



PAR LE DOCTEUR JEAN-PIERRE LAGACÉ
OPTOMÉTRISTE, M.Sc.

La thérapie génique visuelle

Auparavant, la thérapie génique en ophtalmologie était synonyme de recherche en laboratoire. Or, depuis 2019, un premier médicament, le Luxturna®, a ouvert la voie à un certain nombre d'essais cliniques dans le monde. Ce nouveau traitement nous laisse présager que nous devrions avoir à notre disposition dans les années futures des médicaments issus de thérapie génique pour les maladies rétinienne héréditaires (MRH)¹.

Actuellement, il existe en ophtalmologie deux principaux médicaments pour ce faire :

Luxturna

- Le Luxturna®¹ est une thérapie qui a été validée pour l'amaurose congénitale de Leber et les rétinites pigmentaires liées à une mutation du gène *RPE65*.

Approuvé pour un usage médical aux États-Unis en décembre 2017, le voretigène néparvovec est disponible en France depuis avril 2019, en Australie depuis août 2020 et au Canada depuis octobre 2020. Il s'agit de la première thérapie génique *in vivo* approuvée par la Food and Drug Administration (FDA) américaine².

Les personnes atteintes de maladies rétinienne pouvant causer la cécité pourraient recouvrer leur vue avec l'apparition d'un nouveau traitement fondé sur la thérapie génique³.

Aux États-Unis, l'Agence de médicaments a approuvé un traitement basé sur la thérapie génique pour certaines maladies rétinienne héréditaire causé par une mutation du gène *RPE65*. Les mutations de ce gène sont responsables de la cécité prématurée par amaurose congénitale de Leber (un type de dystrophie rétinienne), certaines formes de rétinite pigmentaire et d'autres maladies. L'amaurose congénitale de Leber survient pendant l'enfance et progresse lentement jusqu'à mener à la cécité totale au fur et à mesure que les cellules de la rétine meurent. Il n'existe aucun autre traitement pour cette maladie.

Première étude portant sur la thérapie génique pour le traitement de maladies rétiniennes héréditaires.

Les résultats des premières études randomisées et contrôlées de phase 3 sur le Luxturna (voretigène néparvovec) ont prouvé que 27 de 29 patients traités (93%) ont connu une amélioration considérable de leur vue, qui leur permet de se déplacer dans des environnements de lumière faible à modérée.

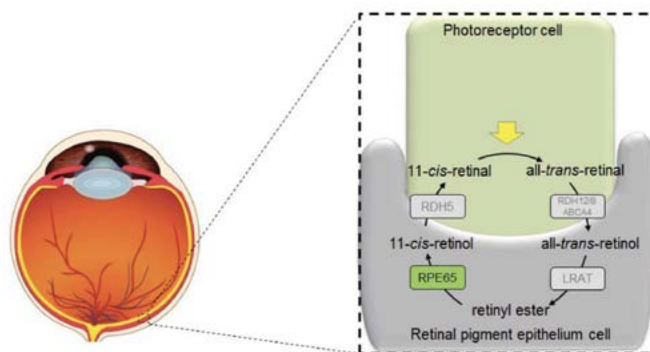
Les patients qui n'ont pas reçu cette thérapie pendant les études n'étaient pas capables de se déplacer et n'ont pas connu de changements considérables dans leur vision. Néanmoins, parmi ces patients, ceux qui ont choisi de se soumettre au traitement après l'étude ont connu une amélioration de leur vue. Ils pouvaient se déplacer dans des environnements de lumière faible ou modérée, et leur sensibilité face à la lumière s'est améliorée. L'étude a prouvé que l'amélioration de la vue des patients traités durait au moins deux ans. Mais les chercheurs ne savent pas combien de temps encore les effets vont durer.

Thérapie génique pour les maladies héréditaires de la rétine: durabilité de l'effet à long terme

L'approbation du voretigène néparvovec (Luxturna®) pour les patients atteints de dystrophie rétinienne associée à la mutation bi-allélique *RPE65* avec des cellules rétinienne viables représente une étape importante dans le développement des thérapies géniques oculaires. Nous passons ici en revue les études portant sur la persistance épisomale de différents génomes de vecteurs de virus adénoassociés recombinants (rAAV) et les preuves précliniques et cliniques des effets à long terme de différentes thérapies de remplacement du gène *RPE65*. Une analyse ciblée des articles publiés entre 1974 et janvier 2021 dans Medline®, Embase® et d'autres bases de données a été réalisée, suivie d'une analyse longitudinale descriptive des résultats des essais cliniques du voretigène néparvovec⁴.

Après une première sélection, 14 publications examinant la persistance épisomale de différents génomes rAAV et 71 publications évaluant les thérapies géniques dans des modèles animaux ont été incluses. Il a été constaté que les génomes viraux persistaient pendant au moins 22 mois (le plus long suivi de l'étude) en tant qu'épisomes transcriptionnellement actifs. Des effets thérapeutiques d'une durée de près de dix ans ont été rapportés dans des modèles de maladies canines, ces effets étant d'autant plus prononcés que l'intervention était précoce. Les résultats des essais cliniques du voretigène néparvovec sont cohérents avec les résultats précliniques et révèlent des résultats soutenus jusqu'à 7,5 ans pour le test du seuil de sensibilité à la lumière en plein champ et 5 ans pour le test de mobilité multiluminance dans les essais de phase I et de phase III, respectivement.

En conclusion, l'effet thérapeutique du voretigène néparvovec dure au moins une décennie dans les modèles animaux et 7,5 ans chez les sujets humains. Comme les cellules rétinienne peuvent conserver leur fonctionnalité tout au long de leur vie après la transduction, on peut s'attendre à ce que ces effets durent encore plus longtemps chez les patients ayant un nombre suffisant de cellules rétinienne externes au moment de l'intervention.



Rôle de l'enzyme RPE65 dans le cycle visuel. ABCA, sous-famille des cassettes de liaison à l'ATP A groupe 4; LRAT, lécithine rétinol acyltransférase; RDH, rétinol déshydrogénase; RPE, épithélium pigmentaire rétinien.

Le gène *RPE65* (protéine 65-kD spécifique de l'épithélium pigmentaire rétinien) code pour une enzyme de l'épithélium pigmentaire rétinien (EPR) qui est responsable de la régénération du 11-cis rétinol dans le cycle visuel. La rétinite pigmentaire (RP), l'amaurose congénitale de Leber (LCA) et le Fundus albipunctatus ont des sous-types liés à des variantes pathogènes du gène *RPE65*. Le gène *RPE65* est situé sur le bras court (p) du chromosome 1 en position 31 (1p31.3). Les variations bi-alléliques de *RPE65* entraînent une dégénérescence des photorécepteurs et peuvent provoquer des dystrophies rétiniennes graves.

Lumevoq

- Le Lumevoq (Lumevoq)^{®5}, autre thérapie génique, est destiné aux patients souffrant de neuropathie optique héréditaire de Leber.

Lumevoq de GenSight Biologics démontre des améliorations cliniquement significatives dans les programmes d'accès précoce

Ces nouvelles données s'appuient sur les résultats positifs du suivi à long terme des essais cliniques. Le lenadogène nolparvovec (Lumevoq) de GenSight Biologics, une thérapie génique expérimentale destinée à traiter la neuropathie optique héréditaire de Leber (LHON) causée par la mutation m.11778G>A ND4 (MT-ND4), a démontré des améliorations de l'acuité visuelle la mieux corrigée (AVMC) chez les patients traités dans le cadre de programmes d'accès précoce⁵. Les résultats ont été présentés lors de la réunion annuelle 2023 de l'Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), qui s'est tenue du 23 au 27 avril à La Nouvelle-Orléans, en Louisiane⁶.

Parmi les 38 patients ayant reçu un traitement par Lumevoq dans un œil ou les deux yeux et pouvant être évalués un an après le traitement, on a constaté un changement moyen de l'AVMC de -0,29 LogMAR (+14,5 lettres EDTRS équivalentes; écart-type [ET], 0,67) entre le début et la fin de l'étude.

En outre, parmi les 25 patients ayant reçu Lumevoq dans les deux yeux, on a observé un changement moyen de l'AVMC de -0,36 LogMAR (+18 lettres EDTRS équivalentes; SD, 0,73) entre le début de l'étude et la fin de l'année.

Chiara La Morgia, professeure adjointe à l'Institut des sciences neurologiques de Bologne, qui a présenté les données, et ses collègues ont noté que le profil de sécurité observé chez les patients traités dans le cadre des programmes d'accès précoce était favorable et conforme aux attentes.

«Les patients recevant le lenadogene nolparavec dans le cadre des programmes d'accès précoce étaient majoritairement européens et recevaient le traitement principalement dans les deux yeux», ont écrit La Morgia et ses collègues⁶. «Les analyses préliminaires d'efficacité et de sécurité montrent que l'injection de lenadogene nolparavec a été associée à une amélioration cliniquement significative de l'acuité visuelle et à une sécurité favorable similaire à celle observée dans les études cliniques».

