

Des mutations de gènes contrôlant le métabolisme des rétinoïdes 11-cis responsables de dystrophies rétinienne sévères

Les pigments visuels des photorécepteurs des vertébrés sont constitués par l'association d'une apoprotéine (rhodopsine des bâtonnets et différentes opsines des cônes) avec un chromophore unique, le rétinol 11-*cis*. Celui-ci est lié à la lysine²⁹⁶ de l'opsine par une base de Schiff protonée. La lumière stimule le photorécepteur en provoquant l'isomérisation du rétinol 11-*cis* en rétinol *tout-trans*, ce qui induit des modifications de conformation de la molécule de rhodopsine, aboutissant en moins d'une milliseconde à sa forme activée, la métarhodopsine II. Cette dernière provoque alors la cascade phototransductionnelle conduisant à l'hyperpolarisation du bâtonnet et à la dépolarisation des neurones de second ordre.

Le cycle visuel des rétinoïdes

Le rétinol 11-*cis* est un dérivé de la vitamine A (rétinol *tout-trans* provenant de l'alimentation) qui n'est rencontré que dans la rétine. Contrairement aux opsines, le rétinol 11-*cis* n'est pas synthétisé dans le photorécepteur mais dans l'épithélium pigmentaire de la rétine (EPR), une couche monocellulaire au contact des segments externes des photorécepteurs. Le processus qui permet la synthèse du rétinol 11-*cis* et la régénération des pigments visuels après stimulation lumineuse est connu sous le nom de cycle visuel (*figure 1*). Il débute par la libération, à partir de la rhodopsine activée, du rétinol *tout-trans* qui est ensuite réduit en rétinol *tout-trans*. Ce dernier quitte alors le

photorécepteur et rejoint l'EPR dans lequel il est isomérisé en rétinol 11-*cis*, puis oxydé en rétinol 11-*cis*, et retourne finalement au photorécepteur où il peut de nouveau se lier aux opsines.

Une des caractéristiques de ce cycle visuel est l'originalité du processus d'isomérisation en rétinol 11-*cis*, qui s'effectue à partir non pas du rétinol *tout-trans*, mais de sa forme estérifiée en palmitate ou stéarate de rétinol. Cet ester de rétinol est produit par transfert d'une chaîne acylée en position 1 de la phosphatidyl choline membranaire, sous le contrôle d'une transférase (LRAT pour lécithine rétinol acyltransférase). Ensuite, l'ester de rétinol est isomérisé en même temps qu'il perd sa chaîne acylée par hydrolyse de la liaison ester, pour aboutir au rétinol 11-*cis*. Cette double réaction se produirait sous le contrôle d'une isomérase possédant les deux propriétés d'hydrolyse et d'isomérisation. L'estérification préalable du rétinol suivie rapidement de l'hydrolyse de la liaison ester peuvent paraître paradoxales. L'hypothèse avancée par Rando [1] pour expliquer ce phénomène serait que l'hydrolyse de la liaison ester qui produit 5kcal/mol fournirait l'énergie nécessaire à l'isomérisation (4kcal/mol). Selon ce schéma, les phospholipides membranaires serviraient ainsi de source d'énergie pour l'isomérisation, source que l'on peut considérer comme phylogénétiquement ancienne par rapport à l'ATP plus mobile. Il est à noter que l'ester de rétinol *tout-trans*, comme l'ester de

rétinol 11-*cis* qui peut être produit après l'isomérisation, constituent les formes de stockage du rétinol dans l'EPR. L'oxydation qui suit l'isomérisation est facilitée par une déshydrogénase spécifique de la forme 11-*cis* [2], ce qui la distingue de la déshydrogénase des photorécepteurs qui assure la réduction de la forme *tout-trans*. Les trois enzymes, LRAT, isomérase et déshydrogénase 11-*cis*, appartiennent à un complexe protéique du réticulum endoplasmique de l'EPR. La LRAT de l'EPR pourrait être identique à celle rencontrée dans la muqueuse intestinale tandis que l'isomérase et la déshydrogénase 11-*cis* paraissent spécifiques de l'EPR. Les rétinoïdes, composés liposolubles, sont véhiculés dans la cellule par des protéines de transport. Les rétinoïdes *tout-trans* sont transportés par une protéine ubiquitaire, la CRBP (*cellular retinol binding protein*) tandis que les rétinoïdes 11-*cis* le sont par la CRALBP (*cellular retinaldehyde binding protein*), présente dans l'EPR, les cellules de Müller (cellules gliales de la rétine) et le cerveau. Le va-et-vient du rétinol entre photorécepteurs et EPR est facilité par une troisième protéine appartenant à la matrice interphotoréceptrice, l'IRBP (*interstitial retinol binding protein*).

