

# CENTRE DE RECHERCHE D'OPHTALMOLOGIE

## « TOUS UNIS POUR LA VISION »



[www.pourlavision.org](http://www.pourlavision.org)

### Conseil d'administration

Pr. Francine Behar-Cohen  
*Présidente*

Dr. Marianne Berdugo  
*Trésorière*

Dr. Jean-Claude Jeanny  
*Secrétaire*

André About

Suzanne About

Georges Blanchard

Pr. Claudine Botteri

Pr. Jean-Louis Bourges

Dr. Yves Courtois

Dr. Patricia Crisanti-Lassiaz

Pr. Ariel de Kozak

Dr. Yvonne de Kozak

Patrick Desnos

Brigitte Goldenberg

Michel Goldenberg

Françoise Hirzel

Colette Jeanny

Michèle Savoldelli

Dr. Alicia Torriglia

Pierre Watrin

Dr. Min Zhao

Association loi de 1901

AVRIL 2019

## BULLETIN D'INFORMATION

Centre de Recherche d'Ophtalmologie

CRO - TOUS UNIS POUR LA VISION

15, rue de l'École de Médecine - 75270 Paris Cedex 06



Cette année notre association  
le Centre de Recherche  
en Ophtalmologie a **40** ans

par le Professeur Francine Behar-Cohen

Notre Association « Centre de Recherche d'Ophtalmologie (CRO)-Tous Unis pour la Vision » a cette année 40 ans. Elle a été créée en 1979 par le Pr. G. Offret, suivi du Pr. Y. Pouliquen, actuellement membre de l'Académie Française et de l'Académie Nationale de Médecine. Leur ont succédé, au fil de ces années, les Pr. D. Chauveau, G. Soubrane, Mr. G. Chetochine, les Drs. J.-A. Bernard et Y. Courtois et maintenant le Pr. F. Behar-Cohen, autant de responsables de Service d'Ophtalmologie, de Dr. en Médecine ou es Sciences et de sympathisants à la cause de notre Association. Pendant cette période, plus de 300 donateurs nous ont accompagnés. Leurs dons ont permis de soutenir la recherche clinique et fondamentale en Ophtalmologie. L'Association a aussi apporté aux patients une information simplifiée sur leurs maladies oculaires et leurs traitements. Des actions (édition d'un livre sur la DMLA) et de nombreux achats d'appareils (OCT, laser, angiographes, microcentrifugeuse...) ont été effectués pour le Service d'Ophtalmologie de l'Hôpital Hôtel Dieu à Paris et le laboratoire de recherche de l'INSERM, qui lui était rattaché. Ainsi près d'un million d'euros ont été insufflés pour ces actions, depuis 40 ans. Ces dernières années, 8 Prix Yves Pouliquen, d'un montant de 4000 euros chacun, ont aussi été décernés pour soutenir de jeunes chercheurs.

L'ensemble des personnels, qui ont bénéficié du financement par vos dons de ces diverses actions, vous en sont extrêmement reconnaissants et espèrent encore votre soutien.

Parce que la vision, c'est la vie, et que la recherche dans ce domaine ne peut pas progresser sans moyen.

## « A quoi ont servi vos dons ? »

Lors de la dernière Assemblée Générale du CRO, il a été voté à l'unanimité un budget prévisionnel pour l'année 2018 de 35 000 €.

Ces fonds ont permis pour l'essentiel de rémunérer une Technicienne, impliquée dans la mise en œuvre des techniques histologiques nécessaires et indispensables à l'entreprise ultérieure, par les chercheurs, de réactions cytochimiques et immunocytochimiques.

Ils ont aussi permis l'impression du bulletin d'information mis à disposition lors de l'Assemblée Générale du 12 Avril 2018, ainsi que le renouvellement des cartes de remerciements et des carnets de reçus fiscaux.

