



## La rétine du futur

Pauline Heitz

Ces deux dernières décennies ont vu l'émergence d'un nouveau paradigme en ophtalmologie : l'ère de la recherche d'un traitement de la cécité. Plusieurs domaines, partiellement complémentaires, se développent à grande vitesse, que ce soit les recherches sur les cellules souches, sur la thérapie génique ou sur les rétines artificielles.

### La thérapie cellulaire

La thérapie cellulaire est un volet très important de la recherche en matière de maladie rétinienne cécitante. D'une part, les cellules souches apportent un nouvel espoir en matière de neuroprotection. Leur capacité de sécréter des facteurs neuroprotecteurs permettrait de ralentir ou stabiliser la dégénérescence des cellules rétiniennes du patient. D'autre part, leur caractère pluripotent permettrait de remplacer des cellules malades, et d'en rétablir la fonction [1].

#### Des cellules souches pluripotentes de deux types

L'objectif de la thérapie cellulaire est de soigner durablement une pathologie grâce à une injection unique de cellules thérapeutiques. En ophtalmologie, les grands essais cliniques en cours utilisent des cellules souches pluripotentes de deux types : les cellules souches embryonnaires et les cellules souches pluripotentes induites (IPS). Les cellules souches embryonnaires sont prélevées sur des embryons, puis différenciées en des cellules de l'épithélium pigmentaire (EP) grâce à un cocktail de facteur de croissance et de différenciation spécifique. Les cellules IPS sont prélevées chez des adultes puis reprogrammées en cellules pluripotentes par génie génétique (figure 1).

Le problème de la compatibilité donneur-receveur se pose surtout pour les cellules souches embryonnaires, même si elles sont globalement faiblement immunogènes et ne nécessitent qu'un traitement immunosuppresseur transitoire. Par contre, les cellules IPS ne sont a priori pas immunogènes puisque provenant du patient lui-même (cellules autologues) et ont l'avantage d'être faciles à prélever (prélèvement cutané).

Concernant les cellules souches embryonnaires, les essais cliniques ont inclus des patients souffrant de DMLA atrophique et de la maladie de Stargardt. Dans des modèles précliniques, la transplantation de cellules de l'EP

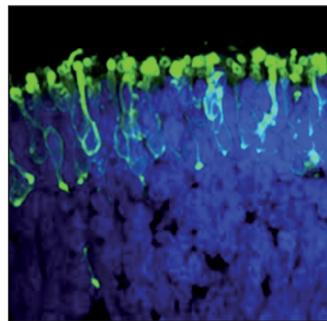


Figure 1. Bâtonnets (en vert) au sein d'une rétine dérivée de cellules pluripotentes induites, in vitro (John Hopkins Medicine).

serait à l'origine d'une préservation des photorécepteurs, l'EP greffé ayant la capacité de recycler les photopigments, stocker et métaboliser la vitamine A, et phagocytter les déchets des photorécepteurs.

#### Les essais cliniques

L'équipe de S.D. Schwartz a publié en 2015 dans le *Lancet* les résultats de ces essais cliniques [2]. Il a inclus aux Etats Unis neuf patients ayant une DMLA atrophique et neuf patients ayant une maladie de Stargardt, avec un suivi médian de 22 mois. Ils ont bénéficié d'une injection sous-rétinienne de cellules de l'EP dérivées de cellules souches embryonnaires, associée à un court traitement immunosuppresseur. L'acuité visuelle a été améliorée sur 10 yeux, stable sur 7 yeux. Le profil de sécurité et de tolérance a été excellent ; aucun effet néfaste à type de formation de tératome ni dysimmunité n'a été retrouvé. De même, un essai similaire vient d'être publié, à Séoul, avec l'inclusion de deux patients DMLA et deux patients Stargardt asiatiques, dont le profil de tolérance a été similaire après un an de suivi.

C'est au Japon que s'est déroulé le premier essai clinique utilisant des cellules souches IPS chez des patients souffrant de DMLA. L'essai semble avoir été interrompu suite à une suspicion d'un développement tumoral à partir des cellules IPS greffées.

