

Le dossier – Épigénétique et ophtalmologie

Épigénétique et glaucome

RÉSUMÉ: La notion de glaucome regroupe des pathologies associées à un “*trait génétique complexe*”. En effet, si dans certains types de glaucome, des variants à risque ont pu être identifiés, ces variants ne permettent pas toujours d’expliquer complètement la pathogénie de l’affection. Certains gènes ont été clairement associés à une transmission mendélienne, mais un nombre croissant de polymorphismes avec variants à risque sont encore en cours d’identification.

Par ailleurs, les conséquences des facteurs environnementaux, alimentaires ou biologiques sur le développement de la maladie et l’interaction entre ces facteurs environnementaux et les facteurs génétiques sont encore mal comprises. Depuis quelques années, l’épigénétique apparaît comme un “*chaînon manquant*” entre ces deux types de facteurs. Plusieurs mécanismes épigénétiques permettant une modulation de l’expression de certains gènes sans modification de la séquence d’ADN ont été associés au glaucome.

Les éléments qui ont été mieux caractérisés sont la méthylation de l’ADN, des modifications des histones et l’implication d’ARN non codants. Dans cet article, nous analysons les principaux facteurs épigénétiques impliqués dans le développement du glaucome et les nouvelles perspectives thérapeutiques qui pourraient en découler.



F. D'ESPOSITO

Western Eye Hospital,
Imperial NHS Trust, LONDRES, Royaume-Uni.



P. BLOOM

Western Eye Hospital,
Imperial NHS Trust, LONDRES, Royaume-Uni.

De la génétique à l'épigénétique

Le glaucome recouvre un large spectre de pathologies oculaires qui aboutissent à des dommages irréversibles des cellules ganglionnaires rétiniennes (CGR), avec une neuropathie optique d’installation progressive. Le glaucome concerne environ 3,5 % de la population mondiale dans la tranche des 40 à 80 ans. La prévalence est plus importante chez les individus ayant une ascendance africaine [1, 2].

Un excès de pression intraoculaire (PIO) est associé à la plupart des formes de glaucome, à l’origine de contraintes mécaniques sur les tissus oculaires générant des phénomènes ischémiques, un stress oxydatif et à terme des lésions du nerf optique [3]. La plupart des stratégies thérapeutiques classiques visent à diminuer la PIO soit par le biais pharmacologique, soit par le biais de procédures chirurgicales ou para-chirurgicales (lasers). D’autres

approches ont été développées depuis quelques années dans le domaine de la neuroprotection [4]. Pourtant, le défi actuel consiste encore à mieux identifier les mécanismes complexes de la pathogénie du glaucome pour identifier des cibles thérapeutiques plus efficaces.

L’importance des facteurs génétiques est particulièrement évidente dans les formes de glaucome à début précoce ou associées à des anomalies du développement du segment antérieur. Divers gènes avec une transmission mendélienne ont été identifiés tels que *MYOC*, *CYP1B1*, *PAX6*, *FOXC1* et *PITX2*.

Des études génétiques réalisées sur de grandes familles comportant un nombre important de sujets glaucomateux ont permis l’identification d’au moins 20 *loci* chromosomiques impliqués dans la pathogénie de la maladie. Parmi eux existent plusieurs gènes codant pour des protéines ayant un effet déterminant sur le développement d’un

Le dossier – Épigénétique et ophtalmologie

glaucome, notamment la myociline (MYOC). D'autres variants à risque ont été observés tels que l'optineurine (OPTN), le domaine de répétition WD 36 (WDR36), la répétition d'ankyrine associés à la boîte SOCS contenant l'ASB10, la famille 1 du cytochrome P450 1, le polypeptide 1 (CYP1B1) et la neurotrophine 4 (NTF4). Les variants du MYOC peuvent être la cause sous-jacente de 3 à 4 % des cas de glaucome à angle ouvert (GAO) avec une PIO supérieure à 21 mmHg, tandis que des mutations des OPTN, TBK1 et MYOC seraient chacune liées à environ 1 % des glaucomes à pression normale [5].