Outre ces achats propres au fonctionnement du bureau, de l'argent a aussi été consacré à la restructuration du site du CRO sur Internet, à une commande en urgence de produits chimiques et à l'acquisition de matériels rétrocédés par la Société Univercell Biodistributions (*2 congélateurs, 2 hottes de culture et 1 agitateur de microplaques*).

En Biologie, on utilise des hottes à flux laminaires qui génèrent un air purifié en particules et qui permettent de maîtriser les risques biologiques et bactériologiques. Elles servent à la réalisation de cultures de cellules dissociées ou d'organo-cultures de tissus oculaires d'origines animale et humaine.

Un agitateur de microplaques est particulièrement adapté aux applications immunologiques (*ELISAs, Immuno dosages*) et biotechnologiques (*colorations et transferts .....*).

Nous avons pu enfin financer le **Prix Yves Pouliquen 2018** octroyé au Dr. Talal Beydoun, pour son travail qui a consisté à mettre en place une Biobanque regroupant des échantillons biologiques collectés dans le respect des lois de Bioéthique.



## *Neurotoxicité du fer et décollement de rétine. Neuroprotection par la Transferrine.*

par Emilie PICARD, Centre de Recherche des Cordeliers

Le décollement de rétine est une pathologie fréquente en cas de forte myopie ou de traumatisme, notamment crânien. Elle est aussi liée à d'autres maladies oculaires comme la dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA), la rétinopathie diabétique et la cataracte.

Elle touche de 10 à 55 individus pour 100 000 habitants par an et s'accompagne souvent d'une perte irréversible de la vision. Le décollement de rétine se caractérise par la séparation de la neuro-rétine de la couche de cellules épithéliales pigmentaires sous-jacente, ce qui entraîne, dans les heures qui suivent, l'activation de mécanismes de mort cellulaire. Le décollement de rétine est une urgence ophtalmologique qui nécessite une chirurgie qui consiste à recoller la rétine sensorielle au fond d'œil et à ponctionner le liquide sous-rétinien qui s'est accumulé dans l'espace créé sous les photorécepteurs. Dans 50% des cas et

même en cas de réussite du recollement, il y a une perte irréversible de la fonction visuelle. Les causes responsables de cette faible récupération visuelle post-opératoire ne sont pas encore élucidées.

L'équipe dirigée par Emilie Picard et Francine Behar-Cohen du Centre de Recherche des Cordeliers et de l'Université de Paris, vient de publier dans la revue « Science Advances » un article qui montre que l'accumulation de fer consécutive à un décollement de rétine conditionne le pronostic de la récupération visuelle post-opératoire. Elles mettent en avant le rôle de la transferrine qui piège le fer en excès, comme agent neuroprotecteur dans le traitement des maladies dégénératives de la rétine.

Depuis de nombreuses années, le laboratoire s'intéresse à l'implication de la dérégulation de l'homéostasie du fer au cours des dégénérescences

rétiniennes. En effet, le fer est indispensable au fonctionnement de toutes les cellules de l'organisme, mais quand il est présent en trop grande quantité, les mécanismes chargés de contrôler son équilibre homéostatique sont dépassés, et le fer se retrouve sous forme libre. Or sous cette forme, il est toxique pour les cellules. Le fer libre favorise l'apparition d'un stress oxydant qui entraîne la mort cellulaire. Par ailleurs, dans la dégénérescence maculaire liée à l'âge, il a été montré que le fer s'accumule dans la rétine neurale et dans l'épithélium pigmentaire, sans qu'on en sache les causes.

