



OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible

This is an author's version published in: <http://oatao.univ-toulouse.fr/> 25422

To cite this version:

Lucas, Eddy . *Effets d'une instillation unique de Timolol 0,5% à libération prolongée sur la pression intraoculaire, le diamètre pupillaire et la fréquence cardiaque chez le cheval sain*. Thèse d'exercice, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse – ENVT, 2018, 55 p.

Any correspondence concerning this service should be sent to the repository administrator: tech-oatao@listes-diff.inp-toulouse.fr

ANNEE 2018 THESE : 2018 – TOU 3 – 4129

Effets d'une instillation unique de Timolol 0,5% à libération prolongée sur la pression intraoculaire, le diamètre pupillaire et la fréquence cardiaque chez le cheval sain

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

*présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

LUCAS Eddy

Né, le 19 mars 1992 à Ermont (95)

Directeur de thèse : M. Jean-Yves DOUET

JURY

PRESIDENT :

M. Pierre FOURNIE

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :

M. Alain REGNIER

M. Jean-Yves DOUET

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de
TOULOUSE

**Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation
ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE**

Directrice : **Madame Isabelle CHMITELIN**

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*
- Mme **CLAUW Martine**, *Pharmacie-Toxicologie*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie Pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

PROFESSEURS 1° CLASSE

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des aliments*
- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des aliments d'Origine animale*
- Mme **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie Vétérinaire*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootechne*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Aviculture et pathologie aviaire*
- Mme **HAGEN-PICARD, Nicole**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **SANS Pierre**, *Productions animales*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Biologie Médicale Animale et Comparée*

PROFESSEURS 2° CLASSE

- Mme **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
- Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mme **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologique, animaux d'élevage*
- Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
- M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des Ruminants*
- M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*

PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

- Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*
- M. **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

- M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*
- Mme **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
- M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*

- M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
- M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
- M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation*
- Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*
- M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales (ruminants)*
- M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*
- M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie*

MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **BENNIS-BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
- Mme **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- Mme **BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
- Mme **BOUHSIRA Emilie**, *Parasitologie, maladies parasitaires*
- M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
- M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
- M. **CUEVAS RAMOS Gabriel**, *Chirurgie Equine*
- Mme **DANIELS Hélène**, *Microbiologie-Pathologie infectieuse*
- Mme **DAVID Laure**, *Hygiène et Industrie des aliments*
- Mme **DEVIERS Alexandra**, *Anatomie-Imagerie*
- M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophtalmologie vétérinaire et comparée*
- Mme **FERRAN Aude**, *Physiologie*
- Mme **LALLEMAND Elodie**, *Chirurgie des Equidés*
- Mme **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
- M. **LE LOC'H Guillaume**, *Médecine zoologique et santé de la faune sauvage*
- M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*
- Mme **MILA Hanna**, *Elevage des carnivores domestiques*
- M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction (en disponibilité)*
- Mme **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
- Mme **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*
- M. **VERGNE Timothée**, *Santé publique vétérinaire – Maladies animales règlementées*
- Mme **WASET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

MAITRES DE CONFERENCES CONTRACTUELS

- Mme **BORDE DORE Laura**, *Médecine interne des équidés*
- M. **LEYNAUD Vincent**, *Médecine interne*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

- Mme **BLONDEL Margaux**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
- M. **CARTIAUX Benjamin**, *Anatomie-Imagerie médicale*
- M. **COMBARROS-GARCIA Daniel**, *Dermatologie vétérinaire*
- Mme **COSTES Laura**, *Hygiène et industrie des aliments*
- M. **GAIDE Nicolas**, *Histologie, Anatomie Pathologique*
- M. **JOUSSERAND Nicolas**, *Médecine interne des animaux de compagnie*

A NOTRE JURY DE THESE,

A Monsieur le Professeur Pierre FOURNIE

Professeur des Universités

Praticien hospitalier

Ophthalmologie

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse,

Hommages respectueux

A Monsieur le Docteur Jean-Yves DOUET

Maître de Conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Ophthalmologie vétérinaire et comparée

Qui nous a conseillé et guidé dans l'élaboration de ce travail,

Hommages respectueux

A Monsieur le Professeur Alain REGNIER

Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Physiopathologie oculaire

Qui nous a fait l'honneur d'être assesseur à notre jury de thèse,

Hommages respectueux

A Madame la Docteur Sophie JUGANT

Chargée de Consultations de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Ophthalmologie

Qui nous a aidé

Sincères remerciements

Au centre équestre de l'ENVT

Pour nous avoir fourni les chevaux

Sincères remerciements

Au service de clinique équine de l'ENVT

Pour nous avoir fourni les locaux

Sincères remerciements

Table des matières

Figures et tableaux utilisés 4

Liste des abréviations utilisées 5

Première partie : Etude bibliographique

I- Physiologie de la pression intraoculaire chez le cheval..... 9

A- Dynamique de l'humeur aqueuse 9

B- Régulation de la pression intraoculaire 11

C- Mesure de la pression intraoculaire 12

1 - Tonométrie par aplanissement 12

2- Tonométrie à rebond 13

3- Mesures chez le cheval 14

II- Le glaucome chez le cheval 17

A- Pathophysiologie du glaucome chez le cheval 17

B- Présentation clinique 19

C- Diagnostic 20

D- Traitements 20

III- Données pharmacologiques du timolol..... 24

A- Généralités sur les β -bloquants 24

B- Propriétés pharmacologiques du timolol 25

C- Effets du timolol sur l'œil par application oculaire 27

D- Formes galéniques du timolol par voie oculaire 28

Deuxième partie : Etude expérimentale

Objectif de l'étude.....	31
I- Protocole expérimental	31
A- Matériels et Méthodes.....	31
B- Protocole expérimental	33
C- Données statistiques.....	34
II- Résultats.....	35
A- Pression intraoculaire (PIO).....	35
B- Diamètre pupillaire	37
C- Fréquence cardiaque	39
III- Discussion	41
1- Effet sur la PIO	41
2- Effet sur le diamètre pupillaire	43
3- Effet sur la fréquence cardiaque	44
4- Limites de l'étude	45
Conclusion	47
Bibliographie	50

Figures et tableaux utilisés

Tableau 1 : Liste des différentes molécules utilisées en tant qu'anti-glaucome chez le cheval.....23

Figure 1 : aspect de l'angle iridocornéen chez un cheval sain. Le ligament pectiné, marquant l'entrée de la fente ciliaire est directement observable sur les cadrans temporaux et nasaux dans cette espèce 10

Figure 2 : voie d'élimination de l'humeur aqueuse, d'après Maggs 2013. Après avoir traversé le réseau trabéculaire uvéal, l'humeur aqueuse rejoint le plexus aqueux juxta-angulaire puis le plexus veineux scléral, elle est ensuite drainée soit par l'angle iridocornéen par les veines épisclérales et conjonctivales (1), ou par la circulation systémique (2), soit par la voie uvéosclérale (3). 11

Figure 3 : Tonovet®, méthode de tonométrie à rebond pour la mesure de la PIO (Knollinger 2005). 14

Figure 4 : mesure la PIO chez le cheval à l'aide du Tonopen XL® (A) et du Tonovet® (B) 16

Figure 6 Buphtalmie OG observée à distance. Notez également l'opacité cornéenne associée..... 20

Figure 7 : examen rapproché de l'œil gauche du cheval de la fig 6. Œdème cornéen diffus gênant l'observation de la chambre antérieure et nombreuses stries de Haab, confirmant l'hypothèse de glaucome 20

Figure 8 : représentation de la structure chimique du timolol, d'après PubChem Compound Database 2017..... 25

Figure 9 : Exemple d'utilisation du logiciel ImageJ® pour la mesure du diamètre pupillaire via une photographie prise durant la phase de test 32

Figure 10 : PIO de l'œil témoin et de l'œil traité pour chaque cheval à l'instant T0, soit avant l'administration de timolol 0.5%..... 35

Figure 11 : PIO de l'œil témoin et de l'œil traité pour chaque cheval à l'instant T1, soit 30 minutes après l'administration de timolol 0.5%..... 36

Figure 12 : Moyennes de la PIO de l'œil traité avec du timolol 0.5% et de l'œil controlatéral en fonction du temps (*P<0,05)..... 36

Figure 13 : Moyennes du diamètre vertical de l'œil traité avec du timolol 0.5% et de l'œil controlatéral en fonction du temps..... 38

Figure 14 : Moyennes du diamètre horizontal de l'œil traité avec du timolol 0.5% et de l'œil controlatéral en fonction du temps..... 38

Figure 15 : Moyennes de la surface pupillaire totale de l'œil traité avec du timolol 0.5% et de l'œil controlatéral en fonction du temps..... 39

Figure 16 : Moyennes de la fréquence cardiaque en fonction du temps. T0 correspond à la valeur avant traitement local oculaire unique au timolol 0.5%..... 40

Liste des abréviations utilisées

% = pourcent

AIC = angle irido-cornéen

AMPc = Adénosine Monophosphate cyclique

ATP = Adénosine Triphosphate

bpm = battement par minute

CGR = cellules ganglionnaires rétiniennes

CV = cheval

h = heure

HA = humeur aqueuse

IAC = Inhibiteur de l'anhydrase carbonique

IV = par voie intraveineuse

mL = millilitre

mm = millimètre

mmHg = millimètre de mercure

Na/K = pompe à ions sodium et potassium faisant intervenir une adénosine triphosphatase

PIO = pression intraoculaire

PO = par voie orale

T = temps

Première partie :
Etude
bibliographique

Introduction

Le glaucome est une neuropathie dégénérative du nerf optique occasionnée par une élévation pathologique prolongée de la pression intraoculaire. Cette pression est généralement augmentée à cause d'un défaut dans la voie de l'élimination de l'humeur aqueuse. Ainsi chez le cheval, il est souvent la conséquence d'une uvéite antérieure (Régner 2013).

La prévalence du glaucome chez le cheval est estimée à 0.1% (Miller 1995) ; ce qui en fait une maladie rare dans cette espèce, comparativement à l'homme (environ 1%), au chien (1.7%), ou au chat (1%) (Kroll 2001). Il s'agit d'un processus d'étiologie complexe dont l'évolution conduit à des lésions de la plupart des tissus de l'œil et à une perte de la vision. Cette dernière résulte primitivement d'une dégénérescence des cellules ganglionnaires de la rétine.

Les moyens médicamenteux mis en place pour lutter contre le glaucome sont des sujets de recherches depuis de nombreuses décennies, évoluant en parallèle de l'élargissement de la pharmacopée. En 1977, Zimmerman, Hébert et Kaufmann testèrent pour la première fois le timolol, une molécule de la famille des β -bloquants, par application oculaire sur 30 patients humains atteints de glaucome à angle ouvert. Ils remarquèrent une diminution de la pression intraoculaire sur l'œil traité, proposant le timolol comme traitement contre le glaucome (Zimmerman 1977).

De nombreuses autres études ont évalué les effets du timolol chez d'autres espèces comme le chat, le chien et le cheval ; son mécanisme d'action, sa biodisponibilité et ses effets secondaires locaux et systémiques.

Aujourd'hui, le timolol est largement utilisé sous forme de collyre pour faire baisser la pression intraoculaire. Il est disponible sous forme de solution ou de gel *in-situ*, ayant des propriétés de diffusion particulières (Roselund 1996 ; Takiyama 2006). Il existe de nombreuses formulations différentes, contenant du timolol seul : Timoptol® 0.25% ou 0.5% MSD, Diagol® 0.25% ou 0.5% Théa, Gaoptol® 0.25% ou 0.5% Europhta ; ou encore des formes en associations avec des inhibiteurs de l'anhydrase carbonique (IAC) : Cosopt® MSD et Azarga® Alcon. Toutes ces spécialités proviennent de la médecine humaine, il n'existe pas à l'heure actuelle de spécialité vétérinaire.

L'intérêt du timolol dans le traitement des glaucomes humains et canins a été largement étudié mais il existe peu de publications sur l'utilisation du timolol chez le cheval.

Les particularités anatomiques oculaires du cheval influencent directement l'élimination de l'humeur aqueuse. En effet, l'humeur aqueuse est éliminée en grande partie par la voie uvéosclérale chez le cheval (environ 50%) alors que cette voie d'élimination reste mineure chez les autres espèces, en comparaison de la voie dite « conventionnelle » (Michau 2017). Cela expliquerait en partie la présentation souvent tardive des chevaux atteints de glaucome, avec une évolution plus lente de la maladie car la voie uvéosclérale continue de drainer l'humeur aqueuse malgré une obstruction au niveau de l'angle iridocornéen.

Nous n'avons pour le moment que peu d'informations sur l'effet du timolol sur l'œil du cheval ainsi que ses effets secondaires et ses répercussions systémiques, la physiologie elle-même de l'œil du cheval est moins bien décrite que chez d'autres espèces.

Nous nous sommes intéressés à l'efficacité d'un collyre de timolol 0.5% à libération prolongée en solution formant un gel *in-situ* (Timoptol LP® 0.5%, MSD) en instillation unique sur l'œil du cheval sur une période de 12h. Nous avons également incorporé un suivi du diamètre pupillaire et de la fréquence cardiaque pour estimer ses effets secondaires.

Le timolol 0.5% en collyre a déjà été étudié chez le cheval et a montré son efficacité sur la diminution de PIO ainsi qu'une bonne tolérance lors d'une administration deux fois par jour (Van der Woerd 2000). Notre hypothèse de travail était que l'utilisation d'une formulation en gel permettrait d'obtenir des résultats similaires avec une fréquence d'administration réduite à une fois par jour et une tolérance égale voire supérieure à la forme collyre solution.

Nous aborderons, dans une première partie bibliographique, la formation et la régulation de l'humeur aqueuse, la physiopathologie du glaucome équin et la pharmacologie du timolol.

La seconde partie sera réservée à notre étude expérimentale sur une instillation unique de timolol 0.5% à libération prolongée sur l'œil du cheval où nous présenterons son protocole, ses résultats et ses implications.

I- Physiologie de la pression intraoculaire chez le cheval

A- Dynamique de l'humeur aqueuse

L'humeur aqueuse est le fluide présent dans les chambres postérieures et antérieures de l'œil. Sécrétée dans la chambre postérieure, elle passe à travers la pupille et s'écoule en chambre antérieure où elle est dirigée vers l'angle iridocornéen par les courants de convection thermique.

Son existence est nécessaire au maintien d'un tonus oculaire rendant possible les fonctions visuelles. Elle contribue également à la nutrition du cristallin, de la cornée et des structures de l'angle iridocornéen et permet l'élimination des déchets issus du catabolisme.

L'humeur aqueuse est formée majoritairement par un mécanisme de sécrétion active à travers l'épithélium des procès ciliaires vers la chambre postérieure. Cela concerne principalement le transport actif de sodium par une pompe à sodium contenue dans la paroi des cellules claires de l'épithélium ciliaire. Ces cellules ont d'ailleurs un grand nombre de mitochondries et une activité Na^+/K^+ ATPase plus forte que les cellules pigmentées.

L'anhydrase carbonique est une enzyme très importante dans la formation de l'humeur aqueuse : elle catalyse la formation de bicarbonate par réaction entre le dioxyde de carbone et l'eau.



Le bicarbonate chargé négativement va rejoindre l'humeur aqueuse dans la chambre postérieure de l'œil en entraînant par osmolarité de l'eau et des ions sodium. L'anhydrase carbonique a une importance majeure dans le traitement des glaucomes : l'inhibition de l'anhydrase carbonique entraîne la diminution de production de l'humeur aqueuse et par conséquent une baisse de la pression intraoculaire.

Cette sécrétion active est responsable de 80% de la production de l'humeur aqueuse totale chez de nombreuses espèces.

