

SOMMAIRE

	Page
INTRODUCTION	11
PREMIERE PARTIE : RAPPELS	13
1 L'appareil lacrymal.	13
1.1 L'appareil lacrymal sécréteur.	13
1.1.1 La glande lacrymale principale.	13
1.1.2 La glande lacrymale nictitante.	14
1.1.3 Les autres glandes lacrymales.	15
1.2 L'appareil lacrymal évacuateur.	17
2 Le film lacrymal.	18
2.1 Les phases du film cornéen.	18
2.1.1 La phase lipidique.	19
2.1.2 La phase aqueuse.	19
2.1.3 La phase muqueuse.	21
2.2 Importance quantitative respective de la sécrétion des différentes glandes chez le chien.	22
2.3 Les rôles du film cornéen.	23
2.3.1 Rôle protecteur.	24
2.3.2 Rôle trophique.	25
2.3.3 Rôle optique.	26
2.4 Physiologie du film lacrymal.	26
2.4.1 Formation.	26
2.4.2 Mouvements.	27
2.4.3 Stabilité.	28
3 La cornée.	29
3.1 Structure.	29
3.2 Physiologie.	31
4 Les conjonctives.	31
4.1 Structure.	31
4.2 Physiologie.	31
5 Immunologie de la surface oculaire.	32
5.1 Défense immunitaire non spécifique.	32
5.1.1 Les barrières anatomiques.	32
5.1.2 La flore normale.	32
5.1.3 Les larmes.	33
5.2 Défense immunitaire spécifique.	33
5.2.1 Le tissu lymphoïde associé à la conjonctive ou CALT.	33
5.2.2 Immunoarchitecture de la glande lacrymale.	33
5.2.2.1 Importance relative des ensembles cellulaires.	34
5.2.2.2 Localisation.	34
5.2.2.3 La barrière hémato-lacrymale.	37
5.2.3 La réponse immunitaire de la surface oculaire.	37

	Page
SECONDE PARTIE : LES KCS DU CHIEN.	41
1 Manifestations cliniques.	41
2 Diagnostic.	43
2.1 Le test de Schirmer	44
2.2 Lee test à la fluoréscéine	44
2.3 Le test au rose bengale	45
2.4 Le temps de rupture du film lacrimonal	45
2.5 Le frottis conjonctival	45
3 Etiologie.	45
3.1 Facteurs prédisposants.	46
3.2 Facteurs déterminants.	47
3.2.1 Facteurs non immunologiques.	47
3.2.1.1 Facteurs infectieux.	47
3.2.1.2 Facteurs traumatiques.	48
3.2.1.3 Facteurs iatrogènes.	48
3.2.1.4 Autres facteurs.	49
3.2.2 Facteurs immunologiques.	51
4 Histopathologie.	52
5 Sérologie.	54
6 Proposition d'un schéma pathogénique de la KCS auto-immune.	54
6.1 Initiation.	54
6.1.1 Rupture de la barrière hémato-lacrurale.	54
6.1.2 Hyperactivité des lymphocytes T helpers.	55
6.2 Evolution.	55
6.2.1 Destruction du tissu lacrimonal.	55
6.2.2 Installation de la KCS.	56
6.2.2.1 Rôle de l'insuffisance lacrimonale.	56
6.2.2.2 Rôle des phénomènes immuns.	56
7 Thérapeutique.	57
7.1 Traitements médicaux.	57
7.1.1 Thérapeutique de substitution.	57
7.1.1.1 Les larmes artificielles.	57
7.1.1.2 Les gels lacrymaux.	58
7.1.1.3 Autres.	59
7.1.2 Stimulation de la production lacrimonale.	59
7.1.3 Les immunomodulateurs.	60
7.1.4 Contrôle de l'infection et de l'inflammation.	60
7.2 Traitements chirurgicaux.	61

	Page
TROISIEME PARTIE : LA CYCLOSPORINE A.	63
1 Caractéristiques physico-chimiques de la CsA.	65
1.1 Structure.	65
1.2 Propriétés physico-chimiques.	65
2 Mode d'action.	67
2.1 Rappels sur la réponse immunitaire.	67
2.1.1 La réponse immunitaire à médiation cellulaire.	67
2.1.1.1 Les lymphocytes T helpers.	67
2.1.1.2 Les lymphocytes T cytotoxiques.	71
2.1.2 La réponse immunitaire à médiation humorale.	72
2.2 Mode d'action de la cyclosporine A.	73
2.2.1 Action immunomodulatrice de la cyclosporine A.	73
2.2.1.1 Action sur les composants du système immunitaire.	74
2.2.1.1.1 Effets de la cyclosporine A sur les lymphocytes T.	74
2.2.1.1.1.1 Inhibition de la prolifération.	74
2.2.1.1.1.2 Cas des lymphocytes T helpers.	76
2.2.1.1.1.3 Cas des lymphocytes T cytotoxiques.	76
2.2.1.1.1.4 Cas des lymphocytes T effecteurs des réactions d'hypersensibilité retard	77
2.2.1.1.2 Effets de la cyclosporine A sur les lymphocytes B.	77
2.2.1.1.3 Effets de la cyclosporine A sur les macrophages et les cellules Natural Killer.	78
2.2.1.2 Action moléculaire de la cyclosporine A.	79
2.2.1.2.1 Fixation de la CsA sur des récepteurs.	79
2.2.1.2.1.1 La calmoduline.	79
2.2.1.2.1.2 La cyclophilline.	79
2.2.1.2.1.3 La calcineurine.	81
2.2.1.2.2 Effets sur la synthèse des lymphokines.	81
2.2.1.2.2.1 Cas de l'interleukine 2.	81
2.2.1.2.2.2 Cas des autres lymphokines.	82
2.2.1.2.3 Effets sur les récepteurs de l'interleukine 2.	82
2.2.2 Activité anti-inflammatoire.	83
2.2.3 Activité lacrymomimétique.	84
3 Pharmacocinétique de la CsA.	84
3.1 Devenir de la CsA administrée par voie générale.	84
3.1.1 Biodisponibilité.	85
3.1.2 Distribution.	85
3.1.2.1 Distribution sanguine.	86
3.1.2.2 Distribution tissulaire.	87
3.1.2.3 Distribution oculaire.	88
3.1.3 Métabolisme.	88
3.1.4 Elimination.	89
3.2 Devenir de la CsA administrée par voie topique au niveau oculaire.	89
3.2.1 Résorption.	89
3.2.1.1 Pénétration transcornéenne.	89
3.2.1.2 Pénétration conjonctivo-sclérale.	89
3.2.1.3 Facteurs de variations.	90
3.2.2 Distribution.	90
3.2.3 Elimination.	91
3.3 Devenir de la CsA administrée par voie sous-conjonctivale.	91

	Page
4 Étude toxicologique de la CsA.	92
4.1 Résultats des tests toxicologiques.	92
4.1.1 Par administration unique.	92
4.1.2 Par administrations répétées.	93
4.1.3 Tolérance locale.	94
4.2 Effets secondaires de la CsA.	94
4.2.1 Insuffisance rénale.	94
4.2.2 Hypertension artérielle.	95
4.2.3 Neurotoxicité.	95
4.2.4 Hépatotoxicité.	96
4.2.5 Autres effets.	96
4.3 Toxicité locale du traitement à la cyclosporine A au niveau oculaire.	96

	Page
QUATRIEME PARTIE : ÉTUDE EXPERIMENTALE.	99
1 Protocole expérimental.	99
1.1 Objectifs.	100
1.2 Matériel.	100
1.2.1 Animaux inclus dans l'étude.	101
1.2.2 Unité expérimentale.	101
1.2.3 Le traitement.	101
1.3 Méthode.	101
1.3.1 Sélection des animaux.	103
1.3.2 Traitement.	103
1.3.3 Biopsies.	103
1.3.4 Réalisation pratique.	103
1.3.5 Evaluation des animaux.	104
1.3.4.1 Examens oculaires.	104
1.3.4.2 Examen histologique.	106
1.4 Conclusion.	106
2 Résultats.	107
2.1 Résultats individuels.	107
2.2 Présentation par paramètre clinique.	124
2.3 Présentation par paramètre histologique.	127
3 Discussion.	130
3.1 Étude des résultats individuels.	131
3.2 Étude des paramètres cliniques.	138
3.2.1 Étude du paramètre "Test de Schirmer STT".	138
3.2.2 Étude du paramètre "blépharospasme".	139
3.2.3 Étude du paramètre "sécrétions mucopurulentes".	139
3.2.4 Étude du paramètre "hyperhémie conjonctivale".	139
3.2.5 Étude du paramètre "vascularisation cornéenne".	139
3.2.6 Étude du paramètre "pigmentation cornéenne".	140
3.2.7 Étude du paramètre "ulcération cornéenne".	140
3.3 Étude des paramètres histologiques.	140
3.3.1 Étude du paramètre "lobulation".	141
3.3.2 Étude du paramètre "canaux".	141
3.3.3 Étude du paramètre "acini".	141
3.3.4 Étude de différents paramètres concernant la muqueuse de la glande nictitante.	141 142
3.3.4.1 Étude du paramètre "capillaires de la muqueuse".	142
3.3.4.2 Étude du paramètre "cellules de la muqueuse".	143
3.3.4.3 Étude du paramètre "fibrose de la muqueuse".	143
3.3.5 Étude des paramètres concernant la glande nictitante.	143
3.3.5.1 Étude du paramètre "capillaires de la glande".	143
3.3.5.2 Étude du paramètre "cellules de la glande".	144
3.3.5.3 Étude du paramètre "fibrose de la glande".	144
3.3.6 Étude du paramètre "grade de la glande".	145
CONCLUSION	147
BIBLIOGRAPHIE	149
ANNEXES	157

LISTE DES ANNEXES

Annexe I : Fiche d'évaluation clinique des animaux.

Annexe II : Résultats cliniques : examen des yeux des chiens participant à l'étude.

Annexe III : Résultats histologiques : examen des yeux des chiens participant à l'étude.

ABREVIATIONS UTILISEES

CALT	Tissu lymphoïde associé à la conjonctive
CMH	Complexe majeur d'histocompatibilité
CPA	Cellule présentatrice de l'antigène
CsA	Cyclosporine A
ENVA	Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort
HPLC	Chromatographie liquide sous pression
KCS	Kératoconjonctivite sèche
MALT	Tissu lymphoïde associé aux muqueuses
OG1	Œil Gauche du cas 1
OG2	Œil Gauche du cas 2
OD1	Œil Droit du cas 1
OD2	Œil Droit du cas 2
PKC	Protéine kinase
STT	Test de Schirmer

INTRODUCTION

Les kératoconjunctivites sèches (KCS) correspondent par définition aux conséquences dommageables pour l'œil et ses annexes d'une insuffisance quantitative de la phase aqueuse du film lacrymal. L'inflammation oculaire qui en découle se traduit par différents signes cliniques qui doivent faire penser à une KCS. Ces signes sont en général d'autant plus sévères que l'insuffisance lacrymale est importante. C'est le test de Schirmer qui permet d'apprécier la déficience quantitative en larmes et qui permet donc de confirmer une suspicion de KCS.

De nombreuses causes sont reconnues pouvoir engendrer une KCS mais il est maintenant admis que la plupart des KCS découvertes chez le chien sont d'origine immunitaire.

De nombreux traitements palliatifs ont d'abord été proposés sans grand succès jusqu'à l'arrivée d'un nouveau produit sur le marché : la cyclosporine A. Nous connaissons déjà l'efficacité clinique d'un traitement local par la pommade à la cyclosporine A à 0,2 % (Optimmune ND). Par contre, nous ignorons encore son influence exacte sur les caractéristiques histologiques de la glande nictitante. Différentes hypothèses ont été émises sans qu'elles aient été confirmées : d'une part il a été suggéré que la cyclosporine A diminuerait l'inflammation au sein de la glande nictitante et d'autre part qu'elle pourrait aussi stimuler la régénération d'acini glandulaires. Etant donné que la KCS est une affection que l'on rencontre fréquemment chez le chien, il nous a semblé intéressant d'aider à élucider ce dernier point. Ceci se fera par l'intermédiaire d'une étude fondée sur l'observation de deux biopsies réalisées avant et après 6 semaines de traitement à l'Optimmune ND.

Notre travail comporte quatre parties. Nous soulignerons d'abord l'importance du film lacrymal dans la première partie. Nous rappellerons les caractéristiques des KCS dans la seconde partie. Puis nous passerons à l'étude de la cyclosporine A dans la troisième partie avant d'aborder l'étude clinique des animaux et l'étude histologique des glandes de chiens atteintes de KCS dans la quatrième partie.

PREMIERE PARTIE : RAPPELS

1 L'appareil lacrymal.

1.1 L'appareil lacrymal sécréteur.

Les sécrétions lacrymales résultent de l'association des produits de nombreuses glandes.

1.1.1 La glande lacrymale principale. (2) (12) (31)

Elle est située sous l'arcade orbitaire supéro-latérale, sous le ligament orbitaire. Elle est appliquée contre l'œil et séparée des muscles orbitaires par un fascia.

Sa structure est de type tubulo-acineux avec des acini séreux. Elle est reliée au cul de sac conjonctival supéro-latéral par une douzaine de conduits excréteurs qui partent de son bord antéro-ventral. Elle est responsable de 70 % du volume aqueux des larmes du chien.

Son innervation est assurée par le nerf lacrymal et par le nerf facial. Le premier provient du nerf ophtalmique, lui-même issu du nerf trijumeau et véhicule des fibres ortho et parasympathiques excitosécrétrices et sensibles. Le second transporte des fibres excitosécrétrices provenant de son noyau parasympathique.

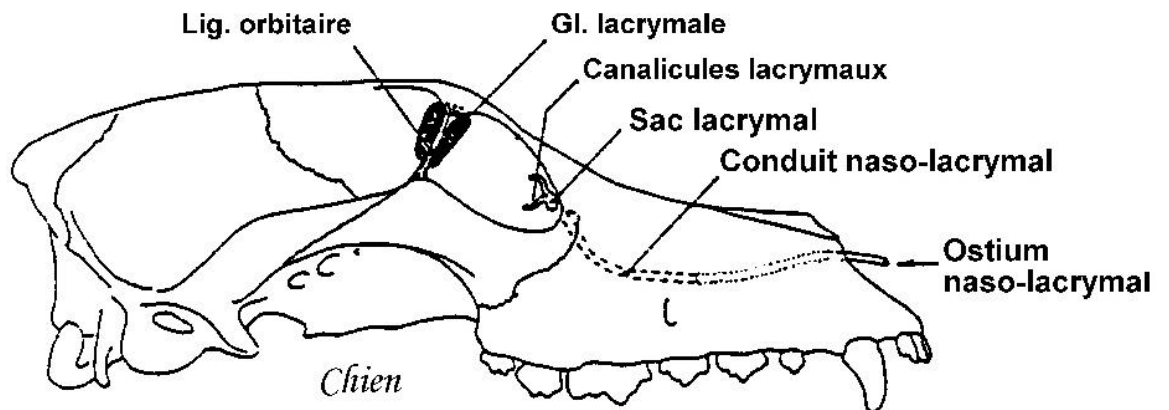


Figure 1 : Appareil lacrymal du chien. (41)

1.1.2 La glande lacrymale nictitante. (2) (20) (21) (31)

La troisième paupière est bien développée chez le Chien. Elle constitue un pli de la conjonctive placé ventro-médialement. Ce pli est soutenu par le cartilage en forme de T, dont la branche supérieure constitue le bord libre et épouse la forme du globe. La barre principale du T est entourée de tissu glandulaire qui forme la glande superficielle de la troisième paupière. Les mouvements de cette formation sont entièrement passifs : c'est la rétraction du globe oculaire dans l'orbite qui provoque la procidence de la membrane nictitante.

La glande nictitante adhère à la partie inféro-nasale du cartilage en T de la membrane nictitante. Elle est rosée, en forme de goutte, fixée ventralement par le fascia moyen et dorsalement par le fascia superficiel des muscles oculomoteurs.

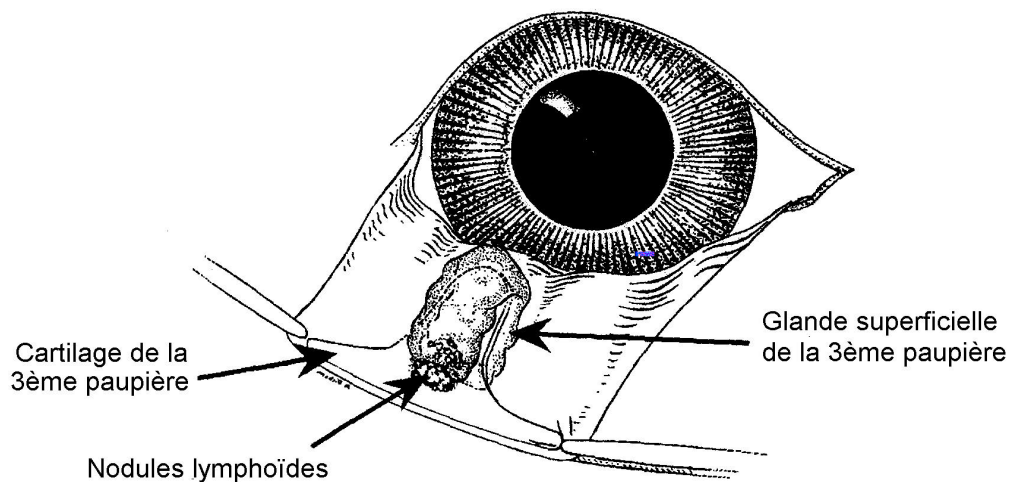


Figure 2 : Représentation schématique de la troisième paupière (d'après Gelatt). (31)

La structure de la glande nictitante est tubuloacineuse chez le chien. Des cellules sont groupées en acini sécréteurs : plusieurs acini s'abouchent sans transition sur des tubules sécréteurs. Plusieurs tubules conduisent à des canaux excréteurs dont l'arborisation conduit à des orifices situés en partie profonde de la face postérieure de la membrane nictitante. Histologiquement, les tubules ont des lumières nettes à la différence des acini. Les épithéliums tubulaires et acineux ont tous les deux des cellules à noyau basal ou central à hétérochromatine marginale et des granules de ségrégation. Des complexes jonctionnels apicaux représentent une barrière hémato-lacrymale importante dans la composition des larmes.

La sécrétion est de type séromuqueux chez le chien. Ses sécrétions représentent 30 à 57 % du volume lacrymal aqueux selon les espèces.

Les cellules sécrétrices sont de type séreux dans les tubules et de trois types dans les acini :

- La majeure partie est mucineuse (glycoprotéine acide sialytée : la sialomucine).
- En périphérie de la glande se trouvent parfois des acini de type lipidique avec des cellules à noyaux plats repoussés à la périphérie.
- Enfin, il existe un troisième type d'acini dont l'origine reste mystérieuse, il pourrait en effet représenter un état particulier de maturation des cellules à sialomucine ou un type particulier de sécrétion.

La surface basale des acini, des tubules et des conduits excréteurs est enveloppée de manière incomplète par des cellules myoépithéliales. Entre les acini, l'interstitium contient des plasmocytes, des lymphocytes, des mastocytes, des cellules graisseuses, des cellules de Schwann, des fibres nerveuses et des vaisseaux. (21)

1.1.3 Les autres glandes lacrymales. (2) (12) (20) (31) (57)

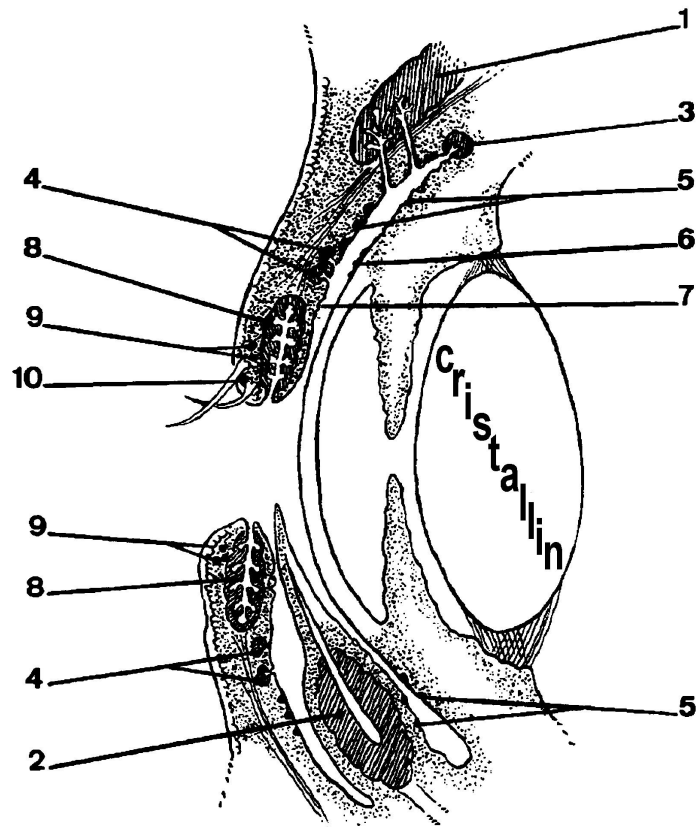
D'autres glandes interviennent dans la sécrétion du film lacrymal :

Les glandes tarsales ou glandes de Meibomius, au nombre de 20 à 40 au bord interne de chaque paupière chez le chien, elles sont plus développées sur la paupière supérieure. Elles sont composées d'acini et disposées en colonnes centrées sur un conduit excréteur qui débouche le long du limbe palpébral postérieur. Ce sont des glandes sébacées holocrines et leur sécrétion est lipidique.