L'étude inclut 63 patients atteints de MT-ND4-LHON au total (voir figure) qui ont reçu un traitement par Lumevoq dans le cadre de programmes d'accès précoce entre août 2018 et mars 2022. L'âge des patients au moment de la première injection de Lumevoq était compris entre 13,5 et 74,7 ans (moyenne, 34,5; écart-type, 16,6). Trente-cinq (55,6%) patients ont été traités en France, 9 (14,3%) en Italie, 18 (28,6%) aux États-Unis et 1 patient (1,6%) au Royaume-Uni. Le groupe comprend 42 patients (66,7%) qui ont été traités dans les deux yeux. Tous ces patients, sauf un, ont été traités dans les deux yeux le même jour.

La majorité des patients (72,6%) recevaient un traitement à l'idébénone au moment de l'administration du Lumevoq. Parmi les 62 patients pour lesquels des données étaient disponibles, la perte de vision dans le premier œil affecté durait en moyenne depuis 11,4 mois (SD, 9,7) au moment de la première injection de Lumevoq. Les chercheurs ont noté que l'utilisation de Lumevoq était autorisée dans le cadre des programmes d'accès précoce par les réglementations locales et que le traitement a été fourni sur la base de demandes spontanées. Tous les patients ont reçu une dose de 9×10^{10} génomes viraux par œil.

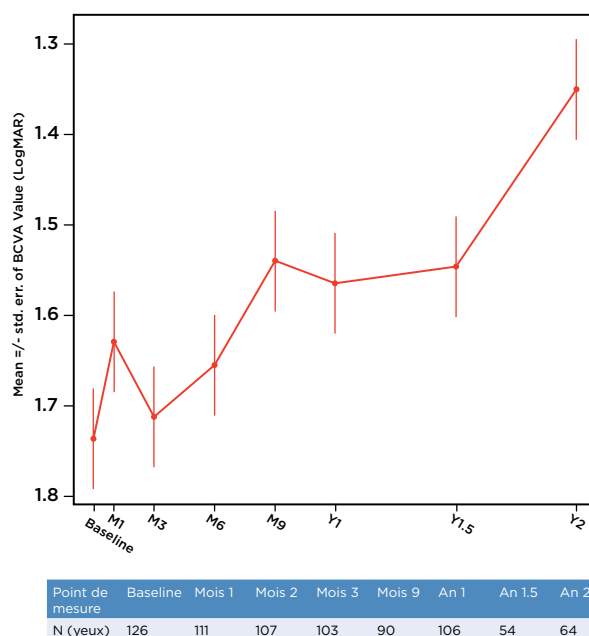
Ces résultats s'appuient sur les données positives de suivi à long terme de l'essai clinique de phase 3 RESTORE (NCT03406104) évaluant Lumevoq, qui ont également été présentées lors de la réunion annuelle de l'ARVO 2023⁷. Patrick Yu Wai Man, Ph. D, FRCPath, FRCOphth, professeur d'ophtalmologie à l'Université de Cambridge, qui a présenté les données, et ses collègues ont constaté que les participants à cet essai, qui a traité les patients avec Lumevoq dans un œil et un traitement sham dans l'autre œil, présentaient une amélioration moyenne absolue bilatérale de l'AVMC entre le nadir et 2 ans de +22,0 lettres EDTRS dans les yeux traités et de +19,5 lettres EDTRS dans les yeux contrôle. Les chercheurs ont également noté que le profil de sécurité était similaire à celui observé dans les données de suivi antérieures.

GenSight Biologics a soumis une demande d'autorisation de mise sur le marché pour Lumevoq à l'Agence européenne des médicaments (EMA) en septembre 2020⁸. Cependant, le 20 avril 2023, la société a annoncé qu'elle avait retiré sa demande, citant une indication du Comité des thérapies innovantes (CAT) de l'EMA selon laquelle les données soumises ne seraient pas suffisantes pour l'approbation⁹.

«Nous ne sommes pas d'accord avec l'évaluation actuelle du CAT et restons très confiants dans le bénéfice clinique de LUMEVOQ pour les patients atteints de LHON, qui est étayé par de nombreuses preuves issues de multiples essais cliniques et de données réelles», a déclaré Bernard Gilly, PDG et cofondateur de GenSight Biologics, dans un communiqué⁹. «La décision de retirer notre demande nous permet de continuer à travailler avec l'EMA pour convenir dès que possible d'une voie réglementaire à suivre. Je tiens à remercier les communautés de patients pour leur soutien et à réaffirmer notre détermination à apporter cette thérapie innovante aux patients atteints de ND4-LHON qui ont besoin d'un traitement efficace. Je tiens également à remercier la communauté scientifique et nos équipes pour leur engagement durable».

GenSight Biologics annonce une mise à jour des données réelles des programmes d'accès précoce à la thérapie génique LUMEVOQ® à NANOS 2024 et Logics

Figure 1: Évolution de l'acuité visuelle (BCVA) moyenne après le traitement avec lanadogene nolparavec - Basée sur les données prospectives de 63 patients atteints de ND4-NOHL



Notes: 63 patients ont été traités d'août 2018 à mars 2022 en France, aux États-Unis, en Italie et au Royaume-Uni. 42 patients ont été traités bilatéralement, 21 ont été unilatéralement. Les chiffres sous graphique indiquent le nombre d'yeux dont l'acuité visuelle a été évaluée aux moments indiqués, jusqu'au 5 février 2024 (date d'extraction des données). BCVA: Best-Corrected Visual Acuity. (Graphique: Business Wire)

- Amélioration cliniquement significative de l'acuité visuelle confirmée dans un contexte réel: acuité visuelle moyenne sur la carte 9 mois après l'injection, comparée à la moyenne hors carte au départ.
- Les yeux des patients traités bilatéralement s'améliorent davantage que ceux des patients traités unilatéralement: +23 lettres ETDRS c. +18 lettres ETDRS, avec un taux de répondeurs plus élevé (63% c. 58%), avec un profil de sécurité similaire et favorable¹⁰.

GenSight Biologics (Euronext : SIGHT, ISIN : FR0013183985, éligible PEA-PME), société biopharmaceutique spécialisée dans le développement et la commercialisation de thérapies géniques innovantes pour les maladies neurodégénératives de la rétine et les troubles du système nerveux central, annonce aujourd'hui que les données prospectives récentes issues des programmes d'accès précoce confirment le bénéfice de LUMEVOQ® chez les patients atteints de la neuropathie optique héréditaire de Leber due à la mutation ND4 (ND4-LHON), tel qu'observé dans les essais cliniques.

Un an après le traitement, les yeux des patients ayant reçu une injection bilatérale ont enregistré un gain moyen de l'acuité visuelle la mieux corrigée (AVMC) égal à +23 lettres ETDRS, supérieur au gain moyen de 18 lettres enregistré chez les patients n'ayant reçu qu'une injection dans un œil. Dans les deux groupes, l'amélioration clinique a dépassé la définition conventionnelle de la signification clinique, dans laquelle un gain de 15 lettres est considéré comme significatif. Le profil de sécurité de la thérapie génique reste favorable et comparable entre les patients traités bilatéralement et les patients traités unilatéralement.

Les résultats ont été présentés lors de la réunion annuelle 2024 de la North American Neuro-Ophthalmology Society (NANOS) et seront également présentés à d'autres conférences médicales majeures en Europe et aux États-Unis dans le courant de l'année. La Dre Chiara La Morgia, de l'Institut IRCCS des sciences neurologiques de Bologne et de l'Université de Bologne, en Italie, a présenté les résultats à la NANOS et a déclaré : « Il est très rassurant pour les cliniciens qu'au fur et à mesure que les vagues successives de données deviennent disponibles, nous continuons à obtenir une image cohérente d'une amélioration visuelle significative chez la plupart des patients traités avec le lenadogene nolparvovec. Les preuves deviennent de plus en plus solides, ce qui est important pour les patients atteints d'une maladie provoquant une cécité sévère telle que le LHON ».

.....

Ces dernières analyses s'appuient sur un échantillon plus solide que la première vision des données publiée en mars 2022.

En particulier, les améliorations constatées un an après le traitement et au-delà donnent une vision plus précise de la trajectoire ascendante de l'acuité visuelle moyenne.

.....

Un an après le traitement, les analyses des répondeurs montrent que les améliorations visuelles profitent à la majorité des patients : 63,2% des yeux des patients ayant reçu une injection bilatérale ont atteint un niveau d'amélioration cliniquement significatif de l'AVMC ($\geq 0,3$ LogMAR ou +15 lettres ETDRS), tout comme 57,9% des yeux des patients ayant reçu une injection unilatérale. Neuf mois après l'injection, l'acuité visuelle moyenne correspondait à la vision sur la carte, comparée à l'acuité visuelle moyenne hors carte au départ.

Les résultats d'innocuité obtenus dans les EAP étaient cohérents avec ceux observés dans les études cliniques, montrant un profil d'innocuité favorable du lenadogene nolparvovec. Notamment, les cas d'inflammation intraoculaire signalés dans les yeux traités par LUMEVOQ® étaient comparables, en termes de fréquence, d'intensité et de localisation, à ceux observés dans les études cliniques.

« Des résultats comme ceux-là donnent de l'énergie à l'équipe de GenSight pour rétablir l'accès précoce aux patients éligibles d'ici le troisième trimestre de cette année », a déclaré Laurence Rodriguez, directrice générale de GenSight. « Au fur et à mesure que s'accumulent les preuves que l'accès à LUMEVOQ aide les patients atteints de LHON, dans les essais cliniques et dans la vie réelle, nous étudions toutes les options possibles pour mettre LUMEVOQ à la disposition des patients le plus rapidement possible ».