Rétinoïdes et dystrophies rétinienne

Les effets du déficit alimentaire en vitamine A sur l'œil humain sont connus de longue date [3]. Ils se traduisent par une xérophtalmie (kératinisation et perte de transparence

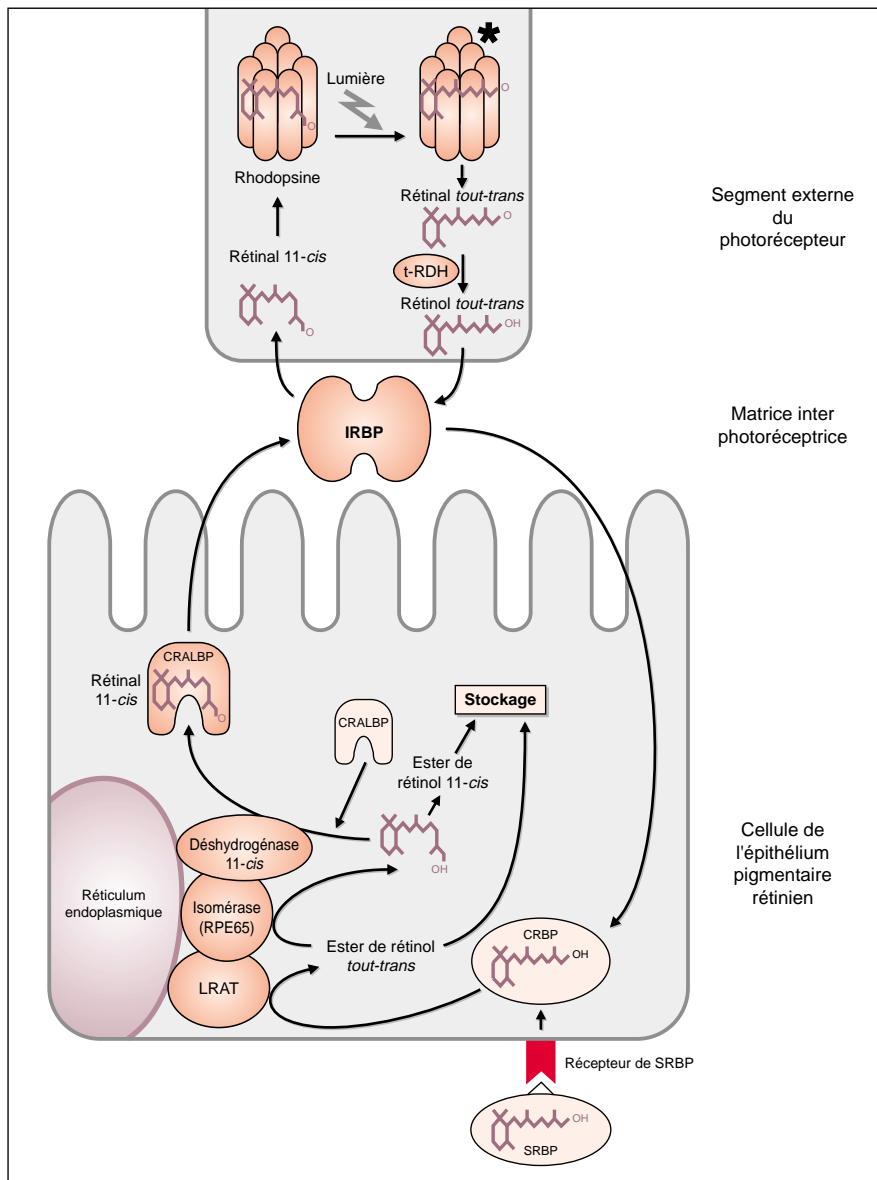


Figure 1. **Cycle des rétinoïdes.** La rhodopsine des bâtonnets est obtenue par la liaison d'une molécule d'opsine avec une molécule de rétinol 11-cis. L'absorption d'un photon entraîne l'isomérisation du rétinol 11-cis en tout-trans, ce qui conduit à l'activation de la rhodopsine (marquée d'un astérisque). Le rétinol tout-trans est ensuite libéré de l'opsine puis réduit en rétinol tout-trans par la déshydrogénase du rétinol tout-trans (t-RDH: tout-trans-rétinol déshydrogénase). Ce dernier, quittant le segment externe du bâtonnet est véhiculé par la protéine transporteuse du rétinol de la matrice interphotoréceptrice (IRBP: interstitial retinol binding protein) et pénètre dans la cellule de l'épithélium pigmentaire rétinien dans laquelle il est pris en charge par la protéine cellulaire transporteuse de rétinol tout-trans (CRBP: cellular retinol binding protein). La réisomérisation en rétinol 11-cis passe par l'estérification préalable du rétinol tout-trans, transfert d'une chaîne acylée provenant de la phosphatidyl choline relayé par une transférase (LRAT: lécithine rétinol acyl transférase). L'ester de rétinol tout-trans est ensuite hydrolysé et isomérisé par une isomérase (qui correspondrait à RPE65) en rétinol 11-cis. Ce stéréoisomère peut à son tour être estérifié et stocké, comme l'ester de rétinol tout-trans. En présence de la protéine transporteuse des rétinoïdes 11-cis (CRALBP: cellular retinaldehyde binding protein), il est oxydé en rétinol 11-cis par la déshydrogénase du rétinol 11-cis, puis retourne au photorécepteur pour régénérer le pigment visuel. Le rétinol tout-trans sérique (vitamine A) transporté par la protéine transporteuse de rétinol du sérum (SRBP: serum retinol binding protein) peut entrer dans le cycle visuel après liaison à un récepteur de la SRBP. Les mutations de RPE65 (codant pour l'isomérase) et de RLBP1 (codant pour la CRALBP) s'accompagnent probablement d'une baisse des concentrations de rétinol 11-cis, avec pour conséquence une déplétion en pigment visuel et une insensibilité des photorécepteurs à la lumière.

