

UNIVERSITE DE NANTES

FACULTE DE MEDECINE

Année 2011

N° 60

THESE

pour le

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE

D.E.S EN OPHTALMOLOGIE

par

Lorette Léon

née le 22 juin 1980 à Angers, Maine-et-Loire

Présentée et soutenue publiquement le 27 septembre 2011

LA PUPILLOMETRIE CHROMATIQUE :

ROLE DES CELLULES A MELANOPSINE

Président : Monsieur le Professeur A. Péchereau

Directeur de thèse : Madame le Docteur A. Kawasaki

LA PUPILLOMETRIE CHROMATIQUE : ROLE DES CELLULES A MELANOPSINE

Lorette Léon

Table des matières

1	Introduction	3
2	Les Cellules à Mélanopsine	4
2.1	Découverte des cellules à mélanopsine	4
2.2	Fonctions des cellules à mélanopsine	5
2.3	Caractéristiques anatomiques et électrophysiologiques des MGC	8
2.4	Diversité des cellules à mélanopsine	12
2.4.1	<i>Les cellules M1 ou Type I</i>	12
2.4.2	<i>Les cellules M1 « déplacées »</i>	12
2.4.3	<i>Les cellules M2 or Type II</i>	13
2.4.4	<i>Les cellules bistratifiées M3</i>	13
2.4.5	<i>Les cellules M4 et M5</i>	13
2.5	Phototransduction des cellules à mélanopsine	16
3	La Pupillométrie Chromatique	18
3.1	Le réflexe pupillaire à la lumière	18
3.1.1	<i>Rappels sur les circuits du réflexe photomoteur</i>	18
3.1.2	<i>Caractéristiques et phases du réflexe photomoteur</i>	21
3.2	Examen clinique des pupilles et du réflexe photomoteur en ophtalmologie	23
3.2.1	<i>Examen statique des pupilles</i>	23
3.2.2	<i>Examen dynamique : le réflexe photomoteur</i>	24
3.2.3	<i>Examen à la lampe à fente</i>	24
3.3	La Pupillométrie Chromatique : présentation de l'étude clinique réalisée à Lausanne	25
3.3.1	<i>Introduction</i>	25
3.3.2	<i>Matériel et Méthode</i>	27
3.3.3	<i>Résultats</i>	33
3.3.4	<i>Discussion</i>	40
4	Conclusion	44
5	Bibliographie	45

1 Introduction

Le réflexe pupillaire à la lumière ou réflexe photomoteur (RPM) est un des rares éléments objectifs permettant une évaluation d'un déficit des voies visuelles afférentes. Cette contraction pupillaire, en réponse à une lumière caractérisée (en termes d'intensité lumineuse, de durée) a été pendant longtemps considérée comme le reflet de l'état rétinien si l'on considérait que le système nerveux autonome était intact.

Le rôle des cônes et des bâtonnets dans la phototransduction et le RPM est largement établi, mais en 2000, la découverte des cellules ganglionnaires exprimant la mélanopsine chez l'animal et chez l'homme a marqué le début d'un tournant majeur dans la compréhension des signaux transmis par la rétine aux circuits cérébraux, dont le réflexe pupillaire [1,2].

Les cellules à mélanopsine (MGC= Melanopsin Ganglion Cells) s'avèrent être le principal, voire le seul, substrat neurologique de la voie pupillaire afférente [2-5]. Ces cellules représentent une sous population de cellules ganglionnaires capables de générer une activité électrique intrinsèque grâce à leur photopigment unique, la mélanopsine. Elles se comportent donc comme de véritables photorécepteurs [3,6]. En parallèle, les cellules à mélanopsine reçoivent des signaux provenant des cônes et des bâtonnets [7-9]. La contraction pupillaire à la lumière est donc le résultat de l'activité des MGC qui est modulée par 3 types de signaux : signaux extrinsèques des cônes et des bâtonnets et signaux intrinsèques provenant de la mélanopsine [7-10].

La pupillométrie chromatique se base sur les différentes propriétés électrophysiologiques de chaque signal influençant l'activité des MGC (cônes versus bâtonnets versus mélanopsine). Les protocoles de stimulations lumineuses utilisés pour la pupillométrie chromatique permettent d'activer préférentiellement chacun de ces signaux en utilisant des lumières de différentes longueurs d'onde (rouge et bleue) et de différentes intensités [11-12]. La pupillométrie chromatique permettrait une évaluation objective et non invasive de la fonction de chaque photorécepteur rétinien et pourrait s'avérer utile dans le diagnostic et le suivi de patients atteints de dystrophie rétinienne.

Nous détaillerons dans un premier temps les caractéristiques anatomiques, physiologiques, électrophysiologiques et la diversité des cellules ganglionnaires à mélanopsine. Nous décrirons ensuite les différents moyens d'étudier le réflexe pupillaire en ophtalmologie et introduirons le concept de Pupillométrie Chromatique. Enfin, nous présenterons une étude clinique réalisée à l'Hôpital Ophtalmique Jules Gonin (Lausanne), basée sur la pupillométrie chromatique et permettant de comprendre les principes et les intérêts de cette méthode en ophtalmologie.

2 Les Cellules à Mélanopsine

2.1 Découverte des cellules à mélanopsine

La lumière est essentielle au bon fonctionnement et à la survie des végétaux, des animaux et de l'homme. La lumière est captée par nos yeux puis transformée en signal électrique. Ce signal est transmis au cerveau, permettant d'une part de percevoir le monde extérieur, et d'autre part, de réguler des fonctions physiologiques tels que le cycle veille-sommeil, la température du corps, l'état de vigilance ou le réflexe pupillaire [6].

Pendant des décennies, les cônes et les bâtonnets étaient considérés comme les seules cellules photosensibles chez l'homme, responsables à la fois de la fonction visuelle (formation d'image) et des fonctions non visuelles dépendantes de la lumière dont le rythme circadien et le réflexe pupillaire.

Pourtant, certaines observations cliniques mettaient en doute cette théorie. En effet, comment expliquer que certains patients présentant une cécité totale par dégénérescence rétinienne conservent un réflexe photomoteur et un rythme circadien normal [13]?

Ce paradoxe suggérait depuis plus d'un siècle l'existence d'une autre classe de cellules photoréceptrices permettant la régulation de fonctions oculaires non visuelles dépendantes de la lumière tels que la sécrétion de la mélatonine, la régulation du sommeil et du rythme circadien, la régulation de l'humeur ou le réflexe photomoteur.

Des études utilisant des souris génétiquement modifiées ont démontré que ni les cônes ni les bâtonnets ne sont indispensables au bon fonctionnement de ces fonctions non visuelles dépendantes de la lumière, mais que l'intégrité de l'œil est nécessaire, apportant un argument supplémentaire pour l'existence d'une autre classe de photorécepteurs, différente des cônes et des bâtonnets [14-16]. Mais l'identification de telles cellules restait difficile.

C'est en 1998, que l'équipe de Provencio et al. identifie une nouvelle opsine au sein des cellules mélanophores dans la peau de la grenouille *Xenopus laevis* [17]. Cette opsine, appelée la mélanopsine, a ensuite été mise en évidence au sein de rétines animales et chez l'homme [1,2,4,8,18].

La mélanopsine confère aux cellules qui l'expriment une capacité de phototransduction intrinsèque indépendamment des signaux transmis par les cônes et les bâtonnets. La mélanopsine est un photopigment composé de vitamine A, caractérisé par son pic de sensibilité aux lumières de courte longueur d'onde (lumière bleue à 482 nm) et de forte intensité [19]. Les cellules contenant la mélanopsine représentent donc une 3^{ème} classe de photorécepteurs rétiniens [3,6].

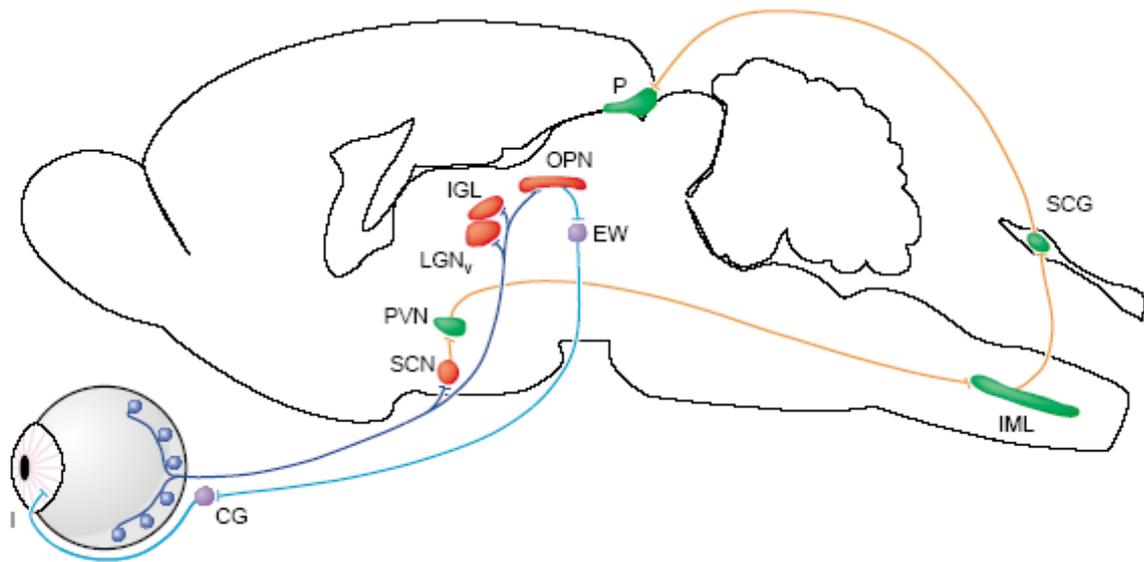
Cette découverte majeure a permis le développement de nouvelles connaissances en neuro-ophtalmologie et la meilleure compréhension des circuits neuronaux reliant l'œil au cerveau.



Grenouille *Xenopus laevis*

2.2 Fonctions des cellules à mélanopsine

Contrairement aux cellules ganglionnaires rétiniennes conventionnelles (RGC : Retinal Ganglion Cells) qui participent exclusivement à la formation d'images en relayant au cerveau l'information électrique provenant des cônes et des bâtonnets via leurs projections directes au niveau du corps genouillé latéral, les MGC se projettent principalement au niveau de régions sous corticales comme l'OPN (noyau de l'olive préteectale), centre intégrateur du réflexe pupillaire, via la voie rétino-tectale, ou le SCN (noyau suprachiasmatique), la principale horloge biologique interne, via la voie rétino-hypothalamique [2,4,20] (Figure 1). Toutefois, des projections dendritiques au niveau du corps genouillé latéral ont été retrouvées, ce qui laisse supposer que ces cellules à mélanopsine jouent probablement un rôle dans la perception visuelle « consciente » [8].



TRENDS in Neurosciences

D'après référence 6.

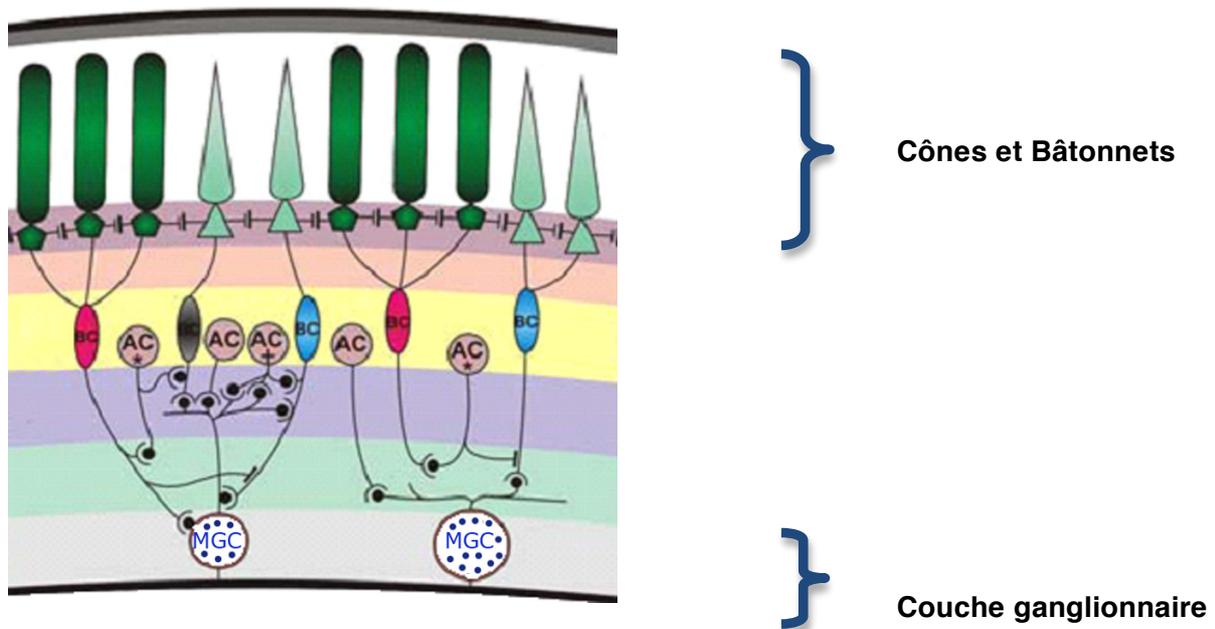
Figure 1. Schéma de la voie rétino-tectale et rétino-hypothalamique ayant comme point de départ les cellules ganglionnaires exprimant la mélanopsine. Les MGC se projettent au niveau du noyau de l'olive prétectale (OPN) et du noyau d'Edinger-Westphal (EW), médiant ainsi le réflexe pupillaire via les fibres parasympathiques efférentes, passant dans le ganglion ciliaire (CG) et innervant le sphincter de l'iris (I). Les MGC se projettent également au niveau du noyau supra-chiasmatique (SCN), principale horloge biologique interne et régule la sécrétion de la mélatonine par la glande pinéale (P).

Les cellules exprimant la mélanopsine jouent un rôle primordial dans la régulation de nos rythmes biologiques et représentent le principal, voire le seul, médiateur du réflexe pupillaire.

L'organisation des MGC diffère de celle des RGC conventionnelles. En effet, les MGC reçoivent 2 types de signaux (Figure 2):

- un signal transsynaptique provenant des cônes et des bâtonnets via les cellules bipolaires et amacrine (activité extrinsèque)
- un signal émis directement par le photopigment mélanopsine (activité intrinsèque)

Les cellules à mélanopsine sont activées soit par chacun de ces 3 signaux (cônes, bâtonnets ou mélanopsine) isolément, soit par la somme de ces 3 signaux [7-10].



D'après référence 21.

Figure 2. Schéma représentant les différentes connexions entre cônes, bâtonnets et cellules à mélanopsine (MGC). En plus de recevoir des signaux provenant des cônes et des bâtonnets (activité extrinsèque) via les cellules bipolaires (BC) et les cellules amacrine (AC), les MGC ont une activité intrinsèque grâce à leur photopigment unique: la mélanopsine (•).

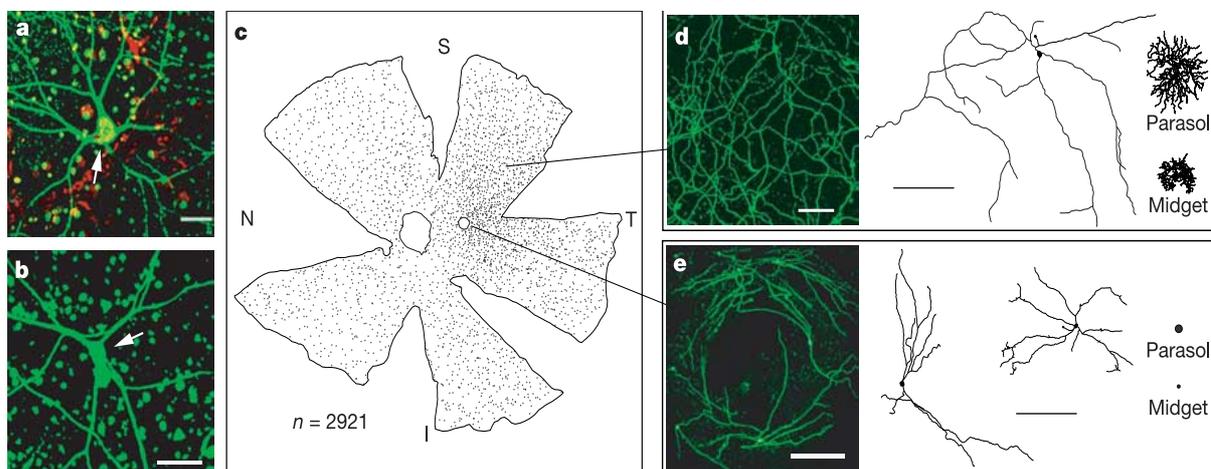
L'activité des MGC étant modulée à la fois par les cônes, les bâtonnets et la mélanopsine, les cellules à mélanopsine présentent un large spectre de sensibilité à la lumière et peuvent alors s'adapter à des conditions de luminosité diverses et variées.

