Dans le cadre de sa mission d'information sur les maladies de la vue et des progrès de la recherche médicale en Ophtalmologie, l'**association Rétina France** organise chaque année le
colloque « Vision et Recherche »
qui permet de présenter les nouveautés en matière de
recherche médicale en ophtalmologie
et de traitements validés
par les autorités de Santé. C'est ainsi que les années écoulées ont permis de présenter les travaux novateurs en matière de thérapie intra oculaire pour stopper la forme humide (15% des cas) de la DMLA, dégénérescence maculaire liée à l'âge. Cette affection touche gravement 600 000 personnes en France et la thérapie a permis à ce jour de préserver la vision de 90 000 patients.

Samedi 26 novembre 2011 à Paris, le colloque « Vision et Recherche » dans le cadre de la journée de sensibilisation aux maladies de la rétine, a accueilli près de 300 personnes, grand public et professionnels souhaitant s'informer sur les dystrophies rétiniennes et les innovations thérapeutiques.

Tout au long de la journée, des spécialistes de haut niveau sont intervenus pour présenter les dernières avancées de la recherche médicale en ophtalmologie sur les dystrophies rétiniennes et ont répondu à toutes les questions du public présent.

Focus sur travaux novateurs présentés lors du colloque « Vision et Recherche » du 26

novembre 2011
- Présentation de la voie porteuse de la micro encapsulation qui permettra demain de délivrer le médicament directement dans l'oeil par diffusion interne.
- Présentation des axes majeurs de recherche de demain sur :
o la thérapie génique dont les premiers essais sur l'homme viennent d'être lancés récemment au CHU de Nantes sous la direction du Professeur Michel Weber,
o la thérapie moléculaire avec l'EPO dont le protocole a lieu à l'APHP de Paris au sein du service du Professeur Jean Louis Dufier à Necker Enfants Malades,
o de la rétine artificielle avec les premiers travaux menés avec l'Institut de la Vision de Paris
o les espoirs liés aux greffes de cellules
o le formidable projet 100 exomes présenté par les Docteurs Dollfus et Rozet.

Pour aller plus loin…Résumé vulgarisé des projets présentés lors du colloque
« Vision et Recherche » du 26 novembre 2011
· La restauration de la vision chez le primate par transfection virale de la mélanopsine humaine par le Docteur Howard M Cooper - INSERM 846 – Cellule Souche et Cerveau - 18 avenue du Doyen Lépine à Bron (69)
Résumé du projet : La perte des photorécepteurs, cônes et bâtonnets, provoquée par les pathologies rétiniennes dégénératives (rétinite pigmentaire, dégénérescences congénitales, DMLA, rétinopathie diabétique, etc.) prive le cerveau de l'information visuelle et conduit à une malvoyance ou une cécité irréversible. L'équipe du Dr H.Cooper propose d'utiliser une approche de thérapie génique afin de transformer des cellules conservées dans la rétine et normalement dépourvues de photosensibilité, en photorécepteurs sensibles à la lumière. La mélanopsine, découverte dans la rétine il y a moins de 10 ans, est un photopigment d'origine ancien, plus proche des photorécepteurs de la mouche et du calamar que des cônes et des bâtonnets. Quand ce photopigment est introduit dans une cellule quelconque (un fibroblaste de la peau ou du foie, ou dans une cellule souche) la cellule devient immédiatement sensible à la lumière et fonctionne comme un photodétecteur autonome. L'objectif de ces travaux est d'utiliser la thérapie génique pour exprimer la mélanopsine dans les cellules ganglionnaires intactes d'une rétine privée de cônes et de bâtonnets afin de leur permettre de synthétiser la mélanopsine et de restaurer la vision. L'utilisation des vecteurs viraux est actuellement approuvée pour la thérapie génique chez l'homme, en particulier pour les pathologies oculaires, et de nombreux essais cliniques sont actuellement en cours pour traiter d'autres pathologies. Si les objectifs sont atteints, l'éventualité d'une thérapie des pathologies rétiniennes dégénératives par une simple injection pour réparer la vision défaillante n'est pas inconcevable · Thérapie génique de dystrophies rétiniennes sur modèles humains issus de la différenciation de cellules iPS de patients en cellules rétiniennes par le Docteur Vasiliki Kalatzis - Institut des Neurosciences de Montpellier - Inserm U1051 - Hôpital Saint-Eloi - 80 avenue Augustin Fliche à MONTPELLIER (34) Résumé du projet : Le Dr. V.Kalatzis propose de créer des modèles humains in vitro pour des dystrophies rétiniennes afin d'effectuer des essais de thérapie génique. Dans ce but, des cellules souches humaines qui ont la capacité de se différencier en n'importe quel tissu du corps (dites «pluripotentes») seront utilisées. Jusqu'à présent l'origine principale des cellules pluripotentes était l'embryon.

