

A notre président de thèse,

Monsieur le Professeur Jean-Louis ARNE

Professeur des Universités,
CHU de Purpan - Toulouse
Service d'Ophtalmologie

*Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.
Qu'il trouve ici notre profonde reconnaissance pour l'intérêt qu'il porte à l'ophtalmologie
comparée et pour nous avoir fait profiter de ses compétences chirurgicales.
Hommages respectueux.*

A notre jury de thèse,

Monsieur le Professeur Alain REGNIER

Professeur de Physiopathologie Oculaire
Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Service d'Ophtalmologie

*Pour son érudition, son plaisir d'enseigner et son sens des valeurs. Merci de nous avoir
intégré à l'équipe l'année dernière et pour la confiance que vous nous témoignez.*

Monsieur le Docteur Olivier DOSSIN

Maître de Conférences
Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Service de Médecine Interne

*Parce que l'ophtalmologie reste aussi une fenêtre ouverte sur l'organisme.
Qu'il soit ici remercié pour son agréable collaboration et pour le soutien qu'il nous a
toujours témoigné.*

A Valérie, l'étoile qui illumine ma vie et oriente mes pas vers l'Amour. Les lueurs d'un nouvel astre réchauffent déjà mon cœur.

A mes parents, pour tout votre amour. Merci d'avoir toujours été présents dans ma vie et de m'avoir accompagné et soutenu tout au long de ma scolarité.

A ma sœur Christelle, pour la confiance que tu me portes. Je te souhaite un ciel sans nuage.

A mes grands-parents, pour votre amour et votre bienveillance. Bon Papa, j'espère que tu seras fier que le flambeau de la médecine vétérinaire soit ravivé après toutes ces années.

A Ivan et Christine, pour m'avoir accueilli comme un fils et conseillé dans mes choix. Merci pour votre aide et votre disponibilité. **A Stéphanie**. Je te souhaite tout le bonheur que tu mérites.

A toute ma famille.

A Yoyo, vieux frère. Depuis Roquefort-les-Cascades en passant par les rings du Top Fight et de Charly, notre amitié tacite s'est étoffée et je m'en félicite.

A Mouna, pour m'avoir accepté et adopté. Merci pour ta générosité et ta bonne humeur.

A Boris, Nono, GrosMine, Guizmo et Alex, pour votre simplicité, votre fidélité et vos incitations à la débauche. Ludo et Nono, tous mes vœux de bonheur. Guizmo, merci d'entretenir ma forme physique en restant impitoyable.

A Julia, Laetitia et Céline, pour les folles soirées PopStar et les non moins folles soirées cinéma d'auteurs à l'Utopia !

A Renaud, pour les crises de nerfs et de rire qui ont rythmé la prépa. Merci d'avoir partagé avec moi ces moments rares, bercés par le doux ronronnement des Shériffs, et de ne jamais avoir abandonné durant nos 13 années d'échec tennistique appaméen !

A Punkie et Isa, mes premières amies d'Ecole.

A Tom et Nana, Nicolas et Caroline, Sébastien et Anne-Claire, pour votre amitié.

A Antoine, pour l'amitié conflictuelle qui aide à la construction d'une personnalité.

A tous mes amis.

A Mme Gomes, trop tôt disparue, pour votre école du savoir et de la vie.

A Mme Sébastien et Mme Coutiet. Par vos compétences et votre humanisme, vous avez marqué ma scolarité. **A M. Caumeil**, pour votre amour des lettres.

A Jean-Pierre et Catherine Alzieu, à Laurent Bourdenx, pour les remix des « voix en or » sur les départementales de la steppe ariégeoise. Merci pour m'avoir encadré et bousculé lors de mes premiers stages en 3^{ème} année jusqu'à la prépa.

A Laurent Monnereau, colleur incollable sur l'énergie de la cellule à Fermat, pour ton sens aigu de la perfection.

Au Docteur Michel Roca, pour vos enseignements et vos encouragements à persévérer dans l'ophtalmologie vétérinaire.

Au Professeur Jean-Louis Arné et à toute l'équipe du service d'Ophtalmologie de Purpan (Brigitte, Laurence, Philippe...) pour m'avoir spontanément ouvert les portes de votre univers.

A Brice, Capucine et Alice, les autres membres de la cuvée 2002, qui ont supporté les rires et les tensions de la vie à 4. Merci Capucine pour ta spontanéité, ta fraîcheur et ton intelligence.

A Fred, Tif et la Couette, pour avoir repris avec brio le difficile rôle d'assistant. Merci pour votre efficacité et votre disponibilité. Une attention particulière au troisième Dark Angel, au casseur de raquette et travailleur passionné, au sensible ténébreux digne bizuth de son carré.

Merci au Docteur Isabelle Raymond-Letron pour les photographies de microscopie anatomopathologique et à Xavier Lescure de la société Dioptrix pour son aide technique et pour sa disponibilité.

A M. Blot, pour avoir essayé de me dissuader de ce métier lors de la rencontre parents-professeurs en terminale. Spéciale dédicace.

TABLE DES MATIERES

<u>I. INTRODUCTION</u>	21
<u>I.1. Aspects cliniques des ulcères épithéliaux chroniques de la cornée</u>	21
<u>I.2. Les hypothèses pathogéniques de la perte épithéliale</u>	27
<i>I.2.1. Les causes de la perte épithéliale</i>	27
• Les orientations cliniques	27
• Les hypothèses microscopiques	28
✓ Les altérations de l'épithélium et du complexe basal	30
✓ Les altérations du stroma.....	34
<i>I.2.2. L'entretien de la perte épithéliale</i>	36
• Les hypothèses de carence	36
✓ Le rôle de la substance P	36
✓ Le rôle du Transforming Growth Factor β -2 (TGF β -2)	38
• Les hypothèses de protéolyse exubérante	39
✓ Le rôle du facteur d'agrégation plaquettaire	39
✓ Le rôle de la plasmine	39

<u>II. MATERIEL ET METHODES</u>	41
<u>II.1. Critères d'inclusion dans l'étude</u>	41
<u>II.2. Protocoles thérapeutiques</u>	42
<u>II.3. Résultats</u>	43
<i>II.3.1. Comparaison des deux échantillons de population</i>	43
• Distribution du facteur « race » dans les deux groupes de traitement	43
• Distribution du facteur « sexe » dans les deux groupes de traitement	45
• Distribution du facteur « âge » dans les deux groupes de traitement	45
• Distribution du facteur « durée d'évolution des ulcères avant traitement » dans les deux groupes de traitement	46
• Distribution du facteur « latéralité » dans les deux groupes de traitement	47
<i>II.3.2. Evolution clinique dans les deux groupes de traitement</i>	47
• Taux de cicatrisation	47
• Influence de la durée d'évolution avant traitement	51
• Toxicité de l'acide epsilon-aminocaproïque	52

<u>III. DISCUSSION</u>	53
<u>III.1. Comparaison des données de la littérature</u>	53
<i>III.1.1. Données épidémiologiques</i>	53
<i>III.1.2. Comparatif des thérapeutiques actuelles et de leur pourcentage de cicatrisation</i>	54
• Les traitements chirurgicaux	54
• Les traitements médicaux	57
✓ Les facteurs de croissance.....	57
✓ Les neuropeptides.....	60
✓ Les médiateurs de l'inflammation.....	61
✓ Les vitamines.....	61
✓ Les agents de la matrice extracellulaire.....	61
✓ Les inhibiteurs de protéases	62
<i>III.1.3. L'étude princeps de Williams</i>	62
<u>III.2. Bilan des résultats obtenus chez les chiens traités à l'acide ϵ-aminocaproïque</u>	66
<u>III.3. Place de l'AEAC dans le schéma physiopathologique de la cicatrisation des ulcères épithéliaux chroniques</u>	69
<i>III.3.1. Les systèmes d'attache épithéliale</i>	69
<i>III.3.2. Intérêts de la régulation protéolytique dans le processus cicatriciel épithélial</i>	71
• La phase de migration cellulaire	71
✓ La phase de latence	71
✓ La phase de recouvrement épithélial	72
• La phase de multiplication cellulaire	75
• La phase d'adhésion cellulaire	76
✓ Les ulcères épithéliaux de grade 1.....	76
✓ Les ulcères épithéliaux chroniques de grade 2.....	76

<i>III.3.3. Mode d'action et intérêts de l'AEAC dans la régulation de la protéolyse</i>	78
• Aspects moléculaires de la protéolyse.....	78
• Place de l'AEAC dans l'inhibition de la protéolyse.....	85
CONCLUSION	88
<u>BIBLIOGRAPHIE</u>	89
<u>ANNEXES</u>	101
<u>I. Sujets inclus dans l'étude</u>	102
<i>I.1. Sujets affectés au groupe de traitement contrôle (groupe d'étude n°1)</i>	102
<i>I.2. Sujets affectés au groupe de traitement à l'acide epsilon aminocaproïque 3.57% (groupe d'étude n°2)</i>	103
<u>II. Répartition des âges au sein des deux populations</u>	105
<u>III. Distribution des ulcères selon les protocoles de traitement en fonction de leur durée d'évolution à J0</u>	106

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Photographies

1. Reflet déformé du flash sur la perte épithéliale.....	24
2. Œdème cornéen au niveau de la perte épithéliale, lié à l'imbibition du stroma par les larmes.....	24
3. Perte épithéliale accompagnée d'un épithélium marginal décollé, d'un œdème stromal nuageux et d'une néovascularisation cornéenne profonde en <i>pannus crassus</i>	24
4. Microvillosités de la surface épithéliale normale de la cornée d'un Boxer. (X 11700) (D'après [32]).....	25
5. Perte focale d'épithélium cornéen. (X 617 et X 3100) (D'après [32]).....	25
6. Perte épithéliale cornéenne totale laissant apparaître le stroma sous-jacent. (X 515) (D'après [32]).....	25
7. Marges du lambeau épithélial au dessus du stroma mis à nu lors d'ulcère chronique chez un Boxer. (X 96) (D'après [32]).....	25
8. Lambeau épithélial décollé chez un chien souffrant d'ulcère épithélial chronique. (D'après [13]).....	25
9 et 10. Ulcères épithéliaux chroniques sur des cornées de chiens colorés par le rose Bengale et le vert de lissamine	26
11. Epithélium cornéen normal de chien. (Cliché I. Raymond).....	29
12 et 13. Le complexe épithélio-basal normal de la cornée de chien. (D'après [32][49]).....	29
14 et 15. Epithélium cornéen d'un ulcère à bords décollés. (Cliché I. Raymond).....	33
16. Epithélium marginal. (Cliché I. Raymond).....	34
17, 18 et 19. Evolution de la cicatrisation d'un ulcère épithélial chronique : coloration de l'ulcère par le vert de lissamine qui s'infiltré sous les marges de l'épithélium décollé (17) ; coloration discrète de la ligne de suture des deux fronts de migration cellulaire (18) ; taie cicatricielle ne prenant pas le colorant (19).....	48
20. J19 après une kératectomie superficielle. (D'après [46]).....	77

Figures

1. Les différents stades d'ulcère cornéen (D'après [58])	23
2. Les différentes couches cellulaires de l'épithélium cornéen. (D'après [82]).....	28
3. Fibres nerveuses sous-épithéliales de SP et CGRP dans des sections de cornées saines (a., c.) et de cornées atteintes d'ulcère épithélial chronique (b., d.). (D'après [65]).....	37
4. Technique de desépithélialisation avec un coton-tige ou un écouvillon. (D'après [58]).....	55
5. Techniques de kératotomie ponctuée et de kératotomie en grille. (D'après [104]).....	56
6. Les systèmes d'attache épithéliale chez les Primates. (D'après [56]).....	70
7. Le système ligand-récepteur dans l'adhésion du plasmalemme à la membrane basale sous-jacente. (D'après [53]).....	70
8. Les 3 phases de la cicatrisation épithéliale. (D'après [104]).....	71
9. Rôle des molécules d'adhésion dans la phase de migration cellulaire de la cicatrisation épithéliale. (D'après [56]).....	73
10. La cascade de la coagulation plasmatique. (D'après ROBERTS, H.R. and LOZIER, J.N., New perspectives on the coagulation cascade, <i>Hosp. Pract.</i> , 1992, 27, p97. In: [40]).....	79
11. Les agents activateurs du plasminogène dans l'initiation de la fibrinolyse. (D'après [34]).....	80
12. Place de l'AEAC dans la boucle d'activation du plasminogène.....	81
13. Représentation schématique des interactions entre le fibrinogène/fibrine, le plasminogène/plasmine, l'α2-antiplasmine et l'activateur du plasminogène. (D'après [54])	83
14. Activation du plasminogène. (D'après [40]).....	84

15. L'activation du plasminogène par le complexe ternaire fibrine / plasminogène / activateur du plasminogène : lorsque le plasminogène est activé en deux chaînes de plasmine, l'une se lie à la fibrine pour la dégrader et l'autre est neutralisée par l'α2-antiplasmine. (D'après [54]).	84
16. Principales cibles des inhibiteurs des inhibiteurs de la protéolyse. (D'après [40]).	85
17. Les deux sites d'action de l'AEAC : le rôle majeur de blocage des activateurs du plasminogène et le rôle mineur d'antiplasmine. (D'après [50]).	86

Tableaux

1. Races canines chez lesquelles l'affection a été décrite. (D'après [2][19][49][61][65][104])	21
2. Comparaison lésionnelle en microscopie d'un ulcère épithélial chronique et d'une érosion épithéliale iatrogène répétée. (D'après [13]).	35
3. Distribution des races dans les deux protocoles.	44
4. Distribution des chiens selon leur sexe dans les deux protocoles.	45
5. Comparatif des durées de cicatrisation des ulcères épithéliaux dans les deux protocoles.	49
6.1. Distribution des durées d'évolution au sein de la population traitée à l'acide ϵ-aminocaproïque.	51
6.2. Distribution des durées d'évolution au sein de la population sous traitement classique.	51
7. Rôle de divers agents pharmacologiques dans la cicatrisation épithéliale cornéenne. (D'après [22]).	63
8. Comparaison des modalités de traitement des érosions persistantes de la cornée chez le chien. (D'après [2]).	64
9. Comparaison uPA / tPA.	81

Graphes

1. Distribution des âges au sein des deux échantillons.....	45
2. Distribution des durées d'évolution avant traitement dans les deux échantillons.....	46
3. Taux de cicatrisation dans les deux échantillons.....	49
4. Durée de cicatrisation des ulcères épithéliaux selon le traitement.....	50

Annexes

1. Sujets affectés au groupe de traitement contrôle (groupe d'étude n°1).....	102
2.1. Sujets ayant reçu un traitement classique en 1 ^{ère} intention puis un collyre d'acide epsilon aminocaproïque 3.57%.....	103
2.2. Sujets traités dès la première consultation par un collyre d'acide epsilon aminocaproïque 3.57%.....	104
3. Répartition des âges au sein des deux populations.....	105
4. Distribution des ulcères selon les protocoles de traitement en fonction de leur durée d'évolution à J0.....	106

L'œil d'Horus, encore appelé l'œil « Oudjat », est né d'une légende. Dans le combat qui opposait Seth, le dieu à tête de chien, à son neveu Horus, le dieu à tête de faucon, ce dernier eut l'œil arraché et brisé en 64 morceaux malgré la victoire. Alors Thot, le dieu du savoir à tête d'ibis, grâce à son pouvoir et à sa magie, reconstitua l'œil dans son intégralité. Depuis, cet œil fracturé et reconstitué qu'est « Oudjat » représente l'unité triomphant de la division.

De nos jours et sur un plan plus physiopathologique, l'œil reste un organe qui puise sa fonctionnalité dans son intégrité.

Par exemple la cornée, qui s'étend sur 30% de la surface du globe oculaire chez le chien (contre 8% de la surface chez l'Homme) et sur 0,56 mm d'épaisseur en son centre, est le premier dioptré de l'œil. Son caractère avasculaire et lisse lui confère des qualités optiques de transparence et de réfraction qui exigent un renouvellement cellulaire régulier.

Cette notion a été résumée en 1983 dans l'hypothèse X-Y-Z de Thoft et Friend sur la maintenance de l'épithélium cornéen [24]: si X représente la prolifération des cellules épithéliales basales, Y la prolifération et la migration centripète des cellules limbiques et Z la perte cellulaire épithéliale par exfoliation de surface, alors l'état d'équilibre est atteint lorsque $X+Y=Z$. Or, cette homéostasie à l'origine de la fonctionnalité de la cornée peut être déstabilisée par des phénomènes pathologiques parmi lesquels les déficits épithéliaux chroniques ou récurrents qui constituent un exemple commun à l'Homme et au chien.

De plus, la cornée présente une origine embryonnaire double : l'épithélium, d'origine neurectodermique, couvre un stroma d'origine mésodermique. Lors de dystrophies épithéliales, des anomalies biochimiques pourraient apparaître au niveau de cette interface.

De telles anomalies ont été décrites chez l'Homme, chez lequel les dystrophies telles que les dystrophies de Meesmann/Stocker-Holt, de Grayson-Wilbrandt et de Reis-Bücklers, la dystrophie microkystique de Cogan ainsi que le syndrome d'érosion atraumatique récurrente représentent une diversité clinique et histopathologique qui pourrait s'appuyer sur un tableau étiologique commun [1][29][56]. Ainsi, ces trois dernières entités reposeraient sur un désordre primaire de la membrane basale de l'épithélium cornéen.

Dans l'espèce canine, Magrane a observé de telles anomalies pour la première fois en 1954 [57]. Puis, Roberts a étudié à nouveau cette affection en 1965 chez des Boxers présentant des déficits épithéliaux persistants et récurrents sans cause traumatique apparente [78]. Depuis 50 ans, cette affection a été décrite dans de nombreuses autres races canines sous diverses appellations : « indolent ulcer », « rodent ulcer », « recurrent erosion », « idiopathic persistent corneal erosion », « spontaneous chronic corneal defect », ulcère atone, ulcère torpide, ulcère à bords décollés...

Cependant, et malgré une pléthore de propositions thérapeutiques, le traitement des ulcères épithéliaux chroniques de la cornée chez le chien reste aléatoire et n'est pas toujours satisfaisant. Dans cette étude, nous nous baserons sur un modèle pathogénique privilégiant le rôle de la protéolyse pour étudier les effets thérapeutiques potentiels de l'acide ϵ -aminocaproïque sur la cicatrisation des ulcères épithéliaux persistants de la cornée.

I. INTRODUCTION

I.1. Aspects cliniques des ulcères épithéliaux chroniques de la cornée

Les ulcères épithéliaux chroniques apparaissent généralement **sans prédisposition sexuelle** chez des animaux d'âge moyen à vieux (6,6 ans en moyenne [32]). Bien que certains auteurs décrivent une incidence raciale, cette affection semble survenir dans **toutes les races** (Tab. 1). Contrairement à l'Homme chez lequel elle peut être parfois liée au port de lentilles de contact [8][92], la lésion est **rarement simultanément bilatérale chez le chien**, bien que souvent caractérisée par de **nombreuses récurrences** sur le même œil ou sur l'œil adelphe.

Airedale terrier
Alaskan malamute
Beagle
Berger allemand
Berger australien
Berger des Shetlands
Bichon maltais
Bobtail
Bouledogue anglais
Boston terrier
Braque de Weimar
Brittany
Cairn Terrier
Caniche
Chien commun
Chien esquimau
Chow Chow
Cocker américain et anglais
Dalmatien
Dandie Dinmont terrier
Epagneul breton
Fox terrier
Golden retriever
Greyhound
Griffon bruxellois
Jack Russel Terrier
Keeshound

Keltie
Lhasa Apso
Montagne des Pyrénées
Pékinois
Pinsher
Pitt bull
Retriever de la baie de Chesapeake
Retriever du Labrador
Rotweiller
Samoyède
Schnauzer nain
Setter irlandais
Shi Tsu
Siberian husky
Silky terrier
Spitz
Springer gallois
Staffordshire terrier américain
Teckel nain
Welsh and Pembroke Corgi
West Highland White Terrier
Yorkshire

Tableau 1. Races canines dans lesquelles l'affection a été décrite [2][19][49][61][65][104]

L'ulcère chronique se définit comme une perte de substance qui ne cicatrise pas ou très lentement. Ainsi, les premières études de Kirschner en 1989 dans l'espèce canine ont conclu à des guérisons en 14 à 180 jours sans traitement pour des ulcères évoluant depuis 3 à 270 jours [49] !

Les premiers signes qui motivent la consultation traduisent une **douleur oculaire** : un blépharospasme, plus ou moins marqué, évoluant depuis plus de dix jours, est associé à un épiphora et à une photophobie. Les études esthésiométriques ne révèlent pourtant pas de modification de la sensibilité cornéenne. Souvent, la conjonctive est hyperhémiee et peut s'accompagner d'une procidence de la membrane nictitante.

Le diagnostic clinique repose sur une observation attentive de la surface cornéenne.

Avec un transilluminateur de Finoff puis au biomicroscope en éclairage diffus, la lésion apparaît comme une plage dépolie et granuleuse qui renvoie un reflet déformé de la source lumineuse (Photo. 1). Elle est rarement centrale (25%) et majoritairement périphérique (55%) [11]. Aux marges de l'érosion, on observe un **lambeau d'épithélium décollé** dans 81% des cas (Photo. 3, 7 et 8), souvent accompagné d'une **néovascularisation** périphérique de la cornée (64% des cas dont 94% des ulcères périphériques [11]) voire d'un **œdème** épithélial ou stromal (Photo. 2 à 6).

Avec la lampe à fente, le déficit épithélial de grade 2 (Fig. 1) est noté par un léger décroché en profondeur dans la courbure cornéenne; dans l'épaisseur de cette fente, on peut parfois observer un œdème sous-épithélial voire stromal antérieur discret ainsi qu'une néovascularisation superficielle.

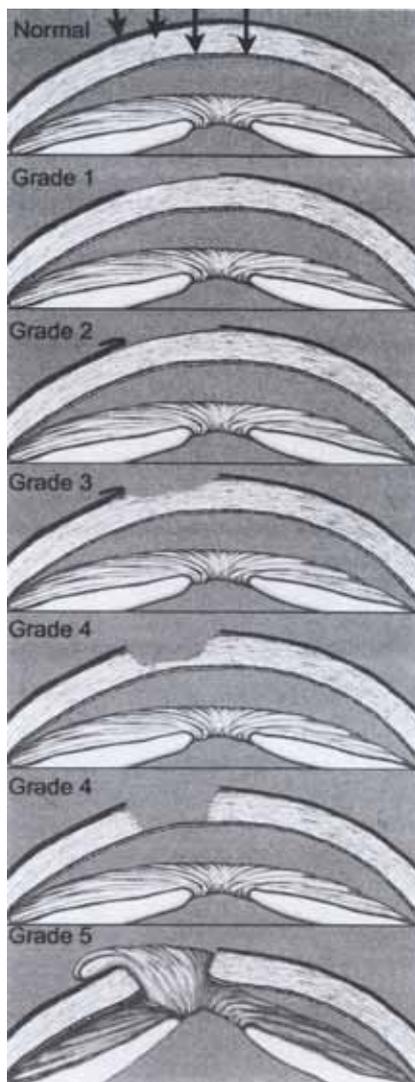


Figure 1. Les différents grades (G) d'ulcère cornéen.

G1 : érosion épithéliale sans atteinte de la membrane basale

G2 : ulcération épithéliale avec atteinte de la membrane basale

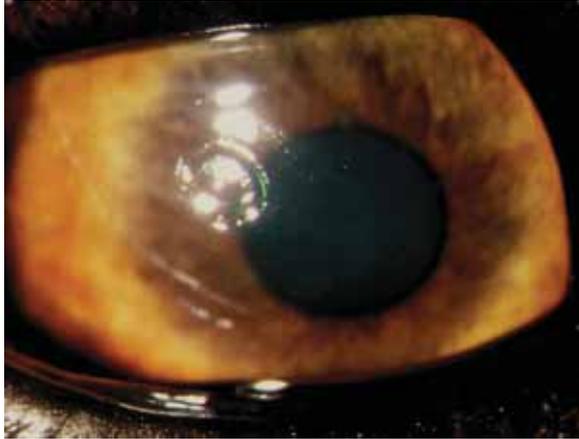
(ulcère épithélial chronique récidivant)

G3 : ulcère stromal antérieur

G4 : ulcère profond et pré-descemetique

G5 : perforation cornéenne

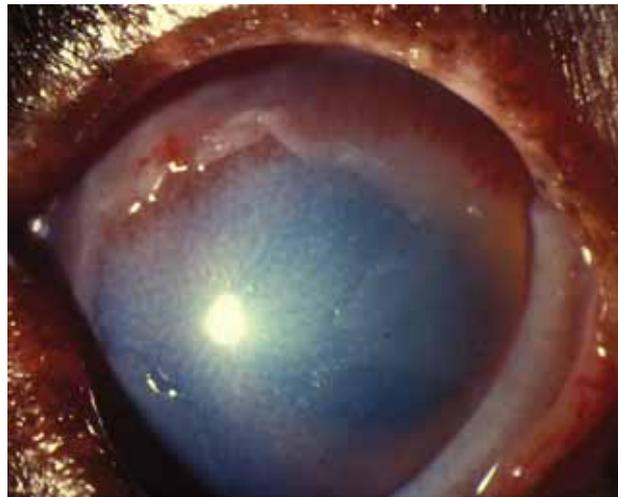
(D'après [58])



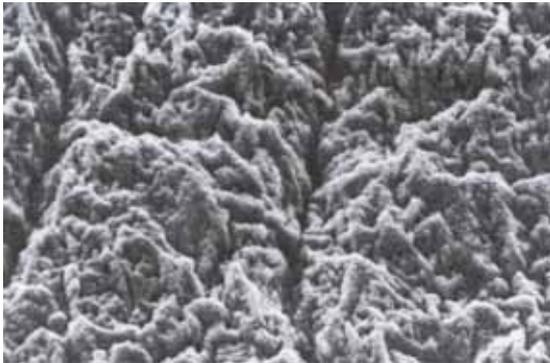
Photographie 1. Reflet déformé du flash sur la perte épithéliale. Noter l'aspect festonné du bord de l'ulcère.



