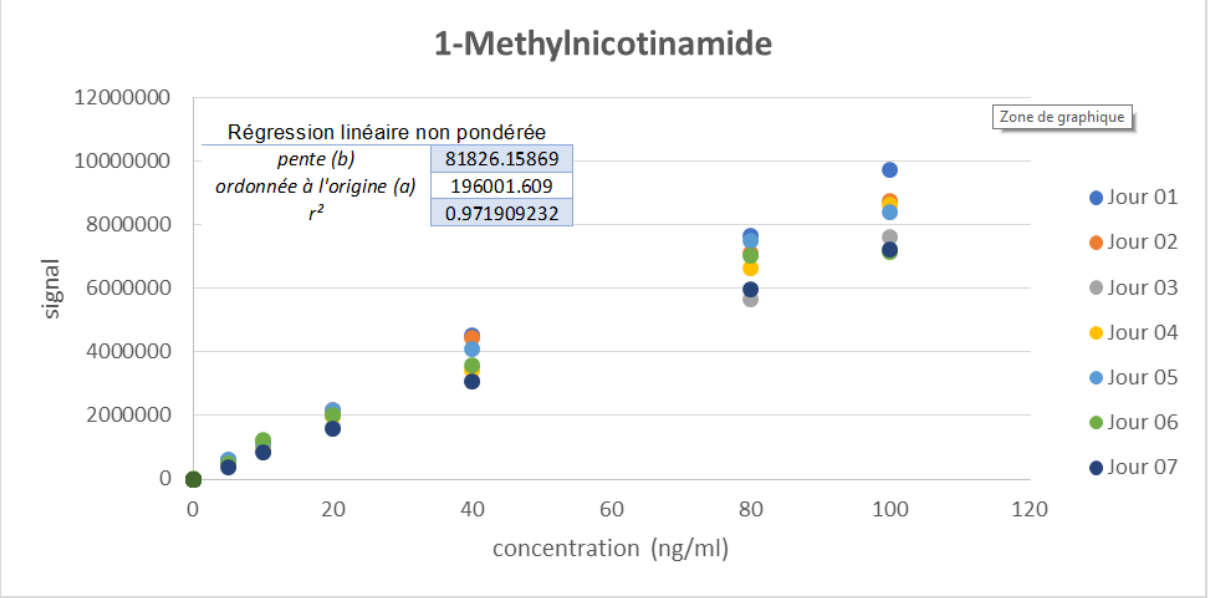


Figure 10. Résumé des points de droite de calibration obtenus au cours des 7 jours de validation pour le 1-méthylnicotinamide. La pente, l'ordonnée à l'origine et le r2 sont indiqués.

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

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			

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), oxydes 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 µL 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, avec ou sans normalisation 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).

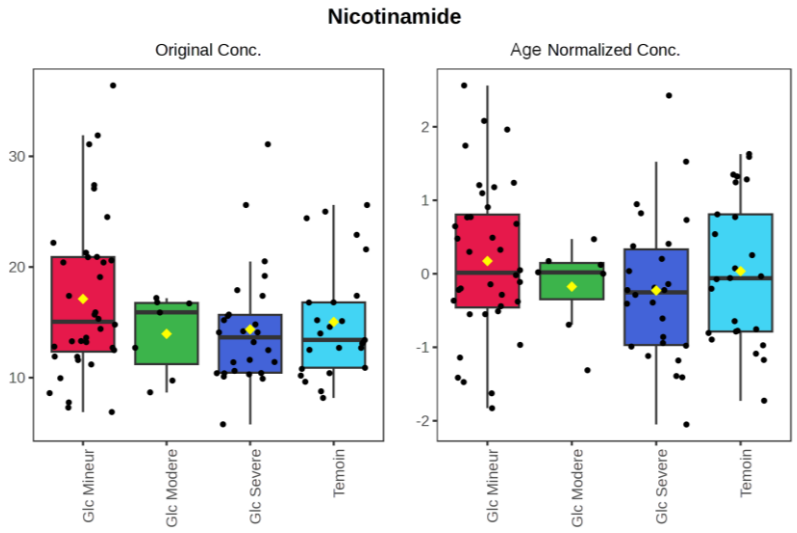


Figure 11. Comparaison de la concentration en Nicotinamide en analyse univariée et selon l'âge.