Les glandes caliciformes sont situées dans l'épaisseur superficielle des conjonctives palpébrales, des culs-de-sac conjonctivaux et de la face antérieure de la membrane nictitante. Elles sont parfois regroupées en ébauches de glandes plus productives que les simples cellules à mucus. Ce sont les glandes de Henlé tubulaires, invaginations épithéliales dans le chorion, situées en regard du bord supérieur du tarse. Ces cellules à mucus sont d'une importance majeure dans la constitution du film lacrymal. Leur sécrétion est mucinique.

Les glandes lacrymales accessoires, dispersées dans la conjonctive, qui existent chez l'homme mais semblent être absentes chez le chien.

Les glandes de Zeiss et Moll, dont les sécrétions lipidiques jouent un rôle dans l'entretien des cils. Leur participation au film lacrymal reste hypothétique.



- | | | |
|--|---|---------------------|
| 1 : glande principale | } | Sécrétion aqueuse |
| 2 : glande nictitante | | |
| 3 : glandes de Krause | | |
| 4 : glandes de Wolfring | | |
| 5 : cellules caliciformes (« en gobelet ») | } | Sécrétion mucinique |
| 6 : glandes de Manz | | |
| 7 : cryptes de Henlé | | |
| 8 : glandes de Meibomius | } | Sécrétion lipidique |
| 9 : glandes de Moll | | |
| 10 : glandes de Zeiss | | |

Figure 3 : Les glandes lacrymales du chien (d'après Severin). (57)

1.2 L'appareil lacrymal évacuateur. (2) (12) (20) (31) (43) (57)

Dans les conditions normales, son rôle est de permettre l'élimination de la fraction de larme qui reste en excès par rapport à la production de base, malgré l'évaporation (environ 25 % du film lacrymal) s'opérant à la surface de l'œil.

Il est composé des deux points lacrymaux, l'un supérieur et l'autre inférieur, situés dans l'angle médial de l'œil où s'abouchent les canalicules lacrymaux. Les points lacrymaux sont situés sur la face interne des paupières, à 1-2 mm du bord libre palpébral, à 3-5 mm du canthus médial. L'évacuation s'effectue par attraction capillaire et par gravité. Elle se fait aussi sous l'effet d'une aspiration provoquée par le jeu des fibres musculaires lisses qui entourent les points lacrymaux et agissent de façon coordonnée avec les mouvements des paupières. C'est le phénomène de pompe lacrymale.

Les canalicules courent dans la périorbite et se rejoignent à l'autre extrémité dans le sac lacrymal logé dans la fosse lacrymale de l'os lacrymal. Ce sac lacrymal, peu développé chez le chien, se vidange dans le canal lacrymonasal qui, après un court trajet intra-osseux, passe dans les cavités nasales sur la face médiale de l'os maxillaire puis dans la cavité nasale pour déboucher à 1 cm environ de l'orifice des narines ou éventuellement au niveau de la canine supérieure au niveau de l'ostium nasolacrymal de la truffe, humectant celle-ci sans discontinuer. Dans certaines races comme chez les chiens nains et chez les races brachycéphales, le canal nasolacrymal peut s'ouvrir dans la cavité nasale, permettant l'écoulement des larmes directement dans la gorge, sans écoulement lacrymal à la truffe.

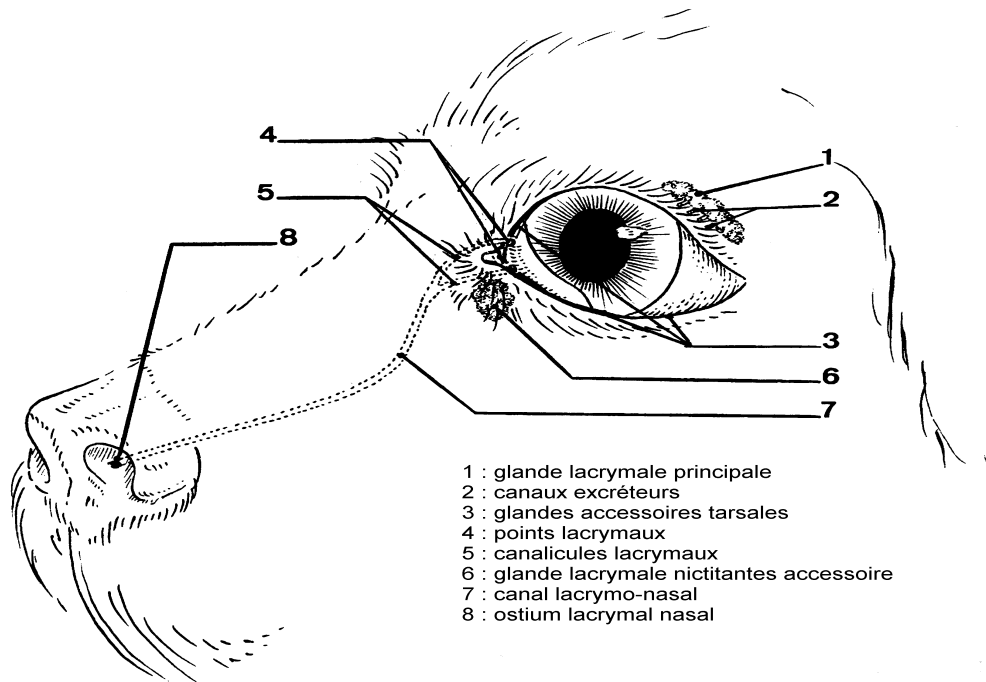


Figure 4 : Le système lacrymal du chien (d'après Slatter). (57)

2 Le film lacrymal.

Le film lacrymal est indispensable au fonctionnement normal de l'œil. Le liquide se rassemble dans le sac conjonctival inférieur et, lors des clignements des paupières, d'une part il est évacué vers les points lacrymaux, et simultanément la membrane nictitante l'étale et le répartit uniformément sur la surface cornéenne

2.1 Les phases du film cornéen.

(12) (17) (31) (43)

Légèrement alcalin (pH compris entre 6,8 et 8,0 , pH = 7,4 en moyenne), le film lacrymal, apparemment continu et homogène, est en fait constitué de trois phases.

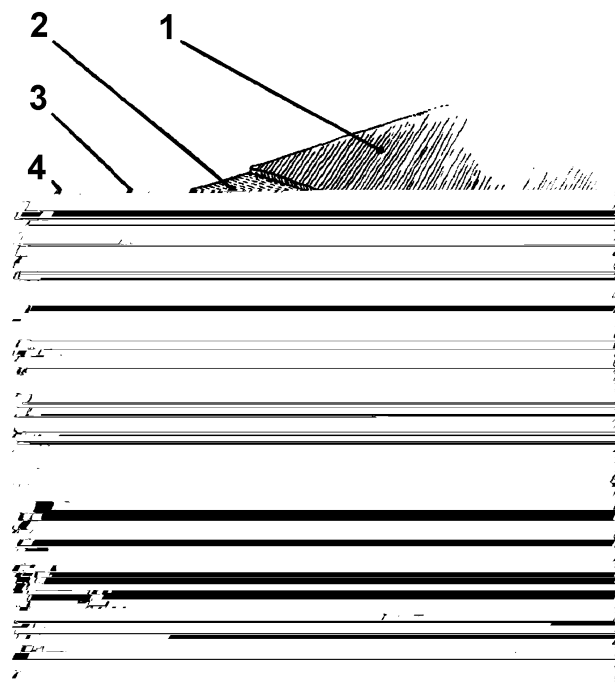


Figure 5 : Le film lacrymal précornéen. (57)

2.1.1 La phase lipidique.

La couche lipidique est la plus superficielle.

Cette phase est produite par les glandes de Meibomius, situées au bord interne des paupières, et peut être des glandes de Zeiss qui accompagnent les cils. Son épaisseur varie de 0,013 à 0,581 μm chez le chien.

Elle est formée de lipides neutres et de phospholipides (cholestérol, acides gras, triglycérides, phospholipides). Cette structure duplex permet l'étalement et la stabilité des lipides sur la phase aqueuse sous-jacente, elle prévient aussi l'écoulement des larmes par-dessus le bord des paupières.

Cette phase réduit la vitesse d'évaporation du film aqueux. D'après Mischima, la vitesse normale d'évaporation ($3 \mu\text{l}/\text{cm}^3/\text{heure}$) serait multipliée par 10 ou 20 en l'absence de la couche huileuse. Elle joue aussi un rôle dans l'étanchéité du film lacrymal et sa stabilité en abaissant la tension superficielle. (43)

2.1.2 La phase aqueuse.

La couche aqueuse est située entre les deux autres phases et constitue la majeure partie du film lacrymal.

Elle est produite par la glande principale (61 %) par la glande nictitante (35 %) et par les glandes accessoires disséminées dans la conjonctive palpébrale (3 %). Son épaisseur est plus importante puisqu'elle atteint 7 μm . (31)

La phase aqueuse est constituée à 98,2 % d'eau pour 1,8 % de matière solide. On retrouve dans sa composition de nombreuses substances dont des sels minéraux, de l'urée, des glycoprotéines et des biopolymères tensioactifs. La composition exacte de cette phase n'est pas connue pour tous ses composants chez les carnivores domestiques. Le taux en protéines est nettement inférieur à celui du sérum sanguin. Chez l'homme, il est de 6 à 10 g/l alors que chez le chien il est encore plus faible, de 1,5 à 4 g/l avec 93 % de globulines, 4 % d'albumines et 3 % de lysozyme. (31)

On y trouve :

- Des protéines d'origine sérique comme l'albumine, marqueur de l'inflammation et témoin de la perméabilité hémato-lacrymale, des IgG (10,8 mg/100 ml) et des IgE. (31)
- Des protéines synthétisées par les glandes lacrymales : les IgA de sécrétion (0,24 mg/ml) et des IgG (0,11 mg/ml). (32)
- Le lysozyme, polypeptide, muramidase qui s'attaque au complexe mucopéptidique de la paroi de certaines bactéries gram positif limitant la pullulation des germes saprophytes. Produit par les cellules à mucus, il serait absent chez le chat.
- La lactoferrine, glycoprotéine antibactérienne qui fixe le fer.
- Des protéines à migration rapide, préalbumines lacrymales.
- Des enzymes.

Chez le chien, sept fractions ont été reconnues dont deux sont précisées quant à leur composition, l'albumine et le lysozyme. Une troisième doit correspondre aux immunoglobulines.

Cette sécrétion varie en fonction de nombreux critères. Il existe un rythme nyctéméral avec hyposécrétion pendant le sommeil (phénomène d'autant plus net lors de KCS), la température extérieure, le degré hygrométrique, la pression atmosphérique, les facteurs irritants. Une déficience de cette phase aqueuse provoque une KCS.

Cette phase aqueuse joue un rôle essentiel dans la défense de la cornée, par effet de lavage mécanique de lavage dû au courant qui dirige les particules étrangères et les micro-organismes vers les voies excrétrices et par les propriétés immunitaires des protéines bactériostatiques et bactériolytiques qu'elle contient. La phase aqueuse joue aussi un rôle de nutrition de l'épithélium cornéen avasculaire en lui apportant des acides aminés, des sucres et des enzymes. Elle permet aussi l'oxygénation des cellules cornéennes (la pression en oxygène des larmes est de 140 mmHg). (38) Enfin, les larmes ont un rôle lubrifiant qui facilite le glissement des paupières et de la membrane nictitante sur le globe oculaire.

2.1.3 La phase muqueuse.

La couche muqueuse se situe en position interne du film lacrymal, enchâssée dans l'épithélium cornéen.

Elle se compose d'éléments provenant des cellules caliciformes des culs de sacs conjonctivaux, des cryptes de Henlé et des glandes de Manz d'une part (couche mucinique), et des cellules de l'épithélium cornéen d'autre part (glycocalix).

Le cytoplasme des cellules à mucus, à noyau basal, est rempli de glycoprotéines stockées dans l'appareil de Golgi sous forme de gouttelettes qui sont expulsées au pôle apical. C'est une sécrétion apocrine. Les glycoprotéines sont de poids moléculaire élevé. Ce sont de longues chaînes polypeptidiques sur lesquelles se fixent des chaînes oligosaccharidiques. Certaines glycoprotéines sont sécrétées par la glande lacrymale annexe de nature séro-muqueuse. Par ailleurs, le glycocalix, élaboré par le cell-coat des cellules épithéliales correspond à une glycoprotéine de faible poids moléculaire qui participe également à la constitution de la couche mucinique.

Son épaisseur varie de 1 à 2 μm .

Elle est donc constituée de mucopolysaccharides et de différentes glycoprotéines polaires hydratées dont le pôle hydrophobe adhère fortement aux microvillosités des cellules épithéliales cornéennes et le pôle hydrophile s'accroche à la couche aqueuse par des filaments.

Son rôle consiste à assurer l'adhérence du film précornéen à la cornée, le mucus transformant la surface hydrophobe de l'épithélium cornéen en une surface hydrophile qui permet la rétention de la couche aqueuse. Elle assure la nutrition de la cornée.

Sécrétion de la glande lacrymale principale	61,7 %
Sécrétion de la glande nictitante	35,2 %
Sécrétion des glandes lacrymales accessoires et des cellules à mucus de la conjonctive	3,1 %

Figure 6 : Composition du film lacrymal. (15)

2.2 Importance quantitative respective de la sécrétion des différentes glandes chez le chien.

Différents auteurs ont mesuré la sécrétion lacrymale chez des chiens sains et chez des chiens atteints de KCS, grâce au test de Schirmer. En comparant diverses expériences on peut chiffrer la production lacrymale respective des différentes glandes.

Dans l'espèce canine, la glande principale et la glande nictitante sont la source majeure des larmes. Leur ablation simultanée déclenche l'apparition d'une KCS. Après excision de la glande nictitante, les glandes principale et accessoires maintiennent une sécrétion presque normale. Par contre, après excision de la glande principale, la sécrétion n'atteint plus une valeur normale mais il n'y a pas apparition de KCS. Chez un chien atteint de KCS une irritation oculaire déclenche un réflexe de stimulation lacrymale et donne une valeur erronée lors de test de Schirmer normal (STT1). Une anesthésie locale supprime ce réflexe et permet de mesurer la sécrétion lacrymale "réelle" (STT2). En combinant ces diverses possibilités, ablation simultanée ou séparée des glandes lacrymales, utilisation des STT 1 et 2, Gelatt a obtenu les données suivantes :

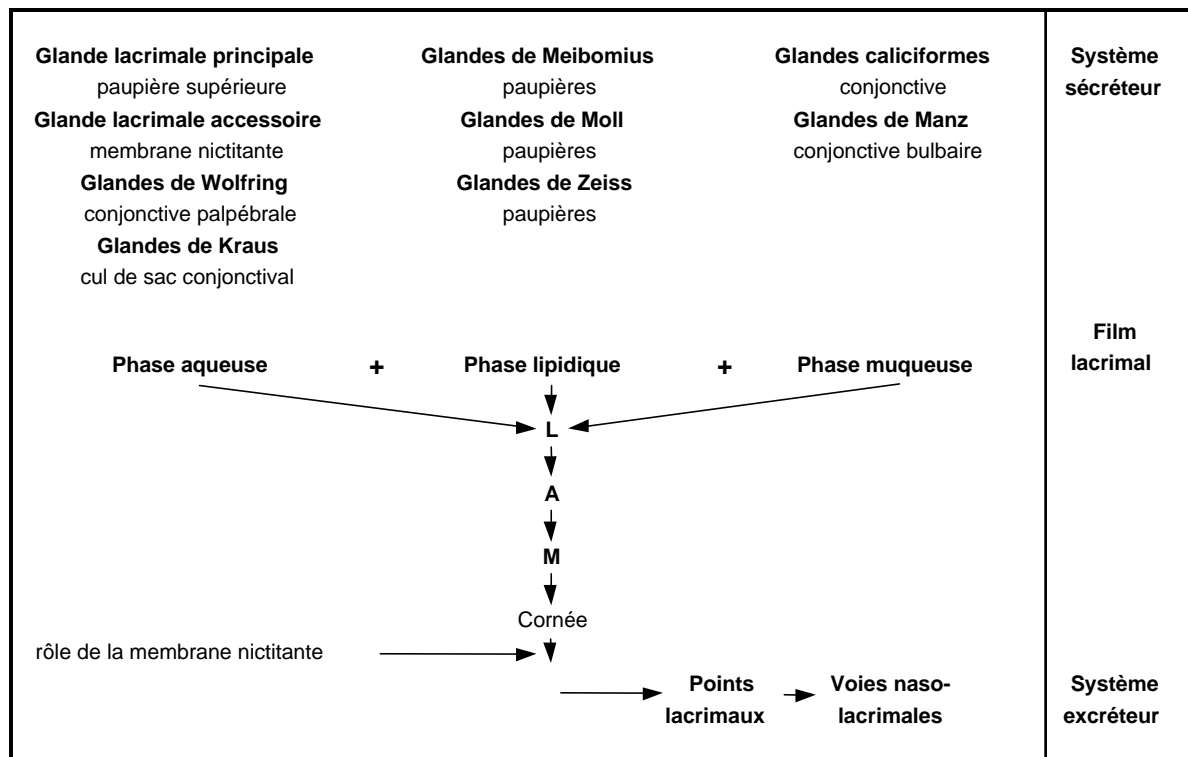


Tableau I : Importance quantitative de la sécrétion des glandes lacrymales. (43)

Après anesthésie locale, la diminution de la sécrétion semble plus nette pour la glande nictitante que pour la glande lacrymale principale.

A partir d'une étude similaire, Helper et coll. (27) ont obtenu des résultats complémentaires bien que différents. Après l'ablation simultanée des glandes principale et nictitante, le STT donne des valeurs égales à 0 mm et les signes cliniques de la KCS apparaissent. La sécrétion lacrymale chez le chien serait donc fonction de ces 2 glandes et celle des autres glandes de la conjonctive ne serait, à priori, pas mesurable. Leur rôle serait variable d'un chien à l'autre : chez certains chiens la source lacrymale essentielle proviendrait de la glande principale et, pour d'autres, de la glande nictitante. L'auteur suggérerait donc l'existence d'une sécrétion compensatoire de la glande restante lorsque l'autre est enlevée.

Ceci expliquerait les résultats aléatoires obtenus après l'ablation de la glande nictitante dans le traitement de certains épiphoras d'origine inconnue. Ainsi, dans une étude menée par Read et coll (51), l'exérèse de la glande nictitante n'a pas entraîné de réduction de la sécrétion lacrymale alors qu'une autre étude n'aboutissait pas aux mêmes conclusions. Il a été montré que l'histologie de la glande nictitante des chiens atteints d'épiphora est modifiée. Elle présente en effet dans la majeure partie des cas une hyperplasie avec une augmentation du nombre et/ou de la taille des lobules, une hyperplasie des acini, sans modification inflammatoire ou dégénérative.

2.3 Les rôles du film cornéen. (2) (5) (12) (20) (31) (43)

Le film lacrymal présente une remarquable unité fonctionnelle malgré les trois phases distinctes qui le composent. Cette unité est rendue possible par sa grande stabilité : en effet la couche aqueuse se retrouve coincée entre la couche muqueuse et la couche lipidique.

La couche muqueuse adhère à la cornée et la rend hydrophile. Elle abaisse aussi la tension superficielle du film précornéen ce qui lui permet de s'étaler à sa surface.

La couche lipidique contribue également à l'abaissement de cette tension mais surtout elle limite l'évaporation des larmes.

Tout ceci rend possible un contact permanent entre surface oculaire et film précornéen et cette situation particulière du film lacrymal sur la cornée lui permet de jouer plusieurs rôles.

2.3.1 Rôle protecteur.

Il s'effectue à deux niveaux distincts :

Le film lacrymal offre une protection mécanique :

D'une part vis à vis du glissement des paupières sur la cornée. Les sécrétions lacrymales, de nature différente, sont ainsi régulièrement réparties sur la cornée grâce d'une part à la contraction de la membrane nictitante et à son mécanisme d'essuie-glace, et d'autre part au mécanisme de clignement des paupières supérieure et inférieure. Les clignements des paupières permettent aussi d'évacuer le film lacrymal vers les points lacrymaux.

D'autre part le film lacrymal élimine les petits corps étrangers qui sont piégés dans le mucus et il draine les différents micro-organismes et les petits corps étrangers vers les émonctoires lacrymaux. Lors de traitement, il véhicule les médicaments.

Le film lacrymal offre une protection immunologique :

Il existe une protection immunologique non spécifique procurée par les substances antibactériennes de la couche aqueuse et par la barrière constituée par le mucus dont la viscosité gêne la progression des bactéries et des virus.