cornéenne), une sécheresse oculaire et une héméralopie (incapacité à voir dans la pénombre), laquelle est en rapport avec un dysfonctionnement des bâtonnets. Une carence prolongée entraîne une perte irréversible des photorécepteurs pouvant conduire à la cécité. Un tableau semblable de dégénérescence des photorécepteurs se produit en cas d'anomalie génétique du métabolisme oculaire de la vitamine A comme cela vient d'être démontré avec la découverte récente de mutations des gènes *RLBP1* (codant pour la CRALBP) et *RPE65* (codant probablement pour

l'isomérase) responsables de dystrophie rétinienne sévère [4-6]. Cette affection se traduit par une acuité visuelle basse et un champ visuel restreint dès les premières années de la vie, en rapport avec une atteinte des cônes et des bâtonnets, de petites tâches blanchâtres au fond d'œil et la progression rapide vers une cécité entre 20 et 30 ans. Elle se distingue de la rétinite pigmentaire typique, forme la plus commune de dystrophie rétinienne, causée par des mutations de gènes exprimés dans les bâtonnets mais non dans les cônes et se traduisant par une progression

plus lente. Il est cependant intéressant de noter, dans le cas de *RPE65*, des variations de la sévérité de l'affection selon le type de mutations [7]. Les formes les plus graves, liées à des mutations non-sens présumées nulles, évoquent l'amaurose congénitale de Leber (vision très basse dès la naissance avec électrorétinogramme plat). Les formes moins sévères, liées à des mutations faux-sens correspondant à une dystrophie diffuse évoluant sur plusieurs dizaines d'années. Ainsi le déficit visuel paraît dépendre de la présence ou non, et de l'activité de *RPE65*. Dans tous les cas de mutations de *RPE65* et de *RLBPI*, la transmission est récessive autosomique, indiquant un probable mécanisme pathogénique par perte de fonction.