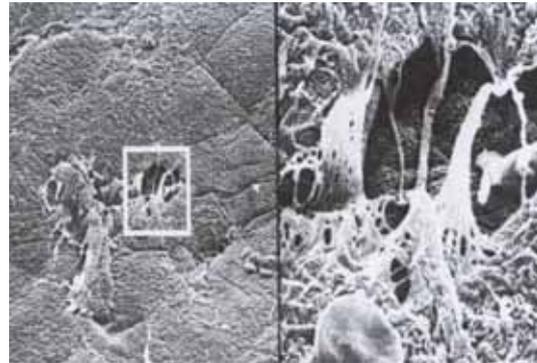
Photographie 2. Œdème cornéen au niveau de la perte épithéliale, lié à l'imbibition du stroma par les larmes.



Photographie 3. Perte épithéliale accompagnée d'un épithélium marginal décollé, d'un œdème stromal nuageux et d'une néovascularisation cornéenne profonde en *pannus crassus*.



Photographie 4. Microvillosités de la surface épithéliale normale de la cornée d'un Boxer (X 11700). (D'après [32]).



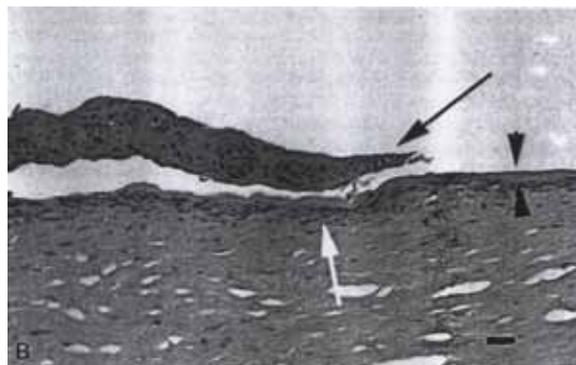
Photographie 5. Perte focale d'épithélium cornéen (X 617 et X 3100). (D'après [32]).



Photographie 6. Perte épithéliale cornéenne totale laissant apparaître le stroma sous-jacent (X 515). (D'après [32]).

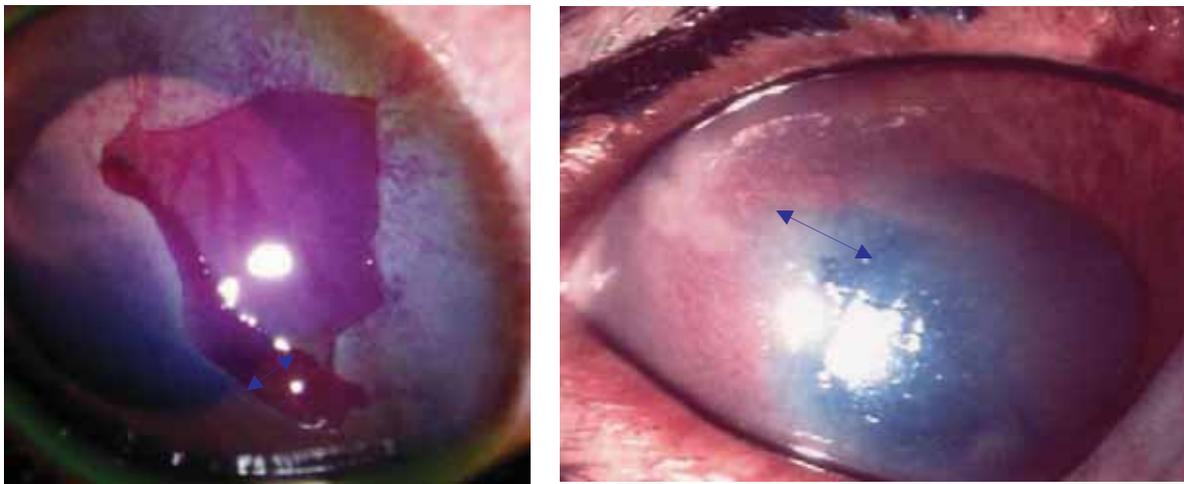


Photographie 7. Marges du lambeau épithélial au dessus du stroma mis à nu lors d'ulcère chronique chez un Boxer (X 96). (D'après [32]).



Photographie 8. Lambeau épithélial décollé chez un chien souffrant d'ulcère épithélial chronique. Noter le front de migration (flèche noire) de l'épithélium sur une fine lame acellulaire hyaline de stroma antérieur (têtes de flèches) reposant sur une plaque de fibroplasie (flèche blanche). Echelle : 20 μ m. (D'après [13]).

Le diagnostic est confirmé par l'instillation d'une goutte de **vert de lissamine**, colorant vital lipophile des cellules épithéliales. Ses propriétés sont similaires à celles du rose Bengale qui n'est plus commercialisé en France à l'heure actuelle. Son affinité pour l'épithélium lipophile permet d'observer la coloration de la plage ulcérée ainsi que son infiltration sous les marges jusqu'à la ligne de démarcation traduisant le décollement épithélial (Photo. 9 et 10). Bien qu'utilisée préférentiellement comme colorant vital du stroma à cause de ses propriétés hydrophiles, la fluorescéine semble, selon la plupart des auteurs, colorer également les ulcères épithéliaux à cause des remaniements du complexe basal épithélial.



Photographie 9 et 10. Ulcères épithéliaux chroniques sur des cornées de chiens colorés par le rose Bengale (à gauche) et le vert de lissamine (à droite). Noter la néovascularisation cornéenne, la diffusion du colorant sous les berges de l'épithélium marginal décollé (double flèche) et le reflet dépoli du flash sur la surface cornéenne (à droite).

Les éléments déterminant la présence d'un ulcère cornéen épithélial chronique sont donc :

- *sa nature superficielle*
- *son évolution chronique depuis plus de dix jours*
- *la présence d'un épithélium non adhérent entourant l'ulcère*
- *la coloration par le vert de lissamine.*

I.2. Les hypothèses pathogéniques de la perte épithéliale

I.2.1. Les causes de la perte épithéliale

- Les orientations cliniques [49][61][91]

Les ulcères épithéliaux chroniques surviennent classiquement de façon **idiopathique**. Leur apparition est toujours brutale mais, contrairement à l'Homme chez lequel les antécédents traumatiques sont classiques (coups d'ongle, branchages...), ces derniers sont rarement rapportés lors des commémoratifs chez le chien.

La perte épithéliale peut avoir deux origines :

- d'une part, elle peut être **secondaire** à des facteurs prédisposants d'ordre mécanique (trichiasis, distichiasis, cil ectopique, entropion, corps étranger, brûlure par base, lagophtalmie ...) et d'ordre fonctionnel (paralysie du nerf facial avec kératite neurotrophique, kératite à médiation immune, kératoconjonctivite sèche, insuffisance qualitative en mucine, infection, œdème cornéen chronique lors de glaucome, d'uvéite, de lésion ou de dégénérescence endothéliale, dégénérescence calcique ou lipidique du stroma antérieur secondaire à une kératopathie chronique...).

- d'autre part, elle peut être **primaire**. L'absence de trauma dans les commémoratifs conduit classiquement à considérer les ulcères épithéliaux chroniques comme des révélateurs de pathologies dystrophiques de la cornée chez le chien : **dystrophies endothéliale ou épithélio-basale**.

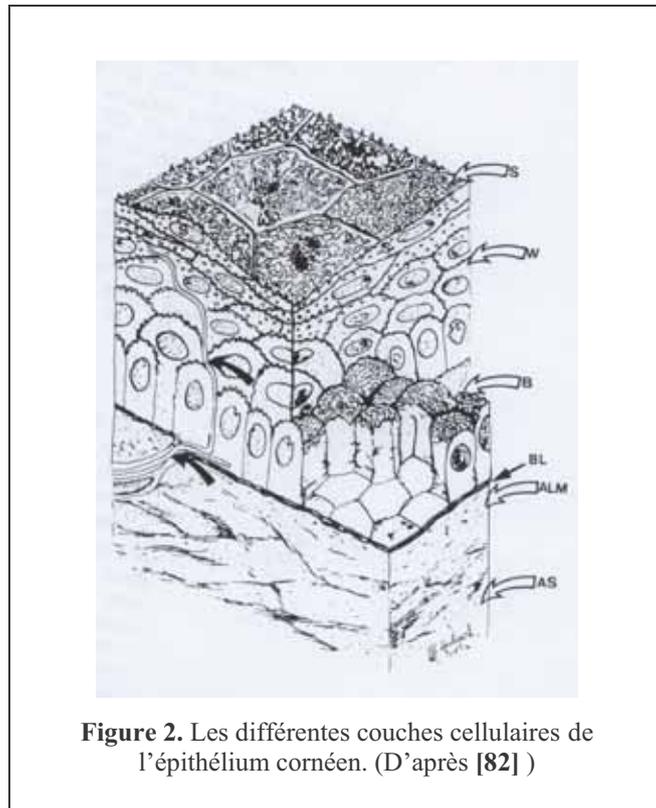
Dans les dystrophies endothéliales, un œdème stromal diffus, consécutif à une décompensation, est à l'origine d'une kératopathie bulleuse qui entraîne une rupture de la barrière épithéliale. Les aspects microscopiques sont alors similaires à ceux observés dans la dystrophie de Fuchs chez l'Homme.

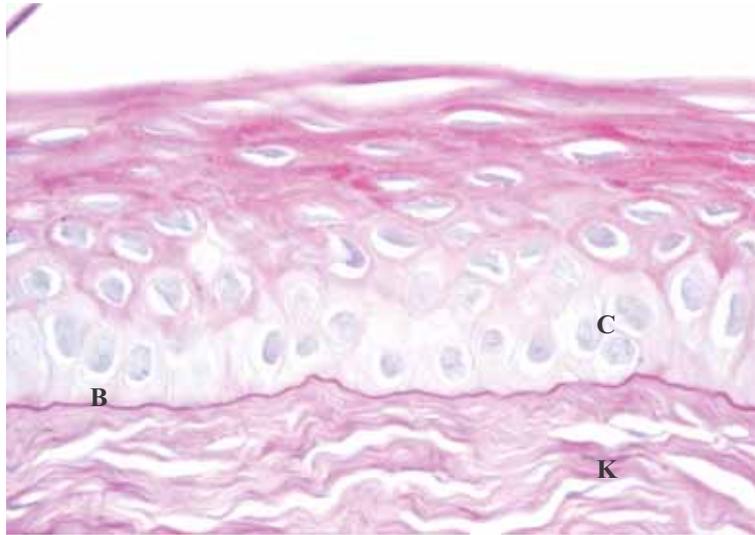
Au contraire, les déficits épithéliaux tapissés ou non d'un léger œdème focal semblent soulever l'hypothèse d'une dystrophie épithélio-basale.

- Les hypothèses microscopiques [1][32][47][82][91]

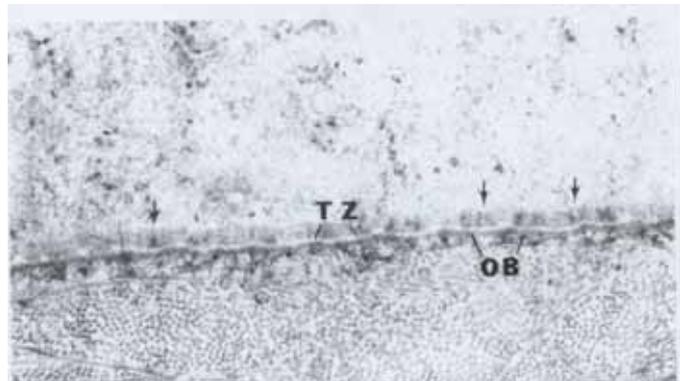
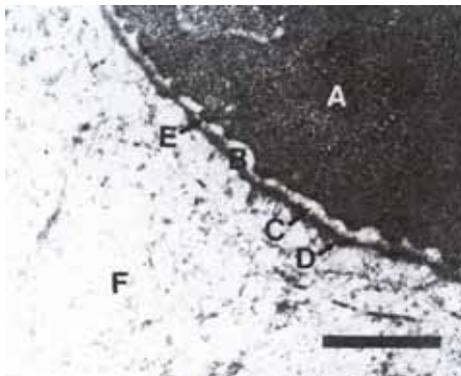
L'étude microscopique d'une cornée saine révèle un épithélium malpighien non kératinisé formé de plusieurs couches cellulaires (Fig. 2 et Photo. 11) dont les plus profondes, les cellules basales, s'ancrent grâce à des hémidesmosomes dans la membrane basale qui couvre le stroma cornéen. Cette membrane, continue, est constituée d'une *lamina lucida* translucide et d'une *lamina densa* plus opaque contenant les plaques d'adhésion au stroma sous-jacent (Photo. 12 et 13).

Dans les ulcérations chroniques épithéliales idiopathiques non associées à un tableau clinique de kératopathie bulleuse, des modifications microscopiques sont observées au niveau de ce complexe basal.





Photographie 11. Epithélium cornéen normal de chien (coloration APS) avec des cellules basales (C) ancrées par des hémidesmosomes dans la membrane basale (B) qui recouvre le stroma. K : kératocyte
(Cliché I. Raymond)



Photographies 12 et 13. Le complexe épithélio-basal normal de la cornée de chien. A : cellule basale ; B : membrane basale, E : hémidesmosomes, F : stroma ; C et TZ : *lamina lucida* ; D et OB : *lamina densa*..
Echelle : 1 µm.
(D'après [32][49])

✓ Les altérations de l'épithélium et du complexe basal

En microscopie électronique à transmission, les signes pathologiques se rapprochent de la dystrophie microkystique de Cogan chez l'Homme.

Alors que les cellules basales sont disloquées sans altération de la membrane basale lors d'érosions superficielles de grade 1, celle-ci apparaît ponctuellement épaissie et parfois absente au niveau de la plage ulcérée chroniquement.

L'acide périodique Schiff (APS) colorant les glycoprotéines en violet, la perte de coloration en certains endroits peut être interprétée comme une destruction de la membrane basale ou comme une perte des glycoprotéines d'adhésion qui ont été arrachées avec l'épithélium. Chez l'Homme, les patients souffrants de kératopathies bulleuses montrent également une absence des principales protéines de la matrice extra-cellulaire (fibronectine, laminine et collagène IV) [91].

Dans les zones épaissies, la *lamina lucida* s'efface alors que la *lamina densa* s'hyperplasia et envoie des projections dans l'espace sous-épithélial, sous et entre les cellules basales. Ces replis peuvent la faire apparaître dédoublée voire **multilaminée** [29]. Elle forme alors des **amas fibrogranuleux membrane-basale-like** (Photo. 14) colorés à l'APS et au trichrome de Masson. Ces lésions ne seraient pas dues à une production anormale de membrane basale mais à une dégénérescence à l'origine de modifications dans sa composition biochimique.

Dans le lambeau épithélial, 4 à 10 couches cellulaires hyperplasiques s'appuient ou non sur une membrane basale.

Dans des cellules géantes multinucléées, des microtubules anormaux sont à l'origine de l'indentation et du **clivage du noyau pycnotique**.

Néanmoins, une fusion cellulaire d'origine virale ou néoplasique pourrait également expliquer ces images, bien que les desmosomes membranaires ne se retrouvent pas dans le cytoplasme de ces cellules. Ainsi, la conservation des jonctions cellulaires et l'absence d'activité cytoplasmique exacerbée permet d'écarter définitivement cette hypothèse.

D'autre part, la mitose nucléaire sans cytokinèse, rencontrée dans les mégacaryocytes et dans certaines tumeurs, n'est pas écartée bien qu'aucune figure n'ait été décrite.

Cependant, les centrioles, rarement observés dans les cellules basales et jamais dans

les autres cellules épithéliales, sont ici présents dans toutes les strates et agencés de façon anarchique : ils évoquent la possibilité d'une polyploïdie nucléaire. Certains auteurs spéculent alors sur une éventuelle inhibition de l'assemblage tubulaire dans cette affection. Enfin, les noyaux présentent parfois des nucléoles géants, des amas de chromatine dégénérée, des agrégats en bandes de filaments et des structures fibrillaires et tubulaires en forme de bâtonnets électron-denses juxta-nucléaires de nature indéterminée. Ces dernières, que nous n'observons pas dans les cellules saines, pourraient être à l'origine du clivage nucléaire.

Au niveau du cytoplasme des cellules épithéliales, on remarque des vésicules contenant un **matériel dégénéré** qui pourrait résulter de l'action des métalloprotéinases matricielles précitées. Elles pourraient également correspondre à des neutrophiles dégénérés et phagocytés. Ainsi, cette substance amorphe osmophile et fibrogranulomateuse s'accumule parfois autour des desmosomes dans certaines cellules en voie de nécrose : celles-ci perdent donc leurs attaches avec les cellules adjacentes et s'assombrissent pour former une ligne franche de démarcation avec l'épithélium sain. En outre, bien qu'aucune étude quantitative ne l'ait démontrée, il semble qu'une forte **diminution du nombre d'hémidesmosomes** des cellules basales pourrait être à l'origine du décollement de l'épithélium (Photo. 16).

De plus, le discret œdème épithélial observé au biomicroscope semble s'accumuler focalement en vésicules intra- et extra-cellulaires qui, en éclatant, soulèvent l'épithélium de la membrane basale sous-jacente. Sa progression reste généralement limitée au lit de l'ulcère, contrairement à l'œdème stromal primaire qui apparaît lors de dystrophie endothéliale et qui entraîne une kératopathie bulleuse secondaire.

L'observation des marges extérieures de l'ulcère révèle un épithélium plus fin d'une dizaine de couches cellulaires avec des cellules superficielles normales mais des cellules basales toujours dégénérées. Ceci autorise généralement un début de décollement épithélial qui n'atteint pourtant pas l'intégrité de la membrane basale.

Enfin, on peut observer dans les couches les plus profondes de l'épithélium et parfois même entre les cellules basales, un **infiltrat leucocytaire** (Photo. 14 et 15) de neutrophiles souvent dégénérés contenant de nombreux phagolysosomes [11]. Comme les cellules épithéliales, ceux-ci accumulent surtout des métalloprotéinases matricielles (MMP) qui, une fois libérées, entraînent la protéolyse de la membrane basale. Ainsi, dans les cornées ulcérées, les taux

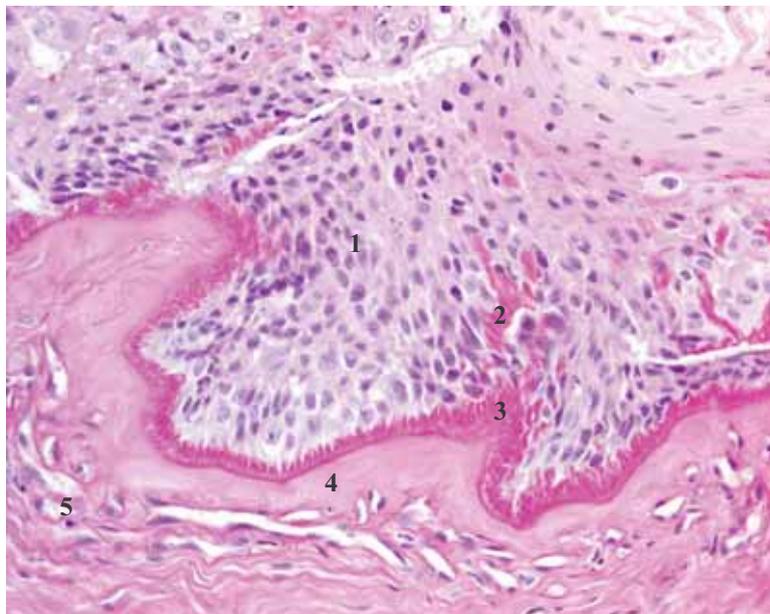
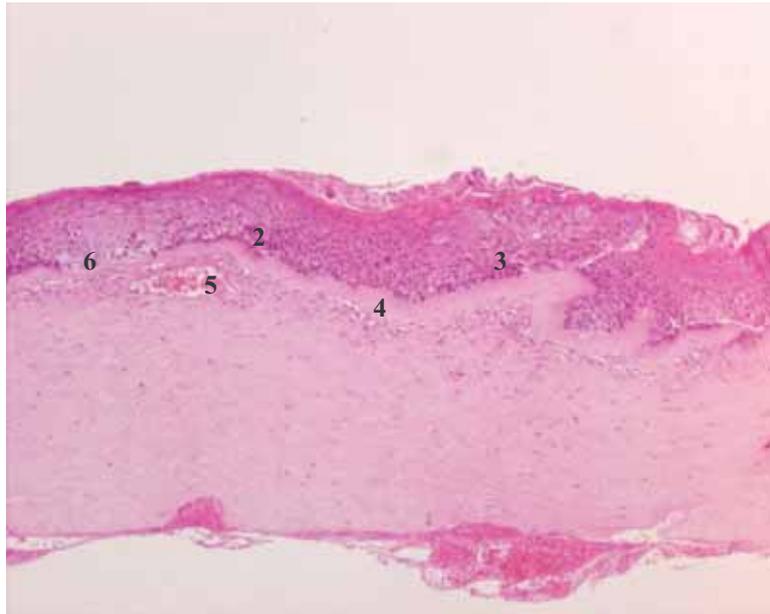
accrus de MMP 3 et 9 sont à l'origine de la destruction du collagène IV et V [99]. Ces substances libérées au cours d'ulcères sont normalement modérées par des facteurs de croissance produits par les kératocytes et les cellules épithéliales qui sont ici respectivement apoptotiques [103] et dégénérées.

Les éléments principaux des altérations épithéliales et basales reposent donc sur (Photo.14 et 15) :

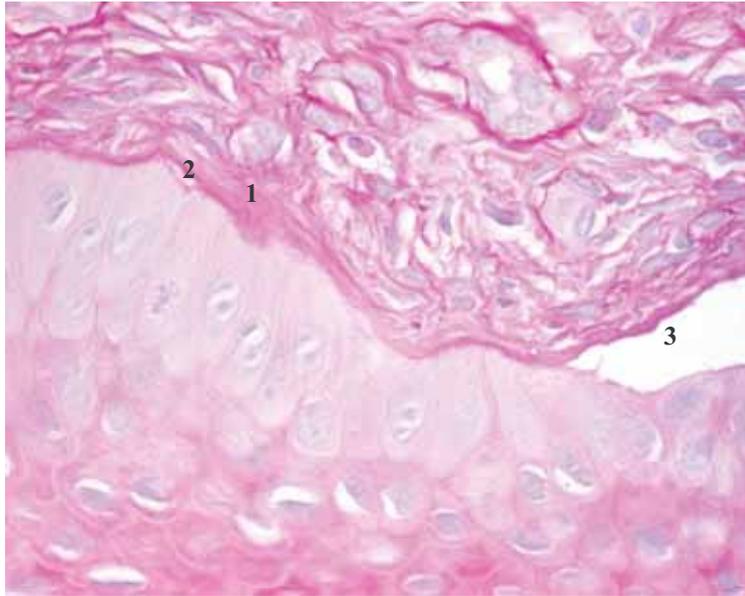
- *l'aspect épaissi et parfois invaginé de la membrane basale*
- *les amas fibrogranuleux*
- *la dégénérescence des cellules basales*
- *l'altération des sites jonctionnels*

Ils permettent de comprendre le défaut d'adhérence épithéliale lors d'ulcères chroniques primaires sans atteinte endothéliale (Photo. 16).

Les recherches se poursuivent pour essayer de déterminer si la dégénérescence des cellules basales entraîne une altération de la membrane basale ou inversement. Dans les deux cas, un remaniement du stroma antérieur est toujours associé.



Photographies 14 et 15. Epithélium cornéen d'un ulcère à bords décollés chronique (coloration HES en haut et APS en bas) : hyperplasie épithéliale (1) avec amas fibrogranuleux (2), épaissement et aspect effiloché - voire absence (6) - de la membrane basale (3), fibroplasie stromale antérieure (4) et infiltration inflammatoire du stroma (5).
(Clichés I. Raymond)



Photographie 16. Epithélium marginal (coloration APS) : épaissement de la membrane basale (1) avec début de perte d'adhérence marginale (2) en périphérie de l'ulcère épithélial (3) (Cliché I. Raymond).

✓ Les altérations du stroma [11][13]

En surface stromale, la microscopie révèle une fine **couche acellulaire hyaline et éosinophile**, mêlant des fibrilles de collagène à une substance fibrillaire amorphe (Photo. 14 et 15). L'absence de coloration à l'APS indique qu'il ne s'agit pas d'un reliquat de membrane basale. De plus, alors que certains kératocytes antérieurs, aux noyaux réfléchissants, semblent sur-activés [79], d'autres apparaissent apoptotiques [103]. Une production compensatrice de collagène génère alors une plaque de fibroplasie antérieure. Néanmoins, le degré de fibroplasie ne semble corrélé ni avec l'aspect clinique ni avec la survenue des récives.

En surface de la zone ulcérée, l'immunohistochimie a montré la **présence de fibronectine** ainsi qu'un tapis discontinu voire absent de laminine et de fibrilles d'adhésion (collagène IV et VII) [13][103].

De plus, l'étude du stroma plus profond nous permet souvent d'observer **un infiltrat variable de monocytes et de granulocytes neutrophiles** (Photo. 14 et 15), associé à une néovascularisation et à l'appauvrissement du réseau sensitif, contrairement aux plexus épithéliaux [11] (Fig. 3).

L'association des images anormales de l'épithélium cornéen, de la membrane basale et du stroma antérieur ne nous permet pas de trancher quant à la pathogénie exacte des ulcères épithéliaux chroniques. Bentley apporte des éléments de réponse en comparant les aspects en microscopie de cornées lors d'ulcères persistants et lors de desépithélialisations expérimentales répétées (Tab. 2).

<u>Ulcère persistant</u>	<u>Ulcère expérimental</u>
- membrane basale discontinue	- membrane basale intègre
- fibronectine mais pas de laminine, collagène IV et VII dans la plage ulcérée	- fibronectine, laminine, collagène IV et VII dans la plage ulcérée
- infiltrat leucocytaire dans 65% des cas	- infiltrat suppuratif
- kératocytes apoptotiques avec fibroplasie ± accrue [103]	- kératocytes apoptotiques avec légère fibroplasie ponctuelle [103]
- innervation altérée	- innervation normale

Tableau 2. Comparaison lésionnelle en microscopie d'un ulcère épithélial chronique et d'une érosion épithéliale iatrogène répétée. (D'après [13]).