D'autres thérapies géniques sont en cours d'étude pour des maladies rares de la rétine et aussi pour la dégénérescence liée à l'âge (DMLA) qui touche les adultes de plus de 50 ans.

1. Qu'est-ce que la thérapie génique ?

La thérapie génique est une stratégie innovante particulièrement adaptée pour les maladies rétinienne héréditaires. L'objectif est d'introduire du matériel génétique fonctionnel dans les cellules du patient, là où sa fonction est requise. Elle est utilisée pour obtenir une protéine manquante ou non valide afin de déjouer la maladie. L'œil est un organe idéal. En effet, il est de petite taille et il est isolé du reste de l'organisme par la barrière hématorétinienne.

2. Le vecteur : cible les cellules malades

Pour atteindre la cellule cible, le gène « médicament » nécessite un véhicule. On utilise pour cela, des virus inactifs, inoffensifs et non intégratifs pour éviter le risque de mutagenèse. Ce vecteur va cibler spécifiquement le type cellulaire désiré et permettre au gène « médicament » de s'exprimer à long terme. Pour conclure, le stade évolutif de la maladie et la gestion de la fenêtre thérapeutique sont des paramètres à prendre en considération. Lorsque la maladie est trop avancée, d'autres thérapies prennent le relais comme l'optogénétique et la thérapie cellulaire.

3. Thérapie génique et introduction de gènes

La thérapie génique consiste à introduire de nouveaux gènes dans les cellules d'un patient afin qu'elles remplacent les gènes défectueux, manquants, ou qui ne marchent pas correctement. En utilisant un virus spécifiquement conçu, on introduit de nouveaux gènes dans les cellules. Cette procédure est utilisée car les virus introduisent naturellement leur propre matériel génétique dans les cellules. Dans le cas de Luxturna, les nouveaux gènes remplacent les gènes endommagés se trouvant dans les cellules rétinienne. Ces cellules sont chargées de détecter la lumière et de transformer les signaux pour les envoyer au cerveau, qui va les traiter.

Un pas en avant vers les traitements par thérapie génique

L'avenir de la vue avec la thérapie génique enthousiasme les ophtalmologistes. Jusqu'à présent, la médecine n'avait pas de traitements approuvés ou testés pour les personnes atteintes de maladies rétinienne héréditaires pouvant s'avérer fatales pour la vision. Le traitement avec Luxturna est très spécifique et ne pourra aider qu'un petit nombre de personnes. Bien qu'il ne rétablisse pas la vision normale, il permet aux patients de voir des formes et des lumières, ce qui les aide à se déplacer sans canne ou chien-guide. Avec l'agrément de cette première thérapie génique, on ouvre la porte à de futurs traitements pour autres maladies rétinienne. Les chercheurs espèrent que la thérapie génique pourra, dans un avenir proche, rétablir la vision dans des cas de maladies comme la dégénérescence maculaire liée à l'âge.

Les yeux, organe pionnier dans l'usage de la thérapie génique

Pour les scientifiques et les ophtalmologistes, l'usage de la thérapie génique pour le traitement des yeux prend tout son sens: l'œil est un organe petit et facilement accessible, ce qui facilite l'implantation de cellules dans cette région, comparativement à d'autres régions du corps. En outre, l'œil jouit de ce qu'on appelle le privilège immun, qui fait que le rejet des cellules implantées dans cette région est moins probable que dans d'autres régions du corps.

Principes de la thérapie génique et applications en rétinologie

L'avenir des traitements des pathologies rétinienne, et notamment de la DMLA exsudative, pourrait se trouver dans la thérapie génique, avec un double espoir: améliorer la prise en charge et réduire le fardeau économique et social de ces pathologies invalidantes pour un grand nombre de patients.

De nombreux obstacles restent cependant à franchir: définir la meilleure cible thérapeutique, la voie d'administration optimale et prévenir ou atténuer les réponses immunitaires liées à l'administration de particules virales¹¹.

Le défi est grand, la route est encore longue, mais les espoirs et les attentes sont grands.

L'œil, un organe de choix pour la thérapie génique^{11, 2, 13}.

L'utilisation de la thérapie génique dans l'environnement des structures rétinienne présente de nombreux avantages:

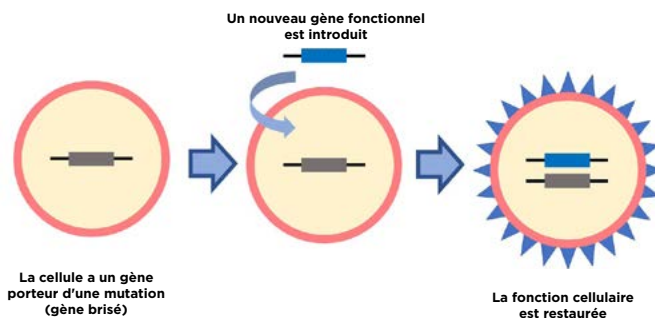
1. Accessibilité de l'organe permettant des techniques non invasives.
2. Faible quantité de médicaments à administrer grâce au faible volume de la rétine.
3. Peu de risque d'intégration accidentelle mutagène. La rétine étant composée de cellules post-mitotiques, elle permet une expression du gène sur le long terme sans risque d'insertion génomique.

4. Accessibilité facilitée aux examens fonctionnels et d'imagerie non invasifs grâce à la transparence des milieux qui entourent la rétine.
5. Bonne tolérance à la thérapie génique grâce à la barrière hématorétinienne protégeant les structures du système immunitaire,
6. Possibilité de ne traiter qu'un seul œil et de considérer le deuxième œil comme contrôle d'efficacité et de tolérance du traitement.

Le principal inconvénient vient de la nature post-mitotique des cellules rétinienne. En effet, comme les vecteurs viraux ne peuvent pénétrer que dans des cellules en division, ils ont un accès limité à ce type de cellules. De plus, le succès de la thérapie génique dépend du niveau de dégénérescence des cellules rétinienne au moment de l'injection: les cellules rétinienne ne peuvent pas être remplacées une fois le processus de dégénérescence enclenché.

Remplacement de gènes

Comme son nom l'indique, le remplacement de gènes consiste à introduire un nouveau gène pour en remplacer un autre défectueux. Ce traitement, à la base de Luxturna, la toute première thérapie génique approuvée, est utilisé pour de nombreuses maladies héréditaires rétinienne. Il peut constituer une option tout indiquée pour les personnes qui connaissent leur mutation¹².



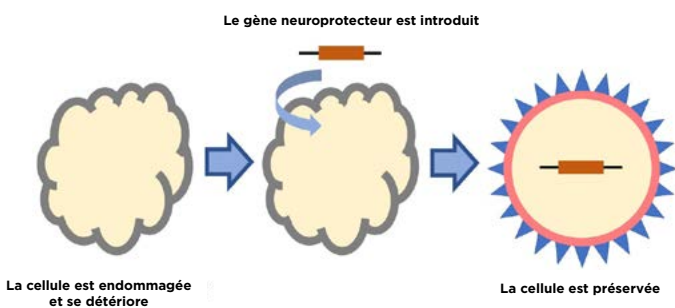
Modification du génome

La modification du génome est aussi un traitement qui cible un gène particulier. La mutation génétique doit donc être connue. Des ciseaux moléculaires sont utilisés pour retirer la mutation et ainsi «modifier» le gène. Ce traitement est à l'étude pour les MHR comme la rétinite pigmentaire, l'amaurose congénitale de Leber et le syndrome d'Usher.



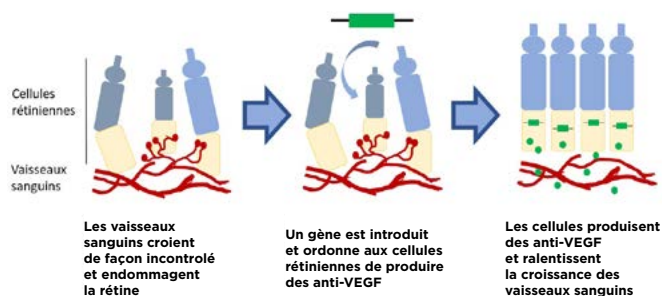
Thérapie contre la mort cellulaire

Les maladies de la rétine telles que les MHR, la DMLA et l'œdème maculaire diabétique (OMD) ont des causes génétiques et environnementales diverses, mais toutes ont une issue similaire: les cellules rétinienne qui captent et transmettent la lumière finissent par mourir, menant à une perte de vision. Des chercheurs ont mis au point des thérapies dites «neuroprotectrices». Des gènes sont introduits dans les cellules de la rétine pour les préserver. Cette thérapie, contrairement aux deux précédentes, ne vise pas de gène particulier; un seul traitement pourrait donc être utilisé pour les MHR causées par diverses mutations, les MHR dont la mutation est inconnue ou les maladies, comme la DMLA, qui n'ont pas de cause génétique.