Actuellement, une toute récente technologie permet de prendre des cellules adultes déjà différenciées et de les induire en cellules souches pluripotentes (iPS).
Ceci se fait à partir de cellules de la peau (dites «fibroblastes») provenant de préférence d'un jeune donneur, avant l'âge adulte.

Une biopsie de peau (impliquant une petite incision sur le bras) est effectuée sous anesthésie locale, puis l'explant est mis en culture. Dans un premier temps, des facteurs de transcription spécifiques sont ajoutés permettant ensuite aux cellules de perdre leur identité de fibroblastes et de devenir des cellules iPS qui pourront être conservées indéfiniment. Dans un deuxième temps, différents facteurs de transcription sont ajoutés aux cellules iPS qui conduiront à leur différenciation en cellules rétiniennes (cellules de l'épithélium pigmentaire ou photorécepteurs). En utilisant des fibroblastes de patients porteurs d'une mutation dans un gène responsable d'une dystrophie rétinienne (telle que la choroïdérémie ou la rétinite ponctuée albescente), le Dr. V.Kalatzis aura à sa portée un modèle humain in vitro de cette maladie. Ce modèle pourra ensuite être utilisé pour des études de thérapie génique: des vecteurs viraux contenant une copie sauvage du gène en cause seront créés et seront utilisés pour l'introduire dans les cellules. De cette façon, l'effet de ce gène dans des cellules rétiniennes humaines qui sont spécifiquement touchées par la maladie pourra être évalué. Cette étude représente une étape préalable aux essais cliniques.

· Régulation de la voie Wnt/ı-caténine par ICAT (inhibiteur de β-caténine et TCF) au cours du développement oculaire par le Docteur Simon Saule - Institut Curie UMR3347 CNRS - U1021 INSERM - Université
Paris-Sud 11 - Centre Universitaire à ORSAY (91)
Résumé du projet : Les facteurs de transcription (c'est à dire les protéines qui règlent l'expression de gènes cibles), sont essentiels pour que les cellules de la rétine acquièrent leur identité. Parmi ces protéines, Mitf
(microphthalmia, ainsi nommé, car les souris mutantes pour ce gène ont des petits yeux) est essentiel pour que la rétine pigmentaire se développe. Le gène Mitf code plusieurs protéines différant dans leur premier tiers, mais l'influence de ces différentes formes sur la fonction de la rétine n'est toujours pas connue. Parmi les facteurs contrôlant l'expression du gène Mitf, la voie de signalisation dépendante de la beta-caténine, une protéine d'adhésion qui a également une activité transcriptionnelle quand elle migre dans le noyau, s'est révélée très importante dans plusieurs organes. La fabrication de souris déficientes dans cette voie de régulation montre que l'activation de cette voie (par l'invalidation d'un régulateur négatif) affecte le développement des yeux (souris microphthalmiques/anophthalmiques). Ce projet de recherche a pour but de comprendre les mécanismes responsables de ces anomalies oculaires.