Cette tendance à la diminution du taux de nicotinamide chez les glaucomes sévères n'est pas retrouvée pour le 1-méthylnicotinamide. Cependant, le ratio nicotinamide/méthylnicotinamide reproduit cette tendance non significative (Figures 12 et 13). Ces résultats sont similaires qu'ils soient ou non normalisés selon l'âge des patients et des témoins.

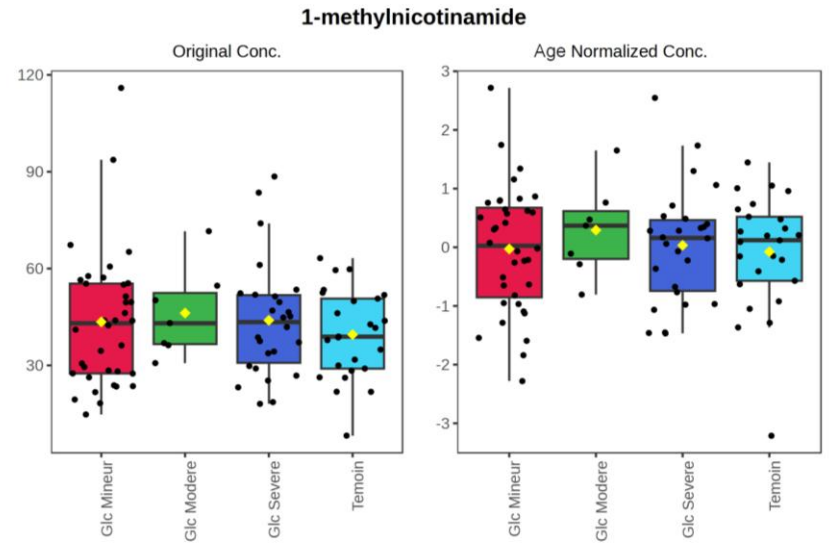


Figure 12. Comparaison de la concentration en 1-méthylnicotinamide en analyse univariée et selon l'âge.