Tout d'abord, ces résultats inspirent **un mécanisme pathogène bien particulier qui n'est pas tout à fait reproduit expérimentalement par une simple desépithélialisation.**

Cependant, nous remarquons dans ce comparatif qu'une lésion traumatique initiale expérimentale et un ulcère épithélial chronique peuvent tous deux provoquer une fibroplasie stromale antérieure ainsi qu'un infiltrat cellulaire [97].

De plus, pour Bentley, le caractère circonscrit des lésions au niveau de l'ulcère et l'aspect totalement sain de la cornée périphérique permettrait d'exclure l'hypothèse d'un phénomène dystrophique de la membrane basale et de lui préférer une pathologie liée à l'âge. Ainsi, une origine autre, traumatique par exemple, pourrait être envisagée et les dissemblances lésionnelles entre simple desépithélialisation et ulcère chronique ne seraient alors imputables qu'à un délai d'évolution plus long dans cette affection. Malgré tout, avec des chiens affectés dès l'âge de 6 mois, cette étude de Bentley tendant à réfuter l'hypothèse de dystrophie épithélio-basale primitive reste équivoque et ne permet pas de savoir si les lésions observées sont la cause ou la conséquence du décollement épithélial.

A l'heure actuelle, la microscopie divise les auteurs mais propose une réflexion sur la cause originelle de l'ulcère épithélial chronique.

Cependant, l'entretien de la perte de substance joue un rôle sans doute plus important encore dans le caractère persistant qui caractérise cette affection.

I.2.2. L'entretien de la perte épithéliale

- Les hypothèses de carence
 - ✓ Le rôle de la substance P [11][65][79]

Des kératites neurotrophiques iatrogènes effectuées sur des rats ont démontré le rôle trophique de la substance P sur la croissance cellulaire et sur la cicatrisation épithéliale [67]. Or, lors d'ulcère épithélial chronique, la cornée présente des anomalies d'innervation visibles en microscopie.

Ainsi, les lambeaux et la collerette marginale d'épithélium décollé semblent être **hyperinnervés par un dense plexus** de CGRP (*Calcitonin Gene-Related Peptid*) et de substance P. Pourtant, contrairement aux conjonctivites printanières ou allergiques chez l'Homme, le taux de ce neuropeptide n'est pas augmenté dans les larmes. De plus, les longues fibres nerveuses habituellement parallèles et interconnectées sont supplantées par une trame arborescente de petites et sinueuses fibres d'aspect peu commun [79]. Afin d'assurer la cicatrisation, ce plexus sous basal semblerait libérer le peptide neurotrophique autour du site ulcéré dont le centre est, au contraire, moins riche en substance P (Fig. 3) [65].

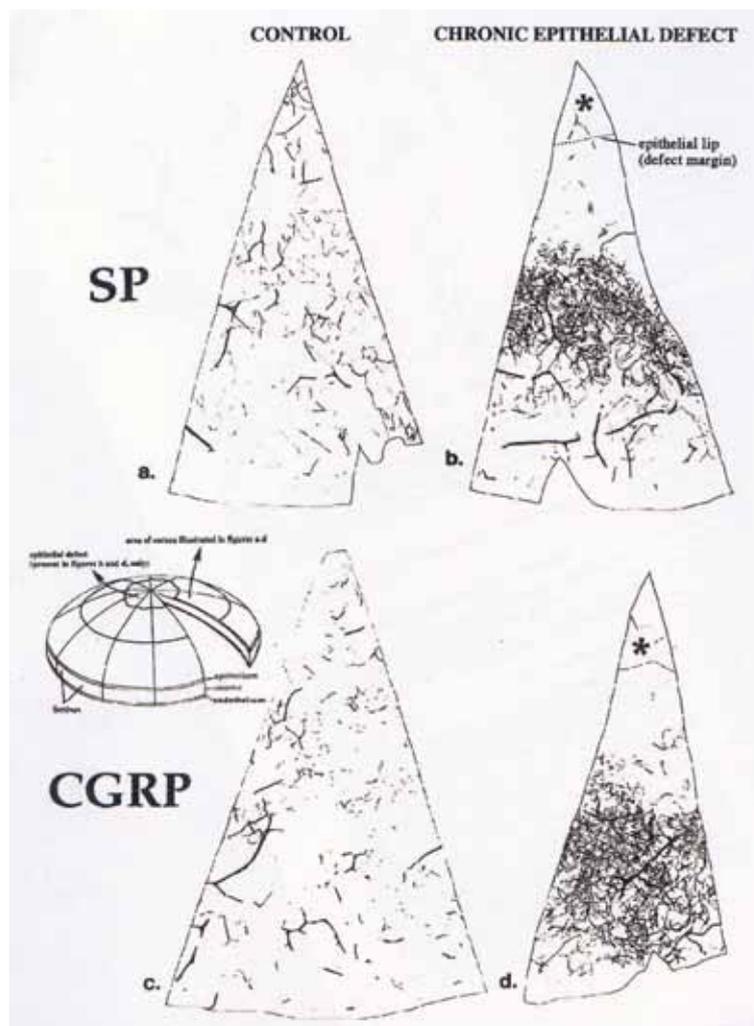


Figure 3. Fibres nerveuses sous-épithéliales de SP et CGRP dans des sections de cornées saines (a., c.) et de cornées atteintes d'ulcère épithélial chronique (b., d.). Celles-ci présentent un dense plexus autour de l'ulcère alors que le stroma sous-épithélial est très peu innervé dans le lit du déficit et en périphérie. (D'après [65])
 SP : substance P ; CGRP : calcitonin gene-related peptid

A ce jour, aucune étude n'a encore démontré si cette carence en substance P était physiologique dans le processus de cicatrisation des érosions cornéennes ou si le caractère chronique de cette affection était lié à un défaut primitif d'innervation peptidergique de la zone ulcérée. Dans les deux cas, l'épithélialisation est concomitante à un retour des taux peptidiques épithéliaux à des valeurs usuelles. Ainsi, la perte superficielle pourrait évoluer en kératite épithéliale neurotrophique par carence en substance P. En approfondissant cette hypothèse, cette carence pourrait être à l'origine de la perte épithéliale et de son entretien. De plus, l'instillation de substance P en collyre (250 µg/ml) a permis la cicatrisation de 75% des ulcères en 2,66 semaines dans l'étude de Murphy en 2001 [65]. Ces bons résultats thérapeutiques tendraient à supporter l'hypothèse carencielle.

✓ Le rôle du Transforming Growth Factor β -2 (TGF β -2)

Le TGF β -2 est une cytokine multifonction identifiée dans les larmes de l'Homme et du chien. Il joue un rôle de régulation important dans le processus de cicatrisation [44] en **modulant les effets stimulants de l'Epidermal Growth Factor [60]** (*vide infra*):

- lors d'érosion épithéliale, il est produit en très faible quantité par les cellules épithéliales et, contrairement au TGF α , il permet d'accélérer la reformation des complexes d'adhésion d'héparine sulfate, de laminine et de collagène VII [30][88].

- lors d'ulcères plus profonds mettant en jeu une rupture de la membrane basale, une production accrue de TGF β -2 est à l'origine d'une réparation fibrotique par les kératocytes du stroma [88].

Ainsi, alors que l'EGF semble jouer un rôle prépondérant dans la prolifération et la migration cellulaires, le TGF β -2 agit plus particulièrement dans l'adhésion cicatricielle.

Chez les chiens atteints d'ulcères épithéliaux chroniques, des altérations voire des absences focales de membrane basale sont observées mais sont associées à des taux de TGF β -2 anormalement bas dans les larmes. Ainsi, cette carence un peu paradoxale pourrait être à l'origine d'un **défait de réparation fibrotique**.

Cette hypothèse est également sous-tendue par les résultats bénéfiques observés par Er en 1998 [25] dans le traitement de cette affection lors de l'administration de TGF β -2 ou d'une association TGF β -2 – fibronectine.

- Les hypothèses de protéolyse exubérante
 - ✓ Le rôle du facteur d'agrégation plaquettaire [10][72]

Le facteur d'agrégation plaquettaire (Platelet-Activating Factor, PAF) est un lipide bioactif synthétisé par la cornée lors de l'effraction de sa barrière épithéliale. Son interaction avec des récepteurs spécifiques génère une réponse inflammatoire associée à l'apoptose de kératocytes ainsi qu'à une modification des délais de cicatrisation.

En effet, il induit l'expression de gènes impliqués dans la structure de la matrice extracellulaire ainsi que dans les étapes de détersion de la cicatrisation cornéenne : uPA (urokinase Plasminogen Activator), métalloprotéases matricielles MMP-1 et -9 et leurs inhibiteurs (*vide infra*).

Ainsi, dans le cadre de renouvellement cellulaire physiologique, le PAF synthétisé *in situ* en infime quantité est à l'origine d'une **homéostasie entre les protéases et leurs inhibiteurs**.

Cependant, lors de synthèse exagérée de ce lipide, les activateurs de protéases sont libérés en quantité plus importante que leurs inhibiteurs et dégradent la membrane basale nécessaire à l'adhésion épithéliale.

C'est pourquoi, l'exposition continue de la cornée au PAF lors d'inflammation prolongée, comme c'est le cas lors d'ulcères épithéliaux chroniques, entraîne une augmentation de l'apoptose des kératocytes qui pourrait être mis en relation avec la fibroplasie hyaline antérieure, ainsi qu'un délai dans l'adhésion de l'épithélium au stroma sous-jacent.

- ✓ Le rôle de la plasmine [81]

En 1987, Salonen présente dans une étude une série de dosages de **l'activité protéolytique** des larmes dans diverses affections oculaires chez l'Homme. Dans la plupart des cas de lésions cornéennes, cette activité est **très fortement augmentée** et peut atteindre un facteur 100, plus particulièrement **dans les ulcères épithéliaux chroniques**.

De plus, elle peut être inhibée par un traitement à base d'aprotinine à 10 UI/ml, un inhibiteur des sérine-protéases, et par des anticorps anti-plasminogène. Cette observation et la co-migration de l'activité protéolytique avec le taux de **plasmine** dans les larmes durant le traitement indique que cette dernière est la **principale protéase** du film lacrymal pré-cornéen. En effet, bien que les collagénases de type IV, les MMP 2, 3 et 9 semblent prendre part au

schéma pathogénique des ulcères épithéliaux, l'administration d'anti-collagénases comme la L-cystéine, l'EDTA ou l'héparine ne procurent pas les mêmes effets et confirmeraient que leur rôle dans l'activité protéolytique des larmes est moindre.

Puis en 1998, ces données sont confirmées par Willeford [105] chez les chiens atteints d'ulcères épithéliaux chroniques de la cornée. Il démontre alors une **activité protéolytique doublée dans les larmes** de ces animaux, à l'origine d'une fibrinolyse accrue.

En effet, toute destruction tissulaire active les cellules de réparation et de défense qui initient l'inflammation à l'origine du processus protéolytique. Celui-ci permet la détersion totale du site de l'ulcère pour assurer la migration et l'adhésion du nouvel épithélium. Or, ces phases nécessitent une matrice de fibronectine, glycoprotéine bien connue pour sa grande sensibilité à la protéolyse et plus particulièrement à la plasmine.

Celle-ci agirait donc selon deux modes : une **protéolyse accrue des protéines de jonctions adhérentes** entre l'épithélium et le stroma ainsi qu'une **accélération de la fibrinolyse**.

Ainsi, la baisse du nombre d'hémidesmosomes, principalement constitués de collagène IV et VII, confirmerait le rôle essentiel de la plasmine dans la libération de collagénases latentes par les kératocytes [14][20][100].

D'autre part, la fibrine ne serait plus disponible en surface stromale antérieure pour assurer une matrice de migration précoce ou d'ancrage tardif aux cellules basales (*vide infra*). Cette dernière hypothèse doit toutefois être nuancée par les observations microscopiques d'ulcères épithéliaux chroniques qui révèlent la persistance de fibronectine au niveau du déficit [13][103].

Enfin, même si la diminution du taux de plasmine jusqu'à des valeurs basales correspond effectivement à la ré-épithélialisation de l'érosion [81], nous ne savons pas si elle en est la cause ou la conséquence [22].

Ainsi, comme pour le PAF, la plasmine est produite localement en quantité accrue lors d'ulcères épithéliaux pour permettre la détersion du site. Mais cette augmentation peut entrer dans le processus normal de cicatrisation ou être à l'origine de l'ulcère lui-même et de son entretien. Dans cette dernière hypothèse, de nombreuses perspectives thérapeutiques basées sur les inhibiteurs du plasminogène peuvent être envisagées.

II. MATERIEL ET METHODES

II.1. Critères d'inclusion dans l'étude

De 1998 à 2003, 44 chiens ont été présentés à la consultation d'ophtalmologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse avec des symptômes oculaires compatibles avec un ulcère cornéen épithélial chronique ou récurrent.

Le diagnostic a été établi par la mise en évidence à l'aide d'une lampe à fente d'une perte de substance purement épithéliale entourée d'une collerette d'épithélium décollé et prenant un colorant vital (vert de lissamine ou rose Bengale). Dans tous les cas, la lésion est présente depuis au moins dix jours.

De plus, nous avons uniquement retenu dans notre étude les ulcères chroniques idiopathiques, c'est-à-dire non imputables à une autre pathologie, notamment oculaire.

*Le **critère d'inclusion** de notre étude a donc été la présence d'un ulcère épithélial dont le diagnostic a reposé sur :*

- *le caractère idiopathique de la perte de substance*
- *une absence de cicatrisation après au minimum 10 jours d'évolution*
- *la présence d'un épithélium non adhérent au pourtour de la lésion*
- *la coloration de la lésion cornéenne par le vert de lissamine ou le rose Bengale.*

Ainsi, 44 chiens avec 51 ulcères sont inclus dans notre étude (Annexes 1, 2.1 et 2.2), soient 40 chiens présentant des lésions unilatérales dont 3 ont récidivé, et 4 chiens présentant des lésions bilatérales.

II.2. Protocoles thérapeutiques

Depuis plusieurs années, il a été établi que la desépithélialisation est une procédure indispensable à la guérison des ulcères cornéens chroniques récidivants [19][27][32][43][51][62][76][86]. C'est pourquoi cet acte a été réalisé en première intention pour traiter les 51 ulcères épithéliaux inclus dans notre étude.

Par la suite, ces derniers sont répartis en 2 groupes thérapeutiques médicaux qui reçoivent à J0, jour de la première consultation à l'Ecole Vétérinaire de Toulouse, 2 traitements différents :

- **groupe contrôle**: traitement médical dit classique, à base de gentamicine (Soligental® ; VIRBAC) à 3 mg/ml (Annexe 1). Bien que l'étude récente de Hendrix en 2001 [42] sur des cellules épithéliales cornéennes de chiens ait montré que cet antibiotique ralentissait la cicatrisation épithéliale *in vitro*, nous avons deux raisons de penser que notre groupe contrôle reste valable. Tout d'abord, le taux et la vitesse de cicatrisation observés sont similaires à ceux décrits par Morgan en 1994 sur des yeux contrôles traités avec une desépithélialisation et des administrations locales de chloramphénicol 0.5%. De plus, des expériences réalisées *in vivo* sur des lapins [71] et plus récemment sur des chiens [84] ont montré que la cicatrisation épithéliale n'était pas retardée par l'application locale de gentamicine à 3 mg/ml. Ainsi, les yeux traités avec ce traitement médical nous apparaissent représentatifs d'un groupe contrôle.

- **groupe AEAC (acide ϵ -aminocaproïque)** : traitement médical à base d'**acide ϵ -aminocaproïque** à 3,57% dans du chlorure de benzalkonium (Hexalense® ; IOLTECH) instillé 3 fois/j (Annexes 2.1 et 2.2).

Dans les deux groupes de traitement, un **gel ophtalmologique bioadhésif** comme le carbopol (Ocrygel® ; TVM) a été appliqué sur l'œil atteint le soir au coucher.

Le **contrôle de l'évolution** a été réalisé à J7, J14 et J21. Les **critères de guérison** reposent sur des critères de cicatrisation épithéliale observés en lampe à fente (recouvrement et adhésion de l'épithélium en lieu et place de l'ulcère observé en éclairage diffus et en fente) ainsi que sur l'absence de coloration de la zone cicatrisée par le vert de lissamine ou par le rose Bengale.

En cas de non cicatrisation de l'ulcère à J7 et J14, une desépithélialisation a été effectuée ces mêmes jours.

En cas de non cicatrisation de l'ulcère à J21 l'ulcère, le traitement a été considéré comme un **échec**.

II.3. Résultats

II.3.1. Comparaison des deux échantillons de population

Afin de pouvoir comparer l'effet des deux protocoles thérapeutiques sur la cicatrisation des ulcères épithéliaux chroniques, il convient de vérifier que les deux échantillons de population étudiés soient semblables. Ainsi, le traitement médical doit être le seul facteur de variation entre les deux groupes d'étude qui puisse expliquer une éventuelle différence de vitesse de cicatrisation des ulcères.

- Distribution du facteur « race » dans les deux groupes de traitement

Sur les 44 chiens inclus dans notre étude, certaines races sont plus représentées que d'autres, en particulier les caniches et les boxers (Tab. 3).

Races	Nombre total de chiens dans la race	Yeux affectés au groupe contrôle	Yeux affectés au groupe AEAC
Caniche	12*	4	10**
Boxer	8	4	5***
Croisé	4	2	2
Epagneul breton	3	0	3
Labrador	3	1	2
Yorkshire	1	1	0
Colley	1	0	2
Rhodesian Ridgeback	1	1	0
Sharpei	1	2	0
Husky	1	1	0
Pinsher	1	1	0
Westie	1	0	1
Cairn terrier	1	0	1
Berger allemand	1	0	2
Bouledogue français	1	0	2
Bichon	1	0	1
Griffon	1	0	1
Rottweiler	1	0	1
Malamute	1	0	1
Total	51 ulcères sur 44 chiens	17 ulcères sur 16 chiens	34 ulcères sur 28 chiens

Tableau 3. Distribution des races dans les deux protocoles.

* : 12 caniches dont 1 traité une fois par le protocole classique et une fois par le protocole AEAC

** : 10 ulcères sur 8 caniches, dont un a récidivé sur l'œil adelphe et sur le même œil

*** : 5 ulcères sur 4 boxers dont un a récidivé sur l'œil adelphe

La multiplicité des races concernées et le nombre de cas inclus dans notre étude ne permettent pas de mettre en évidence une hétérogénéité entre les deux groupes de traitement dans la répartition des sujets par race.

Ce critère n'est donc pas un facteur de biais pour l'interprétation des résultats.

- Distribution du facteur « sexe » dans les deux groupes de traitement

Avec 23 mâles et 21 femelles, le sex-ratio femelle/mâle est de 1/1,095 et la distribution du facteur « sexe » est similaire dans les deux groupes de traitement (Tab. 4).

	Groupe contrôle	Groupe AEAC
Femelle	8/16 soient 50%	13/28 soient 46,4%
Mâle	8/16 soient 50%	15/28 soient 53,6%

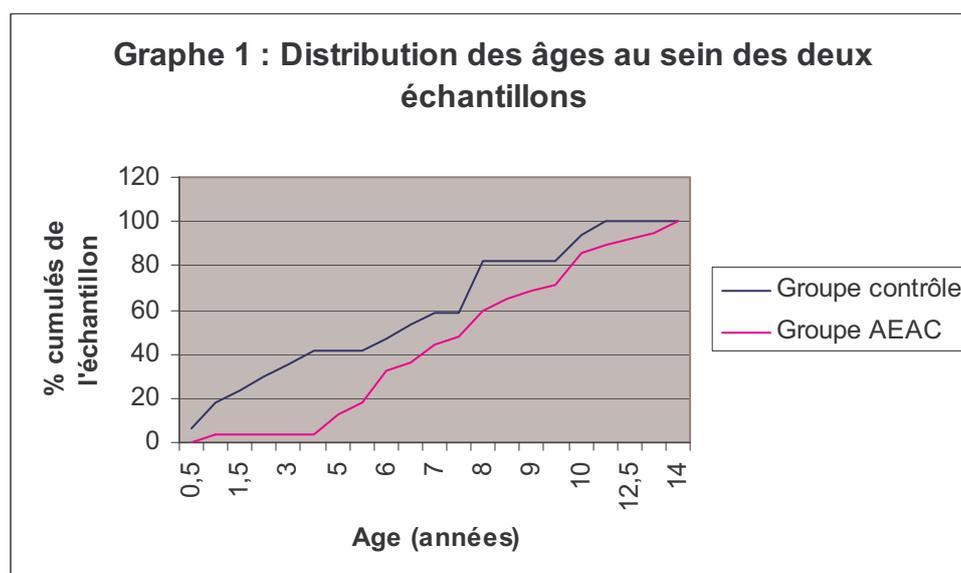
Tableau 4. Distribution des chiens selon leur sexe dans les deux protocoles.

Le test de Fisher appliqué à ces données permet d'obtenir une valeur P non significative indiquant qu'il n'y a pas de disparité concernant ce paramètre entre les deux échantillons (P=1.000).

- Distribution du facteur « âge » dans les deux groupes de traitement

Globalement, l'affection a été diagnostiquée sur des animaux d'un âge moyen de 6,6 ans (distribution des âges : 6 mois à 14 ans)

Le graphe 1 nous renseigne sur l'âge des chiens inclus dans chaque protocole thérapeutique (Annexe 3).



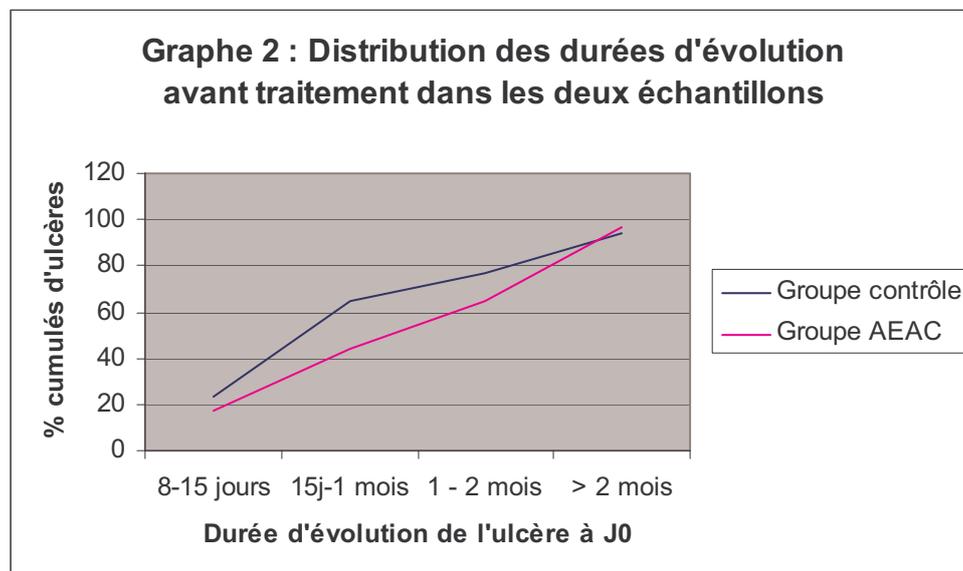
Avec des médianes d'âge respectives de 6,5 et 8 ans, les groupes contrôle et AEAC sont superposables en âge : la distribution de l'âge des chiens du groupe contrôle s'étend de 6 mois à 11 ans et celui des chiens du groupe AEAC s'étend de 1 an à 14 ans. Ainsi, un test de Mann-Whitney appliqué à ces données permet d'obtenir une valeur P considérée comme non significative ($P=0.108$) et le paramètre « âge » ne peut biaiser l'interprétation des résultats.

- Distribution du facteur « durée d'évolution des ulcères avant traitement » dans les deux groupes de traitement

Lors d'ulcères épithéliaux chroniques, le degré de hyalinisation du stroma pourrait être un facteur limitant dans la vitesse de cicatrisation. C'est pourquoi, il est nécessaire de vérifier que les ulcères des deux échantillons de population ont des durées d'évolution avant traitement superposables. Cette durée correspond à la période écoulée entre les premiers symptômes et la première consultation à l'Ecole Vétérinaire de Toulouse.

Pour cela, nous avons arbitrairement classé les ulcères en 4 classes de durée d'évolution : 8 à 15 jours, 15 jours à 1 mois, 1 mois à 2 mois et supérieur à 2 mois.

Ainsi, le graphe 2 nous résume la distribution de ce paramètre dans les deux populations (Tab. 6.1 et 6.2).



Nous remarquons grâce à la superposition des deux courbes que la répartition des durées d'évolution est homogène entre les deux échantillons. Un test de Mann-Whitney appliqué à ces données permet d'obtenir une valeur P considérée comme non significative ($P=0.738$): le paramètre « durée d'évolution » n'est donc pas un facteur de biais pour notre étude.

- Distribution du facteur « latéralité » dans les deux groupes de traitement

Dans notre étude, 91% des chiens présentaient un ulcère unilatéral à la première consultation à l'Ecole Vétérinaire de Toulouse. Un test de Fisher appliqué à ce paramètre indique qu'il n'y a pas de différence de distribution significative entre les deux groupes de traitement (P=0.771).

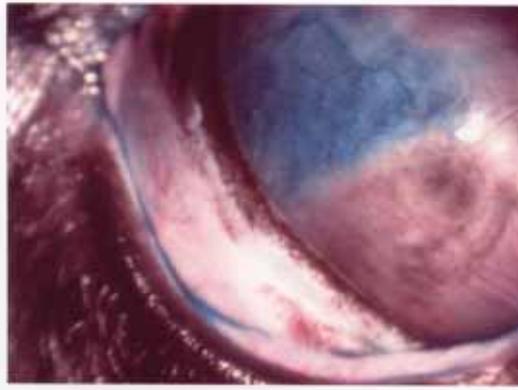
De plus, les ulcères ont été observés sur 25 yeux droits (soient 9 dans le groupe contrôle et 16 dans le groupe AEAC) et 26 yeux gauches (soient 8 dans le groupe contrôle et 18 dans le groupe AEAC). Le test de Fisher associé indique que le paramètre de latéralité est distribué de façon homogène dans les deux groupes de traitement.