2.3 Caractéristiques anatomiques et électrophysiologiques des MGC

L'expression de la mélanopsine par une sous population de cellules ganglionnaires rétiniennes a été retrouvée chez tous les mammifères étudiés dont l'homme [1,4,8,18].

Cette sous population de cellules exprimant la mélanopsine ne représentent que 1 à 2% des cellules ganglionnaires chez le rat et environ 0.2% de la population totale des cellules ganglionnaires rétiniennes conventionnelles (soit environ 3000 MGC) chez l'homme [8].

Les MGC diffèrent morphologiquement des cellules ganglionnaires rétiniennes conventionnelles. Elles possèdent en effet un corps cellulaire large avec des prolongations dendritiques riches en mitochondries, non myélinisées et très étendues [4,22,23]. Ces dendrites se recoupent entre elles et forment un large réseau de connections couvrant toute la rétine sauf la fovéa qui est encerclée par les dendrites (Figure 3). Les cellules à mélanopsine sont présentes sur toute la surface de la rétine avec un gradient de concentration de la périphérie vers le centre (pic de densité périfovéolaire) [8].

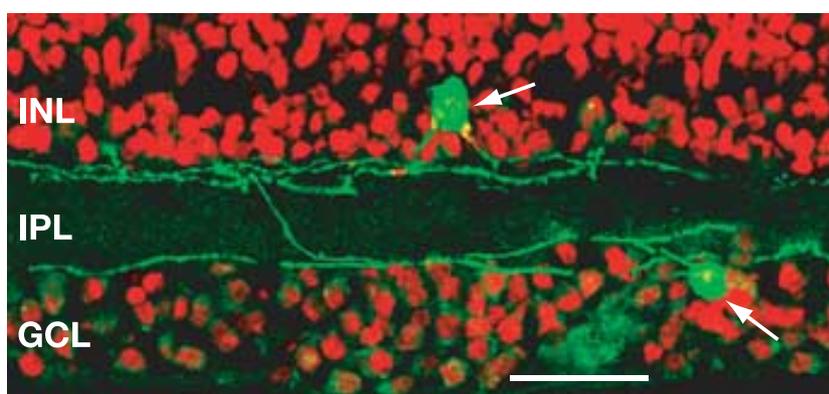


D'après référence 8.

Figure 3. Caractéristiques anatomiques et morphologiques des MGC. a) MGC chez l'homme. b) MGC chez le singe. c) Répartition des MGC au sein d'une rétine de singe. d) Visualisation de MGC en périphérie rétinienne. e) Répartition des MGC autour de la fovéa.

Cette organisation cellulaire permet une analyse du signal plus large et plus lente, correspondant à leur rôle dans les fonctions oculaires non visuelles dépendantes de la lumière (rythme circadien et réflexe pupillaire).

La majorité des MGC (60%) sont situées dans la couche cellulaire ganglionnaire avec des dendrites se projetant au niveau du bord interne (zone « ON ») de la couche plexiforme interne de la rétine tandis que 40% des MGC ont un corps cellulaire déplacé dans la couche nucléaire interne de la rétine avec des dendrites situées au bord externe (zone « OFF ») de la couche plexiforme interne de la rétine (Figure 4). Certaines arborisations se terminent même au niveau de la couche nucléaire interne [8].



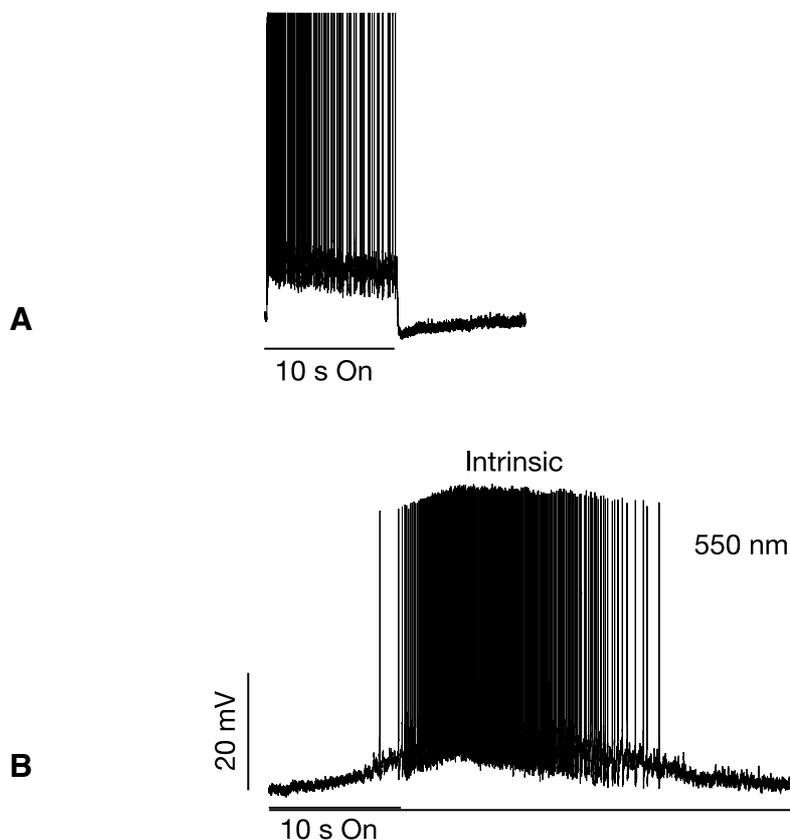
D'après référence 8.

Figure 4. Localisation des MGC dans la rétine. Les MGC sont majoritairement situées dans la couche ganglionnaire rétinienne. Certaines MGC sont localisées au sein de la couche nucléaire interne. Les dendrites des MGC se projettent au niveau du bord externe (zone « OFF ») ou interne (zone « ON ») de la couche plexiforme interne.

Lorsque l'on isole in vitro des cellules à mélanopsine du reste de la rétine et que l'on réalise un blocage pharmacologique de l'activité des cônes et des bâtonnets, les MGC montrent une latence de réponse lente (900 ms). Cette réponse, liée à l'activation intrinsèque de la mélanopsine, s'intensifie proportionnellement à l'augmentation de l'intensité lumineuse et perdure après arrêt de la stimulation lumineuse [8] (Figure 5B). L'étude des spectres de sensibilité de cette activité électrique révèle un pic de sensibilité à 482 nm, qui ne correspond ni au pic de sensibilité des cônes, ni à celui des bâtonnets mais à celui de la mélanopsine [8, 18].

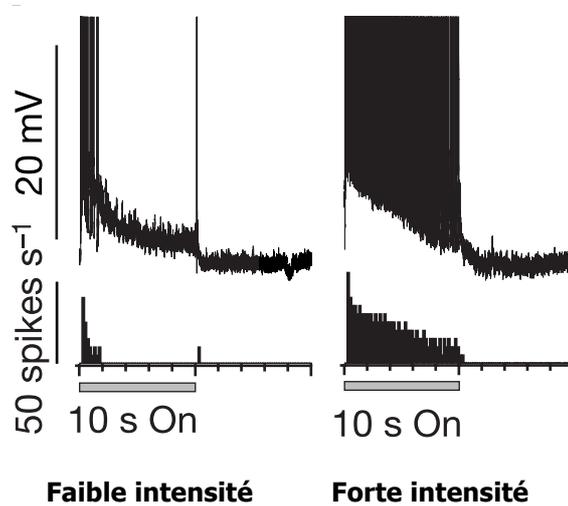
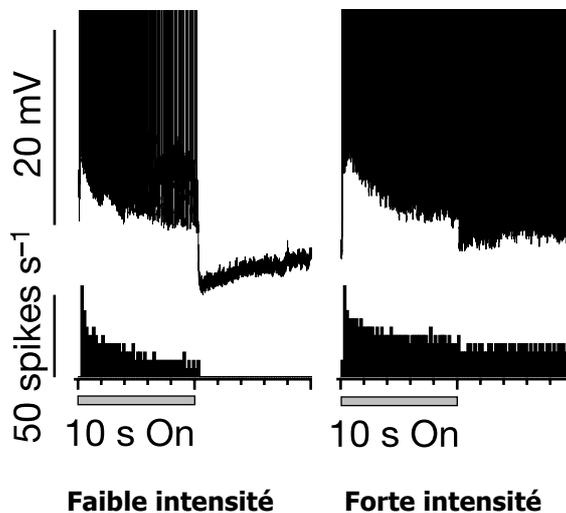
En revanche, lorsque l'on enregistre l'activité électrique des MGC au sein de la rétine, de façon physiologique, le temps de latence de la réponse des MGC est plus court (entre 40 ms pour une lumière de grande longueur d'onde, correspondant à l'activation préférentielle des cônes et 150 ms après adaptation à l'obscurité, correspondant à l'activité prédominante des bâtonnets). On observe un phénomène d'adaptation avec diminution progressive de la réponse électrique

pendant la stimulation lumineuse jusqu'à cessation brutale de l'activité électrique à l'arrêt de la stimulation lumineuse [8,9] (Figure 5A). Ces caractéristiques électrophysiologiques correspondent aux réponses électriques médiées par les cônes et les bâtonnets qui permettent un traitement du signal rapide et transitoire, idéal pour la perception visuelle d'objets avec formation d'images au cerveau. L'activité électrique des MGC est quant à elle plus lente mais durable, permettant un traitement de l'information lumineuse prolongé avec une mémoire neuronale à long terme, pouvant servir à des fonctions oculaires non visuelles telle que la régulation de notre rythme circadien.



D'après référence 8.

Figure 5. Enregistrement in vitro de l'activité de photorécepteurs rétiniens isolés du reste de la rétine chez le singe. A) Activité électrophysiologique d'un bâtonnet : latence de réponse courte, potentiels d'actions s'arrêtant lors de la cessation du stimulus lumineux (550 nm ; 7.6 log quanta/cm²/s). **B)** Activité électrophysiologique d'une MGC après blocage pharmacologique des cônes et bâtonnets: latence de réponse longue et potentiels d'action persistant après l'arrêt de la stimulation lumineuse (550 nm; 13.5 log quanta/cm²/s)

Lumière rouge à 610 nm**Lumière bleue à 470 nm**

D'après référence 8.

Figure 6. Schémas représentant l'activité électrique d'une MGC chez le singe selon différentes stimulations lumineuses. *Figure du haut*: activité prédominante des cônes par stimulation lumineuse rouge de faible ($12 \log \text{ quanta/cm}^2/\text{s}$) et forte intensité ($15.2 \log \text{ quanta/cm}^2/\text{s}$). Il existe un phénomène d'adaptation de la réponse électrique qui diminue avant l'arrêt de la stimulation lumineuse. *Figure du bas*: activité supplémentaire de la mélanopsine par stimulation bleue de faible ($11 \log \text{ quanta/cm}^2/\text{s}$) et forte intensité ($14.6 \log \text{ quanta/cm}^2/\text{s}$). On observe une réponse électrique prolongée et persistant après arrêt de la stimulation lumineuse bleue intense.

Des réponses électriques différentes sont également observées lors de stimulations lumineuses colorées. Une lumière de grande longueur d'onde (rouge) entraîne une activation prédominante des cônes sur l'activité totale des MGC avec adaptation de la réponse électrique pendant la stimulation lumineuse et arrêt brutal de l'activité électrique lors de l'extinction de la lumière (Figure 6, haut). Une lumière de courte longueur d'onde (bleue) entraîne l'activation supplémentaire de la mélanopsine et explique l'absence d'« échappement » lors de la stimulation bleue de faible intensité, comparé à la lumière rouge, et on observe une persistance de la réponse électrique après arrêt de la stimulation lumineuse bleue de forte intensité (Figure 6, bas).

Le double signal, extrinsèque (cônes et bâtonnets) et intrinsèque (mélanopsine), reçu par les MGC, permet d'élargir leur spectre d'activation. De plus, cela permet aux cônes et aux bâtonnets de réguler les fonctions oculaires non visuelles dépendantes de la lumière et de conserver un réflexe pupillaire et un rythme circadien normal en cas de dégénérescence des cônes et des bâtonnets [13].

2.4 Diversité des cellules à mélanopsine

Parmi cette sous population de MGC, différentes sous-classes ont été décrites chez l'animal, basée sur leur morphologie, leurs propriétés électrophysiologiques et leur localisation au sein de la rétine. Plusieurs sous-classes de MGC ont été identifiées chez le rat et la souris [23-25] :

2.4.1 Les cellules M1 ou Type I

Elles sont situées dans la couche ganglionnaire rétinienne et leurs dendrites font synapse au niveau de la zone externe « OFF » de la couche plexiforme interne rétinienne. Les cellules M1 reçoivent cependant des signaux provenant des cellules bipolaires « ON » [21].

Les cellules M1 présentent une photosensibilité très importante mais leur activité électrique est caractérisée par une fréquence de potentiels d'action plus faible que celle des cellules M2 (Figure 8). Les cellules M1 se projettent principalement au niveau du noyau suprachiasmatique, principale horloge biologique (Figure 9).

2.4.2 Les cellules M1 « déplacées »

Une variante de ces cellules M1 a également été identifiée : ces cellules ressemblent aux cellules M1 conventionnelles mais leur corps cellulaire est localisé dans la couche nucléaire interne. Elles ont été nommées les cellules M1 « déplacées » (displaced M1 cells).

Les cellules M1 et M1 « déplacées » sont au nombre d'environ 900 par rétine.

2.4.3 Les cellules M2 or Type II

Leurs dendrites font synapse au niveau de la zone interne « ON » de la couche plexiforme interne rétinienne. Leur nombre est identique à celui des cellules M1 et leur corps cellulaire est légèrement plus grand que celui des cellules M1 [23]. Elles sont en revanche 10 fois moins photosensibles que les cellules M1 mais la fréquence de leurs potentiels d'action lors de leur activité électrique est beaucoup plus importante que celle des cellules M1 (Figure 8). Leur nombre est de 800 par rétine. Les cellules M2 se projettent principalement au niveau du noyau de l'olive prétectale, centre intégrateur du réflexe pupillaire (Figure 9).

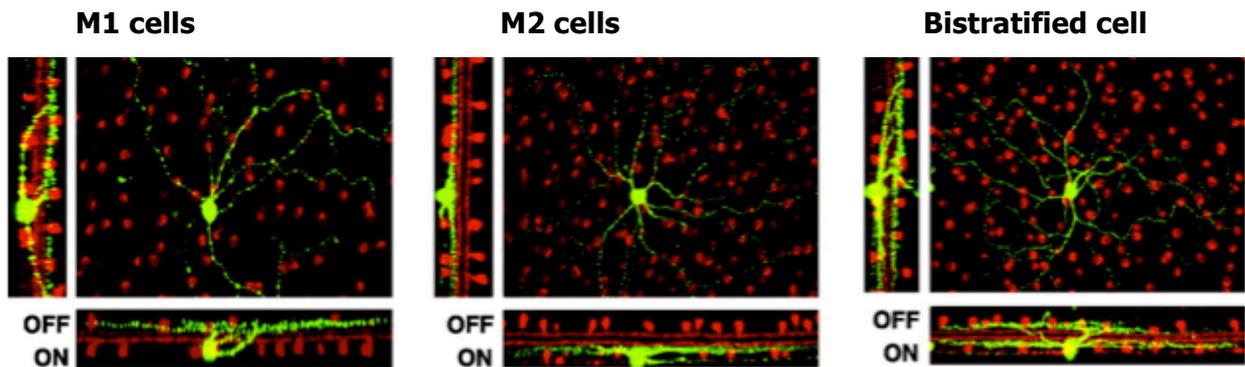
2.4.4 Les cellules bistratifiées M3

Ces cellules projettent leurs dendrites à la fois dans la zone « OFF » et dans la zone « ON » de la couche plexiforme interne rétinienne. Leur corps cellulaire est situé soit dans la couche ganglionnaire rétinienne, soit dans la couche nucléaire interne. Elles ne représentent que 10% de la population totale de MGC. Elles ont été également appelées cellules M3 ou Type III même si elles ne correspondent pas véritablement à un sous-type de MGC, leurs dendrites faisant partie du plexus dendritique des M2.