On considère que le glaucome, en particulier le glaucome à angle ouvert, relève d'un "trait génétique complexe" parce que les facteurs génétiques sont impliqués dans la pathogénie mais que ces facteurs ne sont pas isolés.

L'ADN humain présente une grande variabilité interindividuelle, ce qui fait le caractère unique de chaque individu. Les variations de cette séquence peuvent être "neutres" ou "pathologiques" (les mutations transmises suivant les lois de Mendel) ou encore entrer dans le cadre d'un polymorphisme génétique (SNP). Le polymorphisme d'un gène peut être associé à une prédisposition plus ou moins directe ou, au contraire, avoir un rôle protecteur. Dans le cadre du glaucome, les études à grande échelle (*Genome Wide Association Studies* [GWAS]) ont montré la coexistence de ces deux types de facteurs génétiques [6].

Alors que de nombreux progrès ont été accomplis dans la compréhension des mécanismes impliqués dans le développement du glaucome, une cause purement génétique n'est mise en évidence que chez un faible pourcentage de patients. Il apparaît que différents mécanismes jouent un rôle, le plus souvent en combinaison avec le statut génétique.

Un autre aspect illustre que les mécanismes génétiques classiques ne sont

pas les seuls acteurs de la pathogénie du glaucome. La prévalence de cette affection augmente régulièrement au fil des ans (indépendamment des meilleures performances diagnostiques). Des facteurs associés au style de vie et à l'environnement semblent jouer un rôle dans cette augmentation de la prévalence. Il s'agit en particulier du vieillissement, de l'inflammation, du stress oxydatif, de la prise de certains médicaments et des modifications du régime alimentaire [7]. Ces facteurs peuvent moduler l'expression des gènes à travers des mécanismes épigénétiques. Pour cette raison, plusieurs auteurs ont recherché l'implication des mécanismes épigénétiques dans le glaucome.

L'épigénétique est en effet un domaine émergent en ophtalmologie, avec une intervention dans la régulation de l'expression des gènes au cours du développement oculaire normal et de certaines pathologies. Des études récentes ont conduit à l'identification de plusieurs mécanismes épigénétiques dans le développement des maladies oculaires les plus importantes telles que la cataracte, le glaucome, les troubles de la surface oculaire [7] et la dégénérescence maculaire liée à l'âge [8]. Les principaux mécanismes observés en épigénétique sont la méthylation de l'ADN, la modification des histones, le remodelage de la chromatine et l'intervention des ARN non codants.

Modifications épigénétiques observées au cours du glaucome

1. Modifications induites par l'ischémie et méthylation de l'ADN

L'expression de nombreux gènes (tels que les gènes impliqués dans l'apoptose, la neurogenèse, la production de matrice extracellulaire, la mitochondrie, l'angiogenèse...) varie sous l'effet des niveaux d'hypoxie [9]. L'œil glaucomateux est un environnement hypoxique

principalement en relation avec le débit déficient d'humeur aqueuse [10].

Le facteur inductible par l'hypoxie 1α (HIF- 1α) est une sous-unité du facteur de transcription HIF-1, considéré comme ayant un rôle pivot dans la régulation de la réponse des cellules à l'hypoxie. L'expression de HIF- 1α et de HIF-1 augmente lorsque la concentration en oxygène cellulaire diminue [11]. Tezel *et al.* ont démontré que HIF- 1α est surexprimé dans la rétine glaucomateuse et la tête du nerf optique, postulant ainsi un rôle physiopathologique dans le développement et/ou la progression de la neurodégénérescence [10]. L'hypoxie stimule également la méthylation de l'ADN du HIF qui renforce sa liaison à l'HIF- 1α et stimule le transport de cellules vers le trabéculum, favorisant les phénomènes de fibrose [12].