En collaboration avec l'Hôpital Jules Gonin, à Lausanne (Suisse), des liquides oculaires de patients opérés à la suite d'un décollement de rétine de type rhégmato-gène (*résultant d'une rupture ou d'une déchirure rétinienne*) ont pu être collectés et le fer a pu y être dosé. L'équipe a montré que le fer est présent en très grande quantité dans le vitré et le liquide sous-rétinien des patients, s'accumulant dans la neuro-rétine et dans l'épithélium pigmentaire de la rétine. Pour la première fois, une corrélation a pu être observée

entre la faible récupération visuelle post-opératoire et la concentration en fer dans l'espace sous-rétinien, suggérant l'implication directe du fer dans les processus de mort cellulaire intervenant au cours de la pathologie et présentant le fer comme un marqueur prédictif du pronostic post-opératoire. A l'aide d'un modèle ex vivo de rétines de rats, montées à plat, en organo-culture, nous avons décrypté les conséquences d'une accumulation de fer en contact direct avec les cellules photoréceptrices. Le fer, à des concentrations similaires à celles détectées dans les prélèvements des patients atteints de décollement de rétine, entraîne rapidement l'activation d'une voie de mort cellulaire appelée nécrose, qui est relayée par une autre voie de mort appelée apoptose, toutes deux entraînant une disparition des cônes et des bâtonnets. L'équipe s'est ensuite concentrée sur une stratégie thérapeutique pouvant séquestrer le fer libre en excès. Des molécules capables de séquestrer le fer existent et sont déjà utilisées dans certaines pathologies caractérisées par une surcharge

systemique en fer, comme l'hémochromatose. Toutefois, elles sont toxiques pour l'œil et difficiles à administrer localement. Nous nous sommes donc intéressés à la transferrine, une protéine que toutes les cellules de l'organisme synthétisent (*y compris celles de la rétine*) et qui est présente dans les liquides intraoculaires (*humeur aqueuse et vitré*). La transferrine se lie au fer et le transporte de cellules en cellules. L'intérêt était d'autant plus grand pour cette protéine que dans les liquides oculaires des patients présentant un décollement de rétine, sa saturation en fer est maximale suggérant un déficit de régulation de l'homéostasie du fer au cours du décollement de rétine. De plus, nous avons montré, dans différents modèles animaux de dégénérescence rétinienne d'origine génétique (*souris rd, rat RCS*) ou expérimentalement induite par surexposition à la lumière, que la transferrine protégeait la rétine de différents stress (*Picard E et al. Molecular Vision 2008, 2010, Free Radical Biology of Medicine 2015*). Nous avons donc testé l'effet protecteur de la transferrine