2.4.5 Les cellules M4 et M5

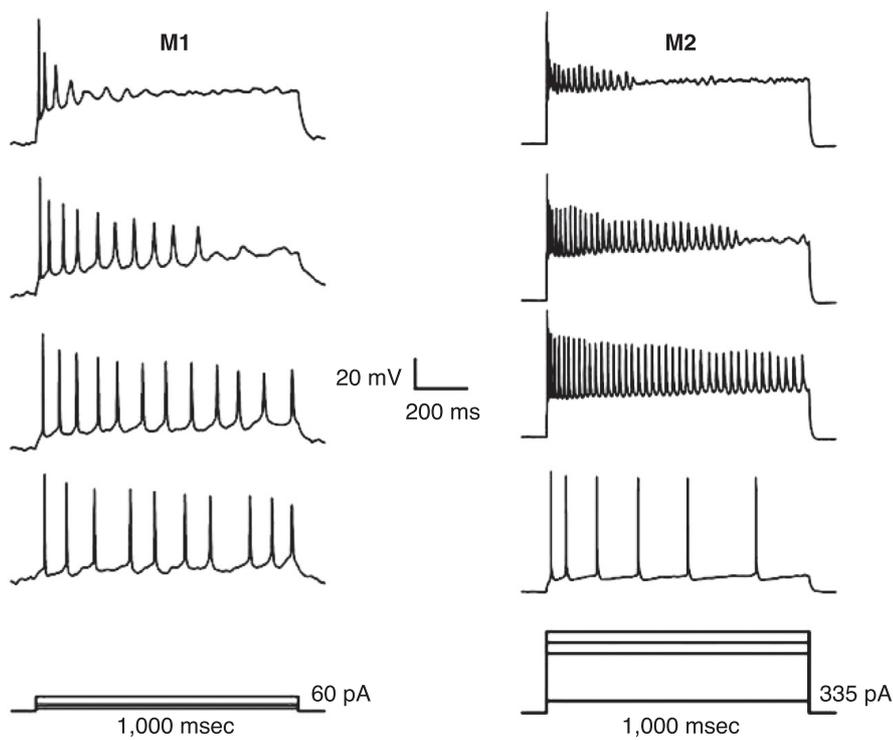
Ces 2 derniers sous-types de MGC sont les plus récemment identifiés et étudiés. Les cellules M4 et M5 se projettent au niveau de la zone interne « ON » de la couche plexiforme interne de la rétine. Les cellules M4 possèdent le plus gros noyau cellulaire parmi les MGC alors que les cellules M5 sont de plus petite taille. Les cellules M4 et M5 sont encore moins photosensibles que les cellules M2 et leur réponse électrique est peu importante. Leurs dendrites se projettent au niveau des centres de formation d'images au cerveau (corps genouillé latéral et colliculus supérieur) et au niveau du noyau de l'olive prétectale (Figure 9).

Au sein de rétine de primates, un équivalent de cellules M1 et M2 a été observé [8,26]. Des études sont en cours afin de vérifier la présence d'autres sous-classes de MGC chez le primate et chez l'homme.



D'après référence 24

Figure 7. Diversité des MGC. Visualisation de cellules à mélanopsine, M1, M2 et M1 déplacées, au sein d'une rétine de souris.



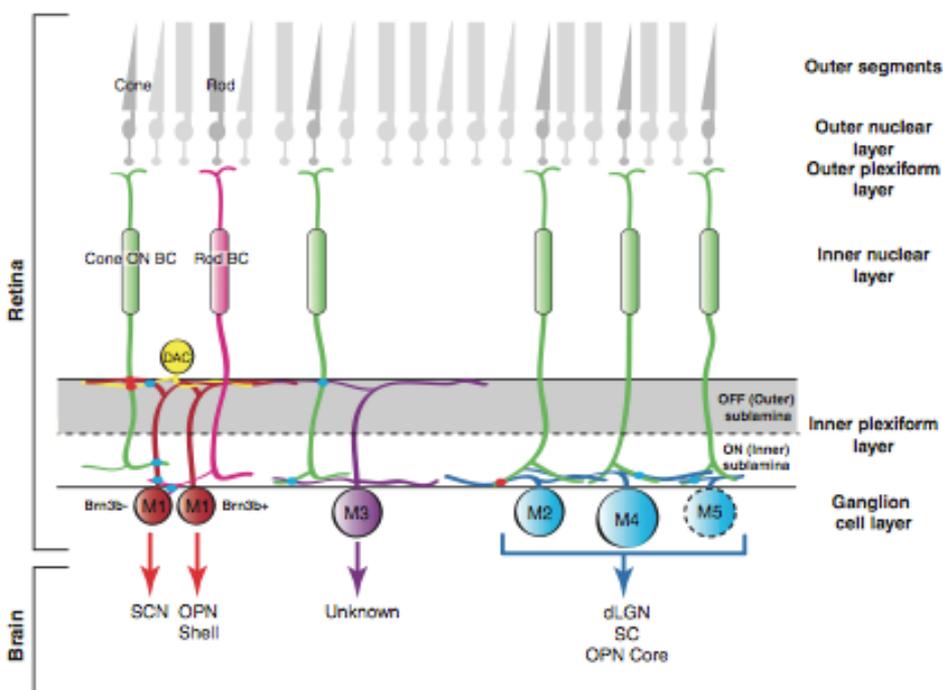
D'après référence 25.

Figure 8. Réponses électriques après injection d'un courant dépolarisant de 1 s d'une cellule M1 (à gauche) et M2 (à droite) isolées du reste de la rétine. Les cellules M1 ont une photosensibilité plus grande que les cellules M2 (courant dépolarisant entrainant le maximum de réponse= 60 pA pour les cellules M1 versus 335 pA pour les cellules M2) mais la fréquence des potentiels d'action est moins importante chez les cellules M1 par rapport aux cellules M2.

Les cellules à mélanopsine ne représentent pas une population uniforme de photorécepteurs comme on l'imaginait initialement mais sont composées de différentes sous-classes de cellules différant par leur localisation rétinienne, leurs caractéristiques anatomiques et leur activité électrophysiologique [23-25].

L'étude de la réponse électrique de MGC au sein de rétine de singes et d'humain [8,18] montre que ces cellules ont une organisation très spécifique. En effet, malgré la variété des MGC et leurs différentes connexions au sein de la rétine (zone « ON » et zone « OFF » de la couche plexiforme interne rétinienne), toutes les cellules à mélanopsine partagent certaines propriétés électrophysiologiques, à savoir leur activation par les cônes L et M et les bâtonnets via les cellules bipolaires « ON » [21]. La règle ON-OFF n'est donc pas respectée par les MGC, alors que celle-ci s'applique pour les RGC conventionnelles [8]. De plus, les MGC reçoivent un signal inhibiteur provenant des cônes S [8]. Cette différence de signal émis par les sous-types de cônes est rarement observée.

Toutes les propriétés physiologiques et électriques de chaque sous-type de MGC ne sont pas encore bien connues et restent encore à déterminer. Les cellules M1 et M2 ont probablement des rôles distincts étant donné leurs différences morphologiques et électriques et le fait que leurs dendrites se chevauchent sans se rejoindre. Cela laisse penser que chaque sous-classe de MGC a des fonctions et des propriétés bien définies selon leur type. Des études sont actuellement en cours afin de préciser les fonctions de chaque sous-type de MGC et de préciser leurs projections au cerveau.



D'après référence 27.

Figure 9. Schéma des 5 sous-types de cellules à mélanopsine avec leurs connexions au sein de la rétine et leurs principales projections au cerveau. (SCN : noyau suprachiasmatique ; OPN : noyau de l'olive prétectale ; dLGN : corps genouillé latéral ; SC : colliculus supérieur)

2.5 Phototransduction des cellules à mélanopsine

Les MGC présentent des mécanismes de phototransduction différents de ceux des cônes et des bâtonnets [28].

Les cônes et les bâtonnets sont capables d'initier la cascade de phototransduction grâce leur photopigment sensible à la lumière. Ce photopigment est constitué d'une partie protéique, l'opsine, et d'un chromophore, l'isomère 11-*cis* du rétinol. Les cônes et bâtonnets utilisent le même chromophore mais différentes opsines (rhodopsine pour les bâtonnets et opsines bleue, rouge ou verte pour les cônes). Ces photopigments diffèrent par leur pic de sensibilité à la lumière. Par exemple, la rhodopsine est plus sensible à des lumières de courte longueur d'onde (500 nm) et de faible intensité alors que les opsines contenues dans les cônes sont plus sensibles à des lumières de forte intensité et de différentes longueurs d'onde selon leur type (rouge 565 nm, vert 530 nm ou bleu 420 nm).

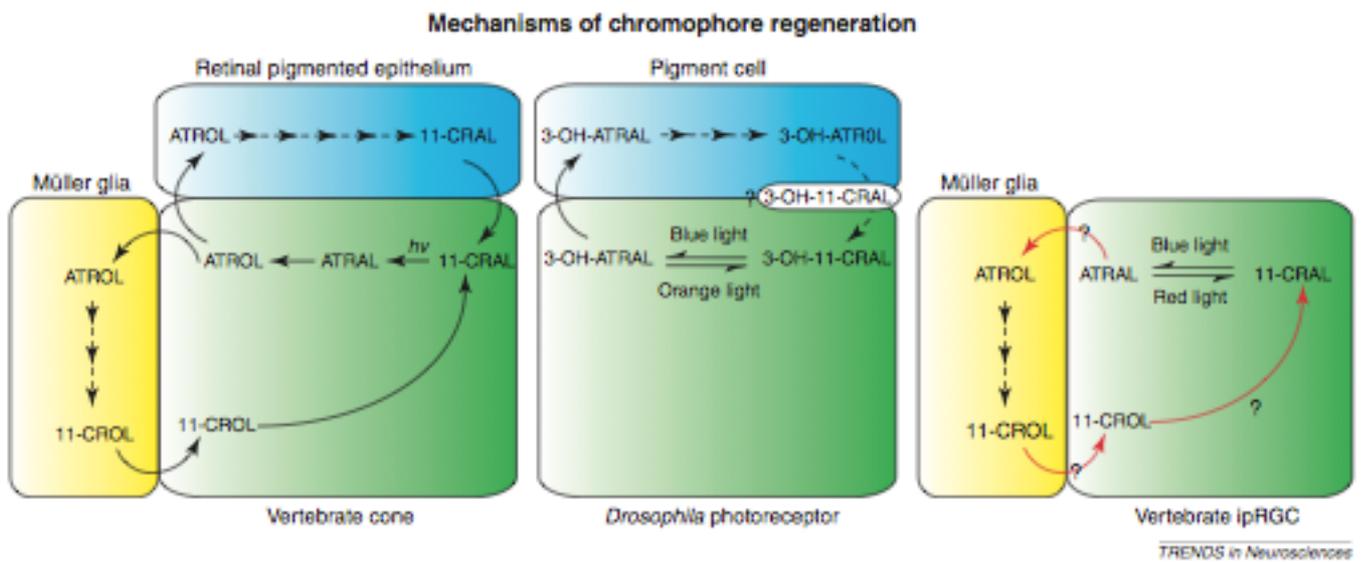
Lorsqu'un photon lumineux est absorbé par un photopigment, la configuration de celui-ci change et le chromophore s'isomérisé en tout-*trans* rétinol; la cascade de phototransduction est alors initiée. Celle-ci est rendue possible grâce à de nombreux acteurs dont une transducine (famille des protéines G) et une phosphodiesterase, qui entraînent la fermeture des canaux à sodium par hydrolyse du GMP (Guanosine MonoPhosphate) cyclique. L'hyperpolarisation des photorécepteurs permet ensuite de transformer le signal lumineux en signal électrique.

La phototransduction des cellules à mélanopsine se rapproche davantage de celle rencontrée chez les invertébrés. La cascade de phototransduction utilise une protéine G qui permet l'ouverture de canaux TRP (Transient Receptor Potential) et conduit à la dépolarisation des cellules à mélanopsine [29].

Une autre différence majeure dans la phototransduction des cônes et bâtonnets par rapport aux cellules à mélanopsine est la façon dont le chromophore est régénéré. Afin que les photorécepteurs cônes et bâtonnets puissent rester fonctionnels au contact avec la lumière, le chromophore isomérisé en tout-*trans* rétinol (ATRAL, inactif à la lumière), est continuellement reconverti en 11-*cis* rétinol (11-CRAL, forme active à la lumière), par l'épithélium pigmentaire grâce à l'isomérase RPE65. Une voie additionnelle a récemment été décrite [30,31] montrant que les cellules de Müller permettaient de régénérer le 11-*cis* rétinol (11-CRAL) en transformant l'isomère ATRAL en 11-*cis* rétinol (11-CROL), qui est ensuite converti en 11-CRAL au sein des cônes (Figure 10). Ce mécanisme de restauration du chromophore, de sa forme inactive à sa forme active, ne dépend donc plus de lumière [28].

La mélanopsine a pour particularité de pouvoir de basculer entre les deux états de phototransduction et photorégénération grâce à une photoisomérase dépendante de la lumière

(Figure 10). La mélanopsine présente une « bistabilité » à l'instar des photopigments des invertébrés [32]. En effet, ce photopigment a la capacité de changer de configuration selon le changement de longueur d'onde de la lumière (rouge ou bleue) et de rester activé pendant des expositions lumineuses prolongées. De plus, une exposition préalable à une lumière de grande longueur (rouge) permet d'augmenter la réponse électrique du photopigment lors d'une exposition secondaire à une lumière de courte longueur d'onde (bleue) [33].



D'après référence 27.

Figure 10. Proposition de schéma expliquant les différents mécanismes de régénération du photopigment des cônes chez les vertébrés, des photorécepteurs chez la Drosophile et des MGC chez les vertébrés. La mélanopsine présente une bistabilité et son mécanisme de régénération se rapproche de celui des photopigments chez la Drosophile. (11-CRAL : 11-*cis* rétinol ; ATRAL : tout-*trans* rétinol ; 11-CROL : 11-*cis* rétinol ; ATROL : tout-*trans* rétinol)

3 La Pupillométrie Chromatique

3.1 Le réflexe pupillaire à la lumière

3.1.1 Rappels sur les circuits du réflexe photomoteur

Le circuit du réflexe photomoteur débute par l'activation des cônes et des bâtonnets, situés dans la couche nucléaire externe.

La cascade de phototransduction est initiée et le signal lumineux est transformé en signal électrique par les photorécepteurs et est transmis aux cellules ganglionnaires conventionnelles (pour la formation d'image au cerveau) et aux cellules ganglionnaires à mélanopsine (principal substrat neurologique responsable du réflexe photomoteur) via les cellules bipolaires et amacrines [34,35].

3.1.1.1 Mécanismes de contraction pupillaire à la lumière : la voie parasympathique

La contraction pupillaire à la lumière résulte de l'activation du muscle sphincter de l'iris via la voie visuelle afférente et la voie parasympathique efférente et de l'inhibition concomitante de la voie sympathique.

Une stimulation lumineuse entraîne l'activation des photorécepteurs réiniens qui transmettent un signal électrique au tractus optique (nerf optique, chiasma optique et bandelettes optiques) via les cellules ganglionnaires à mélanopsine. L'influx nerveux est alors transmis au noyau de l'olive prétectale (OPN) puis au noyau d'Edinger-Westphal (EW), homolatéral et controlatéral via la commissure postérieure, situés au sein du noyau du nerf oculomoteur III dans le mésencéphale (voie rétino-tectale) (Figure 11).

Les fibres pupillomotrices parasympathiques quittent le noyau du III au niveau de la fosse interpédonculaire du mésencéphale et cheminent dans l'espace sous-arachnoïdien, (médialement et superficiellement) au sein des fibres du nerf oculomoteur III, jusqu'à la partie antérieure du sinus caverneux où elles suivent la branche de division inférieure du nerf oculomoteur III (1^{er} neurone). Elles arrivent ensuite au niveau du ganglion ciliaire, où elles font synapse, puis rejoignent les nerfs ciliaires courts postérieurs innervant le muscle sphincter de l'iris (2^{ème} neurone).