Enfin, dans notre étude, les récurrences intéressent 4 ulcères (soient 7,8%) dont un ulcère (soient 2%) sur le même œil et 3 ulcères (soient 5,8%) sur l'œil adelphe.

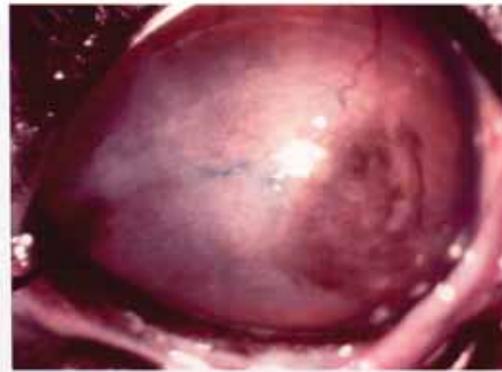
II.3.2. Evolution clinique dans les deux groupes de traitement

- Taux de cicatrisation

La durée de cicatrisation est la période qui a séparé la première consultation à l'Ecole Vétérinaire de Toulouse de la ré-épithélialisation totale avec absence de coloration par le vert de lissamine (Photo. 17, 18 et 19).



Photographie 17.



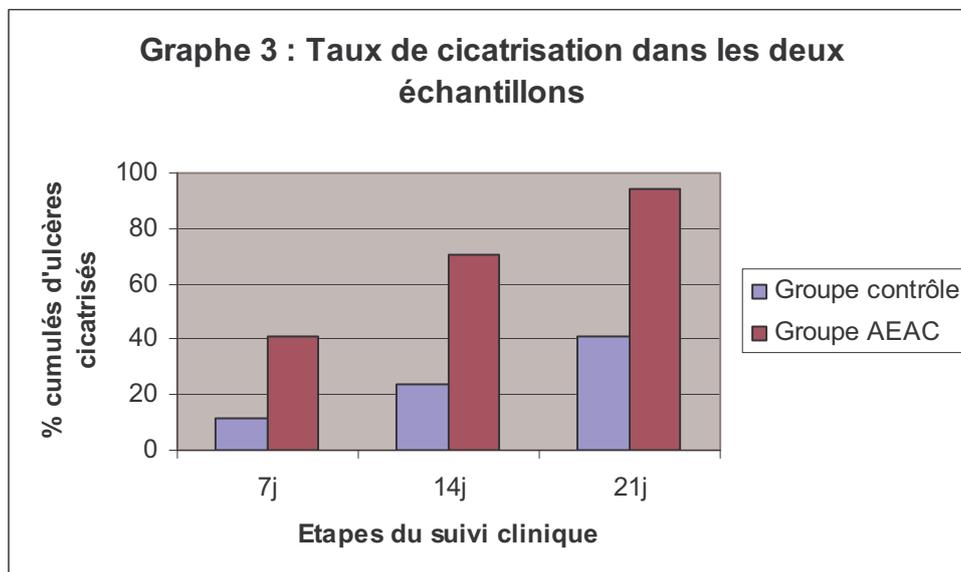
Photographie 18.



Photographie 19.

Photographies 17, 18 et 19. Evolution de la cicatrization d'un ulcère épithélial chronique : coloration de l'ulcère par le vert de lissamine qui s'infiltré sous les marges de l'épithélium décollé (17) ; coloration discrète de la ligne de suture des deux fronts de migration cellulaire (18) ; taie cicatricielle ne prenant pas le colorant (19).

A chaque consultation du suivi (J7, J14 et J21), le pourcentage d'ulcères ayant cicatrisé depuis la consultation précédente a été calculé pour chacun des deux groupes d'étude (Graphe 3 et Tab. 5).



	Nombre d'ulcères	Ulcères cicatrisés à J7	Ulcères cicatrisés à J14	Ulcères cicatrisés à J21	Total des ulcères cicatrisés
Groupe contrôle	17	2 soient 11,8%	2 soient 11,8%	3 soient 17,6%	7 soient 41,2%
Groupe AEAC	34	14 soient 41,2%	10 soient 29,4%	8 soient 23,5%	32 soient 94%
Comparaison % cumulés		P=0.053	P=0.003	P=0.001	

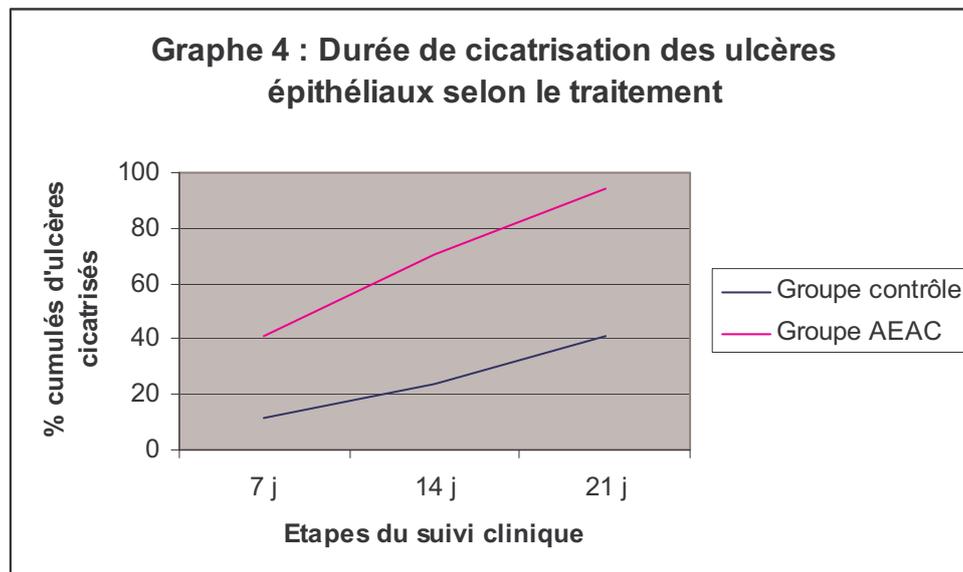
Tableau 5. Comparatif des durées de cicatrisation des ulcères épithéliaux dans les deux protocoles.

Un test de Fisher appliqué à chaque jour du suivi clinique indique une différence de taux de cicatrisation significative entre les deux protocoles thérapeutiques.

Ainsi, nous observons que:

- plus d'un ulcère sur deux n'a pas cicatrisé après 21 jours de traitement conventionnel,
- la minorité des traitements classiques ont abouti à une cicatrisation totale en 7 jours,
- environ 40% des yeux traités à l'acide ϵ -aminocaproïque ont cicatrisé durant la première semaine, soient autant qu'en 3 semaines de traitement conventionnel,
- après 21 jours, le taux global de réussite avec le traitement à l'acide ϵ -aminocaproïque a atteint 94%.

La progression des taux de cicatrisation cumulés pour chaque traitement peut être également résumée en deux courbes (Graphe 4).



Les ulcères cicatrisés grâce à l'acide ϵ -aminocaproïque sont représentés par une courbe d'aspect hyperbolique qui indique une vitesse de cicatrisation très rapide dès les premiers de traitement. Les échecs apparaissent au fil d'une asymptote.

Au contraire, les taux de cicatrisation des ulcères et la pente restent beaucoup plus faibles dans les premiers jours du traitement classique. Le maximum de pente n'est atteint qu'en période d'échec thérapeutique.

- Influence de la durée d'évolution avant traitement

Nous avons précédemment démontré qu'il n'y avait pas de différence significative dans la distribution de ce paramètre entre les deux échantillons (*vide supra*) (Annexe 4).

Cependant, au sein de chacun d'entre eux, la durée de cicatrisation de l'ulcère avant traitement pourrait interférer avec la durée de cicatrisation. En effet, on peut penser que l'épithélium adhère d'autant moins que les lésions du complexe basal et du stroma sont chroniques. Par exemple, les ulcères cicatrisés à J7 dans les deux échantillons représentaient-ils des lésions d'évolution plutôt lente ou rapide ? (Tab. 6.1. et 6.2.)

Durée d'évolution avant traitement	Nombre d'ulcères cicatrisés à J7	Nombre d'ulcères cicatrisés à J14	Nombre d'ulcères cicatrisés à J21	Nombre d'échecs (> 21j)	Nombre d'ulcères dans la tranche d'évolution
8-15 jours	1	2	2	1	6 (17,6%)
15j - 1 mois	3	4	2	0	9 (26,5%)
1 - 2 mois	5	0	2	0	7 (20,5%)
> 2 mois	5	1	3	2	11 (32,4%)
NC	0	1	0	0	1 (3%)

Tableau 6.1. Distribution des durées d'évolution au sein de la population traitée à l'acide ϵ -aminocaproïque (NC : Non Communiqué)

Durée d'évolution avant traitement	Nombre d'ulcères cicatrisés à J7	Nombre d'ulcères cicatrisés à J14	Nombre d'ulcères cicatrisés à J21	Nombre d'échecs (> 21j)	Nombre d'ulcères dans la tranche d'évolution
8-15 jours	1	0	0	3	4 (23,5%)
15j - 1 mois	0	1	1	5	7 (41,2%)
1 - 2 mois	0	1	0	1	2 (11,75%)
> 2 mois	1	0	2	0	3 (17,65%)
NC	0	0	0	1	1 (5,9%)

Tableau 6.2. Distribution des durées d'évolution au sein de la population sous traitement classique (NC : Non Communiqué)

Même si les effectifs ne permettent pas une analyse statistique satisfaisante, nous remarquons grâce à la distribution homogène des ulcères par classe d'évolution pour chaque jour du suivi, que la durée d'évolution influe peu sur la cicatrisation et ne peut être retenue comme facteur de biais.

- Toxicité de l'acide epsilon-aminocaproïque

Aucun signe secondaire ou indésirable hormis un léger picotement à l'instillation, associé à une hyperhémie conjonctivale modérée, n'a pu être observé sur les 34 ulcères traités à l'AEAC.

III. DISCUSSION

III.1. Comparaison des données de la littérature

III.1.1. Données épidémiologiques [2][11][17][19][27][32][47][49][58][61][62][63][65][86][96]

Les études réalisées sur les ulcères épithéliaux chroniques regroupent plus d'une quarantaine de races canines. Les **Boxers**, les **Retrievers**, les chiens **croisés** et les **Caniches** sont le plus souvent cités [62][86] et nous avons retrouvé une prévalence plus importante de l'affection dans ces races. Par contre, les races plus locales comme l'Epagneul breton n'apparaissent pas dans la littérature ; de même, le Corgi semble plus décrit dans les pays anglo-saxons et le Berger Australien en Australie [86].

Les ulcères épithéliaux chroniques atteignent des **animaux de tous âges et de tous genres**.

En effet, des chiens de quelques mois jusqu'à 16 ans [49][62] peuvent présenter des symptômes d'érosion superficielle chronique, avec des moyennes d'âge pouvant varier de 6 ans [32][96] à 9,5 ans [49]. Les animaux inclus dans notre étude sont également âgés de 6 mois à 14,5 ans avec une moyenne de 7,25 ans.

De plus, l'affection apparaît sans aucune prédisposition sexuelle significative, bien que les mâles soient légèrement majoritaires dans la plupart des publications [2][49][61][62][63][96] ainsi que dans notre étude avec un sex-ratio femelle / mâle de 1/1,095.

L'ulcère épithélial apparaît très majoritairement de façon **unilatérale** [49][62] dans la littérature. Ces données sont confirmées par les 91% de chiens présentant une érosion unilatérale dans notre étude.

Tous les auteurs n'excluent pas de leurs échantillons les pertes épithéliales d'origine mécanique ou fonctionnelle dont le délai de cicatrisation pourrait pourtant apparaître biaisé. Nous avons néanmoins décidé de ne conserver dans notre étude que les ulcères idiopathiques évoluant depuis plus de 10 jours.

En effet, les durées d'évolution des ulcères avant traitement s'étendent de 8 jours [62][86] à 108 semaines [58] avec une moyenne à 7,5 semaines. Dans notre étude, les érosions

évoluaient de 10 jours à 104 semaines lors de la première consultation à l'Ecole Vétérinaire de Toulouse, avec une moyenne à 1 mois, ce qui correspond aux échantillons de la littérature. De plus, ce paramètre n'interfère généralement pas avec la vitesse de cicatrisation [49].

Ainsi, nos deux échantillons, comparables en race, en âge, en genre et en durée d'évolution avant traitement, constituent une population canine elle-même comparable aux populations décrites dans la littérature.

Ceci nous permet de comparer nos résultats à ceux de ces auteurs.

III.1.2. Comparatif des thérapeutiques actuelles et de leur pourcentage de cicatrisation [2][12][27][47][49][51][76][104]

Depuis quelques dizaines d'années, de nombreuses études sur la thérapeutique des ulcères épithéliaux persistants ont offert des pistes à la fois médicales et chirurgicales, d'efficacité variable, pour laisser un important choix au clinicien.

- Les traitements chirurgicaux

En mettant l'épithélium migrant à l'abri du mouvement abrasif des paupières, les mesures de recouvrement de l'ulcère permettent de conserver une meilleure adhésion au stroma sous-jacent.

Ainsi, Morgan rencontre 61,5% de succès avec la pose de **lentilles souples de contact** après desépithélialisation [62].

Cependant, certains auteurs ont démontré chez l'Homme une augmentation du taux de plasmine dans les larmes due au port prolongé de lentilles de contact [28]. L'inflammation qu'elle génère peut être soulagée par des collyres à base d'acide epsilon-aminocaproïque (Hexalense® ; IOLTECH).

L'utilisation occasionnelle de **lentilles de collagène** s'explique par un coût prohibitif, une rémanence souvent faible et un taux de guérison de l'ordre de 44% seulement [62].

La **tarsoraphie** et le **recouvrement par la membrane nictitante** ne permettent qu'une cicatrisation modérée (68% des cas pour cette dernière d'après [62]) et n'autorisent pas un suivi satisfaisant de la lésion.

Enfin, le **lambeau conjonctival** représente une chirurgie plus lourde rarement adoptée.

Nous noterons que le port de la **colerette** n'a pas d'effet bénéfique sur la cicatrisation [62].

De façon plus spécifique, une étude de Stanley en 1998 sur 92 chiens révèle des pourcentages d'efficacité de 63% à 23 jours lors de desépithélialisation, de 85% à 13 jours lors de kératotomie et de 100% à 9 jours lors de kératectomie [86].

Cependant, certains auteurs n'estiment qu'à 50% le taux de cicatrisation obtenu en 2-3 semaines par simple **desépithélialisation** [12] (Fig. 4). Ce geste, simple à réaliser, présente de plus l'avantage de pouvoir être réitéré jusqu'à cicatrisation complète.

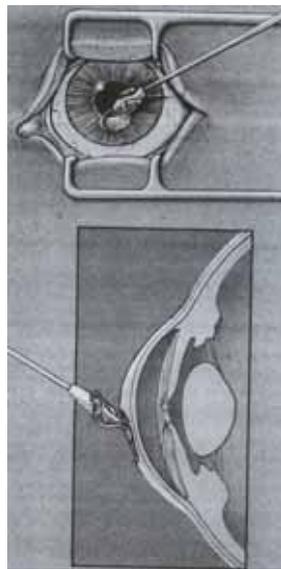


Figure 4. Technique de desépithélialisation avec un coton-tige ou un écouvillon. (D'après [58])

La **kératotomie** est un geste visant à creuser des sillons ou à réaliser des ponctuations, afin de créer dans la plage hyaline superficielle des trajets que pourront emprunter les protéines d'adhésion de la matrice extra-cellulaire produites par les cellules basales en migration (fibronectine, laminine, collagène IV...) [43]. Celles-ci pourront alors s'étaler en surface pour reconstituer une membrane basale et un terrain propice à la formation d'hémidesmosomes normaux et à l'adhésion de l'épithélium.

La kératotomie [76] peut être réalisée en grille [96] ou de façon ponctuée [19] sans réelle différence de guérison (88% lors de kératotomie ponctuée pour Champagne [19] et 72% pour Morgan [62]) (Fig. 5). Les séquelles cicatricielles en terme de taie et d'astigmatisme restent néanmoins amoindries dans cette dernière technique.

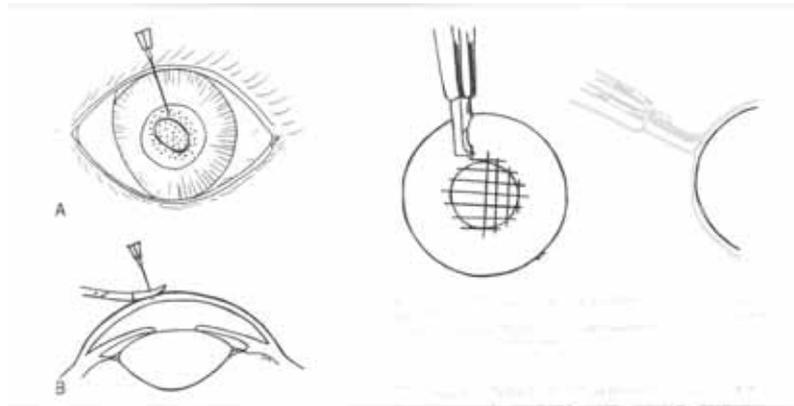


Figure 5. Techniques de kératotomie ponctuée et de kératotomie en grille. (D'après [104])

Plus récemment, les effractions du stroma peuvent être réalisées par **microdiathermie** ou par **laser Nd : Yag** chez l'Homme [33][45]. Le geste, uniforme et reproductible, assure des cicatrices de moindre étendue.

La **thermokératoplastie** est une méthode dérivée, basée sur la diathermie, qui nécessite l'utilisation de cautères. Elle vise à brûler à travers la cornée les vésicules d'œdème sous-épithélial éventuelles, afin de ré-attacher l'épithélium en voie de décollement bulleux. Cette technique rencontre 100% de succès en 10-14 jours selon Bentley [12].

La **kératectomie**, réalisée manuellement ou avec un laser Excimer, permet d'éliminer la barrière hyaline qui empêche l'adhésion épithéliale. Cette chirurgie est curative dans 100% des cas [12] mais les forces d'adhésion ne redeviennent normales qu'après plusieurs semaines [22][46].

De plus, suite à la kératectomie, des thérapeutiques adjuvantes peuvent être utilisées pour majorer les chances de cicatrisation :

- lors d'ulcères peu étendus, les bouchons de **colle de N-butyl-2-cyanoacrylate** (Histoacryl® ; BRAUN) peuvent être efficaces grâce à leurs propriétés antimicrobiennes bactériostatiques et protectrices [19]. Une bonne cicatrisation est ainsi observée en 4 semaines (2 à 8 semaines).

- lors d'ulcères étendus, le transplant d'épithélium cornéen ou **kératoépithélioplastie [95]** peut être indiquée. Les **greffes de sous-muqueuse intestinale de porc** (Vet Bio SIS T ® ; COOK) [37] ou de **membrane amniotique [52]** autorisent une cicatrisation à 4 semaines sans récurrence.

Malgré les bons résultats observés avec certaines techniques chirurgicales, une thérapeutique médicale d'accompagnement est souvent proposée.

- Les traitements médicaux

Le traitement médical repose classiquement sur l'administration d'antibiotiques, de mydriatiques, de gels bioadhésifs et parfois de collyres hyperosmotiques.

De façon plus spécifique, à l'heure actuelle, des traitements s'attachent à trouver des bases raisonnées dans la physiopathogénie des ulcères épithéliaux chroniques.

- ✓ Les facteurs de croissance [77]

Chez l'Homme, les ulcères persistants peuvent être causés par une insuffisance lacrymale car les larmes contiennent plusieurs facteurs de croissance qui favorisent la ré-épithélialisation. Même si une dystrophie épithéliale primaire est le plus souvent envisagée chez le chien, l'administration de ces facteurs constitue une idée séduisante pour renforcer le processus de migration et d'adhésion cellulaires.

Les cellules cornéennes possèdent des récepteurs membranaires spécifiques à de nombreux facteurs de croissance (EGF, PDGF, KGF...) qui agissent surtout sur la prolifération cellulaire.

- ainsi, l'**Epidermal Growth Factor (EGF)** [48][84] est un petit polypeptide sécrété dans les larmes. Administré en collyre à 100 µg/ml lors d'ulcères épithéliaux chroniques, il stimule comme le TGF β et le PDGF (*vide infra*) la synthèse *in vivo* de fibronectine et de ses récepteurs membranaires. De plus, il induit un chimiotactisme inflammatoire ainsi que la mitose des cellules épithéliales (hyperplasie épithéliale), des fibroblastes et des cellules endothéliales [83][90]. Il agit donc tant sur la phase de migration que sur la phase de multiplication [39][60][71].

Ainsi dans une étude de Kirschner [48], 8 chiens sur 10 atteints d'ulcère persistant guérissent en 2 semaines, bien que les récurrences ne semblent pas évitées.

Ainsi, quelques auteurs rapportent les effets bénéfiques d'une association avec la fibronectine pour prévenir les récurrences et avec des stéroïdes topiques pour limiter l'apport des collagénases libérées par les leucocytes [48][77].

Cependant, chez le cheval, même utilisé à 5 ou 50 µg/ml, les effets pro-inflammatoires de l'EGF dépassent ses bienfaits : en inhibant la lipocortine, un inhibiteur de la voie de synthèse des prostaglandines, il génère une inflammation qui retarde la cicatrisation [18].

De plus, il reste cher et difficile à se procurer.

- le **Platelet-Derived Growth Factor (PDGF)** est un polypeptide qui stimule également la synthèse de fibronectine ainsi que d'acide hyaluronique. De plus, en activant l'expression du gène *calcycline* impliqué dans l'entrée des cellules en phase G1, il agit également sur la prolifération cellulaire [9]. Grâce aux récepteurs des cellules épithéliales, des fibroblastes et des cellules endothéliales, il agit en synergie avec les autres facteurs de croissance dans la réparation des pertes épithéliales [90].

- le **Transforming Growth Factor (TGF β)** induit un chimiotactisme inflammatoire et stimule aussi les synthèses de fibronectine et de matrice extra-cellulaire cornéenne. Cependant, contrairement à l'EGF et au PDGF, il inhibe la prolifération des cellules épithéliales *ex vivo* [39][69]. Il intervient donc plutôt dans la régulation du processus de réparation cornéenne en antagonisant l'action stimulatrice de l'EGF [60]. L'apport exogène excessif de ce modulateur induit des fibroplasies cicatricielles importantes [90].

- quelques auteurs [63][93] ont également décrit l'utilisation à 1 mg/ml et 10 μ g/ml d'**Eye Derived Growth Factor (EDGF)**, un polypeptide de croissance cellulaire purifié à partir de rétine adulte de bœuf. Dans un contexte très inflammatoire, l'EDGF aurait un pouvoir angiogène qui permettrait l'apport de facteurs favorisant la migration et la croissance cellulaires dans le lit de l'ulcère, pour finalement autoriser une bonne cicatrisation sans récurrence sur 3 mois.

- le **Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor (GM-CSF)** a aussi été étudié dans le traitement de cette affection pour exacerber les propriétés des neutrophiles, macrophages et monocytes [15]. En effet, cette glycoprotéine endogène produite par les lymphocytes T, les macrophages, les fibroblastes, les kératocytes et les cellules endothéliales stimule les cellules hématopoïétiques progénitrices vers la lignée myélomonocytaire. Les cytokines alors synthétisées régulent l'inflammation et confèrent aux GM-CSF une activité anti-bactérienne.

Ainsi, les macrophages formés en grande quantité stimulent la prolifération cellulaire et régulent la synthèse de collagène et l'angiogenèse. Les ulcères épithéliaux cicatriseraient alors plus vite...

- purifié à partir de tissus mésenchymateux chez l'Homme, le **Keratocyte Growth Factor (KGF)** possède dans la cornée de lapin des récepteurs membranaires grâce auxquels, à 10 μ g/ml, il agit sur la réparation épithéliale en faisant entrer les cellules limbiques en phase S [85].

- administré seul ou avec de la SP (*vide infra*), l'**Insuline-like Growth Factor (IGF)** à 1 μ g/ml semble également avoir un effet bénéfique sur la cicatrisation [13].

- le **sérum autologue**, qui contient à la fois l'EGF, le TGF β , l'IGF, la SP, la vitamine A et la fibronectine normalement présents dans les larmes, peut aussi être utilisé sous forme de collyre. Un taux de cicatrisation de 43,8% des ulcères en 2 semaines et de 62,5% des ulcères en 1 mois a ainsi été obtenu [94].

✓ Les neuropeptides

Dans certaines cultures d'hépatocytes de rat, les effets synergiques de neurotransmetteurs avec des facteurs de croissance sur la prolifération cellulaire ont été démontrés : la neurotensine avec l'EGF et le TGF α , la vasopressine et la norépinéphrine avec l'IGF et l'EGF [69].

Sur la cornée, le neuropeptide le plus étudié actuellement est la **substance P (SP)**, dont les faibles concentrations au centre de l'ulcère entretiendraient la perte de substance (*vide supra*). Une étude réalisée sur des chiens en 2001 par Murphy [65] montre que 70% des ulcères épithéliaux chroniques guérissent en 2,6 semaines avec l'instillation topique de substance P à 250 $\mu\text{g/ml}$.

D'autres études menées sur des cultures cellulaires réfutent pourtant l'effet de la SP seule jusqu'à 50 $\mu\text{g/ml}$ sur la migration cellulaire [67][69]. Par contre, associée à l'IGF, elle augmente le nombre de récepteurs membranaires à la fibronectine et agit en synergie sur la cicatrisation d'ulcères épithéliaux chez le rat [67] et sur la cornée de lapin [70]. *In vivo*, le taux de cicatrisation lors d'ulcères épithéliaux chroniques chez le chien s'élève à 75% en 3,17 semaines grâce à un collyre à base de SP (250 $\mu\text{g/ml}$) et d'IGF (1 $\mu\text{g/ml}$) [65].