Hypothèses physiopathologiques

Bien que la fonction de *RPE65* ne soit pas encore clairement établie [8, 9] plusieurs éléments, dont la diminution de la production de rétinol 11-*cis* par un extrait d'EPR en présence d'anticorps anti-*RPE65* *in vitro* [10], suggèrent que cette protéine correspondrait bien à l'isomérase du rétinol. On peut alors supposer qu'en cas de mutations de *RPE65*, le déficit en isomérase se traduise par des concentrations de rétinol 11-*cis* très faibles, d'où une quasi-absence de pigment visuel photosensible, avec pour conséquence un état de vision équivalent pour la rétine à l'obscurité. Dans le cas de mutations de *RLBPI*, il a été montré que la CRALBP ne lie plus le rétinol 11-*cis*, d'où la diminution importante de son oxydation en rétinol (la CRALBP favorise cette réaction) et l'instabilité de ce composé [4], qui pourraient aboutir là aussi à un apport très diminué en rétinol 11-*cis*.

Ces hypothèses sur l'origine du déficit visuel n'expliquent cependant pas la dégénérescence des photorécepteurs. Il est possible que l'opsine, en l'absence de son ligand le rétinol 11-*cis*, adopte un repliement anormal, entraînant un effet délétère sur le photorécepteur. Ce mécanisme a déjà été évoqué dans les dégénérescences par carence en vitamine A. Plus généralement, les causes de cette dégénérescence rejoindraient celles

des mutants de plusieurs gènes des photorécepteurs [rhodopsine (*m/s* n° 1, vol. 8, p. 82), sous-unités α (*m/s* n° 5, vol. 11, p. 655) et β de la phosphodiesterase (*m/s* n° 8-9, vol. 9, p. 1005)] ayant pour conséquence une hyporégulation de la cascade phototransductionnelle se soldant par leur dépolarisation permanente et profonde et conduisant à leur dégénérescence. La gravité de la dystrophie liée à *RPE65* et à *RLBPI* serait ainsi plus en rapport avec l'atteinte conjointe des cônes et des bâtonnets qu'avec un mécanisme de dégénérescence particulièrement agressif.

Les mutations de *RPE65* et de *RLBPI* viennent s'ajouter à la liste sans cesse croissante (plus d'une quinzaine) de gènes responsables de dystrophie rétinienne. Cependant, au contraire de la plupart de ces derniers, ils ne sont pas exprimés dans les photorécepteurs mais, dans le cas de *RPE65*, uniquement dans l'EPR, soulignant l'étroite interdépendance fonctionnelle de l'EPR et des photorécepteurs. Suivant les hypothèses physiopathologiques évoquées plus haut, le traitement rationnel du déficit visuel des dystrophies rétiniennes dues à des mutations de *RPE65* consisterait à restituer l'apport de rétinol 11-*cis* dans les photorécepteurs, avec deux objectifs : d'une part, améliorer la qualité de la vision en augmentant le nombre de molécules de photopigment fonctionnel et, d'autre part, ralentir, voire bloquer le processus dégénératif.

Perspectives thérapeutiques

Trois approches méritent d'être examinées. L'idéal serait d'apporter une ou deux copies de l'ADNc directement aux cellules de l'EPR du patient. Bien qu'il s'agisse de la voie la plus prometteuse par le caractère définitif des résultats qu'on peut en attendre, le vecteur permettant une expression permanente, réglée et sûre n'est pas immédiatement disponible [11]. Une perspective plus simple serait de greffer de l'EPR dans l'espace sous-rétinien des patients. Des essais cliniques de transplantation d'EPR ont déjà été tentés dans d'autres maladies rétiniennes [12]. Ils se heurtent