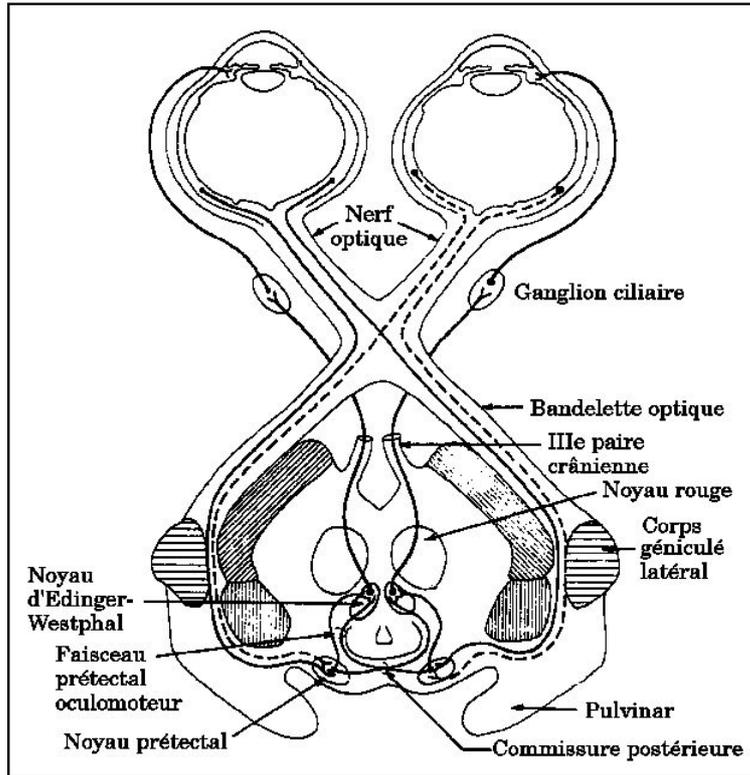


Figure 11. Circuit de la voie parasympathique du réflexe photomoteur.

En parallèle, le noyau d'Edinger-Westphal reçoit des signaux activateurs du cortex, responsables de la contraction pupillaire à l'accommodation ou à la convergence (réflexe supra-nucléaire) et des signaux inhibiteurs provenant du cortex, de l'hypothalamus et du système réticulé, ce qui explique par exemple la contraction pupillaire à la fatigue ou pendant le sommeil par défaut d'inhibition du noyau d'EW.

3.1.1.2 Mécanismes de la dilatation pupillaire à l'obscurité : la voie sympathique

La dilatation pupillaire résulte de l'activation du muscle dilatateur de l'iris par les fibres nerveuses sympathiques périphériques et de l'inhibition centrale du système sympathique sur le noyau d'Edinger-Westphal.

La voie sympathique naît dans l'hypothalamus et est composée de 3 neurones (Figure 12):

- le 1^{er} neurone qui descend le long du tronc cérébral et de la moelle épinière et fait synapse dans la corne antérieure de la moelle épinière au niveau de C8-T2 (noyau cilio-spinal de Budge-Waller).
- Le 2^{ème} neurone part de la corne antérieure de la moelle épinière au niveau de C8 à T2 puis rejoint le plexus sympathique para-vertébral. La chaîne sympathique passe sous

l'artère sous-clavière, juste au dessus de l'apex pulmonaire. Le 2^{ème} neurone fait ensuite synapse dans le ganglion cervical supérieur au niveau de la bifurcation carotidienne (C2).

- Le 3^{ème} neurone part du ganglion cervical supérieur et suit le trajet de l'artère carotide interne. Les fibres sympathiques entrent dans le crâne via le canal carotidien et passent dans le sinus caverneux. Elles rejoignent ensuite la branche naso-ciliaire du nerf trijumeau et traversent l'orbite en passant par le ganglion ciliaire (sans faire synapse) pour atteindre le globe oculaire via les nerfs ciliaires longs postérieurs destinés au muscle dilatateur de l'iris.

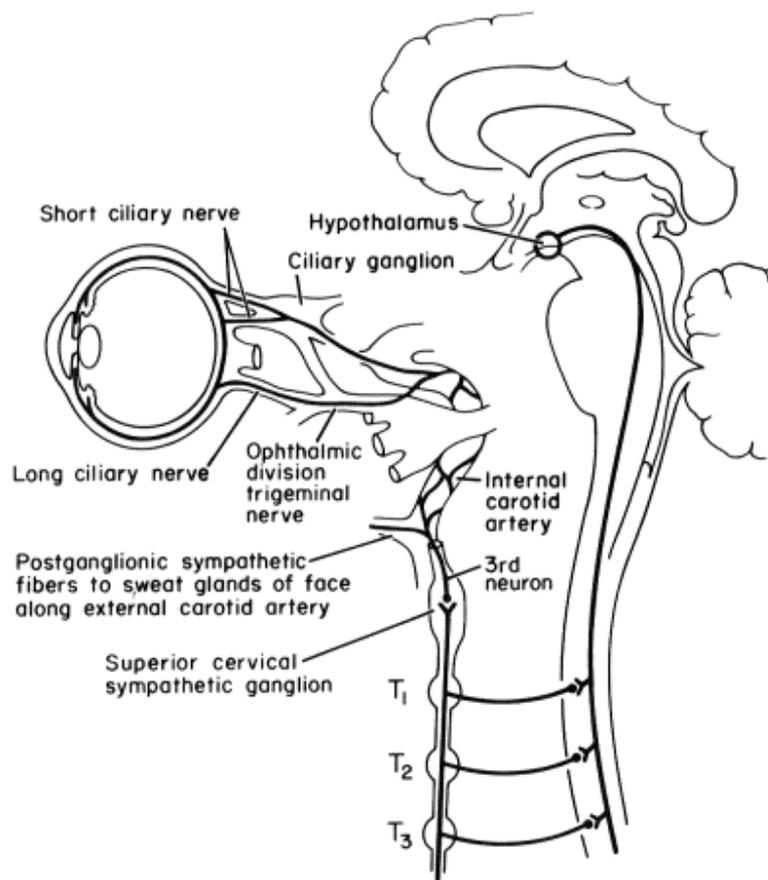
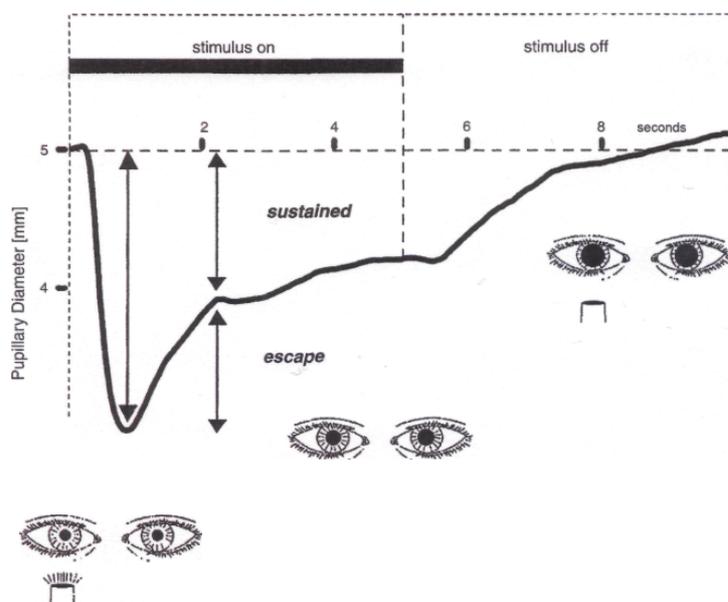


Figure 12. Circuit de la voie sympathique du réflexe photomoteur.

3.1.2 Caractéristiques et phases du réflexe photomoteur

Le réflexe photomoteur peut être décomposé en 3 phases [36]:

1. Phase de contraction pupillaire comprenant une phase de latence de la réponse pupillaire initiale
2. Phase de plateau avec un phénomène d'échappement lors d'une stimulation lumineuse prolongée
3. Phase de re-dilatation à l'arrêt de la stimulation lumineuse.

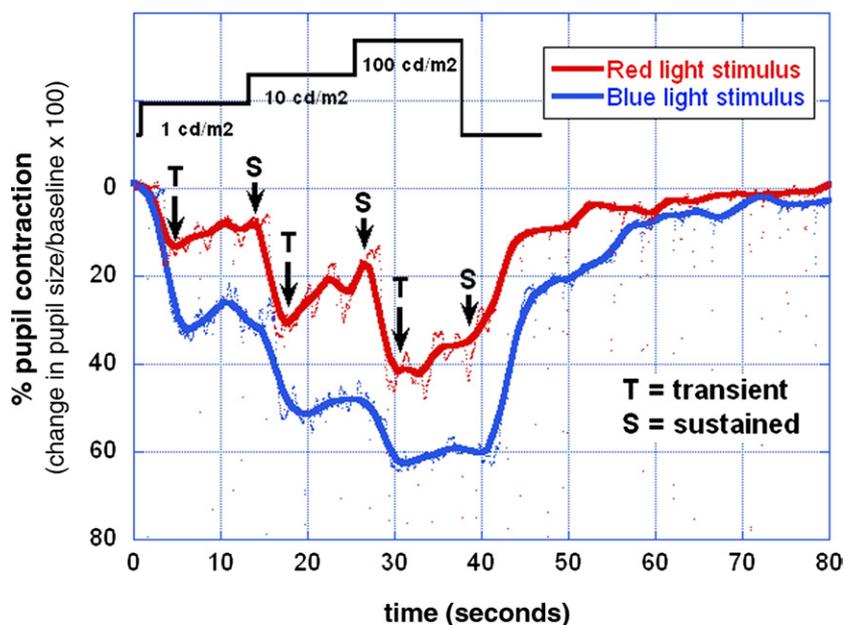


D'après référence 36.

Figure 13. Exemple d'un enregistrement de réponse pupillaire à une stimulation lumineuse de 5 secondes chez un sujet sain. Nous observons les 3 phases du RPM pendant la contraction pupillaire. Après stimulation lumineuse, la phase transitoire est caractérisée par sa latence courte et son amplitude maximale de contraction. Ensuite, la pupille se redilate partiellement de façon constante pendant toute la durée du stimulus lumineux (phénomène « d'échappement »). La dilatation devient maximale après arrêt du stimulus lumineux.

Pour mieux connaître les rôles respectifs des photorécepteurs et des cellules ganglionnaires exprimant la mélanopsine, une analyse plus précise du réflexe pupillaire a été réalisée et a permis d'enregistrer des réponses différentes du RPM lors de l'émission de lumière de différentes longueurs d'onde et de différentes intensités in vivo [11,36] (Figure 14).

- Une lumière bleue (courte longueur d'onde) entraîne une contraction pupillaire plus importante qu'une lumière rouge (grande longueur d'onde). L'amplitude de la contraction de la pupille est proportionnelle à l'intensité de la lumière bleue.
- Lors de la stimulation par la lumière bleue, il existe un maintien de la contraction pupillaire pendant la durée d'action du stimulus lumineux alors que lors de l'illumination par la lumière rouge, un phénomène « d'échappement » est observé après une réponse rapide.



D'après référence 11.

Figure 14. Exemple de réponses pupillographiques à des stimuli lumineux de différentes longueurs d'onde et de différentes intensités chez un sujet sain. La courbe en rouge est obtenue après stimulation par une lumière rouge de grande longueur d'onde (600-620 nm). La courbe bleue correspond à une stimulation par lumière bleue de courte longueur d'onde (465-485 nm). Les réponses pupillaires ont été testées avec différentes intensités lumineuses (1, 10 et 100 cd/m²). On observe une contraction pupillaire plus importante à la lumière bleue par rapport à la lumière rouge et ce, à toutes les intensités lumineuses. Cette réponse peut-être liée à l'activité des MGC en concomitance avec les photorécepteurs lors de l'émission d'une lumière bleue. On remarque également une contraction pupillaire prolongée secondaire à la lumière bleue (activité additionnelle de la mélanopsine), alors qu'à la lumière rouge et lumière bleue de faible intensité, il existe un phénomène « d'échappement » faisant suite à la phase de contraction pupillaire rapide initiale (rôle des cônes et des bâtonnets).

Ces résultats sont une corrélation clinique aux enregistrements réalisés in vitro sur les MGC (Chapitre 2.3). Les différences d'activité des MGC selon les caractéristiques de la stimulation lumineuse forment les bases de la pupillométrie chromatique.

3.2 Examen clinique des pupilles et du réflexe photomoteur en ophtalmologie

L'examen des pupilles et du réflexe photomoteur en ophtalmologie permet d'évaluer l'intégrité des voies optiques et du système nerveux autonome.

Devant la présence d'une anomalie pupillaire, l'examen clinique doit être rigoureux et systématique afin d'écartier toute étiologie pouvant engager le pronostic vital (dissection carotidienne, anévrisme débutant de l'artère communicante postérieure, neuroblastome) et d'orienter le diagnostic.

L'examen du réflexe pupillaire à la lumière peut aider à localiser une lésion lors d'un bilan de baisse d'acuité visuelle unilatérale ou asymétrique (déficit du réflexe pupillaire afférent) et aider au diagnostic lors d'anomalies pupillaires (« dilation lag » dans le syndrome de Claude Bernard Horner).

3.2.1 Examen statique des pupilles

L'examen du patient dans la salle de consultation permet en premier lieu d'évaluer la taille de base des pupilles en lumière ambiante. Si une différence de taille de pupilles est constatée, il faut mesurer chaque taille de pupille en lumière intense puis à l'obscurité.

Une anisocorie se définit comme étant une différence de taille pupillaire d'au moins 0.4 mm entre les 2 yeux. Une anisocorie physiologique est présente chez environ 20 à 33% des sujets sains et augmente avec l'âge. [37]. Cette anisocorie peut se majorer à l'obscurité. Une anisocorie pathologique traduit un déficit situé au niveau des voies efférentes, si la différence de taille des pupilles se majore en lumière intense, il s'agit d'une mydriase unilatérale. Si elle est plus importante à l'obscurité, il s'agit d'un myosis unilatéral.

Les mesures de la taille pupillaire sont facilitées par des règles dotées de diamètres pupillaires préétablis, dites « pupil gauge » (Figure 15).



Figure 15. Exemples de règles « Pupil Gauge ».

3.2.2 Examen dynamique : le réflexe photomoteur

La motilité pupillaire est évaluée grâce à une source lumineuse. En éclairant l'une des 2 pupilles d'un sujet sain, l'examineur va observer un réflexe photomoteur direct au niveau de l'œil éclairé et un réflexe photomoteur consensuel de l'œil controlatéral. Ce phénomène s'explique d'une part par la décussation des fibres du nerf optique au niveau du chiasma optique et d'autre part, par la double innervation, homolatérale et controlatérale des noyaux d'Edinger Westphal aboutissant à une contraction pupillaire bilatérale et symétrique (Figure 11). La vitesse de contraction et la vitesse de re-dilatation des 2 pupilles après stimulation lumineuse sont comparées (retard de re-dilatation dans le cadre de dénervation sympathique) et un déficit du réflexe pupillaire afférent est recherché. L'importance de la contraction pupillaire à la lumière est ensuite comparée à l'amplitude de contraction pupillaire lors du réflexe de convergence (recherche d'une « light-near dissociation »).

