

Faire revoir un aveugle avec le système photosensible d'une algue : bientôt une réalité?

Serge Picaud est directeur de Recherche de l'INSERM à l'Institut de la vision de Paris¹.

1 La perception visuelle humaine

1.1. L'œil est une caméra intelligente

Sur le schéma d'un œil humain (*Figure 1A*), on peut voir au fond de l'œil la *rétine*, constituée de neurones, dont, les photorécepteurs², puis les couches de neurones constituant les circuits qui transforment les

stimuli lumineux en signaux biochimiques et en courants ioniques porteurs d'informations, et les envoient *via* le nerf optique au cerveau. La zone appelée la Fovéa, au centre de la *macula*, est très importante car c'est la partie responsable de notre grande acuité visuelle centrale, tout simplement parce que les photorécepteurs à cône sont en très grande densité et les seules cellules présentes à cette zone, les autres cellules étant un peu déportées sur les côtés, ce qui permet d'avoir la meilleure optique et donc la meilleure résolution.

1. www.institut-vision.org/fr

2. Photorécepteur : neurone sensoriel sensible à la lumière que l'on trouve sur la couche postérieure de la rétine.

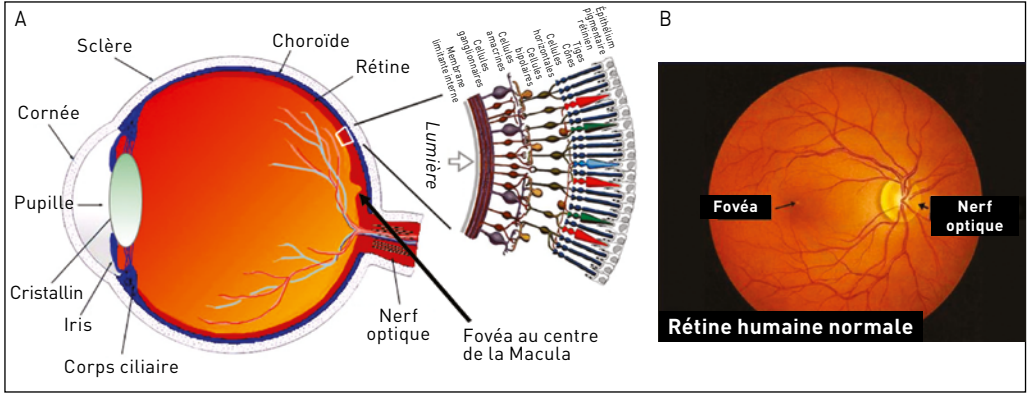


Figure 1

L' cil et la rétine. A) Structure de l' cil avec une coupe de la rétine. La coupe de rétine présente de la droite vers la gauche : l'épithélium pigmentaire rétinien, les photorécepteurs avec les cônes représentés en couleur selon leur sensibilité dans le bleu, le vert et le rouge ; B) image de la rétine au fond d' cil. La fovéa au centre de la macula ne contient que des photorécepteurs   cône à très haute densité pour produire notre meilleure acuité visuelle.

Source : <http://webvision.med.utah.edu/>

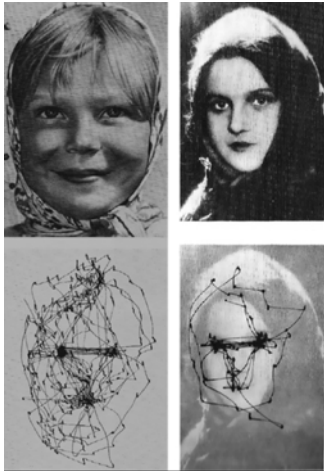


Figure 2

La stratégie de perception visuelle : la macula scanne d'abord les yeux, le nez, la bouche puis le reste du visage point par point, pour que le circuit neuronal envoie au cerveau une information globale du visage.

Source : d'après Yarbus 1959.

C'est avec la fovéa que nous examinons les détails d'une scène visuelle comme c'est le cas pour la reconnaissance d'un visage. La **Figure 2** montre comment nous scannons du regard des visages les yeux, le nez, la bouche, et enfin très rapidement le reste du visage (**Figure 2**).

1.2. Les photorécepteurs : cônes et bâtonnets

Nous possédons deux types de photorécepteurs : les cônes et les bâtonnets (**Figure 3**). Au niveau de la macula (fovéa), nous n'avons que des photorécepteurs de type *cône*, qui permettent de voir les couleurs (**Figure 4**). Les autres photorécepteurs, appelés *bâtonnets*, fonctionnent uniquement dans les conditions d'obscurité, comme par exemple le clair de lune (**Figure 4**). Dès qu'il y a un peu de lumière et que l'on voit les couleurs,

nous percevons par l'intermédiaire de nos cônes. Trois types de cônes permettent de voir les couleurs. Sur la **Figure 5A**, on observe le pic de haute densité des cônes au centre de la Fovéa dans la zone sans bâtonnet, mais le graphique montre que les

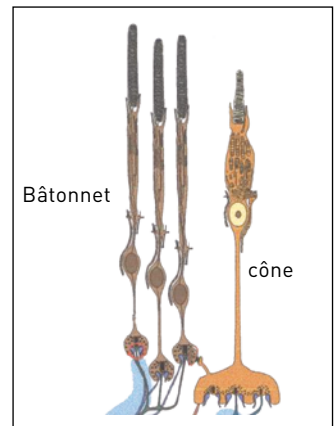


Figure 3

Les deux types de photorécepteurs rétiniens : les cônes et les bâtonnets.

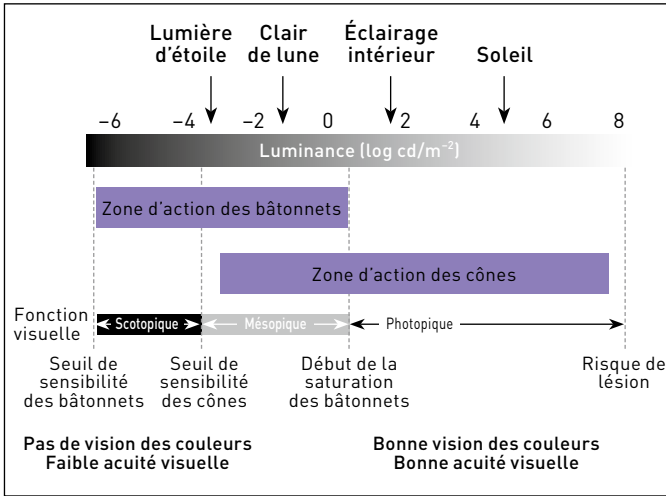


Figure 4

Domaines lumineux d'activité des cônes et des bâtonnets. Les bâtonnets ne sont sensibles qu'à de très faibles luminances (clair de lune) alors que les cônes peuvent s'adapter dans une très grande gamme de luminances.

cônes sont présents jusqu'à la périphérie (Figure 5B). Ce sont donc les cônes qui permettent de voir les couleurs dans tout notre champ visuel.

1.3. La rétine : un petit cerveau dans l'œil

La complexité du système de perception de la lumière par les photorécepteurs apparaît

sur le schéma pourtant simplifié de la Figure 6.

Les *rhodopsines* (protéines présentes dans les bâtonnets) absorbent les photons, et toute une chaîne moléculaire formant deux étapes d'amplification permet au photorécepteur d'être sensible à un seul photon. Ces réactions biochimiques d'amplification, appelées la

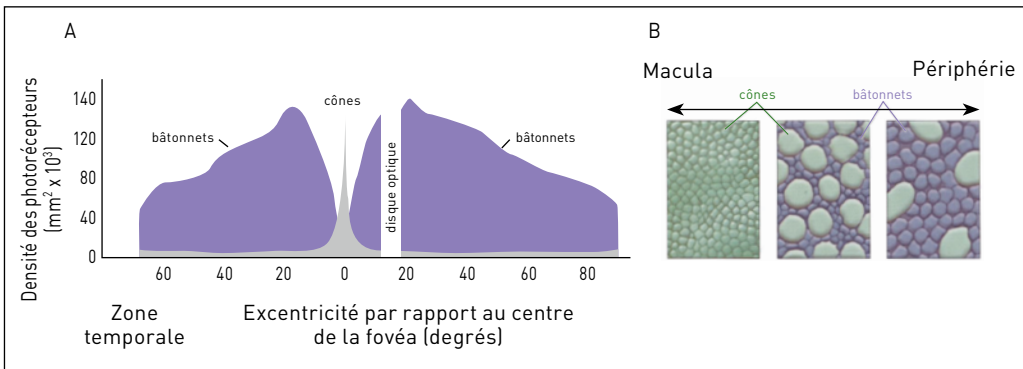


Figure 5

Distribution des photorécepteurs dans la rétine : A) répartition de la densité des photorécepteurs dans l'œil humain. Dans la macula, on observe un pic pour les cônes au centre, tandis que les bâtonnets sont surtout présents à la périphérie ; B) images de la distribution des cônes et des bâtonnets de la rétine en fonction de l'excentricité. Dans la macula, il n'y a que des cônes ; puis leur densité décroît vers la périphérie alors que leur taille augmente.