Le reste de la production de l'humeur aqueuse se fait de manière passive, à travers l'épithélium des corps ciliaires suivant un gradient de concentration. L'ultrafiltration est le passage d'eau et de molécules hydrosolubles à travers des fenestrations de l'endothélium irriguant les corps ciliaires, suivant un gradient osmotique et hydrostatique. Ces deux derniers processus ne requièrent pas de dépense d'énergie (Maggs 2013).

L'humeur aqueuse passe à travers la pupille et s'écoule dans la chambre antérieure où elle est dirigée vers l'angle iridocornéen par des courants de convection thermique. Dans l'angle iridocornéen, elle passe entre les fibres du ligament pectiné (Figure 1 : *aspect de l'angle iridocornéen chez un cheval sain. Le ligament pectiné, marquant l'entrée de la fente ciliaire est directement observable sur les cadrans temporaux et nasaux dans cette espèce*) pour cheminer dans le trabéculum qui occupe l'espace de la fente ciliaire.

Une partie de l'humeur aqueuse emprunte le trabéculum externe pour rejoindre le plexus aqueux de l'angle, puis le plexus veineux intrascléral. Cette voie d'élimination représente la voie conventionnelle ou voie trabéculaire.

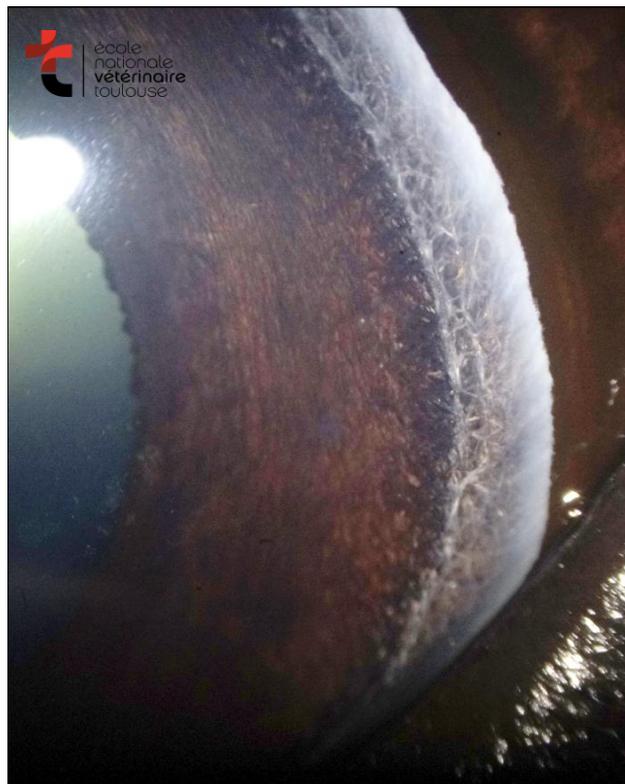


Figure 1 : aspect de l'angle iridocornéen chez un cheval sain. Le ligament pectiné, marquant l'entrée de la fente ciliaire est directement observable sur les cadrans temporaux et nasaux dans cette espèce

Une autre fraction de l'humeur aqueuse diffuse à travers le trabéculum vers la partie caudale de la fente ciliaire, puis la portion antérieure du muscle ciliaire avant de rejoindre l'espace supraciliaire qui est en continuité avec l'espace suprachoroïdien (Sedacca *et al.* 2012). L'humeur aqueuse est alors résorbée à partir des espaces supraciliaire et suprachoroïdien par la vascularisation choroïdienne et diffuse à travers la sclère pour rejoindre la vascularisation épisclérale (Sedacca *et al.* 2012). Des données histologiques montrent que cette voie, appelée voie non conventionnelle ou voie uvéosclérale, est comparativement plus développée chez le cheval que chez le porc, le chat et les bovins (Sedacca *et al.* 2012). Elle constituerait une voie de moindre résistance à l'écoulement de l'humeur aqueuse, qui fonctionnellement serait au moins équivalente à la voie trabéculaire chez le cheval (Samuelson *et al.* 1989).

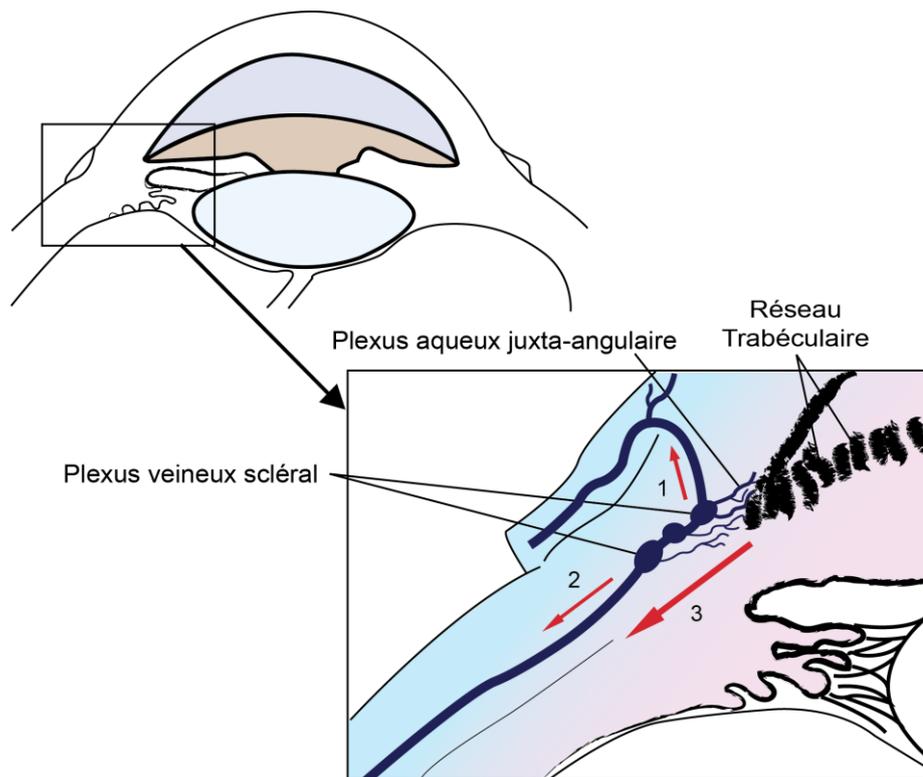


Figure 2 : voie d'élimination de l'humeur aqueuse, d'après Maggs 2013. Après avoir traversé le réseau trabéculaire uvéal, l'humeur aqueuse rejoint le plexus aqueux juxta-angulaire puis le plexus veineux scléral, elle est ensuite drainée soit par l'angle iridocornéen par les veines épisclérales et conjonctivales (1), ou par la circulation systémique (2), soit par la voie uvéosclérale (3).

B- Régulation de la pression intraoculaire

La pression intraoculaire est le résultat d'un équilibre fin entre la production d'humeur aqueuse et son élimination. L'augmentation pathologique de la pression intraoculaire implique souvent un déficit de toutes les voies d'évacuation ; en effet lorsqu'une des voies est altérée, l'humeur aqueuse s'accumule dans la chambre postérieure et le gradient de pression dans les corps ciliaires qui permettait sa production diminue. Il y a donc une régulation de la production d'humeur aqueuse en fonction de l'accumulation de celle-ci. La production active quant à elle continue d'agir indépendamment des gradients de pression. L'humeur aqueuse est entièrement renouvelée toutes les 60 à 90 minutes.

Lors de glaucome, la production et l'élimination de l'humeur aqueuse sont altérées. En général il faut un défaut d'élimination de 80 à 90% avant que la PIO n'augmente. En réaction, la production passive de l'humeur aqueuse va commencer par diminuer à cause de la diminution du gradient de pression à travers l'épithélium ciliaire. Au contraire, la sécrétion active continue à un rythme normal (seul moyen de nutrition pour les zones avasculaires de l'œil) (Maggs 2013).

C- Mesure de la pression intraoculaire

La mesure de la pression intraoculaire ou tonométrie est un élément essentiel de l'évaluation clinique en ophtalmologie. Le maintien de structures oculaires fonctionnelles, notamment de la vision, implique le maintien de la pression intraoculaire dans un intervalle physiologique relativement étroit.

Deux techniques sont utilisées en pratique clinique équine : la tonométrie par aplanissement et la tonométrie à rebond.

1 - Tonométrie par aplanissement

Le principe de cette méthode est que la force appliquée et mesurée pour aplanir la cornée sur une surface connue, permet de calculer la pression intraoculaire. L'instrument utilisé le plus couramment se présente sous forme de stylo (Tonopen XL®). Il est appliqué directement sur la cornée avec un embout en latex à usage unique et la lecture se fait automatiquement sur l'appareil en mmHg. Sa petite taille le rend praticable pour tout type de

patients. Pour l'utiliser, il faut d'abord écartier les paupières sans exercer de pression sur le globe oculaire puis venir placer l'embout de l'appareil par petites touches au centre de la cornée. La force de pression d'aplanissement de la cornée est enregistrée et numérisée, et une moyenne de trois à six mesures est affichée avec un intervalle de confiance. Lorsque la mesure est rendue avec un intervalle de confiance supérieur à 5 %, il est préférable de la renouveler. Une anesthésie locale par instillation d'un collyre d'oxybuprocaine ou de tétracaïne est nécessaire avant de réaliser la mesure.

Elle peut être utilisée sur les grands animaux, ne requiert pas une forte contention et l'embout à usage unique permet d'éviter une stérilisation de l'instrument après chaque usage. Un calibrage régulier de l'appareil est nécessaire et de mise en œuvre aisée. (Maggs 2013, Von Spiessen 2015)

2- Tonométrie à rebond

Le principe de cette technique est d'envoyer une sonde plastique contre la cornée à une distance pré-établie et la faire rebondir. L'instrument (Tonovet®, voir Figure 3 : *Tonovet®, méthode de tonométrie à rebond pour la mesure de la PIO (Knollinger 2005)*) mesure la vitesse d'arrêt lors du choc avec la cornée et la vitesse de retour de la tige dans l'appareil. Lors d'une augmentation de la PIO, la tige s'arrête plus rapidement contre la cornée et son retour est plus rapide. Le tonomètre doit être tenu strictement à la verticale, la tige doit être envoyée au centre de la cornée en étant perpendiculaire à celle-ci et se trouver à une distance comprise entre 4 et 8 mm de la cornée pour obtenir une valeur fiable.

Ce type de mesure ne nécessite pas d'anesthésie locale préalable de la cornée ; au contraire, l'utilisation d'un topique juste avant la mesure pourrait fausser le résultat à cause d'une variation de la tension de surface (Van der Woerd 1995). Cette technique apporte l'avantage d'être très peu invasive et peut s'utiliser sur tout type de patients (Von Spiessen 2015).



Figure 3 : Tonovet®, méthode de tonométrie à rebond pour la mesure de la PIO (Knollinger 2005)

3- Mesures chez le cheval

Ces deux méthodes ont été validées pour mesurer la PIO chez le cheval. Elles sont faciles d'utilisation et non invasives (Figure 4 : mesure la PIO chez le cheval à l'aide du Tonopen XL® (A) et du Tonovet® (B)). Elles donnent des résultats équivalents chez le cheval sain avec, en moyenne, 21.0 ± 5.9 mmHg pour la méthode d'aplanissement (Tonopen®) et 22.1 ± 5.9 mmHg pour la méthode à rebond (Tonovet®) (Knollinger 2005).

La tonométrie par aplanissement permet d'obtenir une valeur fiable dans n'importe quelle position de l'opérateur alors que la tonométrie à rebond nécessite que l'outil soit en position verticale. Le Tonovet® présente l'avantage de ne pas nécessiter d'anesthésie locale préalable, peut être calibré selon l'espèce concernée et enregistrer jusqu'à 10 mesures.

De nombreux paramètres indépendants de la méthode utilisée peuvent venir modifier la mesure de la PIO, notamment l'utilisation d'anesthésiques, l'heure de la journée ou encore la position du cheval.

La xylazine est un $\alpha 2$ -agoniste souvent utilisée en médecine équine dans le but d'obtenir une sédation efficace. Lorsqu'elle est injectée par voie intraveineuse, on remarque une diminution de la PIO (Van der Woerd 1995). Après une sédation à la xylazine (0.5

mg/kg), une induction au propofol (3 mg/kg) et à la kétamine (2 mg/kg) entraîne une augmentation de la PIO de 8% et 37% respectivement. A l'inverse, une induction au thiopental (4 mg/kg) entraîne une diminution moyenne de 4% de la PIO (Ferreira 2013). En conséquence, le choix d'un protocole anesthésique pour un cheval atteint de glaucome devrait être celui limitant le plus possible une élévation indésirable de la PIO. On préférera donc une prémédication à la xylazine, puis une induction avec du thiopental, mais la kétamine sera à éviter. Le propofol reste envisageable si l'on prend en compte l'élévation légère de la PIO mais son utilisation chez les grands animaux comme le cheval reste limitée par l'aspect financier.

Une akinésie des paupières par un bloc auriculo-palpébral est réalisée de manière quasi-systématique pour un examen ophtalmologique de qualité. Cela a pour conséquence de diminuer la PIO et devrait être prise en compte pour chaque mesure (Van der Woerd 1995).

Il a été remarqué que la PIO du cheval suivait un rythme circadien. En effet, une étude sur 6 chevaux a montré que la variation de la PIO suivait un rythme jour/nuit se traduisant par une augmentation progressive de la PIO durant le jour, avec un pic en fin d'après-midi et une diminution pendant la nuit. L'amplitude de ces variations était de 4 à 5 mmHg (Bertolucci 2009).

La position du cheval est tout aussi importante et cela indépendamment de la méthode utilisée : si la tête du cheval se situe en dessous de la ligne horizontale du cœur, la PIO se trouve majorée de 30% par congestion des veines épisclérales (Komaromy 2006). Pour effectuer la mesure, l'opérateur doit écarter les paupières du cheval de façon à découvrir suffisamment d'espace cornéen pour appliquer le Tonopen® ou le Tonovet® sans exercer de pression sur le globe oculaire qui risquerait d'augmenter artificiellement la PIO.

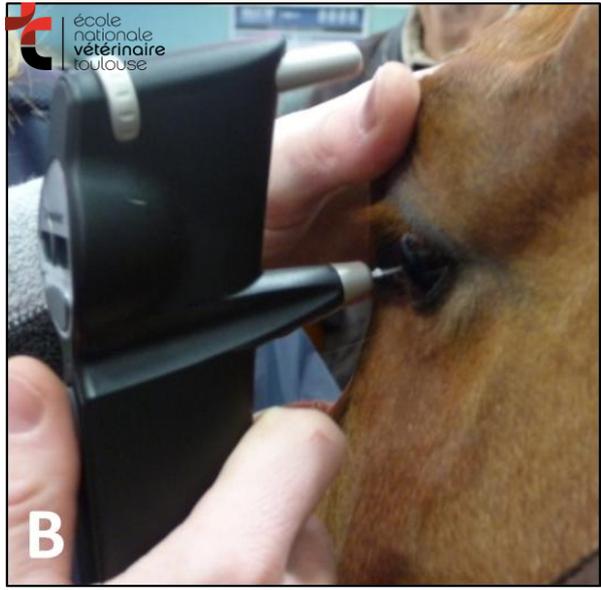
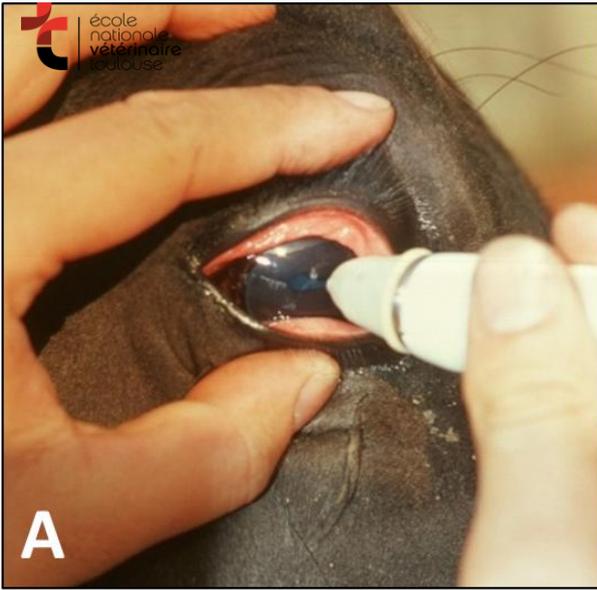


Figure 4 : mesure la PIO chez le cheval à l'aide du Tonopen XL® (A) et du Tonovet® (B)

II- Le glaucome chez le cheval

A- Pathophysiologie du glaucome chez le cheval

Le glaucome se définit comme une neuropathie optique secondaire à une élévation prolongée de la pression intraoculaire.