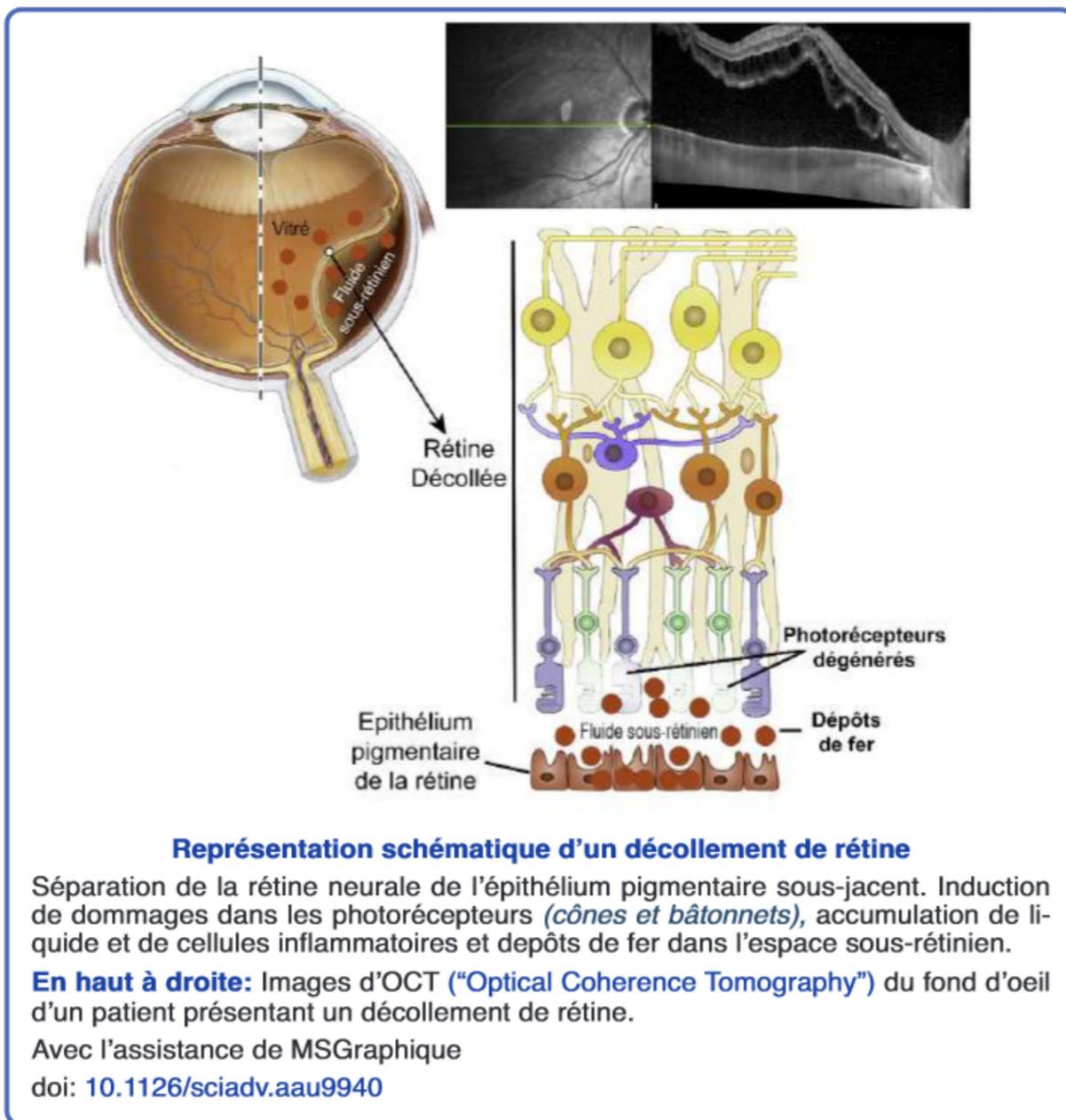
dans des modèles de décollement de rétine à l'aide de deux stratégies *in vivo* utilisant :

1) une souris génétiquement modifiée pour exprimer en continu la transferrine humaine dans la rétine et 2) la supplémentation en transferrine humaine chez des rats par injection intra vitréenne, après décollement de rétine induit mécaniquement par injection sous-rétinienne de hyaluronate de sodium.

D'abord, nous avons étudié son effet sur un modèle de rétines isolées en organo-culture. Ces conditions miment bien le décollement de rétine et permettent de bien contrôler les paramètres expérimentaux et le stress appliqué. Nous avons ainsi observé que la transferrine, qu'elle soit exprimée en continu ou administrée après l'ajout d'un excès de fer, protège les photorécepteurs et évite tous les phénomènes pathogéniques associés au décollement de rétine (*inflammation, œdèmes, mort cellulaire, accumulation de fer dans la rétine*). Puis, nous avons reproduit un décollement de rétine chez la souris transgénique exprimant la transferrine humaine, et nous avons démontré

que leurs rétines sont moins atteintes. De plus, l'équipe a montré que l'injection de transferrine dans le vitré en conco-

mitance avec l'induction du décollement chez le rat, permettait également de protéger la rétine et de réduire les lésions.



Enfin, bien que la séquestration du fer soit certainement un de ses premiers effets, notre étude suggère qu'il y en a d'autres. En effet, en comparant les transcriptomes (*l'ensemble des ARN messagers, les intermédiaires de fabrica-*

*tion des protéines*) de la rétine d'animaux traités et non traités avec de la transferrine, nous nous sommes aperçus que la transferrine modulait d'autres voies que le métabolisme du fer, comme celles conduisant à l'inflammation,

au transport intracellulaire ou à la mort cellulaire. Nous décortiquons à présent ces autres mécanismes d'action. Nous essayons aussi de comprendre

pourquoi, au cours de la pathologie, les cellules de l'œil ne produisent pas plus de transferrine quand le fer libre s'accumule.