à l'immunogénicité de l'EPR et à sa potentialité d'induire, du fait de ses propriétés métaplasiques, une rétinovitréopathie proliférative. En outre, ces deux approches nécessitant un abord chirurgical impliquent une certaine obligation de résultats, des essais itératifs n'étant pas envisageables sans craindre de détériorer définitivement ces rétines déjà très peu fonctionnelles. Une troisième possibilité serait d'apporter du rétinol 11-*cis* dans le cadre d'une vitaminothérapie, sachant que le problème de la stabilité et de la voie d'administration de ce composé se pose. Cette solution, si elle était possible, serait certes non définitive et sans doute insuffisante, mais elle permettrait peut-être de gagner un peu de temps sur l'évolution sinon inéluctable vers la cécité, en attendant qu'un traitement plus efficace soit au point ■

RÉFÉRENCES

1. Rando RR. Membrane phospholipids as an energy source in the operation of the visual cycle. *Biochemistry* 1991; 30 : 595-602.
2. Simon A, Hellman U, Wernstedt C, Eriksson U. The retinal pigment epithelial-specific 11-*cis* retinol dehydrogenase belongs to the family of short chain alcohol dehydrogenases. *J Biol Chem* 1995; 270 : 1107-12.
3. Fells P, Bors F. Ocular complications of self-induced vitamin A deficiency. *Trans Ophthalmol Soc UK* 1968; 89 : 221-8.
4. Maw MA, Kennedy B, Knight A, Bridges R, Roth KE, Mani EJ, Mukkadan JK, Nancarrow D, Crabb JW, Denton MJ. Mutation of the gene encoding cellular retinaldehyde-binding protein in autosomal recessive retinitis pigmentosa. *Nat Genet* 1997; 17 : 198-200.
5. Marlhens F, Bareil C, Griffoin JM, Zrenner E, Almaric P, Eliaou C, Liu SY, Harris E, Redmond TM, Arnaud B, Claustres M, Hamel CP. Mutations in the gene for the retinal pigment epithelium-specific protein *RPE65* cause Leber's congenital amaurosis. *Nat Genet* 1997; 17 : 139-41.
6. Gu SM, Thompson DA, Srisailapathy Sri-kumari CR, Lorenz B, Finckh U, Nicoletti A, Murthy KR, Rathmann M, Kumaramanic-kavel G, Denton MJ, Gal A. Mutations in *RPE65* cause autosomal recessive childhood-onset severe retinal dystrophy. *Nat Genet* 1997; 17 : 194-7.
7. Marlhens F, Griffoin JM, Bareil C, Arnaud B, Claustres M, Hamel CP. Autosomal recessive retinal dystrophy associated with two novel mutations in the *RPE65* gene. *Eur J Hum Genet* 1998 (sous presse).

8. Hamel CP, Tsilou E, Pfeffer BA, Hooks JJ, Detrick B, Redmond TM. A developmentally regulated microsomal protein specific for the pigment epithelium of the vertebrate retina. *J Neurosci Res* 1993; 34: 414-25.

9. Hamel CP, Tsilou E, Pfeffer BA, Hooks JJ, Detrick B, Redmond TM. Molecular cloning and expression of RPE65, a novel retinal pigment epithelium-specific microsomal protein that is post-transcriptionally regulated *in vitro*. *J Biol Chem* 1993; 268: 15751-7.

10. Crouch RK, Goletz P, Yu S, Redmond TM. A possible role for RPE65 in retinoid processing. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997; 38: S304.

11. Ribeauveau F, Abitbol M, Finiels F, Roustan P, Revah F, Dufier JL, Mallet J. *In vivo* adenovirus-mediated gene transfer to newborn rat retinal pigment epithelial cells. *CR Acad Sci Paris* 1997; 320: 523-32.

12. Algvere PV, Berglin L, Gouras P, Sheng Y, Kopp ED. Transplantation of RPE in age-related macular degeneration: observations in disciform lesions and dry RPE atrophy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1997; 253: 149-58.

TIRÉS À PART

C.P. Hamel.

Christiane P. Hamel

Chargé de recherche à l'Inserm.

Françoise Marlhens

Chercheur post-doctoral à l'Inserm.

*Inserm U. 254, Hôpital Saint-Charles,
300, rue Auguste-Broussonnet, 34295
Montpellier Cedex 05.*