La prévalence du glaucome chez le cheval se situe entre 0.07% et 0.11%, ce qui est relativement plus faible que chez d'autres espèces comme chez l'homme (1%), le chien (1-1.7%) et le chat (0.2%) (Millers 1995). Il concerne surtout les chevaux âgés à partir de 10 ans et le risque devient maximal à partir de 15 ans (Pickett 1993). Les races de type Appaloosa, Quarter Horse, et les poneys semblent être plus touchées que les pur-sangs (Millers 1995 ; Michau 2017). Une élévation pathologique de la PIO est toujours la conséquence d'un défaut d'élimination de l'humeur aqueuse, par un phénomène obstructif au sein de ses voies d'échappement.

Le cheval possède un nombre important de cellules ganglionnaires rétiniennes (CGR) ; ces cellules font parties du système nerveux central. Le corps cellulaire est situé dans la rétine et les axones dans le nerf optique. Tous les axones convergent dans le nerf optique et forment un réseau autour d'une matrice extracellulaire appelée la *lamina cribrosa*. L'augmentation de la PIO lors d'un glaucome entraîne un arrêt de la circulation axoplasmique par compression et un déplacement postérieur de la *lamina cribrosa*, entraînant la compression, l'étirement et la mort des CGR (Michau 2017 ; Uppers 2011).

Le glaucome peut être d'origine primaire ou secondaire. L'origine primaire résulterait d'un défaut congénital touchant l'angle iridocornéen le plus souvent et causerait des glaucomes bilatéraux. Ce cas de figure reste rare chez le cheval (Uppers 2011). Le glaucome secondaire trouve son origine suite à des affections comme l'uvéite antérieure, une luxation du cristallin ou une tumeur intraoculaire. Les uvéites récidivantes, l'âge et parfois la race du cheval (Decombas 2012) sont des facteurs prédisposant au glaucome. Dans une étude rétrospective, il a été montré que 85% des cas de glaucome équin étaient une conséquence d'uvéites antérieures récurrentes (Wilkie 2004). Le mécanisme par lequel une uvéite antérieure évoluerait en glaucome inclut la formation d'une membrane fibrovasculaire dans l'angle iridocornéen et sur l'iris, l'apparition de synéchies antérieures et postérieures ainsi que

l'accumulation de débris inflammatoires obstruant les voies d'échappement de l'humeur aqueuse. L'augmentation de pression aggrave la compression du trabéculum et la fermeture de l'AIC (Figure 5 : aspect de l'angle iridocornéen chez un cheval atteint d'un glaucome de l'œil gauche (C,D) en comparaison avec l'œil indemne (A,B). les clichés sont pris en photographie classique (A,C) et infrarouge (B,D). Notez l'œdème cornéen et le collapsus. Le glaucome secondaire peut aussi être le résultat de traumatismes oculaires.

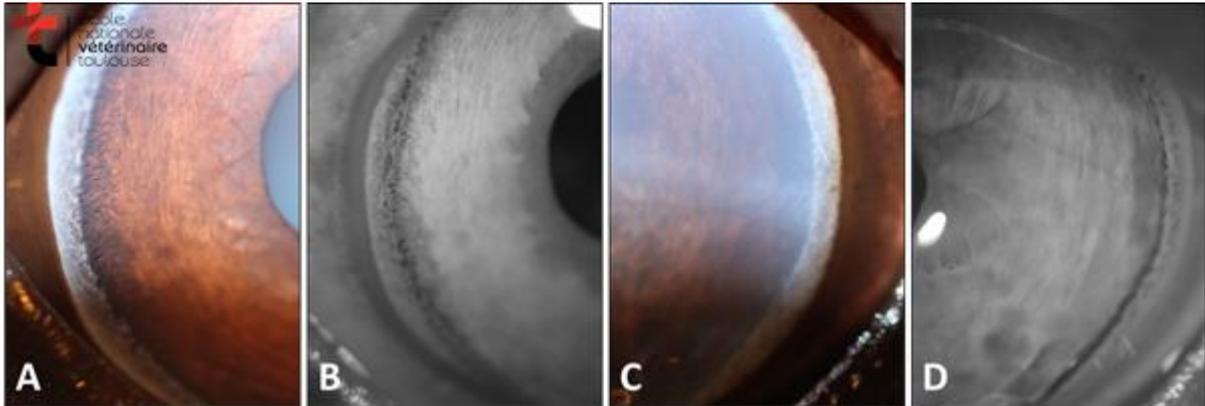


Figure 5 : aspect de l'angle iridocornéen chez un cheval atteint d'un glaucome de l'œil gauche (C,D) en comparaison avec l'œil indemne (A,B). les clichés sont pris en photographie classique (A,C) et infrarouge (B,D). Notez l'œdème cornéen et le collapsus.

Il existe cinq étapes majeures dans l'évolution d'un glaucome (Utters 2011) : d'abord une anomalie qui entraîne une modification de l'évacuation de l'humeur aqueuse (réduction de l'angle iridocornéen par exemple), puis une accumulation de l'humeur aqueuse entraînant une élévation de la PIO, puis cette élévation devient trop importante pour les CGR et les axones du nerf optique, puis on observe une dégénération de ces derniers et pour finir une perte de la vision.

Chez le cheval les premiers stades du glaucome sont peu visibles cliniquement ; l'hypothèse principale est que la voie d'évacuation uvéosclérale de l'humeur aqueuse chez le cheval contribue plus fortement à son élimination que chez d'autres espèces, ralentissant ainsi le processus (Sedacca 2012).

B- Présentation clinique

L'évolution clinique du glaucome équin dépend de l'intensité de l'élévation de la PIO, sa durée et son origine (primaire ou secondaire). L'atteinte est unilatérale dans 70% des cas (Régnier 2013).

Dans les premiers stades du glaucome, les signes cliniques peuvent être très peu évocateurs. Lors d'une élévation modérée de la PIO, un œdème cornéen focal ou diffus ainsi qu'une mydriase sont parfois notés. La douleur oculaire est d'intensité variable et des signes d'inconfort oculaire tels qu'un blépharospasme et un épiphora sont visibles à des PIO plus élevées. La rougeur épisclérale est peu présente chez le cheval contrairement au chien (Pickett 1993).

Comme l'uvéite est un déterminant majeur du glaucome équin, l'observation d'un effet Tyndall, ou d'une humeur aqueuse trouble, voire hémorragique, est fréquente. Dans les stades les plus avancés, une néovascularisation cornéenne peut aussi être présente, ainsi que des opacités curvilinéaires endothéliales partant du limbe, matérialisant une déchirure de la membrane de Descemet, appelée strie de Haab (Figure 7 : *examen rapproché de l'œil gauche du cheval de la fig 6. Œdème cornéen diffus gênant l'observation de la chambre antérieure et nombreuses stries de Haab, confirmant l'hypothèse de glaucome*)(Annear 2012).

Le cheval présentant un glaucome chronique peut montrer une buphtalmie (Figure 6 : *Buphtalmie OG observée à distance. Notez également l'opacité cornéenne associée*)), une luxation du cristallin, une cataracte et au final une dégénération du nerf optique. Un glaucome de stade avancé fini par induire une perte de vision définitive (Michau 2017 ; Wilkie 2004 ; Brooks 2005). Le cheval semble être plus tolérant à l'élévation de la PIO que chez d'autres espèces comme le chien et l'œil peut rester fonctionnel à des élévations jusqu'à 50 mmHg pendant plusieurs jours (Wilkie 2010).



Figure 6 : Buphtalmie OG observée à distance. Notez également l'opacité cornéenne associée



Figure 7 : examen rapproché de l'œil gauche du cheval de la fig 6. Œdème cornéen diffus gênant l'observation de la chambre antérieure et nombreuses stries de Haab, confirmant l'hypothèse de glaucome

C- Diagnostic

Les signes cliniques du glaucome ne sont pas spécifiques et ne permettent pas à eux seuls un diagnostic de certitude. Le glaucome doit toujours être considéré lors d'une uvéite. Le diagnostic de certitude repose sur la mesure de la PIO via un tonomètre à rebond (Tonovet®) ou à aplanissement (Tonopen®) (Knollinger 2005). La valeur usuelle de la PIO chez le cheval est située entre 17 mmHg et 28 mmHg (Wilkie 2004). Un résultat supérieur à 30 mmHg chez le cheval associé à des signes cliniques est évocateur d'un glaucome (Wilkie 2010). Néanmoins, la variation circadienne de la PIO chez le cheval implique d'effectuer plusieurs mesures au cours de la journée pour avoir un diagnostic de certitude (Bertolucci 2009).

D-Traitements

Le traitement peut se faire par voie médicale (tableau 1) ou chirurgicale, le but étant d'abaisser rapidement la PIO dans les normes avant que le nerf optique ne soit endommagé et entraîne une cécité irréversible. Etant donné le manque de signes précoces de glaucome chez le cheval, la prise en charge s'avère souvent tardive et donc plus difficile. Les traitements médicaux incluent en majorité des collyres car la taille moyenne du cheval restreint l'usage de médicaments par voies systémiques en termes de volume et de coût (Wilkie 2004).

La première famille de molécules utilisées pour réduire la PIO chez le cheval est celle des β -bloquants, et principalement le timolol. Il peut être utilisé seul sous forme de timolol maléate collyre en solution à 0.25% ou 0.5% ou sous forme de gel *in situ*. Il a été montré que le timolol maléate 0.5% en solution permet de diminuer la PIO chez le cheval sain de 17% en moyenne (Van der Woerdt, 2000).

La production active de l'humeur aqueuse fait intervenir des enzymes appelées anhydrase carbonique. Il existe actuellement 7 isoenzymes reconnues, dont 2 ont été localisées dans l'épithélium ciliaire (anhydrase carbonique II et IV). L'utilisation d'inhibiteurs de l'anhydrase carbonique (IAC) II comme le dorzolamide chez l'homme permet de réduire la PIO (Baldwin 1989), mais l'anhydrase carbonique II doit être inhibée à 99% pour être efficace (Maren 1967). Les IAC tels que le dorzolamide ou le brinzolamide sont aussi couramment utilisés dans le traitement du glaucome chez le cheval. Le dorzolamide 2% sera plutôt utilisé seul ou en association avec du timolol 0.5%, 2 fois par jour pour obtenir une réduction de la PIO. En effet, l'application de dorzolamide une fois par jour n'entraîne pas de diminution significative de la PIO (Willis 2001), soit par défaut d'absorption, soit par défaut d'inhibition.

Le brinzolamide 1% permet d'obtenir une réduction moyenne de la PIO de 3.1 mmHg chez le cheval sain lors d'une application unique et une diminution de 5.0 mmHg en moyenne s'il est appliqué 2 fois par jour (Germann 2008). La formulation utilisée dans cette étude présentait en outre un pH de 7,5, plus proche du pH physiologique rencontré chez le cheval (autour de 8,33) que le dorzolamide présentant un pH de 5.6. Ceci permettrait d'expliquer une meilleure tolérance locale du brinzolamide. Cependant, peu d'effets secondaires ont été décrits quant à l'utilisation des IAC chez le cheval.

Les analogues des prostaglandines $PGF_2\alpha$ comme le latanoprost sont très efficaces dans le traitement du glaucome primaire du chien (Gelatt 2001). Elles ne présentent pas le même intérêt chez le cheval. Dans cette espèce, l'utilisation de latanoprost une fois par jour pendant 5 jours n'a pas montré de réduction significative de la PIO. Pis, l'instillation était à l'origine de nombreux effets secondaires comme un blépharospasme, une hyperhémie et un myosis (Willis 2001 ; Davidson 2002). En effet, les $PGF_2\alpha$ réduisent la matrice extracellulaire entre les fibres musculaires des corps ciliaires. Cette réduction augmente l'espace libre entre les fibres musculaires et entraîne un passage plus facile pour l'élimination de l'humeur aqueuse. Le cheval possède une matrice extracellulaire peu abondante. Sa

réduction par les PGF 2α n'entraîne donc pas d'augmentation de l'élimination de l'humeur aqueuse proportionnellement aussi efficace que chez les autres espèces (Sedacca 2012). De plus, ces molécules sont susceptibles d'exacerber les signes d'uvéïte (Willis 2001).

Récemment, l'utilisation d' $\alpha 2$ -agonistes comme la brimonidine a été étudiée chez le cheval. Il a été montré que la brimonidine utilisée seule ou en association à du timolol 0.5% étaient bien tolérées mais n'entraînaient pas de diminution significative de la PIO pouvant en faire un traitement contre le glaucome (Von Zup 2017).

L'application locale d'atropine n'entraîne pas de diminution de la PIO mais permet d'améliorer le confort de l'animal (Mughannam 1999), pourtant d'autres études suggèrent que l'atropine peut à l'inverse entraîner une élévation de la PIO (Utter2011), ce traitement n'est donc plus recommandé.

La chirurgie est une alternative au traitement médical, les techniques diffèrent selon que la vision est préservée ou non. Si la vision est encore présente, le but de diminuer la production de l'humeur aqueuse avec une technique de destruction des procès ciliaires : cyclocryochirurgie ou cyclophotocoagulation au moyen d'un laser diode. La cyclophotocoagulation a l'avantage d'avoir moins d'effets secondaires que la cyclocryochirurgie et s'avère être le traitement chirurgical de choix. Lorsque la perte de vision est irréversible le but est d'améliorer le confort de vie de l'animal. Une énucléation ou une éviscération suivie d'insertion intraoculaire d'une prothèse en silicone ou encore l'injection intravitréenne de gentamicine semblent être les techniques les plus adaptées (Wilkie 2004 ; Régnier 2013).