*En Conclusion, cette étude a permis de mettre en lumière le rôle du fer dans la mort des cellules rétiniennes au cours du décollement de rétine et d'en faire autant une cible thérapeutique qu'un marqueur de diagnostic ou de suivi thérapeutique des patients. Notre objectif, maintenant, est de procéder sous deux ans à des essais cliniques d'administration de transferrine comme traitement d'appoint à la chirurgie.*

A. Daruich et al., Iron is neurotoxic in retinal detachment and transferrin confers neuroprotection, Science Advances, vol. 5 (1), article eaau9940, 2019



***La spironolactone, un antagoniste du récepteur minéralocorticoïde, en complément d'un anti-VEGF classique, pour le traitement de la néovascularisation choroïdienne, caractéristique de la DMLA humide.***

par Min Zhao, Centre de Recherche des Cordeliers

La dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA) est la première cause de handicap visuel chez les personnes de plus de 50 ans. Toutes formes confondues (*atrophique et exsudative ou sèche et humide*), cette maladie concerne environ 8% de la population. Le nombre d'individus atteints de la DMLA est estimé à 196 millions en 2020 dans le monde entier, et augmentera à 288 millions en 2040. Dans environ un tiers des cas, la DMLA précoce évolue en forme humide, dite

néovasculaire, se traduisant par une prolifération de nouveaux vaisseaux anormaux sous la partie centrale de la rétine (*la macula*). Ces vaisseaux fragiles provenant de la choroïde (NVC), la couche vasculaire sous la rétine, sont à l'origine de l'œdème maculaire, d'une hémorragie et de la perte des photorécepteurs. La DMLA est une pathologie multifactorielle : l'âge, la susceptibilité génétique, l'obésité, le tabagisme et l'alimentation sont parmi les principaux facteurs de risque.

Néanmoins, les mécanismes qui conduisent au développement de la NVC ne sont pas encore totalement élucidés. La NVC n'est pas non plus spécifique de la DMLA, puisqu'elle peut compliquer d'autres maladies de la rétine, comme la myopie et la chorioretinopathie séreuse centrale.