En outre, le Vasoactive Intestinal Peptide, le Calcitonin Gene-Related Peptide, l'Acétylcholine, la Sérotonine et la Norépinéphrine ne semblent avoir aucun effet sur la migration épithéliale [67] et aucun effet de synergie avec l'EGF [69].

✓ Les médiateurs de l'inflammation

Les **tachykinines** étudiées sur des cornées de lapin (neurokinine, kassinine, eledoisine, physalaemine) n'ont aucun effet de synergie avec l'EGF [69].

Les **cytokines** peuvent avoir des effets très divers sur la migration épithéliale : alors que l'interleukine-1 est inhibitrice, l'interleukine-6 apparaît plutôt activatrice [70].

✓ Les vitamines

Sur des lapins déficients en vitamine A, la baisse d'adhésion épithéliale par diminution du nombre d'hémidesmosomes peut être palliée par une complémentation en vitamines A [56].

Pour mémoire, les vitamines C et B1 pourraient avoir quelque effet bénéfique sur la cicatrisation selon certains auteurs [47].

✓ Les agents de la matrice extra-cellulaire

- la **fibronectine** est une glycoprotéine du plasma présente en grande quantité dans le lit de l'ulcère où elle stimule la migration et l'adhésion cellulaires par chimiotactisme ainsi que les synthèses protéiques de cytokines [68][90][101]. Bien que l'intérêt d'un apport exogène soit controversé dans le traitement des ulcères épithéliaux chroniques [56], elle peut être administrée pure ou dans un sérum autologue par voie locale. Ainsi, une étude de Gordon en 1995 sur l'instillation de fibronectine plasmatique humaine, pasteurisée et lyophilisée à 3,5 mg/ml, démontre à 21 jours de traitement une réduction de 50% du diamètre des ulcères de plus de 10 mm de diamètre et d'évolution rapide. Cependant, aucun effet n'est visible sur tous les autres ulcères, plus petits ou d'évolution chronique.

De même, l'administration de fibronectine autologue ne procure aucun effet bénéfique [16], tant pour la ré-épithélialisation que pour la survenue des récurrences [80]. En effet, si nous reprenons les résultats de Willeford [105] sur les taux de plasmine très élevés dans les larmes des chiens atteints d'ulcères persistants, les résultats de Gordon [36] prennent tout leur sens : le manque de fibronectine pour l'adhésion cellulaire ne peut être réparé par la seule instillation de cette glycoprotéine qui est de suite consommée par les protéases telles que la plasmine. Elle doit donc entrer dans un schéma d'association avec des inhibiteurs des activateurs du plasminogène (*vide infra*).

- le **hyaluronate** est également une molécule présente en grande quantité dans la zone dénudée. C'est pourquoi des essais sur un collyre à 1 mg/ml administré après la fibronectine ont été réalisés. Il semblerait que le hyaluronate agisse en synergie et se lie à la matrice de fibronectine, provoquant ainsi un changement allostérique de cette molécule. Celle-ci présenterait alors une meilleure affinité pour les cellules épithéliales et un fort chimiotactisme pour les leucocytes [68].

- des études sur des cornées de lapin n'ont pas montré d'effet bénéfique de la laminine sur la migration épithéliale [69].

✓ Les inhibiteurs de protéases

Depuis une dizaine d'année, la place de la fibronectine et des protéases dans la pathogénie des ulcères épithéliaux est à la base de nouvelles orientations thérapeutiques plus spécifiques.

- Les études de Miller en 1996 préconisent l'administration 3 fois/j de **GlycoAminoGlycanes PolySulfatés** pour inhiber les activateurs du plasminogène et la plasmine, pour diminuer les taux de prostaglandine E2 et pour activer les fibroblastes [59]. Ils inhibent également les lysozymes, les hyaluronidases et la production de radicaux superoxydes toxiques. Un collyre à 5% permet une cicatrisation dans 83% des cas, une diminution de l'inflammation et une régulation de la néovascularisation plasmine-dépendante.

- L'usage d'antibiotiques inhibiteurs de métalloprotéases matricielles tels que la **tétracycline** et la **doxycycline** chez l'Homme et surtout la **bacitracine** chez le chien [12][99] peut être proposé dans des protocoles à visée préventive ou thérapeutique. Ainsi, Dursun décrit chez l'Homme une cicatrisation des ulcères en 2 à 10 jours sans récurrence sur 2 ans, grâce à l'association méthylprednisolone / doxycycline à 50 mg 2 fois par jour qui diminue significativement l'activité de la MMP9 dans la pathogénie de cette affection [25].

- Présente à des taux élevés dans les larmes des chiens atteints d'ulcères persistants, l'**aprotinine** est un inhibiteur de la plasmine, de la kallikréine, de la trypsine et de la chymotrypsine. Son apport en grande quantité pourrait diminuer l'action de la plasmine sur l'adhésion de l'épithélium au stroma sous-jacent [77]. Cependant, bien que son activité de sérine-protéase ait été utilisée dans le dosage de la plasmine dans les larmes chez l'Homme [81] son administration à 50 UI/ml ne semble permettre la cicatrisation de l'ulcère que dans 39% des cas après débridement chez le chien [62].

Les modes d'action et l'efficacité de ces traitements actuels peuvent être résumés dans ces deux tableaux récapitulatifs (Tab. 7 et 8).

Traitement	Migration	Prolifération	Adhésion
Vitamine A	-	+	+
Tétracycline (Homme)	-	-	+
EGF	-	+	-
Fibronectine	+	-	+
Vitamine C	-	-	+
Lentilles hydrophiles	-	-	+
N-acétylcystéine	-	-	+

Tableau 7. Rôle de divers agents pharmacologiques dans la cicatrisation épithéliale cornéenne (D'après [22]).

Traitement	Taux de cicatrisation	Durée de cicatrisation moyenne (en jours)	Référence
Désépithélialisation	84% (16/19)	23	[2]
Lentille hydrophile	62% (16/26)	245	[62]
Lentille pansement de collagène	44% (11 /25)	15	[62]
Aprotinine	39% (7/18)	24	[62]
EGF	80% (8/10)	NC	[48]
Désépithélialisation + GlycoAminoGlycannes	83% (15/18)	12	[59]
Recouvrement par la membrane nictitante	68% (17/25)	18	[62]
Kératectomie	100% (24/24)	9	[86]
Kératotomie radiaire	72% (18/25)	25	[62]
	à 89% (16/18)	12	[19]
Kératotomie ponctuée	83% (15/18)	8	[76]
	à 100% (52/52)	13	[86]

Tableau 8. Comparaison des modalités de traitement des érosions persistantes de la cornée chez le chien (D'après [2])

Mise à part la kératectomie, qui reste un geste chirurgical très lourd, aucun traitement ne permet de succès infaillible. Cependant, les recherches actuelles sur la physiopathogénie de la cornée incitent à poursuivre nos investigations vers l'utilisation d'inhibiteurs des protéases dans la thérapeutique des ulcères épithéliaux chroniques.

III.1.3. L'étude princeps de Williams

En 1999, Williams a exploité les propriétés très spécifiques de l'**acide ε-aminocaproïque** (Hexalense® ; IOLTECH) [106].

Cet analogue de la lysine inhibe l'adhésion des activateurs du plasminogène à la fibrine et se lie à la plasmine pour préserver la fibronectine native (*vide infra* fig.16).

En s'appuyant sur les travaux de Salonen [81] et de Willeford [105] qui démontraient des taux élevés de plasmine dans les larmes des sujets atteints d'ulcères épithéliaux chroniques, Williams a donc proposé une étude sur l'acide ε-aminocaproïque sous la forme d'un collyre ophtalmologique [106]. Après la réalisation d'un ulcère épithélial expérimental sur des lapins de Nouvelle-Zélande, il les a classé arbitrairement en 3 groupes : un groupe a reçu un collyre d'acide ε-aminocaproïque 30%, un autre groupe n'a reçu que l'excipient (carbopol et EDTA) et un dernier a reçu un placebo.

Il a obtenu les résultats suivants :

- l'instillation d'un collyre à 30% 3 fois par jour d'acide ϵ -aminocaproïque permet une réduction de 50% du diamètre de l'ulcère en 11 jours comparé au résultat observé lors de l'administration de l'excipient seul. A J15, 75% des ulcères sont ré-épithélialisés avec l'acide ϵ -aminocaproïque contre 17% de succès avec l'excipient seul et 0% avec le contrôle. Le carboxypolyméthylène et l'EDTA semblent donc jouer un rôle protecteur par leur action lubrifiante et anticollagénase.
- sans traitement, l'épithélium apparaît polymorphe en microscopie électronique à transmission, avec une distribution non homogène des hémidesmosomes et des cellules vacuolées et détachées. Le lot traité présente quant à lui un épithélium plus continu et plus épais, quasiment normal, avec une distribution homogène des hémidesmosomes, la présence de fibronectine en grande quantité à l'examen immunohistochimique et une adhésion cellulaire renforcée.
- nous soulignerons tout de même une légère hyperhémie conjonctivale et une infiltration inflammatoire du stroma due à l'excipient bien qu'aucun signe d'œdème ou de néovascularisation ne traduise une réelle toxicité. Les effets systémiques sont également minimisés par rapport aux présentations orales.
- enfin, l'administration du collyre à 30% semble diminuer l'incidence de nouveaux ulcères épithéliaux chroniques. En effet, la molécule agit à la fois sur la phase rapide de migration et sur la phase tardive d'adhésion contrairement à la plupart des traitements actuellement utilisés.

Nous noterons que l'acide tranexamique, autre analogue de la lysine étudié par Williams, est moins efficace que l'acide ϵ -aminocaproïque lorsqu'il est administré à la concentration de 9%.

En bloquant l'action de la plasmine, l'acide ϵ -aminocaproïque autorise donc l'ancrage des cellules basales au stroma sous-jacent grâce aux molécules d'adhésion qui ne sont plus dégradées. Le processus de décollement chronique est alors enrayé.

Ce succès thérapeutique nous a donc poussé à utiliser cette molécule sous la forme de collyre dans le traitement des ulcères épithéliaux chroniques chez le chien.

III.2. Bilan des résultats obtenus chez les chiens traités à l'acide ϵ -aminocaproïque

Les ulcères persistants de la cornée constituent chez le chien un **défi thérapeutique** fondé sur une pathogénie encore mal connue.

En effet, la variété des traitements à la disposition des praticiens dénote l'efficacité toute relative de chacun. C'est pourquoi nous pensons actuellement que la clé du succès thérapeutique réside dans l'association de techniques chirurgicales et médicales.

Ainsi, la **desépithélialisation** apparaît indispensable à la préparation du site de l'ulcère. L'épithélium décollé doit être paré afin d'autoriser l'adhésion du nouvel épithélium migrant. De plus, l'administration d'un **collyre à l'acide ϵ -aminocaproïque** peut être désormais prescrite comme thérapie adjuvante afin de bénéficier d'une vitesse de cicatrisation plus rapide. En effet, sur la base des travaux de Salonen [81], puis de Willeford [105], nous envisageons que les chiens atteints d'ulcères épithéliaux chroniques possèdent également un taux de plasmine anormalement élevé dans les larmes. Cette constatation explique les effets bénéfiques d'un inhibiteur des activateurs du plasminogène dans la pathogénie de cette affection.

En effet, notre étude démontre **une vitesse de cicatrisation statistiquement plus rapide avec un traitement à base d'acide ϵ -aminocaproïque** qu'avec un traitement classique à base d'aminoglycosides : après 21 jours de traitement, plus d'un ulcère sur deux (58,8%) n'a pas cicatrisé avec une thérapie conventionnelle, alors que 94% d'entre eux sont épithélialisés avec l'AEAC, dont 41,2% dès la première semaine (Tab. 5).

De plus, l'instillation locale d'AEAC a permis la cicatrisation rapide de nombreux ulcères traités depuis plusieurs mois avec un aminoside classique. Ainsi, dans l'exemple du cas T02-3452 (Annexe 2.1), après 4 mois de traitement classique infructueux, l'acide ϵ -aminocaproïque a permis une cicatrisation totale en 6 jours !

Si nous comparons notre étude à celle de Williams [106], nous remarquons que :

- avec un traitement à l'AEAC, 75% des ulcères ont cicatrisé pour Williams en 2 semaines contre 70,6% dans notre étude. Ces résultats ne sont pas significativement différents.
- avec l'instillation de l'excipient seul (carboxypolyméthylène et EDTA), Williams a obtenu 17% de cicatrisation en 2 semaines et 0% avec l'instillation d'un placebo. Dans notre étude, 23,6% des ulcères traités par une antibiothérapie classique ont cicatrisé durant cette même période.

Ainsi, ces résultats confirment que, malgré l'épithéliotoxicité démontrée récemment *in vitro* avec la gentamicine [39], cet antibiotique n'est pas responsable d'un retard de cicatrisation et permettent de valider le choix de notre groupe contrôle. Par contre, ce traitement n'est pas beaucoup plus efficace que le simple effet protecteur de l'excipient utilisé par Williams. Notre pommade antibiotique pourrait alors seulement jouer le rôle de lubrifiant pour la cornée.

Cependant, tous ces résultats sont à nuancer à cause de la desépithélialisation réalisée de façon préliminaire dans notre étude. Ainsi, les 41,2% d'ulcères cicatrisés à 21 jours dans notre groupe contrôle, sont compatibles avec les valeurs de la littérature (50 [12] à 63% [86]). De plus, ce geste peut compenser la faible concentration d'AEAC utilisée dans notre étude (3,57% contre 30% pour Williams). Il peut également expliquer la meilleure cicatrisation des ulcères sous antibiotiques par rapport à l'excipient ou au placebo de Williams. Une antibiothérapie seule n'aurait peut être pas obtenu d'aussi bons résultats.

Alors que l'administration d'un collyre d'AEAC 30% par Williams semble diminuer la survenue des récurrences, le manque de suivi à long terme et le phénomène d'auto-médication ne nous permet pas de conclure quant à une éventuelle action sur le **caractère récidivant** du déficit épithélial dans notre étude. Il est bien connu que celui-ci peut réapparaître au même endroit ou ailleurs sur le même œil ou encore sur l'œil adelphe. Des études complémentaires seraient donc nécessaires pour conclure sur cet aspect de la pathologie. Néanmoins, nous notons avec intérêt que les récurrences cicatrisent dans des délais comparables aux premiers accès (Annexe 2.2). Ainsi, sans prendre en compte les paramètres éthiques et financiers, la gestion des récurrences reste assez aisée.

Comme dans l'étude de Williams, **aucun signe secondaire**, hormis parfois un léger picotement à l'instillation, **n'a pu être observé**. Cependant, la toxicologie de la molécule, étudiée en 1965 chez le chien [31] et observée dans les essais cliniques de l'Hexalense® ; IOLTECH [8], décrit l'apparition à la dose de 50 mg/kg par voie intra-veineuse d'une légère hypertension associée à une tachypnée réversible. A plus fortes doses par voie veineuse (200 mg/kg), des effets plus marqués sur le système autonome sont notés aux niveaux systémique (hypotension, vomissements [50]) et oculaire (mydriase intense, hypersécrétion lacrymale et, chez le chat, procidence de la membrane nictitante [8]). Le collyre à 3,57% utilisé dans notre étude ne semble donc pas assez concentré pour entraîner des perturbations systémiques, mais de plus amples études sont nécessaires pour conclure quant à la totale innocuité de l'acide ϵ -aminocaproïque par voie conjonctivale.

*Si le schéma thérapeutique idéal combine des **traitements chirurgicaux et médicaux**, alors une des clés du succès pourrait résider dans l'association **desépithéliation / acide ϵ -aminocaproïque**.*

Ces résultats très probants confirment la participation de protéases comme la plasmine dans le processus d'entretien de la perte épithéliale. Sans exclure d'éventuelles carences en substance P et TGF β -2 ou une synthèse accrue du facteur d'agrégation plaquettaire, nous nous proposons d'envisager un mode d'action de l'AEAC dans la cicatrisation des ulcères épithéliaux chroniques de la cornée.

III.3. Place de l'AEAC dans le schéma physiopathologique de cicatrisation des ulcères épithéliaux chroniques

Lors d'érosions épithéliales chez l'Homme et chez le chien, Salonen [81] et Willeford [105] démontrent une activité protéolytique anormalement élevée dans les larmes des sujets atteints. La plasmine, normalement présente dans les larmes à l'état de zymogène, est notamment fortement représentée, alors qu'une régulation particulièrement fine de sa synthèse est indispensable dans le processus de cicatrisation épithéliale.

III.3.1. Les systèmes d'attache épithéliale [56]

Les cellules basales de l'épithélium cornéen s'ancrent dans la membrane basale et le stroma grâce à deux types d'attache : les systèmes récepteurs-ligands et les jonctions adhérentes.

Ainsi, d'une part, des intégrines transmembranaires permettent de lier le cytosquelette (actine, vinculine, fodrine...) à des ligands de la membrane basale tels que la fibronectine, la laminine, le collagène IV ou les ténascines.

D'autre part, alors que les desmosomes assurent la cohésion basale, les hémidesmosomes permettent l'adhésion au stroma : les filaments cytoplasmiques se mêlent dans une structure membranaire dense à des fibrilles d'adhésion de collagène VII qui cheminent à travers la *lamina lucida* pour s'ancrer dans des plaques de collagène IV en surface stromale (Fig. 6 et 7) (Photo. 12 et 13).

La cicatrisation épithéliale implique une plasticité structurale de ces complexes.

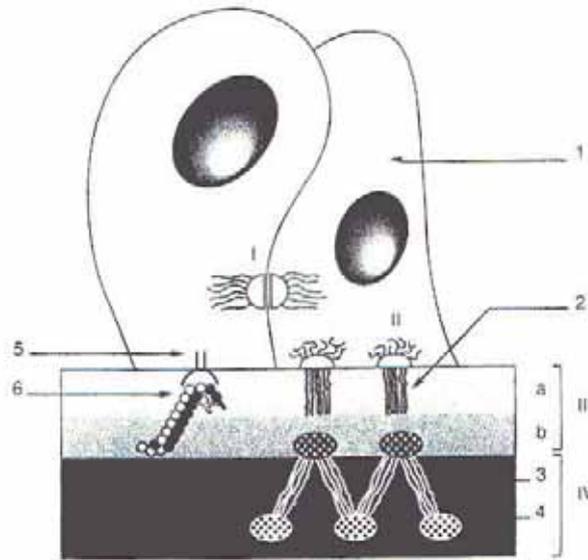


Figure 6. Les systèmes d'attache épithéliale chez les Primates. (D'après [56])

- | | | |
|------|---|--|
| I. | Desmosome | 1. Cellule basale |
| II. | Hémidésmosome | 2. Filaments d'ancrage |
| III. | Lamé basale | 3. Fibrilles d'ancrage (collagène VII) |
| | a. Lamina lucida | 4. Plaque d'ancrage (collagène IV) |
| | b. Lamina densa | 5. Intégrine |
| IV. | Membrane de Bowman (chez les Primates uniquement) | 6. Fibronectine |

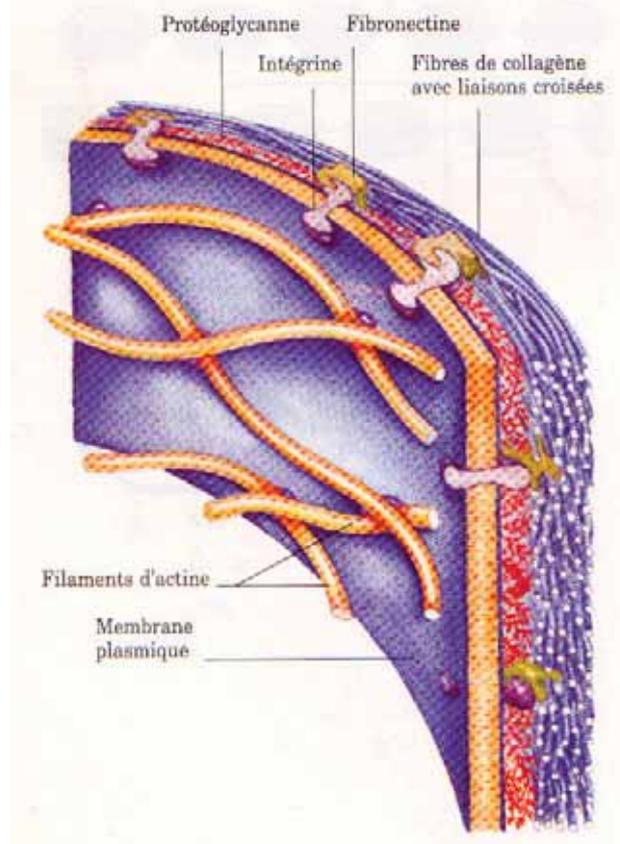


Figure 7. Le système ligand-récepteur dans l'adhésion du plasmalemme à la membrane basale sous-jacente. (D'après [53])

III.3.2. Intérêts de la régulation protéolytique dans le processus cicatriciel épithélial [22][23][24][56][61][73][77]

Lors d'ulcère épithélial simple, la cicatrisation est obtenue sans traitement en 3 à 5 jours. Trois 3 phases d'évolution sont nécessaires à une cicatrisation, correcte bien que leur chronologie varie selon le grade de l'ulcère : la migration, la multiplication et l'adhésion cellulaires (Fig. 8).

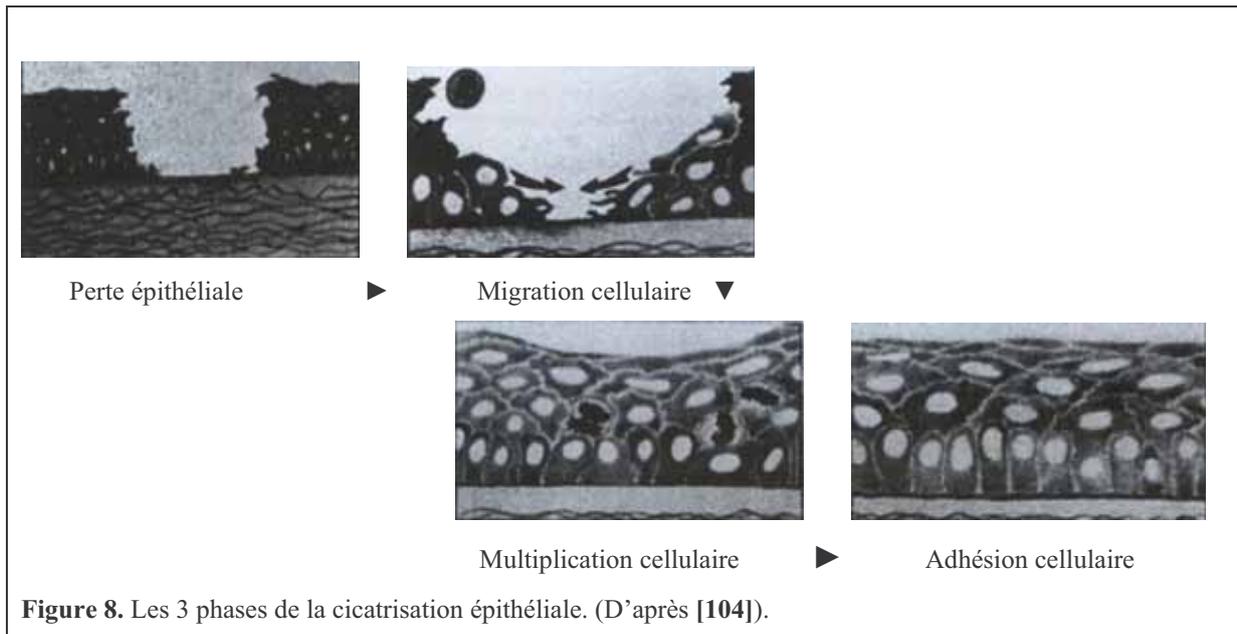


Figure 8. Les 3 phases de la cicatrisation épithéliale. (D'après [104]).

- La phase de migration cellulaire (Fig. 8)

Pour palier l'exfoliation permanente des cellules superficielles, un renouvellement continu est physiologiquement nécessaire pour éviter l'érosion.

Ainsi, l'épithélium est renouvelé *ad integrum* tous les 7 jours. Cependant, lors de perte de substance brutale, ce turn-over doit être accéléré pour assurer une cicatrisation en 7 à 10 jours également [91].

- ✓ La phase de latence

Dans les premières heures, aucune variation de taille n'est observée. La détersion des cellules nécrotiques par la plasmine peut même entraîner une légère augmentation du diamètre de l'ulcère. Elle sera néanmoins nécessaire pour permettre l'adhésion du nouvel épithélium.

Pourtant, chez l'Homme, dans les chirurgies réfractives au laser notamment [22][55] une détersion importante peut être à l'origine d'une régression myopique cicatricielle. Sa minimalisation par des inhibiteurs de la plasmine peut donc être bénéfique.

Comme lors de pertes stromales, la détersion du site peut être assurée par des **métalloprotéinases matricielles (MMP)** apportées par l'**infiltrat neutrophilique** issu des larmes. Alors que des taux basaux de MMP2 ont été démontrés dans le lambeau épithélial, la synthèse de MMP9 et de leurs activateurs physiologiques les MMP 3 semble plus augmentée dans le stroma antérieur [27][103].

Dans la région basale du cytoplasme des cellules de l'épithélium marginal, les filaments d'actine et les tonofilaments sont synthétisés en masse et réorganisés, alors que **les hémidesmosomes entre les cellules et la membrane basales disparaissent**. Les jonctions serrées des cellules squameuses s'ouvrent aussi mais les desmosomes des cellules polyédriques ne sont pas complètement lysés.

La desquamation des cellules superficielles et la perte de l'aspect colonnaire des cellules basales réduit l'épithélium marginal à 2-3 couches cellulaires et **l'épithélium monocouche de migration apparaît**.

Parallèlement, la concentration en fibrinogène, fibrine et fibronectine augmente dans la zone ulcérée alors que leur présence en cornée saine reste controversée [56].