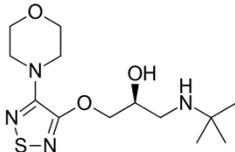
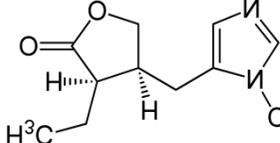
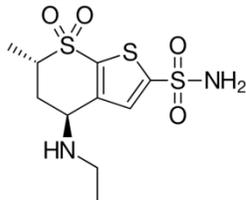
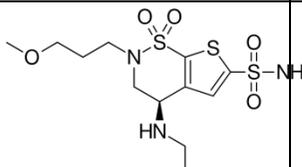
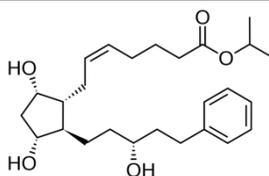
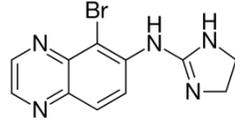
Molécules	Famille	Formule chimique	Principaux noms déposés	Mode d'action	Effets secondaires	Sources
Timolol	β -bloquant		- Timoptol 0.25%® collyre solution (MSD) - Timoptol 0.5%® collyre solution (MSD) - Timoptol LP 0.25%® collyre solution (MSD) - Timoptol LP 0.5%® collyre solution (MSD)	Diminution de la production de l'HA par diminution de la concentration intracellulaire de l'AMPc des corps ciliaires.	Bradycardie, bronchospasmes, mydriase	Van der Woerdt 2000
Pilocarpine	Alcaloïde		- Isopto-pilocarpine 2%® collyre solution (Alcon) - Pilocarpine Faure 2%® collyre solution (Europhtha) - Pilocarpine Faure 1%® collyre solution (Europhtha)	Action parasympathicomimétique directe sur les récepteurs muscariniques entraînant une contraction des muscles lisses de l'oeil	Myosis, augmentation de la PIO	Withley 1980
Dorzolamide	Inhibiteur de l'anhydrase carbonique		- Trusopt 20mg/mL® collyre solution (MSD)	Inhibition de l'isoenzymes anhydrase carbonique II empêchant la formation du gradient osmotique nécessaire dans la formation de l'HA	Hyperhémie	Maren 1967
Brinzolamide	Inhibiteur de l'anhydrase carbonique		- Azopt 10mg/mL® collyre en suspension (Alcon)	Voir dorzolamide	Hyprhémie, moins fréquente que pour le dorzolamide	Germann 2008
Latanoprost	Analogue des prostaglandines P2 α		- Xalatan 50 μ g/mL® collyre solution (Pfizer)	Augmentation de la voie d'élimination uvéosclérale de l'HA	Hyperhémie, épiphora, blépharospasme	Davidson 2002
Brimonidine	α 2-agoniste		- Alphagan 0.2%® collyre solution (Allergan)	Inhibition de la production présynaptique de noradrénaline induisant une diminution intracellulaire d'AMPc dans les corps ciliaires.		Von Zup 2017

Tableau 1 : Liste des différentes molécules utilisées en tant qu'anti-glaucomeux chez le cheval

III- Données pharmacologiques du timolol

A-Généralités sur les β -bloquants

Les β -bloquants représentent une famille de molécules antagonistes compétitifs des récepteurs β -adrénergiques. Ils sont majoritairement utilisés dans la prise en charge des maladies cardio-vasculaires. Tous les β -bloquants n'ont pas la même pharmacocinétique et pharmacodynamique, ce qui permet de les classer et les choisir selon des critères comme leur cardio-sélectivité ou leur voie d'élimination principale (hépatique ou rénale le plus souvent).

Ils ont une action principalement cardiaque, avec un effet inotrope négatif et chronotrope négatif qui permet une réduction significative du travail cardiaque ainsi qu'un effet anti-hypertenseur. Ils sont utilisés majoritairement en cas d'hypertension artérielle et d'insuffisance cardiaque systolique (Venkata 2010 ; Waagstein 1975).

Les principaux effets secondaires rencontrés avec les β -bloquants sont une bradycardie, une vasoconstriction périphérique, un syndrome respiratoire obstructif, des phénomènes d'hypoglycémie lors de traitements conjoints avec de l'insuline et dans les cas les plus graves une décompensation d'insuffisance cardiaque.

Les β -bloquants peuvent être définis selon trois critères pharmacodynamiques :

- la cardio-sélectivité
- l'action agoniste partielle
- l'effet stabilisateur de membrane

La cardio-sélectivité traduit l'affinité du β -bloquant pour les récepteurs β_1 -adrénergiques et/ou les récepteurs β_2 -adrénergiques. Certains β -bloquants dits « non cardio-sélectifs », comme le timolol, auront des effets sur les récepteurs β_1 et β_2 , pouvant entraîner les effets cardiaques attendus (β_1) mais aussi des effets bronchopulmonaires et vasculaires indésirables (β_2) alors que d'autres auront une sélectivité supérieure pour les récepteurs β_1 (e.g. aténolol).

L'activité agoniste partielle, ou activité sympathomimétique intrinsèque, traduit la capacité de certains β -bloquants à agir comme des β -agonistes en l'absence de catécholamines

(e.g. pindolol). Le β -bloquant va faiblement stimuler le récepteur adrénergique via une liaison partielle au site du récepteur induisant un effet biologique. L'intérêt de cette propriété est de pouvoir bloquer l'action pleine des catécholamines tout en maintenant une activité adrénergique minimale. On pourra ainsi éviter une diminution trop importante du rythme cardiaque ainsi qu'une bronchoconstriction et une vasoconstriction

L'effet stabilisateur des membranes traduit l'action des β -bloquants sur les canaux ioniques Na^+/K^+ qui ont un effet anti-arythmiques en ralentissant la conduction au niveau du nœud auriculo-ventriculaire. Cet effet concerne des β -bloquants comme l'acébutolol et le labétalol (Enna 2011).

B- Propriétés pharmacologiques du timolol

Le timolol est un β -bloquant non cardio-sélectif : il cible les récepteurs β_1 -adrénergiques et β_2 -adrénergiques. Contrairement à d'autres molécules de cette classe, il ne possède pas de pouvoir agoniste partiel (activité sympathicomimétique intrinsèque) ni d'effet anti-arythmique par stabilisation des membranes.

Il est utilisé couramment pour traiter les glaucomes et les hypertensions oculaires en bloquant les terminaisons nerveuses sympathiques dans l'épithélium ciliaire conduisant à une diminution de l'humeur aqueuse (Nieminen 2007).

Il peut être utilisé par voie orale pour le traitement de l'hypertension artérielle et aussi sous forme de topique oculaire pour le traitement du glaucome.

Le timolol maléate est faiblement lipophile, sa voie d'élimination se fait surtout par voie rénale et hépatique.

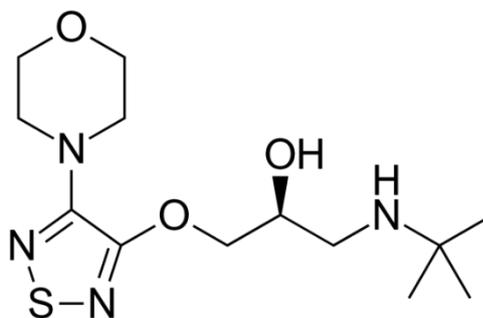


Figure 8 : représentation de la structure chimique du timolol, d'après PubChem Compound Database 2017

Formule chimique:

S)-1-[(1,1-Dimethylethyl)amino]-3-[[4-(4-morpholinyl)-1,2,5-thiadiazol-3-yl]oxy]-2-propanol

Formule brute:

C₁₃ H₂₄ N₄ O₃ S

Solubilité :

soluble dans l'eau (2.74 mg/mL), l'éthanol et le méthanol. Insoluble dans l'éther et l'isooctane. Stable en solution à pH 12.

Pka = 9.21

Contre-indications :

comme tous les β-bloquants non cardio-sélectifs, il est contre-indiqué en cas d'obstruction des voies bronchiques (asthme), de choc cardiogénique, de bloc atrial et en cas d'hypoglycémie. Les effets secondaires les plus fréquents sont une bradycardie et une vasoconstriction périphérique.

Interactions avec d'autres médicaments :

- Adrénaline : potentialisation de la vasoconstriction périphérique.
- Anti-arythmiques : effets additifs sur la contraction et la conduction cardiaque.
- Insuline : Altération de la réponse à l'hypoglycémie avec une exagération de la réponse hypertensive.
- AINS/AIS : Altération de l'effet anti-hypertenseur du timolol.

Elimination :

Lors d'application oculaire, 80% du timolol est absorbé par le conduit naso-lacrimal et rejoint la circulation systémique (Shell 1982). La concentration plasmatique de timolol est dépendante de la formulation utilisée : l'application ophtalmique de timolol 0.1% aura une concentration plasmatique bien inférieure par rapport à l'utilisation de timolol 0.5% (Bonnin 2012). Le timolol circulant est métabolisé principalement par le foie via les enzymes CYP2D6 et CYP2C19 (Volotinen 2011). L'enzyme CYP2D6 serait responsable de 90% de la formation des métabolites dans l'élimination du timolol.

(Enna x-pharm 2011 ; Hoover 2016 ; PubChem Compound Database 2017).

C-Effets du timolol par application oculaire

L'effet du timolol par application oculaire directe a longtemps été étudié dans le but de comprendre son mécanisme. Le timolol a été proposé comme traitement contre le glaucome d'abord chez l'homme en 1977 (Zimmerman 1977), sans que son mécanisme ne soit encore élucidé. Le timolol n'exercerait aucune influence sur l'élimination de l'humeur aqueuse mais diminuerait sa production (Coakes 1978). En 1982, Nathanson a montré la présence de récepteurs β -adrénergiques, surtout de type β_2 -adrénergiques, dans l'épithélium ciliaire.

L'hypothèse principale étant que les β -antagonistes comme le timolol pouvaient diminuer la concentration intracellulaire d'AMP-cyclases (second messenger) dans les procès ciliaires et ainsi diminuer la production d'humeur aqueuse.

Une autre étude est venue nuancer cette hypothèse : En 2001, McLaughin a montré que le timolol pouvait agir de manière indépendante à la voie dédiée à l'AMP-cyclase.

Une autre hypothèse étudiée chez le chat est que le timolol agit sur les récepteurs β -adrénergiques des capillaires ciliaires ; composés également de récepteurs α -adrénergiques dans une moindre mesure. La stimulation des récepteurs β -adrénergiques entraînerait une vasodilatation et une formation accrue d'humeur aqueuse par augmentation du flux sanguin dans les procès ciliaires. A l'inverse, la stimulation des récepteurs α -adrénergiques entraîne une vasoconstriction des capillaires ciliaires qui diminue le flux sanguin irriguant les procès ciliaires et entraîne la diminution de production d'humeur aqueuse. Le blocage des récepteurs β -adrénergiques par le timolol permettrait la stimulation prédominante des récepteurs α -adrénergiques et donc la diminution de production de l'humeur aqueuse (Naito 2001).

Chez le cheval il n'existe pas d'étude sur la répartition des récepteurs adrénérgiques dans les procès et les capillaires ciliaires. Néanmoins, les effets de certains anti-glaucomeux sur la PIO du cheval permettent d'établir quelques hypothèses. L'administration de timolol en une administration unique chez le cheval sain permet d'obtenir une diminution moyenne de 17% de la PIO. Cela impliquerait la présence de récepteurs β -adrénergiques dans les procès et les capillaires ciliaires de l'œil du cheval (Van der Woerd 2000).

Une autre étude a nuancé l'effet du timolol sur la production de l'humeur aqueuse chez le cheval : l'utilisation de dorzolamide (inhibiteur de l'anhydrase carbonique) n'entraînait pas de réduction de la PIO avec une application unique par jour. Par contre, elle

permettait une réduction de 2 mmHg de la PIO pour 2 applications par jour (Willis 2001). Ces résultats étaient similaires pour une application unique et une application 2 fois par jour d'une combinaison de dorzolamide 2% et timolol 0.5% alors qu'une synergie était attendue. Nous obtenons donc la même efficacité sur la PIO en utilisant une combinaison de deux molécules avec deux modes d'action pourtant différents. Cette étude souligne qu'il pourrait exister d'autres facteurs influençant la production de l'humeur aqueuse chez le cheval et qu'il y a un réel intérêt à étudier des formulations différentes de ces molécules dans le but d'obtenir un effet sur la PIO durable dans le temps et ainsi optimiser les traitements.

D-Formes galéniques du timolol par voie oculaire

Il existe 2 formes galéniques disponibles pour l'application de timolol à usage ophtalmique : le collyre en solution simple et le collyre en solution formant un gel *in-situ*.

La solution se présente sous forme d'un flacon contenant du timolol maléate seul, formulé à 0.25% ou 0.5%, associé à divers excipients tels que du phosphate monosodique dihydrate, du phosphate disodique dodécahydrate, du sodium hydroxyde, de l'eau purifiée et du benzalkonium chlorure (Timoptol® 0.25% collyre solution et Timoptol 0.5% collyre solution, MSD). Elle est également retrouvée en association avec d'autres molécules aux propriétés anti-glaucomeuses comme un inhibiteur de l'anhydrase carbonique tel que le brinzolamide (Azarga®, Alcon) ou du dorzolamide (Cosopt®, MSD) ; ou avec un analogue des prostaglandines comme le latanoprost (Xalacom®, Pfizer).

La deuxième forme galénique contenant du timolol à usage ophtalmique se présente sous forme de solution formant un gel *in-situ*, aussi présentée comme la forme « à libération prolongée ». Il est composé de timolol maléate et de gomme gellane (Timoptol LP® 0.25% et Timoptol LP® 0.5%, MSD). La gomme gellane est un hétéropolyoside linéaire anionique composé de 4 oses, soluble dans l'eau et formant un gel en présence de cations. Le film lacrymal étant composé en partie de différents types de cations comme le sodium, le potassium, le magnésium et le calcium ; l'application d'une solution de timolol contenant de la gomme de gellane va entraîner la formation d'un gel qui se répartira sur la cornée. Cet effet est proportionnel à la quantité de cations disponibles. Il est par conséquent amplifié par la fabrication accrue de larmes en réaction à l'utilisation d'un topique. A l'inverse, chez les

individus souffrant d'une sécheresse oculaire la formation du gel pourrait être moins efficace (Abdelkader 2012).

La présentation sous forme de solution présente une biodisponibilité oculaire inférieure à 1% car elle est immédiatement diluée dans le film lacrymal et est soumise au renouvellement de celui-ci, entraînant une absorption rapide par les canaux lacrymaux (Abdelkader 2012). Le principe actif ainsi absorbé va ensuite rejoindre la circulation générale. La fraction résorbée peut ainsi être à l'origine d'effets secondaires cardiovasculaires et respiratoires observés chez l'homme (Nieminen 2007). Cette formulation s'est montrée efficace dans le traitement du glaucome chez l'homme lorsqu'elle est appliquée 2 fois par jour. En médecine vétérinaire, il est souvent plus avantageux de réduire la fréquence d'administration d'un traitement car la manipulation peut être mal tolérée par les animaux.

Pour la formulation gélifiant *in-situ*, la formation d'un gel sur la surface pré-cornéenne a l'avantage de limiter l'élimination immédiate via les larmes et augmente ainsi la biodisponibilité oculaire (Rupenthal 2011). L'intérêt d'augmenter le temps de contact oculaire est de pouvoir réduire la fréquence d'administration du traitement en passant de 2 administrations par jour pour la solution simple de timolol 0.5% à une seule administration par jour de timolol 0.5% à libération prolongée (Rosenlund 1996). Cet effet a également été recherché chez le cheval par l'utilisation d'une combinaison de dorzolamide 2% et de timolol 0.5% en pommade appliquée 2 fois par jour, et comparée avec la même combinaison mais sous forme de solution appliquée à la même posologie. Les deux formulations ont apporté des résultats similaires avec une baisse de la PIO moyenne de 13% pour l'œil traité (Tofflemire 2014). Dans cette étude, la forme pommade n'apportait pas d'avantage en termes d'efficacité et de rythme d'administration mais offrait une formulation souvent plus facile à appliquer pour les propriétaires. La limitation de l'absorption rapide des principes actifs sous forme gélifiée diminue également les effets secondaires systémiques rencontrés avec le collyre en solution (Bonnin 2012). Chez l'homme, l'utilisation de timolol à libération prolongée une fois par jour s'est montrée aussi efficace pour réduire la PIO lors d'un glaucome à angle ouvert qu'une application deux fois par jour de timolol en solution (Shedden 2001).

Deuxième partie :

Etude expérimentale

Objectif de l'étude

L'objectif de cette étude était d'évaluer l'effet du timolol maléate 0,5% collyre libération prolongée par application oculaire unique sur la pression intraoculaire et le diamètre pupillaire du cheval sain et ses répercussions cardio-vasculaires. Les critères retenus pour cette étude étaient suivis dans le temps sur une période de 12h. Il sera ainsi possible de mettre en évidence le nadir de diminution de la pression intraoculaire de l'œil testé en comparaison avec l'œil témoin, sa résorption dans le temps et le suivi des effets sur le diamètre pupillaire et la fréquence cardiaque.