Il existe aussi une protection immunologique spécifique. En effet, le film lacrymal peut contenir :

- Des leucocytes qui proviennent des vaisseaux du limbe et de la conjonctive.
- Des lysozymes qui lui procurent une action anti-bactérienne. Leur quantité augmente lors d'irritation ou d'infection oculaire.
- Des immunoglobulines qui jouent un rôle important dans la défense des infections oculaires superficielles. L'immunité locale met principalement en jeu les IgA sécrétoires contenues dans la couche aqueuse mais surtout retenues dans le mucus au contact de l'épithélium cornéen. (43)

La fonction la plus importante des immunoglobulines réside dans la défense de la muqueuse en réduisant ou en prévenant l'adhérence des micro-organismes à l'épithélium. Il semble que les IgA, lorsqu'elles sont stimulées localement, constituent un complexe sur la muqueuse qui réagit avec l'antigène (généralement une bactérie ou un virus) et permet l'adhérence de ces micro-organismes sur les cellules épithéliales de l'organe. Ce complexe disparaît quand il y a davantage d'IgA et de mucus produits, les antigènes et les IgA sont alors tous les deux expulsés avec les sécrétions. (32)

Des études des larmes de chiens atteints de KCS, effectuées par S. Liotet au laboratoire du Centre National Ophtalmologique des Quinze Vingt à Paris, indiquent une modification de la qualité des sécrétions lacrymales, une augmentation des protéines à migration rapide (albumine), une diminution des protéines à migration plus lente (lactotransferrine) et, souvent, une disparition du lysozyme. (10)

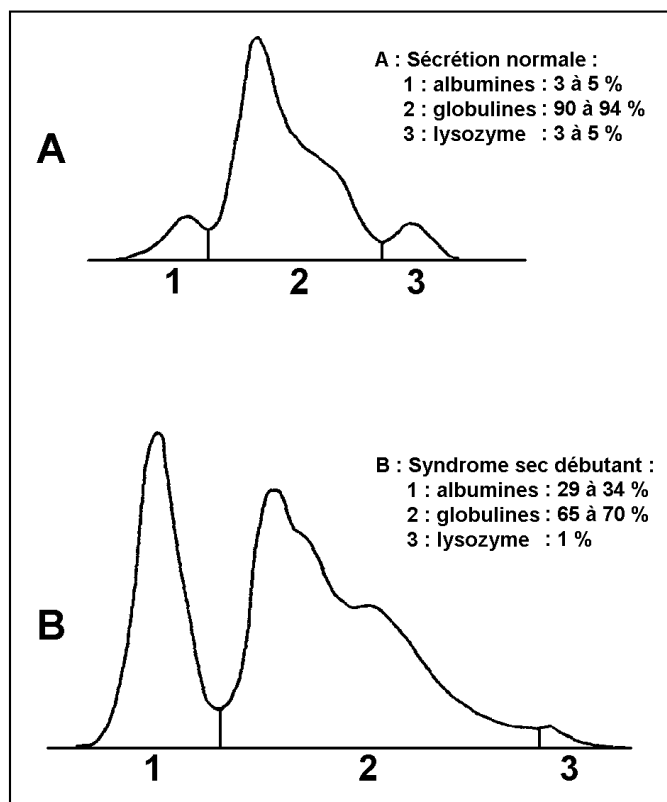


Figure 7 : Electrophorèse des larmes chez le chien. (31)

2.3.2 Rôle trophique.

Il prévient la dessiccation cornéenne par son rôle d'enduit conféré par la phase lipidique qui limite l'évaporation. L'absence de cette phase, pour des raisons pathologiques (inflammation ou dégénérescence des glandes de Meibomius), entraîne un véritable éparpillement des larmes tout autour des yeux, humidifiant les paupières supérieure et inférieure.

Il a un rôle d'agent mouillant qui permet l'humidification de l'épithélium cornéen et conjonctival et protège ainsi leurs cellules constitutives.

Il assure aussi la nutrition de la cornée en assurant à la cornée avasculaire un apport en nutriments et en permettant les échanges gazeux nécessaires à sa vie en l'alimentant en oxygène et en prenant les déchets de son métabolisme.

2.3.3 Rôle optique.

Le film lacrymal est aussi responsable de la qualité optique de la surface épithéliale en transformant celle-ci, hérissée de microvillosités, en un dioptre régulier et lisse. (27)

2.4 Physiologie du film lacrymal. (2) (5) (17) (31)

2.4.1 Formation.

A l'état normal, les glandes lacrymales produisent une quantité de larmes équivalente à la somme de l'évaporation, de l'évacuation et de la résorption tissulaire. Le film lacrymal dépend du respect de cet équilibre. Ce taux basal peut être augmenté après stimulation des glandes par un réflexe initié au niveau de nocicepteurs situés sur la cornée, la conjonctive ou la muqueuse nasale.

La sécrétion lacrymale n'est pas quantitativement constante selon les circonstances. La nuit, il existe une certaine dessiccation cornéenne avec, très souvent, présence de chassie au canthus médial le matin au réveil.

Si l'innervation de l'appareil lacrymal et de la glande lacrymale en particulier fait intervenir une innervation sensitive par le biais du nerf lacrymal, branche du trijumeau V et une innervation autonome à la fois ortho et parasymphatique, le rôle de chacune de ces innervations chez les carnivores domestiques n'est pas bien connu. Les parasymphatolytiques (atropine) sont supposés inhiber la sécrétion lacrymale tandis que le parasymphathomimétiques (pilocarpine) sont supposés la stimuler comme nous le verrons plus loin.

On reconnaît chez l'homme quatre types de larmoiement : émotionnel, réflexe, médicamenteux et basal. La sécrétion émotionnelle n'est pas observée chez l'animal contrairement aux trois autres. La sécrétion lacrymale basale serait essentiellement produite par la glande lacrymale de la membrane nictitante tandis que la sécrétion réflexe serait produite par la glande lacrymale principale. Il existe certainement des mécanismes de régulation de la sécrétion lacrymale basale puisque l'ablation de la glande lacrymale principale (61 % de la phase aqueuse) ne diminue cette sécrétion que de 23 à 46 % et que l'ablation de la glande nictitante ne la diminue que de 12 à 36 %.

2.4.2 Mouvements.

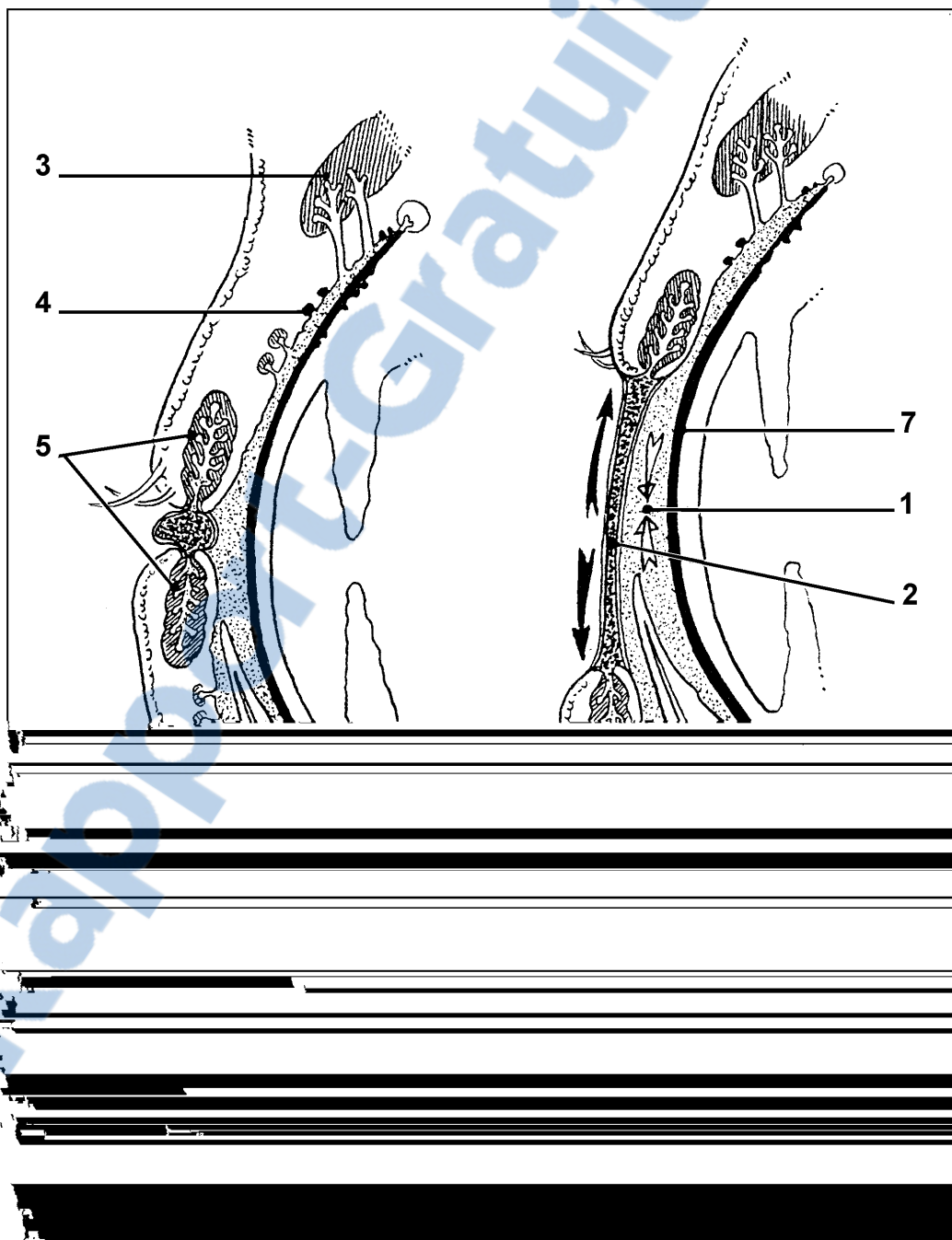


Figure 8 : La dynamique des larmes. (31)

Quand les paupières se ferment, le mucus se dépose à la surface de la cornée et parallèlement les lipides sont expulsés et s'accumulent entre les bords palpébraux rapprochés en formant une couche assez épaisse. La composante aqueuse est excrétée dans les culs de sac conjonctivaux, la plus grande partie reste sous les paupières et baigne ainsi le globe oculaire. A l'ouverture des paupières, la couche aqueuse s'étale sur la couche muqueuse de façon centripète tandis que la phase lipidique, fluide, diffuse de façon centrifuge à partir de la ligne de jonction interpalpébrale. Le contact entre les conjonctives palpébrales, épithélium cornéen et conjonctives bulbaires assure la diffusion concomitante de la phase mucinique qui se fixe aux microvillosités épithéliales.

Le film lacrymal est sécrété en permanence. Le clignement des paupières ramène les larmes dans l'angle interne, vers le lac lacrymal qui est comprimé et aspiré au contact des points lacrymaux. Puis les larmes sont drainées à travers l'appareil lacrymal excréteur.

Le mouvement du film lacrymal est donc dépendant de celui des paupières, ce qui veut donc dire que toute atteinte de leur intégrité, surtout concernant le bord palpébral, diminuera d'autant la stabilité du film lacrymal.

2.4.3 Stabilité.

Le film lacrymal se détruit et se reconstitue à chaque clignement de paupières.

Sa formation et sa stabilité sont soumises à des lois physico-chimiques concernant la mouillabilité des solides. La couche lipidique superficielle abaisse considérablement la tension superficielle du film lacrymal grâce aux interactions mucus-lipides.

Le film lacrymal, mince et stable, est capable de résister aux chocs mécaniques et thermiques. Cependant film lacrymal se détruit avec le temps. Il devient instable en raison des effets combinés de l'évaporation, de l'interface mucus adsorbé - couche lipidique superficielle et d'altérations des cellules épithéliales superficielles. On peut ainsi voir l'apparition de taches sèches qui traduisent la rupture du film lacrymal.

3 La cornée. (5) (12) (16) (20) (41) (43) (55)

3.1 Structure.

La cornée est la vitre de l'œil, circulaire (diamètre variant de 12,5 à 15,5 mm) et bombée (rayon de courbure d'environ 8 mm), d'épaisseur moyenne égale à 0,75 mm et de valeur angulaire variant de 115 à 120° (12). Ces valeurs varient d'une race à l'autre et d'un individu à l'autre.

Elle est constituée de 5 couches :

L'épithélium cornéen est pavimenteux, stratifié, en continuité avec l'épithélium de la conjonctive en périphérie. Il est normalement constitué de 5 ou 6 couches cellulaires seulement. Il a 0,08 mm d'épaisseur chez le chien. La couche cellulaire superficielle est pourvue de fines microvillosités qui se projettent dans le film lacrymal.

La limitante antérieure assimilée à la membrane basale ou à la membrane de Bowman, sépare l'épithélium cornéen du stroma. Elle est très mince chez le chien et n'est pas toujours bien individualisée par rapport aux cellules profondes de l'épithélium cornéen qui s'y incruste.

Le stroma, substance propre à la cornée, est un tissu conjonctif modifié. Il est formé de la superposition de nombreux faisceaux ou lames cornéennes, étroitement appliqués les uns aux autres. Ces lames renferment deux sortes de cellules :

- Des cellules cornéennes fixes, de type conjonctif, polygonales ou étoilées qui se moulent sur les lames et s'anastomosent entre elles.
- Des cellules migratrices, leucocytes provenant de la circulation générale, nombreuses à la périphérie et dans les couches superficielles du stroma. Leur nombre augmente beaucoup lors de processus inflammatoires, provoquant une opacification du stroma.

Il a une épaisseur comprise entre 0,5 et 0,6 mm chez le chien.

La couche moyenne du stroma est pénétrée par un plexus veineux très dense. Additionné au fait que sa structure soit lamellaire et compacte, ceci explique que les infiltrations pigmentaires, vasculaires et cellulaires demeurent le plus souvent en région superficielle de la cornée sans avoir tendance à gagner la profondeur du stroma.

La limitante postérieure ou membrane de Descemet. Son épaisseur est de 14 µm. Elle est homogène, acellulaire et lisse sur ses faces antérieure et postérieure. Élastique et cassante, elle peut, après rupture, se reformer à partir de l'endothélium. Elle est malgré tout très résistante comparée à sa faible épaisseur.

L'endothélium possède une origine mésodermique. Il est constitué d'une seule rangée de cellules aplaties, reliées entre elles par des filaments d'union : les desmosomes. Son épaisseur est d'environ 4 µm.

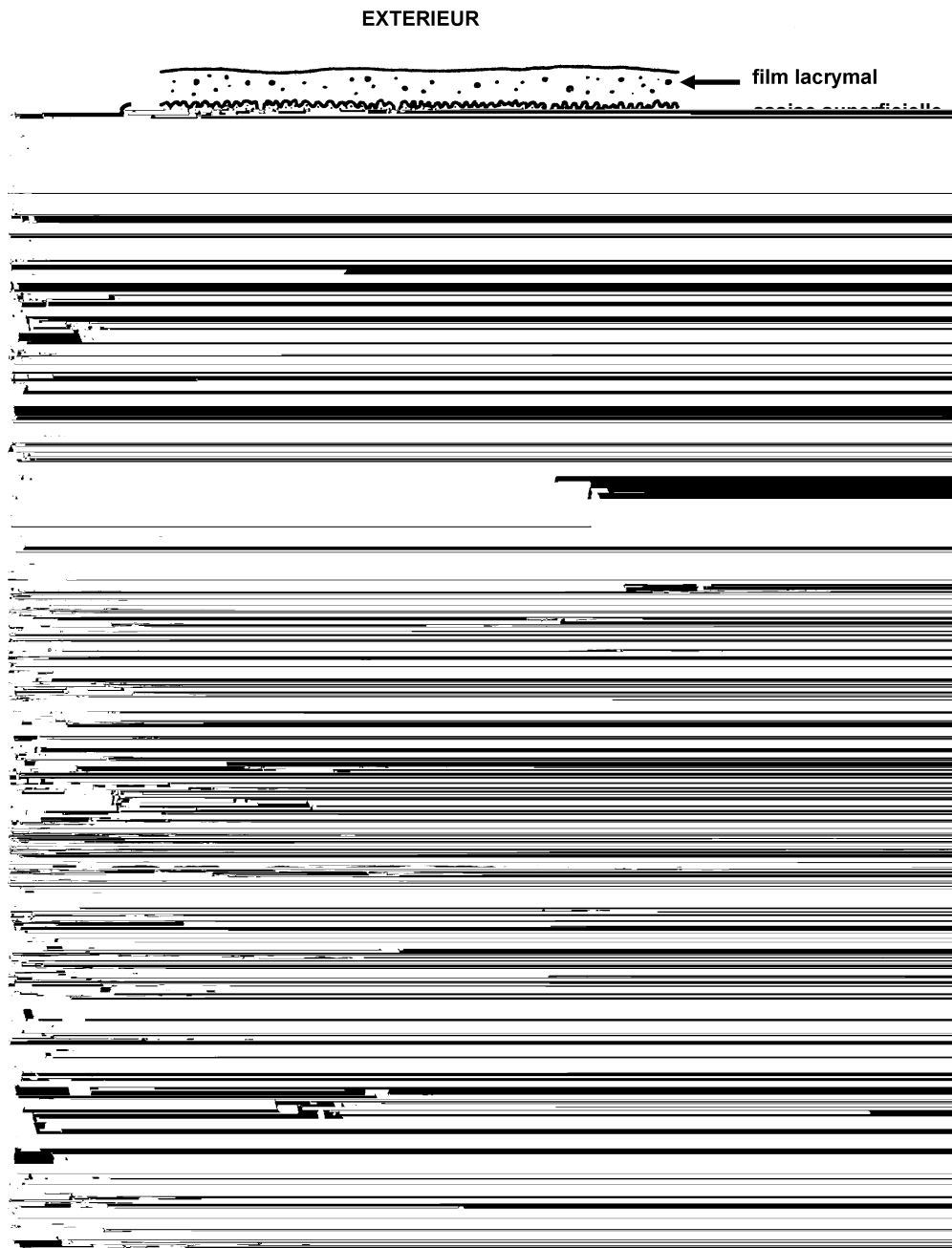


Figure 9 : Représentation schématique de la cornée humaine (d'après Y. Pouliquen). (43)

Les modifications observées au sein de la cornée de chiens atteints de KCS aiguë sont limitées aux couches superficielles :

- L'épithélium peut être plus fin, voire disparaître à certains endroits. Sa couche germinale, quand elle est présente, présente peu de figures mitotiques.
- Le stroma ne présente pas de réponse cellulaire. En effet, on ne peut observer que très peu de leucocytes ou d'autres cellules mononuclées.

Chez les chiens atteints de KCS chroniques on peut aussi constater la présence de vaisseaux superficiels et profonds ainsi que de pigments le plus souvent sub-épithéliaux. On note encore de nombreux plasmocytes et lymphocytes. (1)

3.2 Physiologie.

La transparence de la cornée est due :

- A son absence de vascularisation
- A l'organisation en trames des fibres de collagène du stroma
- A son état latent de déshydratation régulé d'une part par l'épithélium en contact avec le film lacrymal et d'autre part par l'endothélium qui transporte les liquides vers la chambre antérieure.

4 Les conjonctives. (2) (5) (12)

On distingue chez le chien :

- La conjonctive bulbaire, fine et transparente, recouvrant la sclère,
- La conjonctive palpébrale, adhérente à la face interne des deux paupières,
- La conjonctive de la membrane nictitante.

4.1 Structure.

La conjonctive est composée de trois couches :

- Un épithélium stratifié avec des cellules caliciformes à mucus,
- Un chorion,
- Une sous muqueuse.

Les espaces formés par les conjonctives sous les paupières sont appelés les culs-de-sac lacrymaux ou fornix.

4.2 Physiologie.

Les conjonctives bloquent le passage des corps étrangers, limitent la dessiccation oculaire et assurent une défense anti-infectieuse.

5 Immunologie de la surface oculaire. (5) (31)

5.1 Défense immunitaire non spécifique.

Elle résulte de trois phénomènes qui sont des barrières anatomiques, la flore bactérienne et la constitution lacrymale normale.

5.1.1 Les barrières anatomiques.

Elles sont au nombre de trois :

- La première barrière est formée par les cellules épithéliales cornéennes superficielles dont le renouvellement constant lutte contre l'adhésion des micro-organismes ;
- La seconde barrière est constituée des cellules épithéliales profondes et de la membrane basale.
- Le dernier rempart est la membrane de Descemet.

5.1.2 La flore normale.

Des bactéries sont isolées dans 80% des cas à des taux très bas la plupart du temps. La flore normale est constituée en majeure partie de bactéries gram +, en particulier des Staphylocoques. Seulement quelques bactéries gram - ont pu être isolées et ce sont en général des Neisseria. (49)

Il est intéressant de noter que les résultats concernant la flore bactérienne diffèrent selon la race des chiens. En effet, certaines études ont constaté des différences significatives concernant la composition de la flore (61) alors que d'autres n'ont constaté aucune différence (49).

