



Thèse

2024

Open Access

This version of the publication is provided by the author(s) and made available in accordance with the copyright holder(s).

Création et caractérisation fonctionnelle d'un modèle CEP amélioré de DMLA atrophique

Kecik, Mateusz Mariusz

How to cite

KECIK, Mateusz Mariusz. Création et caractérisation fonctionnelle d'un modèle CEP amélioré de DMLA atrophique. Doctoral Thesis, 2024. doi: 10.13097/archive-ouverte/unige:181054

This publication URL: <https://archive-ouverte.unige.ch/unige:181054>

Publication DOI: [10.13097/archive-ouverte/unige:181054](https://doi.org/10.13097/archive-ouverte/unige:181054)

Section de Médecine Clinique

Département des
Neurosciences Cliniques des Hôpitaux
Universitaires de Genève
Service d'Ophtalmologie

Thèse préparée sous la direction du Professeur Gabriele THUMANN

" Création et caractérisation fonctionnelle d'un modèle CEP amélioré de DMLA atrophique"

Thèse

présentée à la Faculté de Médecine
de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de Docteur en médecine
par

Mateusz Mariusz KECIK

de
Pologne
(Varsovie)

Thèse n° 11226

Genève

2023

DOCTORAT EN MEDECINE

Thèse de :

Mateusz Mariusz KECIK

originaire de Varsovie, Pologne

Intitulée :

Création et caractérisation fonctionnelle D'un modèle CEP amélioré de DMLA atrophique

La Faculté de médecine, sur le préavis du Comité directeur des thèses, autorise l'impression de la présente thèse, sans prétendre par-là émettre d'opinion sur les propositions qui y sont énoncées.

Genève, le 2 mai 2024

Thèse n° **11226**

Antoine Geissbühler
Doyen



N.B. - La thèse doit porter la déclaration précédente et remplir les conditions énumérées dans les "Informations relatives à la présentation des thèses de doctorat à l'Université de Genève".

RESUME	4
INTRODUCTION	5
VIEILLISSEMENT DE LA RÉTINE ET PATHOGENÈSE DE LA DMLA	6
LES MODÈLES ANIMAUX ET MURINS DE LA DMLA ATROPHIQUE	9
VISION ET MÉTHODES DE MESURE DE L'ACUITÉ VISUELLE	12
OBJECTIF DE CETTE THÈSE	17
DISCUSSION ET CONCLUSION	18
BIBLIOGRAPHIE.....	21
ANNEXE 1 : Functional and anatomical characterization of atrophic age-related macular degeneration in an aged mouse model	25
ANNEXE 2 : Details de projet et répartition des tâches de travail	51
REMERCIEMENTS	53

RESUME

La dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA) est la première cause de cécité parmi la population de plus de 50 ans dans les pays développés. Il est possible de traiter la forme exsudative, mais il n'existe pas encore de thérapie efficace pour la DMLA atrophique. En raison de la lenteur de développement et de progression de l'atrophie chez l'homme, les chercheurs ont besoin de modèles animaux fiables et qui peuvent être créés rapidement. Les mécanismes immunitaires et le stress oxydatif sont les facteurs connus provoquant la DMLA atrophique et sont la base de création d'un modèle murin 2-(ω -carboxyéthyl)pyrrole « CEP âgé » en 3 mois au lieu d'une année comme décrit au préalable chez les souris jeunes. Le but de cette thèse est de développer ce modèle et de caractériser l'altération de la fonction visuelle avec des tests de seuil optocinétique et de perception visuelle.