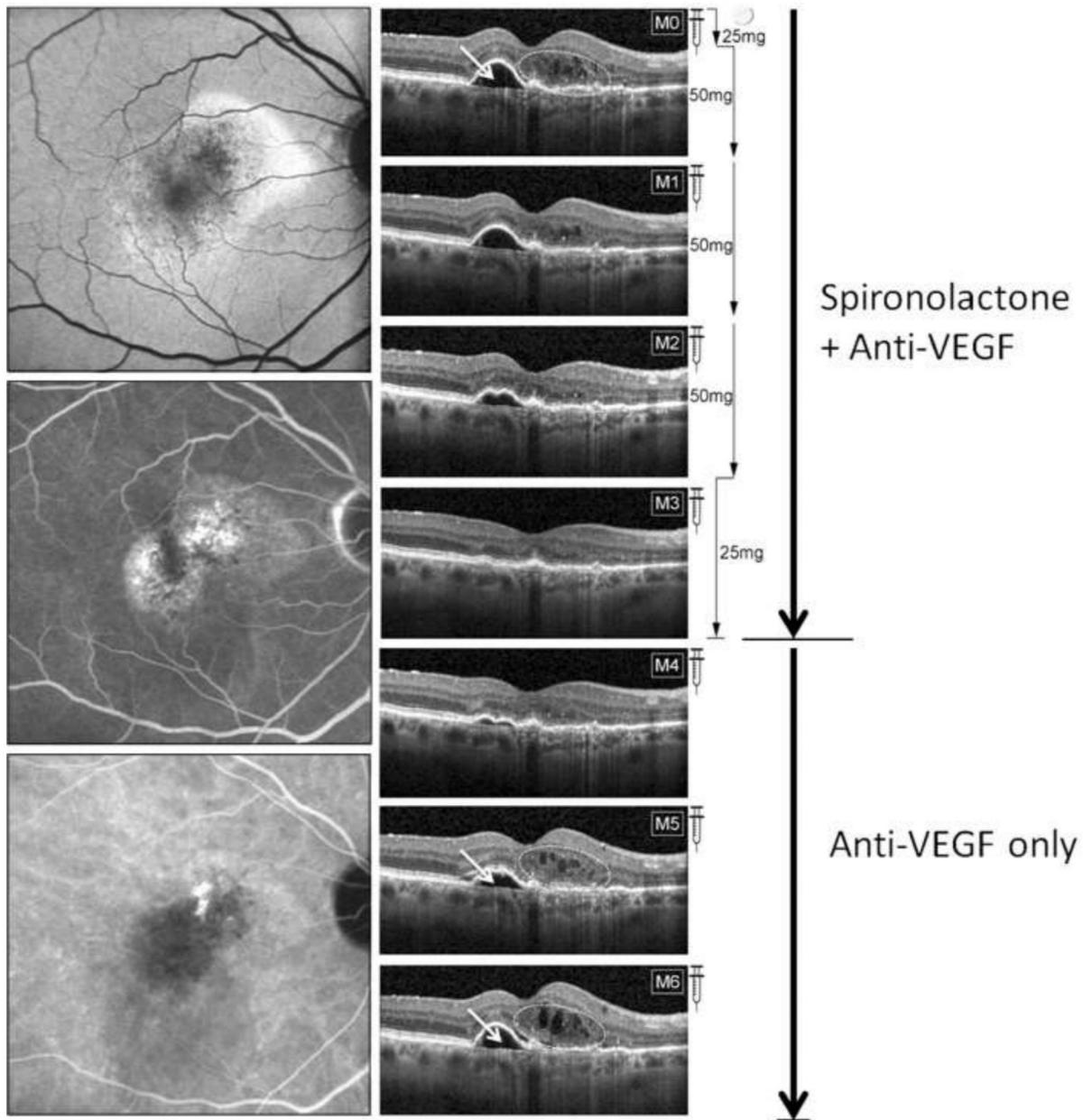
L'inhibition du VEGF (« *Vascular Endothelial Growth Factor* »), un facteur de croissance angiogénique est le seul traitement pour la forme humide de la DMLA. Le VEGF permet la formation des néovaisseaux. Son blocage par des injections répétées d'anti-VEGF, directement dans l'œil par voie intravitréenne (en moyenne sept injections par an), permet de stopper la progression de la maladie. Néanmoins, dans environ 40% des cas traités par ce régime intensif d'injections d'anti-VEGF, la macula reste humide. Les anti-VEGFs ne ciblent pas non plus l'inflammation qui joue, aussi, un rôle important dans la pathogénie de la DMLA.

Notre papier, récemment publié dans « *Nature Communications* », a pour objectif de mieux comprendre les méca-

nismes du développement de la NVC, et à proposer un nouveau traitement additif à l'anti-VEGF pour les patients atteints de la DMLA humide et résistants à ce dernier.

Dans un essai clinique pilote, nous avons inclus 20 patients atteints de la DMLA humide. Malgré des injections mensuelles d'anti-VEGF pendant plus de 12 mois, l'œdème de la macula persistait toujours pendant au moins 6 mois (épaisseur  $\geq 350 \mu\text{m}$  sur la tomographie à cohérence optique (OCT)). Pendant la période de 6 mois de l'essai, les patients ont continué à recevoir les injections mensuelles du même anti-VEGF, et se sont vu prescrire, en supplément, de la spironolactone (*antagoniste du récepteur minéralocorticoïde, RM*) par voie orale (per os) (25 mg/jour pendant 1 semaine, 50 mg/jour jusqu'à 3 mois, 25 mg/jour jusqu'à 4 mois, puis 0 mg jusqu'à 6 mois).