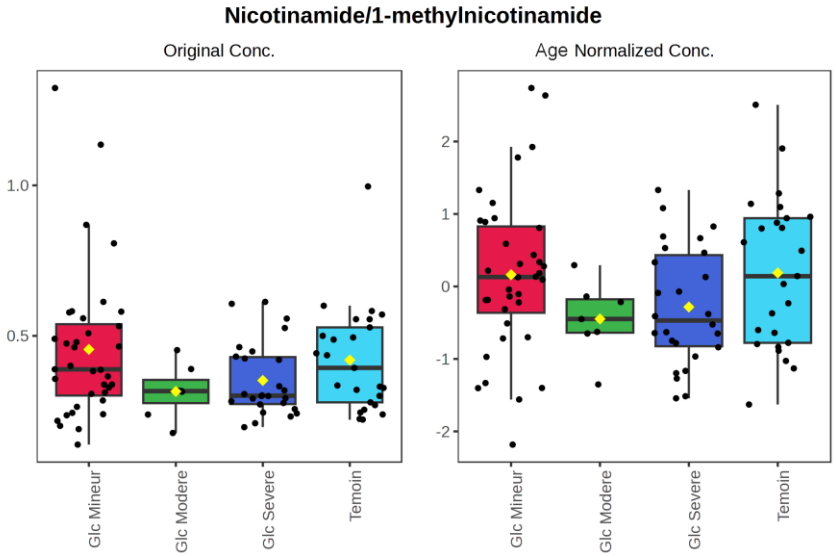


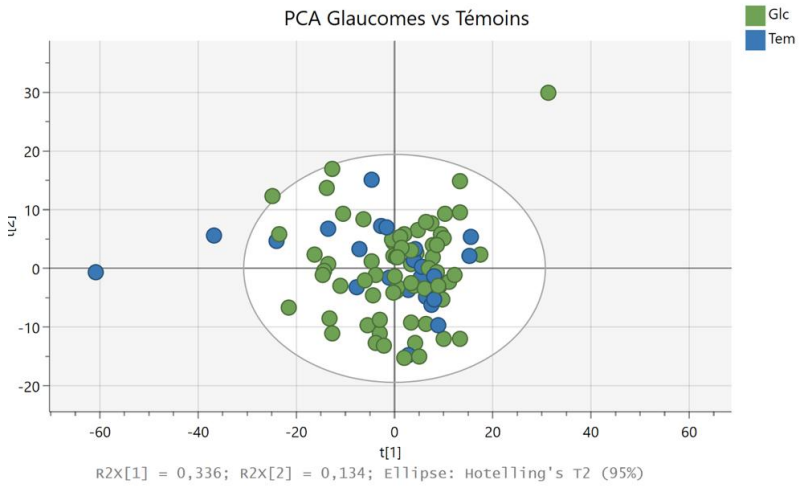
Figure 13. Comparaison de la concentration Nicotinamide/1-méthylnicotinamide en analyse univariée et selon l'âge.

2. Analyse métabolomique

2.1. Glaucome versus témoins

Concernant l'analyse métabolomique, l'analyse en composantes principales (ACP) ne montre pas de séparation entre les groupes glaucome et témoin. Ceci signifie que les profils métabolomiques ne distinguent pas spontanément les deux groupes (Figure 14). En analyse univariée, l'indoxyl 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. Enfin, aucun modèle significatif permettant de prédire l'appartenance au groupe glaucome ou témoin en fonction des profils métabolomiques n'a pu être obtenu. La heat map montre qu'il existe une très grande hétérogénéité interindividuelle 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.



b.

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

c.