Thérapie génique pour remplacer les injections anti-VEGF

Les injections anti-VEGF sont le traitement le plus courant contre la DMLA et l'OMD. Ces maladies sont caractérisées par une croissance incontrôlée des vaisseaux sanguins dans la rétine et une fuite de liquide dans l'œil, ce qui entraîne la perte de vision. Les anti-VEGF ralentissent la croissance des vaisseaux sanguins. Des essais cliniques ont lieu pour déterminer s'il est possible d'introduire dans les cellules rétinienne des gènes qui leur donneront l'ordre de produire leur propre anti-VEGF. Autrement dit, les chercheurs essaient de les transformer en «usines anti-VEGF» dans le but de réduire la fréquence des injections.



Injection du vecteur: trois voies d'administration possibles

Le choix de la voie d'administration du vecteur est un facteur déterminant dans le succès du transfert de gène¹⁴.

Trois voies d'administration sont possibles:

- 1. Sous-rétinienne:** voie la plus communément utilisée dans les essais cliniques. C'est une technique plus complexe et plus invasive que la voie intravitréenne et préférable pour les pathologies affectant l'épithélium pigmentaire rétinien et/ou les photorécepteurs. Bien que cette voie puisse être associée à un décollement et à des dommages de la rétine, les données disponibles suggèrent qu'elle est bien tolérée, sûre et efficace.
- 2. Intravitréenne:** voie moins invasive que les injections sous-rétiniennes, mais moins accessible aux vecteurs AAV. En effet, la majorité des vecteurs AAV ne sont pas capables d'atteindre la rétine externe, dont l'épithélium pigmentaire et la choroïde. La membrane limitante interne agit comme une barrière physique limitant l'accès du vecteur aux couches internes de la rétine. L'utilisation de vecteurs AAV modifiés (notamment les sérotypes AAV-2, -8 et -9) semblerait plus appropriée. Contrairement à la voie sous-rétinienne, les injections intravitréennes semblent plus inflammatoires et peuvent provoquer une réponse humorale contre la capsid virale bloquant l'expression du vecteur dans le deuxième œil.
- 3. Suprachoroïdienne:** voie qui semble intéressante à étudier notamment pour la DMLA exsudative. Les données obtenues chez l'animal et les données précliniques suggèrent une distribution du traitement plus postérieure et plus circonscrite. L'expression dans l'épithélium pigmentaire rétinien et dans les photorécepteurs apparaît dans les deux semaines post-injection.

Thérapie génique: existe-t-il un vecteur idéal ?

La réussite d'une thérapie génique dépend du type de vecteur utilisé. Un «bon vecteur» doit être non pathogène, non réplicatif, non immunogène et non intégratif, pour éviter les mutations dans l'ADN des cellules hôtes. Il doit cibler spécifiquement le type cellulaire désiré et permettre une expression du gène d'intérêt sur le long cours^{12, 13, 14}.

Deux grandes familles de vecteurs sont actuellement à l'étude: les vecteurs viraux et les nanoparticules.

Les virus adénoassociés (AAV) sont aujourd'hui les vecteurs les plus fréquemment utilisés, et ce, malgré qu'ils ne puissent transporter qu'une cassette d'expression de taille relativement petite (qui permet donc de ne vectoriser qu'un gène de petite taille).

C'est pourquoi les lentivirus d'origine équine, du fait de leur capacité de transport plus importante, sont dans certains cas privilégiés¹².

Thérapie génique: quelle efficacité pour quelle tolérance ?

Administrés par voie sous-rétinienne, les vecteurs AAV (virus adénoassociés) ont montré un bon profil de tolérance en préclinique et en clinique chez des patients atteints de rétinite pigmentaire héréditaire¹².

La toxicité du vecteur dépend de la dose utilisée et du type de promoteur choisi pour l'expression du gène thérapeutique.

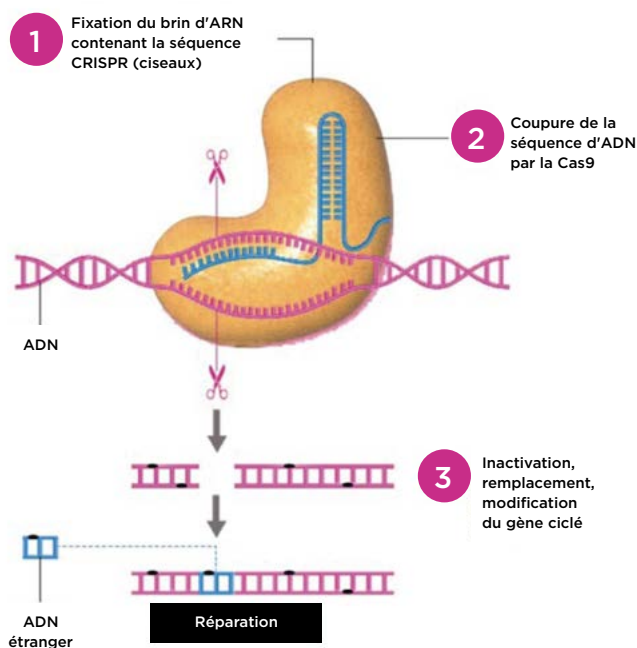
En effet, une injection sous-rétinienne de vecteur AAV dans des modèles animaux a montré une expression dans le nerf optique et les voies visuelles, mais pas dans d'autres organes.

Si certaines études menées sur le foie de souris nouvelles nées ont montré une intégration accidentelle du vecteur AAV avec formation de tumeur, ce risque semble néanmoins limité concernant les cellules rétinienne, qui ne se divisent pas.

Limitier au maximum le volume de vecteur injecté semble néanmoins un prérequis indispensable.

Si les bénéfices à court terme ont été observés, les résultats sur les capacités visuelles à long terme sont encore à préciser. En effet, certaines études ont révélé une perte d'efficacité plusieurs années après l'injection¹⁴.

Focus sur CRISPR-Cas9 ou les « ciseaux moléculaires » : la précision à la pointe de la technologie^{15, 16, 17}



C'est en octobre 2020 que les docteurs Emmanuelle Charpentier et Jennifer Doudna ont reçu le prix Nobel de chimie pour la mise au point de cette technique d'édition du génome (de l'anglais genome editing).

Le CRISPR-Cas9 (CRISPR pour Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) est un outil moléculaire simple et rapide permettant de modifier une séquence d'ADN de façon ciblée (inactivation d'un gène, correction d'une mutation spécifique, insertion d'un nouveau gène...) grâce à l'utilisation d'un ARN guide.

La reconnaissance précise de la séquence d'ADN est faite par l'ARN guide et la coupure par une endonucléase Cas9. Ce système de coupure/réparation de l'ADN a émergé comme un outil particulièrement adapté à l'ingénierie génétique.

En 2020, un essai de phase I/II ciblant des mutations dans le gène CEP290 a été mené dans l'amaurose congénitale de Leber. Au moyen d'un vecteur AAV, le couple CRISPR-Cas9 a été introduit par injection sous-rétinienne. Il s'agissait pour cette phase de tester la tolérance au traitement à petites doses de vecteur. L'avenir dira si d'autres patients pourront recevoir de plus fortes doses.

Certains obstacles doivent encore être surmontés, notamment en ce qui concerne l'apparition de coupures hors cible. En effet, lors de la fixation de Cas9 à l'ADN, des mésappariements peuvent sembler provoquer des coupures en dehors de la séquence ciblée, coupures pouvant causer des altérations dans d'autres fonctions cellulaires.

Thérapie génique pour les troubles oculaires : Vue d'ensemble et progrès réalisés à ce jour

La thérapie d'augmentation génique¹⁸ s'attaque au défaut génétique à l'origine de phénotypes cliniques particuliers, et ce, en délivrant des séquences codantes d'ADN correctes supplémentaires (transgènes) du gène muté directement dans le noyau de la cellule hôte, à l'aide d'un vecteur^{19, 20}. Des progrès considérables ont été réalisés depuis la première expérience de transfert de gènes humains en 1989^{20, 21}. Le principal domaine d'amélioration a été la mise au point de vecteurs appropriés grâce à une série de méthodes permettant de transférer de l'ADN et de l'ARNm dans des cellules de mammifères à la fois *ex vivo* et *in vivo*²². Après des échecs initiaux dans le développement de vecteurs viraux appropriés, l'évolution de la thérapie génique a été marquée par des succès principalement dans deux domaines thérapeutiques, les maladies héréditaires de la rétine (MHR) et les déficiences immunitaires primaires. La compréhension de la base génétique des MHR a permis d'élucider le diagnostic, le modèle héréditaire et le pronostic de ces troubles²³.

L'œil est l'organe cible idéal pour la thérapie génique : son anatomie très compartimentée et accessible permet l'administration précise de vecteurs de transfert aux sites cibles, avec un risque minimal de dissémination systémique ou d'effets secondaires²⁴⁻²⁸. Plus de 270 gènes différents sont responsables des MHR, notamment *ABCA4*, *CEP290*, *CNGA3*, *CNGB3*, *MERTK*, *ND4*, *PDE6B*, *RLBP1*, *REPI*, *RPE65*, *RPGR*, *RS1*, etc.²⁹. Il y a actuellement plus de 30 essais cliniques en cours (www.clinicaltrials.gov) sur les thérapies géniques pour les maladies inflammatoires de l'intestin, y compris celles qui ciblent le gène *RPE65*, parrainées par différents groupes de recherche. Le gène *RPE65* est exprimé dans l'épithélium pigmentaire rétinien (EPR) et est responsable du codage de la rétinéine isomérase (également connue sous le nom de protéine 65 kDa spécifique de l'EPR)³⁰.