I- Protocole expérimental

A-Matériels et Méthodes

Des chevaux adultes, de races non définies provenant du centre équestre de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse ont été recrutés. L'ensemble de ces chevaux étaient réservés à l'enseignement et tous étaient habitués aux manipulations et à la contention et ont été manipulés dans des conditions environnementales familières.

Pour cette étude, 8 chevaux indemnes de maladie oculaire ont été recrutés. L'inclusion fut définitive après un examen clinique oculaire effectué par un vétérinaire spécialiste en ophtalmologie. L'un des chevaux pré-recrutés a présenté un ulcère superficiel à l'œil gauche et a donc été retiré de l'étude.

L'échantillon était composé de 5 femelles et 2 hongres.

La molécule et galénique utilisée pour le protocole fut du timolol maléate à 0.5% sous forme de collyre formant un gel *in-situ* pour application oculaire (Timoptol LP® 0.5%, MSD).

Nous avons effectué toutes les mesures de pressions intraoculaires avec un seul tonomètre à rebonds (Tonovet®, Icare, Finlande).

Le diamètre pupillaire a été évalué au moyen de photographies avec flash, toutes prises à la même distance de l'œil (focale fixe) puis mesurées sur ordinateur avec le logiciel ImageJ®. 3 paramètres ont été retenus : le diamètre pupillaire vertical, le diamètre pupillaire horizontal et la surface totale de la pupille. Le principe est de d'abord calibrer l'échelle utilisée par le logiciel via la photographie d'une feuille de papier quadrillée (0.5 cm d'unité) prise à la même distance que l'œil du cheval. Une fois cet étalonnage effectué, il faut ouvrir une photo à mesurer puis tracer directement sur celle-ci une ligne correspondant au diamètre horizontal, une ligne correspondant au diamètre vertical et un cercle correspondant à la surface pupillaire total. Le logiciel calcule directement la longueur et la surface de ces tracés (Figure 9 : Exemple d'utilisation du logiciel ImageJ® pour la mesure du diamètre pupillaire via une photographie prise durant la phase de test).

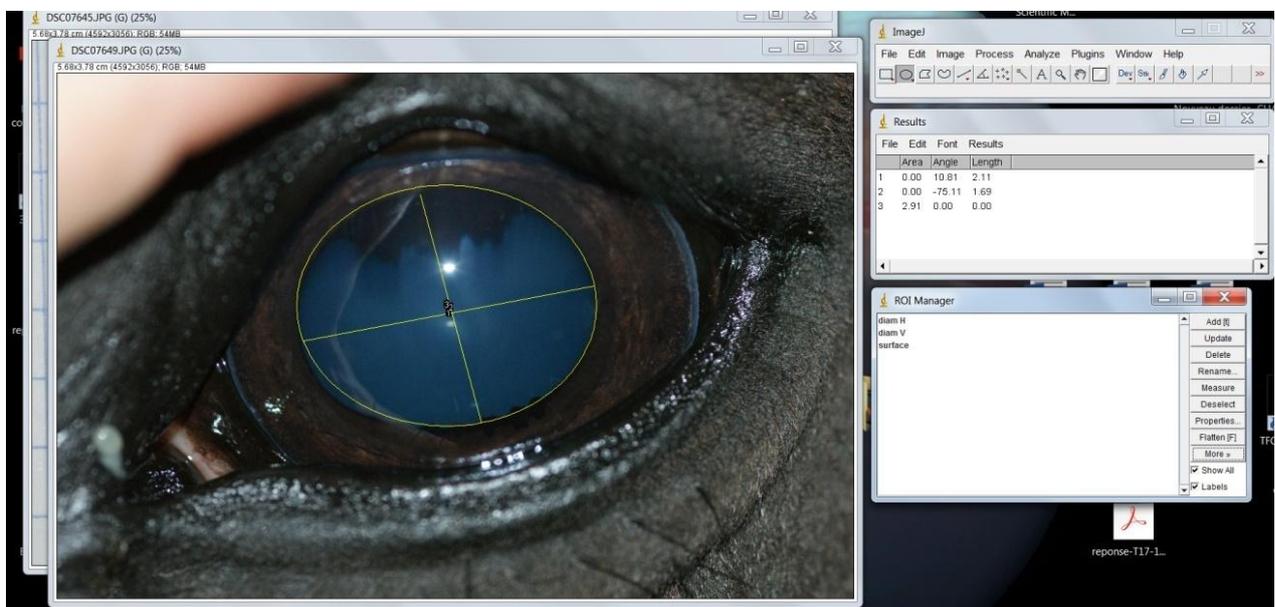


Figure 9 : Exemple d'utilisation du logiciel ImageJ® pour la mesure du diamètre pupillaire via une photographie prise durant la phase de test

La fréquence cardiaque a été mesurée à l'aide d'un stéthoscope Littmann II® par apposition directe sur la cage thoracique côté gauche sur une durée de 1 minute.

Chaque cheval a été gardé pour les besoins de l'étude dans des box individuels nominatifs avec sorties en parc entre chaque mesure.

B- Protocole expérimental

Un tirage au sort préalable a permis de déterminer quel serait l'œil témoin et quel serait l'œil traité. Toutes les mesures de pressions intraoculaires et toutes les photographies pour la mesure du diamètre pupillaire ont été effectuées par le même opérateur, vétérinaire spécialiste en ophtalmologie, sans que celui-ci sache quel œil avait été traité.

La veille de chaque série de mesure, les chevaux sélectionnés ont d'abord été acclimatés à la manipulation : des box leurs ont été attribués jusqu'à la fin de l'expérimentation et des mesures ont été faites sur une période correspondant à une demi-journée de test dans le but de limiter les variations de résultats et les retards dans les mesures liées au stress des chevaux.

Nous avons effectué une première mesure de pression intraoculaire, de diamètre pupillaire de chaque œil sans traitement ainsi qu'une prise de la fréquence cardiaque pour avoir des valeurs de références à comparer en pré et post-traitement.

Après cette première mesure, l'œil tiré au sort recevait 0,1 mL de Timoptol 0.5% LP®. Le collyre était aspiré à l'aide d'une aiguille de 18G montée sur une seringue de 1mL. Le produit était ensuite instillé directement à l'aide de la seringue de 1 mL, sans aiguille ou canule montée, dans le fornix conjonctival inférieur. L'œil controlatéral ne recevait aucun traitement pour servir de témoin.

Toutes les mesures ont été effectuées le même jour pour un total de 13 mesures réparties sur 11h et comprenaient dans l'ordre : une mesure de la pression intraoculaire sur chaque œil, puis une prise de la fréquence cardiaque pour finir par une mesure du diamètre pupillaire (photographies).

Déroulement du protocole sur une journée :

T0 : 8h.

Instillation du timolol maléate

T1 : 8h30

T6 : 13h

T11 : 18h

T2 : 9h

T7 : 14h

T12 : 19h

T3 : 10h

T8 : 15h

Fin du protocole

T4 : 11h

T9 : 16h

T5 : 12h

T10 : 17h

C-Analyse statistique

Les moyennes de chaque mesure de pression intraoculaire et de diamètre pupillaire de l'œil traité ont été comparées à celles de l'œil controlatéral.

Nos données variables sont le temps, variable à effet fixe ; et les chevaux, variable à effet aléatoire.

Un test de Student non apparié bilatéral a été utilisé pour analyser la variance et établir un effet du traitement.

Les hypothèses utilisées ont été les suivantes :

- H0 : $m_0 - m_1 = 0$, où m_0 est la moyenne sur l'œil témoin et m_1 la moyenne de l'œil traité
- H1 : $m_0 - m_1 \neq 0$

Les paramètres utilisés pour calculer la valeur de p (*p-value*) sont le degré de liberté de la variance résiduelle et la valeur pratique du test T :

$$T = \sqrt{n} \times \frac{|\bar{X}|}{S}$$

- X est la moyenne des différences des valeurs entre l'œil traité et l'œil controlatéral.
- S est l'écart type des différences des valeurs entre l'œil traité et l'œil controlatéral.
- n est le nombre de valeurs utilisées pour calculer la moyenne.

Nous avons décidé de rejeter l'hypothèse H0 si la probabilité que la différence entre les moyennes soit due au hasard était inférieure à 0.05, soit p inférieur à 0.05.

Interprétation des résultats :

- H0 validée correspondait à l'absence de preuve de l'effet du traitement,
- H0 rejetée avec une différence positive signifiait que le traitement avait un effet significatif faisant augmenter les valeurs du paramètre considéré,
- H0 rejetée avec une différence négative signifiait que le traitement avait un effet significatif en diminuant les valeurs de ce paramètre.

II- Résultats

A-Pression Intraoculaire (PIO)

Nous nous sommes d'abord intéressés à la valeur de T0, première mesure de la journée sur chaque cheval avant traitement. La valeur moyenne de la PIO pour l'œil témoin au temps T0 était de 23 ± 4 mmHg ; et pour l'œil traité de 24 ± 4 mmHg (figure 10). Nous avons remarqué que la différence de PIO entre les 2 yeux pour un même cheval différait de 0 à 3 mmHg.

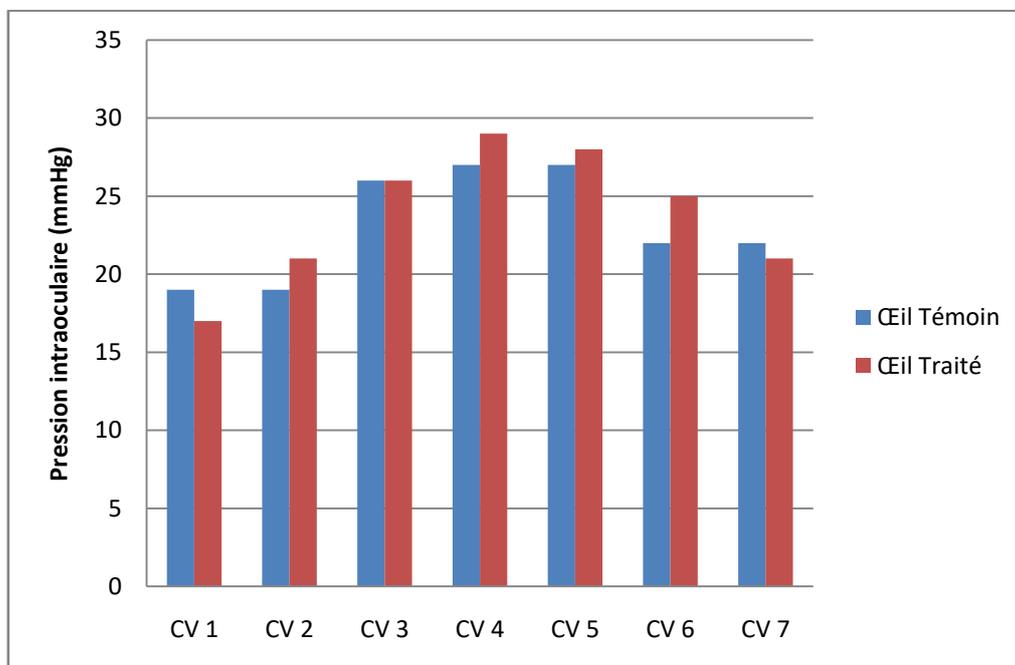


Figure 10 : PIO de l'œil témoin et de l'œil traité pour chaque cheval à l'instant T0, soit avant l'administration de timolol 0.5%

La 2^{ème} valeur de la journée (T1) a été effectuée 30 min après l'instillation de timolol sur un œil tiré au sort. On remarque une tendance à la baisse de la PIO pour cet œil par rapport à l'œil controlatéral et aussi par rapport à sa valeur d'origine T0 (Figure 11 : PIO de l'œil témoin et de l'œil traité pour chaque cheval à l'instant T1, soit 30 minutes après l'administration de timolol 0.5%).

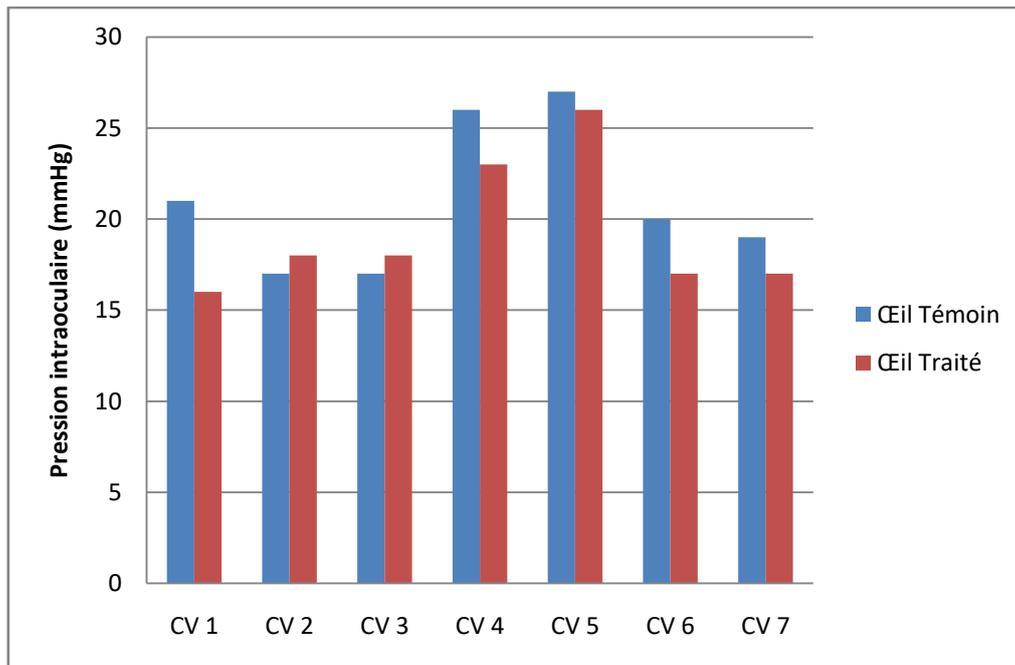


Figure 11 : PIO de l'œil témoin et de l'œil traité pour chaque cheval à l'instant T1, soit 30 minutes après l'administration de timolol 0.5%

Ce phénomène se maintient dans le temps et évolue progressivement vers avec un retour à des PIO similaires sur chaque œil entre T4 et T7, soit entre 3h à 6h après l'administration de timolol. On observe une seconde baisse de la PIO entre T7 et T9, encore plus marquée par rapport à l'œil controlatéral avec une diminution moyenne de 3 ± 1 mmHg (figure 12)).