#### Les voies de recherche

La transplantation de photorécepteurs est aussi l'objet

Service ophtalmologie, Hôpitaux Civils de Strasbourg

de vastes recherches, encore au stade préclinique. Chez la souris souffrant de cécité nocturne congénitale stationnaire, un gain visuel après transplantation de bâtonnets a été obtenu.

Enfin, des lésions du nerf optique, avec dégénérescence des cellules ganglionnaires, pourraient bénéficier de la sécrétion paracrine de cellules souches mésenchymateuses (issus de la moelle osseuse, des tissus adipeux etc.), dont les facteurs de croissance stimuleraient la régénération de leurs axones, et la stimulation des cellules gliales qui à leur tour favoriserait la croissance neuronale. La non-immunogénicité des cellules souches mésenchymateuses en font des cellules très prometteuses en clinique humaine. À ce jour, aucun essai en ophtalmologie n'a été publié chez l'Homme.

Depuis une dizaine d'année, les recherches sur les cellules souches en ophtalmologie ont fait des avancées considérables. Cependant, le remplacement des cellules rétiniennes malades par des cellules souches reprogrammées ou encore la stabilisation d'un processus dégénératif par un système neuroprotecteur en une injection sont encore des objectifs à atteindre, avec des résultats cliniques très restreints.

## La thérapie génique

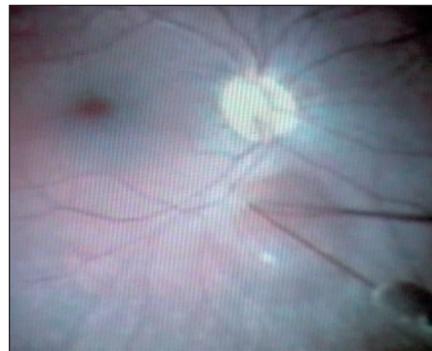
Dans le domaine de la recherche en ophtalmo-génétique, de grands progrès thérapeutiques commencent à voir le jour. La thérapie génique donne un espoir nouveau pour le maintien et la restauration de la fonction visuelle des maladies rétiniennes héréditaires cécitantes.

Le principe théorique est assez simple : lorsque l'anomalie génétique responsable de la maladie rétinienne est connue, il est désormais possible de transférer un gène normal dans la cellule malade. Pour cela, un virus inactivé à qui l'on a intégré le gène d'intérêt est utilisé. Il est appelé vecteur, car il est capable de pénétrer dans la cellule malade et de libérer le gène qu'il transporte. Celui-ci peut alors, grâce à la machinerie cellulaire, s'exprimer et synthétiser la protéine manquante.

### Les essais cliniques

- Les premiers résultats d'essais cliniques concernaient l'amaurose congénitale de Leber. Le gène malade code pour la protéine RPE65, qui est une isomérase exprimée par l'EP et qui est nécessaire dans le cycle visuel, pour le recyclage du 11-cis-retinal. Trois essais cliniques indépendants ont été publiés en 2008 montrant des résultats très prometteurs. Ils ont utilisé des vecteurs dérivés de virus adéno-associés. Cela fait suite aux résultats obtenus sur le modèle du chien briard, qui montraient une amélioration de l'ERG et une amélioration des tests visuels

basés sur le comportement, en situation photopique. Le point clé était le maintien de la restauration visuelle après quatre ans de suivi chez le chien. Le principal problème chez l'humain réside dans la très grande hétérogénéité des mutations du gène RPE65. Les essais cliniques ont montré une amélioration de l'acuité visuelle, de la réponse pupillaire et du champ visuel. Les résultats à trois ans ont confirmé la stabilité, la sécurité et l'efficacité du traitement. La question de l'âge des patients à opérer reste en suspens : il faut considérer qu'il existe probablement une petite fenêtre thérapeutique entre l'âge minimal de faisabilité du traitement et le début d'apparition des lésions atrophiques rétiniennes irréversibles (figure 2).