Il a été suggéré que la flore normale pourrait intervenir contre les agents pathogènes en monopolisant le substrat et en produisant des substances à activité antibiotique.

Lors de KCS la flore est modifiée et on constate des différences significatives dans le nombre et le type de bactéries présentes. Le nombre de bactéries rencontré est d'autant plus important que l'atteinte lacrymale est sévère. Tous les types bactériens qui sont rencontrés à des taux élevés sont considérés comme étant potentiellement pathogènes (les Staphylocoques coagulase +, les Streptocoques beta hémolytiques, les Pseudomonas) et sont considérés comme pouvant être à l'origine d'ulcérations cornéennes. (49)

5.1.3 Les larmes.

Elles contiennent comme nous l'avons déjà vu le lysozyme, des lactoferrines et des bêta-lysines ayant un rôle antiseptique.

Elles interviennent aussi de façon essentielle dans le domaine de l'immunité spécifique.

5.2 Défense immunitaire spécifique. (5) (21) (31)

Deux formations majeures interviennent dans l'élaboration de la réponse immunitaire au niveau de la surface oculaire :

- Le tissu lymphoïde associé à la conjonctive ou CALT,
- Les glandes lacrymales.

5.2.1 Le tissu lymphoïde associé à la conjonctive ou CALT.

Le CALT fait partie du tissu lymphoïde associé aux muqueuses (MALT), au même titre que les plaques de Peyer de l'intestin ou le tissu lymphoïde associé aux muqueuses respiratoires et génitales. Tous ces tissus sont reliés entre eux par des précurseurs circulants de lymphocytes B à IgA et sont donc interactifs.

Le CALT est constitué d'un épithélium présentant de nombreuses microvillosités sous lequel on trouve beaucoup de lymphocytes en mitose. Il est drainé par les nœuds lymphatiques périoculaires, parotidiens, sous maxillaires et cervicaux qui drainent également les glandes lacrymales.

Il est spécialisé dans le captage et la présentation des allo-antigènes. Son rôle se situe donc au niveau de l'initiation de la réponse immunitaire.

5.2.2 Immunoarchitecture de la glande lacrymale.

Il n'est pour le moment pas possible, par manque de marqueurs valables, d'identifier chez le chien des sous-ensembles cellulaires au sein des lymphocytes T (38). C'est pourquoi les données présentées ici concernent la glande lacrymale humaine.

5.2.2.1 Importance relative des ensembles cellulaires. (5)

On trouve dans la glande lacrymale un certain nombre de cellules immunocompétentes mononuclées parmi lesquelles :

- Des plasmocytes à IgA qui sont les plus nombreuses. Elles représentent en effet 54 % de cette population, les autres types étant présents mais en faible quantité.
- Des lymphocytes T : 40 %, dont 25 % de T suppresseurs et 15 % de T helper.
- Des lymphocytes B : 6 % qui expriment par ordre décroissant des IgM, D, G et A.
- Des macrophages.
- Des cellules dendritiques.

On trouve donc plus de plasmocytes que de lymphocytes et un ratio global T helper / supresseur = 0,6. Il existe néanmoins des variations selon les différents secteurs de la glande.

5.2.2.2 Localisation.

Elle est sujette à controverse mais il semble tout de même que la distribution de ces cellules dans la glande ne soit pas uniforme. (25) (66)

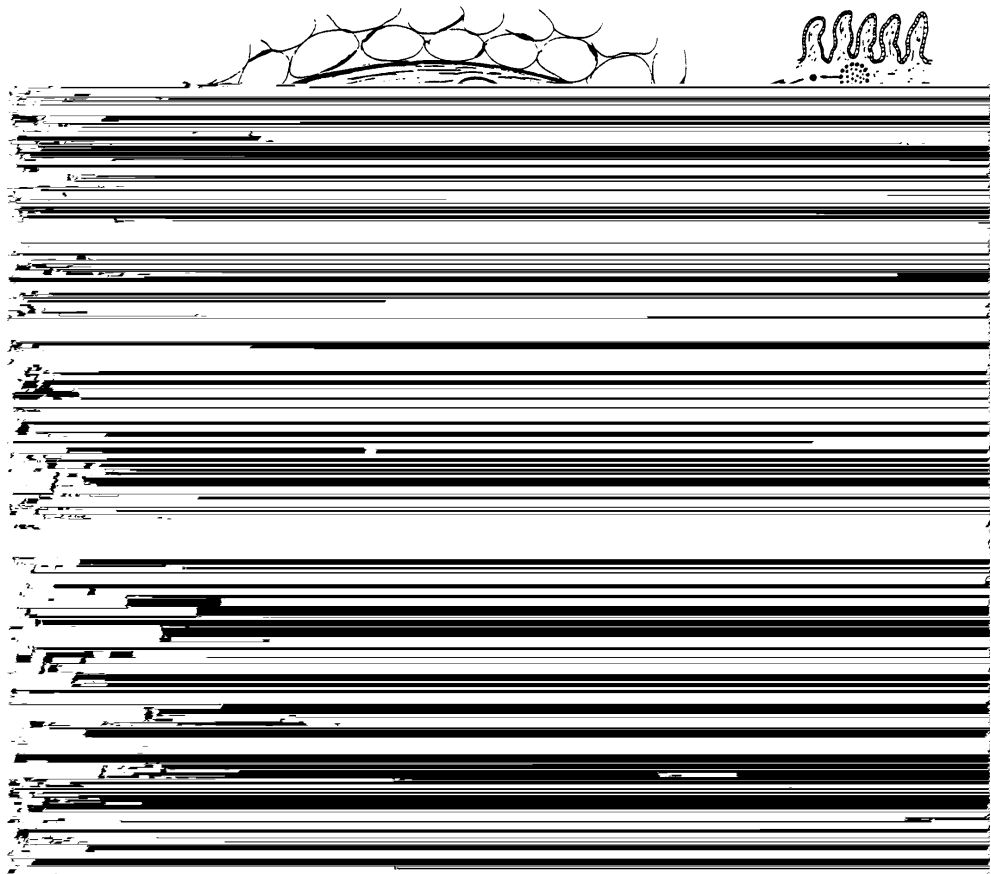
Alors que les plasmocytes se rencontrent d'une manière régulière dans l'interstitium, les lymphocytes ont tendance à se regrouper en formant des agrégats situés de préférence en région péricanaliculaire. Ces agrégats sont constitués principalement de T helper avec un ratio T helper / suppresseur = 2,2 . (5)

Il semble que la quasi-totalité des cellules B, des macrophages et des cellules dendritiques, ainsi que quelques T helper activés, se localise au centre de ces agrégats.

Le rapprochement dans ces structures des T helper et des cellules présentant l'antigène a suggéré aux auteurs qu'elles pourraient être des lieux privilégiés de présentation de l'antigène, les amenant à considérer la glande lacrymale en tant que tissu lymphoïde associé aux muqueuses ou MALT.

Les T supresseurs sont, quant à eux, distribués de manière à peu près équitable dans les acini, les canaux et l'interstitium, où l'on ne rencontre que 16 % des T helper présents dans la glande, avec un ratio T helper / supresseur = 0,26 dans l'interstitium et de 0,2 dans les acini. (5)

Cette forte prédominance des T supresseurs dans l'interstitium témoigne de l'importance du besoin d'immunorégulation de la synthèse d'IgA dans les conditions normales.



Les étapes de la sécrétion des IgA sécrétoires

- 1 - Transport des IgA dimériques (reliés par la Pièce J) des plasmocytes à l'interstitium.
- 2 - Transport des IgA vers l'épithélium d'un acinus.
- 3 - Addition de la pièce sécrétoire (**IE**).
- 4 - Sécrétion des IgA sécrétoires dimériques. (sIgA)
- 5 - sIgA dans la sécrétion lacrymale.

Figure 10 : Immunoarchitecture de la glande lacrymale. (66)

Résumé schématique et semi-quantitatif de la topographie des populations lymphocytaires et plasmocytaires au sein de la glande lacrymale.

Les cellules des acini composant les lobules de la glande lacrymale possèdent des granules de zymogènes (ZG) qui sont synthétisés au niveau du réticulum endoplasmique rugueux (ER). On pense que ces granules sont le site de stockage de facteurs de défense immunitaire non spécifiques comme le glycosaminoglycane, le lysozyme et les lactoferrines. Les cellules myoépithéliales (MYO) s'appliquent à la base des cellules acinaires et sont entourées d'une membrane basale (BM). Les plasmocytes du tissu conjonctif interstitiel sont les cellules les plus nombreuses et synthétisent les IgA dimériques qui diffusent à travers la membrane basale vers les espaces intercellulaires latéraux ou basaux. Les liaisons intercellulaires apicales des cellules acinaires sont étanches et permettent d'éviter une diffusion passive des immunoglobulines dans la lumière. Les IgA sont ensuite transportées dans le cytoplasme des cellules acinaires où une pièce sécrétoire leur est ajoutée, ce qui autorise leur transport vers les lumières acinaires et canaliculaires pour faire partie des sécrétions du système lacrymal. Dans l'interstitium de la glande lacrymale on rencontre à peu près les cinq neuvièmes des lymphocytes T et des plasmocytes, alors qu'on ne trouve que des lymphocytes T dans les espaces intercellulaires acinaires ou canaliculaires. Dans l'épithélium, le ratio T suppresseur / helper est de 5. Seulement 16 % des T helpers sont présents dans l'épithélium, alors que les T suppresseurs sont presque également distribués entre l'épithélium et l'interstitium. La répartition des lymphocytes T dans l'interstitium montre une prépondérance des T suppresseurs sur les T helpers selon un rapport de 3/1 ; ce qui permettrait de contrôler la fonction de différenciation des plasmocytes ou encore un éventuel dérèglement auto-immun. Le seul endroit dans les lobules du tissu lacrymal où les cellules B sont abondantes sont les agrégats lymphoïdes péricanaliculaires, qui sont souvent des follicules primaires sans formation germinale centrale, mais qui peuvent être occasionnellement des follicules secondaires, possédant au centre de plus grandes cellules germinales blastiques. Les lymphocytes B présents dans ces agrégats péricanaliculaires expriment à leur surface le plus souvent des IgM, moins souvent des IgD, et rarement des IgG. Dans les follicules, les T helpers sont prépondérants sur les T suppresseurs selon un ratio de 2, ce qui contraste avec la prédominance des T suppresseurs partout ailleurs dans l'interstitium. Les cellules dendritiques de type Langerhans (OKT6+) et les macrophages monocytes (OKM1+) sont toutes les deux présentes de façon sporadique dans les agrégats pour la présentation de l'antigène, mais nulle part ailleurs dans l'interstitium. Le système immunitaire des glandes lacrymales interagit avec

les autres tissus lymphoïdes associés aux muqueuses (comme les plaques de Peyer), par l'intermédiaire des lymphocytes sanguins circulants, et aussi avec les nœuds lymphatiques cervicaux et périoculaires, via les canaux lymphatiques qui sont présents dans l'interstitium de la glande lacrymale, et nulle part ailleurs dans les tissus mous de l'orbite. Les cellules sombres non marquées peuvent aussi bien être des lymphocytes T ou B. Une fois que s'est effectuée leur différenciation en plasmocytes, de telles cellules ne circulent plus, mais restent fixées dans l'interstitium. On peut noter, en bas à gauche, la possibilité d'un drainage lymphatique d'une cellule dendritique présentant l'antigène.

5.2.2.3 La barrière hémato-lacrymale. (36)

Les glandes lacrymales ont un statut immunologique particulier que leur confère leur micro-anatomie. Les liaisons intercellulaires de l'épithélium lacrymal constituent une véritable barrière immunologique qui isole acini et canalicules du point de vue antigénique. C'est la barrière hémato-lacrymale. On pense que sa rupture, par la libération d'antigènes jusqu'alors non reconnus par le système immunitaire, pourrait déclencher une réponse auto-immune à l'égard de ces structures.

5.2.3 La réponse immunitaire de la surface oculaire. (5)

La captation et la présentation de l'antigène peuvent être réalisées par le CALT dans la conjonctive, et par des macrophages ou des cellules de Langerhans, d'une part au niveau des agrégats de la glande lacrymale, d'autre part au niveau du limbe qui semble receler un grand nombre de ces cellules.

Le tissu lymphoïde associé aux muqueuses (CALT) et les cellules de Langerhans sont responsables de la présentation de l'antigène aux nœuds lymphatiques régionaux. Ceci correspond à la phase de sensibilisation, avec migration des cellules B dans la glande lacrymale et des cellules T dans la sous muqueuse du chorion où ils effectuent leurs tâches respectives.

La réponse immunitaire à médiation humorale se manifeste surtout par la production d'IgA sécrétoires par les plasmocytes de la glande lacrymale. Cependant, bien que seules les IgA soient produites localement, on trouve à peu près tous les types d'immunoglobulines à la surface oculaire, car elles peuvent dans une certaine mesure filtrer à partir de la circulation sanguine.

La réponse immunitaire à médiation cellulaire est due à la libération de lymphokines par les lymphocytes après leur migration, et à leur action sur différents ensembles cellulaires, dont les lymphocytes B, les lymphocytes T cytotoxiques, les cellules killers, les macrophages...

Nous aurons l'occasion d'y revenir.

Les systèmes immunitaires spécifiques et non spécifiques n'agissent pas de manière indépendante mais de concert dans les situations normales. Ils constituent une protection très efficace.

SECONDE PARTIE : LES KCS DU CHIEN

La KCS correspond à une inflammation du segment antérieur consécutif à une insuffisance de production lacrymale. Par conséquent toute cause provoquant une diminution ou un arrêt des sécrétions lacrymales est susceptible d'induire une KCS.

L'incidence des KCS dans l'ensemble de la population canine n'est pas connue. On a malgré tout pu noter un accroissement du nombre de cas passant de 0,04 % en 1965 à 1,5 % en 1988 (6) (37) (38) et 70 % des cas de KCS canine sont bilatérales (26).

1 Manifestations cliniques. (5) (9) (12) (17) (31) (37) (39) (43)

Les signes cliniques sont généralement d'autant plus nets que l'insuffisance lacrymale est importante. Cependant pour une déficience évaluée de façon identique par le test de Schirmer, l'expression des différents signes cliniques peut varier énormément selon les cas.

L'affection est le plus souvent bilatérale, parfois unilatérale, évoluant sur le mode chronique la plupart du temps. Les formes aiguës sont souvent les plus spectaculaires. Lors des formes évoluées, les signes physiques sont caractéristiques. Pour les formes discrètes, il faut avoir recours à différents examens complémentaires.

Les symptômes devant évoquer une KCS sont les suivants :

- Une irritation oculaire : on note un prurit plus ou moins important. L'animal cherche à se gratter et à se frotter l'œil contre les tapis et les meubles. La douleur engendre quelquefois un blépharospasme pouvant favoriser un entropion secondaire. La membrane nictitante peut devenir procidente et une photophobie apparaître.

- La présence de sécrétions mucoïdes et souvent purulentes peut conférer un aspect sale à l'œil. Les sécrétions muqueuses sont souvent augmentées en début d'évolution d'une insuffisance lacrymale. Elles ne trouvent pas à se disperser normalement en l'absence de phase aqueuse suffisante et s'accumulent sur l'œil, les conjonctives et les bords palpébraux.

Ces sécrétions sont souvent très adhérentes à la cornée. La surinfection fréquente donne un aspect muco-purulent.

- Une hyperhémie de toutes les conjonctives plus ou moins marquée avec chémosis, hypertrophie et kératinisation. Ces conjonctives sont infiltrées par des lymphocytes et des polynucléaires neutrophiles.

- Une kératite plus ou moins marquée s'installe parfois précocément au cours de l'évolution de la KCS. Le premier signe est l'aspect terne de la cornée avec la disparition de l'aspect brillant que lui confère normalement la présence du film lacrymal disposant d'une phase aqueuse suffisante. Une néovascularisation abondante, très souvent en pannus, se développe. L'épithélium s'hypertrophie et se kératinise, empêchant le peu de phase aqueuse subsistant de s'étaler convenablement. L'épaisseur superficielle de la cornée est envahie par des lymphocytes et les polynucléaires neutrophiles. Un œdème sous épithélial s'installe. Des précipités lipidiques et calciques ou des pigments peuvent parsemer la cornée épithéliale et stromale superficielle. (37)

La pigmentation peut envahir les couches superficielles de la cornée.

- Des ulcères superficiels peuvent apparaître lorsque des plaques d'épithélium cornéen se dessèchent et sont arrachées par les frictions occasionnées lors des clignements palpébraux dus à l'insuffisance lacrymale. Au centre de la cornée, dans la partie la plus exposée à la dessiccation avec la libération d'enzymes protéolytiques par des germes comme le Pseudomonas ou la libération de protéases endogènes par les polynucléaires neutrophiles peuvent favoriser des ulcères profonds à collagénase. La persistance de certains ulcères cornéens punctiformes peut même conduire à un descemetocèle.

- La cécité peut s'installer suite à l'atteinte épithéliale précédemment décrite. La néovascularisation, l'œdème, la pigmentation et la fibrose sous-épithéliale sont à l'origine de la perte de transparence cornéenne. Cette atteinte est généralement réversible mais à un moindre degré lors d'envahissement pigmentaire. Cette pigmentation est d'autant plus intense et dommageable qu'il s'agit de chiens présentant une lagophtalmie (brachycéphales) ou une conjonctive bulbaire périlimbique très pigmentée.

• La truffe peut être sèche et fendillée, craquelée, encombrée par du mucus, parfois d'un seul côté lorsqu'un seul œil est atteint.

Enfin, le diagnostic est établi avec certitude si les valeurs du test de Schirmer sont inférieures à 10 mm.

Forme aiguë	Forme chronique
Sensation de picotements Prurit oculaire	Affection récidivante
Blépharospasme	Chemosis Cornée irrégulière
Hyperhémie conjonctivale	Cornée peu brillante Cornée vascularisée Cornée ulcérée
Blépharite	Descémétocèle éventuel
Ulcérations de la cornée	Dégénérescence pigmentaire de la cornée
Uvéite secondaire	Chassie
Sécrétions muqueuses	Mucus (narine)

Figure 11 : Principaux signes du syndrome œil sec (d'après 15).

2 Diagnostic. (5) (31) (43)

En dehors des signes cliniques directs, le diagnostic d'une KCS repose avant tout sur l'abaissement de la valeur du test de Schirmer en dessous de 10 mm. Les tests cliniques pouvant être envisagés sont de plusieurs ordres :

2.1 Le test de Schirmer mesure le niveau d'imbibition aqueuse par capillarité, d'un papier filtre placé dans le cul-de-sac conjonctival inférieur de la moitié externe de la fisure palpébrale. Le papier filtre est gradué tous les 5 mm. C'est la première graduation, marquée d'un trait gras, qui est insérée dans le cul-de-sac conjonctival. L'imbibition du papier test est lue au bout d'une minute. Ce test s'effectue impérativement sur une cornée non anesthésiée pour tenir compte à la fois de la sécrétion lacrymale de base et de la sécrétion réflexe. Il est à rappeler que les valeurs normales chez le chien sont comprises entre 11 et 19 mm par minute. (30)

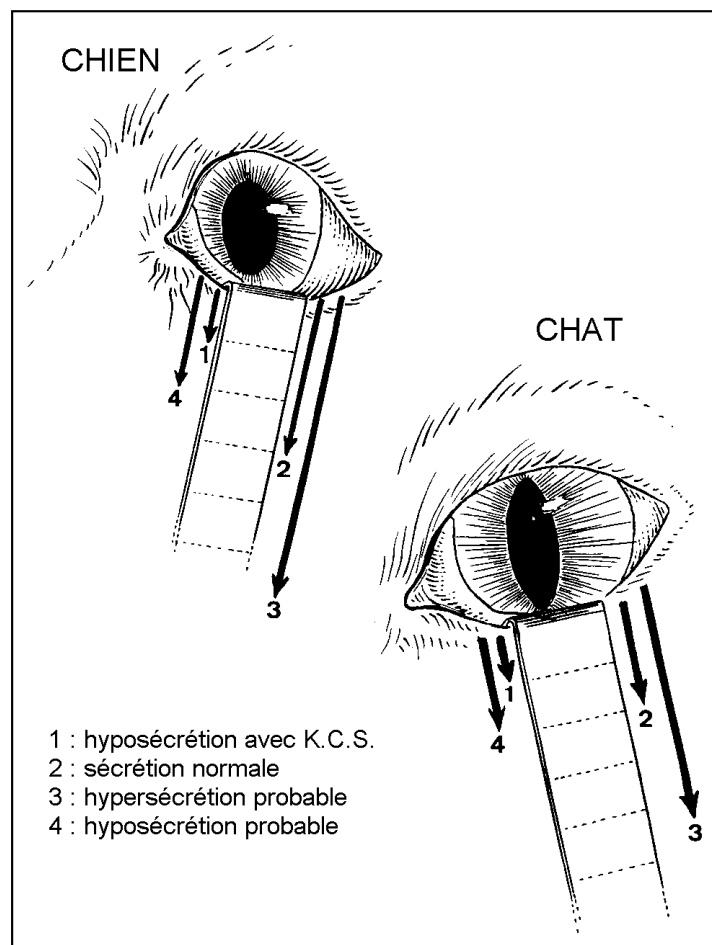


Figure 12 : Test de Schirmer 1. (57)

2.2 Le test à la fluorescéine qui met en évidence des lésions de l'épithélium cornéen et des pertes de substance cornéenne. La fluorescéine est un colorant hydrosoluble orange qui se colore en vert en milieu basique. L'épithélium cornéen constitue une barrière lipophile qui ne permet pas la fixation de la fluorescéine sur une cornée normale. La fluorescéine instillée sur l'œil diffuse dans le film lacrymal et est drainée avec celui-ci. En cas de solution de continuité de l'épithélium, par exemple lors d'ulcération épithéliale, la fluorescéine entre en contact avec le stroma hydrophile et se fixe sur celui-ci.