À terme, ces recherches pourraient contribuer à comprendre certains phénomènes de cancérisation et de différenciations neuronales. On peut espérer trouver, parmi les gènes contrôlés par Mitf et beta-caténine des cibles spécifiques permettant de remédier à certains types de dégénérescence rétinienne en contrôlant la prolifération et la différenciation des cellules de la rétine.

· Le point sur le projet 100 exomes financé par Rétina France par les Docteurs Hélène Dollfus et Jean-Michel Rozet

Le 25 janvier 2011, les 5 centres de Références pour les Maladies Rares en ophtalmologie se sont fédérées en Association dite « FENGENOPH » afin d'unir les forces vives et les moyens pour lutter contre les maladies génétiques responsables de malvoyance imputable à diverses altérations de la rétine.

Une des 1ères actions de cette Fédération est l'accélération du décryptage génétique des dystrophies rétiniennes et des neuropathies optiques héréditaires. Le démembrement génétique de ces affections laissés pour compte est une nécessité urgente et incontournable, eu égard au développement actuel, en progression constante et exponentielle, des protocoles thérapeutiques visant à traiter les patients avides de tels essais.
Dans nos pays industrialisés, les familles ont une taille modeste et les larges fratries sont peu nombreuses, aboutissant au recensement fréquent de patients isolés sans antécédent, sans consanguinité parentale.

Dans un contexte d'extrême hétérogénéité génétique, c'est-à-dire mobilisant l'implication de nombreux modes de transmission et la responsabilité de plusieurs dizaines de gènes, il est très difficile de statuer sur le risque de récurrence de la maladie d'une part, entravant le conseil génétique, et l'orientation vers un de ces nombreux gènes d'autre part.

Récemment une nouvelle méthode d'analyse de l'ensemble du génome a été développée sous le vocable « exome complet ». Il s'agit d'étudier en une seule fois, base par base, les milliers de gènes constituant
notre patrimoine génétique, à la recherche de la « petite faute de l'orthographe moléculaire » responsable de la maladie génétique non encore résolue.

Cette méthode rapide et révolutionnaire a déjà prouvé son efficacité pour de très nombreux handicaps génétiques, essentiellement Outre-Atlantique où les moyens financiers sont très élevés.
Le 25 janvier 2011, la Fédération réunie à Strasbourg en la présence de Monsieur Serge Le Picard, viceprésident de l'association Rétina France, a auditionné 2 compagnies offrant ce type d'analyse et acceptant le projet « 100 exomes » défini par la Fédération. Ce projet vise à identifier les mutations responsables de pathologies rétiniennes de patients recensés par chacun des 5 centres afin de ne privilégier aucune maladie aux dépens d'une autre.20 échantillons d'ADN par centre vont ainsi être sélectionnés pour bénéficier d'un exome complet. La sélection de ces ADN a tiré avantage de familles exceptionnelles, de grande taille, avec plusieurs individus atteints, avec ou sans consanguinité, ayant déjà bénéficié d'un décryptage génétique artisanal ayant permis d'exclure toutes les causes connues de la maladie.

L'objectif final est bien entendu que le résultat positif de ces grandes familles permette de retourner aux petites familles à un seul patient qui sont très difficiles à étudier indépendamment.

Il est important qu'une telle étude se fasse immédiatement en France car :
- Toutes les découvertes de gènes font désormais l'objet d'un dépôt de brevet. Si le brevet est accepté, tout usage du gène breveté sera soumis à l'approbation et à la vente du brevet. Rien ne permet de dire si la transaction sera possible, c'est – à dire si l'étude du gène sera accessible pour les patients si ce type d'analyse est réalisé par d'autres
- Il est reconnu actuellement pour toutes les altérations génétiques une importante variabilité selon le spopulations étudiées. Un gène fréquemment impliqué dans un pays peut l'être très rarement dans un autre, d'où l'intérêt de s'occuper sur place des patients.
- La France a acquis au fil des années une place au premier rang de la compétition internationale grâce au savoirfaire des chercheurs et ophtalmologistes, à la confiance des patients et à la volonté et l'aide constante de l'association.
· Nouvelle approche pharmacologique pour le traitement de dystrophies maculaires basée sur l'inhibition de la synthèse d'A2E par le Docteur Philippe Brabet - Institut des Neurosciences de Montpellier - Inserm
U1051 - 80 rue Augustin Fliche à MONTPELLIER (34)