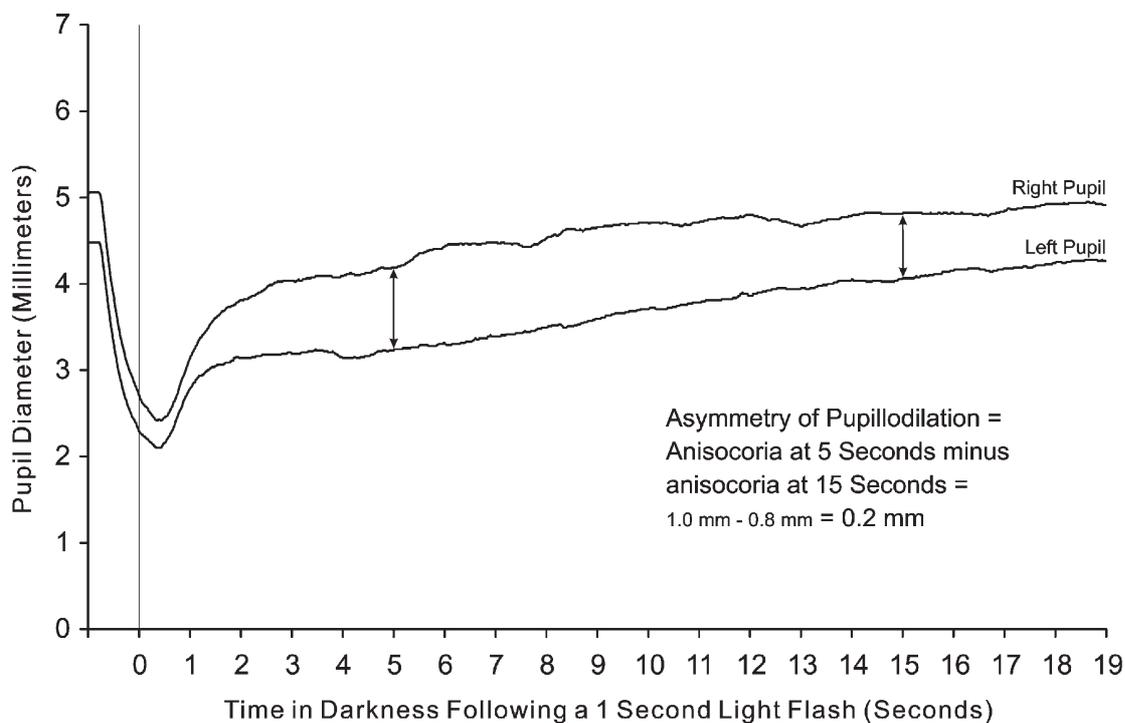
3.2.3 Examen à la lampe à fente

L'examen oculaire à la lampe à fente permet dans certains cas d'orienter le diagnostic étiologique d'un myosis ou d'une mydriase par la constatation de synéchies postérieures ou d'un traumatisme irien. L'observation de contractions segmentaires « vermiculaires » du sphincter de l'iris évoque le diagnostic de pupille tonique.

3.3 La Pupillométrie Chromatique : présentation de l'étude clinique réalisée à Lausanne

3.3.1 Introduction

L'examen clinique des pupilles et du réflexe pupillaire peut s'avérer difficile en pratique quotidienne et certains signes peuvent passer inaperçus lors d'une atteinte minime. La pupillométrie a pour avantage d'objectiver et quantifier un déficit du réflexe pupillaire afférent lors d'une neuropathie optique [38], ou un retard de re-dilatation pupillaire lors d'un syndrome de Claude Bernard Horner par exemple [39]. Cet examen non invasif et indolore représente une aide précieuse en neuro-ophtalmologie.



D'après référence 39.

Figure 16. Exemple d'enregistrement pupillographique chez un patient atteint d'un syndrome de Claude Bernard Horner à gauche. Il existe un retard de re-dilatation pupillaire de la pupille gauche par rapport à la pupille droite après stimulation lumineuse de 1 s.

La pupillométrie chromatique est principalement utilisée en recherche clinique. Elle permet d'accéder à l'activité globale des cellules ganglionnaires exprimant la mélanopsine ainsi qu'à l'activité de chaque signal influençant ces cellules (cônes, bâtonnets et mélanopsine) [11,12]. Nous avons vu que les propriétés de chacun de ces signaux permettaient de stimuler préférentiellement l'un de ces signaux par rapport à l'autre via des lumières de différentes longueurs d'onde et de différentes intensités et que les phases du réflexe photomoteur se modifiaient selon les caractéristiques de la lumière (Chapitre 3.1.2).

Dans une étude précédente, Kardon et al. [11] ont défini un protocole de stimulation lumineuse utilisant des lumières colorées (rouges et bleues) de différentes intensités permettant d'activer de façon prédominante les cônes versus les bâtonnets versus la mélanopsine. Ils ont montré que les patients atteints de rétinite pigmentaire présentaient des réponses pupillaires plus faibles à la lumière que celles des sujets normaux [12]. Cependant, malgré des fonctions visuelles très altérées avec des électrorétinogrammes éteints, ces patients présentaient tous une réponse pupillaire aux stimuli lumineux. De façon surprenante, les patients atteints de rétinoopathie pigmentaire présentaient une re-dilatation pupillaire retardée et lente après stimulation par lumière bleue intense. Cette caractéristique n'était pas présente après stimulation par la lumière rouge intense et n'était observée chez aucun des sujets sains. Les auteurs de l'étude ont vu en cette réponse pupillaire spécifique un moyen d'obtenir des informations complémentaires sur l'état des photorécepteurs chez les patients atteints de rétinoopathie pigmentaire.

Notre étude avait pour but d'examiner spécifiquement la phase de re-dilatation pupillaire, après stimulations lumineuses rouges et bleues, chez des patients présentant une dystrophie rétinienne et de les comparer aux réponses pupillaires de patients atteints de neuropathie optique et à celles de sujets sains.

Des paramètres objectifs de la re-dilatation pupillaire ont été définis, quantifiés et comparés chez chaque groupe de sujets (groupe « dystrophie rétinienne », groupe « neuropathie optique », groupe « sujets contrôles »). Nous avons également voulu savoir si un retard de re-dilatation pupillaire était corrélé à l'importance de la perte en photorécepteurs, préalablement estimée par l'ERG (électrorétinogramme) et le champ visuel de Goldmann.

3.3.2 Matériel et Méthode

3.3.2.1 Patients

Deux groupes de patients ont été recrutés sur dossiers à l'Hôpital Ophtalmique Jules Gonin à Lausanne: un groupe de patients atteints de dystrophie rétinienne et un groupe de patients présentant une neuropathie optique.

Les critères d'inclusion pour le groupe « dystrophie rétinienne » étaient :

- Présence de signes de dystrophie rétinienne au fond d'œil (pigments, atrophie, « ostéoblastes »)
- Anomalies à l'électrorétinogramme (ERG) photopique et/ou scotopique, réalisé selon les critères de l'ISCEV (International Society for Clinical Electrophysiology of Vision)

Les critères d'exclusion étaient :

- Présence ou antécédent d'une autre pathologie rétinienne ou atteinte du nerf optique associée

Une imagerie de la couche des fibres du nerf optique par OCT RNFL (Optical Coherence Tomography of the Retinal Nerve Fiber Layer) a été réalisée chez tous les patients atteints de dystrophie rétinienne afin de vérifier l'absence d'atrophie optique associée.

Les critères d'inclusion du groupe « neuropathie optique » étaient :

- Atteinte ischémique non artéritique uni- ou bilatérale du nerf optique avec déficit du réflexe pupillaire afférent et/ou déficits campimétriques

Les critères d'exclusion étaient :

- Présence d'une pathologie rétinienne associée
- Neuropathie ischémique de cause artéritique du fait de la possibilité d'une atteinte rétinienne concomitante

Un groupe de sujets contrôles a également été invité à participer à l'étude.

Tous les participants ont reçu une information orale et écrite et ont signé un consentement écrit.

Un examen ophtalmologique a été réalisé chez les 3 groupes de sujets incluant :

- Une réfraction objective et subjective
- Un test de la vision des couleurs (Test d'Ishihara)
- Un examen biomicroscopique
- Un examen du fond d'œil
- Des rétinophotographies (VISUCAM ProNM)
- Un champ visuel automatisé (Octopus 101, G1 program) et/ou champ visuel cinétique (Goldmann Perimeter)
- Un OCT RNFL (OCT Stratus 3000)

Les critères d'inclusion pour le groupe de sujets sains étaient :

- Une meilleure acuité visuelle corrigée de 10/10 à chaque œil
- Un examen biomicroscopique et un fond d'œil normaux
- Une vision des couleurs normale
- Un champ visuel normal

Les critères d'exclusion étaient :

- Antécédents de pathologie oculaire

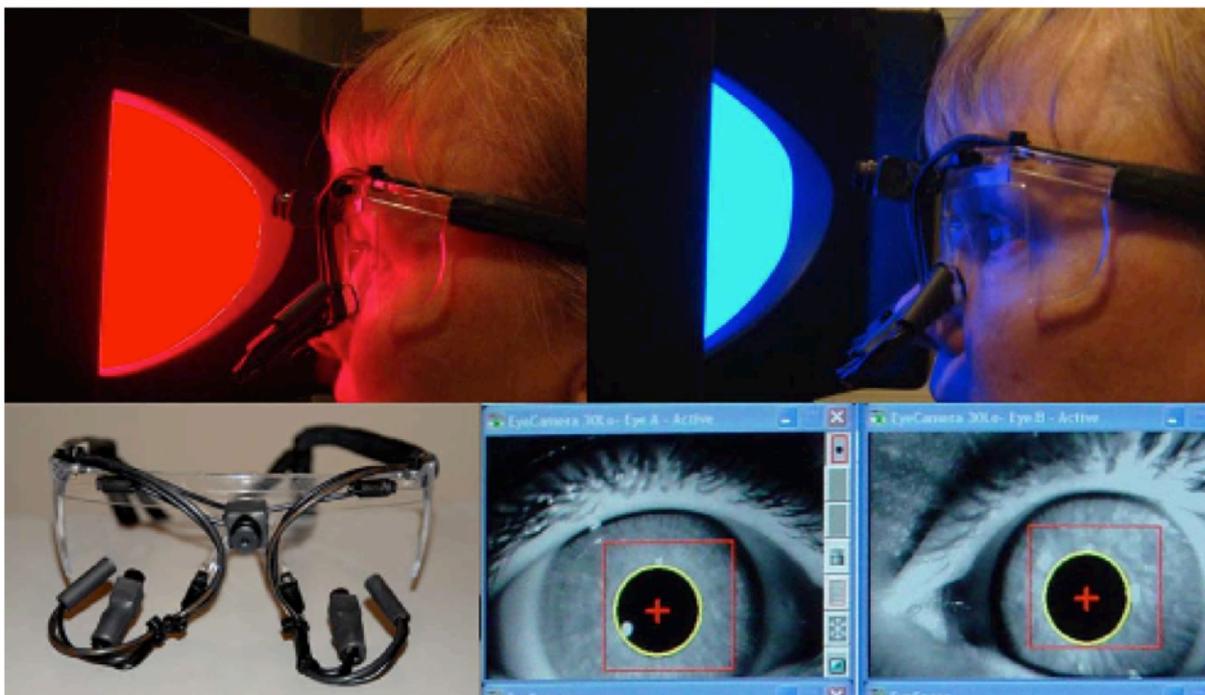
Aucun des sujets ne prenait de traitement local ou général susceptible d'affecter le réflexe pupillaire.

Un test de pupillométrie chromatique a été réalisé au niveau des deux yeux de chaque sujet mais la réponse pupillaire d'un seul œil a été analysée. L'œil le plus atteint a été sélectionné chez les patients et l'œil droit a été choisi chez les sujets contrôles.

3.3.2.2 Pupillométrie Chromatique

Nous avons réalisé les tests de Pupillométrie à l'aide de l'appareil ColorDome Ganzfeld Electroretinogram (Figure 17). Ce pupillomètre est constitué d'une boule Ganzfeld contenant des diodes lumineuses contrôlées par un appareil ERG.

Le sujet était invité à porter des lunettes dotées de caméras infrarouges, enregistrant la taille des pupilles en temps réel, puis à s'installer sur une mentonnière placée devant la boule Ganzfeld. L'œil non testé était préalablement occlus par un patch.



D'après référence 11.

Figure 17 : Tests de Pupillométrie chromatique. Le sujet est installé devant la boule Ganzfeld à une distance fixe. La taille des pupilles est enregistrée de façon continue et en temps réel pendant le protocole de stimulations lumineuses grâce aux lunettes dotées de caméras infrarouges.

Nous avons utilisé un protocole de pupillométrie décrit et testé dans de précédentes études [11,12]. Ce protocole était le suivant :

- 13 secondes dans l'obscurité
- 13 secondes d'une lumière rouge (640+/-10 nm) ou d'une lumière bleue (467+/-17 nm) à 1 cd/m²
- 13 secondes d'une lumière rouge (640+/-10 nm) ou d'une lumière bleue (467+/-17 nm) à 10 cd/m²
- 13 secondes d'une lumière rouge (640+/-10 nm) ou d'une lumière bleue (467+/-17 nm) à 100 cd/m²
- 60 secondes dans l'obscurité

3.3.2.3 Principales mesures

La taille de base de la pupille (Baseline Size, BS) était calculée en faisant la moyenne des tailles de pupille pendant les 13 secondes dans l'obscurité, avant le premier stimulus lumineux. La valeur de BS était considérée comme le 100% ou le ratio 1.0 de la taille de la pupille. Les différentes valeurs de taille pupillaire (Relative Pupil Size, RPS) obtenues lors du protocole de stimulation lumineuse étaient ensuite rapportées à la taille de base (BS) et traduites en ratio par rapport à la BS (de 0 à 1).

Nous nous sommes attachés à analyser la phase de re-dilatation pupillaire après stimulation lumineuse. Nous avons défini, de façon arbitraire, 2 phases lors de la re-dilatation pupillaire :

- une phase de re-dilatation « précoce » qui correspondait aux dix premières secondes de la re-dilatation pupillaire
- une phase « tardive » correspondant à la période de re-dilatation comprise entre la 10^{ème} seconde et la 30^{ème} seconde après la fin du stimulus lumineux

Les différents paramètres étudiés étaient :

- le temps de re-dilatation pupillaire calculé comme le temps nécessaire pour que la pupille atteigne 90% de sa taille de base
- la taille pupillaire lors de sa re-dilatation, définie comme la moyenne de taille pupillaire entre 0 et 10 secondes (phase précoce) et entre 10 et 30 secondes (phase tardive)
- la différence de temps de re-dilatation entre le stimulus bleu à 100cd/m² et le stimulus à 100 cd/m²

Nous avons également analysé quelques paramètres concernant la phase de contraction pupillaire chez les 3 groupes de sujets et pour chaque stimulation lumineuse afin de comparer nos résultats à ceux obtenus dans une étude précédente utilisant le même protocole [12] et ainsi vérifier que ce protocole permettait de stimuler préférentiellement les cônes ou les bâtonnets ou la mélanopsine selon la stimulation lumineuse choisie. L'amplitude de contraction pupillaire était définie comme la moyenne de % de contraction pupillaire par rapport à la taille de base, entre 1 et 3 secondes après le premier stimulus lumineux.

3.3.2.4 Analyse des données

Les données pupillographiques ont été analysées grâce au logiciel Excel. Un filtre personnalisé a permis d'éliminer la majorité des artéfacts liés aux clignements. Les clignements non éliminés par ce filtre, définis comme étant des changements brusques, spontanés, brefs (< 250 ms) et de large amplitude (augmentation ou diminution de la taille pupillaire de 50%) avec retour rapide à la taille pupillaire précédente, étaient effacées manuellement. Les réponses pupillaires étaient représentées sur un graphique ayant comme ordonnée le ratio de taille pupillaire relative à la taille de base et comme abscisse le temps en secondes (Kaleidagraph 4.0 graphing Software) (Figure 20).

Les réponses pupillaires secondaires au stimulus rouge à 100 cd/m^2 , au stimulus bleu à 1 cd/m^2 et au stimulus bleu à 100 cd/m^2 ont été plus particulièrement analysées car il a été montré que ces réponses représentaient les réponses pupillaires liées à l'activation préférentielle des cônes, des bâtonnets et de la mélanopsine respectivement, sur l'activité totale des cellules à mélanopsine médiant le réflexe pupillaire [11,12].

Les réponses pupillaires de chaque groupe de patients (« dystrophie rétinienne » et « neuropathie optique ») obtenues lors de ces différentes stimulations lumineuses ont été comparées à celles des sujets sains grâce à un test de Student lorsque les valeurs suivaient une distribution normale ou à un test de Mann-Whitney lorsque les valeurs étaient non paramétriques.

Les médianes de chaque contraction pupillaire ont été comparées entre les 3 groupes de sujets grâce à un test d'ANOVA 1 voie si les valeurs suivaient une distribution normale ou à un test de Kruskal-Wallis lorsque les données étaient non paramétriques (GraphPadPrism Logiciel).

Le test de Shapiro-Wilk permettait de vérifier si les données suivaient une loi Normale.