**Figure 2.** Injection sous-rétinienne du vecteur viral dans l'amaurose congénitale de Leber.

- D'autre part, la **choroïdérémie** fait aussi l'objet d'essais cliniques [3]. C'est une maladie récessive liée à l'X, due à la perte de fonction de REP1 (*Rab escort protein 1*) codée par le gène CHM. C'est le premier essai de thérapie génique visant les photorécepteurs eux-mêmes et dont le but est de ralentir l'évolution lente et dégénérative des photorécepteurs, donc le traitement concerne des patients qui ont encore une acuité presque normale. Les résultats sont très encourageants avec une cohorte de six patients traités par une injection sous-rétinienne de vecteurs dérivés de virus adéno-associés (AAV) contenant le gène CHM. En micropérimétrie, une amélioration fonctionnelle avec une augmentation de la sensibilité rétinienne sont rapportés.

- Dans le domaine de la **DMLA**, le gène sFLT1 fait l'objet d'essais cliniques de phase 1 qui ont montré des résultats de tolérance et sécurité favorables. E. Rakoczy utilise un vecteur dérivé de AAV pour délivrer le gène codant pour *Fms-related tyrosine kinase-1*, un inhibiteur naturel du VEGF [4]. En outre, les résultats de RetinoStat (Oxford BioMedica UK Ltd) ont été montrés à l'ARVO en 2015. Il s'agit du premier essai clinique utilisant un lentivirus recombinant. Il contenait le gène codant pour la sécrétion d'endostatine et d'angiostatine, susceptibles d'inhiber l'angiogenèse. Il s'agit d'un essai de phase 1 incluant 21 patients souffrant de DMLA exsudative

résistante aux anti-VEGF. Ils ont bénéficié d'une injection sous-rétinienne du vecteur lentiviral. À six mois, la tolérance et la sécurité étaient satisfaisantes, et les patients ont montré des signes d'amélioration cliniques (stabilisation de l'acuité visuelle, réduction de l'exsudation).

- Par ailleurs, la société Oxford BioMedica a mis en place les essais StarGen et UshStat, afin de traiter la **maladie de Stargardt** et la rétinite pigmentaire associée au **syndrome de Usher type 1B**. Il s'agit aussi de vecteurs lentiviraux recombinants non humains. L'utilisation du lentivirus est nécessaire lorsque le transgène excède la capacité de transfert d'un autre vecteur viral type adénovirus. Les premiers résultats français de StarGen ont été présentés à l'ARVO 2015 avec une cohorte de 16 patients ayant une maladie de Stargardt avancée, dont le profil de sécurité et tolérance était excellent, après un suivi de 9 à 42 mois, mais sans amélioration fonctionnelle. Les résultats de UshStat concernaient quatre patients ayant une RP avancée avec un profil de sécurité et de tolérance correct.

- Enfin, un essai concernant la **neuropathie optique de Leber** a été publié en 2015 [5]. Il s'agit d'une maladie à transmission mitochondriale, dont la mutation dans le gène ND4 entraîne la dégénérescence des cellules ganglionnaires. Cinq patients aveugles souffrant de neuropathie optique de Leber ont reçu une injection intravitréenne d'un vecteur dérivé de virus adéno-associés contenant le gène ND4, les résultats en termes de tolérance sont favorables, sans encore d'amélioration fonctionnelle.

Ainsi, la thérapie génique, après les résultats si favorables avec RPE65, a vu ses indications s'élargir considérablement et le nombre d'essais cliniques en cours apporte l'espoir d'une future guérison de maladies cécitantes pour lesquelles aucun traitement n'a à ce jour montré d'efficacité.