Résumé du projet : La maladie de Stargardt est une pathologie qui présente un mécanisme cytotoxique complexe, avec de multiples médiateurs, c'est pourquoi il est indispensable d'envisager une prise en charge globale. Aucun traitement n'est actuellement disponible. A côté d'une hygiène de vie recommandée, un régime adapté à la physiopathologie pourrait être mis au point afin de diminuer le risque de dégénération, avec l'utilisation d'antioxydants, de caroténoïdes (pour les personnes ayant des carences), de DHA, ou encore de stimulants des

mécanismes enzymatiques responsables de la détoxification. Ceci a déjà été mis au point afin de diminuer les risques d'apparition d'une DMLA (étude AREDS) avec des résultats encourageants. Bien que ces molécules permettent la diminution de la formation des sous produits de l'A2E et/ou des effets délétères qu'ils produisent, le mécanisme de sa synthèse n'est pas ralenti, il continue donc à s'accumuler dans l'EPR, entrainant des dommages cellulaires. Cette méthode de protection ne peut donc intervenir qu'en complément d'une méthode d'inhibition efficace.

L'équipe du Dr. P.Brabet a découvert pour la première fois qu'une molécule déjà présente sur le marché bloque la synthèse d'un mime de l'A2E. L'objectif : faire la preuve de principe de sa capacité à bloquer ou fortement inhiber la synthèse d'A2E in vivo et tirer partie de cet effet inhibiteur sans toxicité secondaire pour concevoir d'autres molécules dérivées avec une puissance et une biodisponibilité supérieure. Dans un avenir proche, l'équipe du Dr P.Brabet espère développer de nouvelles molécules très sélectives pour s'attaquer au problème de fond des dystrophies maculaires.

· Le point sur l'essai français par thérapie génique du gène RPE65 dans l'amaurose congénitale de Leber par les Docteurs Christine Chaveau et Fabienne Rolling - INSERM U 649 - Institut de Recherches Thérapeutiques IRT1 - Université de Nantes

Résumé du projet Les dystrophies rétiniennes peuvent être acquises (dégénérescence maculaire liée à l'âge ou rétinopathies diabétiques) ou congénitales (rétinites pigmentaires). Les rétinites pigmentaires correspondent à un groupe hétérogène de pathologies rétiniennes d'origine génétique qui se caractérisent par une dégénérescence progressive des photorécepteurs rétiniens aboutissant à la cécité. Actuellement, il n'existe pas de thérapeutiques efficaces pour traiter ces dégénérescences rétiniennes et la thérapie génique fait partie des orientations thérapeutiques potentielles. L'accessibilité de l'oeil, la possibilité d'administrer un vecteur localement, ainsi que la possibilité de suivre l'expression du transgène et les effets des traitements par des examens non invasifs, en font un candidat idéal pour la thérapie génique. Les résultats déjà obtenus montrent que l'injection sous-rétinienne d'un vecteur dérivé de l'AAV4 codant pour la molécule RPE65 humaine permet de restaurer la vision dans un modèle de chien Briard RPE65-/-. Ces travaux ont conduit à la mise en place d'un essai clinique pour lequel les premiers patients devraient être traités en 2010.

L'un des principaux obstacles à la thérapie génique reste l'existence de réponses immunitaires contre les cellules génétiquement modifiées et contre les vecteurs viraux. L'oeil, de par son statut immunoprivilégié, semble relativement protégé. Malgré cela, il est essentiel, dans les perspectives cliniques qui sont les nôtres, d'évaluer l'importance de la réponse immune lors de la thérapie génique par injection sous-rétinienne d'AAV2/4.hrpe65. Il est essentiel de réaliser

cette étude dans un contexte thérapeutique proche de celui des patients. C'est pourquoi, l'équipe de chercheurs a choisi d'utiliser le modèle de chiens briards RPE65-/- qui permet bien sûr d'analyser les phénomènes immunitaires mais aussi, d'évaluer leur(s) impact(s) sur l'efficacité thérapeutique du traitement.