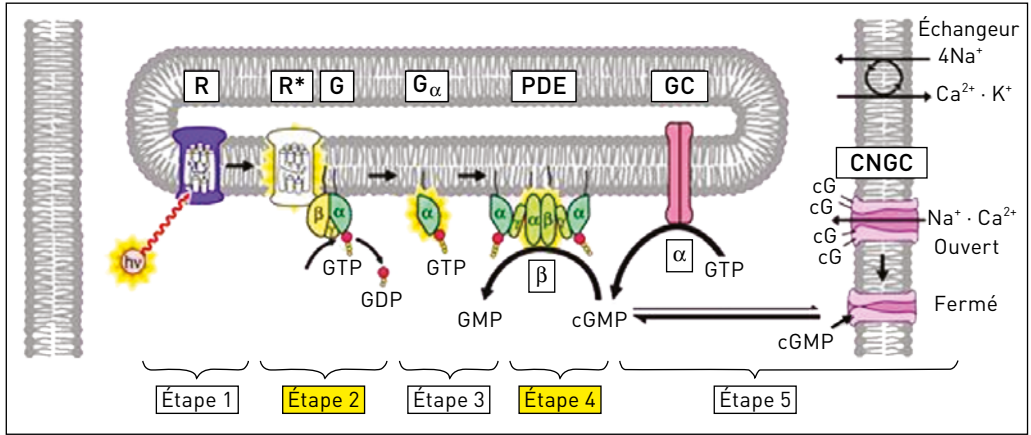


Figure 6

La cascade biochimique de phototransduction. Lorsqu'un photon $h\nu$ est capté par une rhodopsine, une série d'étapes aboutit à la fermeture des canaux ioniques ouverts dans l'obscurité (à droite de la figure).

cascade de phototransduction³, aboutissent à la fermeture de canaux ioniques qui sont ouverts dans l'obscurité. Par conséquent, la stimulation lumineuse induit la réduction d'un courant ionique qui maintient les photorécepteurs dans un état dépolarisé à l'obscurité. Plus l'intensité lumineuse est importante, plus ce courant est réduit et plus le photorécepteur est hyperpolarisé. Ce courant dit d'obscurité est porté par des ions Ca^{2+} et Na^+ .

La **Figure 7** montre que la précision de cette cascade de phototransduction permet d'établir une relation très précise entre l'intensité lumineuse reçue par les photorécepteurs et leurs potentiels de membranes. Cette relation précise est importante puisqu'elle va permettre de

communiquer très précisément aux neurones en aval l'intensité lumineuse mesurée.

Dans la rétine, les *cellules ganglionnaires* reçoivent les informations visuelles prétraitées par le circuit rétinien *via* les neurones intermédiaires tels que les cellules bipolaires, les cellules amacrine et les cellules horizontales. Les axones des cellules ganglionnaires forment le nerf optique, qui transmet les informations visuelles au cerveau.

Chez les souris actuellement, on sait comptabiliser jusqu'à quarante types de cellules ganglionnaires, ce qui signifie que nos informations visuelles sont divisées et envoyées au cerveau selon quarante canaux différents d'informations visuelles. La **Figure 8** montre la diversité de ces cellules ganglionnaires qui vont envoyer ce qu'on appelle des potentiels d'action au cerveau, c'est-à-dire des impulsions

3. Phototransduction : ensemble des processus biochimiques impliqués dans la conversion du signal lumineux en message nerveux.

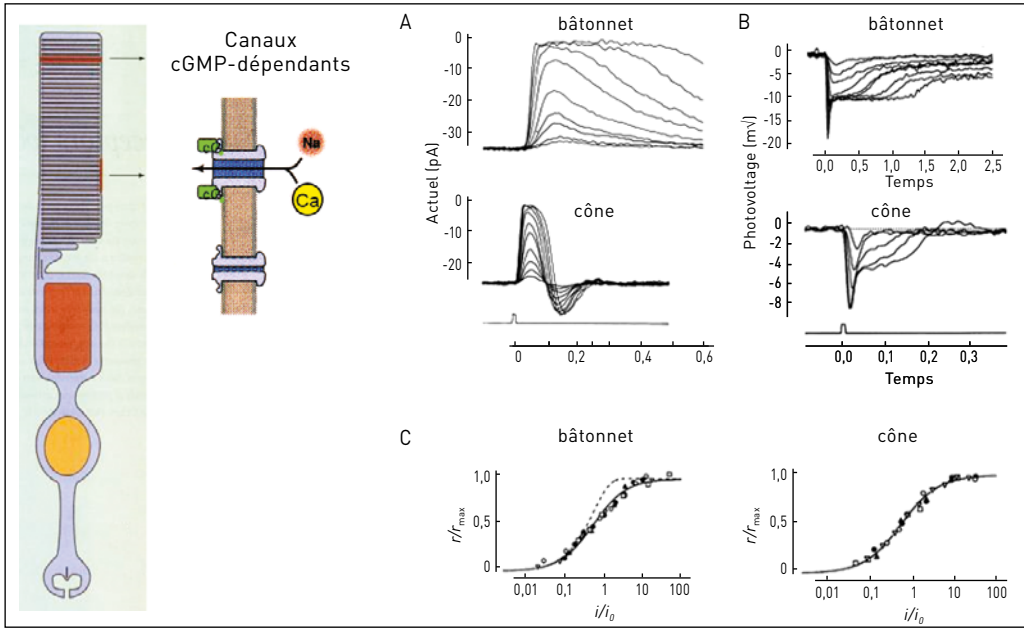


Figure 7

Réponse physiologique des photorécepteurs à la stimulation lumineuse. A) Réduction du courant ionique d'obscurité en fonction de flashes d'intensité croissante ; B) variation du potentiel de membrane en fonction de flash d'intensité croissante. Notons la lenteur de la réponse des bâtonnets par rapport à la dynamique rapide des cônes ; C) relation linéaire de l'activité des cônes et des bâtonnets en fonction de l'intensité lumineuse.

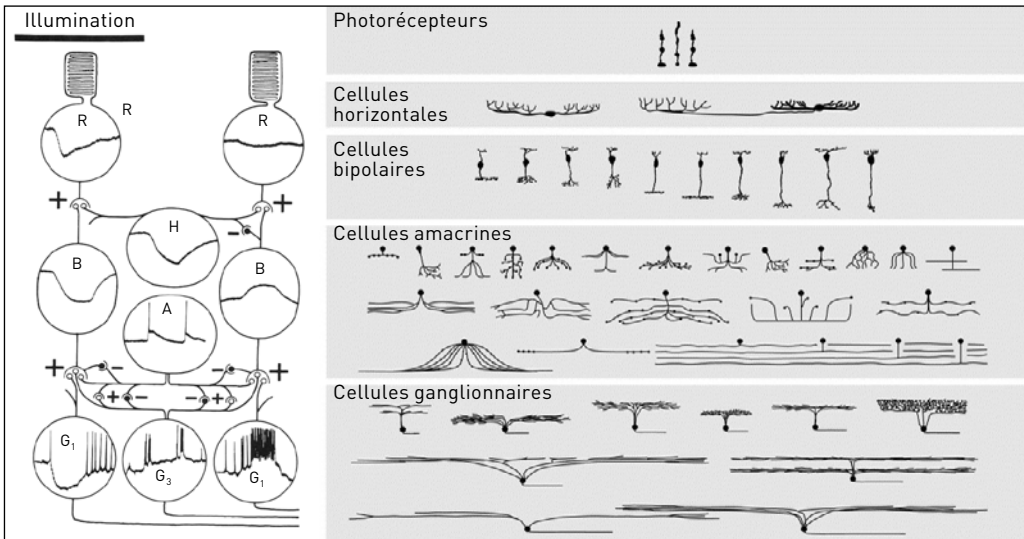


Figure 8

La rétine, un petit cerveau dans l'œil. Illustration de la diversité des cellules qui composent le circuit rétinien et qui traitent l'information visuelle avant son transfert au cerveau par les cellules ganglionnaires.

électriques ; c'est la fréquence de ces impulsions qui contiendra l'information sur la scène visuelle.

Il existe donc déjà dans la rétine tout un traitement sur le signal envoyé au cerveau, c'est pourquoi on dit souvent que la rétine est un petit cerveau. La rétine est même considérée par certains comme la partie la plus accessible du système nerveux central grâce à son accessibilité optique et mécanique.

2 Pathologies avec dégénérescence des photorécepteurs

La restauration visuelle a pour objet de redonner une vision utile à des patients devenus aveugles (**Figure 9**). Les résultats présentés dans ce chapitre sont limités à des patients ayant perdu leurs photorécepteurs, même si

des recherches sont aussi menées sur des patients qui ont perdu leurs cellules ganglionnaires, c'est-à-dire le lien œil/cerveau.

2.1. Les pathologies des photorécepteurs

Les photorécepteurs peuvent dégénérer dans différentes pathologies rétinienne comme les dystrophies rétinienne héréditaires et la dégénérescence maculaire⁴. Cette dernière est la plus fréquente puisque une personne sur quatre au-delà de soixante-quinze ans va en être affectée. Elle se caractérise par une perte centrale de notre champ visuel de très grande acuité (**Figure 10**),

4. Dégénérescence maculaire liée à l'âge : maladie de l'œil qui atteint la macula, la zone centrale de grande acuité pour notre rétine.