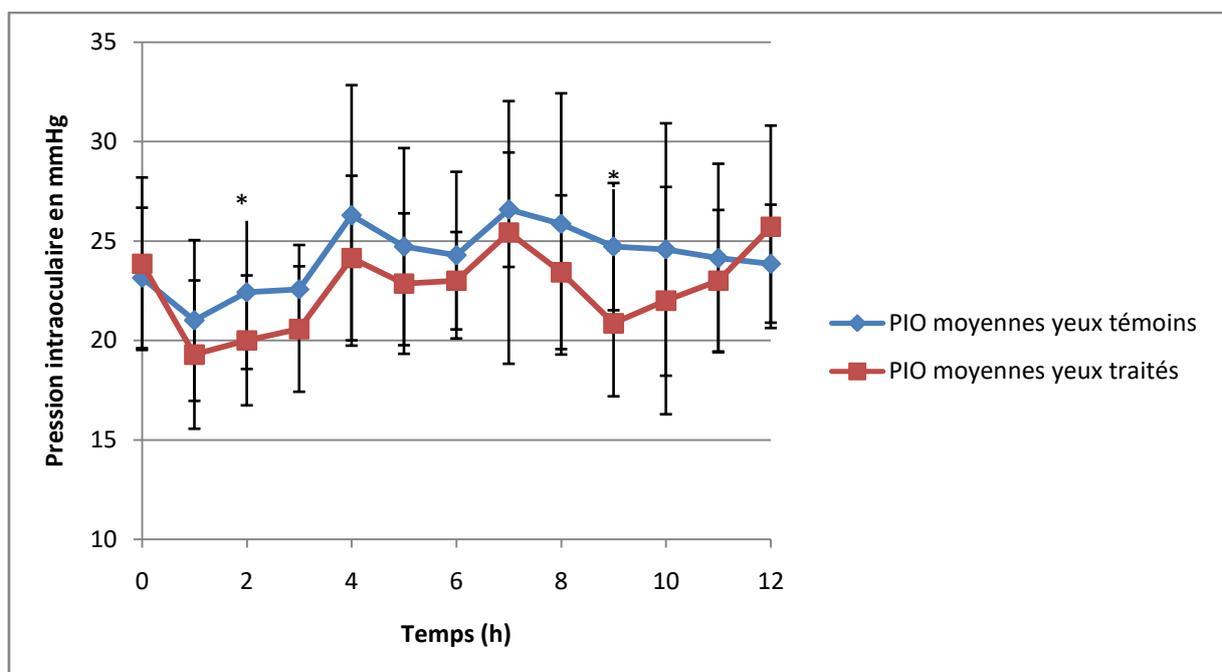


Figure 12 : Moyennes de la PIO de l'œil traité avec du timolol 0.5% et de l'œil controlatéral en fonction du temps (* $P < 0,05$)

Nous avons montré une différence significative ($p = 0.041$) entre les moyennes de PIO de l'œil traité par rapport à l'œil témoin en fonction du temps. La PIO de l'œil traité était systématiquement inférieure à celle de l'œil témoin entre T1 et T7. Seul un sujet (CV 2) n'a pas du tout répondu au traitement et est resté à des valeurs similaires entre chaque œil tout le long de l'expérience.

L'effet le plus intense semble être obtenu entre T7 et T9, soit entre 6h et 8h après l'instillation du traitement, avec une baisse moyenne de 3 ± 1 mmHg par rapport à l'œil témoin. On remarque également une diminution de la PIO notable mais moins marquée (2 mmHg) entre T1 et T3, soit entre 30 min et 1h30 après l'administration timolol.

B- Diamètre pupillaire

Nous avons cherché à déterminer si une administration unique de timolol maléate formant un gel *in-situ* pouvait modifier le diamètre pupillaire comme montré chez d'autres espèces comme le chat (Dupuy 2017).

Nous avons sélectionné 3 paramètres : le diamètre vertical (Figure 13 : *Moyennes du diamètre vertical de l'œil traité avec du timolol 0.5% et de l'œil controlatéral en fonction du temps*), le diamètre horizontal (Figure 14 : *Moyennes du diamètre horizontal de l'œil traité avec du timolol 0.5% et de l'œil controlatéral en fonction du temps*) et la surface pupillaire totale (Figure 15 : *Moyennes de la surface pupillaire totale de l'œil traité avec du timolol 0.5% et de l'œil controlatéral en fonction du temps*). Les mesures faites avec le logiciel ImageJ® ont permis de suivre l'évolution de ces paramètres de T0 à T12 pour chacun des 2 yeux dans le but de comparer l'œil traité par rapport à l'œil controlatéral.

Nous avons remarqué que le traitement n'a pas eu d'effet statistiquement significatif sur le diamètre pupillaire vertical ($p = 0.06$), le diamètre pupillaire horizontal ($p = 0.54$) ni sur la surface pupillaire totale ($p = 0.08$).

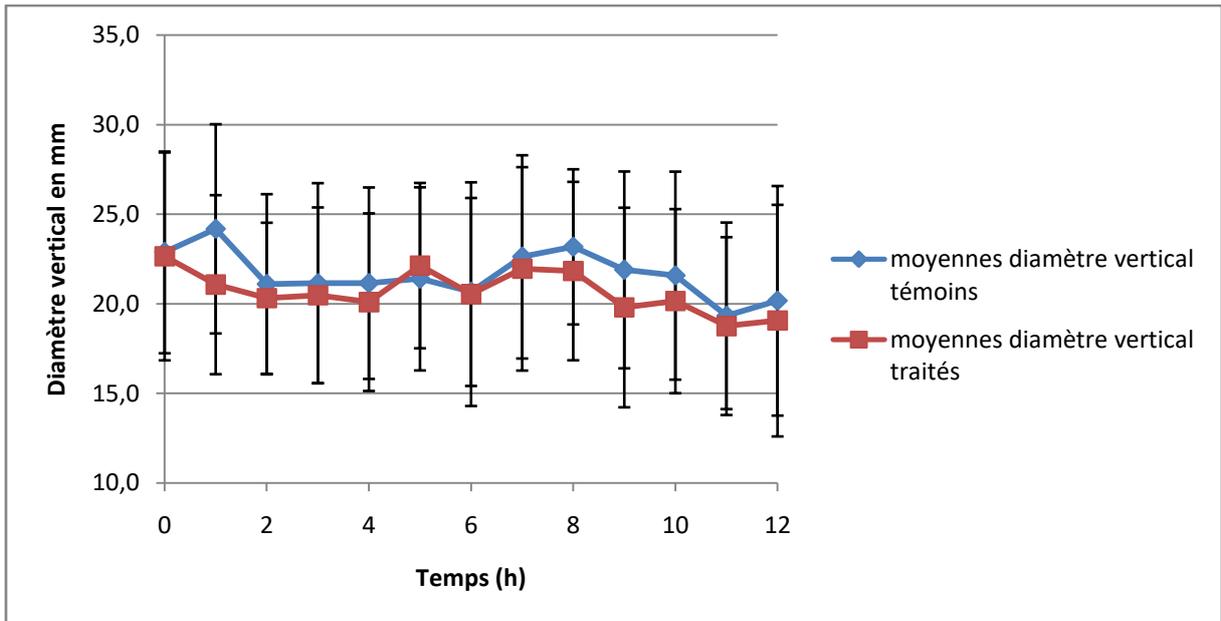


Figure 13 : Moyennes du diamètre vertical de l'œil traité avec du timolol 0.5% et de l'œil controlatéral en fonction du temps

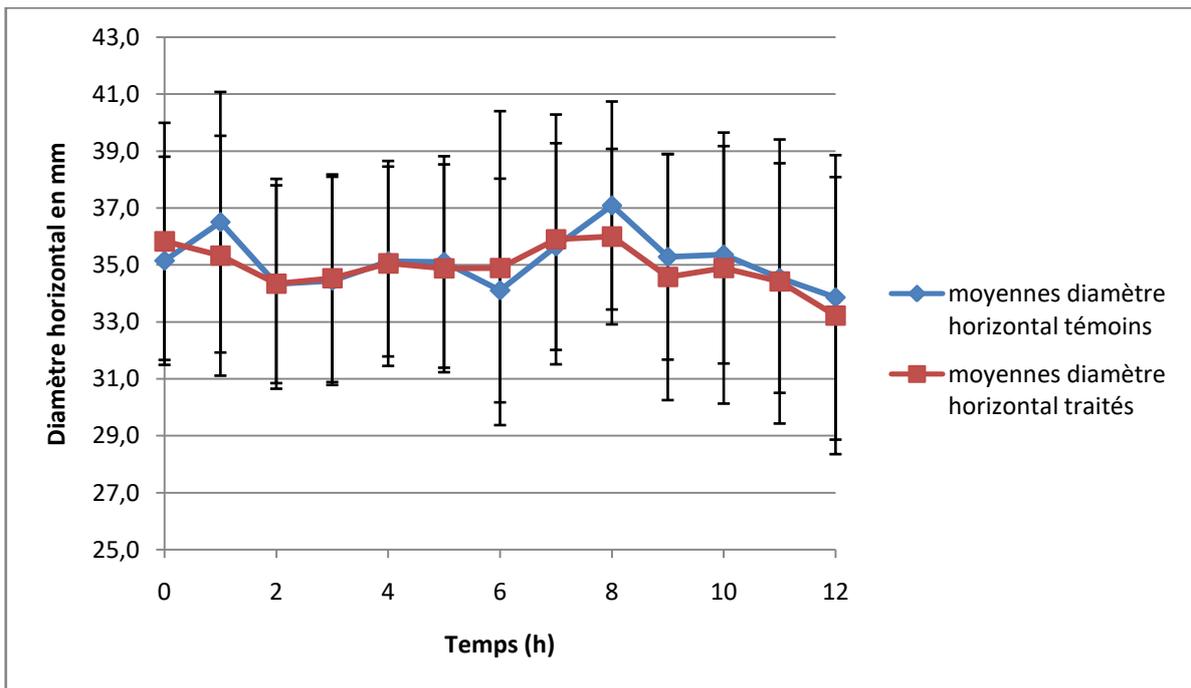


Figure 14 : Moyennes du diamètre horizontal de l'œil traité avec du timolol 0.5% et de l'œil controlatéral en fonction du temps

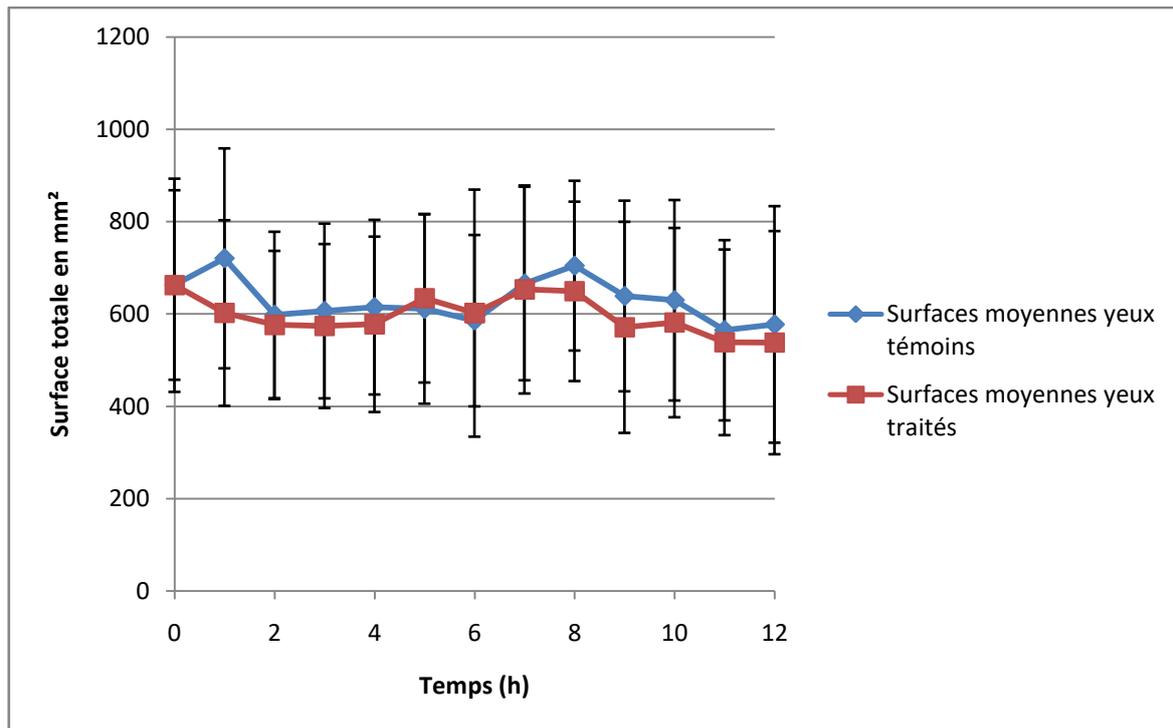


Figure 15 : Moyennes de la surface pupillaire totale de l'œil traité avec du timolol 0.5% et de l'œil controlatéral en fonction du temps

On remarque cependant une tendance à l'abaissement de la courbe concernant l'œil traité commune à ces 3 paramètres sur la valeur T1, soit 30 minutes après l'administration de timolol, avec une diminution moyenne de 3 mm pour le diamètre vertical ; 1.5 mm pour le diamètre horizontal et 120 mm² pour la surface totale.

C-Fréquence cardiaque

L'instillation de timolol n'a pas eu d'effet statistiquement significatif ($p = 0.80$) sur la variation de la fréquence cardiaque (Figure 16 : Moyennes de la fréquence cardiaque en fonction du temps. T0 correspond à la valeur avant traitement local oculaire unique au timolol 0.5%). De même, il ne se dégage aucune tendance allant vers une diminution ou une augmentation de la fréquence cardiaque ; celle-ci a varié de façon aléatoire et aucun cheval ne s'est démarqué au cours de l'étude.

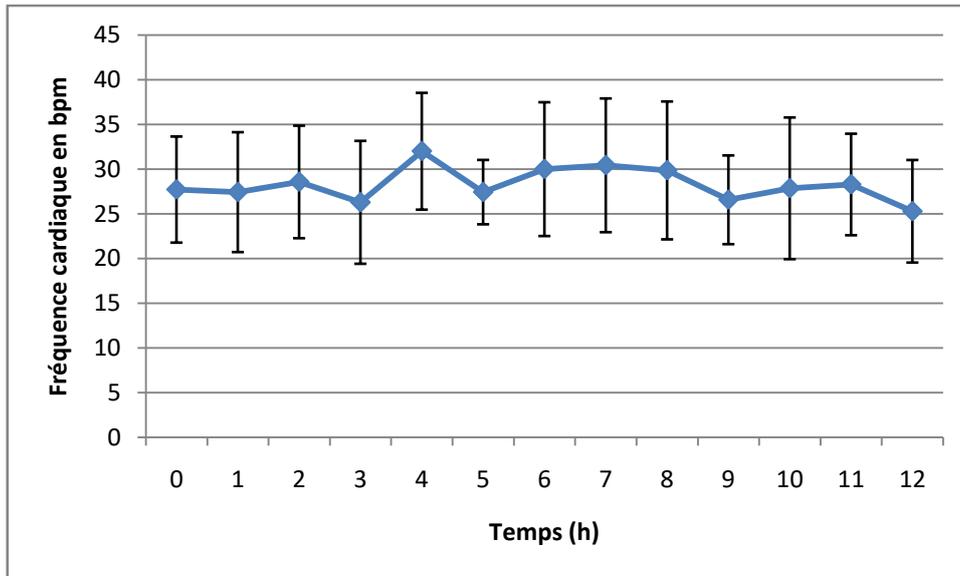


Figure 16 : Moyennes de la fréquence cardiaque en fonction du temps. T0 correspond à la valeur avant traitement local oculaire unique au timolol 0.5%

III- Discussion

1- Effet sur la PIO

Nous avons montré qu'une administration unique de timolol maléate 0.5% à libération prolongée diminue la PIO chez le cheval. Cet effet n'est pas égal selon les sujets et varie de 1 à 6 mmHg avec une moyenne de réduction de la PIO de 2 mmHg.

Un autre facteur étudié ici est la cinétique du timolol sur l'œil du cheval. Nous avons remarqué que la PIO diminuait initialement entre 30 min et 1h30 après administration par rapport à l'œil controlatéral. Une seconde diminution, cette fois plus importante, se produit aux alentours de 8h post-administration. Cet effet avait été remarqué sur l'étude de Van der Woerdt (2000) mais la baisse initiale de PIO juste après administration n'avait pas été notée. Cette seconde diminution de la PIO apparaît moins marquée que la première mais nous pouvons la mettre en relation avec l'existence d'un rythme circadien de la PIO chez le cheval. En effet, il n'avait tout d'abord pas été mis en évidence de rythme circadien influençant la PIO (Van der Woerdt 1998). Plus récemment une étude sur 24h a montré l'inverse en mettant en évidence un rythme circadien jour/nuit avec une augmentation progressive de la PIO du matin jusqu'à atteindre un pic en fin d'après-midi pour ensuite diminuer durant la nuit (Bertolucci 2009). Notre étude se déroulait pendant la journée uniquement sur une période de 12h avec une heure de début et de fin de protocole fixent permettant ainsi de limiter le biais entre les chevaux. Grâce à cela, nous pouvions prévoir que la PIO de chaque cheval allait relativement augmenter de manière progressive sur notre période de mesures. On remarque effectivement une augmentation progressive de la PIO moyenne le long de la journée, aussi bien pour l'œil traité que pour l'œil controlatéral ; l'œil traité restant à des valeurs de PIO inférieures à celle de l'œil controlatéral.