Cette enzyme *RPE65* est essentielle au recyclage du chromophore visuel impliqué dans le cycle visuel. Les mutations du gène *RPE65* altèrent la formation des pigments visuels³¹. L'accumulation d'apoprotéine d'opsine dans les photorécepteurs et d'esters de rétinyle toxiques dans l'EPR entraîne une perte de fonction des photorécepteurs et leur dégénérescence progressive³².

Vecteurs viraux et persistance épisomale

Le vecteur idéal pour une condition génétique particulière doit avoir une capacité de transport suffisante, permettre une expression génique spécifique à un tissu, pertinente sur le plan thérapeutique et durable, avec une immunogénicité minimale¹⁹.

Différents virus ont été utilisés pour l'administration de gènes à des fins de recherche, notamment le lentivirus, l'adénovirus et le virus adénoassocié (AAV).

L'AAV est un vecteur non pathogène, essentiellement épisomal (c'est-à-dire non intégré dans le génome de la cellule hôte), qui peut infecter des cellules en division ou non³³. Les vecteurs épisomiques sont moins susceptibles que les vecteurs intégrateurs de perturber l'expression normale des gènes de l'hôte et sont donc plus sûrs à utiliser. Les vecteurs rAAV sont la plateforme de choix pour la thérapie génique rétinienne *in vivo* en raison de leur efficacité de transduction pour une large gamme de tissus oculaires cibles^{19, 27, 34}. Les vecteurs rAAV produisent une réponse immunitaire systémique minimale après l'administration sous-rétinienne, contrairement aux vecteurs basés sur l'adénovirus ou le virus de l'herpès simplex¹⁹.

On a constaté que la transduction de cellules post-mitotiques ou à réplication lente avec des vecteurs rAAV entraînait une expression génique stable et la persistance des génomes du vecteur pendant plusieurs années, voire une décennie, dans les cellules musculaires et hépatiques, avec peu ou pas de signes d'intégration génomique³⁵. Cependant, comme le génome AAV persiste principalement sous forme épisomale dans les cellules transduites, il peut être perdu au cours de la prolifération cellulaire (comme la croissance du foie), ce qui peut limiter son efficacité³⁵. En fait, la persistance épisomale a récemment été remise en question dans une étude portant sur 9 chiens atteints d'hémophilie A³⁶. L'effet des rAAV peut être dilué dans les cellules en division; cependant, ce n'est pas un problème important dans la rétine, car les cellules de l'EPR ont une capacité limitée de mitose. Les limites actuelles du transfert de gènes par AAV comprennent également la génotoxicité potentielle des génomes intégrés; cependant, ces résultats ont été obtenus dans des tissus non oculaires³⁷.

Aux fins de la présente étude, la persistance épisomale est définie comme la persistance du matériel génétique dérivé de l'AAVr sous forme épisomale dans les cellules transduites. Si la persistance épisomale des vecteurs viraux est distincte de la persistance de l'effet, les deux sont néanmoins liées: la persistance du vecteur dans les épisomes est une condition nécessaire, mais non suffisante pour obtenir un signal d'efficacité clinique, qui suppose également une amélioration de la physiologie cellulaire.

Persistance de l'effet thérapeutique: une question clé dans la thérapie génique oculaire

Dans les premières études, la capacité de créer des vecteurs avec une expression soutenue du transgène, tels que les rAAV, a ouvert la possibilité de cibler les maladies rétinienne progressives après une seule administration³⁸.

Un certain nombre de vecteurs ciblant le gène *RPE65* ont été développés et testés dans divers modèles animaux et pathologiques par plusieurs groupes de recherche, y compris dans des études de sécurité et d'efficacité sur un grand modèle animal de cécité infantile (le chien *RPE65* -/-)^{39, 40}, et dans des études sur la sécurité d'une alternative oculaire rAAV2-*RPE65* chez les primates non humains⁴¹.

Il a été démontré que l'apport d'un gène *RPE65* fonctionnel à l'aide de la plateforme de vecteurs rAAV améliorait les résultats précliniques et cliniques des MHR associées à *RPE65*, avec des effets durables^{35, 42, 43}.

Par exemple, des bénéfices cliniques durables ont été rapportés jusqu'à 3 ans après une seule injection (rAAV2) chez des patients atteints d'amaurose congénitale de Leber de type 2 (LCA2)⁴⁴.

Cependant, l'estimation de la persistance de l'effet à long terme (années ou décennies) de la thérapie génique reste un défi, d'autant plus que les premiers essais de phase I-II varient quant à la conception, le vecteur et les degrés d'amélioration visuelle^{28, 45}. Une étude réalisée avec un vecteur rAAV2 a révélé un déclin de l'effet thérapeutique après un pic initial de 6 à 12 mois après l'injection⁴⁶, tandis qu'une autre a mis en évidence une phase rapide et lente de l'effet thérapeutique avec une dégénérescence continue et une éventuelle perte localisée de la fonction visuelle après la thérapie⁴⁷. Par ailleurs, les résultats des études cliniques utilisant le voretigène néparvovec (VN) (rAAV2) ont montré une fonction visuelle stable sur 4 ans dans l'étude de suivi de phase I^{33, 34} et 5 ans après le traitement dans l'étude de phase III⁴⁸. Des preuves à long terme sont recueillies au moyen d'études de sécurité post-approbation, qui peuvent potentiellement fournir des informations supplémentaires sur la durabilité de la réponse au traitement dans un contexte réel^{49, 50}. Il convient toutefois de noter que les essais cliniques de phase précoce utilisent invariablement une stratégie d'escalade de la dose, ce qui entraînerait un sous-dosage et une dégénérescence progressive.

Revue de la littérature - Données précliniques

Nous avons procédé à une analyse documentaire ciblée des articles publiés entre 1974 et janvier 2021 dans Medline®, Embase®, Medline in-process et d'autres bases de données non indexées afin d'identifier les études pertinentes portant sur la persistance épisomale des rAAV et la durabilité de la réponse au traitement dans des modèles animaux.

Revue de la littérature: Persistance épisomale des rAAV dans les études précliniques

Les premiers travaux menés principalement dans le tissu musculaire ont montré que le génome du vecteur est concatémérisé et circularisé après la conversion du génome simple brin du rAAV en ADN double brin^{51=[36]}. Dans le muscle squelettique des rongeurs, les génomes du vecteur rAAV sont maintenus principalement sous forme extrachromosomique et l'expression des gènes dans ce tissu dérive principalement des formes épisomiques^{51, 52}. Les résultats de divers modèles animaux ont confirmé que les génomes épisomiques rAAV sont remarquablement stables et persistent principalement sous forme de cercles monomériques et concatémériques super enroulés, dans une structure semblable à la chromatine^{53, 54}.

Cette analyse a permis d'identifier un total de 14 publications évaluant la persistance épisomale en vue de leur inclusion finale. Parmi celles-ci, 13 publications ont été incluses sur la base de la sélection de 41 citations, et une étude à partir de la bibliographie des études incluses. Toutes les études portaient sur des cellules non rétinienne avec des gènes autres que *RPE65*. Dans les études précliniques examinées ici, le génome rAAV a persisté jusqu'à 22 mois (le plus long suivi de l'étude) sous forme d'épisomes transcriptionnellement actifs dans les cellules musculaires^{54=[39]}. L'expression à long terme du transgène après l'administration intramusculaire de rAAV chez les primates a indiqué que le génome du vecteur rAAV était fonctionnellement stable pendant au moins 5 ans⁵⁴.

Preuves précliniques de la durabilité du vecteur

Cette analyse a permis d'identifier un total de 71 publications évaluant les thérapies géniques dans des modèles animaux pour inclusion finale. Sur ce total, 66 publications ont été incluses à partir de la sélection de 362 citations et cinq études à partir de la bibliographie des études incluses. Sur les 71 publications incluses, deux ont évalué le VN (AAV2-hRPE65v2)^{55, 56, 24} ont évalué d'autres vecteurs de thérapie génique *RPE65*, et les 45 autres ont évalué d'autres thérapies géniques (*CNGA3*, *CNGB3*, *CNGB1a*, *PDE6A*, *PDE6B*, *RLBP1*, *RPGR*).