Les travaux réalisés ces deux dernières années ont permis de :
· mettre en place les outils permettant la détection de réponses immunes humorales et cellulaires anti-RPE65 et anti-AAV4 chez le chien,
· montrer que la présence d'un taux élevé d'anticorps anti-AAV4 dans le sérum de l'animal traité ne bloque pas l'efficacité du traitement par thérapie génique par injection sous-rétinienne dans le modèle de chien
briard RPE65-/-.
· démontrer que l'injection sous-rétinienne d'AAV2/4 chez le chien n'engendre pas systématiquement la production d'anticorps anti-AAV4.
· montrer qu'il est possible de traiter les deux yeux d'un chien RPE65-/- par injection sous-rétinienne d'AAV2/4.hrpe65.
Cette troisième année a pour but de finaliser l'ensemble des analyses en cours et de répondre à la dernière question du projet : quel est l'impact d'une immunisation sur une expression établie de transgène suite au
traitement sous-rétinien par l'AAV2/4 .hrpe65 ?

L'ensemble de cette étude a pour but de fournir des éléments déterminants pour l'évolution du traitement par thérapie génique des patients atteints d'amaurose de Leber ; que ce soit au niveau de la possibilité de
traiter les deux yeux d'un patient, au niveau de la possibilité de traiter des patients présentant une immunisation préalable contre l'AAV4 sauvage ou enfin sur la stabilité à long-terme de la restauration de la vision chez les patients traités.
· Caractérisation fonctionnelle des mutants de TRPM1 impliqués en pathophysiologie par le Docteur Christina Zeitz - Institut de la Vision - Département de Génétique - Equipe A-Z - 17 rue Moreau à PARIS

Résumé du projet : Même si les premières étapes de transduction du signal visuel, connues sous le terme de cascade de la phototransduction, sont maintenant mieux connues, la transmission du signal des photorécepteurs vers leurs neurones post-synaptiques reste à mieux caractériser. Une meilleure connaissance de la cascade de la phototransduction a été obtenue par l'étude de pathologies rétiniennes comme l'amaurose congénitale de Leber, dans lesquelles, les acteurs de cette cascade sont mutés. De la même façon, une meilleure connaissance de la cascade de photorécepteurs vers leurs neurones post-synaptiques peut

être obtenue par l'étude de gènes impliqués dans la cécité nocturne congénitale stationnaire (CNCS). Il s'agit d'un groupe de pathologies caractérisées par des troubles de vision nocturne ou à une atteinte plus marquée, qui peut parfois conduire à une dystrophie des cônes. Malgré l'identification de nombreux gènes impliqués dans la CNCS, leur rôle physiopathologique reste mal caractérisé. C'est aussi le cas pour TRPM1 une protéine récemment identifiée. Des études sur un modèle de cheval suggèrent que TRPM1, en plus de son rôle dans la rétine, serait impliqué dans la pigmentation cutanée. En outre, certains patients de notre cohorte porteurs de mutations sur TRPM1, présentent des problèmes cardiaques précoces.

Pour ces raisons, l'équipe du Dr.C.Zeitz propose une étude systématique du rôle de TRPM1 avec une corrélation génotype/phénotype précise des patients (rétine, peau, coeur), une analyse fonctionnelle de la protéine native et des mutants de TRPM1, mais aussi d'élucider le rôle de TRPM1 dans la peau, à partir des biopsies de peau de patients volontaires, ainsi que dans le développement cardiaque par l'étude systématique d'embryons de souris normales ou des modèles murins de mutants de Trpm1 pour mieux comprendre les différentes rôles de TRPM1 dans la physiopathologie.