(145 mots)

INTRODUCTION

La dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA) est une dégénérescence acquise de la rétine centrale conduisant dans son stade avancé à une déficience visuelle sévère (1). Elle est caractérisée par la dégradation de fonction et de l'anatomie de l'épithélium pigmentaire rétinien (EPR) et des couches externes rétinienne dans la région perifovéolaire ; ces atteintes anatomiques mènent à une perte de fonction visuelle dans une région responsable de la vision centrale comprenant la vision des détails fins et la plupart de la vision des couleurs. Elle comprend une dysrégulation des voies immunologiques, angiogéniques, lipidiques et de la matrice extracellulaire (2). Les patients atteints de cette maladie sont à risque d'avoir une perte de l'acuité visuelle jusqu'à la cécité légale, d'une diminution de la vision des contrastes et de développer des symptômes tel que les scotomes centraux ou les métamorphopsies (déformation des lignes droites observées) ; en effet, la DMLA représente une cause majeure de cécité irréversible chez la personne âgée (3). La prévalence de la DMLA augmente avec l'âge et on estime qu'elle affectera 288 millions patients en 2040 (4).

La DMLA comporte 2 formes cliniques : la forme atrophique (atrophie géographique), de progression lente sur des mois et années, et la forme exsudative conduisant à une baisse de vision rapide en quelques jours ou semaines. Nous disposons d'un traitement très efficace contre la forme exsudative depuis 2007 sous forme d'injections intravitréennes d'anti-VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) (5). Jusqu'à récemment, il n'y avait aucun traitement contre la forme atrophique ; depuis début 2023, la FDA (Food and Drug Administration) a approuvé deux traitements par injections intravitréennes d'inhibiteurs du complément C3 et C5 (6, 7), mais ils n'ont pas encore démontré une efficacité fonctionnelle et leur utilité dans la pratique clinique reste débattue (8).

L'atrophie géographique touche environ 1 million de personnes aux Etats-Unis et représente

un quart des cas de cécité légale (9). Les facteurs de risque de la maladie comprennent l'âge (10), les antécédents familiaux (11), l'ethnie caucasienne (12), la consommation de tabac (13, 14) et le régime riche en acides gras polyinsaturés (15).

La progression lente de l'atrophie géographique rend les projets de recherche sur ce sujet laborieux, coûteux et complexes. Afin de pouvoir démontrer les bénéfices de potentiels traitements dans les études cliniques, il faut utiliser l'analyse de la superficie de l'atrophie, la microperimétrie, la vision en faible contrastes et la vitesse de lecture (6, 16). En plus, les études nécessitent une longue durée d'observation afin de pouvoir démontrer un effet significatif (6, 7). Pour ces raisons, les chercheurs ont besoin de modèles animaux fiables et rapides pour pouvoir tester leurs hypothèses et mieux comprendre la maladie.

La thèse a comme objectif d'immuniser les souris C57BL6 âgées par 2-(ω -carboxyéthyl)pyrrole conjuguée à l'albumine murine (CEP-MSA) et caractériser leur potentiel visuel à l'aide de deux méthodes de test visuel.

VIEILLISSEMENT DE LA RÉTINE ET PATHOGENÈSE DE LA DMLA

La macula est une région centrale de la rétine qui se trouve en temporal de la papille optique ; elle est responsable de la vision photopique. La macula est délimitée par les arcades vasculaires en supérieur et inférieur. C'est une zone de diamètre de 6 mm, soit 4% de superficie de la rétine (17). Sa partie la plus centrale de 2 mm de diamètre est appelée la fovéa et comprend la plus grande densité des photorécepteurs de type cônes (17, 18). La région fovéolaire permet la vision précise à 10/10^{ème} et c'est pour cette raison qu'une maladie qui touche la fovéa génère un trouble visuel important et dégrade la qualité de vie (16).

Le stade précoce de la DMLA, appelé la MLA – maculopathie liée à l'âge

accumulation de drusen entre les cellules de l'EPR et la membrane de Bruch (19). Les drusen sont des dépôts extracellulaires composés de lipides, protéines et débris cellulaires ; ils sont présents chez 24% des personnes après l'âge de 75 ans (20). Ces drusen sont visibles cliniquement lors de l'examen du fond d'œil sous forme des dépôts jaunâtres de moins de 63 μm pour les petits drusen, entre 63 - 124 μm pour les drusen moyens et de plus de 124 μm pour les grands drusen (21). Ce sont les grands drusen qui sont le plus à risque de progression vers les stades plus avancés de la maladie (21).