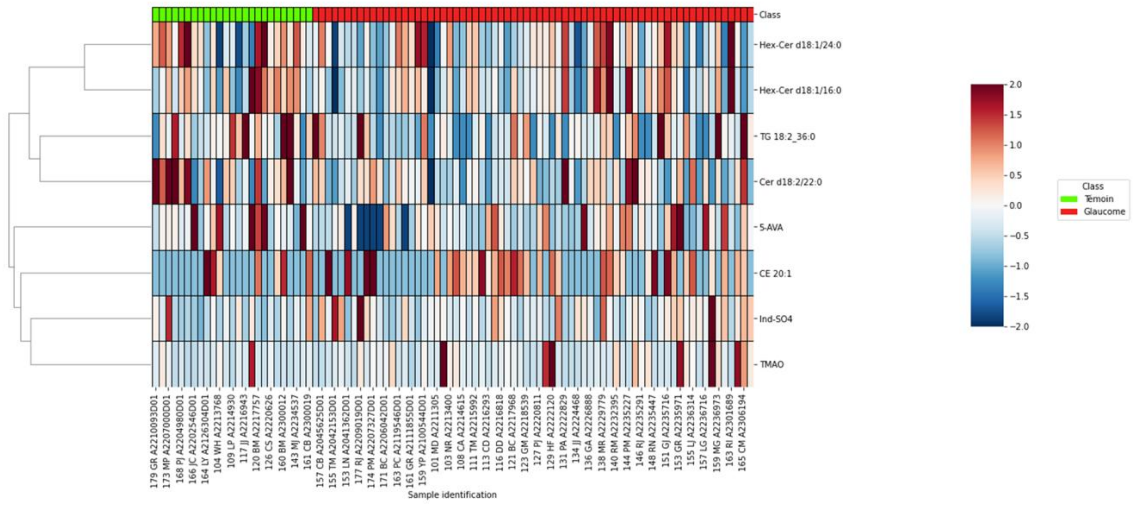


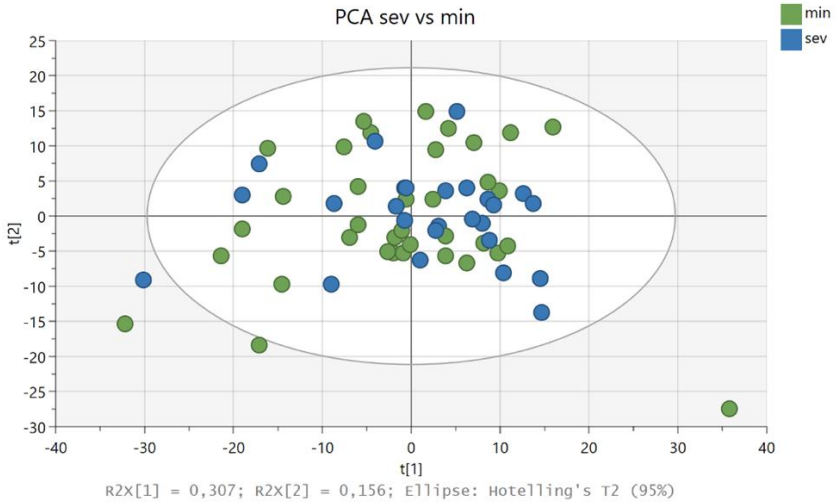
Figure 14. Comparaison des métabolites d'un groupe comportant tous les glaucomes par rapport au groupe témoin.

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 mineurs à modérés versus glaucomes sévères

Une comparaison entre les glaucomes mineurs à modérés et les glaucomes sévères a ensuite été réalisée (Figure 15). L'analyse en composantes principales ne montre pas de séparation entre les deux groupes, ce qui signifie que les profils métaboliques des glaucomes modérés et sévères ne semblent 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 glaucomes 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 une AUC de 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 les 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 glaucomes sévères par rapport au groupe des glaucomes mineurs à modérés.

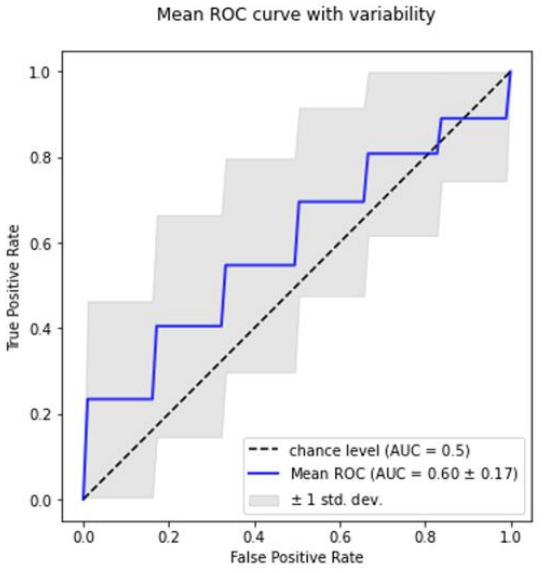
a.

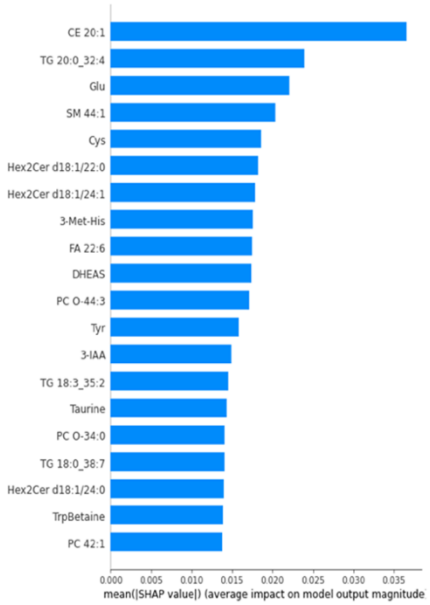


b.