### L'optogénétique, un nouveau volet de la thérapie génique

Le concept repose sur la possibilité de délivrer des molécules sensibles à la lumière à la rétine malade. Elle concernerait des patients dont la dégénérescence est si avancée que la fenêtre thérapeutique pour remplacer un gène ou apporter des cellules souches est passée. Une molécule sensible à la lumière serait capable de cibler des cellules vivantes non sensibles à la lumière. Certains micro-organismes possèdent des molécules rhodopsin-like, capables d'entraîner un signal électrique en réponse à une stimulation lumineuse. Par une technique utilisant des vecteurs AAV, il est possible de cibler des cellules

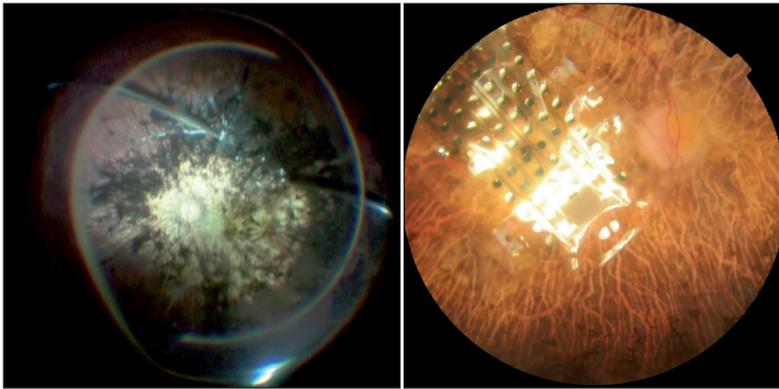
rétiniennes et de leur transférer cette molécule afin de les rendre sensibles à la lumière, et de créer ainsi des nouveaux photorécepteurs. Ces cellules, à l'aide de leurs connexions aux autres cellules neuronales rétiniennes, seraient théoriquement capables de faire passer un signal lumineux via un influx électrique jusqu'au nerf optique. L'optogénétique est à ce jour au stade préclinique.

## Les rétines artificielles

Si l'optogénétique utilise des néophotorécepteurs pour stimuler la rétine, l'industrie a développé des systèmes d'implants rétiniens capables de stimuler la rétine dont les photorécepteurs ont perdu leur fonction, alors que la neurorétine sus-jacente et le nerf optique sont normaux. Ces implants sont actuellement soit épirétiniens, soit sous-rétiniens. Lorsqu'ils sont épirétiniens, ils stimulent directement les cellules ganglionnaires, alors que lorsqu'ils sont sous-rétiniens, ils stimulent d'abord les cellules bipolaires puis la rétine interne. La société SecondSight a développé l'implant Argus II, implanté en épirétinien. La société Pixium a développé l'implant Prima qui est sous-rétinien et l'implant Iris II qui est épirétinien. La société allemande Retina Implant a développé quant à elle un implant sous-rétinien.

### L'Argus II, le plus implanté

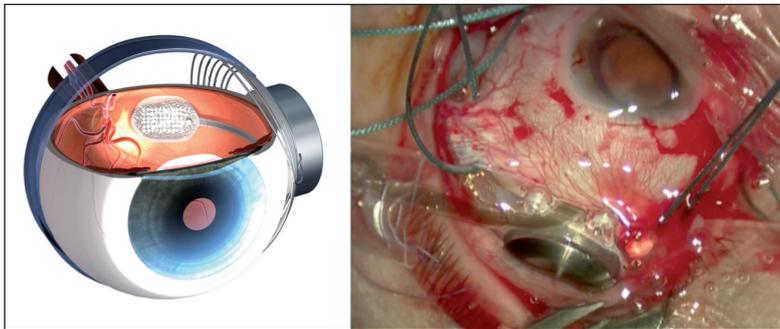
C'est l'implant Argus II qui a été posé au plus grand nombre de patients à travers le monde. En effet, depuis 2002, près de 150 patients ont été implantés. En France, Argus II bénéficie du forfait innovation depuis 2014, ce qui a permis la réalisation d'une étude sur 36 patients (toujours en cours) dans trois centres (CHNO des Quinze-Vingts, CHU de Bordeaux et CHU de Strasbourg). Les patients implantés souffraient d'une rétinite pigmentaire très avancée, en état de cécité légale. Les patients portent des lunettes contenant une caméra qui scanne l'environnement. La caméra est reliée à un processeur que le patient porte à la taille et qui convertit les données visuelles en stimulations. Grâce à un système sans fil, l'implant reçoit les stimulations et peut à son tour stimuler les cellules ganglionnaires. L'implantation se fait par voie de vitrectomie avec mise en place et fixation de la plaque d'électrodes sur la rétine maculaire grâce à un clou (*figure 3*). Un cerclage contenant un capteur est posé sous les muscles et transmet les informations visuelles à l'électrode rétinienne (*figure 4*). Les résultats sont fascinants. Certains aveugles se remettent à lire. Cependant, la perception visuelle du patient implanté est nouvelle et il doit réapprendre à voir et à interpréter des flashes lumineux comme une néovision. Cela est donc très dépendant du patient lui-même et sa rééducation est fondamentale, longue et