Les résultats ont montré une réduction significative de l'œdème de la macula, maximale à 3 mois chez ces sujets. L'amélioration sur la structure de la rétine a disparu après l'arrêt du traitement par spironolac-



Légende de la figure :

**IMAGES EN OCT** (« *Optical Coherence Tomography* ») du fond d'œil d'un patient atteint d'une DMLA exsudative. Avant l'introduction de la spironolactone, le patient a été traité avec anti-VEGF seul, pendant 12 mois (M0).

En OCT, l'œdème rétinien (*ovale pointillé*) et le liquide sous-rétinien (*flèche*) persistaient malgré les injections mensuelles d'anti-VEGF (M0). La spironolactone per os a été ensuite ajoutée de M0 jusqu'à M4 (25mg/jour pendant 1 semaine, 50mg/jour jusqu'à 3 mois, 25mg/jour jusqu'à 4 mois), l'injection mensuelle d'anti-VEGF étant maintenue. Une réabsorption de l'œdème a été observée de M1 à M3, maximale à M3. Après arrêt complet du traitement par spironolactone de M4 à M6, l'œdème rétinien (*ovale pointillé*) et le liquide sous-rétinien (*flèche*) ont réapparu, l'injection mensuelle d'anti-VEGF seul étant maintenue.

tone, malgré la poursuite du traitement avec anti-VEGF. La spironolactone a permis de « sécher » la rétine chez environ 50% des patients.

Dans les modèles expérimentaux de la NVC induite par photocoagulation laser surdosée, nous avons également montré que la spironolactone ou l'éplérénone (*antagoniste du RM plus spécifique que la spironolactone*) a permis de réduire la perméabilité et la taille des neovaisseaux choroïdiens.

La spironolactone a inhibé l'accumulation des cellules inflammatoires dans la région néovascularisée, et a diminué l'expression de gènes pro-inflammatoires, tels que MCP-1 (« *Monocyte Chémottractant Protein-1*»), IL1 $\beta$ , IL6 (*Interleukines*) et TNF (« *Tumor Necrosis Factor* »). La spironolac-

tone n'a pas d'effet sur l'expression du VEGF. Chez les souris avec invalidation du RM dans les cellules endothéliales vasculaires (*souris *Ve-cadherin-KO**), nous avons aussi observé une inhibition de la NVC, suggérant que le RM vasculaire joue un rôle dans la NVC. Nous avons également identifié la décorine (DCN) comme la molécule cible du RM, qui est augmentée dans la choroïde par spironolactone.

La sous-expression (*down-régulation*) de la DCN par l'utilisation d'un siRNA (« *small interfering RNA* ») a supprimé l'effet anti-angiogénique de la spironolactone sur les néovaisseaux choroïdiens, ce qui signifie que la spironolactone exerce son effet via, au moins partiellement, l'induction de la DCN.

*En conclusions, nos données cliniques et expérimentales ont démontré pour la première fois que le RM vasculaire contribue à la NVC. La spironolactone inhibe partiellement la NVC, via l'induction de la DCN. Les antagonistes du RM pourraient être de nouveaux traitements alternatifs pour les patients atteints de la DMLA humide, résistants aux traitements par anti-VEGF.*

M.Zhao et al., Mineralocorticoid receptor antagonism limits experimental choroidal neovascularization and structural changes associated with neovascular age-related macular degeneration, Nature Communications, vol.10 (1), 369-372, 2019.