2.3 Le test au rose Bengale qui est un colorant du mucus, des cellules nécrosées et des cellules en voie de mortification ou de kératinisation. Il permet d'évaluer la souffrance cellulaire dans les cas limites. C'est donc un test indirect de sécheresse lacrymale, circonstance où la mort des cellules épithéliales cornéennes est importante.

D'autres tests existent mais s'ils sont utilisés chez l'homme, ils sont de peu d'intérêt en pratique vétérinaire :

2.4 Le temps de rupture du film lacrymal qui apprécie la qualité de la phase lipidique du film lacrymal.

2.5 Le frottis conjonctival qui démontre la présence de nombreuses cellules épithéliales au stade parakératose et/ou à différents stades de kératinisation. Ce sont généralement des polynucléaires neutrophiles plus ou moins dégénérés qui dominent sur le frottis. De nombreux macrophages sont présents et aussi parfois une flore microbienne développée.

Tous ces différents tests aideront aussi le praticien à établir le diagnostic différentiel d'autres affections purulentes (conjonctivite purulente) ou d'affections induisant la présence de pigments telles que les dystrophies pigmentaires ou la kératite superficielle chronique du Berger.

3 Etiologie. (10) (12) (15) (26) (31) (37) (39) (53)

L'étiologie comporte de nombreux facteurs mais il est d'ores et déjà important de noter que seule une minorité des KCS du chien peut être rapportée à une cause bien précise malgré un examen clinique complet et des commémoratifs détaillés. Actuellement la grande majorité des KCS autrefois classées comme idiopathiques est présumée à médiation immunitaire. Si la sécheresse est bilatérale et qu'aucune cause iatrogène n'a été identifiée, il s'agit dans 80 à 90 % des cas d'une kératite immune (12).

3.1 Facteurs prédisposants.

La race :

En raison de facteurs héréditaires, le West Highland White Terrier, le Cavalier King Charles spaniel, le Lhasa Apso, le Bulldog anglais, le Shih Tzu, le Schnauzer nain (1), le Yorkshire et le Cocker américain (10) (53).

En raison aussi d'une prédisposition chez les chiens à faciès concave et à yeux globuleux chez lesquels se développe une kératite d'exposition suite à une deshydratation excessive du film lacrymal et à un défaut de clignement palpébral (lagophtalmie). La xérostomie est présente chez 10% des cas atteints de KCS (26).

Le sexe :

On peut dégager une majorité de femelles chez le West Highland White Terrier et le Yorkshire (31), respectivement > 70 % et 63 %. Ces chiffres augmentent encore si les femelles sont stérilisées (26).

Les mâles castrés sont aussi plus fréquemment atteints que les mâles entiers (39).

Il peut s'agir d'une atteinte unilatérale, cependant dans trois-quarts des cas l'atteinte est bilatérale.

On pense que cette prédisposition est due à une action régulatrice des hormones sexuelles. On pense que les androgènes comme la testostérone sont des immunosuppresseurs endogènes et qu'ils améliorent donc les maladies à médiation immune. En effet, des études ont montré que des animaux non castrés ont des taux de prolifération des lymphocytes T inférieurs ce qui tend à confirmer l'hypothèse que l'effet protecteur des hormones androgènes ne s'effectue pas à un niveau local mais certainement par voie systémique (22).

La testostérone serait régulée en partie par la prolactine. De faibles concentrations de prolactine favorisent la sécrétion lacrymale tandis que des taux élevés la stoppent. A ce sujet, il est à noter que la testostérone inhibe la sécrétion pituitaire de prolactine. (37)

L'âge :

La sénilité engendre une dégénérescence de la glande nictitante. Les études d'Aguirre et coll. et de Clerc révèlent une répartition irrégulière des cas de KCS selon l'âge. Il existe un pic avant 4 ans et peut être un autre entre 7 et 9 ans (1).

Les travaux conduits par Mentre (43) aboutissent aux mêmes résultats avec un pic de fréquence net à 4 - 5 ans.

Une moyenne de 5,4 ans est trouvée pour les West Highland White Terrier (26).

3.2 Facteurs déterminants.

Diverses causes sont reconnues susceptibles d'engendrer des KCS et peuvent entraîner soit une KCS unilatérale soit une KCS bilatérale.

3.2.1 Facteurs non immunologiques.

3.2.1.1 Facteurs infectieux.

Des maladies générales (en particulier la maladie de Carré) sont souvent accompagnées d'une dacryo-adénite aiguë associée à un arrêt momentané de la sécrétion lacrymale. Parfois, cette dacryo-adénite devient chronique avec la destruction des glandes lacrymales. Son évolution est brutale et bilatérale le plus souvent (10).

Des conjonctivites évolutives, quel qu'en soit le type peuvent s'accompagner d'une déficience lacrymale transitoire ou non. Les phénomènes inflammatoires peuvent en effet entraîner une destruction directe des glandes lacrymales accessoires ou l'occlusion des glandes principales.

3.2.1.2 Facteurs traumatiques.

Ces facteurs sont généralement à l'origine de KCS unilatérale et sont de divers ordres :

- Les traumatismes orbitaires (notamment lors de luxation du globe) ou supra-orbitaires qui engendrent des lésions glandulaires ou nerveuses (10).

- L'ablation chirurgicale de la glande ou de la membrane nictitante, d'autant plus si cela s'effectue chez un animal dont la sécrétion lacrymale est limitée et s'il est prédisposé au développement d'une maladie dysimmunitaire des glandes lacrymales, notamment dans certaines races.

- Les défauts d'innervation de la glande principale consécutifs à une destruction du nerf trijumeau V (voie afférente) ou à des lésions des fibres parasympathiques du nerf facial VII (voie efférente) dus à un traumatisme accidentel, une erreur chirurgicale ou bien encore lors d'otite interne. Ainsi toute paralysie du nerf facial, qui entraîne l'impossibilité de fermer les paupières, provoque une KCS bien que la sécrétion lacrymale soit normale.

3.2.1.3 Facteurs iatrogènes.

De nombreuses substances sont connues pour intervenir dans le déclenchement ou l'aggravation de la KCS. Elles provoquent le plus souvent une KCS d'évolution lente et progressive bilatérale. Les principales sont énumérées ci-dessous :

Les intoxications à l'atropine de par son action parasympathicolytique (l'hyposécrétion est alors en général transitoire), à la belladone et par la toxine botulique.

Les effets secondaires de certains médicaments comme :

- Les dérivés des sulfamides comme la sulfadiazine, la salazopyrine, la sulfaguanidine, le sulfaméthoxazole, la phénazopyridine qui sont supposés avoir un effet toxique sur l'azote contenu dans la pyrimidine des cellules des acini de la glande nictitante. On constate alors une infiltration par des cellules mononucléées et une fibrose glandulaire (4) (7) (14).

La phenazopyridine employé à la posologie de 60 à 90 mg/kg, entraîne une KCS expérimentale transitoire ou définitive en fonction de la durée d'administration. Si le traitement dépasse 3 semaines la KCS est observée (10).

Il est écrit que la KCS apparaît après 1 mois à 2 ans de traitement avec une moyenne de 6 mois (26).

- Des psychotropes,
- Des barbituriques comme le phénobarbital, dont l'effet parasymphaticolytique semble néanmoins sans conséquence clinique chez le chien (7).
- Des anti-épileptiques comme le Planigenil ND qui provoque des infiltrats lymphoplasmocytaires des glandes lacrymales.
- Des neuroleptiques. Là encore leur effet parasymphaticolytique semble sans répercussion clinique chez le chien.
- Des béta-bloquants comme le timolol (Timoptol ND) ou le practolol. On constate une destruction de la glande lacrymale chez l'homme. Leur action n'est pas décrite chez le chien (7).

L'insuffisance lacrymale engendrée est généralement transitoire mais n'est cependant pas toujours réversible après l'arrêt du traitement, en particulier avec les sulfamides (14).

Dans une étude portant sur 13 cas, 3 cas ont vu leur production se normaliser après l'arrêt du traitement et l'âge des animaux affectés s'étendait de 2 à 10 ans (26).

3.2.1.4 Autres facteurs.

Congénitaux.

L'absence congénitale ou l'atrophie des glandes et des canaux lacrymaux. Ces situations sont le plus fréquemment unilatérales et rencontrées chez les races de petite taille telles que les Chihuahuas, les Pinschers nains, les Carlins, avec une grande prédisposition du Yorkshire Terrier.

Atrophie sénile des glandes lacrymales.

Bien que rarement, ces atteintes lacrymales peuvent être associées à d'autres affections à médiation immunitaire comme l'atopie, l'hypothyroïdie, l'hyperadrénocorticisme, le lupus érythémateux systémique, l'arthrite rhumatoïde, le diabète sucré, une hépatite chronique ou une maladie pemphigoïde. (36)

On peut aussi noter d'autres atteintes sécrétoires associées comme la séborrhée ou la xérostomie. Cette dernière déficience associée permet de rapprocher cliniquement la KCS du chien au syndrome de la maladie de Gougerot-Sjögren chez l'homme.

Déséquilibres hormonaux.

Des déséquilibres hormonaux comme ceux induits par la castration peuvent être associés à la maladie. Citons pour exemple la prédisposition des chiennes West Highland White Terriers où le facteur favorisant de la castration laisse supposer un rôle des hormones sexuelles sur la sécrétion lacrymale. Celle-ci serait régulée en partie par la prolactine.

Les cellules des acini des femelles possèdent des récepteurs membranaires pour la prolactine. La prolactine contenue dans le sérum est transportée dans ces cellules, concentrée dans des vésicules sécrétoires et excrétée dans les larmes. Chez les mâles, les cellules des acini synthétisent la prolactine "de novo" et l'excrètent dans les larmes. Les lymphocytes représentent une source majeure de prolactine. De faibles concentrations de prolactine favorisent la sécrétion lacrymale tandis que des taux élevés la stoppent. Il est à noter à ce sujet que la testostérone inhibe la sécrétion pituitaire de prolactine. Les œstrogènes induisent la production d'hormones sexuelles qui se lient à la testostérone et la rendent indisponible. (54) (38)

Les avis sont en revanche partagés concernant l'hypovitaminose A, par exemple engendrée par une insuffisance pancréatique, car l'apport de vitamine A n'a jamais eu de conséquence sur la KCS.

K.C.S. unilatérale
<p>en général une cause accidentelle</p> <ul style="list-style-type: none"> - traumatisme - exérèse chirurgicale (glande ou membrane nictitante) - brûlure - paralysie faciale (nerf VII ; la sécrétion lacrymale peut être présente et seul l'étalement des larmes est modifié)
K.C.S. bilatérale
<ul style="list-style-type: none"> * congénitale (aplasie de la glande lacrymale) * d'évolution brutale <ul style="list-style-type: none"> - inflammation lacrymale (dacryoadénite aiguë uni- ou bilatérale) - maladie de Carré (parfois forme nerveuse isolée) * d'évolution lente et progressive <ul style="list-style-type: none"> - prédisposition chez certaines races (Schnauzer nain, Bulldog anglais, Cocker américain, Lhasa Apso, Shitzu, West Highland White Terrier, Yorkshire Terrier, etc.) - dacryoadénite auto-immune, chronique - dégénérescence sénile des glandes - intoxication ou effets secondaires médicamenteux (diphényl hydantoïne ; psychotropes ; neuroleptiques, atropine ; scopolamine bêta-bloquants comme le timolol ou le practolol ; sulfamides comme la sulfadiazine ou la salazopyrine) - hypovitaminose A (insuffisance pancréatique)

Figure 13 : Diagnostic étiologique des KCS. (15)

3.2.2 Facteurs immunologiques.

Un certain nombre d'éléments donnent à penser qu'une grande partie des KCS, et en particulier les KCS qualifiées d'idiopathiques, sont dues à des troubles immunologiques.

Chez l'homme, les causes auto-immunitaires sont responsables de la grande majorité des sécheresses oculaires. Il semble que chez le chien elles soient nettement sous estimées.

Ce sont les études histologiques et sérologiques (présence d'auto-anticorps circulants) qui suggèrent que les KCS résultent fréquemment d'une destruction glandulaire à médiation immune (6). Par ailleurs 29 % des chiens atteints de KCS présentent des maladies auto-immunes et 32 % ont des maladies cutanées persistantes (26).

4 Histopathologie.

D'après certains auteurs, alors que les glandes nictitantes normales sont facilement localisées, les glandes de chiens atteints de KCS sont de taille réduite et trouver les résidus de la glande s'avère souvent difficile. (6)

Que ce soit en microscopie optique ou en microscopie électronique, aucune étude de glandes lacrymales atteintes n'a permis de mettre en évidence un agent infectieux, même si des microorganismes peuvent être isolés au niveau de la cornée tels que des Staphylocoques ou des Streptocoques par exemple. (52)

En revanche, les études histologiques révèlent une infiltration monocellulaire multifocale avec des degrés variables de fibrose. Les foyers inflammatoires sont peu nombreux. Par contre, on peut observer de grandes zones d'acini apparemment non fonctionnels et non dégénératifs, présentant peu de granules sécrétoires. Ces lésions inflammatoires peuvent aller depuis la présence d'infiltrats multifocaux plus ou moins nombreux jusqu'à l'atrophie et la fibrose.

Les lésions inflammatoires des acini glandulaires ont parfois été classifiées en degrés (37) :

- Degré 1 : les lésions inflammatoires sont représentées par de petits infiltrats de cellules mononuclées.
- Degré 2 : on retrouve alors des endroits où les infiltrats de cellules mononuclées confluent.
- Degré 3 : Les lésions inflammatoires constituées par les cellules mononuclées sont diffuses, on peut observer une fibrose et une atrophie des acini.

Dans les canalicules, les infiltrations peuvent donner des granulomes et provoquent des obstructions avec rétention de matériel sécrétoire contenant des polynucléaires neutrophiles. Une hyperplasie peut conduire au même résultat. Les surpressions induites aggravent l'atrophie de l'épithélium sécrétoire.

Ces observations permettent de rapprocher la KCS du chien du syndrome de Gougerot-Sjögren chez l'homme, la maladie du chien étant limitée à l'atteinte oculaire lors du diagnostic. En effet, ce syndrome est associé à une infiltration et à une prolifération lymphocytaire dans la glande lacrymale. Des cas pris très précocément ont une sécrétion lacrymale diminuée avec des modifications pathologiques multifocales de la glande lacrymale. Les cas pris au dernier stade sont caractérisés par une destruction diffuse du tissu glandulaire sécrétoire.

L'analyse des sous ensembles cellulaires des lignées lymphocytaires T composant les infiltrats des glandes lacrymales a été effectuée chez l'homme et la souris lors de syndrome de Gougerot-Sjögren. Les glandes lacrymales humaines présentent, à l'état normal, une prépondérance en lymphocytes T suppresseurs qui induisent une tolérance vis à vis du tissu lacrymal. A l'inverse dans l'atteinte de Gougerot-Sjögren, les lymphocytes T helpers prédominent. L'absence de lymphocytes T suppresseurs autorise l'installation d'une maladie à médiation immune. L'inversion du ratio lymphocytes T helpers / suppresseurs dont la valeur peut atteindre 1,2 a tendance à augmenter avec la sévérité des lésions. Cette inversion est aussi visible dans les glandes salivaires (lymphocytes T helpers / suppresseurs = 5). Elle montre une prépondérance marquée en lymphocytes T helper, probablement liée au fait que l'hyperplasie lymphocytaire concerne beaucoup les agrégats et très peu l'interstitium. Ces constatations ont une grande importance pour la suite.

Parallèlement il existe une dégénérescence de l'épithélium glandulaire qui semble être la conséquence des infiltrats inflammatoires. Une diminution du nombre de vacuoles d'exocytose dans les acini témoigne d'une déficience fonctionnelle. Les cellules sont encombrées par des gros grains apicaux, ou en déhiscence oedémateuse. Avec la chronicité la fibrose apparaît, les acini se dilatent, les cellules deviennent pâles, leurs contours imprécis et leurs noyaux picnotiques prennent fortement la coloration.

On peut noter aussi la corrélation qui existe parfois entre les lésions microscopiques de la glande lacrymale et la présence de facteurs rhumatoïdes et d'anticorps antinucléaires chez respectivement 33 et 50 % des chiens atteints de KCS (36).

5 Sérologie.

Une étude (36) sur des immunoglobulines sériques fait état parmi les cas de KCS de :

- 67 % d'hypergamma-globulinémie,
- 20 % de macro-globulinémie,
- 16 % de taux élevés d'IgA,
- 20 % de taux normaux pour toutes les Ig.

L'électrophorèse montre une augmentation du taux d'Ig dans 90 % des KCS (37).

On retrouve une élévation des IgG et des IgM dans respectivement 67 et 20 % des cas de KCS (26) (37).

On admet généralement qu'un taux élevé d'anticorps sériques est révélateur de l'activité des organes lymphoïdes en réponse à une stimulation immunologique.

Le dosage des anticorps antinucléaires se révèle positif chez 42 % des chiens atteints de KCS (26) et le dosage des facteurs rhumatoïdes est positif chez 34 % des chiens atteints de KCS (37). Une autre étude les donne positifs pour 30 à 50 % des chiens atteints de KCS (36).

6 Proposition d'un schéma pathogénique de la KCS auto-immune.

6.1 Initiation.

Elle semble être multifactorielle et fait essentiellement intervenir deux phénomènes.

6.1.1 Rupture de la barrière hémato-lacrymale.

On pense qu'une rupture de la barrière hémato-lacrymale, par la libération d'antigènes jusqu'alors non reconnus par le système immunitaire, pourrait déclencher une réponse auto-immune à l'égard de la glande lacrymale.

Cela peut arriver lors de toute infection des glandes lacrymales, et en particulier avec des viroses telles que la maladie d'Epstein-Barr, l'herpesvirose ou la cytomégalovirose chez l'homme, et chez le chien avec la maladie de Carré essentiellement.

On soupçonne de plus ces affections de provoquer des modifications antigéniques au niveau de l'épithélium lacrymal (56).

6.1.2 Hyperactivité des lymphocytes T helpers.

Les glandes lacrymales humaines présentent à l'état normal une prépondérance en lymphocytes T suppresseurs qui induisent une tolérance vis à vis du tissu lacrymal (37).

A l'inverse dans l'atteinte de Gougerot-Sjögren, les lymphocytes T helpers prédominent. L'absence de lymphocytes T suppresseurs autorise l'installation d'une maladie à médiation immune. Ce changement de rapport T suppresseurs / T helpers peut être la conséquence d'une maladie virale initiale (Epstein Barr chez l'homme, Maladie de Carré chez le chien). Une réaction d'hypersensibilité retardée s'installe suite à la modification des antigènes épithéliaux lacrymaux induite par modification des antigènes épithéliaux lacrymaux provoquée par le virus. Une expression anormale du complexe majeur d'histocompatibilité II-antigène sur les acini lacrymaux pourrait être induite par des infections ou d'autres facteurs environnementaux non identifiés en diminuant l'autorégulation et engendrerait une hyperplasie localisée dans les agrégats, d'où l'inversion du ratio T helper / suppresseur. (38)

6.2 Evolution.

6.2.1 Destruction du tissu lacrymal.

Le mécanisme précis de destruction dans ce type de maladie lacrymale auto-immune n'est pas bien connu et reste soumis à controverse. On ne sait pas de façon certaine s'il est dû plus à l'action des anticorps (66) qu'à celle des lymphocytes T (42).

L'hypothèse actuelle implique que les lymphocytes cytotoxiques qui envahissent les glandes adhèrent aux cellules cibles produisant et sécrétant des granules de médiateurs cytotoxiques à l'origine de la lyse osmotique des cellules cibles. Deux enzymes, la perforin et la granzyme A absentes des glandes lacrymales normales sont synthétisées dans les glandes lacrymales humaines atteintes de KCS. Ces enzymes seraient produites par les cellules cytotoxiques sous l'effet de la stimulation par l'interleukine 2. La CsA, en supprimant la production d'interleukine 2 par les lymphocytes T Helper, supprimerait la sécrétion de ces enzymes cytotoxiques. (11) (31) (38) (54)

6.2.2 Installation de la KCS.

6.2.2.1 Rôle de l'insuffisance lacrymale.

Il est fondamental pour tous les types de KCS.