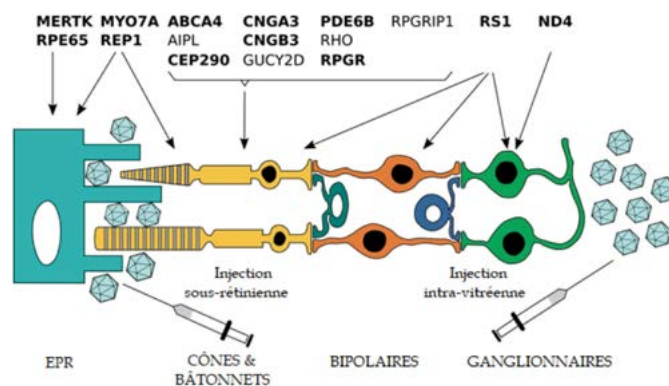
Tests de la fonction visuelle et perception de la vision par les patients

En général, les tests classiques de la fonction visuelle, tels que l'acuité visuelle la mieux corrigée (AVMC), peuvent ne pas être les mesures optimales de l'effet du traitement en raison de la variabilité des réponses individuelles. En outre, les mesures de l'AVMC peuvent ne pas refléter la nature dégénérative et progressive des MHR, car elles sont uniquement basées sur la fonction des cônes fovéaux; les patients atteints de MHR peuvent perdre une grande quantité de complexes photorécepteurs de l'EPR avant de montrer un déclin important de l'AVMC. D'autres tests, tels que le FST et la périmétrie cinétique de Goldmann, permettent d'évaluer rapidement l'amélioration de la fonction visuelle après un traitement par thérapie génique et/ou peuvent également montrer une perte de fonction résultant de la perte de photorécepteurs et de cellules de l'EPR. Les études cliniques menées avec le VN indiquent que le FST peut également montrer une amélioration plus durable et qu'il est en corrélation avec les améliorations du score MLMT^{57, 58}.

Persistance de l'effet dans les études cliniques

Un certain nombre d'études avec des données de suivi à long terme, utilisant différents vecteurs pour les MHR associées aux mutations du gène *RPE65*, ont été publiées ces dernières années⁵⁹⁻⁶¹. Dans le cas du VN, une analyse *post hoc* sur 4 ans des données de la phase I, de la phase I complémentaire et de la phase III a confirmé la durabilité à long terme de l'effet du médicament. Les résultats visuels, mesurés par le changement obtenu au FST, chez les patients recrutés dans les essais de phase I du VN ont été maintenus jusqu'à 7,5 ans; l'étude est en cours⁵⁸. Plus récemment, un suivi des patients traités au VN dans le cadre de l'étude de phase III a montré que les améliorations de la navigation ambulatoire (MLMT), de la sensibilité à la lumière et de la fonction visuelle se maintenaient pendant au moins 5 ans⁴⁸. Dans des études portant sur une thérapie génique différente du *RPE65*, des chercheurs ont rapporté les résultats d'une étude de phase I/II de 5 ans portant sur des patients atteints d'ACL médiée par le *RPE65* et de dégénérescence rétinienne sévère apparue au début de l'enfance, traités par une thérapie génique *rAAV2-RPE65*, étayant la persistance à long terme du transgène *RPE65* dans les cellules de *RPE61*; cette étude a également rapporté qu'un âge plus jeune était associé à de meilleurs résultats de la fonction visuelle 5 ans après le traitement, ce qui a également été constaté dans des études précliniques.

Les conclusions relatives à la persistance de l'effet thérapeutique sont renforcées par les résultats cliniques des patients traités dans le cadre des études cliniques du VN et de leur suivi. Toutefois, les différences liées au vecteur de thérapie génique, à l'administration et à la procédure chirurgicale peuvent toutes avoir un impact sur la réponse à long terme au traitement dans la pratique clinique.



Représentation schématique de la rétine et schéma d'expression des gènes rétiens. Les gènes pour lesquels des approches de thérapie génique sont actuellement soumises à des tests cliniques sont indiqués en gras. EPR: épithélium pigmentaire rétinien. Selon le(s) gène(s) à atteindre, on doit injecter dans des parties différentes de la rétine.

Thérapie génique dans les dystrophies rétiniennes, un recul de près de 15 ans

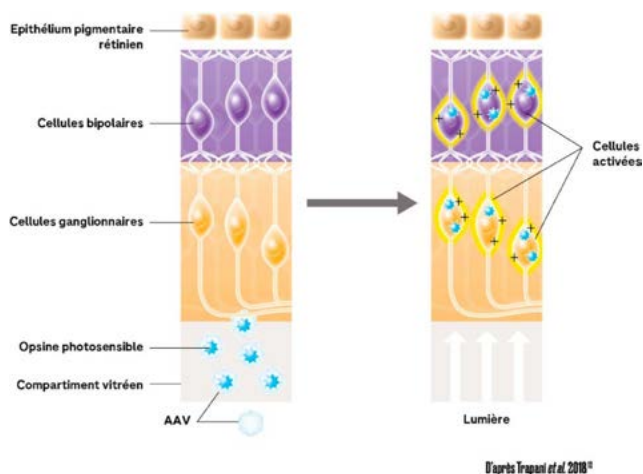
Plus de 300 gènes sont responsables de maladies dégénératives rétiniennes. Initialement menées grâce aux techniques de supplémentation utilisant des vecteurs AAV, de nombreuses études cliniques ont montré des résultats encourageants sur certaines pathologies héréditaires rétiniennes. Cependant, ces techniques spécifiques ne peuvent pas être élaborées à grande échelle et ne peuvent concerner qu'un nombre très limité de patients⁶²⁻⁶⁴.

Quelle que soit l'origine génétique, les processus de dégénérescence rétinienne sont communs aux rétinites pigmentaires, la révolution pourrait alors venir de l'optogénétique qui apparaît comme une approche thérapeutique universelle.

L'optogénétique est une discipline qui combine à la fois des techniques de neurobiologie et de génétique. Elle a pour objectif de cibler les cellules rétiniennes résiduelles et de les convertir en cellules photoréceptrices en insérant un gène codant pour une protéine photosensible ou opsine.

Différents types cellulaires peuvent être photosensibilisés :

- les cellules ganglionnaires,
- les cellules bipolaires,
- les photorécepteurs dits « dormants », car ayant perdu leur photosensibilité naturelle.



Optogénétique: les premiers succès

Des premiers essais ont été menés dans un modèle de primate non humain. L'injection d'un vecteur AAV porteur du gène codant pour une opsin a permis une expression durable de la protéine fonctionnelle dans les cellules ganglionnaires de la rétine. Le potentiel de restauration visuelle était supérieur à celui produit par les implants rétiniens⁶⁴⁻⁶⁶.

Récemment, une société française a entrepris des essais cliniques chez des patients aveugles atteints de rétinopathie pigmentaire. Grâce à des lunettes qui permettent de transformer les informations lumineuses en images monochromes, les patients ont pu recevoir les informations visuelles de leur environnement concernant des stimulations à un très fort niveau de luminance au pic de photosensibilité de la protéine.

Bien qu'encourageante, l'optogénétique doit faire face à un certain nombre de problèmes qu'il faudra résoudre dans les années à venir, notamment celui du type de protéine opsin à faire exprimer par les cellules rétinienne. La rhodopsine ou l'halorhodopsine nécessitent d'être activées avec des intensités lumineuses très fortes et donc toxiques pour la rétine humaine. La mélanopsine a quant à elle une faible cinétique d'activation. L'optogénétique devra à l'avenir identifier des opsines avec des caractéristiques compatibles avec l'œil humain et les intensités lumineuses qu'il peut supporter. Un autre point clé dans le développement de cette technique est de pouvoir restaurer des réponses visuelles complexes. L'optogénétique cible les cellules ganglionnaires en contournant une étape importante de la propagation du stimulus vers le circuit de la rétine interne. Cibler les couches extrapériphériques de la rétine pourrait permettre un meilleur traitement du signal lumineux.

En juillet 2021, un premier succès mondial est arrivé dans le domaine de l'optogénétique grâce aux équipes du Dr José-Alain Sahel. Un patient aveugle a été traité par optogénétique et a été capable de localiser, compter et toucher des objets de son environnement.

Et après-demain ?

La thérapie génique est une approche thérapeutique révolutionnaire qui ne cesse d'évoluer. De nombreux essais cliniques sont en cours et ont pour objectif de mieux prendre en charge les patients et de s'adapter au stade de leurs maladies évolutives.

La recherche évolue rapidement et les perspectives de nouvelles découvertes pour les patients sont encore nombreuses. Avant que la thérapie génique ne s'installe dans la pratique médicale, des défis technologiques, économiques et éthiques sont à relever.

Première québécoise en thérapie génique pour redonner la vue à un enfant

19 mai 2023

Pour la première fois au Québec, les docteurs Cynthia Qian et Flavio Rezende, du Centre universitaire en ophtalmologie de l'Hôpital Maisonneuve-Rosemont, ont procédé à l'administration chirurgicale du Luxturna, un médicament de thérapie génique. Ainsi, ils traiteront un patient de 11 ans atteint de l'amaurose congénitale de Leber, une forme sévère de rétinopathie pigmentaire héréditaire causée par la mutation du gène *RPE65*⁶⁷.

« Le but de l'administration de ce médicament est d'améliorer la vision générale de ce jeune homme tout au long de sa vie et nous espérons qu'elle permettra de freiner, voire d'interrompre, la perte progressive de ses capacités visuelles. Les recherches faites sur cette maladie dévastatrice représentent un énorme pas dans le domaine de la médecine oculaire » explique la Dre Cynthia Qian, chirurgienne rétinologue, spécialiste en maladies héréditaires de la rétine et chef de la section rétine de l'Université de Montréal.