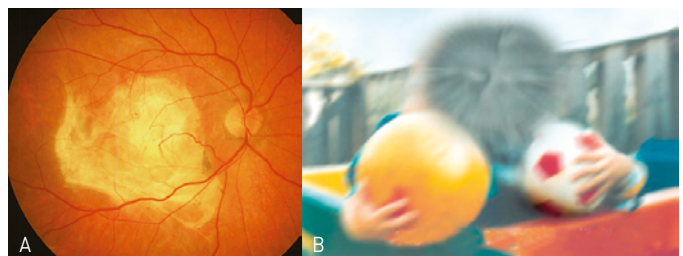
Figure 9

*Pour des patients devenus aveugles, peut-on leur redonner une perception visuelle ?
La parabole des aveugles,
Pieter Bruegel.*



Figure 10

La dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA). A) Image d'une rétine humaine affectée par une DMLA ; B) Les patients perdent la vision de la partie centrale de rétine : la macula.



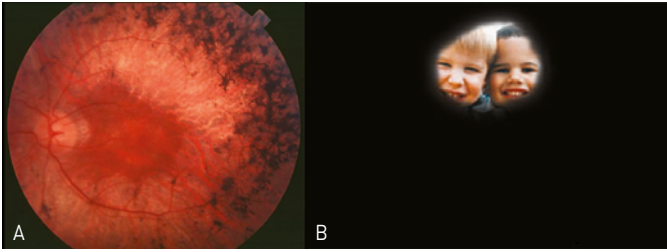


Figure 11

A) Image d'une rétine humaine affectée par une rétinopathie pigmentaire ; B) perte de la vision périphérique.

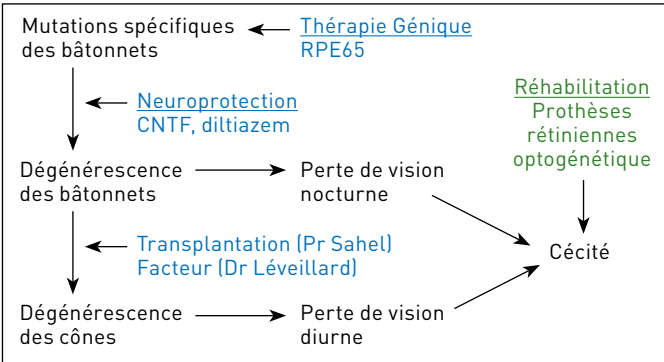


Figure 12

Les différentes approches thérapeutiques de la recherche sur la rétinopathie pigmentaire à l'Institut de la Vision de Paris.

cette perte centrale pouvant progressivement s'élargir vers la périphérie. Pour les dystrophies héréditaires, la plus fréquente est la rétinopathie pigmentaire⁵, qui touche une naissance sur 4 000. Pour cette pathologie, les patients perdent d'abord la vision périphérique, puis, malheureusement, finissent par perdre aussi leur vision tubulaire centrale (Figure 11).

2.2. Approches thérapeutiques et réparatrices de la rétinopathie pigmentaire

L'Institut de la Vision ne travaille pas uniquement sur

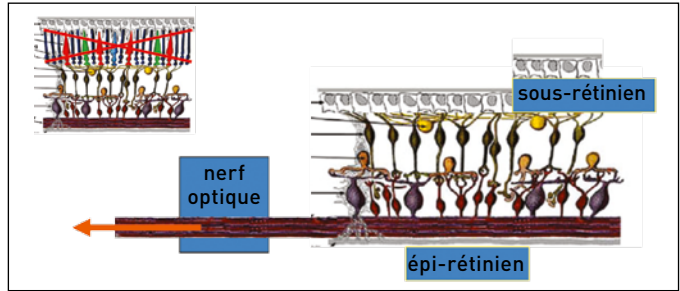
5. Rétinopathie pigmentaire : maladie génétique, caractérisée par la perte progressive des photorécepteurs associée à une multiplication des cellules pigmentaires formant des amas visibles au fond d'œil.

l'objectif de faire revoir des patients aveugles, mais développe aussi des recherches ciblant tous les stades des pathologies. Dans la rétinopathie pigmentaire, lorsque les bâtonnets sont encore vivants, ils peuvent soit être corrigés par thérapie génique, soit être traités par un agent neuroprotecteur afin de ralentir les disparitions. La mort des bâtonnets induit la dégénérescence des cônes. Le Professeur Sahel et Thierry Léveillard ont montré que cette interdépendance tient à la disparition d'un facteur trophique libéré par les bâtonnets. Sa réintroduction par thérapie génique permet de ralentir la dégénérescence des cônes. Si l'échelle de temps était conservée entre la souris et l'homme, cette stratégie pourrait permettre aux patients de continuer à voir tout au long de la vie (Figure 12).

Figure 13

Le concept des prothèses rétiniennes. Après la perte des photorécepteurs, l'information visuelle est transformée en signal électrique par un dispositif externe qui transfère ce signal électrique à des matrices d'électrodes soit sous-rétinienne, soit épî-rétinienne, voire autour du nerf optique. L'objectif est d'activer les neurones résiduels afin qu'ils envoient une information visuelle puis au cerveau via le nerf optique.

Source : d'après Webvision.



2.2.1. Le concept des prothèses rétiniennes pour les patients aveugles

Lorsque les patients perdent leurs photorécepteurs, il reste les deux autres couches de neurones. La question à laquelle proposent de répondre les prothèses rétiniennes est de savoir si l'on peut redonner une perception visuelle à des patients aveugles en stimulant ce réseau résiduel.

Ce concept des prothèses rétiniennes, résumé sur la Figure 13, consiste à placer une matrice d'électrodes de stimulation (carré bleu) soit à la place des photorécepteurs en sous-rétinien soit dans le vitré en épî-rétinien. Ces matrices d'électrodes doivent être stimulées à partir d'un

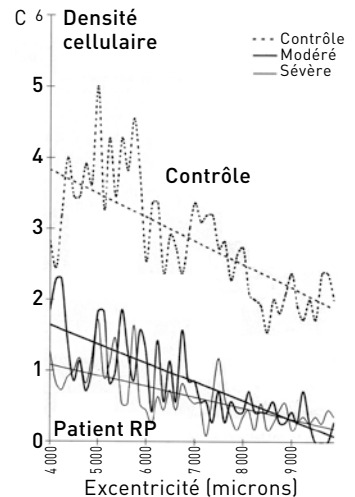
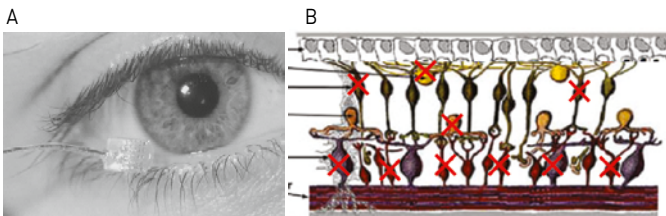
dispositif externe comprenant une caméra (ou capteur optique) et un encodeur de l'information visuelle sous forme de stimulations électriques. Différentes formes de communication peuvent être mises en place pour transférer l'information visuelle du dispositif externe vers la matrice d'électrodes. L'activation de la matrice d'électrodes doit permettre de produire des courants qui vont localement activer les neurones rétiniens résiduels afin qu'ils envoient les informations visuelles via le nerf optique au cerveau.

Après la perte des photorécepteurs, les patients peuvent aussi perdre jusqu'à 3/4 des cellules neuronales sous-rétiniennes (Figure 14).

Figure 14

Dégénérescence secondaire et perception visuelle induite par une stimulation électrique. A) Premier implant utilisé en aigu pour stimuler la rétine de patients aveugles ; B) représentation schématique de la dégénérescence secondaire des neurones de la rétine interne après la disparition des photorécepteurs ; C) densités cellulaires des cellules ganglionnaires de la rétine chez une personne contrôle et deux patients atteints de rétinopathie pigmentaire (RP). Notons la disparition de 2/3 à 3/4 des cellules chez les patients.

Sources : Humayun et coll. (1996, 1999) ; webvision.



L'enjeu des premiers essais cliniques était de montrer que malgré cette dégénérescence neuronale, la stimulation électrique des neurones résiduels engagés dans un processus de dégénérescence pourrait induire une perception visuelle. La **Figure 14** présente le premier dispositif qui, appliqué sur la rétine de patients, a permis de démontrer que, malgré leur dégénérescence secondaire, la stimulation électrique des neurones rétiniens résiduels est en mesure de produire des phosphènes ou percepts visuels tels que des points, des taches de tailles variables.