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

c.





d.

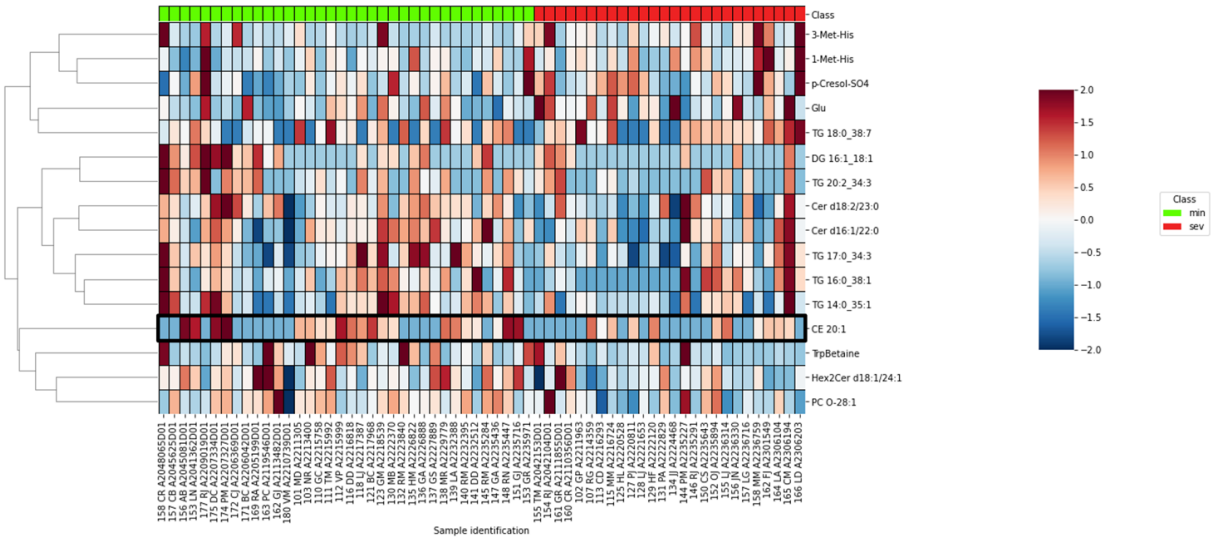


Figure 15. Comparaison des métabolites d'un groupe comportant les glaucomes mineurs et modérés par rapport au groupe de glaucomes sévères.

a. Analyse en composante principale (PCA).
b. Analyses univariées sans et avec correction du risque alpha.
c. Analyse en régression logistique avec la courbe ROC et les coefficients en régression logistique
d. « 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 découvrons progressivement 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 à 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 développer des thérapeutiques ciblées plus efficaces, 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'un régime alimentaire riche en antioxydants (vitamine C, vitamine E, caroténoïdes dont la lutéine et la zéaxanthine) et en zinc permettait de 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 à établir une neuroprotection efficace en étudiant les rôles des antioxydants, de la vitamine B3 (nicotinamide) et des flavonoïdes 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 ainsi qu'au groupe contrôle. Ces résultats ne sont cependant pas significatifs. Cela nous encourage à poursuivre les inclusions afin d'augmenter la puissance statistique de l'effectif étudié.