✓ La phase de recouvrement épithélial

Au bout de quelques heures, les cellules marginales libérées de leurs attaches **glissent en masse pour combler toute la surface de la perte épithéliale [46]**. Les cellules polyédriques migrent dans un premier temps, très rapidement suivies par les cellules basales. Ce processus constitue la première phase de la cicatrisation.

Les modifications de leur cytosquelette génèrent des filopodes et des lamellipodes qui leur autorise une extension centripète vers le centre du déficit épithélial. Parallèlement, au fur et à mesure du glissement, le plasmalemme perd ses attaches centrifuges à la membrane basale [58].

Ce mécanisme est activé par **les facteurs de croissance** présents dans les larmes ou produits par les cellules épithéliales elles-mêmes [32].

➤ Donc, pour progresser, **les cellules basales doivent dans un premier temps adhérer à la membrane basale sous-jacente.**

Dans un ulcère épithélial de grade 1 (Fig. 1), un dépôt rugueux de fibrine et de fibronectine semble assuré par la membrane basale vestigiale, bien que la présence de ces molécules en cornée saine reste controversée [56]. En effet, les cellules basales étant très cohésives à cause de leur ceinture de desmosomes et solidement attachées à la membrane basale par leurs nombreux hémidesmosomes, une perte épithéliale se traduit par une déchirure apicale de la strate cellulaire basale qui conserve le plasmalemma et la membrane basale *in situ* [29][46][56].

Dans un ulcère épithélial de grade 2 (Fig. 1), la membrane basale n'est plus intègre et la matrice protéique semble assurée par l'apport de fibronectine par les larmes ou par les cellules basales en migration [106].

Le nouvel épithélium utilise alors ce complexe basal comme source primaire de molécules d'attache : l'agencement du cytosquelette se modifie, la cellule basale s'aplatit et s'agrandit en envoyant des pseudopodes centripètes. Le mouvement amiboïde est ainsi amorcé.

➤ De plus, pour progresser, **les cellules basales doivent dans un deuxième temps casser leurs adhérences à la membrane sous-jacente.** Pour cela, elles mettent en jeu le système plasminogène-plasmine.

Le plasminogène et ses activateurs, présents physiologiquement dans les larmes [16][56] sont aussi les acteurs principaux de la fibrinolyse plasmatique [50]. Ce système très puissant et donc très dangereux est à la base d'une protéolyse dirigée dans la cornée. C'est pour cela que ces activateurs sont libérés *in situ* et en quantité infime, afin de prévenir tout effet à distance. Ainsi, dans le cadre physiologique de l'exfoliation cellulaire, ils permettent de briser en surface les attaches fibrineuses.

Dans le cadre pathologique de l'ulcère épithélial de grade 1, **le plasminogène du liquide lacrymal activé en plasmine clive de façon sélective les attaches marginales des cellules à la fibrine et à la fibronectine.** Il permet ainsi la migration cellulaire. C'est pourquoi des souris mutées sur un gène de codage du plasminogène présentent un blocage de cette étape et donc une absence de cicatrisation [105].

Les activateurs du plasminogène aboutissent rapidement à la formation de plasmine lors d'irritations oculaires diverses (exposition à un allergène [80], kératectomie antérieure [20][97], port de lentille [92], brûlure et ulcère [7] ou simple test de Schirmer [98]).

Après ré-épithélialisation, le taux de plasmine chute et celui des activateurs remonte jusqu'à son niveau basal [20].

Lors de déficits épithéliaux plus étendus ou répétés, les capacités de réplication des cellules basales peuvent être saturées et nécessiter la participation de cellules souches limbiques à réplication permanente. Celles-ci pourront alors entraîner avec elles leurs pigments, lors de kératites pigmentées par exemple [58]. De plus, lorsque l'ulcère s'étend en région limbique, celle-ci est d'abord couverte par l'épithélium monocouche de façon circonférentielle. Ce n'est que lorsque le pool limbique est reconstitué que la migration centripète peut commencer [22][23]. Cette phase de cicatrisation est très rapide.

Lors de la migration, des granulocytes neutrophiles issus des larmes peuvent infiltrer le nouvel épithélium et disparaître lorsque la première couche est formée.

Le bon déroulement de cette première phase de cicatrisation repose donc sur un support de migration intact afin de permettre l'adhésion et sur une régulation précise de sa dégradation. La continuité et l'adhérence de l'épithélium lui confèrent alors sa fonction de barrière de protection.

- La phase de multiplication cellulaire (Fig. 8)

La multiplication cellulaire débute au bout de plusieurs heures suivant la taille de l'ulcère, lorsque la première couche cellulaire est continue. Les fronts de migration cellulaire se rejoignent au centre de l'ulcère pour former un Y ou un  à l'origine d'une inhibition de contact [22]. **Les mitoses des cellules basales sont alors très actives** et forment rapidement une hyperplasie transitoire de l'épithélium [32]. La normalisation de son épaisseur sera plus tardive.

Cependant, **cette couverture reste fragile et susceptible de décollements mécaniques** lors des premières heures de cette deuxième phase.

Ainsi, une étude de Khodadoust [46] réalisée en 1968 sur un ulcère épithélial de grade 1 de 10 mm de diamètre créé expérimentalement montre que l'épithélium reste débridable jusqu'aux marges tant que la première couche cellulaire n'est pas continue et adhérente :

- la phase 1 de migration cellulaire est achevée à J4
- l'épithélium recouvre une adhérence normale à J6
- la multiplication cellulaire atteint 2-3 couches à J7
- la multiplication cellulaire atteint 3-4 couches à J14
- un épithélium normal est restauré à J21.

Lors d'érosions épithéliales répétées, la vitesse de prolifération est plus élevée car les cellules qui entrent en mitose sont jeunes [26].

- La phase d'adhésion cellulaire (Fig. 8)

- ✓ Les ulcères épithéliaux de grade 1

L'accumulation de kératocytes, de débris cellulaires amorphes et de neutrophiles sub-épithéliaux lors de la progression retarde l'ancrage des cellules basales à la membrane sous-jacente. Cependant, dans le cas d'**ulcères de grade 1** (Fig. 2), le processus d'adhésion débute dès que le déficit est entièrement couvert [46] et parfois même avant [56] : lorsque la multiplication cellulaire débute, les cellules basales sont déjà bien ancrées dans le stroma grâce à la membrane basale. **L'évolution chronologique de la cicatrisation épithéliale repose donc sur la migration puis l'adhésion et enfin la multiplication cellulaires.**

- ✓ Les ulcères épithéliaux chroniques de grade 2

Les ulcères épithéliaux chroniques dévoilant le stroma antérieur, ils présentent des caractères de cicatrisation propres à des ulcères plus profonds.

Ainsi, nous remarquons que lors de kératectomies à l'origine d'une perte de stroma superficiel, l'épithélium migre normalement et se différencie mais reste débridable jusqu'aux marges pendant 6-7 semaines. Les hémidesmosomes, la membrane basale et les fibres de collagène VII apparaissent précocement de façon synchrone mais n'autorisent une parfaite adhésion que très tardivement. Ainsi, alors que la **membrane basale** est un support d'ancrage

précoce des cellules basales dans les ulcères de grade 1, elle **n'est formée que secondairement par les cellules épithéliales [46]** lors d'ulcères de grade supérieur. Par exemple, après une kératectomie de 7 mm de diamètre, les discontinuités de la membrane empêchent encore toute stabilisation 12 mois après l'épithélialisation [35][55]: après migration et mitoses, l'épithélium nivelle la surface en augmentant le nombre de couches cellulaires et en modifiant l'aspect des cellules basales désormais plus colonnaires. A J19 post kératectomie, les cellules basales reposent toujours sur une substance amorphe, non organisée, qui les sépare du stroma antérieur (Photo. 20). Quelques mois après, lorsque l'adhésion est redevenue normale, la membrane basale est à nouveau présente mais le moment exact de sa formation n'est pas encore défini [46].

Ainsi, dans les ulcères de grade 2, l'évolution chronologique de la cicatrisation épithéliale repose donc sur la migration puis la multiplication et enfin l'adhésion cellulaires.



Photographie 20. J19 après une kératectomie superficielle : les cellules basales recouvrent directement une plaque de matériel amorphe en l'absence de membrane basale. Absence d'hémi-desmosomes. Ep : cellule épithéliale ; CM : membrane cellulaire ; Str : stroma. (X 30000). (D'après [46])

Par conséquent, cela nous prouve que la membrane basale n'est pas un promoteur de la différenciation épithéliale mais bel et bien de son adhérence [38].

De plus, les kératocytes activés en fibroblastes synthétisent un agencement anarchique de collagène [11][79] à l'origine d'une taie cicatricielle. La néovascularisation associée persiste généralement, même si elle perd sa fonctionnalité une fois la cicatrisation accomplie.

A cause des modifications multifocales du complexe basal, les ulcères épithéliaux chroniques s'octroient donc quelques aspects cicatriciels des ulcères plus profonds. Ceci explique notamment l'adhésion tardive et l'apparition de granulome inflammatoire chez certains sujets.

La clé de voûte d'une bonne cicatrisation repose donc sur le juste équilibre entre la synthèse et la dégradation des molécules d'attache, c'est-à-dire entre la synthèse des activateurs du plasminogène et celle de leurs inhibiteurs.

En reprenant les études de Salonen [81] et de Willeford [105], une augmentation locale exagérée du taux de plasmine pourrait donc être à l'origine d'un cercle vicieux : pas de migration cellulaire sans membrane basale et pas de membrane basale sans migration cellulaire. Les défauts de migration et d'adhésion cellulaires entretiendraient donc la perte épithéliale.

Dans l'hypothèse d'un taux trop élevé de plasmine, l'instillation locale d'un inhibiteur de l'activateur du plasminogène tissulaire assurerait donc un effet anti-fibrinolytique et anti-collagénase pour amorcer la ré-épithélialisation.

III.3.3. Mode d'action et intérêts de l'AEAC dans la régulation de la protéolyse [21][34][40][50][53][54][66]

- Aspects moléculaires de la protéolyse

Présent dans les larmes à l'état physiologique [14], le **plasminogène** est un zymogène de la plasmine synthétisé par le foie et le rein. Cette β globuline de 85 kDa intervient au bas de la cascade de la coagulation plasmatique dans le cadre de la fibrinolyse (Fig. 10).

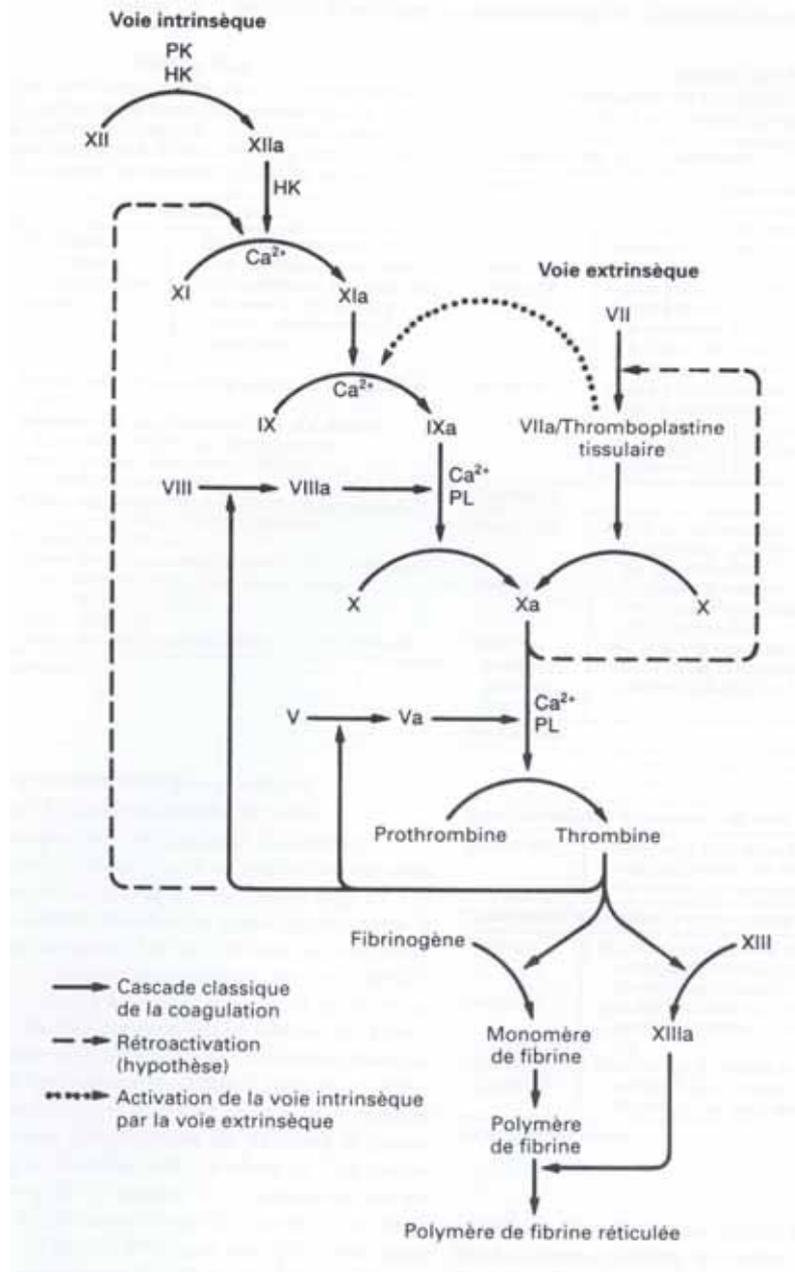


Figure 10. La cascade de la coagulation plasmatique. (D'après ROBERTS, H.R. and LOZIER, J.N., New perspectives on the coagulation cascade, *Hosp. Pract.*, 1992, 27, p97. In: [40])

Dans la voie exogène, il peut être activé par de nombreux facteurs tels que l'**activateur du plasminogène type urokinase (uPA)**, présente dans les larmes, l'épithélium cornéen, l'urine, la fraction prostatique, la salive, le lait, la bile, le liquide cébrospinal, la synovie et le liquide amniotique, l'**activateur du plasminogène tissulaire (tPA)** également présent dans les larmes [16], la streptokinase (synthétisée par les streptocoques β hémolytiques), l'érythrokinase (synthétisée par les érythrocytes), la niacine, la vitamine B1, les activateurs facteur XII-dépendants...(Fig. 11 et 16)

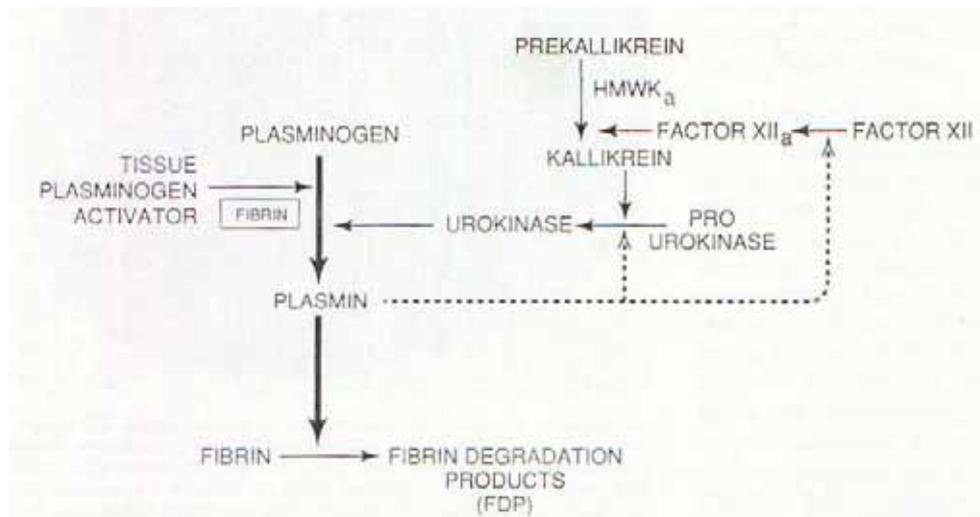


Figure 11. Les agents activateurs du plasminogène dans l'initiation de la fibrinolyse. (D'après [34])
HMWK_a : activated High Molecular-Weight Kininogen.

Le plasminogène se lie dans un premier temps à la fibrine, au fibrinogène ou à la fibronectine puis est activé par un de ses activateurs. Ceux-ci sont très liés aux cellules et libérés en faible quantité, ce qui rend leur isolement très difficile. Cependant, des traces d'uPA et de tPA ont été mises en évidence dans l'épithélium cornéen lors d'ulcères épithéliaux. Ces deux activateurs se distinguent par leur structure, leur distribution immunohistochimique dans l'ulcère, leur affinité pour la fibrine et pour certains inhibiteurs (Tab. 9) [41][102]. Cependant, leur action sur le plasminogène est semblable (*vide infra*).

Activateur	Immunolocalisation	Rôle	Affinité pour la fibrine	Affinité de l'AEAC	Affinité de l'amiloride
uPA	Epithélium marginal, importante	Dégradation tissulaire et migration épithéliale	+	++	+++
tPA	Centre, faible	Détersion du site et fibrinolyse	+++	++	0

Tableau 9. Comparaison uPA / tPA.

Lors d'ulcères à bords décollés, l'expression de l'**uPA** est augmentée dans les cellules de l'épithélium migrant [102]. Cet activateur agit à trois niveaux [89][5] (Fig. 12):

- action directe de l'uPA sur le plasminogène,
- action directe de la pro-urokinase, zymogène de l'uPA, sur le plasminogène,
- rétrocontrôle positif de la plasmine formée sur l'activation de la pro-urokinase en uPA.

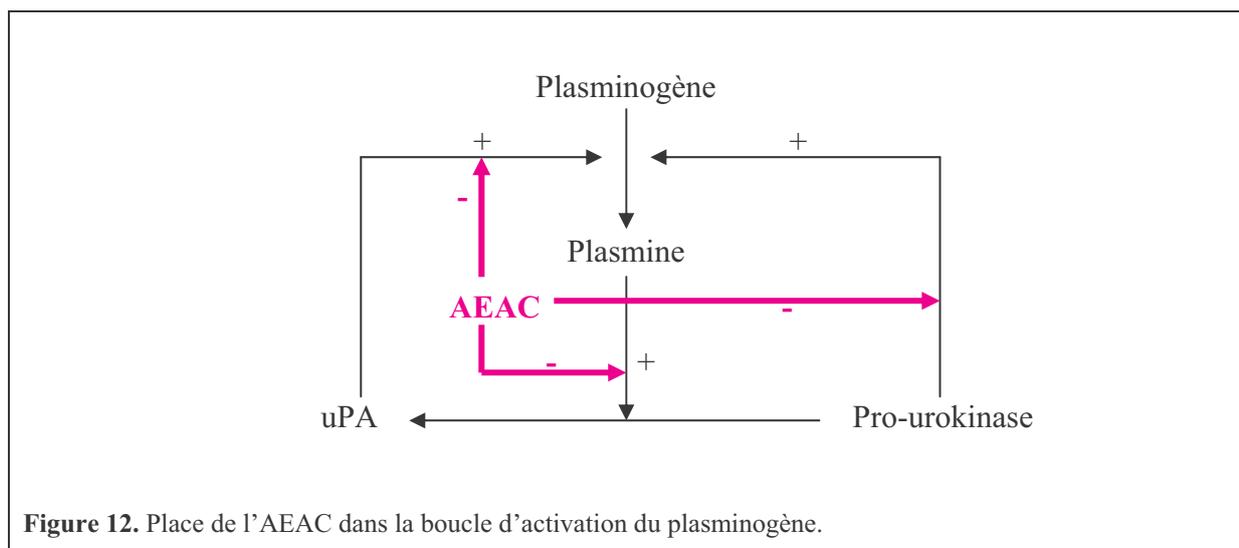


Figure 12. Place de l'AEAC dans la boucle d'activation du plasminogène.

L'uPA se lie au site *kringle* 1-4 du plasminogène par des résidus lysine afin de l'activer en plasmine. C'est sur ce même site *kringle* 1-4 de la plasmine que la pro-urokinase va se fixer aux résidus lysine pour être activée en uPA. Une boucle de régulation d'activation du plasminogène est donc mise en place : lorsque la plasmine est synthétisée en quantité accrue dans les larmes, elle active la pro-urokinase et génère alors un rétrocontrôle positif de sa propre synthèse.

Par contre, contrairement au tPA, les domaines *kringle* de l'uPA et de la pro-urokinase ne contiennent pas de sites lysine propres qui leur permettent de se lier à la fibrine. La synthèse de plasmine n'est donc pas sous contrôle du taux de fibrine du milieu [5].

Libéré à la demande dans le flux vasculaire par les cellules endothéliales lors d'exercice, de stase veineuse ou d'injections intraveineuses, le tPA serait synthétisé de la même façon sous forme latente par les cellules basales et activé lors de la formation des complexes plasminogène / fibrine que nous retrouvons au début du processus de cicatrisation [100]. Dans certaines phases de néovascularisation, les cellules endothéliales pourraient également intervenir.

Le tPA est une sérine-protéase de 68 kDa, isolée chez beaucoup de Mammifères, présente notamment au niveau de l'épithélium et de l'endothélium cornéens, de l'iris et des corps ciliaires. Elle est composée de 5 domaines [107]:

- domaine *sérine-protéase*, qui permet l'activation du plasminogène
- domaine de liaison à l'*Epidermal Growth Factor*
- domaines *kringle 1* et *2*
- domaine *finger*

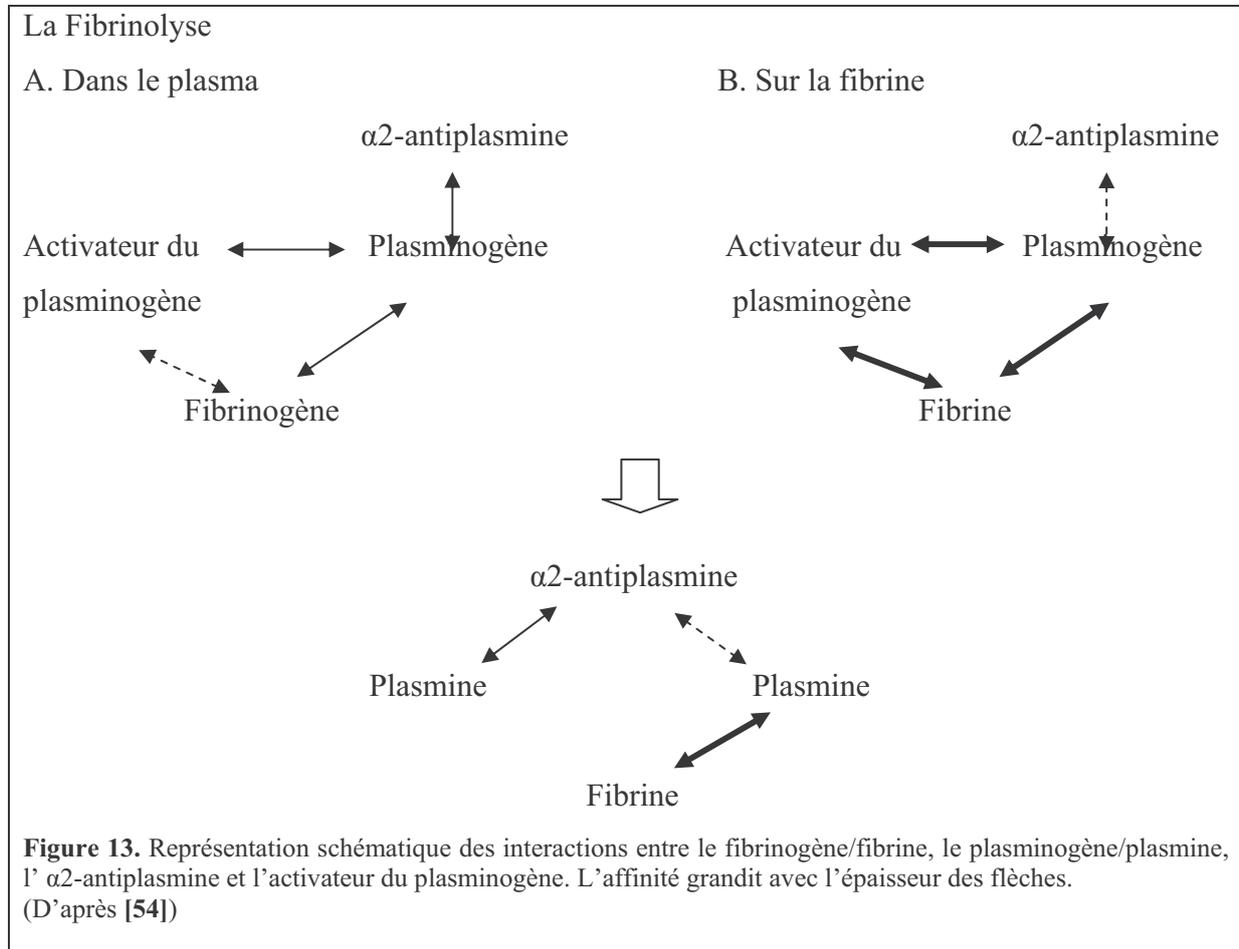
Comme l'uPA et la pro-urokinase, l'extrémité C-terminale portant le site *sérine-protéase* permet de se lier au site *kringle* 1-4 du plasminogène.

Le tPA n'a pas de zymogène à l'origine d'une boucle de régulation mais il tire son originalité dans sa grande affinité pour la fibrine. En effet, selon une étude de Zonneveld réalisée sur des mutants délétés pour chaque domaine [107], le site *kringle 2* du tPA possède, contrairement à l'uPA, un résidu lysine seul capable de fixer cette molécule.

Mais selon Bakker [5][6], la fixation de lysine en *kringle 2* permettrait juste une stabilité conformationnelle accrue pour et par la fibrinolyse. En effet, diverses chaînes glucidiques augmenteraient l'encombrement stérique au niveau de *kringle 2* et de *finger*, diminuant d'autant leur affinité et donc leur activité lytique vis-à-vis de la fibrine [4].