2.2.2. Exemples de prothèses rétiniennes

La **Figure 15** présente le dispositif de l'entreprise Second Sight Medical Products, dans lequel les patients portent des lunettes disposant d'une caméra pour produire des images qui sont envoyées sur un microprocesseur les transformant en codes de stimulation électrique. Ces codes sont envoyés *via* un émetteur par radiofréquence vers l'antenne

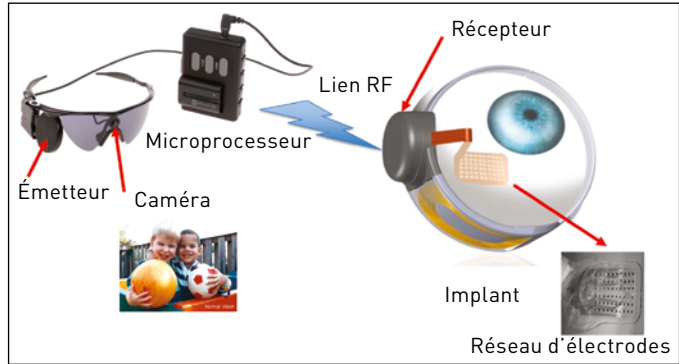


Figure 15

Schéma de l'implant rétinien Argus® II, produit par l'entreprise Second Sight Medical Products. Sources : www.secondsight.com.

du récepteur attaché autour de l'œil. Ce récepteur contient une puce électronique qui génère les courants communiqués via une nappe de fils à la matrice d'électrodes fixée sur la rétine. De cette matrice d'électrodes sortent les courants de stimulation électrique pour activer les neurones qui vont transmettre l'information au cerveau.

Sur la **Figure 16**, on voit qu'avec un implant de ce type, le patient réussit à localiser un carré blanc sur un écran quand le système est allumé. Cette perception est stable dans le temps, donc *a priori*, il n'y a pas de rejet de l'implant.

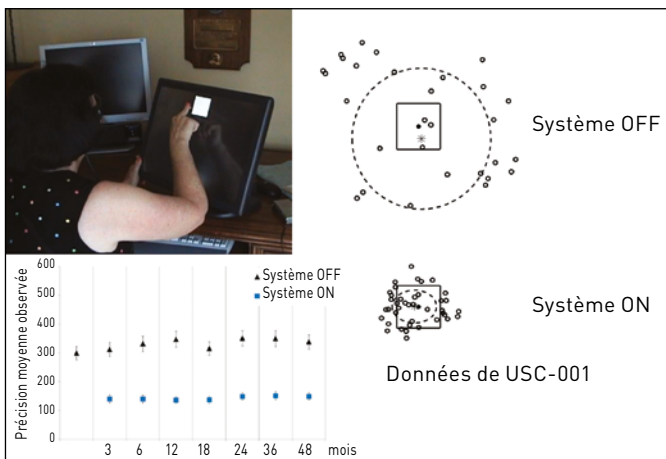


Figure 16

Test de localisation d'un carré avec le dispositif Argus II. Résultat de l'expérience avec le système éteint ou allumé (les cercles en pointillés représentent les distances moyennes au centre). Le graphique montre la stabilité des réponses dans le temps pour ce test sur une durée de quatre ans.

Avec un implant à 60 électrodes, un patient implanté au centre National Hospitalier d'Ophtalmologie des quinze-vingts dans le service du Professeur Sahel réussit à lire des mots sur un écran (**Figure 17**). Ce dispositif a obtenu l'autorisation de mise sur les marchés américain et européen.

La **Figure 18** présente l'implant de la société Pixium Vision,

une start-up de l'Institut de la Vision : c'est un dispositif basé sur le même principe, dans lequel il y a 150 électrodes à l'extrémité de l'implant. Ce système a également obtenu le marquage européen pour être mis sur le marché et a obtenu récemment le droit au forfait innovation du ministère de la Santé. Ces dispositifs sont dès à présent implantés chez des patients.

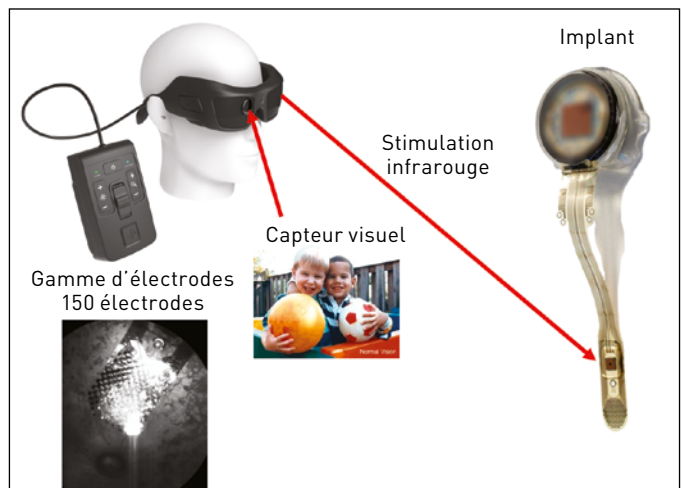
Figure 17

Un patient aveugle arrive à lire grâce à un implant à 60 électrodes (dispositif Argus II).



Figure 18

Prothèse rétinienne Pixium vision avec un implant à 150 électrodes. Source : Pixium Vision.



Les essais cliniques ont été réalisés avec système précédent contenant un implant à 49 électrodes. La **Figure 19** montre les performances d'un patient qui peut se saisir d'une bouteille blanche.

Ces premiers dispositifs contiennent des implants avec 60 à 150 électrodes. Cependant, des études psychophysiques⁶ ont montré

6. Psychophysique : branche de la psychologie expérimentale qui cherche à déterminer les relations quantitatives qui existent entre un stimulus physique et la perception qu'on en a.

qu'il faudrait au moins 600 électrodes pour que les patients puissent reconnaître des visages, se déplacer de façon autonome et lire des textes complexes (**Figure 20**).

Il existe déjà des implants contenant 1 600 électrodes comme celui de l'entreprise allemande Retina Implants AG (**Figure 21**). Malheureusement, les tests ont montré que les patients n'atteignent pas les performances visuelles attendues des études psychophysiques si chaque électrode était convertie en un pixel. Il faut donc rechercher ce qui limite la résolution.



Figure 19

Un patient aveugle arrive à saisir un objet grâce à un implant à 49 électrodes de la Société Pixium vision.

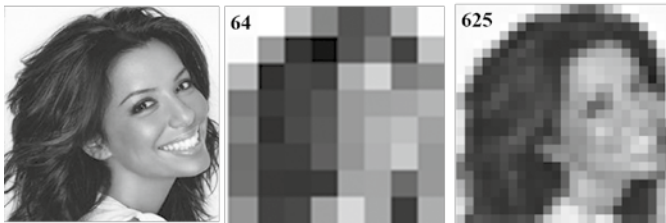


Figure 20

Influence du nombre de pixels pour la reconnaissance des visages. Le visage n'est pas identifiable sur l'image à 64 pixels alors qu'il le devient sur l'image à 625 pixels.

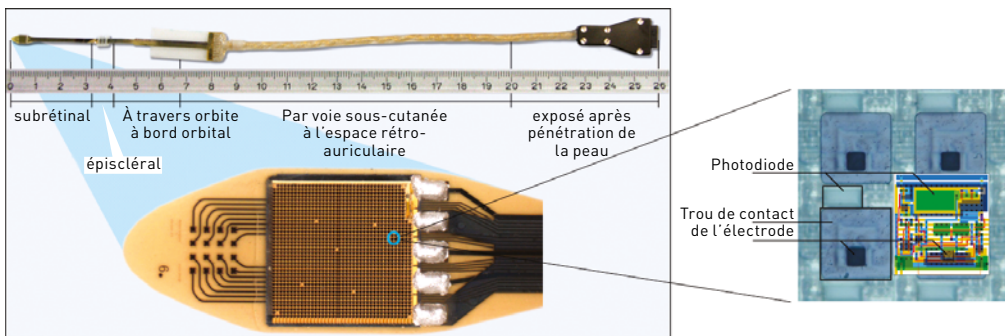
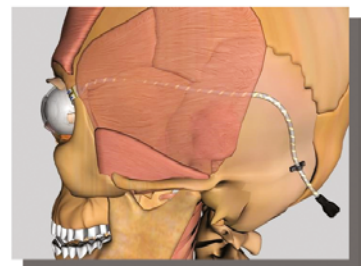


Figure 21

Implant à 1 600 électrodes de l'entreprise Retina Implant AG. L'implant a sa partie terminale (gauche) sous la rétine. Le câble sort de l'œil pour cheminer jusque derrière l'oreille où une connexion transdermique pourra être réalisée avec une alimentation électrique. La partie terminale de l'implant contient 16 électrodes passives et une puce électronique contenant 1 600 électrodes. La sous-unité associée à chaque électrode est constituée d'une photodiode transformant la lumière en une activité électrique, un circuit électrique amplifiant ce courant et l'électrode libérant le courant amplifié.