Le seuil de significativité était établi à $p < 0.05$.

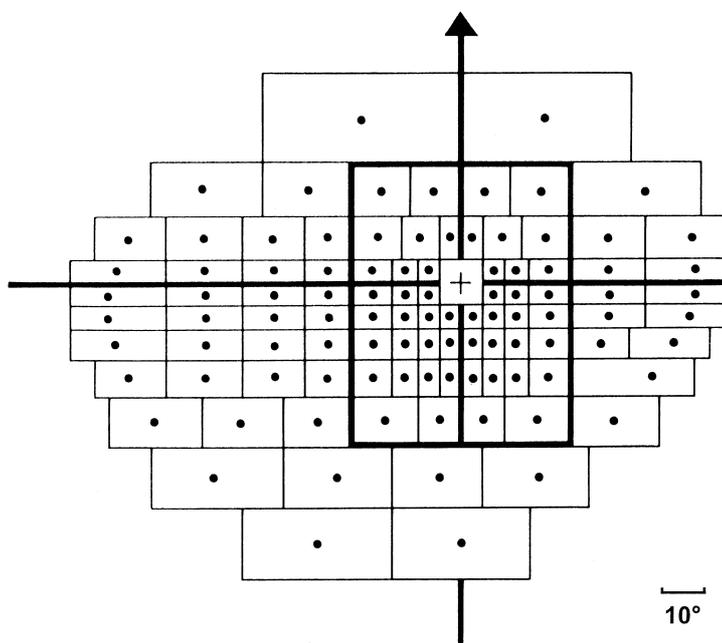
Les patients du groupe « dystrophie rétinienne » ont été séparés en 2 sous-groupes selon les valeurs de leur réponse combinée (onde b, à 0dB, en scotopique) à l'ERG full-field (Roland Consult) réalisé selon le protocole ISCEV [40,41]:

- le groupe 1 comprenait les patients ayant des valeurs de réponse combinée $<$ ou $=$ à 30% de celles la population normale
- le groupe 2 comprenait les patients ayant des valeurs de réponse combinée comprises entre 30 et 80% de celles la population normale

Un test de corrélation (coefficient de Pearson) a été effectué entre les valeurs des réponses combinées à l'ERG et les mesures de la re-dilatation pupillaire (temps de re-dilatation et taille pupillaire à l'arrêt du stimulus lumineux).

Les paramètres de re-dilatation pupillaires ont été comparés entre les 2 sous-groupes des patients atteints de dystrophie rétinienne versus les sujets contrôles à l'aide d'un test d'ANOVA 1 voie.

Les résultats du champ visuel de Goldmann ont pu être quantifiés grâce à une grille contenant 100 points et permettant de calculer manuellement un score (de 0 à 100) selon le tracé du champ visuel [42,43]. Tous les points situés à l'intérieur de l'isoptère I4 du champ visuel de Goldmann étaient comptabilisés (Figure 18).



D'après référence 43.
Figure 18. Modèle de grille permettant une évaluation objective du tracé de champ visuel de Goldmann. Seuls les points situés à l'intérieur de l'isoptère I4 sont comptabilisés. Les scores vont de 0 à 100.

Les scores du champ visuel cinétique ont ensuite été classés et corrélés aux différents paramètres de re-dilatation pupillaire (coefficient de Pearson).

3.3.3 Résultats

Vingt-trois patients avec une dystrophie rétinienne, 13 patients avec une neuropathie optique et 14 sujets contrôles ont été inclus dans l'étude.

Le groupe « dystrophie rétinienne » était constitué de 13 femmes et de 10 hommes dont la médiane d'âge était 40 ans, allant de 8 à 79 ans. Quatorze patients présentaient une rétinite pigmentaire (dont 1 syndrome de Usher), 6 présentaient une amaurose congénitale de Leber, 1 avait une rétinopathie dans le cadre d'une maladie de Bietti, 1 patient présentait une « cone-rod » dystrophie et 1 patient avait une maladie de Stargardt.

Le groupe « neuropathie optique » était constitué de 4 femmes et de 9 hommes dont la médiane d'âge était de 64 ans, allant de 27 à 72 ans. Onze patients présentaient une neuropathie optique ischémique non artéritique et 2 patients présentaient une compression du nerf optique.

Le groupe « contrôle » était constitué de 9 femmes et 5 hommes dont la médiane d'âge était de 30 ans, allant de 19 à 64 ans.

Les amplitudes de contraction après les stimuli rouge à 100 cd/m² (action prédominante des cônes), bleu à 1 cd/m² (activation préférentielle des bâtonnets), et bleu à 100 cd/m² (activation préférentielle de la mélanopsine) étaient réduites dans les 2 groupes de patients comparées à celles au groupe contrôle.

Pour le groupe « neuropathie optique », les différences étaient significatives pour les 3 stimuli lumineux (médiane de contraction au rouge 100 cd/m²= 39%, médiane de contraction au bleu 1 cd/m²= 31% et médiane de contraction au bleu 100 cd/m²= 45% comparées aux médianes de contraction= 50%, 42% and 60%, respectivement, au sein du groupe contrôle).

Pour les patients du groupe « dystrophie rétinienne », seules les médianes de contraction secondaires aux stimuli rouge 100 cd/m² (40%) et bleu 1 cd/m² (25%) étaient significativement différentes ($p < 0.05$).

En revanche, ni l'amplitude de contraction pupillaire au stimulus rouge à 100 cd/m² ni celle secondaire au stimulus bleu à 1 cd/m² n'était significativement différente entre les patients atteints de dystrophie rétinienne et les patients atteints de neuropathie optique (médiane de contraction pupillaire= 40% et 39% pour le stimulus rouge à 100 cd/m² et médiane de contraction pupillaire= 25% et 31% pour le stimulus bleu à 1 cd/m² respectivement, $p > 0.05$) (Figure 19).

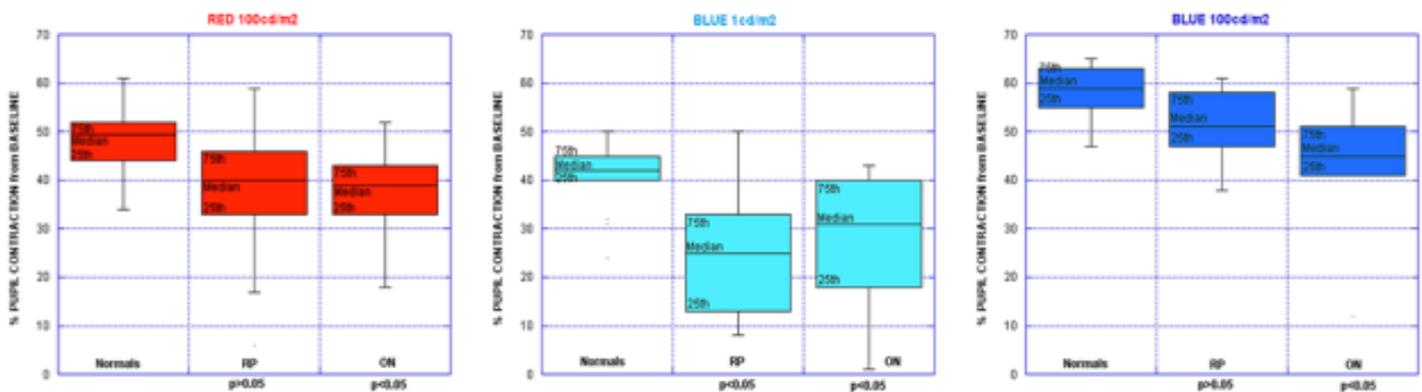


Figure 19: Boîtes à moustaches représentant les amplitudes de contraction pupillaire (médiane et intervalle de confiance aux 5^{ème} et 95^{ème} percentile) aux 3 stimuli lumineux : rouge 100 cd/m², bleu 1 cd/m² et bleu 100 cd/m² au sein des 3 groupes de sujets, « dystrophie rétinienne » (RP), « neuropathie optique » (ON) et sujets sains (Normals).

Les paramètres de re-dilatation pupillaire ont été analysés à partir de la fin du stimulus lumineux de forte intensité (100 cd/m²). L'analyse qualitative des graphiques obtenus par pupillométrie chromatique montre que la re-dilatation pupillaire chez les patients atteints de neuropathie optique et chez les sujets sains était rapide et maximale en peu de temps, que ce soit à la suite du stimulus bleu ou du stimulus rouge (Figure 20).

En revanche, chez les patients atteints de dystrophie rétinienne, il existait une asymétrie de la re-dilatation pupillaire. En effet celle-ci était retardée après la stimulation par lumière bleue intense alors qu'elle était rapide après le stimulus rouge (Figure 20).

Les différentes mesures quantitatives de la re-dilatation pupillaire (temps de re-dilatation et taille pupillaire à la fin de la stimulation lumineuse) chez les 3 groupes de sujets sont présentées dans le tableau 1.

RED light stimulus condition	Control subjects	Patients with RP	Patients with ON
Time to recover 90% of BS	Median= 11 s <i>95th percentile=17s</i>	Median= 5 s	Median= 4 s
Mean RPS between 0 to 10 s after light termination	Median= 0.82 <i>5th percentile=75</i>	Median= 0.89	Median= 0.90
Mean RPS between 10 to 30 s after light termination	Median= 0.94 <i>5th percentile=88</i>	Median= 0.94	Median= 0.97

BLUE light stimulus condition	Control subjects	Patients with RP	Patients with ON
Time to recover 90% of BS	Median= 16 s <i>95th percentile=22 s</i>	Median= 34 s*	Median= 11 s
Mean RPS between 0 to 10 s after light termination	Median=0.70 <i>5th percentile=67</i>	Median= 0.58*	Median= 0.80
Mean RPS between 10 to 30 s after light termination	Median=0.90 <i>5th percentile=85</i>	Median= 0.78*	Median= 0.94

Tableau 1. Résultats des paramètres de re-dilatation pupillaire après stimulation par lumière rouge (en haut) et lumière bleue (en bas) pour les 3 groupes de sujets: sujets contrôles, patients avec dystrophie rétinienne (RP) et patients avec neuropathie optique (ON). (BS: taille de base de la pupille; RPS: taille pupillaire relative; * indique les valeurs se situant hors des limites de l'intervalle de confiance)

Le temps nécessaire pour atteindre 90% de la taille pupillaire de base après stimulation par une lumière bleue intense à 100 cd/m² était significativement plus long chez le groupe « dystrophie rétinienne » que chez les sujets contrôles (34 s pour les patients versus 16 s pour les sujets contrôles ; $p < 0.05$). Après stimulation par la lumière rouge intense, ce temps de re-dilatation n'était pas significativement différent entre les 2 groupes de sujets (5 s pour les patients versus 11 s pour les sujets contrôles ; $p > 0.05$).

Les patients du groupe « neuropathie optique » présentaient des temps de re-dilatation pupillaire légèrement plus courts que les sujets sains mais ces différences n'étaient pas significatives.

Sur les graphiques de pupillométrie (Figure 20), les phases de re-dilatation pupillaire étaient pratiquement superposables chez les patients atteints de neuropathie optique et chez les sujets contrôles. Les mesures de la différence de temps de re-dilatation entre lumière bleue et lumière rouge dans ces 2 groupes n'étaient pas significativement différentes ($p > 0.05$). La médiane du temps de re-dilatation différentiel était de 5.5 s (allant de 0 à 17 s) pour les sujets sains et de 5 s (allant de 0 à 11 s) pour les patients avec neuropathie optique. En comparaison, la différence du temps de re-dilatation entre lumière bleue et lumière rouge était significativement plus élevée chez les patients atteints de dystrophie rétinienne que chez les sujets contrôles (médiane = 28 s, allant de 1 à 57 s, versus 5.5 s respectivement ; $p < 0.001$).

Deux patients présentant une rétinite pigmentaire présentaient un temps différentiel de re-dilatation inférieur à la valeur médiane du groupe contrôle (1 s et 3 s). L'un de ces 2 patients avait un ERG altéré mais encore enregistrable et son acuité visuelle était chiffrée à 0.25. Le deuxième patient avait un ERG non enregistrable avec un score au champ visuel de Goldmann très faible à 3, mais son acuité visuelle était chiffrée à 0.8 (Figure 21, bas).

La moyenne de la taille pupillaire pendant les phases précoces et tardives de la re-dilatation pupillaire après stimulation par lumière bleue intense était significativement plus petite chez les patients du groupe « dystrophie rétinienne » comparée à celle des sujets contrôles (médiane = 0.58 et 0.78 pour les patients versus 0.70 et 0.90 pour les sujets sains ; $p < 0.05$). En revanche, après stimulation par lumière rouge intense, la moyenne de la taille pupillaire pendant les phases de re-dilatation n'était pas significativement différente entre les 2 groupes (médiane = 0.89 et 0.94 chez les sujets atteints de dystrophie rétinienne versus 0.82 et 0.94 pour les sujets contrôles ; $p > 0.05$).

En ce qui concerne le groupe « neuropathie optique », les valeurs moyennes de taille pupillaire pendant les phases de re-dilatation après lumières bleue ou rouge intenses étaient significativement plus grandes comparées aux sujets contrôles.

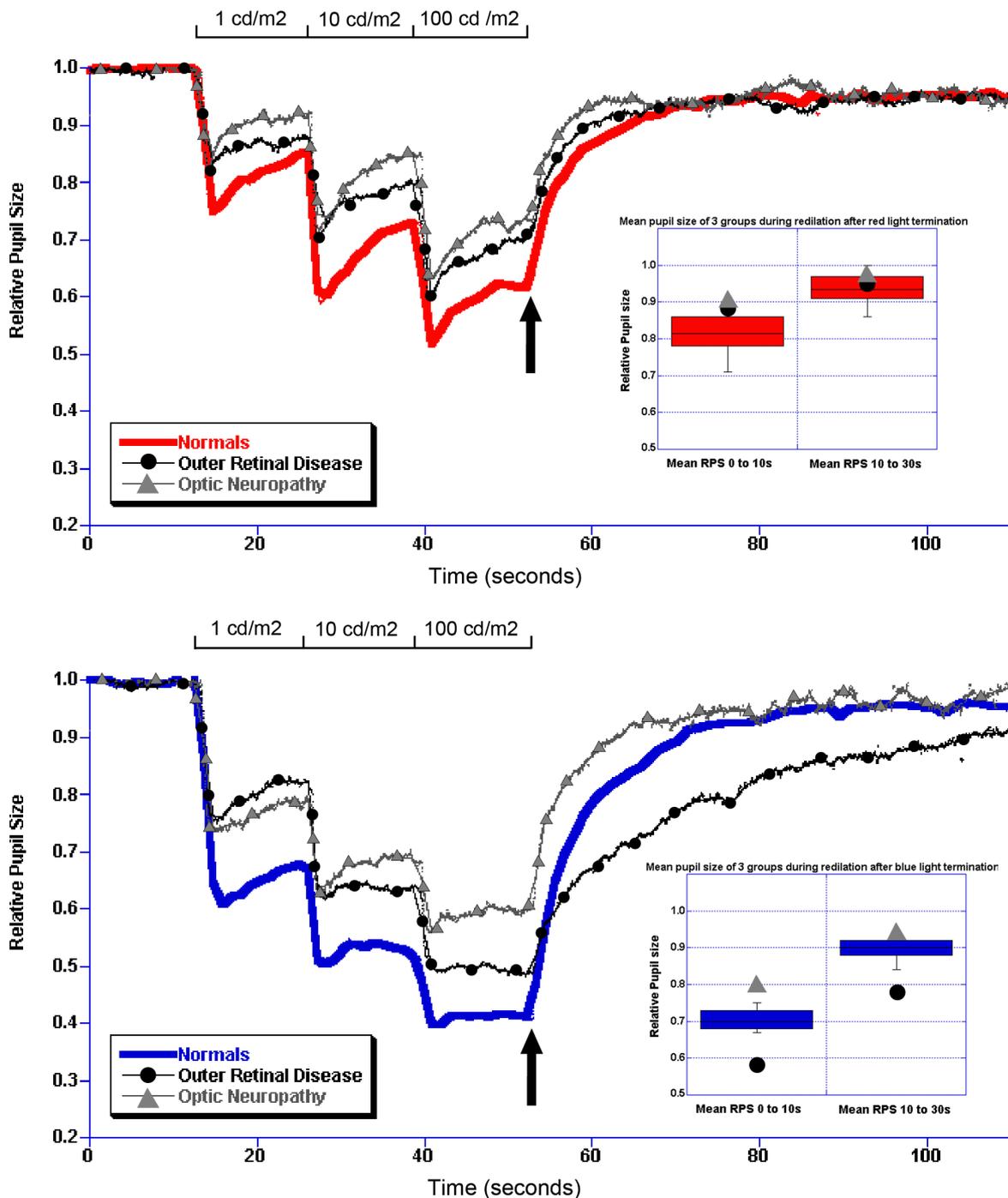


Figure 20. Enregistrements pupillographiques des 3 groupes de sujets après stimulations lumineuses rouges et bleues à 3 intensités différentes (1, 10 et 100 cd/m²). Les contractions pupillaires des patients sont diminuées par rapport aux sujets normaux et ce, pour toutes les intensités lumineuses. Il existe une différence de re-dilatation pupillaire entre lumière rouge et bleue seulement chez les patients atteints de dystrophie rétinienne. Les boîtes à moustaches (en bas à droite) représentent les valeurs de tailles pupillaires pour la phase précoce et la phase tardive de re-dilatation pupillaire (plots colorés pour les sujets normaux, point noir pour les patients atteints de dystrophie rétinienne et triangle gris pour les patients avec neuropathie optique). Le retard de re-dilatation pupillaire est mis en évidence pour les patients du groupe « dystrophie rétinienne » et seulement après stimulation par lumière bleue intense.