Dans une phase initiale, la dégradation de la fibrine jouerait le rôle de catalyseur sur la force de liaison du tPA au plasminogène et favoriserait l'affinité grandissante de la fibrine pour le domaine *kringle 2* au cours de la fibrinolyse. Cette hypothèse de mécanisme [107] expliquerait les divergences de certains auteurs sur le site de fixation de la fibrine en *kringle 2* ou en *finger*.

Ainsi, lors de l'adhésion du tPA au complexe plasminogène / fibrine, la fibrine serait initialement portée par le domaine *finger* et le plasminogène par le domaine *sérine-protéase*, à l'extrémité carboxylique du tPA, pour former un complexe ternaire instable : le complexe tPA / plasminogène / fibrine (Fig. 13).



Bien que les propriétés pharmacodynamiques de l'uPA aboutissent à une boucle de régulation et que les particularités structurales du tPA génèrent un complexe ternaire instable, le mode d'action biochimique de ces deux activateurs reposent sur le même principe : lors de la fixation de l'uPA, de la pro-urokinase et du complexe ternaire de tPA sur les sites lysine des domaines *kringle* 1-4 du plasminogène, celui-ci est clivé au niveau de sa liaison Arginine-Valine en une sérine-protéase double chaîne : la plasmine (Fig.14).

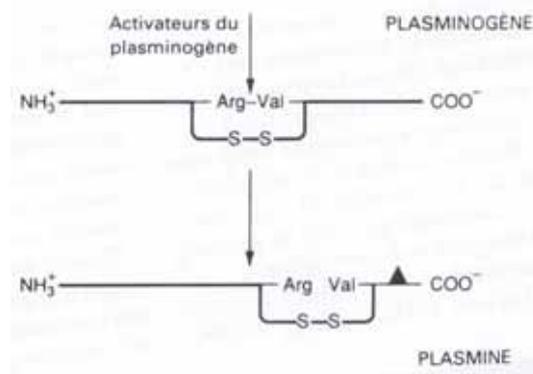


Figure 14. Activation du plasminogène. Tous les activateurs coupent la même liaison Arg-Val pour donner une molécule bicaténaire de plasmine liées par un pont disulfure. (D'après [40])

Alors qu'une des chaînes, libérée du complexe, est rapidement inhibée par les facteurs antiplasminiques plasmatiques ($\alpha 1$ antitrypsine, protéine C1, antithrombine III et surtout $\alpha 2$ macroglobuline), l'autre chaîne est protégée de l'inactivation (Fig. 15). Ainsi, celle-ci entame le processus de fibrinolyse et active la libération de collagénases fibroblastiques latentes [14][22][100] sous l'influx de signaux épithéiaux et neutrophiliques.

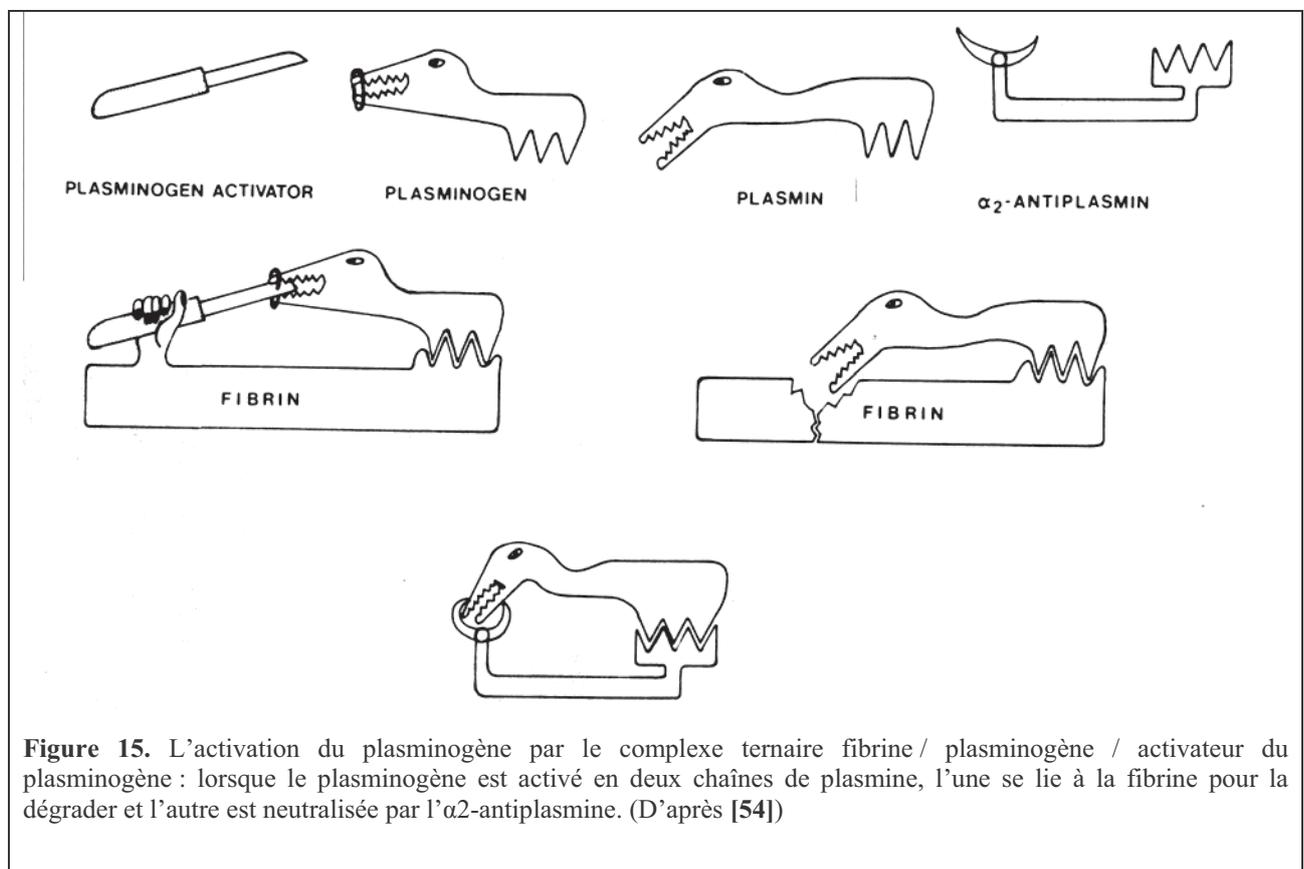


Figure 15. L'activation du plasminogène par le complexe ternaire fibrine / plasminogène / activateur du plasminogène : lorsque le plasminogène est activé en deux chaînes de plasmine, l'une se lie à la fibrine pour la dégrader et l'autre est neutralisée par l' $\alpha 2$ -antiplasmin. (D'après [54])

De même, dans le complexe ternaire, le tPA profite de ce camouflage stérique pour éviter l' α_2 macroglobuline, seule antiplasmine plasmatique à activité tPA-lytique démontrée, l'inhibiteur du tPA coagulation-dépendant de 75 kDa et l'inhibiteur du tPA plaquette-dépendant de 20 kDa (Fig. 16).

Lorsque son activité de fibrinolyse est terminée, il est vite neutralisé par ces molécules et dilué.

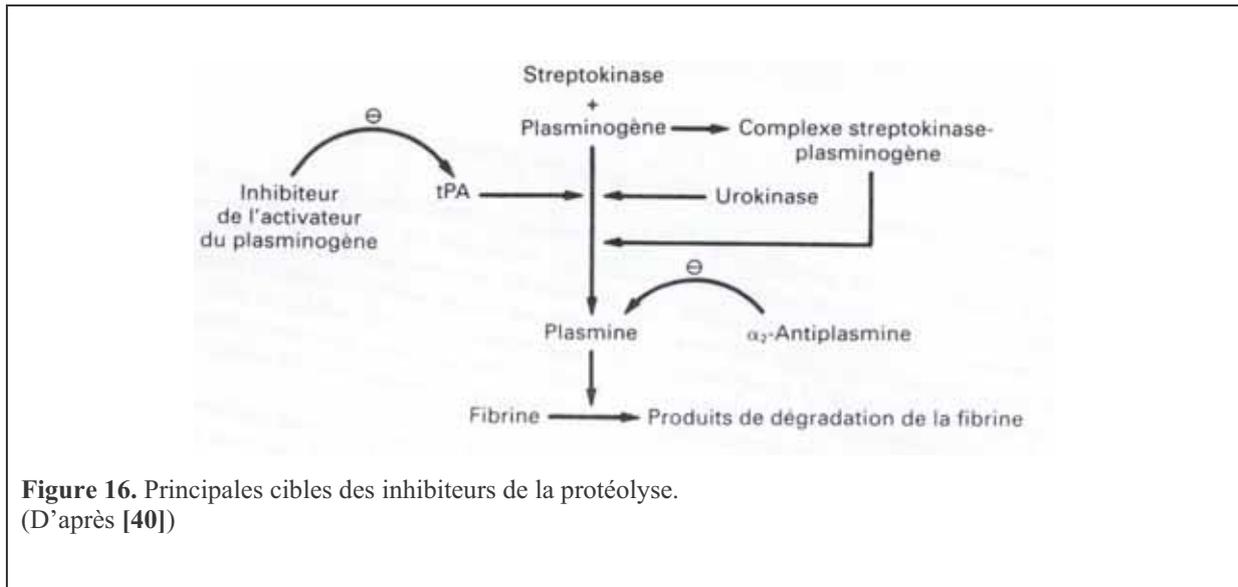


Figure 16. Principales cibles des inhibiteurs de la protéolyse. (D'après [40])

- Place de l'AEAC dans l'inhibition de la protéolyse

L'acide ϵ aminocaproïque est un acide aminocarboxylique analogue de la lysine qui peut entrer en compétition directe au niveau des sites de fixation lysine-dépendants.

Il inhibe ainsi la fixation de la pro-urokinase et de l'uPA sur les domaines *kringle* 1-4 du plasminogène ainsi que celle de la pro-urokinase sur les domaines *kringle* 1-4 de la plasmine [89] (Fig. 12).

Au sein du complexe ternaire, l'AEAC ne joue aucun rôle d'inhibition dans la fixation du tPA à la fibrine au niveau du site *finger* basée sur d'autres interactions. Par contre, il inhibe l'affinité croissante de la fibrine pour les sites lysine-dépendants du domaine *kringle* 2 du tPA au cours de la fibrinolyse.

Enfin, à un moindre degré, il inhibe la formation directe du complexe plasminogène / fibrine, ainsi que la fixation du fibrinogène à son récepteur cellulaire α -énolase-like. Cette liaison, catalysée par la conversion du plasminogène en plasmine, augmente en retour le taux d'activation du zymogène de la fibrine, à l'abri de l' α 2-antiplasmine [3].

En résumé, l'AEAC agit à deux niveaux (Fig. 17) :

- inhibition de l'activation du plasminogène en plasmine,
- inhibition de la dégradation de la fibrine par la plasmine.

Le premier processus, majeur, permet d'éviter la libération de collagénases fibroblastiques latentes [100] à l'origine de la destruction de la laminine et des collagènes IV et VII constitutifs des hémidesmosomes. Il limite ainsi la perte d'adhérence épithéliale.

Le second processus permet d'éviter une fibrinolyse accrue à l'origine du retard de la migration et de l'adhésion cellulaires. L'aspect plus accessoire de ce mode d'action pourrait expliquer en partie la présence de fibrine observée en microscopie au centre des ulcères épithéliaux chroniques [13].

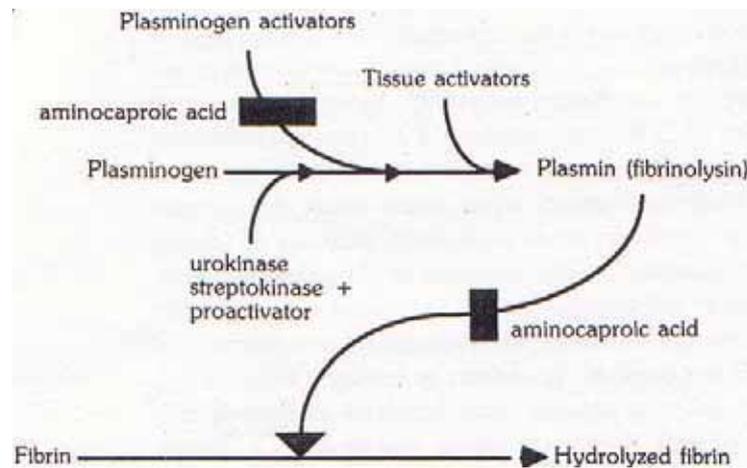


Figure 17. Les deux sites d'action de l'AEAC : le rôle majeur de blocage des activateurs du plasminogène et le rôle mineur d'antiplasmine. (D'après [50])

La régulation des mécanismes de synthèse des activateurs de la protéolyse permet de conserver un équilibre primordial lors du processus de cicatrisation. Elle met en jeu des réactions complexes de catalyse en chaîne dans un environnement restreint.

En cas de besoin, des grains de sable permettent néanmoins de bloquer cette machinerie fine : ce sont les analogues de la lysine tels que l'AEAC.

En instillant cet inhibiteur des activateurs du plasminogène sur des cornées atteintes d'ulcères épithéliaux chroniques, l'équilibre avec une synthèse accrue de plasmine semble rétabli. Les résultats de notre étude indiquent ainsi une probable participation de la plasmine dans l'entretien de la perte épithéliale.

CONCLUSION

Depuis quelques dizaines d'années, les ulcères épithéliaux chroniques de la cornée ont été décrits dans de nombreuses races canines. Face à leur caractère le plus souvent idiopathique, de nombreuses hypothèses ont été avancées afin d'expliquer l'origine et l'entretien de cette perte épithéliale.

Ainsi, sur la base d'observations cliniques et microscopiques, malgré le caractère très focal de l'affection, cette perte primaire de substance pourrait être causée par une dystrophie épithélio-basale. Elle serait alors entretenue dans le lit de l'ulcère par une activité protéolytique accrue à l'origine de la disparition des complexes d'adhésion épithéliale. D'autres hypothèses de déficit en substance P et en TGF β -2, ou de synthèse accrue de PAF ont également été évoquées.

Alors qu'une pléthore de traitements symptomatiques était jusqu'ici proposée avec plus ou moins de succès, la thérapeutique s'oriente aujourd'hui vers ces hypothèses pathogéniques. Ainsi, après desépithélialisation, l'instillation d'un inhibiteur des activateurs du plasminogène comme l'acide epsilon-aminocaproïque à 3,57%, 3 fois par jour avec un gel bioadhésif au coucher, permet la cicatrisation de 94% des ulcères en 3 semaines, dont 41,2% dès la première semaine et 70,6% en deux semaines.

Afin d'éviter des chirurgies curatives trop lourdes, la combinaison desépithélialisation / acide epsilon-aminocaproïque semble donc être un compromis de réalisation aisée et peu onéreuse.

Ainsi, ces résultats apportent des éléments de réponse au schéma pathogénique des ulcères épithéliaux chroniques chez le chien, en confirmant une participation non négligeable des protéases dans la dysrégulation du processus cicatriciel.

BIBLIOGRAPHIE

1. AITKEN, D.A., BEIROUTY, Z.A. and LEE, W.R.
Ultrastructural study of the corneal epithelium in the recurrent erosion syndrome.
British Journal of Ophthalmology, 1995, **79**, 282-289.
2. ANDREW, S.E. and GELATT, K.N.
Erosions persistantes de la cornée chez le chien.
Waltham Focus, 2001, **11**, 10-15.
3. ANDRONICOS, N.M., RANSON, M., BOGNACKI, J. and BAKER, M.S.
The human ENO1 gene product (recombinant human α -enolase) displays characteristics required for a plasminogen binding protein.
Biochemica and Biophysica Acta, 1997, **1337**, 27-39.
4. AOKI, S., SHIMIZU, N., SHIMONISHI, M. *et al.*
Influence of sugar chain on fibrin affinity of recombinant t-PA.
Biology and Pharmacology Bulletin, 2001, **24**, 295-298.
5. BAKKER, A.H.F., NIEUWENBROEK, N.M. and VERHEIJEN, J.H.
Domain-domain interactions in hybrids of tissue-type plasminogen activator and urokinase-type plasminogen activator.
Protein Engineering, 1995, **8**, 1295-1302.
6. BAKKER, A.H.F., WEENING-VERHEFF, E.J.D. and VERHEIJEN, J.H.
The role of the lysyl binding site of tissue-type plasminogen activator in the interaction with a forming fibrin clot.
The Journal of Biological Chemistry, 1995, **270**, 12355-12360.
7. BARLATI, S., MARCHINA, E., QUARANTA, C.A. *et al.*
Analysis of fibronectin, plasminogen activators and plasminogen in tear fluid as markers of corneal damage and wound repair.
Experimental Eye Research, 1990, **51**, 1-9.
8. BAUDOIN, C.
Essai clinique contrôle, randomisé en double insu, d'efficacité et de tolérance, Hexalense versus sérum physiologique, dans le traitement du syndrome de sècheresse oculaire.
Rapport d'essai clinique.
Neuilly-sur-Marne : Leurquin-Mediolanum, 1998, 42p.
9. BAZAN, H.E.P., ALLAN, G. and BAZAN, N.G.
Enhanced expression of the growth-regulated calcyclin gene during corneal wound healing.
Experimental Eye Research, 1992, **55**, 173-177.
10. BAZAN, H.E.P. and OTTINO, P.
The role of platelet-activating factor in the corneal response to injury.
Progress in Retinal and Eye Research, 2002, **21**, 449-464.

11. BENTLEY, E.
Pathogenesis of spontaneous chronic corneal epithelial defects in dogs.
In: VIIIèmes Journées d'actualités.
Toulouse, France , 27-28-29 septembre 2002.
Société Française d'Etude et de Recherche en Ophtalmologie Vétérinaire, 2002, 23-28.
12. BENTLEY, E.
Spontaneous chronic corneal epithelial defects in dogs: what to do when erosions won't heal.
In: VIIIèmes Journées d'actualités.
Toulouse, France , 27-28-29 septembre 2002.
Société Française d'Etude et de Recherche en Ophtalmologie Vétérinaire, 2002, 53-58.
13. BENTLEY, E., CAMPBELL, S., WOO, H.M. and MURPHY, C.J.
The effect of chronic corneal epithelial debridement on epithelial and stromal morphology in dogs.
Investigative Ophthalmology and Visual Science, 2002, **43**, 2136-2142.
14. BERMAN, M., LEARY, R. and GAGE, J.
Evidence for role of the plasminogen activator – plasmin system in corneal ulceration.
Investigative Ophthalmology and Visual Science, 1980, **19**, 1204-1221.
15. BLAIR, M.J., RENDER, J.A., MORREALE, R. *et al.*
Granulocyte macrophage colony stimulating factor: effect on corneal wound healing.
Veterinary and Comparative Ophthalmology, 1997, **7**, 168-172.
16. BOISJOLY, H.M. and BEAULIEU, A.
Topical autologous fibronectin in patients with recurrent corneal epithelial defects.
Cornea, 1991, **10**, 483-488.
17. BROMBERG, N.M.
Cyanoacrylate tissue adhesive for treatment of refractory corneal ulceration.
Veterinary Ophthalmology, 2002, **5**, 55-60.
18. BURLING, K., SEGUIN, M.A., MARSH, P. *et al.*
Effect of topical administration of epidermal growth factor on healing of corneal epithelial defects in horses.
American Journal of Veterinary Research, 2000, **61**, 1150-1155.
19. CHAMPAGNE, E.S. and MUNGER, R.J.
Multiple punctate keratotomy for the treatment of recurrent epithelial erosions in dogs.
Journal of the American Animal Hospital Association, 1992, **28**, 213-216.
20. CSUTAK, A., TOZSER, J., BEKESI, L. *et al.*
Plasminogen activator activity in tears after Excimer laser photorefractive keratectomy.
Investigative Ophthalmology and Visual Science, 2000, **41**, 3743-3747.

21. DODDS, W.J.
Hemostasis.
In: KANEKO J.J.
Clinical Biochemistry of Domestic Animals 4th ed.
San Diego: Academic Press Inc., 1989, 288-290.
22. DUA, H.S. and FORRESTER, V.J.
Clinical patterns of corneal epithelial wound healing.
American Journal of Ophthalmology, 1987, **104**, 481-489.
23. DUA, H.S. and FORRESTER, J.V.
The corneoscleral limbus in human corneal epithelial wound healing.
American Journal of Ophthalmology, 1990, **110**, 646-656.
24. DUA, H.S., GOMES, J.A.P. and SINGH, A.
Corneal epithelial wound healing.
British Journal of Ophthalmology, 1994, **78**, 401-408.
25. DURSUN, D., KIM, M.C., SOLOMON, A. and PFLUGFELDER, S.C.
Treatment of recalcitrant recurrent corneal erosions with inhibitors of matrix metalloproteinase-9, doxycycline and corticosteroids.
American Journal of Ophthalmology, 2001, **132**, 8-13.
26. ER, H. and UZMEZ, E.
Effects of transforming growth factor-beta 2, interleukin 6 and fibronectin on corneal epithelial wound healing.
European Journal of Ophthalmology, 1998, **8**, 224-229.
27. FLEMMING, D.
Corneal ulcers: a plethora of solutions.
Journal of the American Animal Hospital Association, 1997, 338-341.
28. FLYNN, M.A. and ESTERLY, D.B.
Bilateral recurrent erosions of cornea.
American Journal of Ophthalmology, 1966, **62**, 964-965.
29. FOUSSARD-BLANPIN, O. et BRETAUDEAU, J.
Etude pharmacodynamique d'un inhibiteur de la fibrinolyse: l'acide epsilon amino-caproïque.
Anesthésie – Analgésie – Réanimation, 1965, **22**, 481-513.
30. FOGLE, J.A., KENYON, K.R., STAR, K.W.J. and GREEN, W.R.
Defective epithelial adhesion in anterior corneal dystrophies.
American Journal of Ophthalmology, 1975, **79**, 925-940.
31. GASSNER, H.L., ESCO, M., SMITHSON, M.W. and KURPAKUS, M.A.
Differential effects of transforming growth factors on localization of adhesion complex proteins following corneal epithelial cell wounding.
Current Eye Research, 1997, **16**, 387-395.

32. GELATT, K.N. and SAMUELSON, D.A.
Recurrent corneal erosions and epithelial dystrophy in the Boxer dog.
Journal of the American Animal Hospital Association, 1982, **18**, 453-460.
33. GEGGEL, H.S.
Successful treatment of recurrent corneal erosion with Nd:YAG anterior stromal puncture.
American Journal of Ophthalmology, 1990, **110**, 404-407.
34. GENTRY, P.A. and DOWNIE, H.G.
The fibrinolytic mechanism.
In: SWENSON M.J. and REECE W.O.
Duke's physiology of Domestic Animals 11th ed.
Cornell University: Comstock ed., 1993, 57.
35. GIPSON, I.K., SPURR-MICHAUD, S., TISDALE, A. and KEOUGH, M.
Reassembly of the anchoring structures of the corneal epithelium during wound repair in the rabbit.
Investigative Ophthalmology and Visual Science, 1989, **30**, 425-434.
36. GORDON, J.F., JOHNSON, P., MUSCH, D.C. and the CHIRON VISION FIBRONECTIN STUDY GROUP.
Topical fibronectin ophthalmic solution in the treatment of persistent defects of the corneal epithelium.
American Journal of Ophthalmology, 1995, **119**, 281-287.
37. GRIGUER, F., RAYMOND, I. and REGNIER, A.
Preliminary evaluation of the biocompatibility of the small intestinal submucosa (SIS) biomaterial with the rabbit cornea.
Revue de Médecine Vétérinaire, 2001, **152**, 597-604.
38. GUO, M. and GRINNELL, F.
Basement membrane and human epidermal differentiation in vitro.
The Journal of Investigative Dermatology, 1989, **93**, 372-378.
39. HABER, M., CAO, Z., PANJWANI, N. *et al.*
Effects of growth factors (EGF, PDGF-BB and TGF- β 1) on cultured equine epithelial cells and keratocytes: implications for wound healing.
Veterinary Ophthalmology, 2003, **6**, 211-217.
40. HARFENIST, E.J. and MURRAY, R.K.
Protéines plasmatiques, immunoglobulines et coagulation sanguine.
In: MURRAY, R.K., GRANNER, D.K., MAYES, P.A. and RODWELL, V.W.
Précis de biochimie de Harper.
Université de Laval: De Boeck University ed., 1996, 776-787.
41. HAYASHI, K., BERMAN, M., SMITH, D. *et al.*
Pathogenesis of corneal epithelial defects : role of plasminogen activator.
Current Eye Research, 1991, **10**, 381-398.

42. HENDRIX, D.V., WARD, D.A. and BARNHILL, M.A.
Effects of antibiotics on morphologic characteristics and migration of canine corneal epithelial cells in tissue culture.
American Journal of Veterinary Research, 2001, **62**, 1664-1669.
43. HSU, K.W., RUBINFELD, R.S., BARRY, P. and JESTER, J.V.
Anterior stromal puncture.
Archives of Ophthalmology, 1993, **111**, 1057-1063.
44. JURK, I., GILGER, B., MALOK, E. *et al.*
TGF β -2 levels in tears of normal dogs and dogs with refractory corneal ulcers.
In: 31st Annual Meeting of the American College of Veterinary Ophthalmologists.
Montréal, Canada, October 10-13, 2000.
Veterinary Ophthalmology, 2000, **3**, p256.
45. KATZ, H.R., SNYDER, M.E., GREEN, R. *et al.*
Nd:YAG laser photo-induced adhesion of the corneal epithelium.
American Journal of Ophthalmology, 1994, **118**, 612-622.
46. KHODADOUST, A.A., SILVERSTEIN, A.M., KENYON, K.R. and DOWLING, J.E.
Adhesion of regenerating corneal epithelium.
American Journal of Ophthalmology, 1968, **65**, 339-348.
47. KIRSCHNER, S.E.
Persistent corneal ulcers: what to do when ulcers won't heal.
Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, 1990, **20**, 627-641.
48. KIRSCHNER, S.E., BRAZZELL, R.K., STERN, M.E. and BAIRD, L.
The use of topical epidermal growth factor for treatment of nonhealing corneal erosions in dogs.
Journal of the American Animal Hospital Association, 1991, **27**, 449-452.
49. KIRSCHNER, S.E., NIYO, Y. and BETTS, D.M.
Idiopathic persistent corneal erosions: clinical and pathological findings in 18 dogs.
Journal of the American Animal Hospital Association, 1989, **25**, 84-90.
50. LAMBERTS, D.W. and HONG, B.-S.
Anticoagulants, fibrinolytics and antifibrinolytics.
In: LAMBERTS, D.W. and POTTER, D.E.
Clinical Ophthalmic Pharmacology 1st ed.
Boston: Little, Brown, 1987, 445-462.
51. LAVACH, J.D. and GELATT, K.N.
Management of chronic corneal ulcerations in the dog.
California Veterinarian, 1979, 17-20.
52. LEE, S.-H. and TSENG, S.C.G.
Amniotic membrane transplantation for persistent epithelial defects with ulceration.
American Journal of Ophthalmology. 1997, **123**, 303-312.