Ces résultats suggèrent que le pic d'efficacité se situerait donc entre 7h et 10h après l'instillation du traitement. Sur la dernière mesure nous avons commencé à voir un retour à des valeurs de PIO similaires entre les deux yeux.

Il a été montré que l'administration de timolol 0.5% collyre en solution une fois par jour permettait d'obtenir une diminution de la PIO de 17% en moyenne chez le cheval sain

(Van der Woerdt 2000). L'efficacité de cette molécule sur la PIO semble être modérée, néanmoins cette étude portait sur le cheval sain et il n'existe aucune donnée sur le cheval glaucomateux. La sensibilité du cheval à l'action du timolol pourrait être bien plus significative sur un sujet glaucomateux (Von Zup 2017), cela a été montré chez le chat (Kiland 2016, Nihms 2016), et le chien (Plummer 2006 ; Stroesberg 1986 ; Padua 2016)

Le timolol est souvent associé à d'autres classes d'anti-glaucomateux dans le but de créer une synergie efficace pour réduire la PIO. Il existe des formulations contenant du timolol et un IAC comme le dorzolamide (Cosopt®, MSD) ou le brinzolamide (Azarga®, Alcon). L'association timolol et dorzolamide administrée 2 fois par jour a montré son efficacité chez le chien glaucomateux avec une diminution de la PIO moyenne de 8.42 ± 0.58 mmHg (Plummer 2006). Chez le cheval, l'association timolol et dorzolamide semble avoir un intérêt lorsqu'il est administré 2 fois par jour plutôt qu'une fois par jour bien que la réduction de la PIO reste modérée avec une valeur moyenne à 2 mmHg (Willis 2001).

Nous pouvons donc avancer que les β -bloquants restent le traitement de choix contre le glaucome équin. Une association avec un IAC est possible mais les résultats ne sont pas en faveur d'une réelle synergie. Les analogues des prostaglandines et les α_2 -agonistes n'ont que peu d'effets sur la PIO et sont moins bien tolérés.

En terme de galénique et de biodisponibilité, le timolol ophtalmique se présente principalement sous 2 formes : en collyre solution ou en collyre solution formant un gel *in-situ*. L'utilisation de la formulation en gel présente certains avantages intéressants notamment grâce à une rémanence plus longue due à sa viscosité permettant de ralentir le renouvellement des larmes et donc l'absorption systémiques du principe actif (Abdelkader 2012), augmentant ainsi sa biodisponibilité oculaire. Cela permet d'alléger le rythme d'administration du traitement en l'appliquant une seule fois par jour au lieu de deux (Dickstein 1996, Roselund 1996).

La forme en gel semble également entraîner moins d'effets secondaires que la forme en solution. En effet les β -bloquants peuvent entraîner des troubles cardio-vasculaires et respiratoires, et leur absorption systémique lors d'utilisation de collyre n'est pas négligeable (Korte 2002). Une étude chez l'homme a montré que les concentrations plasmatiques du timolol 0.5% en gel appliqué une fois par jour étaient inférieures aux concentrations

plasmatiques retrouvées après 2 administrations par jour de timolol 0.5% en solution (Dickstein 1996). Chez le chat, l'utilisation de la forme en gel ne permet pas une diminution significative de la PIO chez le chat sain (Dupuy 2017) ni sur le chat glaucomateux (Kiland 2016). Cependant, d'autres auteurs remarquent une diminution de la PIO en moyenne de 22% en utilisant la forme collyre en solution ainsi qu'une diminution de la PIO sur l'œil controlatéral de 16% (Wilkie 1991).

D'autres formulations ont été testées chez le cheval, notamment l'association dorzolamide 2% - Timolol 0.5% sous forme de pommade ophtalmique (Tofflemire 2014). Dans cette étude, il n'a pas été montré d'efficacité supplémentaire et d'action prolongée de la forme pommade par rapport à la forme solution, les deux diminuant la PIO moyenne de 13%. En revanche, elle a l'avantage d'offrir plus de simplicité d'application pour les propriétaires. Une forme en pommade aurait pu sembler plus proche de la forme en gel que de la solution, or cette étude montre une pharmacocinétique de la forme pommade proche de la forme solution. On pourrait émettre l'hypothèse que l'effet prolongé obtenu avec une forme en gel tiendrait donc plus des interactions biochimiques de la gomme gellane avec le film lacrymal que de sa « consistance ».

2- Effet sur le diamètre pupillaire

Nous n'avons pas mis en évidence d'effet significatif sur le diamètre pupillaire du cheval, ces résultats sont en désaccords avec l'étude de Van der Woerd (2000), où le diamètre pupillaire horizontal a diminué en moyenne de 11% et le diamètre vertical de 27% au bout de 6h post traitement pour une instillation unique de timolol maléate. Le même effet myotique est remarqué en cas d'administrations répétées de timolol. Une autre étude (Von Zup 2017) tend à montrer que le timolol et l'association brimonidine-timolol n'a pas d'effet significatif sur le diamètre pupillaire vertical mais que celle-ci est significativement augmentée durant la phase de repos entre deux phases de traitement avec une augmentation d'environ 6.6 mm par rapport au contrôle et augmentée aussi à la mesure de 7h en comparaison à la mesure de 19h. Les résultats sur le cheval varient d'une étude à l'autre et il est difficile de conclure sur un possible effet myotique. Le mécanisme neuromusculaire précis du myosis chez le cheval n'est d'ailleurs pas encore complètement connu (Van der Woerd 2000). De plus à l'inverse de l'homme, le chat et le chien, il n'a pas été mis en évidence à ce jour de variations circadiennes du diamètre pupillaire chez le cheval (Van der Woerd 2000,

Maggs 2013). Notre méthode de mesure, via un surfaçage sur photographies, a l'avantage d'être plus précise qu'une mesure avec une règle à la condition d'être parfaitement standardisée. En effet, une fois la photographie étalonnée correctement, les résultats sont donnés au millimètre près grâce à un logiciel permettant d'établir des mesures tracées et calculées directement (logiciel ImageJ® ici). Cela permet d'exclure les biais via les mouvements des chevaux et l'interprétation subjective de l'opérateur.

En revanche, contrairement à l'étude de Van der Woerdt, nous n'avons pas utilisé d'éclairage fixe dans les box et étions dépendant de la lumière du jour. La luminosité pouvant être variable au cours de la journée, cela pourrait entraîner un biais lors des mesures.

Chez le chat sain, l'application de timolol en gel entraîne un myosis marqué avec une réduction du diamètre pupillaire de 26% en moyenne pour une application oculaire unique mais n'entraîne pas d'effet sur l'œil controlatéral (Dupuy 2017 ; Kiland 2016). L'effet myotique du timolol est un phénomène péjoratif en cas de glaucome secondaire à une uvéite, comme très souvent chez le cheval, car il pourrait entraîner la formation de synéchies.

Chez le chien, Wilkie (1991) a pu mettre en évidence un effet myotique du timolol en solution à 0,5% sur l'œil controlatéral, avec une diminution moyenne du diamètre pupillaire de 14%, alors que d'autres auteurs n'ont pas noté d'effet sur l'œil opposé (Plummer 2006), ou encore n'ont pas identifié un myosis significatif sur l'œil traité (Smith 2010).

3- Effet sur la fréquence cardiaque

Notre étude n'a pas montré d'influence du timolol maléate 0.5% ophtalmique longue action sur la fréquence cardiaque du cheval sain. Une seule instillation de timolol 0.5% à libération prolongée chez le cheval n'est pas suffisante pour induire une modification de la fréquence cardiaque. Il n'y a pas d'autre étude dans laquelle ce paramètre ait été pris en compte chez le cheval.

Le timolol appliqué localement par voie oculaire possède cependant une bonne absorption systémique, entraînant les mêmes effets bradycardisant qu'une injection intraveineuse chez l'homme (Korte 2002, Niemenen 2007). Cet effet semble même être amplifié lors de l'utilisation de la forme en solution plutôt qu'en gel *in-situ* (Dickstein 1996).

Chez le chat, les résultats ne sont pas tous en accord : dans l'étude de Ribeiro (2008), les chats traités avec une instillation de timolol 0.5% en solution ont montré une baisse

significative de leur fréquence cardiaque de 17 bpm en moyenne et l'étude sur le chat de Gunther-Harrington (2016) montre un effet sur la fréquence cardiaque encore plus marquée avec une réduction moyenne de 25 bpm, et une augmentation du temps diastolique et propose une solution intéressante pour faciliter les examens échocardiographiques chez le chat grâce à cette propriété du timolol ophtalmique en solution. Pour la forme en gel *in situ*, l'étude de Dupuy (2017) est semblable aux résultats obtenus avec du timolol en solution, avec une diminution de la fréquence cardiaque de 17 bpm en moyenne. A l'inverse, l'étude de Kiland (2016) sur des chats sains et glaucomateux ne montre aucune différence sur la fréquence cardiaque.

Chez les chiens, en revanche, les études se rejoignent pour démontrer un effet bradycardisant du timolol solution et en gel *in-situ* (Smith 2010, Plummer 2006).

On peut émettre l'hypothèse que la formulation à 0.5% n'entraîne pas une concentration plasmatique chez le cheval suffisante pour voir apparaître des modifications cardio-vasculaires ou encore que son métabolisme d'élimination chez le cheval est plus rapide que chez les autres espèces.

Les autres effets secondaires attendus par le passage systémique du timolol sont des bronchospasmes par fixation sur les récepteurs β_2 -adrénergiques des poumons, mais cet effet n'a pas été remarqué chez l'homme (Korte 2002).

4- Limites de l'étude

Tout d'abord, cette étude présente des limites quant au faible effectif pour la réaliser. Nous avons sélectionnés 8 chevaux pour l'expérimentation mais un fut exclu car il présentait un ulcère cornéen sur l'œil gauche. L'idéal aurait été d'avoir un effectif plus grand qui aurait pu permettre d'avoir des résultats plus précis voir significatifs sur les paramètres du diamètre pupillaire et sur la fréquence cardiaque. Sur la base des résultats de ce travail préliminaire, une étude sur un effectif plus conséquent devrait être programmée.

Nous avons choisi de travailler sur des chevaux sains. Il n'existe actuellement aucune étude sur les chevaux glaucomateux. L'intérêt du timolol ophtalmique étant avant tout d'intervenir dans le traitement du glaucome, il pourrait être intéressant d'avoir des données sur son efficacité sur le cheval glaucomateux. La principale contrainte pour la réalisation

d'une telle étude est de rassembler suffisamment de chevaux atteints de glaucome. En effet, la prévalence du glaucome équin est estimée entre 0.07% et 0.11%, cela reste donc une pathologie rare et ce sont majoritairement des chevaux de propriétaires donc difficilement recrutables pour des essais cliniques. Sur le plan éthique, il n'est pas envisageable d'intégrer dans une étude des chevaux atteints de glaucome en attentes de soins pour tester une nouvelle formulation et de laisser un œil non traité comme témoin. De plus, le glaucome équin est souvent secondaire à une uvéite antérieure et la prise en charge thérapeutique commence généralement avant une complication en glaucome.

Le protocole expérimental était limité sur une période de 12h après une seule application journalière de timolol maléate LP. Il sera intéressant dans une étude ultérieure, d'évaluer les mêmes paramètres mais sur plusieurs jours de traitement, toujours à la fréquence d'une application quotidienne. Cela permettra de constater si l'effet du timolol en gel sur la PIO se cumule avec le nombre de jours de traitement ou l'apparition éventuelle d'effets systémiques par un traitement prolongé chez le cheval.

Selon nos résultats, l'utilisation de timolol chez le cheval n'entraîne pas de modification du diamètre pupillaire. Cela impliquerait une sécurité supplémentaire en limitant l'effet myotique observé chez d'autres espèces comme le chat (Dupuy 2017), mais avec un faible effectif sans résultat significatif nous ne pouvons pas conclure sur ce paramètre.

En ce qui concerne l'évaluation du diamètre pupillaire, notre méthode de mesure est plus précise car elle élimine les erreurs d'interprétations, néanmoins nous n'avons pas pris en compte l'éclairage ambiant. En effet, les box étaient munis de fenêtres et donc n'étaient pas éclairé exactement de la même manière selon l'heure de la journée. Pour pallier à ce biais, l'éclairage intérieur du bâtiment où s'effectuaient les mesures étaient systématiquement allumées pour permettre un éclairage ambiant constant. L'idéal aurait été d'avoir un éclairage fixe sans fenêtre pour interpréter une différence dans le diamètre pupillaire.

Conclusion

Cette étude a montré qu'une instillation unique de timolol maléate LP 0.5% formant un gel *in-situ* entraînait une baisse de la pression intraoculaire chez le cheval sain. Cette baisse reste néanmoins modérée avec une moyenne de 2 mmHg. La PIO de l'œil traité reste inférieure à celle de l'œil controlatéral jusqu'à 10h après l'instillation du timolol.

Dans notre étude, le timolol n'entraîne pas d'effet significatif sur le diamètre pupillaire du cheval.

Les effets secondaires cardio-vasculaires n'ont pas été démontrés dans cette étude, on peut donc penser que le timolol 0.5% par voie ophtalmique n'a pas de répercussions systémiques chez le cheval.

Le timolol est donc une molécule sûre d'emploi dans le traitement du glaucome équin bien que son influence sur le diamètre pupillaire reste à être confirmée. Cependant son efficacité reste très modérée et son utilisation en topique seul est discutable.

Le but principal du traitement contre le glaucome est de réduire la production de l'humeur aqueuse et/ou d'augmenter son élimination. Le timolol permet de réduire la production de l'humeur aqueuse chez le cheval et l'associer à un anti-glaucomeux augmentant l'élimination de l'humeur aqueuse pourrait s'avérer être bénéfique. Il serait intéressant d'avoir une meilleure connaissance sur les mécanismes biochimiques régulant l'élimination ou la production de l'humeur aqueuse chez le cheval pour compléter le traitement avec une famille de molécules plus adaptée à la physiologie oculaire de cette espèce.

AGREMENT SCIENTIFIQUE
En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire

Je soussigné, **Jean-Yves DOUET**, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **Eddy LUCAS** intitulée « Effets d'une instillation unique de Timolol Maléate 0,5% à libération prolongée sur la pression intraoculaire, le diamètre pupillaire et la fréquence cardiaque chez le cheval sain » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

Fait à Toulouse, le novembre 2018
Docteur **Jean-Yves DOUET**
Enseignant chercheur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



Vu :
La Directrice de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Isabelle CHMITELIN



Vu :
Le Président du jury :
Professeur **Pierre FOURNIE**



Vu et autorisation de l'impression :
Président de l'Université
Paul Sabatier
Monsieur **Jean-Pierre VINEL**

Le Président de l'Université Paul Sabatier
par délégation,
La Vice-Présidente de la CFVU



Régine **ANDRIEU-OBRECHT**

M. Eddy LUCAS
a été admis(e) sur concours en : 2013
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 04/07/2017
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

Bibliographie

ABDELKADER H, ALANY R (2012). Controlled and continuous release ocular drug delivery systems : pros and cons. *Current Drug Delivery*, 9, 421-430.

ANNEAR, M.J., GEMENSKY-METZLER, A.J., WILKIE, D.A. (2012). Uveitic glaucoma in the horse. *Equine Vet Educ*. 24: 97–105.