La différence entre la réalité et les estimations psychophysiques pourrait résulter de la répartition des électrodes sur l'implant. En effet, actuellement, le courant émis au niveau des électrodes de stimulation doit retourner au niveau d'une masse commune distante (Figure 22A). La modélisation des courants montre une faible différence entre la zone stimulée et les zones adjacentes (Figure 22D). Une masse locale permettrait de limiter la diffusion des courants et ainsi d'augmenter cette différence. C'est pourquoi le mode bipolaire (Figure 22B) et la grille de

masse (Figure 22C) ont été proposés. Dans le premier, la nécessité d'un fil pour chaque électrode et pour chaque masse locale induit un doublement du nombre de fils. La grille de masse limite ce problème et la modélisation montre que la différence entre la zone stimulée et les zones adjacentes pourrait être très importante et que cette différence est d'autant plus importante que la grille de masse est conductrice (Figure 22D). La conductivité de la grille de masse peut être améliorée par l'utilisation de matériaux innovants comme le diamant et le graphène, qui ont été

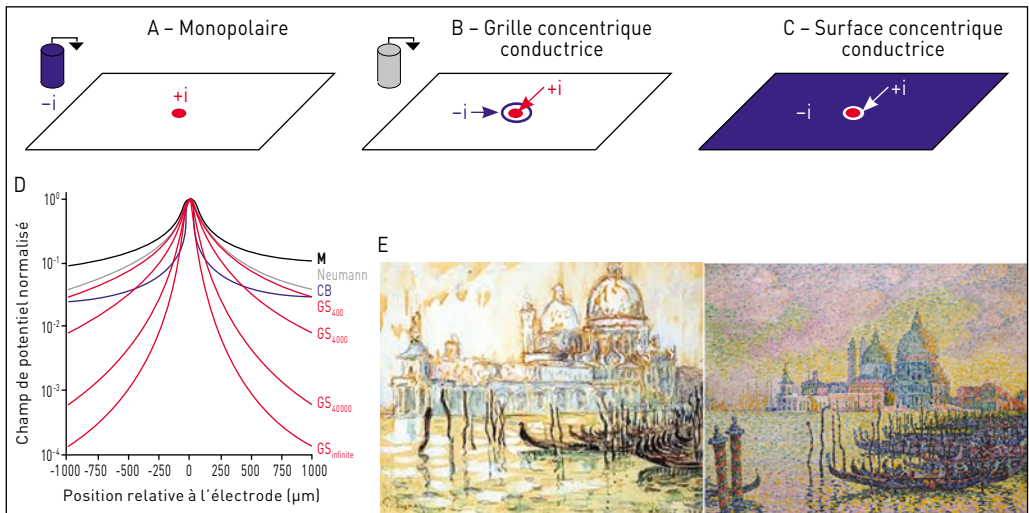


Figure 22

Résolution et configuration des matrices d'électrodes : A) masse commune distante. Le courant est émis au niveau des électrodes de stimulation (rouge) et revient au niveau de la masse commune (bleue) ; B) configuration bipolaire : autour de chaque électrode de stimulation, est placée une électrode de retour. Cette configuration augmente le nombre d'électrodes et donc de fils ; C) grille de masse. Le courant produit au niveau des électrodes de stimulation revient au niveau de la grille de masse. D) Modélisation des différentes configurations. La masse commune distante produit des niveaux de courants au niveau de l'électrode de stimulation et des zones adjacentes relativement proches (M en noir). La configuration concentrique du courant augmente cette différence (CB en bleu). L'augmentation par la grille de masse est très dépendante de sa conductivité. Les différentes courbes représentent les valeurs pour différentes conductivités de la grille de masse (GS en rouge). E) Grand canal de Venise peint par Paul Signac montrant la différence de résolution entre aquarelle (à gauche) et pointillisme (à droite). La peinture à l'huile permet de produire bien plus de détails bien que le tableau présente un champ plus large que l'aquarelle.

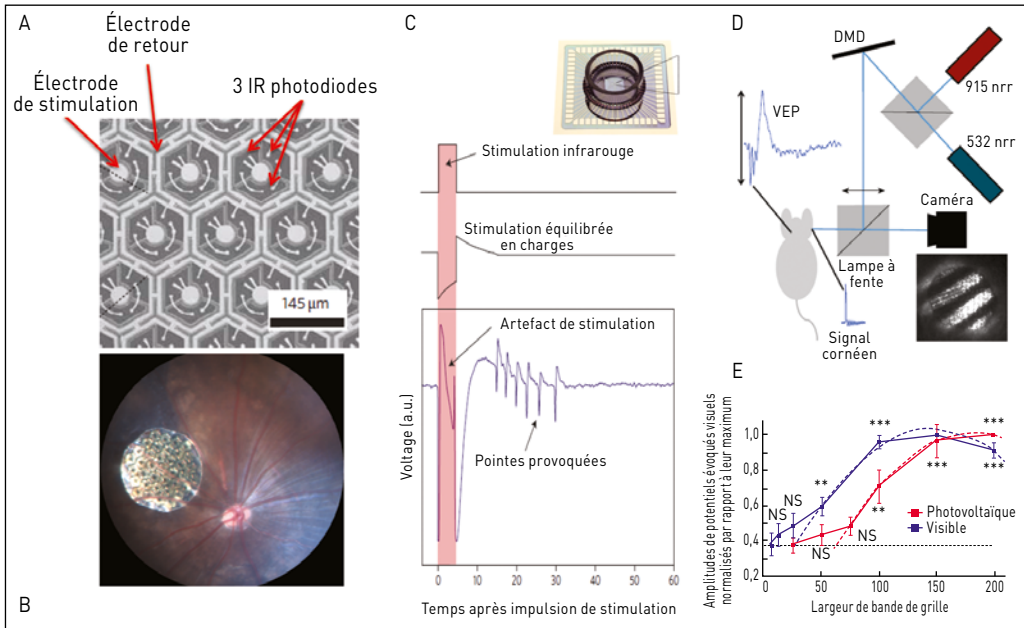


Figure 23

Implant sous-rétinien sans fil sensible aux infrarouges. A) Schéma fonctionnel de l'implant ; B) l'implant sous la rétine de rat ; C) potentiel d'action observé sur la rétine de rat après stimulation infrarouge. La première courbe représente le déroulement temporel de la stimulation infrarouge, la seconde les courants produits par l'implant, la troisième l'enregistrement de la rétine ex vivo montrant l'artefact de stimulation suivi des potentiels d'action émis par les cellules ganglionnaires ; D) schéma de principe du dispositif d'enregistrement des potentiels évoqués visuels (VEP) sur le rat lors de la stimulation de l'implant en infrarouge par une grille de fréquence spatiale variable ; E) amplitude des potentiels évoqués visuels en fonction de la largeur de bande de la grille de stimulation sur l'implant. La réponse est observée en alternant la position blanche/noire des barres (voir la Figure 3D).

NS = non statistiquement significatif ; DMD = digital micromirror device (matrice de micro-miroirs).

Source : d'après Mathieson et coll. (2012) ; Lorach et coll. (2015).

testés pour leur biocompatibilité sur les neurones rétiniens tant *in vitro* qu'*in vivo*. Pour mieux comprendre le problème, une analogie peut être établie entre cette augmentation de la résolution spatiale de l'image avec la peinture. En effet, une analogie sur la diffusion des courants avec une masse commune distante peut être réalisée avec la peinture aquarelle à l'eau qui diffuse très largement produisant une image de faible résolution (Figure 22E). À l'inverse, la peinture à l'huile, qui

diffuse peu, peut être comparée à la grille de masse qui va contenir localement les courants générant ainsi une image pointilliste de très haute résolution (Figure 22E). Cette très haute résolution permet à Paul Signac de représenter le grand canal de Venise avec bien plus de détails en pointillisme que lorsqu'il peint à l'aquarelle malgré le champ plus large à la peinture à l'huile.

La Figure 23A présente un nouvel implant de stimulation avec une telle grille de

masse sous la forme de nid d'abeille, et la grille de masse autour des électrodes de stimulation est située au centre des alvéoles. Le premier cercle autour des électrodes de stimulation est constitué de photodiodes infrarouge qui procurent l'énergie localement pour activer l'électrode centrale et peuvent être activées à distance. Des tests réalisés avec ce type d'implants produits par Daniel Palanker à l'Université de Stanford et implanté au fond de l'œil d'un rat aveugle (**Figure 23B**) ont montré qu'on obtient une activité de la rétine, avec acuité visuelle moitié moindre que celle d'un rat normal.

En partenariat avec l'entreprise Pixium Vision, l'Institut de la Vision réalise des tests précliniques sur ce type d'implant produit selon un processus industriel compatible avec leur mise sur le marché. Pour préparer ce transfert clinique, les tests sont réalisés sur la rétine de primates non-humains très proche de celle de l'homme tant par l'organisation fonctionnelle que par la taille des cellules. Dans un premier temps, les implants sont testés sur des rétines de primates *ex vivo* sur lesquelles les photorécepteurs ont été enlevés afin de modéliser la rétine pathologique. À nouveau, l'implant est positionné à la place des photorécepteurs et une matrice d'électrodes (multi-electrode array) est utilisée sur l'autre côté de la rétine pour enregistrer les potentiels d'action des cellules ganglionnaires de la rétine. Ces mesures montrent que la stimulation de l'ensemble de

l'implant induit bien une activation de la rétine dans une gamme compatible avec les standards de sécurité. La stimulation de pixels individuels indique que certaines cellules ganglionnaires sont sensibles à l'activation d'un seul pixel et pas de ses voisins proches ou distants.