DOI: [10.1038/s41467-018-08125-6](https://doi.org/10.1038/s41467-018-08125-6)



## *Dr. Talal BEYDOUN*

Prix « Yves Pouliquen » 2018

### *Constitution d'une Biobanque.*

par le Dr. Talal BEYDOUN, OphtalmoPôle de Paris, Hôpital Cochin

Cette année le prix Yves Pouliquen a été décerné au Dr Talal Beydoun. Le docteur Beydoun est bien connu des patients qui ont consulté dans le service d'ophtalmologie de l'Hôtel-Dieu, lequel a fusionné avec celui de Cochin pour former l'un des plus grands centres d'ophtalmologie d'Europe: l'OphtalmoPôle, centre d'excellence d'ophtalmologie de l'AP-HP-Hôpitaux de Paris. Dans ce grand centre, une biobanque a été mise en place. Une biobanque est une banque de matériel biologique, collecté soit au cours de chirurgie (les liquides oculaires par exemple sont recueillis au lieu d'être jetés), soit au cours d'un don de sang ou de salive (préparation de plasma, de sérum et / ou d'ADN). Ce matériel biologique est stocké dans des congélateurs prévus à cet effet et sont codés afin de respecter l'anonymat des patients. Les données de santé sont rattachées à l'échantillon

sans rompre la confidentialité. Cette biobanque est encadrée par la loi de bioéthique qui en a approuvé l'existence et le fonctionnement. Mais au quotidien, au milieu d'une consultation chargée, ou d'une intervention chirurgicale, recueillir le consentement, faire la collecte des échantillons et des données cliniques, classer, analyser... est véritable défi.

Le docteur Beydoun participe au quotidien à faire fonctionner la biobanque. C'est grâce aux échantillons de la biobanque que des hypothèses scientifiques ont pu être validées sur de la pathologie humaine, comme en témoigne le travail publié cette année par les Docteurs Emilie Picard, Alejandra Daruich et le Pr Behar-Cohen. Le don de matériel biologique est aussi important que les dons monétaires pour faire progresser la recherche et pour parvenir à l'application des découvertes jusqu'à la thérapie.

---

## RÉACTUALISATION DU SITE INTERNET DE L'ASSOCIATION

---

Le site de l'Association CRO Tous Unis pour la Vision a été réactualisé. Outre les rubriques déjà existantes (*Accueil, Actualités, Agenda, Nos actions, Le livre sur la DMLA, Prix Yves Poulighen*), qui seront remises à jour, vous y trouverez :

**Première nouveauté, un trombinoscope.** Ce dernier rassemble l'ensemble des portraits des Médecins Ophtalmologistes et/ou Chercheurs, qui adhèrent aux projets en clinique et recherche du Professeur Francine Behar-Cohen, tant à l'OphtalmoPôle de Paris, à l'Hôpital Cochin, qu'au sein de son équipe de recherche située au Centre de Recherche des Cordeliers à Paris. Pour chacun, vous trouverez quelques lignes descriptives de leurs titres et de leurs activités professionnelles.

**Vous y trouverez également :**

**Seconde nouveauté,** des documents relatifs aux principales pathologies, sujets de leurs études en clinique et recherche. Ceux-ci sont intitulés :

- Les conjonctivites
- Le kératocône en 4 questions
- Cataracte
- LED et Vision
- La rétinite pigmentaire
- La rétinopathie du Prématuré
- La rétinopathie Diabétique
- Les autres rétinopathies fréquentes
- Dyschromatopsies - Daltonisme
- DMLA
- DMLA et Maladie d'Alzheimer
- Décollement de Rétine
- Altitude et Décollement de Rétine
- Glaucome
- Névrite Optique

---

*Vous pouvez accéder au site de l'Association, sur Internet, via le lien :*

**<https://www.pourlavision.org>**

Le **CRO** souhaite poursuivre sa mission d'aide et de promotion de la **Recherche en Ophtalmologie** et de soutien aux jeunes chercheurs.

***La recherche ne peut progresser sans moyens.***

REJOIGNEZ NOTRE ASSOCIATION  **TOUS UNIS POUR LA VISION**

15, rue de l'Ecole de Médecine, 75270 Paris, Cedex 06 - **Tél.: 01 44 27 81 79**

---

*Cette brochure est un don de la Chambre syndicale typographique parisienne.*

*Impression faite gracieusement par les ouvriers du Livre.*

*Merci à Patrick Desnos pour la mise en page de ce bulletin et à Bruno Chigot pour les tirages.*