La méthylation de l'ADN est un mécanisme épigénétique qui joue un rôle important dans plusieurs processus cellulaires tels que le développement embryonnaire, l'inactivation du chromosome X et la préservation de la stabilité des chromosomes. La méthylation intervient au niveau des cytosines de l'ADN, qui sont converties en 5-méthylcytosine par les enzymes ADN méthyltransférases (DNMT). Des anomalies dans les processus de méthylation ont été associées à plusieurs maladies, notamment le glaucome.

Le mécanisme de méthylation suivie d'une activation des fibroblastes et d'une fibrogenèse a été décrit par Bechtel [13]. Les dépôts dans la matrice extracellulaire induisent une fibrose du trabéculum (TM) et de la tête du nerf optique.

En outre, les taux de TGF- β sont liés à la production anormale de la matrice extracellulaire. McDonnell *et al.* ont étudié les interactions entre la méthylation de l'ADN induite par l'hypoxie et l'expression de gènes liés à la fibrose, tels que le TGF- β 1 et l'activateur de la protéine Ras antifibrotique like 1 (RASAL1) [14].

Ils ont comparé les niveaux d'expression dans les cellules de trabéculum humaines normales avec ceux des cellules de trabéculum glaucomateuses et des cellules de trabéculum dans des conditions hypoxiques. L'hypoxie seule s'est avérée suffisante pour modifier le statut de méthylation de l'ADN des cellules et influencer sur les taux de TGF- β 1 et de RASAL1 dans les cellules des réseaux trabéculaires normaux et glaucomateux. RASAL1 a été régulée négativement directement par le TGF- β 1, puis indirectement par sa méthylation de promoteur *via* l'activité de l'enzyme ADN méthyltransférase.

Chez le glaucomateux, l'hypoxie pourrait donc être la cause principale de l'augmentation des taux de méthylation de l'ADN dans les *loci*, ce qui aurait un effet sur la régulation de l'expression de TGF- β 1, qui stimule la fibrose, et l'activateur de la protéine RASAL1, un inhibiteur de la fibrose.

2. Modifications d'histones

Les histones sont des protéines nécessaires au conditionnement de l'ADN dans les noyaux des cellules eucaryotes. Elles sont sujettes à des modifications post-traductionnelles telles que la méthylation, l'acétylation ou la phosphorylation, qui modifient leur interaction avec l'ADN et les protéines nucléaires et jouent un rôle dans l'expression des gènes.

Parmi différents mécanismes, l'expression de l'ADN semble être régulée par l'acétylation et la désacétylation des histones, sous l'action des enzymes spécifiques histones acétyltransférases (HAT) et histones désacétylases (HDAC) comportant plusieurs sous-types. La désacétylation induit une structure de chromatine plus compacte, limitant ainsi l'accès aux facteurs de transcription, alors que les groupes acétyles ont l'effet inverse, facilitant l'interaction de la chromatine avec les facteurs de transcription [15].

Des études sur les modifications des axones des cellules ganglionnaires après une lésion aiguë du nerf optique ont montré une série de mécanismes permettant de mieux comprendre la neuropathie des yeux glaucomateux et les mécanismes épigénétiques qui y sont associés.

La séquence conduisant à une atrophie du noyau et à la mort cellulaire comporte une étape importante correspondant à la désacétylation des histones avec formation d'hétérochromatine. Dans les cellules ganglionnaires normales, HDAC1 et 2 sont localisés dans les noyaux, tandis que HDAC3 est principalement localisé dans le cytoplasme. Un modèle murin d'écrasement du nerf optique montre des variations spécifiques de l'expression des sous-types HDAC entre le cytoplasme et le noyau [16].

Une meilleure compréhension des mécanismes d'acétylation des histones pourrait ouvrir la voie à des thérapeutiques spécifiques. L'inhibition expérimentale de l'activité HDAC rétinienne avec des agents spécifiques tels que l'acide valproïque (VPA) s'est révélée efficace, le VPA agissant en tant qu'agent neuroprotecteur [17].