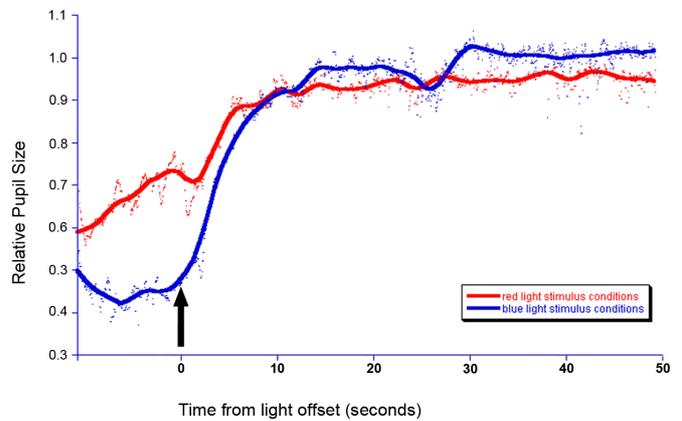
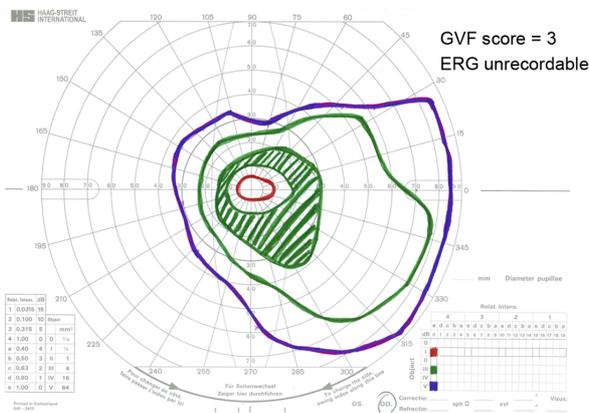
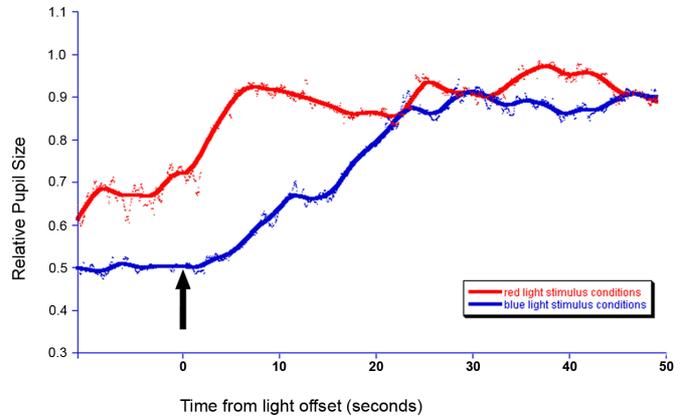
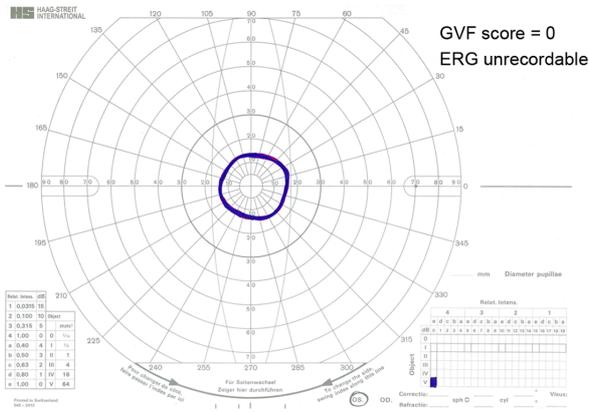


Figure 21. Exemples de tracés de champ visuel de Goldmann et de courbes pupillographiques centrées sur la re-dilatation pupillaire chez 2 patients du groupe « dystrophie rétinienne ». En haut : ce patient avait une rétinopathie pigmentaire sévère avec acuité visuelle chiffrée à 0.05. Le tracé du champ visuel montre une constriction importante (score=0) et l'ERG était non enregistrable. Il présentait un retard de re-dilatation pupillaire après stimulation lumineuse bleue intense. En bas : ce patient avait une rétinopathie pigmentaire sévère avec acuité visuelle conservée, chiffrée à 0.8. Le tracé du champ visuel montre un déficit importante (score=3) et l'ERG était non enregistrable. Contrairement au patient précédent, ce patient ne présentait pas d'anomalie de re-dilatation pupillaire.

Dix patients présentant une dystrophie rétinienne avaient un ERG photopique et scotopique plat. Tous présentaient néanmoins une réponse pupillaire enregistrable lors du protocole de pupillométrie. Huit d'entre eux avaient une réponse pupillaire quantifiable après stimulation par lumière bleue et rouge à toutes les intensités. Les 2 autres n'avaient pas de réponse pupillaire enregistrable après stimulation par lumière bleue de faible intensité (1 cd/m^2). Neuf patients présentaient une re-dilatation pupillaire anormale et retardée à la fin du stimulus bleu intense (100 cd/m^2).

Aucune corrélation n'existait entre les valeurs de l'ERG et les paramètres de la re-dilatation pupillaire.

Le groupe de 23 patients avec dystrophie rétinienne a été divisé en 2 sous-groupes selon les valeurs de la réponse combinée à l'ERG (Analyse des données) :

- le groupe 1 (valeurs de la réponse combinée < 30% de la normale) comprenait 17 patients
- le groupe 2 (valeurs de la réponse combinée comprise entre 30% et 80% de la normale) comprenait 6 patients

Le groupe 1 avait des temps de re-dilatation pupillaire plus longs (37 s pour atteindre 90% de la taille de base) et des moyennes de taille pupillaire lors de la re-dilatation plus petites (0.58 pour la phase précoce et 0.75 pour la phase tardive) comparés aux paramètres de re-dilatation des sujets contrôles (temps= 16 s et tailles pupillaires= 0.7 et 0.9 pour les phases précoces et tardives de re-dilatation, respectivement). Ces différences entre le groupe 1 et le groupe des sujets sains étaient significatives ($p < 0.05$). A l'inverse, les paramètres de re-dilatation n'étaient pas significativement différents entre le groupe 2 et le groupe contrôle.

Les scores calculés pour les champs visuels de Goldmann dans le groupe « dystrophie rétinienne » allaient de 0 à 27. Seize patients avaient un score de 0. Nous n'avons pas mis en évidence de corrélation entre le score du champ visuel et les paramètres de re-dilatation pupillaire ($r = 0.28, -0.27$ et -0.23 respectivement ; $p > 0.05$).

3.3.4 Discussion

La contraction pupillaire enregistrée chez les patients présentant une dystrophie rétinienne, lors de stimulations lumineuses sélectionnées pour favoriser l'activité des cônes (rouge 100 cd/m²) et des bâtonnets (bleu 1 cd/m²) sur la réponse pupillaire totale, était significativement moins importante par rapport à celle des sujets sains. Ces résultats sont cohérents avec les données d'une étude précédente utilisant le même protocole de stimulations lumineuses et comparant les réponses pupillaires de patients présentant une rétinite pigmentaire par rapport à celles de sujets normaux [12]. La contraction pupillaire des patients présentant une atteinte des photorécepteurs externes était significativement diminuée par rapport à celle des sujets sains lors des stimulations colorées [12].

De plus, en testant les réponses pupillaires des patients avec neuropathie optique, nous avons observé que leurs contractions pupillaires aux lumières rouge à 100 cd/m² et bleue à 1 cd/m² étaient également diminuées par rapport à celles des sujets contrôles. Ces paramètres de stimulations lumineuses ne permettent donc pas de différencier les 2 groupes de patients.

En revanche, l'analyse de la re-dilatation pupillaire a permis de mettre en évidence des différences entre les 2 groupes de patients « dystrophie rétinienne » versus « neuropathie optique ». La phase re-dilatation pupillaire après stimulation par lumières rouge et bleue intenses chez les patients présentant une neuropathie optique était courte et rapide, comme celle des sujets sains. Les courbes de re-dilatation pupillaire après stimulations lumineuses rouge et bleue étaient superposables entre le groupe « neuropathie optique » et le groupe contrôle et le temps différentiel de re-dilatation pupillaire (correspondant à la différence de temps pour atteindre la taille pupillaire de base après stimulation lumineuse rouge versus stimulation lumineuse bleue) était donc négligeable au sein de ces 2 groupes. A l'inverse, chez les patients du groupe « dystrophie rétinienne », la re-dilatation pupillaire après stimulation lumineuse bleue intense était plus lente avec un temps plus long pour atteindre la taille pupillaire de base, comparée à la re-dilatation pupillaire après stimulation lumineuse rouge intense. Le temps différentiel de re-dilatation chez les patients avec dystrophie rétinienne était significativement plus long par rapport à celui des sujets contrôles (médiane= 28 s versus 5.5 s respectivement). Ce paramètre permettrait donc de distinguer les réponses du groupe « dystrophie rétinienne » de celles du groupe « neuropathie optique » ou du groupe contrôle.

Il est important de rappeler que le retard de re-dilatation pupillaire après exposition à une lumière bleue intense n'a pas de signification particulière en soi et cette observation doit être rapportée au type de stimulation lumineuse et aux résultats d'un groupe contrôle. En effet, dans l'étude de Gamlin et al. [18] et de Kankipati et al. [44], les sujets contrôles présentaient une

contraction pupillaire persistant après arrêt d'une stimulation par lumière bleue intense (longueur d'onde= 470 nm, intensité de 13 log quanta/cm²/s pendant 10 s), causant ainsi un retard de re-dilatation pupillaire. Ce phénomène, appelé « contraction pupillaire post illumination » a été attribué à l'activation préférentielle de la mélanopsine sur l'ensemble de l'activité des MGC car ce retard de re-dilatation n'était pas présent après stimulation par lumière rouge (longueur d'onde= 623 nm) de même intensité. Ainsi, Kankipati et al. [45] ont pu utiliser la mesure de la « contraction pupillaire post illumination » pour quantifier l'activité des MGC au sein d'une population de patients présentant une affection des cellules ganglionnaires rétiniennes (patients glaucomateux) [45]. Ils ont montré que les patients glaucomateux avait une « contraction pupillaire post illumination » diminuée par rapport aux sujets sains et qu'elle était d'autant plus basse que le déficit périmétrique était important. Cette mesure pourrait donc devenir un paramètre objectif évaluant l'aggravation d'un glaucome [45].

Notre protocole de stimulation n'a pas permis d'observer une contraction pupillaire persistant après arrêt de la stimulation lumineuse chez nos sujets sains. Ces résultats confirment les données des précédentes études testant ce protocole où aucun des sujets contrôles n'a montré de contraction pupillaire post illumination [11,12]. La principale raison de ces résultats serait que notre lumière bleue intense n'émet pas assez d'énergie pour activer préférentiellement la mélanopsine (Communication personnelle du Dr Gamlin). Si les réponses pupillaires obtenues par notre stimulation lumineuse bleue intense sont le reflet d'un signal mixte provenant à la fois de la mélanopsine, des cônes M et S et des bâtonnets, la re-dilatation pupillaire est également influencée par les signaux provenant des photorécepteurs externes qui transmettent un signal inhibiteur aux cellules ganglionnaires lors de l'extinction de la lumière [21]. L'inhibition du noyau d'Edinger-Wesphal associée à l'activation de la voie sympathique permet une re-dilatation pupillaire courte et rapide après stimulation lumineuse lors d'un examen clinique ophtalmologique standard (lumières blanches d'intensité faibles à modérées dans la plupart des cas).

Dans notre étude, l'observation d'une re-dilatation pupillaire retardée et lente retrouvée chez les patients avec dystrophie rétinienne, seulement après stimulation par lumière bleue intense et démontre que cette stimulation lumineuse bleue active les photorécepteurs externes et internes chez les sujets normaux. En effet, nous émettons l'hypothèse que la perte des photorécepteurs externes rencontrée lors de dystrophies rétiniennes entrainerait une activation prédominante de la mélanopsine sur l'activité totale des MGC et permettrait de « démasquer » l'activité intrinsèque des MGC caractérisée par une contraction pupillaire persistant à l'arrêt de la stimulation lumineuse. De plus, la perte du signal inhibiteur des cônes et bâtonnets sur les MGC pourrait contribuer à l'apparition d'un retard de re-dilatation. Après stimulation lumineuse rouge

intense, la re-dilatation pupillaire chez les patients présentant une dystrophie rétinienne est courte et rapide car les lumières de grande longueur d'onde ne permettraient pas une activation suffisante de la mélanopsine.

Afin de comparer la phase de re-dilatation pupillaire entre patients et sujets sains, nous avons défini et quantifié plusieurs mesures de la phase post stimulation lumineuse. Vingt et un des 23 patients avec dystrophie rétinienne avaient des mesures anormales de la re-dilatation pupillaire et un temps différentiel de re-dilatation hors des limites de l'intervalle de confiance du groupe contrôle. Bien que les patients qui présentaient les formes les plus sévères de dystrophie rétinienne (ERG plat, score de champ visuel nul) avaient tendance à présenter une phase de re-dilatation plus lente et plus retardée après la stimulation par lumière bleue intense, aucune corrélation n'a pu être mise en évidence entre les paramètres de re-dilatation pupillaire et les valeurs de l'ERG ou le score du champ visuel de Goldmann (Figure 22).

Une explication possible pour cette absence de corrélation serait que la plupart de nos patients avec dystrophie rétinienne étaient déjà à un stade avancé de la maladie. Dix des 23 patients du groupe « dystrophie rétinienne » présentaient un ERG plat depuis plusieurs années. De plus, les scores du champ visuel étaient très limités chez ces patients (scores allant de 0 à 27 sur une échelle de 0 à 100 dont 16 patients avec un score de champ visuel nul). Enfin, pour quelques patients, les tests de pupillométrie n'ont pas été réalisés en même temps que l'ERG, ce qui a pu contribuer à l'absence de corrélation entre résultats de pupillométrie et clinique.

Malgré la sévérité de leur atteinte rétinienne, tous les patients du groupe « dystrophie rétinienne » ont présenté une réponse pupillaire enregistrable et quantifiable. Chez 2 patients seulement, la réponse pupillaire à la stimulation bleue de faible intensité (1 cd/m^2) n'était pas enregistrable, mais les réponses pupillaires aux stimulations lumineuses bleues de 10 et 100 cd/m^2 étaient enregistrables et quantifiables.

La pupillométrie chromatique est donc l'examen le plus sensible, capable d'enregistrer l'activité des photorécepteurs externes alors que l'ERG et le champ visuel ne peuvent plus donner de renseignements sur l'état rétinien de patients présentant une dystrophie rétinienne évoluée.