BALDWIN JJ, PONTICELLO GS, ANDERSON PS, ET AL. Thienothiopyran-2-sulfonamides: novel topically active carbonic anhydrase inhibitors for the treatment of glaucoma. *J Med Chem* 1989;32:2510–2513.

BERTOLUCCI C, GIUDICE E, FAZIO F, PICCIONE G (2009), Circadian Intraocular Pressure Rhythms In Athletic Horses Under Different Lighting Regime, *Chronobiology International*, 26(2): 348–358

BONNIN N, NEZZAR H, DUBRAY C, RENAULT D, OLMIERE C, CHIAMBARETTA F (2012). Plasma levels and systemic safety of 0.1% unpreserved timolol maleate gel, 0.5% timolol aqueous solution and 0.5% timolol maleate gel. *Journal Français d’Ophtalmologie*, 35, 9-16.

BROOKS D (2005), Hypertensive Iridocyclitis and Glaucoma of Horses, *Clin Tech Equine Pract* 4:72-80 © 2005 Elsevier Inc. All rights reserved.

COAKES R, BRUBAKER R (1978). The mechanism of timolol in lowering intraocular pressure in the normal eye. *Archives of ophthalmology*, 96, 2045-2048.

DAVIDSON H, PINARD C, KEIL S (2002). Effect of topical ophthalmic latanoprost on intraocular pressure in normal horses. *Veterinary Therapeutics* 2002;3:72-80.

DECOMBAS C (2012), *Particularités évolutives des uvéites chez le cheval de race Appaloosa*, Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire, Ophtalmologie, VetAgro Sup, 163 pages. Lien : www2.vetagro-sup.fr/bib/fondoc/th_sout/dl.php?file=2012lyon020.pdf

DICKSTEIN K, AARSLAND T (1996). Comparison of the effects of aqueous and gellan ophthalmic timolol on peak exercise performance in middle-aged men. *American journal of*

ophthalmology, 121, 367-371.

DUPUY O (2017), *Effets De L'instillation Oculaire Unique Et Répétée D'un Collyre Gélifié In Situ De Timolol 0.5% Sur L'ouverture Pupillaire, La Pression Intraoculaire Et La Fréquence Cardiaque Chez Le Chat Sain*, Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire, Ophthalmologie, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 65 pages.

ENNA SJ AND BYLUND D, *xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference*- ISBN: 978-0-08-055232-3, last update, February 2011

GELATT K, MACKAY E. (2001) Effect of different dose schedules of latanoprost on intraocular pressure and pupil size in the glaucomatous Beagle. *Veterinary Ophthalmology* 2001;4:283-288.

GERMANN S E, F. L. MATHEIS, A. RAMPAZZO, D. BURGER, M. ROOS and B. M. SPIESS (2008), Effects of topical administration of 1% brinzolamide on intraocular pressure in clinically normal horses, *Equine Veterinary Journal Equine Vet. J.* **40** (7) 662-665

GUNTHER-HARRINGTON C, ONTIVEROS E, HODGE T, VISSER L, STERN J (2016). Effects of 0.5% timolol maleate ophthalmic solution on heart rate and selected echocardiographic indices in apparently healthy cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 30, 733-740.

KILAND J, VOSS A, MCLELLAN G (2016). Effect of timolol maleate gel-forming solution on intraocular pressure, pupil diameter, and heart rate in normal and glaucomatous cats. *Veterinary Ophthalmology*, 19, 91-96.

KNOLLINGER, A.M., LA CROIX, N.C., BARRETT, P.M., MILLER, P.E. (2005). Evaluation of a rebound tonometer for measuring intraocular pressure in dogs and horses. *Am J Vet Res.* 227: 244-248.

KOMAROMY, A.M., GARG, C.D., YING, G.S., LIU, C. (2006). Effect of head position on intraocular pressure in horses. *Am J Vet Res.* 67: 1232-1235.

KORTE J, KAILA T, SAARI M (2002). Systemic bioavailability and cardiopulmonary effects of 0.5% timolol eyedrops. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 240, 430-435.

KROLL M, MILLER P, RODAN I (2001). Intraocular pressure measurements obtained as part of a comprehensive geriatric health examination from cats seven years of age or older.

Journal of the American Veterinary Medical Association, **219**, 1406-1410.

KUMAR S, PANNU B, SAWHNEY R, JAIN R, SOOD S (2002). Comparative efficacy of gel-forming and ophthalmic solutions of 0.5% timolol in open-angle glaucoma. *Annals of ophthalmology*, 34, 211-214.

MAGGS DJ, MILLER PE, OFRI R (2013). *Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology*, Fifth Edition, Elsevier, ISBN 978-1437723670.

MAREN TH. (1967) Carbonic anhydrase: chemistry, physiology, and inhibition. *Physiol Rev* 1967;47:595–781.

MCLAUGHLIN C, PEART D, PURVES R, CARRÉ D, PETERSON-YANTORNO Kim, MITCHELL Claire, MACKNIGHT A, CIVAN M (2001). Timolol may inhibit aqueous humor secretion by cAMP-independent action on ciliary epithelial cells. *American Journal of Physiology*, 281, 865-875

MICHAU T.M (2017), Equine Glaucoma, *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, Volume 33, Issue 3, December 2017, Pages 519-540

MILLER, T.R., BROOKS, D.E., GELATT, K.N., KING, T.C., SMITH, P.J., SAPIENZA, J.S., PELLICANE, C.P. (1995). Equine glaucoma: clinical findings and response to treatment in 14 horses. *VetCompOphthalmol.*5: 170–182.

MUGHANNAM A, BUYUKMIHCI N, KASS P (1999), Effect of topical atropine on intraocular pressure and pupil diameter in the normal horse eye, *International Journal of Pharmaceutics* 411 (2011) 69–77

NAITO A, IZUMI H, KARITA K, TAMAI M (2001). Effects of a beta-adrenergic blocking agent timolol on intraocular pressure responses induced by stimulation of 54 cervical sympathetic nerve in the cat. *Tohoku Journal of Experimental Medicine*, **195**, 219-225.

NATHANSON J (1980). Adrenergic regulation of intraocular pressure: identification of beta 2-adrenergic-stimulated adenylate cyclase in ciliary process epithelium. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 77, 7420-7424.

NIEMINEN T, LEHTIMAKI T, MAENPAA J, ROPO A, UUSITALO H. & KAHONEN M (2007), Ophthalmic timolol: Plasma concentration and systemic cardiopulmonary effects,

Review Of A Scandinavian Thesis, Scand J Clin Lab Invest 2007; 67: 237–245

PADUA I.R.M (2016), Effects of timolol maleate, levobunolol and apraclonidine on intraocular pressure, pupil size, blood pressure and heart rate in beagles, Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.68, n.3, p.641-650, 2016

PICKETT, J.P. & RYAN, J. (1993). Equine glaucoma: a retrospective study of 11 cases from 1988 to 1993. *Vet Med.* 88: 756–763.

PLUMMER C, MACKAY E, GELATT K (2006). Comparison of the effects of topical administration of a fixed combination of dorzolamide–timolol to monotherapy with timolol or dorzolamide on IOP, pupil size, and heart rate in glaucomatous dogs. *Veterinary ophthalmology*, 9, 245-249.

REGNIER A (2012), Le glaucome chez le cheval, Bull. Acad. Vét. France — 2013 - Tome 166 - N°1, p33-39 <http://www.academie-veterinaire-defrance.org/>

RIBEIRO A, JUNIOR D, CHAMPION T, BRUNETTO M, CAMACHO A, LAUS J (2008). Effects of topical levobunolol or fixed combination of dorzolamide-timolol or association of dorzolamide-levobunolol on intraocular pressure, pupil size, and heart rate in healthy cats. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 60, 1045-1052.

ROSENLUND E (1996). The intraocular pressure lowering effect of timolol in gel-forming solution. *Acta Ophthalmologica*, 74, 160-162.

SAMUELSON D, SMITH P, BROOKS D. (1989) Morphologic features of the aqueous humor drainage pathways in horses. *Am J Vet Res* ;50:720–727

SEDACCA, K., SAMUELSON, D., LEWIS, P. (2012). Examination of the anterior uveoscleral pathway in domestic animals. *Vet Ophthalmol.* 15, suppl. 1: 1–7.

SHEDDEN A, LAURENCE J, TIPPING R (2001). Efficacy and tolerability of timolol maleate ophthalmic gel-forming solution versus timolol ophthalmic solution in adults with open-angle glaucoma or ocular hypertension: a six-month, double-masked, multicenter study. *Clinical Therapeutics* ; 23: 440–450

SHELL JW. (1982). Pharmacokinetics of topically applied ophthalmic drugs. *Surv Ophthalmol* 1982;26:207–18.

SMITH L, MILLER P, FELCHLE L (2010). Effects of topical administration of latanoprost, timolol, or a combination of latanoprost and timolol on intraocular pressure, pupil size, and heart rate in clinically normal dogs. *American journal of veterinary research*, 71, 1055-1061.

SPAETH G, BERNSTEIN P, CAPRIOLI J, AND SCHIFFMAN R (2011), Control of Intraocular Pressure and Fluctuation With Fixed-Combination Brimonidine–Timolol Versus Brimonidine or Timolol Monotherapy, *American Journal Of Ophthalmology* January 2011, Vol. 151, No. 1

TAKIYAMA N, SHOJI S, HABATA I, OHBA S (2006). The effects of timolol maleate gel forming solution on normotensive beagle dogs. *Journal of Veterinary Medical Science*, 68, 631-633.

TOFFLEMIRE K, ELIZABETH M. WHITLEY, ALLISON M. FLINN, VALERIE L. DUFOUR, GIL BEN-SHLOMO, RACHEL A. ALLBAUGH, ANGELA N. GRIGGS, CHIMENE S. PETERSON AND DAVID R. WHITLEY (2014), Effect of topical ophthalmic dorzolamide(2%)–timolol(0.5%) solution and ointment on intraocular pressure in normal horses, *Veterinary Ophthalmology* 18, 6, 457–461

UTTER, M.E. & BROOKS, D.E. (2011). Glaucoma. In *Equine Ophthalmology 2nd edition* (ed. B.C. Gilger), pp.350–366. Elsevier Saunders, Maryland Heights.

VAN DER WOERDT A, GILGER BC, WILKIE DA, ET AL.(1995) Effect of auriculopalpebral nerve block and intravenous administration of xylazine on intraocular pressure and corneal thickness in horses. *Am J Vet Res* ;56:155–158.

VAN DER WOERDT A.GILGER B.C., ORCZECK S.M., STRAUCH S.M., WILKIE D.A., (2000), Effect of single and multiple dose 0,5% timolol maleate on intraocular pressure and pupil size in female horses. *American College of Veterinary Ophthalmologists, Veterinary Ophthalmology*, 3, 165-168

VAN DER WOERDT A, GILGER BC, WILKIE DA, STRAUCH SM, ORCZECK SM. (1998). Normal variation in, and effect of 2% pilocarpine on, intraocular pressure and pupil size in female horses. *Am. J. Vet. Res.* 59:1459–1462.

VENKATA C, RAM S, MD, (2010), Bêta-blockers in hypertension, *The American Journal of Cardiology* Volume 106, Issue 12, Pages 1819–1825

VOLOTIEN M, HAKKOLA J, PELKONEN O, VAPAATALO H AND (2011) Metabolism of Ophthalmic Timolol: New Aspects of an Old Drug, *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 108, 297–303

VON SPIESSEN L, KARCK J, ROHN K, MEYER-LINDENBERG A. (Clinical comparison of the TonoVet(®) rebound tonometer and the Tono-Pen Vet(®) applanation tonometer in dogs and cats with ocular disease: glaucoma or corneal pathology. *Veterinary Ophthalmology*. 2015 Jan;18(1):20-7.

VON ZUP M, LASSALINE M, KASS P-H, MILLER P-E, THOMASSY E-M (2017), *Effects of 0.2% brimonidine and 0.2% brimonidine–0.5% timolol on intraocular pressure and pupil size in normal equine eyes*, *Equine Veterinary Journal* 0 1-5 (2017)

WAAGSTEIN, HJALMARSON, VARNAUSKAS, WALLENTIN (1975) Effect of chronic beta-adrenergic receptor blockade in congestive cardiomyopathy, *British Heart Journal*, 1975, 37, I022-I036.

WILKIE D, GILGER G (2004), Equine Glaucoma, *Vet Clin Equine* 20 (2004) 381–391

WILKIE, D. (2010). Equine glaucoma: state of the art. *Equine Vet J. suppl.* 37: 62-68.

WILLIS, A.M., DIEHL, K.A., HOSHAW-WOODARD, S., KOBAYASHI, I., VITUCCI, M.P., SCHMALL, L.M. (2001). Effect of topical administration of 0.005% latanoprost solution on eyes of clinically normal horses. *Am J Vet Res.* 62: 1945- 1951.

WILLIS, A.M., ROBBIN, T.E., HOSHAW-WOODARD, S., WILKIE, D.A., SCHMALL, L.M. (2001). Effect of topical administration of 2% dorzolamide hydrochloride and 2% dorzolamide hydrochloride- 0.5% timolol maleate on intraocular pressure in clinically normal horses. *Am J Vet Res.* 62: 709-713.

XAVIER D. MARTIN, MD, PAUL A. RABINEAU, MD (1988), Intraocular Pressure Effects of Timolol after Unilateral Instillation, *Ophthalmology* 95: 1620-1623, 1988

ZIMMERMAN T, KAUFMAN H (1977). Timolol : a beta-adrenergic blocking agent for the treatment of glaucoma. *Archives of Ophthalmology*, 95, 601-604.

Toulouse, 2018

NOM : LUCAS PRENOM : EDDY

TITRE : Effets d'une instillation unique de Timolol Maléate 0,5% à libération prolongée sur la pression intraoculaire, le diamètre pupillaire et la fréquence cardiaque chez le cheval sain.

RESUME :

Le but de cette étude était d'évaluer les effets d'une instillation unique de timolol maléate 0.5% formant une gel *in-situ* sur la pression intraoculaire, le diamètre pupillaire et ses secondaires systémiques via la mesure de la fréquence cardiaque, sur une période de 12h.

Sept chevaux ont été sélectionnés. L'application de timolol s'est faite sur un seul œil pour chaque cheval, l'œil controlatéral servant de témoin. Treize mesures de pression intraoculaire ont été prises pour chaque cheval grâce à un tonomètre à rebond (Tonovet®), accompagné à chaque d'une prise de la fréquence cardiaque et d'une photographie pour chaque œil permettant de mesurer le diamètre pupillaire.

Le traitement a provoqué une baisse significative de la pression intraoculaire en moyenne de 2 mmHg pour l'œil traité. En revanche nous n'avons pas mis en évidence de modification sur le diamètre pupillaire ni de répercussion sur la fréquence cardiaque.

MOTS-CLES : Timolol, Pression intraoculaire, Diamètre pupillaire, Glaucome, Fréquence cardiaque, Cheval

TITLE: Effects of a single administration of timolol maleate 0.5% long acting on the intraocular pressure, pupil size and heart rate on the healthy horse.

ABSTRACT:

The purpose of this study was to assess the effects of a single administration of timolol maleate 0.5% gel forming solution on intraocular pressure, pupil size and adverse systemic effects on heart rate on healthy horses within a 12h period.

Seven horses were selected. Timolol was randomly applied on one eye for each horse, while the contralateral eye served as control. Intraocular pressure was monitored every hour with a rebound tonometer (Tonovet®) during 12 hours. Heart rate was measured and repeated picture of each eye were taken to measure the pupil size.

Treatment induced a significant reduction of the intraocular pressure with a mean of 2 mmHg for the treated eye. However, we didn't find any significant effect on pupil size or heart rate

KEY WORDS: Timolol, Intraocular pressure, Pupil size, Glaucoma, Heart rate, Horse