

DE LA GÉNÉTIQUE DE LA VISION CHEZ LA DROSOPHILE À LA GREFFE DE RÉTINE CHEZ L'HOMME

Yves Courtois

La vision est l'un des biens les plus précieux de l'homme et l'émotion que suscite la rencontre avec une personne handicapée visuelle est universelle. C'est aussi un problème de santé publique qui s'accroît de façon inexorable avec l'augmentation de l'espérance de vie. Dans le monde entier, des milliers de personnes souffrent de perte de vision ou sont atteintes de cécité pour des raisons diverses : génétiques, liées à l'environnement, nutritionnelles, parasitaires ou en raison du vieillissement. Les atteintes de la rétine sont en général extrêmement difficiles à contrôler, si ce n'est par des moyens physiques comme le laser (voir l'article de G. Soubrane *et al.*, p. 1378 de ce numéro). Or, la finalité de la recherche concernant la rétine et son fonctionnement est de répondre à l'attente des milliers de personnes handicapées visuelles ou en instance de le devenir. Cet éditorial et les articles de ce numéro ont été écrits pour présenter les découvertes récentes qui permettent tout d'abord de mieux comprendre la diversité des origines du dysfonctionnement de la rétine et ensuite de proposer des voies de recherche conduisant à des approches thérapeutiques qui peuvent être pharmacologiques, nutritionnelles ou géniques. Lorsque surviennent les dégénérescences rétinienne partielles ou totales, il reste alors l'espoir des greffes de rétine (voir l'article de J.A. Sahel *et al.*, p. 1337 de ce numéro) et les progrès

dans l'aide aux handicapés (voir l'article de F. Vital-Durand *et al.*, p. 1345 de ce numéro).

Les causes les plus importantes de la perte de vision sont les rétinites pigmentaires, la dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA), la rétinopathie diabétique et le glaucome. Sous ces sigles, sont en fait représentées des affections diverses dont les conséquences sont gravissimes. Par exemple, certaines rétinites pigmentaires (ou dystrophies rétinienne) peuvent conduire à une perte de la vision nocturne et du champ visuel périphérique à l'adolescence, s'étendant plus tard à la perte du champ de la vision centrale. Dans la DMLA, la vision centrale sera affectée en priorité avec perte de la capacité de lecture.

La diversité des atteintes oculaires ne peut se comprendre que si le fonctionnement normal de la rétine est connu, ce qui implique une recherche sur son développement et son fonctionnement, normal et pathologique.

L'œil, que ce soit chez l'arthropode, le mollusque ou le vertébré a probablement une origine évolutive commune. Les gènes qui vont donc être nécessaires pour sa formation vont subir les mêmes régulations. C'est pourquoi les études génétiques sur les yeux de la drosophile vont permettre de découvrir les gènes essentiels pour le développement oculaire. Comme l'œil est un organe qui est très « visible », aussi pour l'observateur, de nombreux gènes ont été

ADRESSE

Y. Courtois : directeur de recherche à l'Inserm. Inserm U. 450, Développement, vieillissement et pathologie de la rétine, affiliée Cnrs, Association Claude-Bernard, 29, rue Wilhem, 75016 Paris, France.

identifiés chez cet animal comme *Pax-6*, *Prox 1*, *eye 2*, *propero*, *eyeless*, *eyes absent*, dont on retrouve des analogues chez l'homme, associés à des anomalies de la morphogenèse ou de la différenciation. Des gènes à homéoboîte tels que *Pax 6* peuvent produire des yeux ectopiques chez la drosophile (*m/s* 1995, n° 5, p. 776). Plus de 14 facteurs de transcription sont connus [1] et, récemment, un facteur spécifique des photorécepteurs (cônes et bâtonnets), CRX, a été identifié comme le responsable d'une dégénérescence rétinienne chez l'homme (*m/s* 1998, n° 8-9, p. 981). De plus, des mutations dans des gènes homologues de certains gènes de la drosophile, comme l'*opsine* ou l'*arrestine*, provoquent certaines rétinites pigmentaires ou une héméralopie (perte de la vision nocturne). Une fois que la rétine et ses photorécepteurs (cônes ou bâtonnets) sont formés, ils utilisent des machineries très spécifiques pour fonctionner, en particulier toutes les protéines de la cascade visuelle. Ces protéines dont le fonctionnement est très étudié (voir l'article de M. Chabre, p. 1315 de ce numéro) sont de bonnes candidates pour rechercher des mutations ou des anomalies qui conduiront à la rétinite pigmentaire. Plus de 10 gènes ont été identifiés pour les rétinites pigmentaires (rhodopsine, RDS, sous-unités α et β de la GMPc phosphodiesterase, ROM, sous-unité α du canal ionique activable par le GMPc, régulateur RP GTPase, protéine cellulaire de liaison du rétinaldéhyde), myosine VII A et RPE 65. Il ne fait aucun doute qu'avec les progrès du séquençage du génome humain, et particulièrement le séquençage systématique des séquences exprimées (EST) dans la rétine, d'autres gènes vont être clonés, impliqués directement ou indirectement dans ces maladies. On s'attend à trouver 100 locus ou plus chez l'homme (pour les gènes associés avec la DMLA, voir l'article de J. Kaplan, *et al.*, p. 1329 de ce numéro). La stratégie de la recherche est donc en forte évolution car il s'agit de découvrir la fonction normale ou pathologique de ces gènes. Les souris *knock-out* ou les stratégies antisens peuvent permettre de répondre à ces