Le traitement implique une injection chirurgicale unique dans laquelle un virus modifié est utilisé pour acheminer le gène thérapeutique à la rétine du patient. Le patient doit préalablement passer un test de dépistage pour confirmer la présence d'une mutation biallélique (les deux copies du gène *RPE65* présentent des mutations chez l'individu) du gène *RPE65* et d'une quantité suffisante de cellules rétinienne viables. Une fois à l'intérieur des cellules rétinienne, le nouveau gène commence à produire la protéine manquante dans le cycle visuel du patient. Cette protéine permettra aux cellules de la rétine de redevenir fonctionnelles dans la conversion de la lumière en signaux électriques. L'utilisation de Luxturna est faite en collaboration avec l'équipe du Centre d'excellence en thérapie cellulaire (CETC) de l'Hôpital Maisonneuve-Rosemont qui fait, en salle blanche, la préparation du produit à injecter et gère sa réception, sa traçabilité et son entreposage.

L'amaurose congénitale de Leber est une maladie héréditaire rare. Elle touche la rétine, membrane interne de l'œil, qui reçoit les images et les transmet au nerf optique. L'amaurose provoque différents problèmes de vision allant jusqu'à la cécité totale. Elle touche des personnes de tout âge, mais débute généralement à l'enfance. Causée par la mutation d'un gène, le *RPE65*, cette maladie touche des populations partout sur la planète. Au Québec, on estime que 2 à 3 personnes par 100 000 sont atteintes de cette maladie.

CRISPR/Cas9: de la recherche à l'application thérapeutique CRISPR

Depuis plusieurs décennies, l'ingénierie du génome a suscité l'intérêt de nombreux chercheurs et médecins pour l'étude de pathologies génétiques et leurs traitements.

Au dépit de ses prédécesseurs zinc-finger nucleases (ZFN) et transcription activator like effectors (TALEN), le clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR/Cas9) demeure actuellement la méthode moléculaire la plus avantageuse pour la modification du génome⁶⁸. Cet outil connu au départ comme un système immunitaire adaptatif bactérien est capable de couper et modifier une séquence génomique à façon d'un grand nombre d'organismes vivants. De nombreux essais utilisant cette technologie sont développés pour procurer un traitement efficace contre plusieurs pathologies, telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires et les maladies ophtalmologiques.

Dans le monde de la recherche, cette technologie est de plus en plus utilisée pour la modélisation de maladies génétiques, fournissant des modèles d'études très pertinents ainsi qu'une meilleure compréhension des mécanismes pathologiques sous-jacents. De nombreux outils moléculaires sont aujourd'hui disponibles pour mettre en pratique cette technique en laboratoire et, malgré les problèmes techniques et éthiques liés à la manipulation du génome, le CRISPR/Cas9 offrent un nouveau souffle d'espoir à la recherche thérapeutique. 

.....

RÉFÉRENCES

- <https://www.retina.fr/therapie-genique-ophtalmologie/>
- https://en.wikipedia.org/wiki/Voretigene_neparovvec#
- <https://icrcat.com/fr/therapie-genique-maladies-retiniennes/>
- <https://karger.com/ore/article/66/1/179/835297/Gen-Therapy-for-Inherited-Retinal-Disease-Long>
- <https://www.cgltlive.com/view/gensight-biologics-lumevoq-demonstrates-clinically-meaningful-improvements-early-access-programs>
- La Morgia C, Vignal-Clermont C, Carelli V, et al. Use of lenadogene nolparovvec gene therapy for Leber hereditary optic neuropathy in early access programs. Presented at: Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO) 2023 Annual Meeting. April 23-27, 2023; New Orleans, LA. Abstract #1956
- Yu Wai Man P, Newman NJ, Valérie B, et al. Treatment with lenadogene nolparovvec gene therapy results in sustained visual improvement in m.11778G>A MT-ND4-LHON patients: the RESTORE study. Presented at: ARVO 2023 Annual Meeting; April 23-27; New Orleans, Louisiana. Abstract #1955
- Gensight Biologics submits EU marketing authorisation application for LUMEVOQ® gene therapy to treat vision loss due to Leber hereditary optic neuropathy (LHON). News release. GenSight Biologics. September 15, 2020. Accessed April 27, 2023. <https://www.gensight-biologics.com/2020/09/15/gensight-biologics-submits-eu-marketing-authorisation-application-for-lumevoq-gene-therapy-to-treat-vision-loss-due-to-leber-hereditary-optic-neuropathy-lhon/>
- Gensight Biologics withdraws its EMA application for LUMEVOQ®. News release. GenSight Biologics. April 20, 2023. Accessed April 27, 2023. <https://www.gensight-biologics.com/2023/04/20/gensight-biologics-withdraws-its-ema-application-for-lumevoq/>
- https://finance.yahoo.com/news/gensight-biologics-announces-real-world-063000231.html?guccounter=1&guce_referrer=aHR0cHM6Ly93d3cuZ29vZ2xLmNvbS8&guce_referrer_sig=AQAAAMlfJD2nIjx_HTiNgZkMlvadRze9xS8nZInsVcVMZoWPaojO1cLU6Fv6LLcVtlK4MlpyBJVUKpWvW19wFilUUJKewYVPdpsXl2R4_tfUIHHiCaPyberm40KpCYIICNjrkTvj4fDDDB22qjTdRY2DUJWylMzOoG4ROuul7dfcc
- <https://rochepero.fr/aires-therapeutiques/ophtalmologie/actualites-et-innovations/oeil-therapie-genique.html#:~:text=L'utilisation%20de%20la%20th%C3%A9rapie,risque%20d'int%C3%A9gration%20accidentelle%20mutag%C3%A8ne>
- <https://www.fightingblindness.ca/fr/resources/gene-therapies-for-blinding-eye-diseases/>
- <https://rochepero.fr/aires-therapeutiques/ophtalmologie/actualites-et-innovations/dmla-exsudative-traitement-therapie-genique.html>
- Guimaraes TAC, et al. Gene therapy for neovascular age-related macular degeneration: rationale, clinical trials and future directions. *Br J Ophthalmol*. 2021;105:151-157.
- <https://medlineplus.gov/genetics/understanding/genomicresearch/genomeediting/>
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4975809/>
- <https://www.nature.com/articles/nprot.2013.143>
- Ducloyer JB, et al. *Médecine/Sciences*. 2020; 36:607-15.
- Ziccardi L, et al. Gene Therapy in Retinal Dystrophies. *Int. J. Mol. Sci*. 2019, 20, 5722.
- Hu ML, et al. Gene therapy for inherited retinal diseases: progress and possibilities. *Clinical and experimental optometry*. 2021, VOL. 104, NO. 4, 444-454.
- Botto C, et al. Early and late stage gene therapy interventions for inherited retinal degenerations. *Prog Retin Eye Res*. 2021 May 29;100975.
- Inserm. Édition génomique. 2018. Consulté le 03/10/21. Disponible sur <https://www.inserm.fr/dossier/edition-genomique/>
- Leem. Santé 2030. Une analyse prospective en santé. Édition 2020.
- Bainbridge JWB. Prospects for gene therapy of inherited retinal disease. *Eye*. 2009;23(10):1898-903.
- Chung DC, Lee V, Maguire AM. Recent advances in ocular gene therapy. *Curr Opin Ophthalmol*. 2009;20(5):377-81.
- Kumar SR, Markusic DM, Biswas M, High KA, Herzog RW. Clinical development of gene therapy: results and lessons from recent successes. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2016;3:16034.
- Bennett J. Taking stock of retinal gene therapy: looking back and moving forward. *Mol Ther*. 2017;25(5):1076-94.
- Keeler AM, ElMallah MK, Flotte TR. Gene therapy 2017: progress and future directions. *Clin Transl Sci*. 2017;10(4):242-8.
- Combs R, McAllister M, Payne K, Lowndes J, Devery S, Webster AR. Understanding the impact of genetic testing for inherited retinal dystrophy. *Eur J Hum Genet*. 2013;21(11):1209-13.
- Willis TA, Potrata B, Ahmed M, Hewison J, Gale R, Downey L. Understanding of and attitudes to genetic testing for inherited retinal disease: a patient perspective. *Br J Ophthalmol*. 2013;97(9):1148-54.
- Bainbridge JWB, Tan MH, Ali RR. Gene therapy progress and prospects: the eye. *Gene Ther*. 2006;13(16):1191-7.
- Lipinski DM, Thake M, MacLaren RE. Clinical applications of retinal gene therapy. *Prog Retin Eye Res*. 2013;32:22-47.
- Petit L, Khanna H, Punzo C. Advances in gene therapy for diseases of the eye. *Hum Gene Ther*. 2016;27(8):563-79.
- RetNet™ Retinal Information Network. Summaries of genes and loci causing retinal diseases. Available from: <https://sph.uth.edu/retnet/sum-dis.htm>.
- Moiseyev G, Chen Y, Takahashi Y, Wu BX, Ma JX. *RPE65* is the isomerohydrolase in the retinoid visual cycle. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(35):12413-8.
- Redmond TM, Poliakov E, Yu S, Tsai JY, Lu Z, Gentleman S. Mutation of key residues of *RPE65* abolishes its enzymatic role as isomerohydrolase in the visual cycle. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(38):13658-63.
- Zhang T, Enemchukwu NO, Jones A, Wang S, Dennis E, Watt CB. Genetic deletion of *S-opsin* prevents rapid cone degeneration in a mouse model of Leber congenital amaurosis. *Hum Mol Genet*. 2015;24(6):1755-63.