**Figure 3.** Vues peropératoires de la pose de la plaque d'électrodes en épirétinien.



**Figure 5.** Certains patients porteurs d'implants rétiniens retrouvent une autonomie pour des activités.



**Figure 4.** L'implant rétinien est relié à un capteur situé en épiscléral.

fastidieuse. Certains retrouvent une grande autonomie visuelle et rares sont ceux qui ne parviennent pas à utiliser du tout le système. La plupart rapportent une amélioration dans la localisation d'objets, l'orientation, la mobilité, la réalisation de tâches domestiques avec leur système (figure 5). Certains patients ont également récupéré une capacité de lecture des grosses lettres.

### Les autres voies de recherche

La société SecondSight a mis au point un autre type d'implant, appelé Orion I, dont le principe est la stimulation visuelle corticale. Il s'adresse donc aux patients aveugles par une autre cause que la dégénérescence rétinienne externe. L'essai clinique n'est pas encore commencé.

Des avancées techniques sont aussi importantes en matière d'optique : la mise au point de lunettes à réalité augmentée permet d'utiliser le champ visuel résiduel du patient et lui permettre de voir ce qui est situé dans son scotome.

### Conclusion

La rétine du futur se révèle pleine d'espoir pour les patients aveugles mais peut-être plus encore pour les patients non aveugles, atteints de maladies cécitantes. Les recherches dans les domaines des cellules souches, de la thérapie génique, des implants rétiniens sont prometteuses, avec de multiples essais cliniques en cours. À l'heure actuelle, seuls des patients très atteints ont été traités. Des résultats fonctionnels ont été rapportés mais ils restent encore modérés au vu des espoirs des patients. Quoiqu'il en soit, nous sommes à l'aube d'une nouvelle ère de traitement où les patients, traités tôt, pourront peut-être stopper ou ralentir l'évolution de leur maladie grâce à la thérapie génique et peut être grâce aux cellules souches. Les rétines artificielles auront certainement une place importante pour des stades plus avancés de cécité.

### Bibliographie

1. Dahlmann-Noor A, Vijay S *et al.* Current approaches and future prospects for stem cell rescue and regeneration of the retina and optic nerve. *Can J Ophthalmol.* 2010;45(4):333-41.
2. Schwartz SD, Regillo CD, Lam BL *et al.* Human embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelium in patients with age-related macular degeneration and Stargardt's macular dystrophy: follow-up of two open-label phase 1/2 studies. *Lancet.* 2015;385(9967):509-16.
3. MacLaren RE, Groppe M, Barnard AR *et al.* Retinal gene therapy in patients with choroideremia: initial findings from a phase 1/2 clinical trial. *Lancet.* 2014;383(9923):1129-37.
4. Rakoczy EP, Lai CM, Magno AL *et al.* Gene therapy with recombinant adeno-associated vectors for neovascular age-related macular degeneration: 1 year follow-up of a phase 1 randomised clinical trial. *Lancet.* 2015;386(10011):2395-403.
5. Feuer WJ, Schiffman JC, Davis JL *et al.* Gene therapy for Leber hereditary optic neuropathy: initial results. *Ophthalmology.* 2016;123(3):558-70.