Il existe plusieurs limites à notre étude, outre la 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 ces patients comme totalement sains. Une perturbation du métabolisme de la vitamine B3, ou plus généralement du métabolisme, dans ce groupe 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. 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 confirmer la prise de nicotinamide, présent dans de nombreux composés polyvitaminiques, sans que les patients en aient conscience. Il faut également noter l'hétérogénéité des patients sur le plan métabolique, compte tenu de leurs comorbidités respectives, ainsi que leurs différences de mode de vie et d'alimentation. Il est probable que cette hétérogénéité puisse masquer certaines caractéristiques métaboliques dues au glaucome, réduisant ainsi 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 grande échelle dans de nombreux essais en cours 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 pourrait donc avoir 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 sachent réellement. La question 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 devrons essayer de confirmer sur un plus large effectif, semble aller dans ce sens. Outre l'augmentation des effectifs, il serait préférable de 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 différents liquides et tissus biologiques, la métabolomique offre une image globale des altérations métaboliques pouvant précéder la maladie et 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 progresser la recherche. Cela ouvre la voie à de nouvelles stratégies diagnostiques avec de nouveaux biomarqueurs ou au développement de thérapeutiques ciblées. Par exemple, notre équipe a identifié pour la première fois le déficit en nicotinamide dans le glaucome par une approche métabolomique sans a priori. 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 strict de la correction du risque alpha. L'approche « machine learning » a permis d'identifier un modèle de prédiction du groupe de sévérité avec une 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 avec des sous-groupes de sévérité plus homogènes.

En conclusion, le glaucome regroupe un ensemble de maladies dont la physiopathogénie n'est pas encore totalement élucidée. La forme majoritaire, le glaucome à angle ouvert, est liée 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 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 métaboliques spécifiques liés à la sévérité de la pathologie. 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]. 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 Peréz 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. Kanamori A, Nakamura M, Nakanishi Y, Yamada Y, Negi A. Long-term glial reactivity in rat retinas ipsilateral and contralateral to experimental glaucoma. Exp Eye Res. juill 2005;81(1):48-56.

12. Yuan L, Neufeld AH. Activated microglia in the human glaucomatous optic nerve head. J Neurosci Res. 1 juin 2001;64(5):523-32.

13. 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. p. 199-216. (New Trends in Basic and Clinical Research of Glaucoma: A Neurodegenerative Disease of the Visual System, Part A; vol. 220).

14. Almasieh M, Wilson AM, Morquette B, Cueva Vargas JL, Di Polo A. The molecular basis of retinal ganglion cell death in glaucoma. Prog Retin Eye Res. mars 2012;31(2):152-81.

15. 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.

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

17. 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. p. 339-52. (Glaucoma: An Open Window to Neurodegeneration and Neuroprotection; vol. 173).

18. Rapport SFO 2014 - Glaucome primitif à angle ouvert. Disponible sur: https://www.em-consulte.com/em/SFO/2014/html/file_100012.html

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

20. 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.

21. Inserm. Glaucome · Inserm, La science pour la santé. Disponible sur: https://www.inserm.fr/dossier/glaucome/

22. 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.

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

24. Chance B, Williams GR. Resppiratory Enzymes In Oxydative Phosphorylation. J Biol Chem. nov 1955;217(1):383-93.

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

26. 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.

27. 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.

28. 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.

29. 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.

30. 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.

31. 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.

32. 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.

33. Mace T. Relation entre glaucome primitif à angle ouvert et vitamine D : résultats de L'ETUDE EYE-D. Angers: Université Angers; 2021. p. 19.

34. 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.

35. 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.

36. 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.

37. 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.

38. 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.

39. Milbeck SM, Bhattacharya SK. Alteration in Lysophospholipids and Converting Enzymes in Glaucomatous Optic Nerves. Invest Ophthalmol Vis Sci. 30 juin 2020;61(6):60.

40. 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. p. 2022.02.24.22271483.

41. Wang Y, Hou XW, Liang G, Pan CW. Metabolomics in Glaucoma: A Systematic Review. Invest Ophthalmol Vis Sci. 6 mai 2021;62(6):9.

42. 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.

43. 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.

44. 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.

45. 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.

46. Barbosa-Breda J, Himmelreich U, Ghesquière B, Rocha-Sousa A, Stalmans I. Clinical Metabolomics and Glaucoma. Ophthalmic Res. 2018;59(1):1-6.