3. ARN non codants (ncARN)

Les ARN non codants sont un groupe de molécules d'ARN qui ne codent pas pour des protéines fonctionnelles. Ces molécules peuvent intervenir parmi les mécanismes de modulation de l'expression des gènes éventuellement liés à l'apparition de différentes maladies. Nous décrivons ceux qui ont été mieux démontrés pour jouer un rôle dans la pathogénie du glaucome.

Les ARN longs non codants (lncARN) ont une taille qui varie de 200 à 100 000 nucléotides. Ils peuvent jouer un rôle dans la régulation de l'expression des gènes à différents niveaux et seraient impliqués dans différentes pathologies [18]. Leurs effets régulateurs

peuvent être observés à différents niveaux, pré-transcriptionnel (c'est-à-dire liaison à l'enzyme DNMT ou régulant les modifications de l'histone), transcriptionnel (interagissant directement avec les facteurs de transcription) ou post-transcriptionnel, ciblant des ARNm spécifiques [19].

L'un des lncARN les plus étudiés est l'ARN non codant antisens 2B, inhibiteur de la kinase dépendant de la cycline (CDKN2B-AS1), également appelé ANRIL. L'identification des polymorphismes dans ANRIL et les études de génotype/phénotype ultérieures ont pu démontrer une association à la neurodégénérescence du nerf optique chez les patients atteints de glaucome à angle ouvert. À partir de ce résultat, il a été suggéré que différentes isoformes d'ANRIL pourraient influencer la vulnérabilité du nerf optique et donc moduler la neurodégénérescence. Les allèles à risque dans la région ANRIL peuvent prédisposer au développement de glaucome à angle ouvert à des niveaux de PIO relativement bas, comme cela se produit dans le glaucome à tension normale [20].

Une autre classe intéressante d'ARN non codants comprend les ARN circulaires (circARN), qui se sont révélés être des régulateurs potentiels de différentes maladies neurodégénératives, probablement par le biais de mécanismes de régulation génique post-transcriptionnelle.

Le circARN ZRANB1 est principalement exprimé dans le cytoplasme des cellules gliales, ce qui indique que son activité régulatrice se situe à un niveau post-transcriptionnel. Wang *et al.* ont démontré que son expression est nettement régulée positivement dans la dégénérescence rétinienne induite par le glaucome [21]. Il semble avoir un contrôle négatif sur l'expression de miARN-217 avec pour effet une augmentation de la prolifération des cellules de Müller. Fait intéressant, ils ont étudié les effets de l'inhibition de cZRANB1 sur les yeux induite par le

Le dossier – Épigénétique et ophtalmologie

glaucome *in vivo*, ce qui a entraîné à la fois une diminution de la gliose rétinienne et du taux d'apoptose dans les cellules de rétention osseuse. En outre, les auteurs ont démontré que la surexpression d'un facteur de transcription (RUNX2) pouvait inverser les effets de l'inhibition de cZNRANB1, en identifiant lors de l'intervention le réseau de signalisation cZNRANB1/miARN-217/RUNX2 comme une stratégie thérapeutique efficace pour traiter la neurodégénérescence rétinienne liée au glaucome.

Conclusion

Par définition, le glaucome recouvre un certain nombre d'entités pathologiques différentes ayant en commun le dommage final causé aux fibres du nerf optique. L'impact des facteurs génétiques est extrêmement variable selon les entités considérées.

Les membres de la famille de patients glaucomateux ou les sujets ayant une ascendance africaine ont un plus grand risque de développer un glaucome à angle ouvert, indiquant ainsi une forte composante génétique. Cette prédisposition génétique n'a cependant pu être définie avec précision que pour une fraction très limitée de patients porteurs de mutations dans des gènes spécifiques.