La destruction des glandes séreuses entraîne un déficit de leur sécrétion et par conséquent une rupture de l'équilibre hydrique du film lacrymal précornéen à l'origine de son amincissement et de l'augmentation de son osmolarité. Cette hyperosmolarité, associée à l'insuffisance de la phase aqueuse, crée des désordres au niveau de la surface cornéenne et des couches muqueuses et lipidiques ce qui conduit à une rupture du film lacrymal responsable de la dessiccation de la surface oculaire.

Le mucus n'étant plus dilué il ne peut plus remplir son rôle lubrificateur. Les effets du frottement palpébral viennent donc s'ajouter à ceux du dessèchement pour contribuer à la souffrance cellulaire des épithéliums cornéen et conjonctival.

Les résidus cellulaires quant à eux, stagnent à l'intérieur des canalicules lacrymaux ce qui potentialise leur toxicité pour ces formations.

On aboutit donc à l'instauration des conditions pathologiques favorables à l'apparition des lésions typiques de la KCS.

6.2.2.2 Rôle des phénomènes immuns.

Certains auteurs (37) avancent l'hypothèse que l'extension du processus auto-immun des glandes lacrymales à la surface oculaire pourrait intervenir dans la pathogénie de la KCS. En effet, des biopsies conjonctivales de patients humains atteints de KCS présentent une kératinisation et une hyperplasie des cellules squameuses de la conjonctive. Or, cette métaplasie squameuse apparaît à des endroits envahis d'infiltrats cellulaires inflammatoires principalement mononuclées. Le fait que cette métaplasie squameuse ne s'améliore pas chez des patients traités avec des larmes artificielles contenant du hyaluronate de sodium suggère qu'elle résulte de médiateurs inflammatoires relargués par les infiltrations lymphocytaires plutôt que d'une lubrification insuffisante.

7 Thérapeutique. (5) (12) (15) (17) (31) (37) (39) (43)

Le traitement de la KCS est essentiellement un traitement substitutif et a pour but:

- D'humidifier la cornée sans la laver et sans chasser les films lipidique et muqueux en suppléant la déficience du film lacrymal et en stimulant la production de larmes.
- De contrôler l'infection et l'inflammation.
- De garder l'œil et les paupières propres.

7.1 Traitements médicaux. (12) (31)

7.1.1 Thérapeutique de substitution.

L'emploi des produits de substitution des larmes nécessite un nettoyage préalable de l'œil à l'aide de solutions telles que Ocryl ND ou Dacryoserum ND.

La thérapeutique substitutive des larmes est un élément essentiel du traitement symptomatique de l'insuffisance lacrymale. Elle consiste en l'instillation de collyres dont les propriétés doivent être les plus proches possibles des larmes. Ce sont pour la plupart des macromolécules capables de constituer des solutions visqueuses rémanentes sur la cornée.

7.1.1.1 Les larmes artificielles.

On utilise surtout des solutions isotoniques car les solutions hypo ou hypertoniques, si elles peuvent être indiquées dans les cas graves, sont dangereuses pour les structures oculaires.

Leur emploi est limité par :

- Leur faible durée d'action qui nécessite un usage très fréquent, inapplicable en médecine vétérinaire, et souvent inapproprié car les larmes lavent l'œil de façon excessive.
- La toxicité que peuvent présenter à l'égard de la cornée certains conservateurs.
- Leur déficit en certains éléments vitaux pour la cornée comme le lysozyme, les immunoglobulines ou des nutriments.

De nombreux produits sont néanmoins disponibles :

- Des solutions salines, larmes artificielles ND, qui ont une durée d'action très courte, 5-6 minutes environ, ce qui nécessite un usage très fréquent inapplicable en médecine vétérinaire.
- Des solutions visqueuses transparentes, la méthylcellulose à 0,5 ou 1 % (Méthylcellulose ND) qui présente l'avantage d'allonger le temps de rupture du film lacrymal. Les concentrations ne doivent pas être trop importantes car il pourrait y avoir une lubrification insuffisante. La méthylcellulose s'avère surtout indiquée lors de déficit en mucus.
- De l'alcool polyvinylique (Liquifilm ND) qui possède un temps de contact supérieur à celui d'une solution à 0,5 % de méthylcellulose, malgré une viscosité moindre. Il ne retarde pas la régénération de l'épithélium cornéen. Il est mal toléré pour des concentrations supérieures à 1,4 %, c'est pourquoi son utilisation est déconseillé chez le chien.
- La chondroïtine sulfate (Lacrypos ND) est un mucomimétique à haute viscosité, très hydrophile et bien toléré. Son temps de rétention dans les culs de sac est supérieur à celui de la méthylcellulose et de l'alcool polyvilylique. Il possède également des propriétés cicatrisantes.
- L'acide hyaluronique (Healonid ND, Hyalovet ND) est un polymère hydrosoluble très visqueux ayant la structure d'un gel. Il assure une meilleure protection que les autres mucomimétiques (alcool polyvinylique, méthylcellulose). Mais son prix demeure un facteur limitant important à l'heure actuelle. Il est à remarquer qu'une solution à 1 % d'hyaluronate peut engendrer une gêne qui n'est pas retrouvée à une concentration de 0,1 % (26).

7.1.1.2 Les gels lacrymaux.

Les gels lacrymaux (Lacrigel ND, Gel larmes ND, Ocrygel ND) apportent un compromis très intéressant entre les collyres et les pommades. Il s'agit de polymères synthétiques (carbopol) de haut poids moléculaire et de haute viscosité. Le plus souvent, deux applications quotidiennes sont suffisantes car ils offrent à la surface de l'œil une rémanence supérieure à celle des larmes artificielles.

Des huiles minérales (duratears ND) ; du collagène (humiscreen ND).

7.1.1.3 Autres.

Les pommades présentent l'avantage d'un temps de contact beaucoup plus important que celui des collyres, mais l'inconvénient de diminuer l'oxygénation de la cornée. Il vaudra mieux les appliquer le soir au coucher.

Les inserts sont constitués de polymères hydrosolubles d'hydroxypropyl-méthylcellulose (Lacrisert ND). Ils sont placés dans le cul-de-sac inférieur où ils vont libérer leurs produits constitutifs de façon continue pendant plusieurs heures. Malheureusement, ils sont plutôt mal tolérés chez les carnivores domestiques.

7.1.2 Stimulation de la production lacrymale.

Les substances excito-sécrétrices, comme la pilocarpine, en solution à 1 % ou 2 % (à raison d'une goutte pour 5 kg deux fois par jour per os enfouies dans l'alimentation pour la Pilocarpine collyre à 2 %), peut être utilisée pour relancer la sécrétion d'une glande lacrymale ayant conservé sa capacité fonctionnelle, principalement lorsque l'origine de la KCS est neurologique et consiste en une insuffisance de stimulation des glandes lacrymales par le système para sympathique. (12) (26) (58)

20 % des chiens semblent répondre favorablement à ce traitement dont les limites sont d'une part sa durée d'action peu importante de 3 heures, d'autre part la diminution de son efficacité avec l'évolution de la maladie, et enfin ses effets secondaires dus à son action M1 muscarinique.

7.1.3 Les immunomodulateurs.

Depuis les années 80, nous avons une meilleure connaissance de la pathogénie de la KCS. Ainsi nous avons découverts que la plupart des KCS dites "idiopathiques" relèvent en fait de mécanismes immunitaires. C'est ainsi qu'un immunosuppresseur a commencé à être employé pour le traitement des KCS : la cyclosporine A, dont nous étudierons le mode d'action dans la troisième partie.

Nous pouvons néanmoins déjà avancer qu'une solution topique à 2 % de CsA engendre 58 % de nette amélioration, 28 % d'amélioration modérée et seulement 2 % des cas ne présentent aucune amélioration. L'amélioration moyenne du STT est de 7,7 mm/min (26).

7.1.4 Contrôle de l'infection et de l'inflammation.

Il est nécessaire pour lutter contre l'infection, l'inflammation et l'accumulation de mucus.

On utilise des antibiotiques dans le but de prévenir ou traiter les infections oculaires secondaires (Gentalline ND, Tifomycine ND, Rifamycine ND...). La mise en évidence d'un germe de surinfection par un prélèvement adressé au laboratoire peut orienter la thérapeutique grâce à l'antibiogramme.

On utilise des corticoïdes (Prednisolone, dexaméthasone) pour limiter l'inflammation. Ils peuvent d'ailleurs être utilisés en traitement étiologique lors de maladies auto-immunes à condition que leur utilisation soit étudiée au cas par cas, que leur posologie soit réduite au minimum et que la surveillance de l'état cornéen soit assurée de façon rapprochée.

On peut enfin apporter des mucolytiques (N-acétyl-cystéine), tels que le NAC collyre ND ou le Mycomyst ND, lorsque le mucus est très abondant, particulièrement dans les premières semaines du traitement.

7.2 Traitements chirurgicaux. (12) (31)

En cas d'échec de tous les traitements médicaux proposés ci-dessus, il existe des traitements chirurgicaux qui visent trois buts :

A/ Le remplacement de l'apport lacrymal par un autre liquide physiologique, c'est la transposition du canal de Sténon (12). Les résultats sont satisfaisants dans 90 % des cas (3). Elle correspond à la dissection de la papille et du conduit parotidien puis à sa transposition vers le cul-de-sac conjonctival inférieur après sa tunnellation sous-cutanée. Les complications de sténose du canal ou d'insuffisance de longueur du canal parotidien sont exceptionnelles. Par contre, l'apparition de dépôts calciques palpébraux et cornéens, l'insuffisance sécrétoire ou l'excès de salivation constituent les principaux inconvénients. Cette intervention est fortement contre-indiquée chez le Yorkshire à cause de l'importance des dépôts calciques palpébraux et cornéens.

B/ L'économie du peu de larmes qui existent, c'est l'obstruction temporaire ou définitive des points lacrymaux.

C/ La correction et le traitement des éventuelles complications cornéennes, c'est le recouvrement conjonctival ou la tarsorrhaphie.

D/ La diminution de la surface d'évaporation par blépharorrhaphie.

TROISIEME PARTIE : LA CYCLOSPORINE A.

En 1970, la cyclosporine est découverte au cours de recherches sur de nombreux produits antifongiques. C'est un métabolite de certains champignons du sol appartenant aux fungi imperfecti du groupe *Tolytlocadium inflatum* gams et *Cylindrocarpum lucidum* Booth, isolé dans un échantillon de terre provenant de Hardanger Vidda en Norvège.

En 1972, cette substance, dont l'activité antimycosique est mauvaise, subit un criblage pharmacologique qui met en évidence une activité immunologique immunomodulatrice intéressante.

En 1973, la cyclosporine A (CsA) est isolée parmi une trentaine de cyclosporines.

En 1975 sa structure polypeptidique cyclique de 11 acides aminés est complètement élucidée.

En 1980 elle est synthétisée mais sa production industrielle se fait dans les cuves de fermentation de souches sélectionnées. Un litre de ferment ne produit que quelques grammes de CsA (31).

Dès 1978, elle est utilisée en médecine humaine par voie générale pour lutter contre le rejet de greffes (rein, moelle osseuse, cœur, foie, poumon, cornée). Elle est ensuite employée dans le traitement des maladies à médiation immune, que ce soit par voie générale ou locale. Elle est par exemple utilisée en ophtalmologie dans les cas d'uvéites à médiation immune, dans les uvéites endogènes ou dans les cas d'uvéites de la maladie de Behcet où elle se révèle remplacer avantageusement les immunosuppresseurs cytotoxiques et les corticostéroïdes administrés par voie générale. L'utilisation locale de la cyclosporine A permet d'éviter les inconvénients de son utilisation par voie générale qui sont une grande toxicité, surtout rénale.

Jusqu'en 1985, la thérapie des KCS est purement symptomatique avec l'utilisation de substituts de larmes (38).

L'inconvénient de ce type de traitement réside dans le fait qu'il n'augmente en aucune manière les sécrétions propres du sujet.

A partir de 1985, un nouveau traitement voit le jour : la CsA en traitement local. C'est la vétérinaire ophtalmologiste américaine Renée Kaswan qui la première montre la première l'intérêt de la CsA dans le traitement des KCS du chien. L'avantage de ce traitement réside dans le fait qu'il joue sur deux tableaux :

- Il accroît les sécrétions lacrymales,
- Il diminue les lésions cornéennes et l'inflammation de la conjonctivale et cornéenne.

En effet, si la thérapie à base de cyclosporine est instituée sur des chiens n'ayant pas encore atteint un stade très avancé, le STT s'améliore d'au moins 5 mm/min au bout de 3 mois chez 87 % des patients. Par contre, si elle est instaurée chez des chiens ayant un STT égal à 0 ou 1, une amélioration n'est vue que chez 29 à 59 % des patients (37).

L'expérimentation préliminaire conduite en 92-94 par des cliniciens américains et européens montre des résultats semblables aux USA et en Europe, à savoir une stimulation de la sécrétion lacrymale et une amélioration des lésions de surface chez 70 % des patients environ (33) (48) (54).

En 1995, la molécule est rachetée par le laboratoire Schering Plough et une pommade ophtalmique à base de cyclosporine A a été commercialisée en France : l'Optimmune ND.

L'utilisation de la cyclosporine A dans l'exercice vétérinaire ne s'arrête pas au traitement des KCS. La CsA est aussi utilisée dans le traitement de diverses affections telles que la prévention des rejets de greffe transfixiante cornéenne, les kératites superficielles chroniques des bergers, les infiltrations lympho-plasmocytaires de la membrane nictitante, les kératites ponctuées superficielle des teckels à poils longs, les blépharites auto-immunes du canthus médial, les kératites post-herpétiques des chats (11).

1 Caractéristiques physico-chimiques de la CsA.

1.1 Structure. (16) (60)

La structure de la CsA est déterminée en 1975 (Petcher. Rueger).

La formule moléculaire brute de la CsA est $C_{62}H_{111}N_{11}O_{12}$.

C'est un polypeptide neutre cyclique, composé de 11 acides aminés et son autre appellation est cyclo - (- (E) - (2S,3R,4R) - 3 - hydroxy - 4 - méthyl - 2 - (méthylamino)oct - 6 - énoyl) - (L - 2 - aminobutanoyl) - (N - méthylglycyl) - (N - méthyl - L - leucyl) - L - valyl(N - méthyl - L - leucyl) - L-alanyl - D-alanyl - (N-méthyl-L-leucyl) - (N-méthyl-L-leucyl) - (N - méthyl - L - valyl)).

L'acide aminé a 9 atomes de carbone situé en position 1. Le (4R) - 4((E) - 2 - butényl) - 4,N - diméthyl - L - thréonine, est caractéristique des cyclosporines.

Il n'existe pas une seule substance mais toute une famille : les variations dans la séquence des acides aminés ont permis de mettre en évidence plus de 30 cyclosporines naturelles. Normalement, les souches synthétisent essentiellement la cyclosporine A et accessoirement les cyclosporines B et C. Les autres ne sont produites qu'en quantités minimales ou apparaissent lorsque des précurseurs spéciaux sont ajoutés au milieu de culture.

La CsA est très peu hydrosoluble. C'est la conformation observée dans la forme cristalline qui est la plus stable et ce serait cette conformation que la molécule adopterait dans l'eau. Ceci est particulièrement important puisque des modifications tridimensionnelles, même minimales, peuvent entraîner l'inactivation de la molécule.

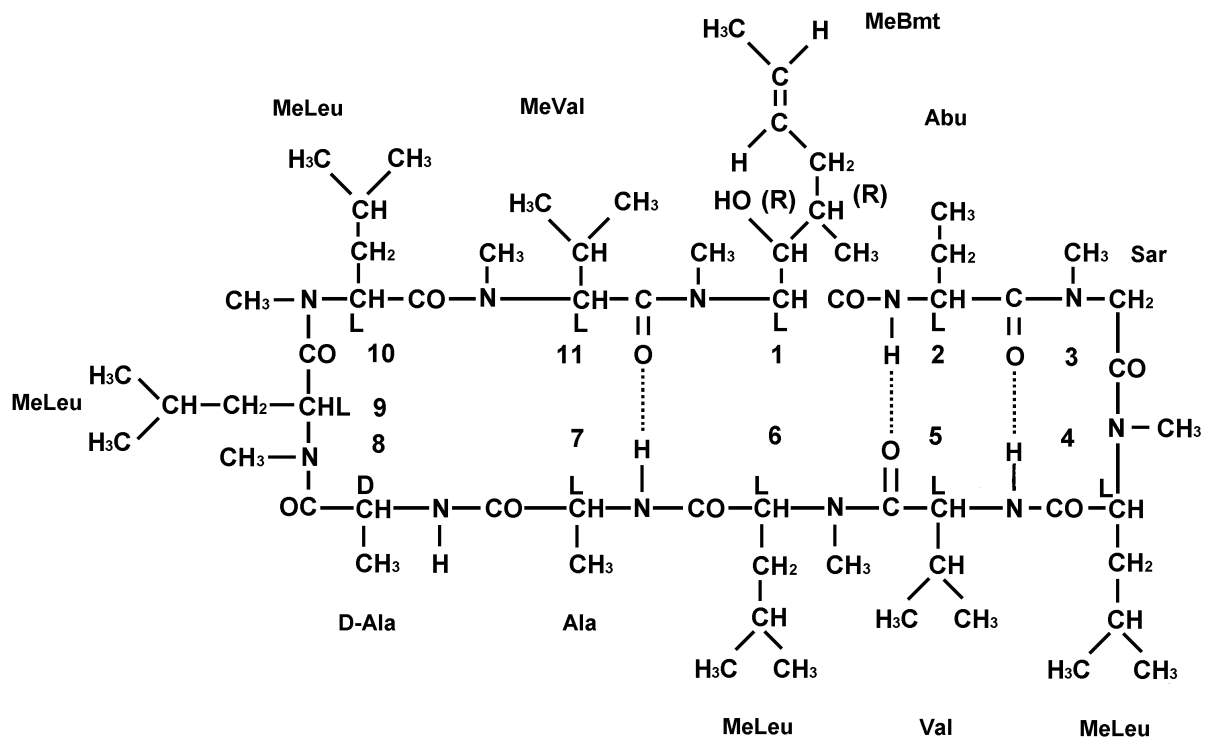


Figure 14 : Structure de la molécule de cyclosporine A. (60)

1.2 Propriétés physico-chimiques. (16) (53) (60)

- Poids moléculaire : 1 202,6 Daltons.
- 12 atomes symétriques.
- Point d'ébullition : 148 - 151°C.
- Molécule neutre relativement stable mais légèrement sensible à la lumière. La CsA peut se conserver au moins deux ans si elle est conservée dans le noir à une température comprise entre 2 et 8°C.
- Elle se présente comme une poudre cristalline, quasiment blanche et inodore.
- Elle est hydrophobe, lipophile et n'est pas dégradée par les enzymes gastriques.

2 Mode d'action.

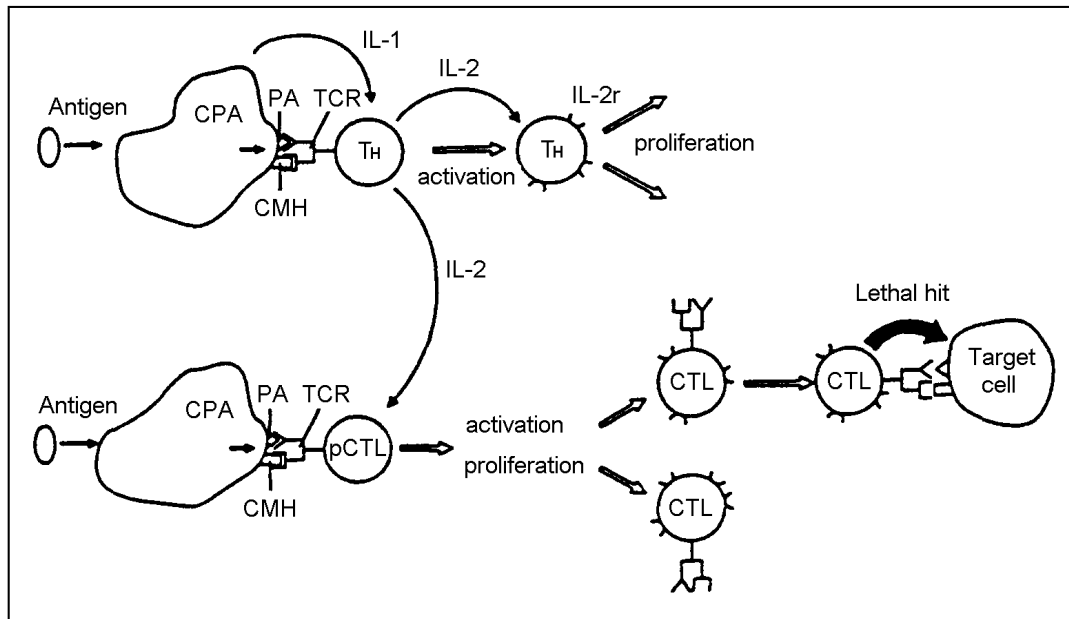
2.1 Rappels sur la réponse immunitaire. (5) (60)

La réponse immune à un antigène dépend de la coopération entre différentes populations leucocytaires. Les antigènes sont présentés aux lymphocytes par les macrophages, ce qui permet la reconnaissance puis la destruction de ce matériel étranger par la réponse immunitaire humorale et cellulaire. La transformation de ces cellules au repos en cellules actives nécessite l'intervention de deux signaux : le signal immunologique spécifique que représente l'introduction de l'antigène et celui non spécifique constitué de la libération de différents facteurs stimulants que sont les lymphokines. (60)

2.1.1 La réponse immunitaire à médiation cellulaire.

2.1.1.1 Les lymphocytes T helpers. (5) (35)

Dans le cas d'antigènes thymo-dépendants, l'étape initiale est la sensibilisation des lymphocytes T helper ou auxiliaire. Ces lymphocytes T helper jouent un rôle prépondérant dans la réponse immune à médiation cellulaire.