2.2.3. Activation *in vivo* d'une rétine dégénérée de primate

Ces résultats *ex vivo* nous ont amenés à tester l'efficacité des implants *in vivo* (**Figure 24**). Pour cela, deux singes ont été entraînés à effectuer une tâche visuelle. Après fixation du regard en position centrale, une cible est présentée en proche périphérie. Le primate apprend alors à bouger les yeux dans la direction de la cible périphérique. Cette saccade permet d'attester de la perception visuelle par l'animal.

L'objectif est alors de tester la perception visuelle du primate dans la zone de l'implant lors d'une stimulation infrarouge. L'introduction d'un implant sous-rétinien en position légèrement périphérique induit une dégénérescence des photorécepteurs à ce niveau car l'implant les sépare de l'épithélium pigmentaire et de la choroïde dont ils obtiennent tous leurs métabolites. Tout un dispositif optique est mis en place pour stimuler la rétine soit dans le visible soit dans l'infrarouge (**Figure 25**). La stimulation en lumière visible indique l'absence de perception naturelle au niveau de l'implant qui produit localement une zone aveugle. Par contre, la stimulation infrarouge restore

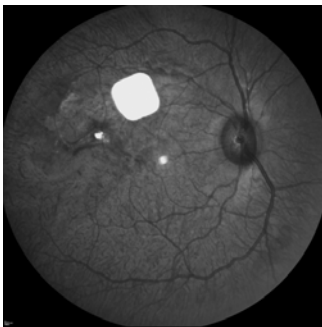


Figure 24

Implant de stimulation infrarouge positionné sous la rétine d'un primate : les photorécepteurs dégénèrent sous l'implant car celui-ci les sépare de leur tissu nourricier, la choroïde.

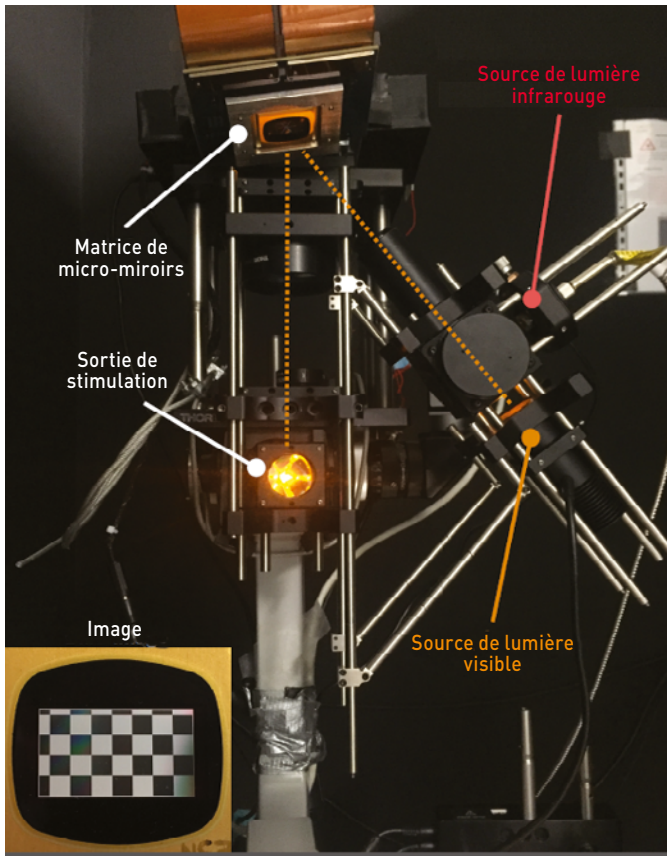


Figure 25

Test visuel des primates : dispositif de test d'activation in vivo de la rétine dégénérée d'un primate.

une perception artificielle au niveau de l'implant alors que cette même stimulation infrarouge n'est pas efficace en dehors de l'implant. Ces résultats indiquent que l'activation infrarouge de l'implant induit une perception visuelle. Ils devraient permettre l'entrée en clinique de ces implants rétiniens.

3 La thérapie optogénique

Les implants photovoltaïques avaient au départ des pixels d'une taille de 140 μm et ceux utilisés dans les expériences décrites ci-dessus une taille de 100 μm . Cette diminution

de taille de pixel sera limitée car la grille de masse ne peut venir au contact de l'électrode de stimulation, du fait que les courants électriques de stimulation ne pourraient plus pénétrer dans le tissu (**Figure 26**).

Pour atteindre une résolution cellulaire, une approche alternative repose sur l'utilisation du système visuel d'une algue. Nous avons vu précédemment la complexité du système visuel des vertébrés avec toute la cascade de phototransduction dans les photorécepteurs qui requièrent plusieurs protéines. Il est impossible de réintroduire une telle machinerie dans une cellule qui

Figure 26

Évolution de la dimension des pixels des implants rétiniens.

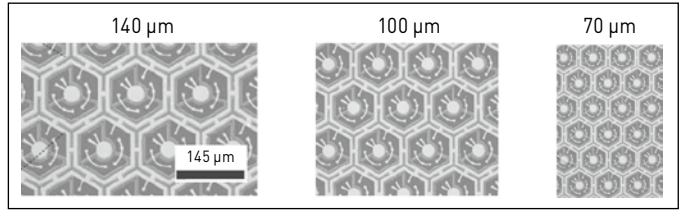


Figure 27

Comparaison de la complexité des systèmes visuels des vertébrés et des algues unicellulaires photosensibles. A) Vertébrés : la photostimulation de la protéine entraîne la fermeture du canal ionique du photorécepteur à travers une machinerie moléculaire complexe ; B) algue unicellulaire photosensible : la photostimulation de la protéine entraîne l'ouverture du canal ionique de l'algue.

Source [arbre évolution] : 123rf, ekaterinabaikal.

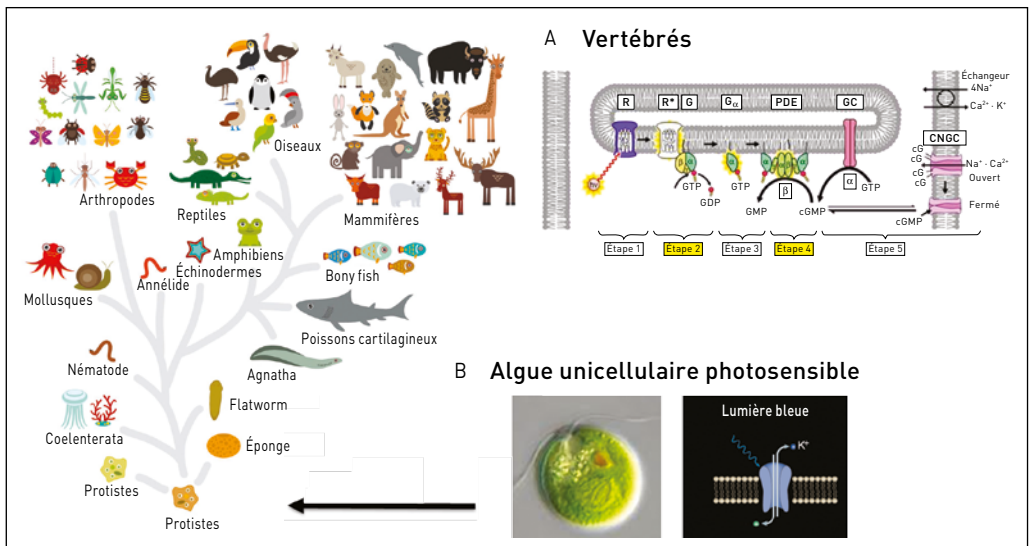
normalement n'est pas un photorécepteur (Figure 27A). On sait en revanche que les algues unicellulaires possèdent une sorte de système visuel puisque qu'elles sont capables de se déplacer vers la lumière. Dans ce système visuel infiniment plus simple, le principe de base est le même. La perception est produite par une protéine qui cette fois ouvre un canal ionique, et il y a donc un lien direct entre la perception d'un photon et la production d'un courant ionique (Figure 27B).

3.1. Principe de la thérapie optogénétique

Le principe de la thérapie optogénétique est d'extraire

le code génétique de la protéine qui est exprimé dans la membrane de ces algues, de l'introduire dans un vecteur de thérapie génique, puis d'injecter ce vecteur de thérapie génique dans l'œil. Le vecteur de thérapie génique diffuse jusque dans la rétine, puis pénètre dans les neurones résiduels de la rétine. Ces neurones devraient alors exprimer cette protéine d'algue, et donc n'importe quel neurone devrait devenir sensible à la lumière. Il devrait être alors possible de pouvoir prendre le contrôle optique de ce neurone et donc de l'activer à distance (Figure 28).