Dans le même temps, il a été constaté que le tabagisme important, l'exposition aux pesticides, des facteurs nutritionnels, l'environnement intra-utérin (obésité et diabète chez la mère) et d'autres facteurs peuvent influencer le développement ultérieur d'un glaucome. En cas de glaucome pseudo-exfoliatif ou lié au syndrome d'exfoliation, des facteurs environnementaux géographiques et climatiques tels que l'exposition au soleil et la température ambiante ont été considérés comme jouant un rôle important, en plus d'une possible susceptibilité génétique.

Dans ce scénario complexe concernant la pathogénie, nous savons maintenant

que d'autres acteurs doivent être pris en compte afin d'expliquer les différents rôles des facteurs génétiques et non génétiques, et en particulier les interactions entre eux. Au cours des dernières années, un certain nombre de mécanismes épigénétiques ont été observés dans différents traits pathologiques humains, comblant ainsi l'écart entre la génétique et les facteurs externes.

Trois domaines de recherche continuent de fournir de nouveaux résultats dans le processus d'élucidation des mécanismes conduisant au glaucome :

- l'identification de gènes porteurs de mutations suffisamment puissantes pour avoir un effet clairement pathogène ;
- les GWAS visant à caractériser les SNP prédisposants ou protecteurs ;
- les études sur l'identification des mécanismes épigénétiques.

Certains facteurs épigénétiques pourraient contribuer à expliquer le degré élevé de variabilité observé chez les patients dans différents aspects de la maladie, par exemple la susceptibilité du nerf optique aux dommages liés à la PIO. Les extrêmes de cette variabilité sont illustrés dans le glaucome à pression normale où les dommages se produisent malgré une faible PIO et au contraire l'hypertension oculaire caractérisée par une grande tolérance aux niveaux élevés de PIO sans lésion du nerf optique.

De même, la réactivité aux stéroïdes topiques, qui peuvent provoquer une augmentation de la PIO et un glaucome induit par les stéroïdes, est extrêmement variable selon les individus. Cette variabilité pourrait être liée à des caractéristiques individuelles liées au gène du récepteur des glucocorticoïdes et/ou à des mécanismes épigénétiques supplémentaires qui renforcent la cascade biochimique menant à la hausse de la PIO.

En outre, si la pharmacologie des médicaments contre le glaucome est bien comprise, certains patients répondent différemment aux médicaments réduisant

la PIO. Plusieurs facteurs, notamment des facteurs environnementaux tels que les produits chimiques, l'alcool, le tabac, l'alimentation et d'autres drogues ainsi que des facteurs biologiques tels que l'âge et le sexe, peuvent contribuer à l'état physiologique et biochimique des cellules ciblées et finalement modifier l'expression des gènes associés. Là encore, les déterminants des effets variables des médicaments contre le glaucome, et même le phénomène de tachyphylaxie, pourraient être expliqués par des mécanismes épigénétiques activés à la suite de l'effet de tels facteurs.

Ce n'est donc pas simplement la génétique ou l'environnement, mais c'est l'interaction entre ces deux groupes de facteurs qui est importante en pharmacologie et en médecine.

Un autre point crucial, qui alimente en grande partie l'enthousiasme suscité par les études visant à caractériser les mécanismes épigénétiques, est que les modifications épigénétiques pourraient en principe être réversibles. Cela ouvre la perspective d'une approche totalement nouvelle avec la possibilité de traitements médicaux individualisés, comme suggéré par les données expérimentales.

Traduit de l'anglais par le Dr Thomas Desmettre.