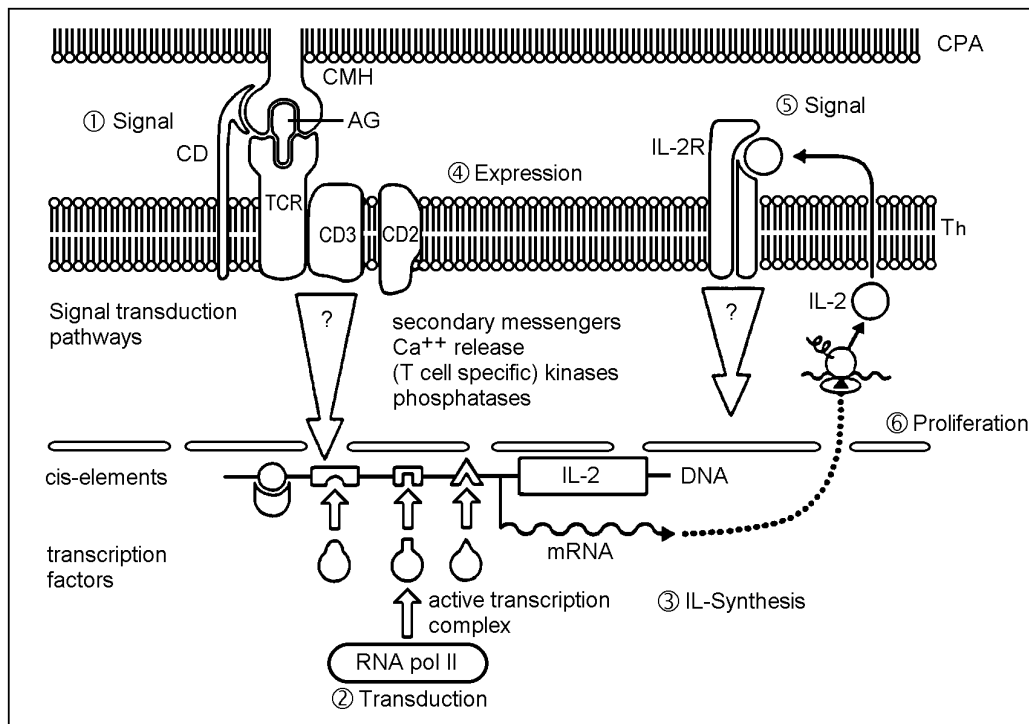
Légende : pCTL : précurseurs des lymphocytes T cytotoxiques ; CTL : lymphocytes T cytotoxiques ; CPA : cellule présentatrice de l'antigène ; TH : lymphocyte T helper ; TCR : récepteur des lymphocytes T

Figure 15 : La réponse immunitaire à médiation cellulaire. (5)

Rencontre avec l'antigène.

Les lymphocytes T ne reconnaissent pas les antigènes à l'état libre. L'antigène doit être phagocyté et transformé par une cellule stimulante (macrophages et cellules dendritiques ou cellules de Langerhans) qui est une cellule présentatrice de l'antigène (CPA). Ces CPA possèdent toutes le complexe majeur d'histocompatibilité II (CMH II) à leur surface. Ce CMH II est trouvé sur toutes les CPA à l'état normal mais il peut aussi être induit par des cellules épithéliales ou endothéliales par exposition à l'interféron gamma. Les cellules épithéliales agissent de façon caractéristiques comme des cellules accessoires en des sites immuns privilégiés. Au niveau oculaire, une exposition à l'interféron gamma conduit l'épithélium cornéen, l'épithélium rétinien pigmentaire, l'épithélium ciliaire et l'épithélium des acini à présenter le CMH II et à fonctionner comme des cellules accessoires.

Reconnaissance de l'antigène par la membrane des cellules T.



CPA : cellule présentant l'antigène modifié ; lymphocyte auxiliaire ;
 CMH : complexe majeur d'histocompatibilité ; AG antigène modifié ;
 CD antigène de la membrane cellulaire ; TCR : récepteur des lymphocytes T ;
 IL : interleukine ; R : récepteur

Figure 16 : Modèle du processus moléculaire d'activation du lymphocyte T. (35)

Les récepteurs des lymphocytes T helpers (CD4+/CD8-) composés de deux chaînes répondent au signal de l'antigène modifié, associé à une molécule du complexe d'histocompatibilité de classe 2. Ceci rend la réaction immunitaire spécifique. Des clones individuels de lymphocytes T helpers ont la capacité de reconnaître et de répondre à seulement un antigène. Ces lymphocytes T helper se lient au complexe de l'antigène par le biais des récepteurs membranaires de la cellule T. Ces récepteurs membranaires de la cellule T sont constitués de deux facteurs :

- Un variable : le récepteur spécifique à cet antigène.
- Un invariable : le site du récepteur au CMH II qui est lié à un récepteur costimulant, le CD 28, qui se lie à un intégrin spécifique, le LFA 3, des cellules présentatrices de l'antigène.

La fonction lymphocytaire associe donc l'antigène à la CPA. L'expression sélective des intégrins modifie les propriétés propres d'adhésion des CPA et modifie ainsi leur action.

Transduction du signal cytoplasmique vers le noyau.

Les lymphocytes T matures sont au repos au stade G0. Quand ils sont activés par la liaison aux récepteurs de la cellule T, la cellule T est stimulée pour entrer dans la phase G1 qui est caractérisée par un accroissement de la taille cellulaire et une élévation rapide de l'activité de transcription. La liaison des récepteurs de la cellule T déclenche une cascade de transformations biochimiques. L'activation cellulaire peut être induite de deux manières :

Une activation non spécifique se produit quand de l'ester phorbol ou des produits inflammatoires (TNF, C5a, PAF) lient le CD3 et le CD2 et stimulent directement la protéine kinase (PKC).

Une activation spécifique se produit quand un antigène spécifique déclenche le récepteur de la cellule T et entraîne une augmentation du turnover du phosphoinositol ; celui-ci engendre un relargage de triphosphate inositol qui mobilise les réserves de calcium intracellulaire et la formation de diacylglycérol qui est un ligand endogène de la PKC.

Activation du gène.

L'activation du génome des cellules se produit dans la phase tardive de G1 en réponse à l'activation de la PKC. Plus de 70 molécules sont régulées au cours de ce processus. Les protéines nucléaires c-fos et c-myc sont transcrites et traduites en protéines 30 minutes après l'activation cellulaire. Ces protéines nucléaires sont probablement impliquées dans la traduction de l'interféron gamma et de l'IL2 qui sont synthétisés 30 à 60 minutes après, et de l'IL3 qui est synthétisé 2 heures après. L'IL4 et l'IL6 sont synthétisées 6 heures après.

Pour activer la transcription des gènes induits par l'antigène, la configuration spatiale de la PKC doit être convenable en vue de sa présentation au chromosome.

Synthèse et sécrétion des cytokines et de leurs récepteurs.

A la suite de la transcription des gènes en réponse à l'antigène et à la synthèse des protéines nucléaires c-fos et c-myc, les cellules T synthétisent des cytokines et des récepteurs des cytokines. Des cellules T activées synthétisent toute une gamme de lymphokines, de récepteurs des cytokines et de facteurs de stimulation des colonies hématopoïétiques.

Ces lymphokines stimulent les monocytes, d'autres cellules T et des cellules B. Toutes les lymphokines ont des actions sur au moins un type de cellules immunocompétentes et certaines ont des effets multiples sur une gamme de cellules immunocompétentes. Les lymphokines stimulent les leucocytes et activent les précurseurs de la moëlle épinière des granulocytes, des macrophages, des éosinophiles, des mastocytes, provoquant ainsi une cascade de réactions inflammatoires.

Prolifération et différenciation des lignées de cellules souches.

De multiples interactions sont nécessaires entre les cellules T et ses facteurs de croissance pour que les cellules T rentrent dans la phase S et se divisent. Une source permanente d'IL2 est nécessaire pour maintenir la réaction inflammatoire.

La lignée des cellules T joue le premier rôle dans la réponse biologique à des antigènes. A travers la production de cytokines et de récepteurs, l'activation des cellules T entraîne une prolifération et une différenciation des cellules T, des monocytes et des cellules B.

2.1.1.2 Les lymphocytes T cytotoxiques. (5) (16) (35) (60)

Les cellules précurseurs des lymphocytes T cytotoxiques (killers) sont activées par des antigènes modifiés présentés en association avec une molécule d'histocompatibilité de classe I et vont exprimer des récepteurs IL-2. L'IL-2 induit la prolifération et la différenciation des lymphocytes T cytotoxiques. Des récepteurs de ces lymphocytes cytotoxiques reconnaissent des déterminants H-2 (antigènes majeurs d'histocompatibilité chez la souris) à la surface des cellules cibles. Ces cellules cibles vont être lysées. C'est la réaction immunitaire cellulaire spécifique.

Les cellules T helper produisent également des facteurs qui stimulent la réponse humorale et donc la production d'anticorps cytotoxiques spécifiques ainsi que des facteurs d'activation des macrophages (MIF-MAF) qui conduisent à une destruction non spécifique.

2.1.2 La réponse immunitaire à médiation humorale. (5)

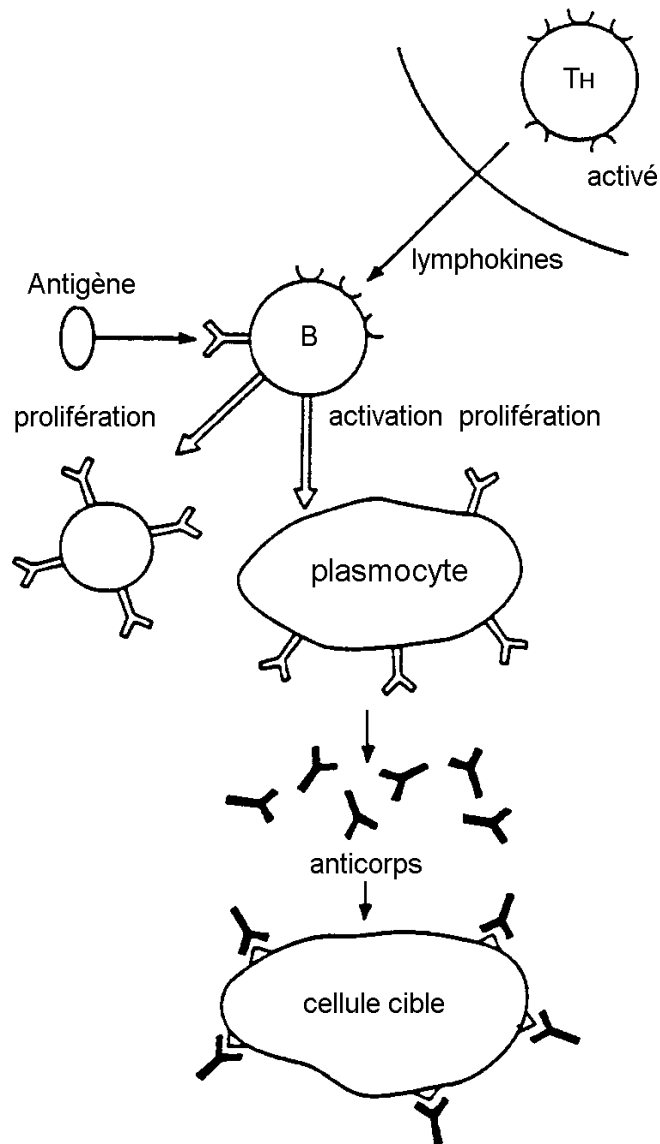


Figure 17 : La réponse immunitaire à médiation humorale. (5)

L'induction des cellules B pour produire les immunoglobulines requiert généralement la présence de deux signaux distincts :

- Le 1^{er} signal est donné par l'interaction entre les lymphocytes Th et les cellules B.
- Le 2^{ème} signal est représenté par les facteurs solubles des cellules T, comme l'IL4 qui est un stimulus potentiel pour la production d'IgE et d'IgG.

Dans le cas d'antigènes thymo-indépendants, l'antigène est présenté directement aux lymphocytes B par les macrophages.

Les cellules B peuvent reconnaître un antigène sous sa forme native, soit libre, soit à la surface de cellules utilisant des immunoglobulines de surface comme récepteurs spécifiques, comme c'est le cas pour une cellule T helper sensibilisée à cet antigène. La réponse humorale est initiée par les anticorps produits par les lymphocytes B. Il y a alors une activation, une prolifération clonale et une différenciation en plasmocytes producteurs d'anticorps. La prolifération et la différenciation des cellules B sont modulées par des médiateurs produits par les macrophages (IL1, IL6, TNF), et par des lymphokines synthétisées par les lymphocytes T (IL2 et IL4).

2.2 Mode d'action de la cyclosporine A. (5) (35) (60)

Le mode d'action de la CsA a été partiellement élucidé. Il est très complexe et s'appuie sur plusieurs actions :

- La CsA agit comme substance immunomodulatrice au niveau des glandes lacrymales,
- La CsA est anti-inflammatoire au niveau des conjonctives et de la cornée,
- La CsA est lacrymomimétique au niveau des glandes lacrymales.

2.2.1 Action immunomodulatrice de la cyclosporine A.

En 1976, des expériences montrent que l'administration de CsA inhibe de façon reproductible et dose dépendante la formation d'anticorps hémagglutinants. En revanche, la CsA ne stoppe pas la multiplication des cellules cancéreuses. Ceci montre que la CsA inhibe la réponse immunitaire par un autre mécanisme que le blocage de la multiplication cellulaire.

Les expériences réalisées in vitro et in vivo démontrent que le compartiment cellulaire le plus touché par l'action inhibitrice de la CsA est celui des lymphocytes T

La CsA représente un mode d'action original d'immunosuppression par son action spécifique sur les lymphocytes. En effet, la plupart des autres immunosuppresseurs sont myélotoxiques car leur action dépend de leur interférence avec le métabolisme de l'ADN. (60)

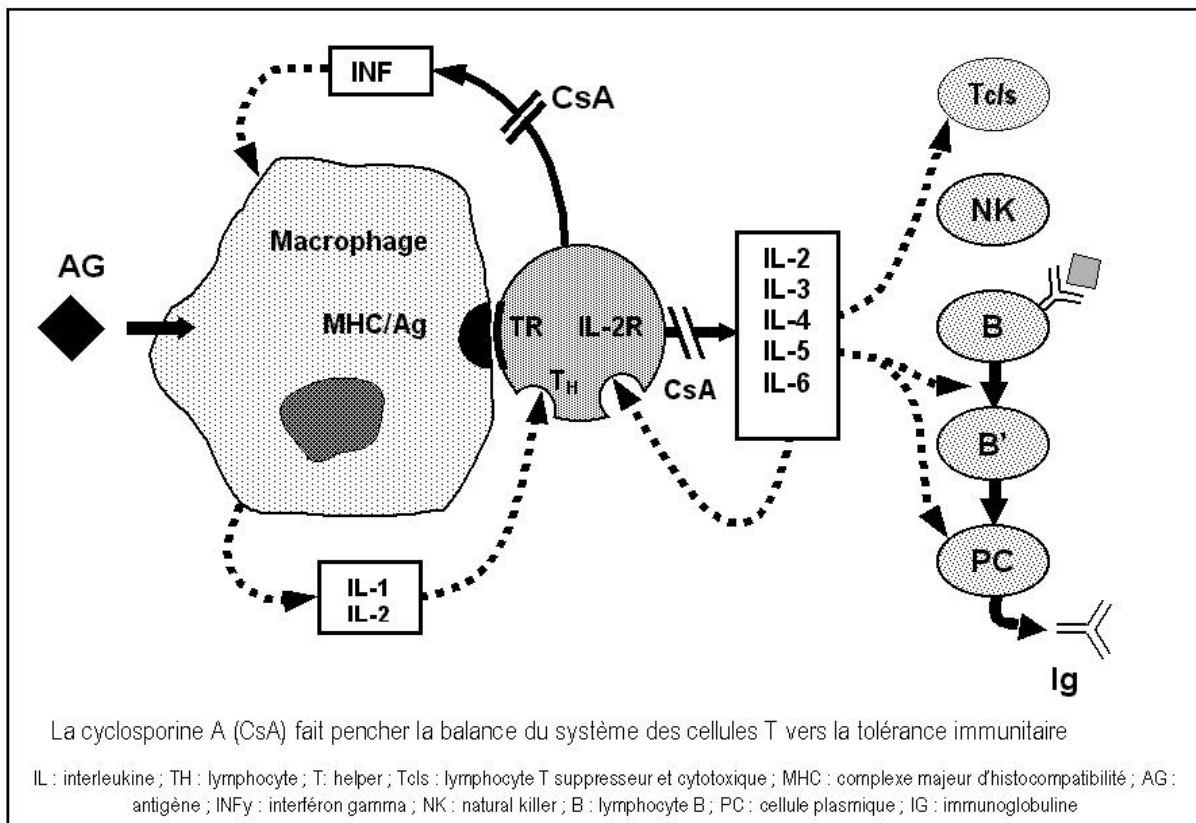


Figure 18 : Mode d'action de la cyclosporine. (35)

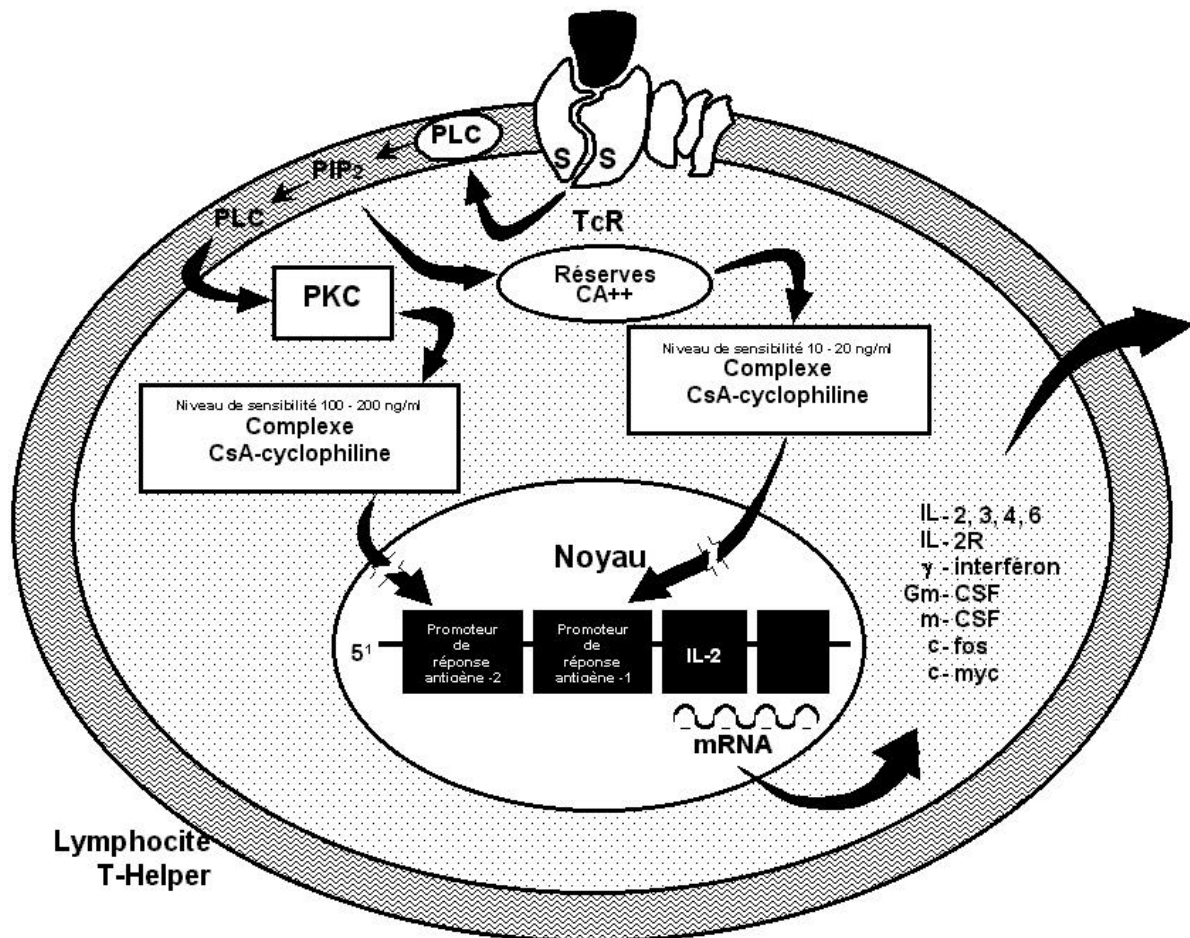
2.2.1.1 Action sur les composants du système immunitaire.