Le chercheur Zao Pan à Détroit est le premier à avoir réussi à exprimer cette



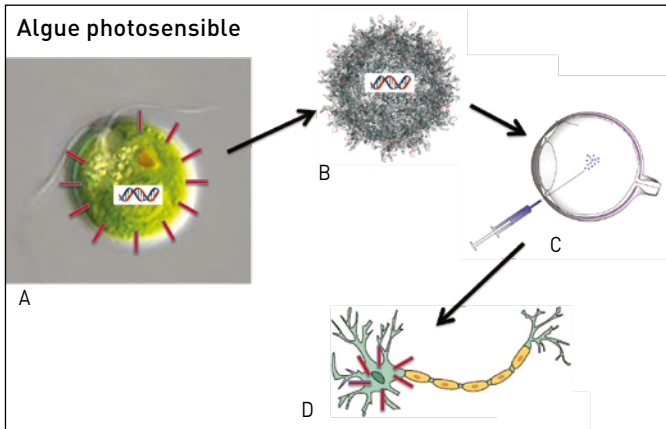


Figure 28

Principe de la thérapie optogénétique : A) extraction du code génétique de la protéine photosensible à partir de la membrane de l'algue ; B) introduction dans un vecteur de thérapie génique ; C) injection dans l'œil à traiter ; D) pénétration du vecteur de thérapie génique et expression de la protéine photosensible dans les neurones de la rétine.

protéine photosensible dans les cellules ganglionnaires de la rétine, ces cellules qui envoient les signaux visuels au cerveau. Sur une rétine de souris aveugle, il a montré qu'effectivement, lorsqu'elles sont stimulées par la lumière, ces cellules ganglionnaires sont capables d'envoyer des signaux et que plus l'intensité lumineuse est élevée, plus la cellule ganglionnaire génère ces potentiels d'action.

Nous avons refait ces tests sur une rétine isolée de souris, dont nous avons enregistré l'activité. Nous avons même enregistré les signaux qui arrivent dans le cerveau au niveau du cortex visuel. Ce qui est remarquable c'est que ces signaux sont en fait beaucoup plus rapides que les signaux naturels, tout simplement parce que la cascade de phototransduction dans les photorécepteurs prend du temps alors que la protéine

photosensible est beaucoup plus rapide.

3.2. Efficacité de la thérapie optogénétique sur les primates non humains

Pour savoir si on pourrait appliquer la thérapie optogénétique à des patients, nous l'avons testée sur des primates non humains. Afin de visualiser la zone où la protéine photosensible s'exprime, nous avons utilisé un gène rapporteur, c'est-à-dire le gène codant pour une protéine fluorescente qui émet donc une lumière verte sous excitation bleue. Si chez la souris l'expression de la protéine peut être répartie dans toute la rétine, chez le primate, elle ne s'exprime que dans une zone dite péri-fovéolaire (autour de la fovéa). Cette expression est particulièrement bienvenue puisque cette zone est très importante

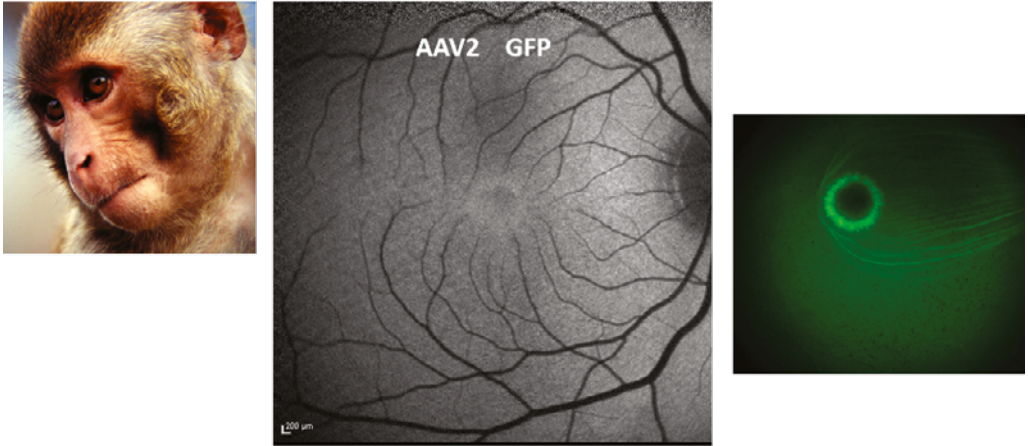


Figure 29

Application de la thérapie optogénétique à un primate : la protéine photosensible s'exprime dans la zone autour de la fovéa. Les images du fond d'œil et de la coupe optique in vivo de la rétine ne montre aucune altération de la structure du tissu.

Source : d'après Chaffiol *et coll.*, (2017).

pour notre perception visuelle (Figure 29).

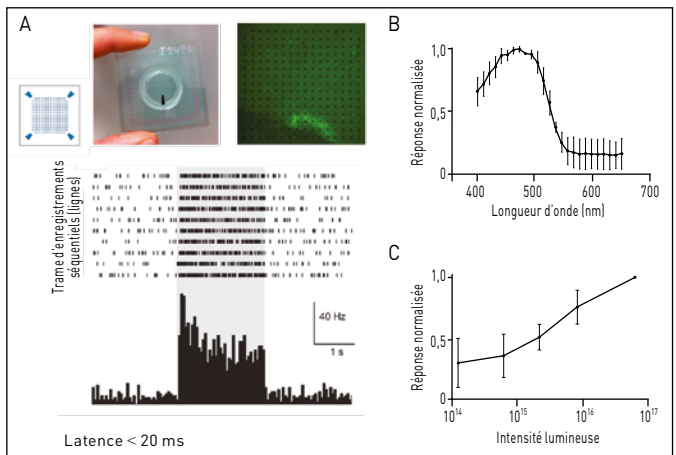
L'activité électrique des cellules ganglionnaires a de nouveau été étudiée ex vivo sur matrice d'électrodes. Lorsqu'on stimule avec la lumière (Figure 30), on observe de nombreux potentiels d'action, chaque trait sur la figure représentant un potentiel d'action et chaque ligne un enregistrement. La fréquence de décharge des potentiels d'action est grandement augmentée pendant la période de stimulation optique (zone grise). L'activité

électrique dépend de la longueur d'onde de stimulation visuelle et correspond bien au spectre lumineux d'activation de l'opsine microbienne (Figure 30B). L'activation est également obtenue uniquement avec des intensités lumineuses très élevées comme attendu pour une opsine microbienne (Figure 30C). Ces intensités lumineuses correspondent à la lumière du soleil à la plage ou à la montagne sur la neige. Ce sont donc des intensités très élevées qui ne seraient pas au domicile du patient ou même

Figure 30

Fonctionnalité de la thérapie génique sur la rétine de primates non humains. A) De nombreux potentiels d'action sont produits par la protéine optogénétique stimulée par la lumière dans les cellules ganglionnaires. La fréquence de potentiels d'action (points) augmente pendant la stimulation optique (zone grise). Chaque ligne représente un enregistrement et l'histogramme l'effet cumulatif des enregistrements ; B) les réponses dépendent de la longueur d'onde de stimulation ; C) l'activité dépend de l'intensité lumineuse : il faut une lumière très intense.

Source : d'après Chaffiol *et coll.* (2017).



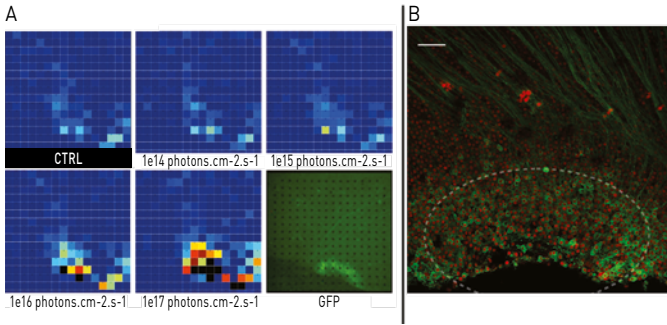


Figure 31

A) Corrélation entre activité et expression de l'opsine. Chez les primates, la protéine photosensible est exprimée dans la zone périfovéolaire (demi-fovea : zone verte visualisée par la protéine verte fluorescente, GFP). L'activité est mesurée en réponse sous différentes intensités lumineuses dans la zone d'expression de l'opsine. B) Visualisation des cellules exprimant l'opsine (verte) qui sont identifiées avec un marqueur (rouge) des cellules ganglionnaires.

Source : d'après Chaffiol et coll. (2017).

généralement à l'extérieur. Il faudra donc amplifier les signaux visuels pour obtenir la perception des patients.

La **Figure 31** confirme que la protéine photosensible s'exprime uniquement dans la zone très centrale de la macula et qu'en fait, la thérapie optogénétique ne fonctionne pas du tout de la même manière sur une rétine de souris que sur une rétine de primate. Cette figure illustre avec plus de détails de cette zone centrale de la rétine avec un marqueur identifiant les cellules fluorescentes comme des cellules ganglionnaires de la rétine. Environ un tiers des cellules ganglionnaires exprime la protéine photosensible.

Sur la matrice d'électrodes, l'activité des cellules ganglionnaires est bien corrélée avec la zone où l'on observe

l'expression de la protéine. La carte d'activation des cellules est exprimée pour différentes intensités lumineuses montrant cette dépendance pour des intensités élevées. Donc, dans la mesure où il faut des intensités très élevées pour observer une réponse au stimulus, les patients devront porter des lunettes pour normaliser les intensités lumineuses dans cette gamme de sensibilité de la protéine photosensible.