questions. Par exemple, pourquoi des mutations différentes sur la même protéine provoquent-elles des dégénérescences plus ou moins rapides ? Des souris dont le gène de l'opsine a été modifié sont atteints de dégénérescence avec des vitesses variables suivant les mutations [2]. Il est possible que les molécules d'opsine mutées soient mal ciblées et désorganisent la structure du photorécepteur. Mais il est aussi probable que ces altérations produisent des réactions inflammatoires chroniques qui vont participer à la destruction du tissu. Nous avons par exemple montré dans notre laboratoire que la rétine de rat détruite par une forte illumination pendant une semaine est le siège d'une réaction inflammatoire impliquant la production de NO. Si l'on inhibe cette production, on protège de façon significative les photorécepteurs de l'apoptose [3], une étape générale de la dégénérescence rétinienne.

La connaissance des interactions cellulaires dans la rétine entre les différents partenaires (cellules de l'épithélium pigmentaire, photorécepteurs, cônes ou bâtonnets, cellules gliales de Müller) est particulièrement importante, sans compter l'influence du double système de vascularisation, qui participe à la nutrition de la rétine, et dont nous reparlerons à propos de l'ischémie et de la néovascularisation. Dans les cas pathologiques, s'ajoutent les effets produits par les cellules inflammatoires, résidentes ou non. Ces interactions sont permanentes et s'ajoutent à celles, cycliques, qui découlent des rythmes circadiens auxquels participent la mélatonine et la dopamine ou les acides aminés excitateurs comme le glutamate. D'autres interactions sont particulièrement importantes comme celles impliquant des facteurs neurotrophiques. Nous avons été dans notre laboratoire à l'origine de la découverte dans la rétine de facteurs de croissance de la famille des FGF (*fibroblast growth factors*). Leur rôle dans le développement de la rétine et la différenciation des photorécepteurs commence à être mieux compris, mais leur intérêt réside – après injection dans l'œil – dans leur rôle protecteur contre les dégénérescences rétinienne d'origi-

ne génétique et expérimentale [4] ou au cours du vieillissement. D'autres facteurs neurotrophiques se sont révélés efficaces, comme le BDNF, le CNTF, etc. Les résultats expérimentaux sont suffisamment encourageants pour que leur utilisation en phase clinique soit bientôt mise en route chez l'homme. Même si on ne connaît pas réellement leur mécanisme d'action, il y a une nette tendance à privilégier l'effet sans en chercher la raison. En ce qui concerne le FGF, il semble que, lors d'une réaction de *stress*, celui-ci et ses récepteurs membranaires soient surexprimés pour activer une boucle autocrine de stimulation. L'effet de survie passerait par une auto-amplification du FGF qui, cette fois-ci, de façon intracrine, induirait l'expression de protéines anti-apoptotiques comme Bcl2. La boucle autocrine amplifiée pourrait alors être réglée par l'expression d'un récepteur soluble qui agirait comme capteur du FGF relargué en excès [5]. On voit donc qu'il est possible d'intervenir à différents niveaux, par exemple, par l'apport d'autres facteurs de croissance au niveau de l'œil, en permettant l'expression des ADNc des FGF par vectorisation avec des virus, des liposomes ou en les faisant produire par des cellules encapsulées. Mais on peut aussi essayer d'empêcher l'apoptose, que l'on observe dans toutes les formes de dégénérescence, en stimulant les systèmes anti-apoptotiques. Les souris transgéniques pour *Bcl2* sont plus résistantes à la dégénérescence. Des stratégies nouvelles sont mises en route pour rechercher d'autres facteurs de croissance, qui participeraient à l'interaction entre les cônes et les bâtonnets comme le décrit J.A. Sahel *et al.* (voir p. 1337 de ce numéro).

L'une des pistes les plus intéressantes découle de la connaissance des mécanismes de résistance au *stress* oxydatif. De nombreux systèmes ont été mis en évidence qui suggèrent que le contrôle strict de la production des radicaux libres est important. D'où les recherches pour identifier les voies de transduction qui sont induites, par exemple, lors de l'inflammation dans des cas d'uvéites auto-immunes. Les cytokines, le TNF α , l'interféron γ , certaines inter-