47. Aljohani AJ, Munguba GC, Guerra Y, Lee RK, Bhattacharya SK. Sphingolipids and ceramides in human aqueous humor. Mol Vis. 2013;19:1966-84.

48. 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.

49. 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.

50. 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.

51. 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.

52. 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.

53. 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.

54. 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.

55. Umeno A, Tanito M, Kaidzu S, Takai Y, Horie M, Yoshida Y. Comprehensive measurements of hydroxylinoleate and hydroxyarachidonate isomers in blood samples from primary open-angle glaucoma patients and controls. Sci Rep. 18 févr 2019;9(1):2171.

56. 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.

57. 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.

58. 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.

59. 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.

60. 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.

61. 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.

62. 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.

63. 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.

64. 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.

65. 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.

66. 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.

67. The relation between dietary intake and glaucoma: a systematic review - Ramdas - 2018 - Acta Ophthalmologica - Wiley Online Library. Disponible sur: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/aos.13662

68. Vuković Arar Ž, Knežević Praveček M, Miškić B, Vatavuk 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.

69. 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.

70. 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.

71. 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.

72. Abouzeid H, Samer CF. Vitamin D and Glaucoma: A Critical Review of the Literature. J Ophthalmol. 16 nov 2020;2020:e8071280.

73. 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.

74. 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.

75. 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.

76. Kamel K, Farrell M, O'Brien C. Mitochondrial dysfunction in ocular disease: Focus on glaucoma. Mitochondrion. 1 juill 2017;35:44-53.

77. John SW. Nutrition metabolism and glaucoma, lessons from mice. Invest Ophthalmol Vis Sci. 13 juill 2018;59(9):5348.

78. 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.

79. 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.

80. 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.

81. 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.

82. 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.

83. 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.

84. 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.

85. 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.

86. 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.

87. 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.

88. 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'oeil. D'après Dr Leninger. 4

Figure 2. Représentation de la tête du nerf optique. D'après Dr Al Bander. 7

Figure 3. Représentation de la lame criblée. D'après le Rapport sur le Glaucome de la Société Française d'Ophtalmologie. 7

Figure 4. Représentation schématique du nerf optique. D'après le rapport sur le Glaucome de la Société Française d'Ophtalmologie. 9

Figure 5. Voies d'élimination de l'humeur aqueuse. D'après « Thecataractcourse.com ». 14

Figure 6. Modélisation des grands mécanismes pathogéniques. D'après le rapport sur le Glaucome de la Société Française d'Ophtalmologie. 17

Figure 7. Schéma du principe de chromatographie. D'après « microbiologieclinique.fr ». 24

Figure 8. Schéma du principe de la spectrométrie de masse. D'après Mr JF Perrin. 25

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 r2 sont indiqués. 41

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. 42

Figure 11. Comparaison de la concentration en Nicotinamide en analyse univariée et selon l'âge. 45

Figure 12. Comparaison de la concentration en 1-méthylnicotinamide en analyse univariée et selon l'âge. 46

Figure 13. Comparaison de la concentration Nicotinamide/1-méthylnicotinamide en analyse univariée et selon l'âge. 46

Figure 14. Comparaison des métabolites d'un groupe comportant tous les glaucomes par rapport au groupe témoin. 48

Figure 15. Comparaison des métabolites d’un groupe comportant les glaucomes mineurs et modérés par rapport au groupe de glaucomes sévères. 51

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I. Caractéristiques de l'examen ophtalmologique des patients glaucomateux versus les témoins..... 35

Tableau II. Caractéristiques démographiques et comorbidités des patients glaucomateux versus les témoins. 36

Tableau III. Comparaison des données démographiques, des comorbidités et des antécédents ophtalmologiques entre les groupes de glaucome mineurs à modérés versus les glaucomes sévères. 37

Tableau IV. Caractéristiques démographiques et des comorbidités entre les groupes de glaucomes sévères et de patients témoins. 38