3.3. Prototypes de stimulateurs visuels

Nous sommes déjà à la troisième génération de prototypes de lunettes de ce type. La **Figure 32** présente des lunettes de l'entreprise Pixium Vision.

Ces lunettes intègrent des caméras particulières, qui ne



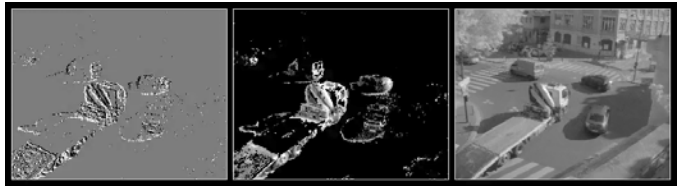
Figure 32

Troisième génération de prototypes de lunettes de l'entreprise Pixium Vision.

Source : Pixium Vision.

Figure 33

Images enregistrées par une caméra qui capture les changements d'intensité lumineuse : le défilement de ces photos donne l'impression de mouvement.



produisent pas des images comme dans une caméra classique. Les caméras classiques font des photos toutes les 30 ms et c'est le défilement de ces photos qui donne l'impression du mouvement (Figure 33).

Les nouvelles caméras ne capturent que les changements d'intensité lumineuse faisant également une mesure de l'intensité lumineuse au niveau des pixels modifiés, ce qui permet d'actualiser à la microseconde près l'image en noir et blanc. L'avantage de ces caméras est donc leur rapidité, de limiter la redondance des informations à transférer et l'absence de contrejour. En utilisant ces nouvelles caméras, nous avons montré que nous pouvons reconstituer l'activité physiologique de toutes les cellules ganglionnaires de la rétine à la milliseconde près et produire toutes les informations visuelles envoyées au cerveau par les différentes mosaïques de cellules ganglionnaires.

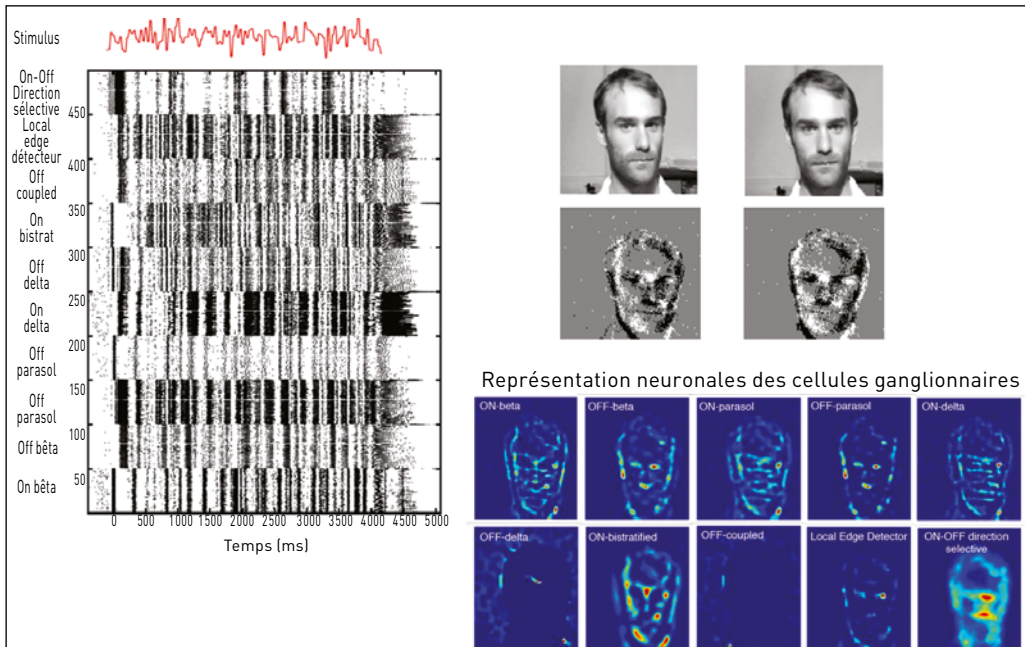
En revanche, alors que différentes images d'un visage sont envoyées au cerveau par les cellules ganglionnaires (Figure 34), les lunettes du patient devront se fixer une seule transformation des informations visuelles et donc stimuler correctement uniquement un seul type de cellules ganglionnaires.

3.4. L'importance du choix du stimulus

On peut stimuler plusieurs types de cellules ganglionnaires et il faut sélectionner un stimulus qui corresponde soit aux cellules ON beta, OFF beta, ou à un autre type. Il va falloir choisir. C'est à ce niveau que les études cliniques sont importantes pour demander au patient ce qu'il perçoit et comment il perçoit en fonction du choix fait, et finalement ce qui va être le mieux adapté pour lui permettre de revoir. Les essais cliniques devraient être programmés pour la fin de l'année 2017.

Il reste à montrer que lorsqu'un neurone est décoré par cette protéine d'algue, le système immunitaire, qui est là pour reconnaître les particules étrangères, ne va pas reconnaître ces neurones décorés comme des algues, c'est-à-dire comme des cellules étrangères, car auquel cas il y aurait un problème de rejet. Pour l'instant, nous n'avons rien vu de tel, et nous sommes très optimistes.

La recherche se poursuit pour améliorer cette approche thérapeutique. Si nous réussissions à remonter plus haut dans le circuit, par exemple au niveau des cellules bipolaires ou des photorécepteurs, le résultat serait évidemment bien plus précis puisqu'on



bénéficierait de la totalité du traitement de l'information que peut faire la rétine, et on n'aurait pas à sélectionner un type de traitement en particulier.

Des résultats sont déjà obtenus dans ce sens. Dans une recherche antérieure, Botond Roska a déjà montré l'activation optogénétique des cellules bipolaires chez la souris aveugle montrant une récupération d'un comportement visuel.

De même, nous avons montré qu'en stimulant directement ces cellules bipolaires, on peut obtenir ce qu'on appelle les réponses ON et OFF, c'est-à-dire des signaux bien plus complexes au niveau des cellules ganglionnaires. De plus, Botond Roska s'était rendu compte qu'au cours de la dégénérescence de la rétine, souvent des photorécepteurs (les cônes) demeuraient,

mais que les patients étaient aveugles parce que ces photorécepteurs résiduels avaient perdu leur partie photosensible.

On peut donc espérer qu'en réactivant directement les cônes, on pourrait peut-être restaurer tout ou partie des fonctions visuelles de la rétine. Dans cet objectif, une autre protéine photosensible, qui est en fait une pompe à ions chlorure, a été utilisée. Ce travail, publié dans *Science*, a été réalisé au départ sur des souris aveugles, chez lesquelles il restait des photorécepteurs qui ont été ainsi réactivés. Non seulement les photorécepteurs étaient réactivés mais aussi des activités très complexes comme la sensibilité directionnelle au mouvement pouvait être restaurée. Il est ainsi possible d'espérer restaurer l'ensemble des fonctions visuelles.

Figure 34

Modélisation de la fonction rétinienne avec une précision de la milliseconde. Lors de la présentation de variation aléatoire de la rétine, les différents types de cellules ganglionnaires répondent de manières très différentes donnant pour chaque cellule l'aspect d'un code-barre spécifique d'activité. À partir de cette activité et des images obtenues par la caméra asynchrone, il est possible de reconstituer à la milliseconde près les différentes cartes visuelles d'activité envoyées au cerveau par les différentes mosaïques de chaque type de cellules ganglionnaires.

Source : d'après Lorach et coll. (2012).

3.5. Recherche préclinique sur des cultures de rétines humaines post mortem

Pour traduire ce travail en clinique, une étude au départ développée à l'Institut de la Vision a permis de cultiver des rétines humaines post-mortem. Nous avons montré sur ces rétines que les protéines d'algues photosensibles peuvent être exprimées dans des photorécepteurs humains et que ces photorécepteurs humains deviennent photosensibles grâce à ces

protéines d'algues. Nous sommes finalement très proches de l'application clinique, car il y a des patients aveugles qui possèdent encore des photorécepteurs, mais ces photorécepteurs ont également perdu leur partie photosensible. L'objectif de cette approche thérapeutique serait de réactiver directement ces photorécepteurs car la perception induite chez le patient pourrait finalement être bien plus proche de la perception d'origine.

La thérapie optogénétique : un espoir pour l'avenir

Un patient aveugle peut retrouver une vision utile, mais une vision utile n'a rien à voir avec la perception d'une personne normale. Il faut encore augmenter la résolution soit avec l'implant, soit avec la thérapie optogénétique. De nouveaux implants photovoltaïques qui ont une très bonne résolution grâce à un meilleur encodage visuel et grâce à des caméras asynchrones doivent arriver en essai clinique en 2017.

De plus, il existe une solution alternative, qui est la thérapie optogénétique. On a pu cibler différents types de cellules : cellules ganglionnaires, cellules bipolaires ON, ou cônes résiduels. Les tests fonctionnels sur la rétine de primates non humains sont maintenant réalisés et ouvrent la voie aux essais cliniques pour le ciblage des cellules ganglionnaires de la rétine. Cependant, il reste encore à évaluer la réaction inflammatoire à ces protéines optogénétiques mais cette approche devrait normalement rentrer en essai clinique en 2018.