La MLA peut progresser vers une DMLA, soit dans sa forme exsudative, caractérisée par la présence d'une néovascularisation maculaire, soit dans une forme non-exsudative, ou atrophique, appelée l'atrophie géographique (Fig 1). Cette dernière se caractérise par une atrophie de la rétine externe par perte des photorécepteurs, de l'EPR et de la choriocapillaire (22). Les lésions atrophiques s'étendent avec le temps conduisant à une perte du champ visuel paracentral et enfin de l'acuité visuelle centrale lorsque la fovéa est atteinte (23, 24). Dans les stades avancés de la DMLA, la forme atrophique peut se compliquer par une néovascularisation ou *vice versa* une atrophie apparaitre chez les patients atteints de la forme exsudative (24).

Le deuxième groupe des méthodes de mesure de l'acuité visuelle chez la souris sont les tests comportementaux de la discrimination visuelle (60, 69, 75) ; ces tests sont chronophages car ils nécessitent plusieurs sessions d'entraînement pour chaque souris afin d'assurer l'exécution correcte de la tâche visuelle. Un exemple de ce test est une tâche de discrimination visuelle dans la piscine Acumen (Cerebral Mechanics Inc, Medicine Hat, Alberta, Canada) (Fig. 5). Elle est composée d'une piscine d'eau en forme d'Y' d'une longueur de 140 cm ; les derniers 40 cm sont séparés par un diviseur. Au fond de chaque bras, il y a un écran qui affiche soit des bandes verticales alternantes noires et blanches (« optotype ») soit un fond gris. La souris est d'abord entraînée à ce qu'une plateforme d'évacuation se trouve sous l'écran qui affiche l'optotype. Ensuite, elle nage de l'autre côté de la piscine et quand elle arrive au diviseur elle est confrontée à un choix entre 2 bras. Le chercheur établit le seuil de l'acuité visuelle en enregistrant ses choix pendant plusieurs sessions de natation avec une fréquence de bandes variable. Une bonne performance dans le test Acumen nécessite non seulement une bonne fonction visuelle mais aussi l'absence de déficience moteur et trouble d'apprentissage. En effet, certaines souches de souris ont des résultats médiocres dans le test Acumen mais leur comportement pendant le test suggère qu'elles sont capables de percevoir le stimulus visuel (60, 75). La souche C57BL6J est connue pour une capacité visuelle normale et des bons résultats dans le test Acumen avec un seuil de vision d'environ 0.375 - 0.51 c/d (68, 75).

renforcé, il est possible de produire un modèle animal de la DMLA atrophique en 3 mois. Il a prouvé une atteinte fonctionnelle sur le plan visuel et des lésions anatomiques rétinienne similaires à celles trouvées chez l'être humain atteint de la maladie. Le modèle peut ensuite être utilisé dans les tests précliniques des médicaments, la thérapie génique ou d'autres études permettant la meilleure compréhension de la DMLA atrophique.

based Visual Function Assessment in Mice. *Scientific Reports*. 2018;8(1):9708.

75. Wong AA, Brown RE. Visual detection, pattern discrimination and visual acuity in 14 strains of mice. *Genes Brain Behav*. 2006;5(5):389-403.

76. Uğurlu N, Aşık MD, Yülek F, Neselioglu S, Cagil N. Oxidative stress and anti-oxidative defence in patients with age-related macular degeneration. *Curr Eye Res*. 2013;38(4):497-502.

77. Long KM, Heise M. Safe and effective mouse footpad inoculation. *Methods Mol Biol*. 2013;1031:97-100.

78. Kamala T. Hock immunization: a humane alternative to mouse footpad injections. *J Immunol Methods*. 2007;328(1-2):204-14.

79. Richter H, Karol A, Nuss K, Lenisa A, Bruellmann E, Maudens SS, et al. Comparison of hock- and footpad-injection as a prostate adenocarcinoma model in rats. *BMC Vet Res*. 2018;14(1):327.

ANNEXE 1 : Functional and anatomical characterization of
atrophic age-related macular degeneration in an aged mouse
model