Tableau V. Masse et voltage par composant. CE = Collision Energy. 39

Tableau VI. Paramètres de validation pour le nicotinamide. 41

Tableau VII. Paramètres de validation pour le 1-méthylnicotinamide 42

TABLE DES MATIERES

SERMENT D'HIPPOCRATE ..... D

PROFIL METABOLOMIQUE CHEZ LES PATIENTS ATTEINTS DE GLAUCOME PRIMITIF À ANGLE OUVERT 1

RESUME 2

INTRODUCTION 3

1. Rappels anatomiques 4
1.1. Segment antérieur 5
1.1.1. Cornée et cristallin 5
1.1.2. Uvée 5
1.2. Segment postérieur 5
1.2.1. Vitré 5
1.2.2. Rétine 6
1.2.3. Sclère péripapillaire 8
1.2.4. Nerf optique 8

2. Définitions : un glaucome ou des glaucomes ? 9
2.1. Glaucomes à angle ouvert 9
2.2. Glaucomes à angle fermé 10
2.3. Glaucome congénital 10
2.4. Diagnostics différentiels 10

3. Glaucome à angle ouvert 11
3.1. Physiopathologie 12
3.1.1. Homéostasie de la pression intraoculaire 12
3.1.2. Pathogénèse 14
3.2. Facteurs de risque 17
3.3. Traitement 18
3.4. Diagnostic et suivi 19

4. Introduction métabolomique 21
4.1. Définitions 21
4.2. Méthodologie en métabolomique 23
4.2.1. Chromatographie 24
4.2.2. Spectrométrie de masse 25
4.2.3. Spectroscopie 25
4.2.4. Limites et perspectives 26
4.3. Contexte dans le service 27
4.4. Revue de la littérature des études concernant le glaucome à angle ouvert 28
4.4.1. Lipides 29
4.4.2. Stress oxydatif 29
4.4.3. Vitamines et oligoéléments 30
4.4.4. Dysfonction mitochondriale 30
4.4.5. Nicotinamide 31
4.4.6. Acides aminés 32

MÉTHODES 33

1. Population étudiée 33

2. Méthode de dosage du nicotinamide et du 1-méthylnicotinamide 38
3. Méthode de l'analyse métabolomique 43
RÉSULTATS 45
1. Dosage du Nicotinamide et du Méthylnicotinamide 45
2. Analyse métabolomique 47
2.1. Glaucome versus témoins 47
2.2. Glaucomes mineurs à modérés versus glaucomes sévères 49
DISCUSSION ET CONCLUSION 52
BIBLIOGRAPHIE 56
LISTE DES FIGURES 63
LISTE DES TABLEAUX 65
TABLE DES MATIERES 66

OUATTARA Sorayah

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 constitue un enjeu majeur de société, en raison de la gravité de la maladie et du 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 de 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, ainsi que l'existence de profils métaboliques distinguant les stades de sévérité, ont été identifiées, 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 en augmentant la taille de l'effectif.

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 challenge due to the severity of the disease and the associated 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 alterations in supporting tissues. Previous studies conducted in our department have identified specific metabolic profiles and a nicotinamide (vitamin B3) deficiency in glaucoma patients compared to controls.

Subjects and Methods : This is a retrospective study based on blood samples from patients included in a biobank at the Ophthalmology Department of Angers University Hospital. Plasma samples from 68 glaucoma patients at various stages of severity, as well as 23 control subjects, were included to determine whether there are differences in blood nicotinamide concentration and metabolic profiles between glaucoma severity stages compared to controls.

Results : A trend toward lower nicotinamide levels in severe glaucoma patients and the existence of metabolic profiles distinguishing severity stages were observed, although these did not reach statistical significance.

Conclusion : The limited sample size and metabolic heterogeneity of the patients prevented us from obtaining significant results. However, the observed trend encourages us to continue the study by increasing the sample size.

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

FACULTÉ DE SANTÉ
UNIVERSITÉ D'ANGERS