BIBLIOGRAPHIE

1. GAUTHIER AC, LIU J. Epigenetics and signaling pathways in glaucoma. *Biomed Res Int*, 2017;2017:5712341.
2. THAM YC, LI X, WONG TY *et al*. Global prevalence of glaucoma and projections of glaucoma burden through 2040: a systematic review and meta-analysis. *Ophthalmology*, 2014;121:2081-2090.
3. GAUTHIER AC, LIU J. Neurodegeneration and neuroprotection in glaucoma. *Yale J Biol Med*, 2016;89:73-79.
4. ADAMS CM, STACY R, RANGASWAMY N *et al*. Glaucoma - Next generation therapeutics: impossible to possible. *Pharm Res*, 2018;36:25.

5. SEARS NC, BOESE EA, MILLER MA *et al.* Mendelian genes in primary open angle glaucoma. *Exp Eye Res*, 2019;186:107702.
6. MACGREGOR S, ONG JS, AN J *et al.* Genome-wide association study of intraocular pressure uncovers new pathways to glaucoma. *Nat Gen*, 2018;50:1067-1071.
7. ALKOZI HA, FRANCO R, PINTOR JJ. Epigenetics in the eye: an overview of the most relevant ocular diseases. *Front Genet*, 2017;8:144.
8. DESMETTRE TJ. Epigenetics in age-related macular degeneration (AMD). *J Fr Ophthalmol*, 2018;41:e407-e415.
9. KIRWAN RP, FELICE L, CLARK AF *et al.* Hypoxia regulated gene transcription in human optic nerve lamina cribrosa cells in culture. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2012;53:2243-2255.
10. TEZEL G, WAX MB. Hypoxia-inducible factor 1alpha in the glaucomatous retina and optic nerve head. *Arch Ophthalmol*, 2004;122:1348-1356.
11. KIETZMANN T, MENNERICH D, DIMOVA EY. Hypoxia-Inducible Factors (HIFs) and phosphorylation: impact on stability, localization, and transactivity. *Front Cell Dev Biol*, 2016;4:11.
12. KIMURA K, IWANO M, HIGGINS DF *et al.* Stable expression of HIF-1alpha in tubular epithelial cells promotes interstitial fibrosis. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2008;295:F1023-F1029.
13. BECHTEL W, MCGOOHAN S, ZEISBERG EM *et al.* Methylation determines fibroblast activation and fibrogenesis in the kidney. *Nat Med*, 2010;16:544-550.
14. McDONNELL F, IRNATEN M, CLARK AF *et al.* Hypoxia-induced changes in DNA methylation alter RASAL1 and TGFbeta1 expression in human trabecular meshwork cells. *PLoS One*, 2016;11:e0153354.
15. PELZEL HR, SCHLAMP CL, NICKELLS RW. Histone H4 deacetylation plays a critical role in early gene silencing during neuronal apoptosis. *BMC Neurosci*, 2010;11:62.
16. SCHMITT HM, SCHLAMP CL, NICKELLS RW. Role of HDACs in optic nerve damage-induced nuclear atrophy of retinal ganglion cells. *Neurosci Lett*, 2016;625:11-15.
17. MAHALINGAM K, CHAURASIA AK, GOWTHAM L *et al.* Therapeutic potential of valproic acid in advanced glaucoma: A pilot study. *Indian J Ophthalmol*, 2018;66:1104-1108.
18. CISSE Y, BAI L, MENG T. LncRNAs in genetic basis of glaucoma. *BMJ Open Ophthalmol*, 2018;3:e000131.
19. ZHANG L, DONG Y, WANG Y *et al.* Long non-coding RNAs in ocular diseases: new and potential therapeutic targets. *FEBS J*, 2019;286:2261-2272.
20. WAWRZYNAK O, ZAREBSKA Z, ROLLE K *et al.* Circular and long non-coding RNAs and their role in ophthalmologic diseases. *Acta Biochim Pol*, 2018;65:497-508.
21. WANG JJ, SHAN K, LIU BH *et al.* Targeting circular RNA-ZRANB1 for therapeutic intervention in retinal neurodegeneration. *Cell Death Dis*, 2018;9:540.

Les auteurs ont déclaré ne pas avoir de conflits d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.