leukines, le NO et l'anion superoxyde participent à des réactions inflammatoires qui, suivant les cas, peuvent être protectrices ou dommageables pour la rétine (*m/s 1996, n° 5, p. 593*). Il semble que le mécanisme d'excitotoxicité qu'on attribue au glutamate, accumulé en excès lors d'ischémie rétinienne, passe aussi par cette voie (*voir l'article de C. Bonne et al., p. 1322 de ce numéro*). De nombreux produits utilisés pour leurs propriétés anti-oxydantes sont capables, dans des modèles animaux, d'apporter une certaine protection à la rétine. Mais il faut faire attention à ne pas nécessairement extrapoler les résultats des animaux à l'homme. Une des rares études en double insu qui s'adressait à un grand nombre de patients atteints de rétinopathie pigmentaire a montré qu'un apport oral de vitamine E semblait, à l'inverse de la vitamine A, accélérer la maladie [6]. Cette dernière améliore aussi les patients atteints d'une forme rare de DMLA, la dégénérescence maculaire de Sorby (*voir l'article de J. Kaplan et al., p. 1329 de ce numéro*). L'aspect inflammatoire est aussi important dans l'angiogenèse résultant de la prolifération des vaisseaux dans la rétinopathie diabétique, la rétinopathie du prématuré et la DMLA. Grâce au travail de pionnier de J. Plouet [7], on sait que le VEGF synthétisé entre autres par l'épithélium pigmentaire est fortement impliqué dans l'angiogenèse. On retrouve ici la même problématique que dans le cancer. Comment empêcher les vaisseaux de proliférer avec des facteurs anti-angiogéniques apportés par des stratégies diverses, qui vont de la thérapie génique à l'utilisation d'anti-idiotypes de récepteurs ou à des produits chimiques ?

Le traitement effectif de ces maladies dépend de la vectorisation, de façon non traumatique et non toxique, de ces produits dans l'œil. Récemment, des espoirs sont nés de l'utilisation de ribozymes qui, construits spécifiquement pour corriger une mutation de l'opsine sur un allèle défectueux, et injectés dans l'œil de rats, ont montré une certaine efficacité [8]. Nous avons, dans notre laboratoire, avec la collaboration de J.M. Parel de l'Université de Miami, démontré qu'une technique d'iontophorèse – *Coulomb control iontophoresis* – permettait de faire pénétrer, localement et sans risque, des produits anti-inflammatoires à travers les tissus de l'œil de rats atteints d'uvéites et d'obtenir leur guérison [9]. Ce concept s'applique à d'autres produits chimiques et même à des oligonucléotides. En conclusion, le nombre de pistes pour espérer traiter les maladies associées à un dysfonctionnement de la rétine est très important. L'œil, par sa position, et grâce aux connaissances actuellement accumulées, est un des organes sur lequel on peut envisager, dans un avenir proche, d'intervenir : (1) au niveau génétique par des méthodes de thérapie génique ; (2) au niveau fonctionnel en essayant de compenser ou de figer tous les dérèglements du métabolisme qui conduisent à la mort des cellules ; (3) peut-être même en jouant sur des facteurs nutritionnels, certains acides gras étant très représentés dans les photorécepteurs ; (4) et aussi certainement avec des médicaments bien ciblés. Lorsqu'il est trop tard, reste l'espoir des greffes de morceaux de rétine, de cellules souches ou même d'implants électroniques mais, dans tous ces domaines, nous n'en sommes qu'aux prémises ■

RÉFÉRENCES

1. Freund C, Hosford DJ, McInnes RR. Transcription factor genes and the developing eye : a genetic perspective. *Hum Mol Genet* 1996 ; 5 : 1471-88.
2. Li T, Snyder WK, Olsson JE, Dryja TP. Transgenic mice carrying the dominant rhodopsin mutation P347S : evidence for defective vectorial transport of rhodopsin to the outer segments. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996 ; 93 : 14176-81.
3. Goureau O, Jeanny JC, Becquet F, Hartmann MP, Courtois Y. Protection against light-induced retinal degeneration by an inhibitor of NO synthase. *NeuroReport* 1993 ; 5 : 233-6.
4. LaVail M, Unoki K, Yasumura D, Matthes MT. Multiple growth factors, cytokines and neurotrophins rescue photoreceptors from the damaging effects of constant light. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993 ; 89 : 11249-53.
5. Guillonnet X, Regnier-Ricard F, Bryckaert M, Jonet L, Courtois Y, Mascarelli F. Identification, expression, and localization of a naturally occurring soluble form of FGF receptor 1 in rat retina : implications for photoreceptor degeneration and RPE proliferation. *Mol Biol Cell* 1998 ; 9 : 2785-802.
6. Berson EL. Retinitis pigmentosa : unfolding its mystery. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996 ; 93 : 4526-8.
7. Luty GA, McLeod DS, Merges C, Diggs A, Plouet J. Localization of vascular endothelial growth factor in human retina and choroid. *J Arch Ophthalmol* 1996 ; 114 : 971-7.
8. Lewin AS, Drenser KA, Hauswirth WW, Nishikawa S, Yasumura D, Flannery JG, LaVail MM. Ribozyme rescue of photoreceptor cells in a transgenic rat model of autosomal dominant retinitis pigmentosa. *Nat Med* 1998 ; 4 : 967-71.
9. Behar-Cohen F, Parel JM, Pouliquen Y, Thillaye-Goldenberg B, Goureau O, Heydolph S, Courtois Y, De Kozak Y. Iontophoresis of dexamethasone in the treatment of endotoxin-induced-uveitis in rats. *Exp Eye Res* 1997 ; 65 : 533-45.

TIRÉS À PART

Y. Courtois.