53. LEHNINGER, NELSON, COX.
Structure et catalyse.
In : LEHNINGER, A.L., NELSON, D.L. and COX, M.M.
Principes de Biochimie 2^{ème} ed.
Paris : Médecine-Sciences Flammarion, 1993, p314.
54. LIJNEN, H.R. and COLLEN, M..D.
Interaction of plasminogen activators and inhibitors with plasminogen and fibrin.
Seminars in Thrombosis and Hemostasis, 1982, **8**, 2-10.
55. LOHMANN, C.P. and MARSHALL, J.
Plasmin- and plasminogen-activator inhibitors after Excimer laser photorefractive keratectomy: new concept in prevention of postoperative myopic regression and haze.
Refractive and Corneal Surgery, 1993, **9**, 300-302.
56. MALECAZE, F., CHOLLET, P., MURAINÉ, M. *et al.*
Cicatrisation cornéenne.
In :
Encyclopédie Médico-Chirurgicale.
Paris : Editions Techniques, 1994, 21-020-C-20, 14p.
57. MAGRANE, W.G.
Keratitis in dogs.
Veterinary Scope, 1954, **1**, 2-10.
58. MILLER, W.W.
Evaluation and management of corneal ulcerations: a systematic approach.
Clinical Techniques in Small Animal Practice, 2001, **16**, 51-56.
59. MILLER, W.W.
Using polysulfated glycoaminoglycan to treat persistent corneal erosions in dogs.
Veterinary Medicine, 1996, **91**, 916-922.
60. MISHIMA, H., NAKAMURA, M., MURAKAMI, J. *et al.*
Transforming growth factor-beta modulates effects of epidermal growth factor on corneal epithelial cells.
Current Eye Research, 1992, **11**, 691-696.
61. MOORE, P.A.
Diagnosis and management of chronic corneal epithelial defects (indolent corneal ulcerations).
Clinical Techniques in Small Animal Practice, 2003, **18**, 168-177.
62. MORGAN, R.V. and ABRAMS, K.L.
A comparison of six different therapies for persistent corneal erosions in dogs and cats.
Veterinary and Comparative Ophthalmology, 1992, **4**, 38-43.
63. MULLER, G., COURTY, J., COURTOIS, Y. *et al.*
Utilisation du facteur de croissance dérivé de l'œil dans le traitement des ulcères de la cornée.
Journal Français d'Ophtalmologie, 1985, **8**, 187-192.

64. MURALI, S., HARDTEN, D.R., DEMARTELAERE, S. *et al.*
Effect of topically administered platelet-derived growth factor on corneal wound strength.
Current Eye Research, 1994, **13**, 857-862.
65. MURPHY, C.J., MARFURT, C.F., MCDERMOTT, A. *et al.*
Spontaneous chronic corneal epithelial defects (SCCED) in dogs: clinical features, innervation and effect of topical SP, with or without IGF-1.
Investigative Ophthalmology and Visual Science, 2001, **42**, 2252-2261.
66. MURRAY, R.K. and KEELEY, F.W.
Matrice extracellulaire.
In: MURRAY, R.K., GRANNER, D.K., MAYES, P.A. and RODWELL, V.W.
Précis de biochimie de Harper.
Université de Laval : De Boeck University Ed., 1993, 729-731.
67. NAGANO, T., NAKAMURA, M., NAKATA, K. *et al.*
Effects of substance P and IGF-1 in corneal epithelial barrier function and wound healing in a rat model of neurotrophic keratopathy.
Investigative Ophthalmology and Visual Science, 2003, **44**, 3810-3815.
68. NAKAMURA, M., NISHIDA, T., HIKIDA, M. and OTORI, T.
Combined effects of hyaluronan and fibronectin on corneal epithelium wound closure of rabbit *in vivo*.
Current Eye Research, 1994, **13**, 385-388.
69. NAKAMURA, M., NISHIDA, T., OFUJI, K. *et al.*
Synergistic effect of substance P with epidermal growth factor on epithelial migration in rabbit cornea.
Experimental Eye Research, 1997, **65**, 321-329.
70. NAKAMURA, M., OFUJI, K., CHIKAMA, T.-I. *et al.*
Combined effects of substance P and insulin-like growth factor-1 on corneal epithelial wound closure of rabbit *in vivo*.
Current Eye Research, 1997, **16**, 275-278.
71. NISHIDA, T., NAKAMURA, M., MURAKAMI, J. *et al.*
Epidermal growth factor stimulates corneal epithelial cell attachment to fibronectin through a fibronectin receptor system.
Investigative Ophthalmology and Visual Science, 1992, **33**, 2464-2469.
72. OTTINO, P., TAHERI, F. and BAZAN, H.E.P.
Platelet-activating factor induces the gene expression of TIMP-1, -2, and PAI-1: imbalance between the gene expression of MMP-9 and TIMP-1 and -2.
Experimental Eye Research, 2002, **74**, 393-402.
73. PEIFFER, R.L. Jr, WILCOCK, B.P., DUBIELZIG, R.R., *et al.*
Fundamentals of veterinary ophthalmologic pathology.
In: GELATT K.N.
Veterinary Ophthalmology 3rd ed.
Baltimore: Lippincott, Williams and Wilkins eds, 1999, 382-389.

74. PETROUTSOS, G., GUIMARAES, R., GIRAUD, J. *et al.*
Antibiotics and corneal epithelial wound healing.
Archives of Ophthalmology, 1983, **101**, 1775-1778.
75. PHAN, T.M.M., FOSTER, S., BORUCHOFF, S.A. *et al.*
Topical fibronectin in the treatment of persistent corneal epithelial defects and trophic ulcers.
American Journal of Ophthalmology, 1987, **104**, 494-501.
76. PICKETT, J.P.
Treating persistent corneal erosions with a crosshatch keratotomy technique.
Veterinary Medicine, 1995, 561-570.
77. REIM, M., KOTTEK, A. and SCHRAGE, N.
The cornea surface and wound healing.
Progress in Retinal and Eye Research, 1997, **16**, 183-225.
78. ROBERTS, S.R.
Superficial indolent ulcer of a cornea in Boxer dogs.
Journal of Small Animal Practice, 1965, **6**, 111-115.
79. ROSENBERG, M.E., TERVO, T.M.T., PETROLL, W.M. and VESALUOMA, M.H.
In vivo confocal microscopy of patients with corneal recurrent erosion syndrome or epithelial basement membrane dystrophy.
Ophthalmology, 2000, **107**, 565-573.
80. SALONEN, E.-M., LAUHARANTA, J., SIM, P.S. *et al.*
Rapid appearance of plasmin in tear fluid after ocular allergen exposure.
Clinical Experimental Immunology, 1988, **73**, 146-148.
81. SALONEN, E.-M., TERVO, T., TORMA, E., *et al.*
Plasmin in tear fluid of patients with corneal ulcers: basis for new therapy.
Acta Ophthalmologica, 1987, **65**, 3-12.
82. SAMUELSON, D.A.
Ophthalmic anatomy.
In: GELATT, K.N.
Veterinary Ophthalmology 3rd ed.
Baltimore: Lippincott, Williams and Wilkins eds, 1999, 45-52.
83. SCHULTZ, G.
Future developments in corneal therapy: growth factors.
In: ZIMMERMAN, T.J.
Textbook of Ocular Pharmacology 1st ed.
Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1997, 675-678.
84. SINGH, G. and FOSTER, C.S.
Growth factors in treatment of nonhealing corneal ulcers and recurrent erosions.
Cornea. 1989, **8**, 45-53.

85. SOTOZONO, C., INATOMI, T., NAKAMURA, M. et al.
Keratinocyte growth factor accelerates corneal epithelial wound healing *in vivo*.
Investigative Ophthalmology and Visual Science, 1995, **36**, 1524-1529.
86. STANLEY, R.G., HARDMAN, C. and JOHNSON, B.W.
Results of grid keratotomy, superficial keratectomy and debridement for the management of persistent corneal erosions in 92 dogs.
Veterinary Ophthalmology, 1998, **1**, 233-238.
87. STILES, J., HONDA, C.N., KROHNE, S.G. and KAZAKOS, E.A.
Effect of topical administration of 1% morphine sulfate solution on signs of pain and corneal wound healing in dogs.
American Journal of Veterinary Research, 2003, **64**, 813-818.
88. STRAMER, B.M., ZIESKE, J.D., JUNG, J.C. et al.
Molecular mechanisms controlling the fibrotic repair phenotype in cornea: implications for surgical outcomes.
Investigative Ophthalmology and Visual Science, 2003, **44**, 4237-4246.
89. SUN, Z., CHEN, Y., WANG, P. et al.
The blockage of the high-affinity lysine binding sites of plasminogen by EACA significantly inhibits prourokine- induced plasminogen activation.
Biochimica et Biophysica Acta, 2002, **1596**, 182-192.
90. SWANK, A. and HOSGOOD, G.
Corneal wound healing and the role of growth factors.
The Compendium in Continuing Education for the Practicing Veterinarian, 1996, **18**, 1007-1018.
91. TAYLOR, M.M.
Indolent corneal erosions.
In: KIRK, R.W. (ed.)
Kirk's Current Veterinary Therapy: Small Animal Practice XII ed.
Philadelphia: Saunders Company, 1995, 1242-1245.
92. TERVO, T., VAN SETTEN, G.B., ANDERSSON, R. et al.
Contact lens wear is associated with the appearance of plasmin in the tear fluid- preliminary results.
Graefes Archives of Clinical and Experimental Ophthalmology, 1989, **227**, 42-44.
93. THOMPSON, P., DESBORDES, J.M., GIRAUD, J. et al.
The effect of an eye derived growth factor (EDGF) on corneal epithelial regeneration.
Experimental Eye Research, 1982, **34**, 191-199.
94. TSUBOTA, K., GOTO, E., SHIMMURA, S. and SHIMAZAKI, J.
Treatment of persistent corneal epithelial defect by autologous serum application.
Ophthalmology, 1999, **106**, 1984-1989.

95. TURGEON, P.W., NAUHEIM, R.C., ROAT, M.I. *et al.*
Indications for keratoepithelioplasty.
Archives of Ophthalmology, 1990, **108**, 233-236.
96. TURNER, A.G. and BLOGG, J.R.
Multiple striate keratotomy: a treatment for corneal erosions caused by epithelial basement membrane disease.
Australian Veterinary Journal, 1997, **75**, 27-30.
97. VAN SETTEN, G.B., SALONEN, E.M., VAHERI, A. *et al.*
Plasmin and plasminogen activator activities in tear fluid during corneal wound healing after anterior keratectomy.
Current Eye Research, 1989, **8**, 1293-1298.
98. VAN SETTEN, G.B., STEPHENS, R., TERVO, T. *et al.*
Effects of the Schirmer test on the fibrinolytic system in the tear fluid.
Experimental Eye Research, 1990, **50**, 135-141.
99. VYGANTAS, K.R., JANICKI, J.S., WHITLEY, R.D. *et al.*
In vitro inhibition of matrix metalloproteinases in experimentally-induced canine corneal ulcers.
In: 32nd Annual Meeting of the American College of Veterinary Ophthalmologists.
Sarasota, Florida, USA, October 10-13, 2001.
Veterinary Ophthalmology. 2001, **4**, p 291.
100. WANG, H.M., BERMAN, M. and LAW, M.
Latent and active plasminogen activator in corneal ulceration.
Investigative Ophthalmology and Visual Science, 1985, **26**, 511-524.
101. WANG, X., KAMIYAMA, K., IGUCHI, I. *et al.*
Enhancement of fibronectin-induced migration of corneal epithelial cells by cytokines.
Investigative Ophthalmology and Visual Science, 1994, **35**, 4001-4007.
102. WATANABE, M., YANO, W., KONDO, S. *et al.*
Up-regulation of urokinase-type plasminogen activator in corneal epithelial cells induced by wounding.
Investigative Ophthalmology and Visual Science, 2003, **44**, 3332-3338.
103. WHITEMAN, A.L., BENTLEY, E., ABRAMS, G.A. *et al.*
The role of apoptosis in keratocyte death in dogs with spontaneous chronic corneal epithelial defects and in dogs undergoing repeated corneal epithelial debridement.
In: 32nd Annual Meeting of the American College of Veterinary Ophthalmologists.
Sarasota, Florida, USA, October 10-13, 2001.
Veterinary Ophthalmology. 2001, **4**, 291-292.
104. WHITLEY, R.D. and GILGER, B.C.
Diseases of the canine cornea and sclera.
In: GELATT, K.N.
Veterinary Ophthalmology 3rd ed.
Baltimore: Lippincott, Williams and Wilkins eds, 1999, 640-646.

105. WILLEFORD, K.O., MILLER, W.W., ABRAMS, K.L. and VAUGHN, B.M.
Modulation of proteolytic activity associated with persistent corneal ulcers in dogs.
Veterinary Ophthalmology, 1998, **1**, 5-8.
106. WILLIAMS, P.B., CROUCH, Earl R., CROUCH, Jr., CROUCH, Eric R. *et al.*
Topical aminocaproic acid facilitates reepithelialisation of persistent epithelial defects.
Current Eye Research, 1999, **18**, 150-157.
107. ZONNEVELD (VAN), A.J., VEERMAN, H. and PANNEKOEK, H.
On the interaction of the finger and the kringle-2 domain of tissue-type plasminogen activator
with fibrin: inhibition of kringle-2 binding to fibrin by ϵ -aminocaproic acid.
The Journal of Biological Chemistry, 1986, **261**, 14214-14218.

ANNEXES

I. Sujets inclus dans l'étude

I.1. Sujets affectés au groupe de traitement contrôlé (groupe d'étude n°1).

N° identification	Race	Sexe	Age	Oeil	Durée d'évolution à J0	Temps de cicatrisation
7146A	Sharpei	F	3 ans	OU	25 jours	41 jours
5145A	Rhodesian	M	6 mois	OG	1 mois	1 mois
4403A	Boxer	F	8 ans	OD	2 mois	11 jours
9654	Pinsher	M	6 ans	OG	n.c.	69 jours
7869A	Boxer	F	7 ans	OG	2 mois	1 mois
15229	Croisé	M	4 ans	OD	4,5 mois	21 jours
18123	Labrador	M	1 an	OG	20 jours	9 jours
133A	Caniche	M	10 ans	OD	1 mois	2,25 mois
9696A	Croisé	F	1,5 ans	OD	8 jours	7 jours
18469	Husky	F	11 ans	OG	4,5 mois	8 jours
34173	Caniche	M	8 ans	OD	1 mois	20 jours
2734A	Yorkshire	F	10 ans	OD	8 jours	2 mois
5861A	Boxer	M	8 ans	OD	8 jours	1,5 mois
11537	Caniche	F	2 ans	OG	2 ans	21 jours
3443	Boxer	F	6,5 ans	OG	15 jours	1 mois
8483A*	Caniche	M	8 ans	OD	1 mois	3 mois

Annexe 1. Sujets affectés au groupe de traitement contrôlé (groupe d'étude n° 1).

J0 : 1^{ère} consultation à l'Ecole Vétérinaire de Toulouse

M : mâle ; F : femelle

OG : oeil gauche ; OD : oeil droit ; OU : les deux yeux

n.c. : non communiqué

* : chien ayant également reçu un traitement à l'acide aminocaproïque lors de récidence

I.2. Sujets affectés au groupe de traitement à l'acide ε -aminocaproïque 3,57% (groupe d'étude n°2).

N° identification	Race	Sexe	Age (ans)	Oeil	Durée d'évolution à J0	Durée du traitement classique	Temps de cicatrisation (jours) post acide amino-caproïque
T02-3891	Epagneul B.	F	14	OD	3 mois	3 mois	13
T02-156	Epagneul B.	M	5,5	OD	8 jours	2 mois	15
8483A °*	Caniche	M	8	OG	1,5 mois	n.c.	8
4279A	Croisé	M	5	OD	2,5 mois	22 mois	7
T01-7449	Labrador	F	6	OD	1 mois	6 jours	15
T02-2487	Rottweiler	F	7	OG	2 mois	n.c.	18
T02-2744	Labrador	F	8,5	OD	1 mois	1 mois	9
T02-3452	Caniche	F	10	OG	4 mois	4 mois	6
T02-3033	Boxer	M	5	OG	2 mois	3 mois	7
T02-3668	Caniche	M	5,5	OG	21 jours	21 jours	13
T02-1063	Boxer	F	8,5	OG	8 jours	39 jours	21
T02-4914	Boxer	M	8	OG	2 mois	2 mois	7 jours

Annexe 2.1. Sujets ayant reçu un traitement classique en première intention puis un collyre d'acide ε -aminocaproïque 3,57%.

J0 : 1^{ère} consultation à l'Ecole Vétérinaire de Toulouse

M : mâle ; F : femelle

OG : oeil gauche ; OD : oeil droit ; OU : les deux yeux

RAS : pas d'anomalie associée

n.c. : non communiqué

° : récidive sur l'oeil adelphe

* : chien ayant également reçu un traitement classique lors de la 1^{ère} survenue

N° identification	Race	Sexe	Age (ans)	Oeil	Durée d'évolution à J0	Temps de cicatrisation (jours)
T01-1893	Bouledogue	F	6	OU	2 mois	7 (OD) 21 (OG)
T01-13621	Boxer	M	6	OG	15 jours	16
T01-18325	Malamute	M	6	OG	1 mois.	7
T01-34214	Berger A.	F	10	OU	1 an	21 (OU)
T02-3094	Caniche	F	7	OG	2,5 mois	7
T03-6413	Caniche	F	11	OG	11 jours	14
T03-6225	Westie	M	1	OD	21 jours	13
T01-4785	Caniche	F	7,5	OD	8 jours	16
T01-6731	Caniche	M	12,5	OG	3 mois	17
T02-2186	Colley	M	8	OU	3 mois	30 (OU)
T02-2471	Epagneul B.	F	9,5	OD	1 mois	18
T01-15908	Bichon	F	13	OD	8 jours	4
T01-8537	Caniche	M	6,5	OD	2,5 mois	8
T02-3033	Boxer	M	5	OD°	3 mois	7
T01-13839	Griffon	M	14	OG	n.c.	14
T01-5638	Cairn terrier	M	7	OG	2 mois	5
T01-3143	Croisé	M	9	OD	1 mois	7
T02-3452	Caniche	F	10	OG°° puis OD°	18 jours 1 mois	21 6

Annexe 2.2. Sujets traités dès la première consultation par un collyre d'acide ϵ -aminocaproïque 3,57%.

J0 : date de la première consultation à l'Ecole Vétérinaire de Toulouse

M : mâle ; F : femelle

OG : oeil gauche ; OD : oeil droit ; OU : les deux yeux

RAS : pas d'anomalie associée

n.c. : non communiqué

° : récidive sur l'œil adelphe

°° : récidive sur le même oeil

II. Répartition des âges au sein des deux populations.

Age à J0 (années)	Nombre d'ulcères traités classiquement (% cumulé)	Nombre d'ulcères traités à l'acide ϵ -aminocaproïque (% cumulé)
0,5	1 (5,9%)	0 (0%)
1	2 (17,6%)	1 (3,4%)
1,5	1 (23,5%)	0 (3,4%)
2	1 (29,4%)	0 (3,4%)
3	1 (35,3%)	0 (3,4%)
4	1 (41,2%)	0 (3,4%)
5	0 (41,2%)	3 (12,2%)
5,5	0 (41,2%)	2 (18,1%)
6	1 (47,1%)	5 (32,8%)
6,5	1 (53%)	1 (35,8%)
7	1 (58,9%)	3 (44,6%)
7,5	0 (58,9%)	1 (47,6%)
8	4 (82,4%)	4 (59,4%)
8,5	0 (82,4%)	2 (65,3%)
9	0 (82,4%)	1 (68,3%)
9,5	0 (82,4%)	1 (71,3%)
10	2 (94,1%)	5 (86%)
11	1 (100%)	1 (89%)
12,5	0 (100%)	1 (92%)
13	0 (100%)	1 (95%)
14	0 (100%)	2 (100%)

Annexe 3. Répartition des âges au sein des deux populations.

III. Distribution des ulcères selon les protocoles de traitement en fonction de leur durée d'évolution à J0.

	8-15j	15j-1 mois	1 – 2 mois	> 2 mois	Non Communiqué
Traitement classique	4/17 soient 23,5%	+5/17 soient 42%	+4/17 soient 65,5%	+2/17 soient 77,3%	2/17 soient 100%
Traitement à l'acide ε-aminocaproïque	5/33 soient 15,1%	9/33 soient 42,4%	4/33 soient 54,5%	11/33 soient 87,8%	4/33 soient 100%

Annexe 4. Distribution des ulcères selon les protocoles de traitement en fonction de leur durée d'évolution à J0.

Toulouse, 2004

NOM: CAZALOT

PRENOM: Guillaume

TITRE: Intérêt de l'acide epsilon-aminocaproïque dans le traitement des ulcères épithéliaux chroniques de la cornée chez le chien.

RESUME : L'activité protéolytique liée à la plasmine a été décrite dans le film lacrymal pré-cornéen des chiens atteints d'ulcères cornéens épithéliaux chroniques et contribuerait à retarder la cicatrisation épithéliale. L'efficacité clinique de l'acide epsilon-aminocaproïque (AEAC), déjà décrite dans le traitement de cette affection chez des modèles lagomorphes, a été explorée dans l'espèce canine grâce à cette étude rétrospective. Les dossiers médicaux des chiens atteints de déficits épithéliaux entre Octobre 1997 et Mars 2003 ont été analysés. Le diagnostic a reposé sur la présence d'une perte de substance épithéliale évoluant depuis plus de 10 jours sans cause sous-jacente apparente. A la première consultation, le lambeau épithélial marginal non adhérent a été débridé sous anesthésie locale sur tous les yeux au moyen d'un coton-tige stérile. Sur 34 yeux (28 chiens), un traitement adjuvant consistant en l'instillation locale trois fois par jour d'un collyre à base d'AEAC à 35.7 mg/ml (groupe AEAC) a été réalisé. Dix-sept yeux (16 chiens) ayant reçu uniquement un collyre de gentamicine à 3 mg/ml après desépithélialisation ont été inclus pour servir de groupe contrôle. Après le début du traitement, des suivis cliniques ont été réalisés chaque semaine pendant trois semaines. Les deux groupes de traitement avaient approximativement la même distribution raciale et ne présentaient pas de différence statistique significative ($P>0.05$) pour l'âge, le genre, le côté affecté et la durée d'évolution de l'ulcère. Les résultats ont montré qu'à la fin de la période de suivi (J21), le taux global de guérison était significativement plus élevé ($P=0.0001$) dans le groupe AEAC (32/34= 94.1%) que dans le groupe contrôle (7/17=41.2%). Aucun effet secondaire n'a été noté pendant la période d'observation. Cette étude suggère que l'utilisation locale d'AEAC semble bénéfique dans le traitement des pertes épithéliales cornéennes idiopathiques chez le chien et confirme indirectement que le système activateur du plasminogène / plasmine, inhibé par l'AEAC, est impliqué dans la pathogénie de cette affection.

MOTS-CLES : acide epsilon-aminocaproïque – cornée – perte épithéliale – système plasmine – chien.

LAST NAME : CAZALOT

FIRST NAME : Guillaume

TITLE: Topical aminocaproic acid in the treatment of nonhealing corneal epithelial ulcers in dogs.

ABSTRACT: Proteolytic activity due to plasmin has been documented in the tear fluid of dogs with persistent corneal epithelial defects (PCED) and may contribute to a delay in corneal epithelial healing. The clinical efficacy of epsilon-aminocaproic acid (EACA), an antiplasmin agent which was reported to decrease the incidence of PCED in a rabbit model, was evaluated in this retrospective study. Medical records of dogs with non-healing corneal epithelial ulcers between October 1997 and March 2003 were analysed. The diagnosis was based on the presence of a corneal epithelial defect for more than 10 days with no apparent underlying cause. At the initial examination, epithelial debridement of non-adherent epithelium was performed in all eyes, by removing the loose epithelium with sterile cotton-tipped swabs under topical anaesthesia. In 34 eyes (28 dogs), additional treatment consisted in topical application of a 35.7 mg/ml EACA ophthalmic solution, three times daily (EACA treatment group). Seventeen eyes (16 dogs) that had only received a 3 mg/ml ophthalmic solution of gentamicin in addition to the epithelial debridement were included to serve as the control treatment group. Following initiation of treatment, clinical assessments were made at weekly intervals for a maximum of 3 weeks. The two treatment groups had approximately the same breed distribution, and there was no statistically significant differences ($P>0.05$) between the treatment groups for age, gender, side affected and duration of corneal erosion. Results showed that at the end of the follow-up period (day 21), the overall cure rate was very significantly higher ($P=0.0001$) in the EACA treatment group (32/34=94.1%) than in the control treatment group (7/17=41.2%). No adverse drug reactions were observed during the treatment periods. This study suggests that topical applications of EACA may have a beneficial effect in the management of idiopathic corneal epithelial defects in dogs, and indirectly confirms that the plasminogen activator – plasmin system, which is inhibited by EACA, may be involved in the pathogenesis of this disease entity in the dog.

KEY WORDS: aminocaproic acid – cornea – epithelial defect – plasmin system – dog.