- 33=34=19. Kwon I, Schaffer DV. Designer gene delivery vectors: molecular engineering and evolution of adeno-associated viral vectors for enhanced gene transfer. *Pharm Res.* 2008; 25(3):489-99.
- 34=20. Colella P, Ronzitti G, Mingozzi F. Emerging issues in AAV-mediated *in vivo* gene therapy. *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2018;8:87-104.
- 35=20. [https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02338674/document#:text=L'AAV%20est%20%C3%A9galeme%20capable,ADN%20cellulaire%20\(Figure%202\).](https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02338674/document#:text=L'AAV%20est%20%C3%A9galeme%20capable,ADN%20cellulaire%20(Figure%202).)
- 36=21. Nguyen GN, Everett JK, Raymond H, Kafle S, Merricks EP, Kazazian HH, . Long-term AAV-mediated factor VIII expression in nine hemophilia A dogs: a 10 year follow-up analysis on durability, safety and vector integration. *Blood.* 2019;134(Suppl 1):611.
- 37=22. Jauze L, Monteillet L, Mithieux G, Rajas F, Ronzitti G. Challenges of gene therapy for the treatment of glycogen storage diseases type I and type III. *Hum Gene Ther.* 2019;30(10):1263-73.
- 38=23. Buch PK, Bainbridge JW, Ali RR. AAV-mediated gene therapy for retinal disorders: from mouse to man. *Gene Ther.* 2008;15(11):849-57.
- 39=24. Acland GM, Aguirre GD, Ray J, Zhang Q, Aleman TS, Cideciyan AV, . Gene therapy restores vision in a canine model of childhood blindness. *Nat Genet.* 2001;28(1):92-5.
- 40=25. Narfstrom K, Katz ML, Bragadottir R, Seeliger M, Boulanger A, Redmond TM, . Functional and structural recovery of the retina after gene therapy in the *RPE65* null mutation dog. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2003;44(4):1663-72.
- 41=26. Jacobson SG, Boye SL, Aleman TS, Conlon TJ, Zeiss CJ, Roman AJ, . Safety in nonhuman primates of ocular AAV2-*RPE65*, a candidate treatment for blindness in Leber congenital amaurosis. *Hum Gene Ther.* 2006;17(8):845-58.10, 38= [10, 23].
- 42=27. Dias MF, Joo K, Kemp JA, Fialho SL, da Silva Cunha A Jr, Woo SJ, et al. Molecular genetics and emerging therapies for retinitis pigmentosa: basic research and clinical perspectives. *Prog Retin Eye Res.* 2018;63:107-31.
- 43=28. Rodrigues GA, Shalaev E, Karami TK, Cunningham J, Slater NKH, Rivers HM. Pharmaceutical development of AAV-based gene therapy products for the eye. *Pharm Res.* 2018; 36(2): 29.
- 44=29. Jacobson SG, Cideciyan AV, Ratnakaram R, Heon E, Schwartz SB, Roman AJ, et al. Gene therapy for Leber congenital amaurosis caused by *RPE65* mutations: safety and efficacy in 15 children and adults followed up to 3 years. *Arch Ophthalmol.* 2012; 130(1):9-24.
- 45=30. MacLaren RE. An analysis of retinal gene therapy clinical trials. *Curr Opin Mol Ther.* 2009; 11(5): 540-6.
- 46=31. Bainbridge JWB, Mehat MS, Sundaram V, Robbie SJ, Barker SE, Ripamonti C, et al. Long-term effect of gene therapy on Leber's congenital amaurosis. *N Engl J Med.* 2015; 372(20): 1887-97.
- 47=32. Jacobson SG, Cideciyan AV, Roman AJ, Sumaroka A, Schwartz SB, Heon E, et al. Improvement and decline in vision with gene therapy in childhood blindness. *N Engl J Med.* 2015; 372(20): 1920-6.
- 48=33. Russell S, Bennett J, High KA, Drack A, Yu Z-F, Tillman A, et al., editors. Five-year update for the Phase 3 voretigene neparovecrzyl study in biallelic *RPE65* mutation-associated inherited retinal disease. The Retina Society 53rd Annual Scientific Meeting; 2020.
- 49=34. (ENCePP) European Network of Centres for Pharmacoeconomics and Pharmacovigilance. A post-authorization, multicenter, multinational, longitudinal, observational safety registry study for patients treated with voretigene neparovec (EUPAS31153). Available from: <http://www.encepp.eu/encepp/viewResource.htm?id=37005>.
- 50=35. (Clinicaltrials.gov) US National Library of Medicine. A patient registry study for patients treated with voretigene neparovec in US (NCT03597399). Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03597399?term=NCT03597399&draw=2&rank=1>.
- 51=36. Duan D, Sharma P, Yang J, Yue Y, Dudus L, Zhang Y, et al. Circular intermediates of recombinant adeno-associated virus have defined structural characteristics responsible for long-term episomal persistence in muscle tissue. *J Virol.* 1998; 72(11): 8568-77.
- 52=37. Xiao X, Li J, Samulski RJ. Efficient long-term gene transfer into muscle tissue of immunocompetent mice by adeno-associated virus vector. *J Virol.* 1996; 70(11): 8098-108.
- 53=38. Gil-Farina I, Dietrich K, Ceiler J, Gomez DS, Lopez-Franco E, D'Avola D, et al. Novel AAV vector reservoirs: peripheral blood cells and hematopoietic progenitors. *Mol Ther.* 2017; 25(5S1): 1.
- 54=39. Penaud-Budloo M, Le Guiner C, Nowrouzi A, Toromanoff A, Cherel Y, Chenuaud P, et al. Adeno-associated virus vector genomes persist as episomal chromatin in primate muscle. *J Virol.* 2008; 82(16): 7875-85.
- 55=40. Amado D, Mingozzi F, Hui D, Benniselli JL, Wei Z, Chen Y, et al. Safety and efficacy of subretinal readministration of a viral vector in large animals to treat congenital blindness. *Sci Transl Med.* 2010; 2(21): 21ra16.
- 56=41. Gardiner KL, Cideciyan AV, Swider M, Dufour VL, Sumaroka A, Komaromy AM, et al. Long-term structural outcomes of late-stage *RPE65* gene therapy. *Mol Ther.* 2020; 28(1): 266-78.
- 57=17. Russell S, Bennett J, Wellman JA, Chung DC, Yu ZF, Tillman A, et al. Efficacy and safety of voretigene neparovec (AAV2-h*RPE65*v2) in patients with *RPE65*-mediated inherited retinal dystrophy: a randomised, controlled, open label, phase 3 trial. *Lancet.* 2017; 390(10097): 849-60.
- 58=56. Chung D, Lee K, Reape KZ, High KA, Lacey S, Viriato D. Long-term effect of voretigene neparovec on the full-field light sensitivity threshold test of patients with *RPE65* mutation-associated inherited retinal dystrophy: post hoc analysis of phase I trial data. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2019; 60(9): 3398.
- 59=18. Maguire AM, Russell S, Wellman JA, Chung DC, Yu ZF, Tillman A, et al. Efficacy, safety, and durability of voretigene neparovec-rzyl in *RPE65* mutation-associated inherited retinal dystrophy: results of phase 1 and 3 trials. *Ophthalmology.* 2019; 126(9): 1273-85.
- 60=80. Ashtari M, Nikonova ES, Marshall KA, Young GJ, Aravand P, Pan W, et al. The role of the human visual cortex in assessment of the long-term durability of retinal gene therapy in follow-on *RPE65* clinical trial patients. *Ophthalmology.* 2017; 124(6): 873-83.
- 61=84. Pennesi ME, Weleber RG, Yang P, Whitebirch C, Thean B, Flotte TR, et al. Results at 5 years after gene therapy for *RPE65*-deficient retinal dystrophy. *Hum Gene Ther.* 2018; 29(12): 1428-37.
62. <https://rochepro.fr/aires-therapeutiques/optalmologie/actualites-et-innovations/optogenetique-discipline-premier-succes.html>
- 63=[1]. McClements ME, et al. Optogenetic Gene Therapy for the Degenerate Retina: Recent Advances. *Front Neurosci.* 2020 Nov 11;14:570909.
- 64=[2]. Picaud S, Sahel JA. Restauration de la vision Science-fiction ou réalité? *Médecine/sciences.* 2020;36:1038-44.
- 65=[3]. Trapani I & Auricchio A. Seeing the Light after 25 Years of Retinal Gene Therapy. *Trends Mol Med.* 2018 Aug;24(8):669-681.
- 66=[4]. Sahel JA, et al. Partial recovery of visual function in a blind patient after optogenetic therapy. *Nat Med.* 2021 Jul;27(7):1223-1229.
67. <https://crhmr.ciuss-estmtl.gouv.qc.ca/fr/actualite/premiere-quebecoise-en-therapie-genique-pour-redonner-la-vue-enfant>
68. Ben Yacoub T, Wohlschlegel J, Sahel JA, Zeitz C, Audo I. CRISPR/Cas9: de la recherche à l'application thérapeutique [CRISPR/Cas9: From research to therapeutic application]. *J Fr Ophtalmol.* 2023 Apr;46(4):398-407. French. doi: 10.1016/j.jfo.2022.10.008. Epub 2023 Feb 8. PMID: 36759244.