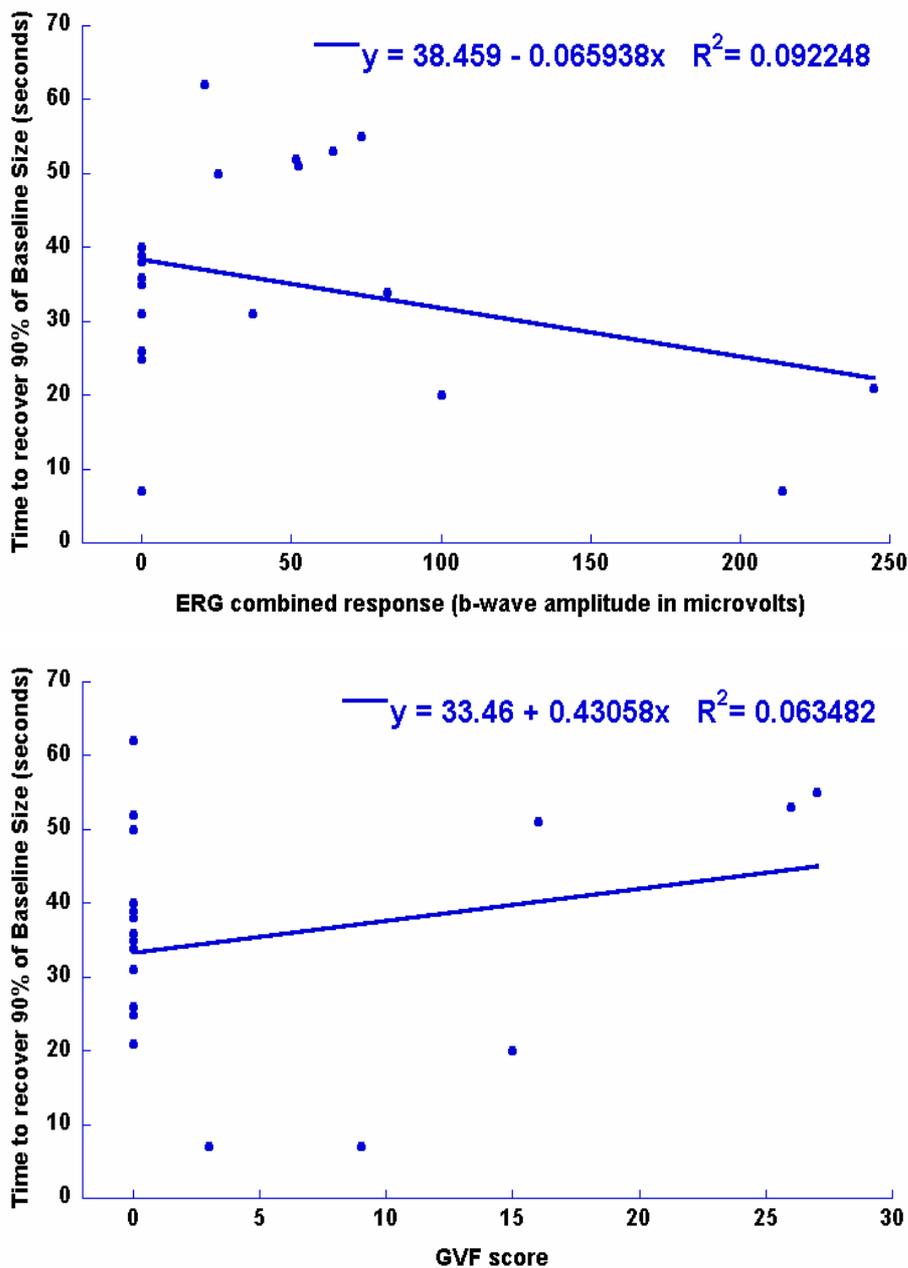


Figure 22. Courbes de corrélation entre un paramètre de re-dilatation pupillaire (temps nécessaire pour atteindre 90% de la taille de base et les valeurs d'ERG (en haut) et de champ visuel de Goldmann (en bas). Aucune corrélation n'a pu être mise en évidence. On note cependant le nombre important d'ERG plats et de scores de champ visuel nuls qui a pu participer au manque de corrélation.

4 Conclusion

Nous avons enregistré et quantifié la re-dilatation pupillaire après stimulations lumineuses colorées de forte intensité chez des sujets normaux, chez des patients présentant une dystrophie rétinienne et chez des patients atteints de neuropathie optique. En utilisant un protocole de stimulation lumineuse prédéfini pour favoriser l'activation de chaque signal sur l'activité totale des MGC (cônes versus bâtonnets versus mélanopsine), nous avons observé que seuls les patients avec dystrophie rétinienne présentaient une différence quantifiable de leur re-dilatation pupillaire selon la couleur de la stimulation lumineuse. En effet, après stimulation par lumière rouge intense, la re-dilatation était courte et rapide comme chez les sujets sains et les patients avec neuropathie optique alors qu'après stimulation par lumière bleue intense, on observait un retard et une lenteur de re-dilatation pupillaire qui n'étaient constatés chez aucun des sujets sains ou des patients avec neuropathie optique.

Les patients du groupe « neuropathie optique » avaient une phase de re-dilatation pupillaire superposable à celle des sujets sains et les paramètres de re-dilatation ne permettaient pas de faire la distinction entre ces 2 groupes.

La pupillométrie chromatique a permis dans cette étude de différencier le groupe « dystrophie rétinienne » des groupes « neuropathie optique » et « sujets normaux ». D'autres études sont actuellement en cours pour définir de façon plus précise l'utilité et la sensibilité des paramètres de re-dilatation pupillaire dans le diagnostic différentiel et étiologique des baisses d'acuité visuelle en neuro-ophtalmologie (rétinopathies versus neuropathies optiques).

La pupillométrie chromatique pourrait également avoir un intérêt dans le suivi des maladies rétiniennes sévères où les examens paracliniques standard (ERG, champ visuel) ne peuvent plus apporter d'informations sur l'activité des photorécepteurs externes.

5 Bibliographie

1. Provencio I, Rodriguez IR, Jiang G, Hayes WP, Moreira EF, Rollag MD. A novel opsin in the inner retina. *J Neurosci* 2000 ; 20: 600-5.
2. Hattar S, Liao HW, Takao M, Berson DM, Yau KW. Melanopsin-containing retinal ganglion cells: architecture, projections, and intrinsic photosensitivity. *Science* 2002; 295: 1065-70.
3. Berson DM, Dunn FA, Takao M. Phototransduction by retinal ganglion cells that set the circadian clock. *Science* 2002; 295: 1070-3.
4. Hattar S, Kumar M, Park A, Tong P, Tung J, Yau KW, Berson DM. Central projections of melanopsin-expressing retinal ganglion cells in the mouse. *J Comp Neurol* 2006; 497: 326-349.
5. Güler AD, Ecker JL, Lall GS, Haq S, Altimus CM, Liao HW, Barnard AR, Cahill H, Badea TC, Zhao H, Hankins MW, Berson DM, Lucas RJ, Yau KW, Hattar S. Melanopsin cells are the principal conduits for rod-cone input to non-image-forming vision. *Nature* 2008; 453: 102-105.
6. Berson DM. Strange vision : ganglion cells as circadian photoreceptors. *Trends Neurosci.* 2003 ; 26: 314-20.
7. Hattar S, Lucas RJ, Mrosovsky N, Thompson S, Douglas RH, Hankins MW, Lem J, Biel M, Hofmann F, Foster RG, Yau KW. Melanopsin and rod-cone photoreceptive systems account for all major accessory visual functions in mice. *Nature* 2003; 424: 76-81.
8. Dacey DM, Liao HW, Peterson BB, Robinson FR, Smith VC, Pokorny J, Yau KW, Gamlin PD. Melanopsin expressing ganglion cells in primate retina signal color and irradiance and project to the LGN. *Nature* 2005; 433: 749-754.
9. Wong KY, Dunn FA, Graham DM, Berson DM. Synaptic influences on rat ganglion-cell photoreceptors. *J Physiol* 2007; 582: 279-96.
10. Lucas RJ, Hattar S, Takao M, Berson DM, Foster RG, Yau KW. Diminished pupillary light reflex at high irradiances in melanopsin knockout mice. *Science* 2003; 299: 245- 7.

11. Kardon R, Anderson SC, Damarjian TG, Grace EM, Stone E, Kawasaki A. Chromatic pupil responses: preferential activation of the melanopsin mediated versus outer photoreceptor-mediated pupil light reflex. *Ophthalmology* 2009; 116: 1564-73.
12. Kardon R, Anderson SC, Damarjian TG, Grace EM, Stone E, Kawasaki A. Chromatic pupillometry in patients with retinitis pigmentosa. *Ophthalmology* 2011; 118: 376-81.
13. Czeisler CA, Shanahan TL, Klerman EB, Martens H, Brotman DJ, Emens JS, Klein T, Rizzo JF 3rd. Suppression of melatonin secretion in some blind patients by exposure to bright light. *N Engl J Med.* 1995 ; 332: 6-11.
14. Foster RG, Provencio I, Hudson D, Fiske S, De Grip W, Menaker M. Circadian photoreception in the retinally degenerate mouse (rd/rd). *J Comp Physiol A.* 1991; 169: 39-50.
15. Provencio I, Wong S, Lederman AB, Argamaso SM, Foster RG. Visual and circadian responses to light in aged retinally degenerate mice. *Vision Res.* 1994; 34: 1799-806.
16. Freedman MS, Lucas RJ, Soni B, von Schantz M, Muñoz M, David-Gray Z, Foster R. Regulation of mammalian circadian behavior by non-rod, non-cone, ocular photoreceptors. *Science.* 1999 ; 284: 502-4.
17. Provencio I, Jiang G, De Grip WJ, Hayes WP, Rollag MD. Melanopsin: An opsin in melanophores, brain, and eye. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1998 ; 95: 340-345.
18. Gamlin PD, McDougal DH, Pokorny J, Smith VC, Yau KW, Dacey DM. Human and macaque pupil responses driven by melanopsin-containing retinal ganglion cells. *Vision Res* 2007; 47: 946-54.
19. Lucas RJ, Freedman MS, Lupi D, Munoz M, David-Gray ZK, Foster RG. Identifying the photoreceptive inputs to the mammalian circadian system using transgenic and retinally degenerate mice. *Behav Brain Res.* 2001; 125: 97-102.
20. Gooley JJ, Lu J, Fischer D, Saper CB. A broad role for melanopsin in non visual photoreception. *J Neurosci.* 2003; 23:7093-106.
21. Bailes HJ, Lucas RJ. Melanopsin and inner retinal photoreception. *Cell Mol Life Sci* 2010; 67: 99-111.
22. Provencio I, Rollag MD, Castrucci AM. Photoreceptive net in the mammalian retina. This mesh of cells may explain how some blind mice can still tell day from night. *Nature.* 2002 ; 415: 493.
23. Berson DM, Castrucci AM, Provencio I. Morphology and mosaics of melanopsin-expressing retinal ganglion cell types in mice. *J Comp Neurol.* 2010 ; 518: 2405-22.

24. Schmidt TM, Taniguchi K, Kofuji P. Intrinsic and extrinsic light responses in melanopsin-expressing ganglion cells during mouse development. *J Neurophysiol* 100: 371–384, 2008.
25. Schmidt TM, Kofuji P. Functional and morphological differences among intrinsically photosensitive retinal ganglion cells. *J Neurosci*. 2009; 29: 476-82.
26. Jusuf PR, Lee SC, Hannibal J, Grünert U. Characterization and synaptic connectivity of melanopsin-containing ganglion cells in the primate retina. *Eur J Neurosci*. 2007 ; 26: 2906-21.
27. Schmidt TM, Chen SK, Hattar S. Intrinsically photosensitive retinal ganglion cells: many subtypes, diverse functions. *Trends Neurosci*. 2011 Aug 2.
28. Mure LS, Cornut PL, Rieux C, Drouyer E, Denis P, Gronfier C, Cooper HM. Melanopsin bistability: a fly's eye technology in the human retina. *PLoS One*. 2009; 4: e5991.
29. Qiu X, Kumbalasisri T, Carlson SM, Wong KY, Krishna V, Provencio I, Berson DM. Induction of photosensitivity by heterologous expression of melanopsin. *Nature*. 2005 ; 433: 745-9.
30. Mata NL, Radu RA, Clemmons RC, Travis GH. Isomerization and oxidation of vitamin a in cone-dominant retinas: a novel pathway for visual-pigment regeneration in daylight. *Neuron*. 2002; 36: 69-80.
31. Arshavsky V. Like night and day: rods and cones have different pigment regeneration pathways. *Neuron*. 2002; 36: 1-3.
32. Kiselev A, Subramaniam S. Activation and regeneration of rhodopsin in the insect visual cycle. *Science*. 1994; 266: 1369-73.
33. Mure LS, Rieux C, Hattar S, Cooper HM. Melanopsin-dependent nonvisual responses: evidence for photopigment bistability in vivo. *J Biol Rhythms*. 2007; 22: 411-24.
34. Belenky MA, Smeraski CA, Provencio I, Sollars PJ, Pickard GE. Melanopsin retinal ganglion cells receive bipolar and amacrine cell synapses. *J Comp Neurol*. 2003; 460: 380-93.
35. Dumitrescu ON, Pucci FG, Wong KY, Berson DM. Ectopic retinal ON bipolar cell synapses in the OFF inner plexiform layer: contacts with dopaminergic amacrine cells and melanopsin ganglion cells. *J Comp Neurol*. 2009; 517: 226-44.
36. Kawasaki A, Kardon RH. Intrinsically photosensitive retinal ganglion cells. *J Neuroophthalmol*. 2007; 27: 195-204.
37. Loewenfeld IE. "Simple central" anisocoria: a common condition, seldom recognized. *Trans Sect Ophthalmol Am Acad Ophthalmol Otolaryngol*. 1977; 83: 832-9.

38. Kalaboukhova L., Fridhammar V, Lindblom B. Relative afferent pupillary defect in glaucoma: a pupillometric study. *Acta Ophthalmol Scand.* 2007 ; 85: 519-25.
39. Crippa SV, Borruat FX, Kawasaki A. Pupillary dilation lag is intermittently present in patients with a stable oculosympathetic defect (Horner syndrome). *Am J Ophthalmol.* 2007; 143: 712-5.
40. Marmor MF, Holder GE, Seeliger MW, Yamamoto S. Standard for clinical electroretinography 2004 update. *Doc Ophthalmol* 2004; 108: 107-114.
41. Marmor MF, Fulton AB, Holder GE, Miyake Y, Brigell M, Bach M. International Society for Clinical Electrophysiology of Vision 2008 update. *Doc Ophthalmol* 2009; 118: 69-77.
42. Esterman B. Grid for scoring visual fields. II. Perimeter. *Arch Ophthalmol* 1968; 79: 400-6.
43. Kwon YH, Kim CS, Zimmerman MB, Alward WL, Hayreh SS. Rate of visual field loss and long-term visual outcome in primary open-angle glaucoma. *Am J Ophthalmol* 2001; 132: 47-56.
44. Kankipati L, Girkin CA, Gamlin PD. Post-illumination pupil response in subjects without ocular disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010; 51: 2764-9.
45. Kankipati L, Girkin CA, Gamlin PD. The post-illumination pupil response is reduced in glaucoma patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011; 52: 2287-92.

NOM : LEON

PRENOM : LORETTE

Titre de Thèse : LA PUPILLOMETRIE CHROMATIQUE : ROLE DES CELLULES A MELANOPSINE

RESUME (10 lignes)

La pupillométrie chromatique permet d'objectiver et d'évaluer les réponses pupillaires de patients grâce à des stimulations lumineuses définies en terme de longueur d'onde et d'intensité. Notre étude, basée sur cette méthode, avait pour but d'examiner et de quantifier la re-dilatation pupillaire de patients atteints de dystrophie rétinienne et de comparer les résultats à ceux de patients présentant une neuropathie optique et à des sujets normaux. Nous avons observé un retard de re-dilatation pupillaire chez les patients avec dystrophie rétinienne et survenant après la stimulation lumineuse bleue intense. Cette caractéristique serait liée à l'activité intrinsèque des cellules à mélanopsine. La pupillométrie chromatique permettrait donc de différencier des groupes de patients atteints de dystrophie rétinienne versus neuropathie optique. Cette méthode novatrice et non invasive pourrait s'avérer utile dans le diagnostic et le suivi de patients présentant une dystrophie rétinienne.

MOTS-CLES

Pupillométrie, Dystrophie rétinienne, Mélanopsine, Pupilles, Réflexe pupillaire.