Les effets de la CsA s'effectuent au niveau de la voie afférente de la réaction immunitaire, c'est à dire la phase de la réaction immunitaire au cours de laquelle il y a reconnaissance d'un antigène et mobilisation des cellules pour y répondre.

2.2.1.1.1 Effets de la cyclosporine A sur les lymphocytes T. (5) (16) (35)

2.2.1.1.1.1 Inhibition de la prolifération.

La CsA inhibe la prolifération des lymphocytes T induite in vitro par des mitogènes non spécifiques (pokeweed, phytohéماغglutinine, concanavaline A), ou spécifiques (antigènes allogéniques des cultures mixtes lymphocytaires), à des concentrations inférieures à 100 ng/ml, sous réserve qu'elle soit administrée au stade initial de leur activation, avant l'entrée en phase G1 de leur cycle cellulaire. En effet, la CsA bloque le passage du stade G0 au stade G1 en intervenant après les phénomènes membranaires qui suivent la reconnaissance de l'antigène par le lymphocyte T.



CsA : cyclosporine ; PKC : protéine kinase C ; PLC : phospholipase C ;
 DAG : diacylglycerol ; PIP2 : phosphatidyl inositol diphosphate

Figure 19 : Mode d'action de la CsA au sein du lymphocyte. (35)

Il ne semble pas que la CsA interfère au stade de la reconnaissance de l'antigène par la membrane des cellules T en se liant au complexe des récepteurs de la cellule T. Néanmoins, l'expression du LFA1 est régulée par des cytokines. Or nous verrons que la CsA inhibe la production de cytokines.

Lors de la transduction du signal cytoplasmique vers le noyau, la CsA n'inhibe pas l'influx de calcium mais inhibe la voie d'activation calcium-dépendante. Le blocage de l'activation par la CsA se produit après les signaux émis par le calcium et la protéine kinase.

La CsA n'a plus d'effet une fois que les gènes codant pour les lymphokines et leurs récepteurs sont activés. La prolifération de lymphocytes T cytotoxiques déjà formés n'est donc pas inhibée. L'administration de CsA doit donc être très rapprochée de la stimulation antigénique ou mitogénique.

Cette inhibition n'est pas à mettre en relation avec un effet cytotoxique de la CsA puisqu'une incubation de 24 heures des lymphocytes T avec de la CsA n'affecte pas leur capacité à répondre à une stimulation par des mitogènes dès que la CsA est éliminée du milieu. D'autre part, l'action immunosuppressive de la CsA est réversible. En effet, l'addition d'IL-2 exogène in vitro lève l'inhibition des réactions prolifératives et l'interruption de la thérapeutique par la CsA in vivo entraîne le rejet de l'allogreffe. (22) (60)

2.2.1.1.1.2 Cas des lymphocytes T helpers.

La CsA, en bloquant la transduction intracellulaire par la constitution d'un complexe Cyclosporine-Cyclophilin, empêche la cellule T helper de produire les nombreuses cytokines (dont l'interféron gamma et les facteurs d'activation des macrophages) qui interviennent dans la prolifération de très nombreuses cellules immunocompétentes. L'IL2 et l'IL4 notamment ne sont plus présentes pour stimuler les lymphocytes cytotoxiques qui envahissent la glande lacrymale et adhèrent aux cellules cibles. De ce fait les lymphocytes cytotoxiques ne produisent plus et ne libèrent plus les granules de médiateurs à l'origine de la lyse osmotique des cellules cibles. C'est ainsi que chez l'homme deux enzymes normalement absentes dans les glandes lacrymales normales, la perforin et la granzyme A ont été identifiées dans les glandes atteintes de KCS auto-immune.

La CsA bloque donc la production des lymphocytes T helpers en inhibant leur production d'interleukine 2 ce qui empêche leur prolifération clonale. Cette inhibition engendre le blocage de toutes les réactions auxquelles participent normalement les lymphocytes T helpers. C'est ainsi que la CsA bloque la réponse humorale aux antigènes thymodépendants in vivo et in vitro.

2.2.1.1.1.3 Cas des lymphocytes T cytotoxiques.

La présence de CsA lors de la stimulation de lymphocytes T par des alloantigènes empêche directement la génération des lymphocytes T cytotoxiques (CD8+/CD4-). L'activation et l'amplification des lymphocytes T suppresseurs n'est pas inhibée par la CsA. Les auteurs (25) pensent qu'il s'agit probablement d'une résistance des T suppresseurs à cette molécule.

Néanmoins, l'inhibition de la production d'IL-2 peut indirectement inhiber les T suppresseurs pour des hautes concentrations de CsA (1 µg/ml).

L'action de la CsA sur les lymphocytes T cytotoxiques s'effectue à deux niveaux :

- Elle empêche leur extension clonale en inhibant la synthèse d'interleukines 2 par les lymphocytes T helpers. Cette inhibition s'effectue à des concentrations très basses en CsA (10 à 20 ng/ml) (35).
- Elle inhiberait l'activation du précurseur des lymphocytes T cytotoxiques en inhibant la génération des protéines des récepteurs à l'IL2 des lymphocytes T cytotoxiques. Cette inhibition est moins sensible à la CsA puisqu'elle est inhibée de 50 % à des concentrations égalant 100 à 200 ng/ml (35).

2.2.1.1.1.4 Cas des lymphocytes T effecteurs des réactions d'hypersensibilité retard.

Cette sous-population de lymphocytes T intervient dans les rejets de greffon. En effet, leur activation induit la synthèse de facteurs chimiotactiques qui attirent des cellules phagocytaires sur le site de la greffe ce qui entraîne une réaction d'hypersensibilité de type inflammatoire.

La CsA ne stoppe pas cette sous population. Cependant, la CsA inhibe les synthèses d'interféron gamma et des facteurs chimiotactiques. Ceci est particulièrement important puisque l'interféron gamma est synthétisé par des lymphocytes T qui sont directement impliqués dans les réactions d'hypersensibilité retard et contribue à la rétention des cellules phagocytaires sur le site inflammatoire.

2.2.1.1.2 Effets de la cyclosporine A sur les lymphocytes B. (5) (16) (35) (40)

Les effets de la CsA sur la prolifération in vitro des lymphocytes B en réponse à des activateurs polyclonaux ont été étudiés.

La CsA inhibe la synthèse d'anticorps, après stimulation par des antigènes thymodépendants de la lignée B (inhibition des hémagglutines de souris dirigées contre des globules rouges de mouton, expérience princeps 1972), tandis que la production d'anticorps après stimulation par des antigènes thymo-indépendants (lipopolysaccharides d'E. Coli, Epstein-Barr Virus) est conservée. (40) (60)

La CsA inhibe donc la réponse immunitaire humorale dépendante de la sécrétion de lymphokines par les cellules T activées et elle n'a, par contre, quasiment aucun effet sur la prolifération des cellules B et la production d'anticorps induite par la présence de lipopolysaccharides d'origine bactérienne jusqu'aux concentrations élevées de 1 mg/ml. Elle n'inhibe donc pas les réactions immunitaires dues à des infections microbiennes.

Pour certains auteurs, il existerait une action directe de la CsA sur les lymphocytes B (inhibition de la réponse au B Cells Growth Factor par exemple). Elle semblerait donc bloquer un événement précoce de la prolifération des lymphocytes B mais n'a pas d'effet sur les phases tardives de la prolifération et de la différenciation.

2.2.1.1.3 Effets de la cyclosporine A sur les macrophages et les cellules Natural Killer. (5) (16) (35)

Une des fonctions essentielles des macrophages est de présenter l'antigène aux lymphocytes T. A des concentrations élevées, la CsA peut inhiber cette fonction mais il est difficile de dire si cet effet est direct ou s'il passe par l'inhibition de la synthèse de lymphokines par le lymphocyte T. Les données divergent quant à l'action sur les macrophages, en particulier concernant la production d'IL-1. Si une inhibition a lieu, elle est en tout cas très faible et l'activité phagocytaire, le chimiotactisme et les effets cytotoxiques des macrophages ne sont en tout cas pas affectés par la CsA. Le seul effet appréciable de la CsA sur les cellules accessoires réside dans l'interruption de l'interaction entre les lymphocytes T-lymphokine dépendant et les macrophages.

La CsA a des effets minimes sur l'activité des cellules natural killer et sur la différenciation ou la maturation des cellules killers activées par les lymphokines.

Au total, la CsA déprime fortement la réponse immunitaire à médiation cellulaire, qui joue un rôle essentiel dans le rejet de l'allogreffe, la maladie du greffon de l'hôte, l'hypersensibilité retardée et l'auto-immunité.

2.2.1.2 Action moléculaire de la cyclosporine A.

2.2.1.2.1 Fixation de la CsA sur des récepteurs.

La CsA peut se fixer à des liposomes ce qui reflète son association préférentielle aux bicouches lipidiques. Au niveau cellulaire, il est très probable que la CsA traverse passivement la membrane plasmique et trouve sa cible dans le cytoplasme, notamment la calmoduline et la cyclophiline (28).

Ces deux enzymes régulent la transcription de l'ADN en réponse à des activateurs cellulaires de surface comme l'attachement d'antigènes ou l'interleukine.

2.2.1.2.1.1 La calmoduline. (16) (18) (65)

La calmoduline est une protéine de 19 kD qui fixe le calcium et régule certaines enzymes impliquées dans l'activation des cellules. La CsA se fixe sur la calmoduline en présence de calcium ce qui annulerait l'activité stimulatrice de la protéine sur la phosphodiesterase spécifique des nucléotides cycliques. Cette fixation est aussi température dépendante (35) (65). Mais, in vivo, la calmoduline ne semble pas être la cible principale de la CsA. En effet, on ne retrouve pas d'affinité de liaison de la CsA à la calmoduline aux concentrations nécessaires pour l'obtention d'un effet biologique de la CsA (18).

2.2.1.2.1.2 La cyclophiline. (16) (18) (35) (37)

La cyclophiline est une immunophiline dont le rôle est d'assurer la présentation correcte de la protéine kinase au chromosome. Les immunophilines agissent comme des chaperons cellulaires pour apporter les protéines kinases à proximité des gènes promoteurs pour initier la transcription des cytokines. La cyclophiline a été la première immunophiline identifiée et elle se lie avec une stéréospécificité parfaite avec la CsA.

La cyclophiline est une protéine ubiquiste abondante. Elle est trouvée à des taux élevés dans les cellules T mais aussi dans les compartiments cytosoliques et nucléaires de toutes les cellules (35). C'est une protéine de 15 kD qui représente 0,1 à 0,4 % des protéines cellulaires.

La liaison de la CsA à la cyclophilline, dans un rapport de 1:1 semble spécifique et de forte affinité. Des acides aminés de la CsA sont ainsi impliqués dans la liaison à la cyclophilline et d'autres constituent son domaine effecteur. Une modification de ces derniers entraîne une diminution importante de l'activité immunosuppressive de la molécule. La cyclophilline possède une activité enzymatique de peptidyl-propyl-cis-trans-isomérase qui facilite le repliement et le maintien de la structure tertiaire des protéines, nécessaire notamment dans les phénomènes de transduction des signaux intracellulaires.

En se liant à la cyclophilline, la CsA inhibe son activité enzymatique de manière dose dépendante, à des concentrations identiques à celles nécessaires pour l'immunosuppression. Plus précisément, c'est le complexe cyclophilline-CsA qui constituerait l'élément clef de l'activité immunosuppressive en ayant pour cible la calcineurine, une sérine tréonine phosphatasique dépendante de la calmoduline. Le complexe CsA-cyclophilline inhibe la transmission du signal calcium dépendant et le relargage consécutif du contenu des granules sécrétoires des mastocytes.

Le ligand naturel de la cyclophilline est la prolactine. Or *in vivo*, la prolactine joue un rôle immunopermisif. Les lymphocytes produisent un peptide prolactin-like qui joue un rôle critique dans le cycle des lymphocytes. Des anticorps antiprolactine inhibent les cellules lymphoïdes en réponse à des facteurs de croissance. Or sans le signal immunopermisif de la prolactine, les lymphocytes ne peuvent pas répondre à ces facteurs de croissance.

La prolactine a été identifiée dans les acini glandulaires et dans les larmes et il existe des récepteurs à la prolactine dans les acini. Une hypothèse suggère que dans les KCS à médiation immune, la sécrétion des lymphokines locales inclue la protéine prolactin-like. Cette protéine pourrait inhiber la régénération des acini, la production de granules sécrétoires et la sécrétion des granules.

Des expériences montrent que la prolactine sert à limiter la sécrétion lacrymale à des stades normaux mais que la CsA abolit cet effet (37).

La CsA inactive la régulation des récepteurs à la prolactine dans les tissus lacrymaux. Ceci expliquerait les délais de 2 - 3 semaines nécessaires à l'observation d'un effet après l'administration de la CsA, par la régénération des cellules et des granules sécrétoires dans les acini dégénérés. Cela expliquerait aussi le délai de 3 heures nécessaire à la restauration de la sécrétion lacrymale après un arrêt du traitement à la CsA par des effets directs sur la sécrétion.

2.2.1.2.1.3 La calcineurine.

La calcineurine est composée de deux sous-unités A et B. La sous-unité A est catalytique alors que la sous-unité B est régulatrice. Elle est présente principalement dans le cerveau et dans les muscles du squelette, mais on la trouve aussi en faible quantité dans les lymphocytes.

Lors de l'activation des lymphocytes T, on note une augmentation de l'activité phosphatasique de la calcineurine associée à une augmentation de la concentration des ions calcium. Or cette activité phosphatasique semble être nécessaire au transport de la sous-unité cytoplasmique du NFAT (Nuclear Factor for Activated T cells) vers le noyau.

Le complexe CsA-cyclophilline se lie de manière compétitive, directement à la calcineurine, et indirectement, par la calcineurine, à la calmoduline. Il inhibe l'activité phosphatasique de la calcineurine et empêche donc le transport dans le noyau des facteurs de transcription.

2.2.1.2.2 Effets sur la synthèse des lymphokines.

2.2.1.2.2.1 Cas de l'interleukine 2. (16) (24) (35) (60)

La CsA agit au niveau cytoplasmique en inhibant l'accumulation et la transcription de l'ARN messager codant pour l'IL-2. Le rôle de la CsA sur l'expression du récepteur à l'IL-2 reste controversé. (60)

L'activité du gène IL-2 est essentiellement contrôlée par un promoteur (séquence d'ADN à laquelle se fixe l'ARN polymérase). Pour pouvoir fonctionner, le promoteur du gène doit se trouver dans une certaine configuration et, pour cela, requiert la présence de protéines dénommées facteurs de transcription. La protéine de transcription la plus caractéristique est le NFAT (Nuclear Factor for Activated T cells) composée d'une sous-unité nucléaire et d'une

sous-unité cytoplasmique. Cette dernière doit être transportée dans le noyau pour se coupler avec la sous-unité nucléaire. La CsA bloquerait cette translocation.

L'action inhibitrice de la CsA sur la synthèse d'IL-2 est le phénomène le plus sensible à la CsA : la concentration de CsA nécessaire pour avoir 50 % d'inhibition n'est que de 10 à 20 ng/ml (24) (35).

2.2.1.2.2 Cas des autres lymphokines. (28)

La CsA inhibe la synthèse d'un grand nombre de lymphokines : IL-3, IL-4, IL-5, interféron gamma.

En revanche, il n'est pas bien établi que la CsA inhibe la synthèse des facteurs nécrosants des tumeurs TNF alpha et TNF bêta, du GM-CSF (facteur stimulant la formation de colonies de granulocytes et de macrophages), et de l'IL-1 par les macrophages (28).

2.2.1.2.3 Effets sur les récepteurs de l'interleukine 2. (18) (35)

Des résultats variables ont été trouvés par différents groupes quant aux effets de la CsA sur l'expression de la chaîne alpha, au niveau des ARN messagers comme au niveau de l'IL2 et de ses récepteurs. Ces différences peuvent avoir plusieurs origines, dont :

- La dose de CsA employée
- Le type d'activateur utilisé pour stimuler la synthèse d'IL2 par les lymphocytes T
- La présence ou non d'IL2 dans le milieu, car l'IL2 augmente la transcription de la chaîne alpha de son récepteur
- La durée écoulée entre la stimulation des lymphocytes T et l'étude de l'effet de la CsA
- Le type de détection utilisé : ARN, protéine ou test biologique.

Kaswan (35) a trouvé que la synthèse du récepteur à l'IL2 est inhibée à des taux de 100 à 200 ng/ml alors que la production d'IL2 et de l'interféron gamma est inhibée à des doses égalant 10 à 20 ng/ml.

Au bilan, les effets de la CsA sur les fonctions lymphocytaires peuvent s'expliquer par son effet inhibiteur de la synthèse de lymphokines et de certains de leurs récepteurs. Ceci confère à la CsA une activité très spécifique et intervient au sein des réponses immunitaires cellulaires et humorales sans inhiber la réaction immunitaire aux infections bactériennes. C'est pourquoi le terme d'immunomodulateur lui convient mieux que celui d'immunosuppresseur.

2.2.2 Activité anti-inflammatoire. (35)

La cyclosporine a un effet anti-inflammatoire en agissant directement au niveau des lymphocytes qui ont envahi la cornée et les conjonctives. Elle supprime notamment la mise en jeu de facteurs initiaux de l'inflammation :

- Elle inhibe la sécrétion de l'interleukine 2 qui favorise la néovascularisation cornéenne.
- Elle inhibe la libération des granules sécrétoires des basophiles et des mastocytes.

Plus généralement, lors de KCS, la CsA améliore la surface oculaire en supprimant la production des médiateurs solubles de l'inflammation présents dans le film lacrymal. Ainsi, les facteurs de croissance et les protéines solubles sont normalement présentes dans les sécrétions lacrymales. Au cours de l'inflammation, des neutrophiles des conjonctives ajoutent des enzymes au film lacrymal. Ces enzymes lacrymales peuvent initier et entretenir une kératite chronique, une kératolyse stérile et des ulcères cornéens à médiation immune (35).

Des études *in vitro* suggèrent aussi que la CsA pourrait directement affecter la prolifération et la kératinisation des cellules épidermiques. En fonction des conditions, des faibles doses de CsA inhibent la prolifération et la kératinisation de l'épiderme. Il existe aussi une dose dépendante inhibant la croissance des cultures malignes comme le carcinome squameux, le mélanocarcinome, l'adénocarcinome. Ces études suggèrent qu'en plus des effets antiinflammatoires, la CsA pourrait agir directement pour inhiber la kératinisation et l'hypertrophie de l'épithélium cornéen caractéristiques des KCS chroniques.

2.2.3 Activité lacrymomimétique. (5) (19)

Cette activité lacrymomimétique n'est pas parfaitement élucidée. Elle est constatée par l'augmentation du test de Schirmer après instillation de CsA, même sur des yeux normaux. Cette augmentation se fait d'ailleurs aussi bien sur la phase aqueuse que sur le profil des protéines lacrymales physiologiques. La CsA joue donc un rôle bénéfique à la fois sur la quantité et la qualité du film lacrymal (19).

Elle est supposée intervenir par le biais d'une inhibition de l'activité de la prolactine. La CsA inhibe de manière compétitive la liaison de la prolactine (modulateur de la sécrétion lacrymale) à son récepteur intracellulaire : la cyclophilline, au niveau des acini lacrymaux. Par son effet antagoniste de la prolactine la CsA libère cet effet déprimant de la prolactine sur la sécrétion lacrymale.

3 Pharmacocinétique de la CsA. (22) (50) (62)

Les méthodes de dosage de la CsA et de ses métabolites sont variées.

Des dosages peuvent se pratiquer sur sang total ou sur plasma par trois méthodes :

- Mesure de la radioactivité après administration de CsA tritiée ou iodée (sensibilité 15 ng/ml). Cette méthode conduit à des sur-estimations systématiques par rapport à l'HPLC, (22) (50)

- Chromatographie liquide sous pression (HPLC). Elle permet de déterminer spécifiquement le produit initial mais aussi le taux de certains métabolites. Cette méthode a ainsi montré que la concentration en CsA est température dépendante à cause d'une interconversion de la CsA entre deux formes (sensibilité 45 à 50 ng/ml). Cette technique requiert un échantillon sanguin équivalent à 1 ml. (22)

• Méthodes immunologiques. Elles se répartissent en deux catégories : celles qui sont spécifiques et qui utilisent un anticorps monoclonal spécifique, et celles qui ne sont pas spécifiques et qui utilisent soit un anticorps monoclonal non spécifique, soit un anticorps polyclonal non spécifique (sensibilité 45 à 50 ng/ml).

Savoir doser la CsA est très important. En effet, comme nous le verrons par la suite, il existe une grande variabilité individuelle et induite en réponse à l'administration de CsA. Ceci permet de surveiller l'efficacité et l'innocuité d'un traitement à base de CsA (62).

3.1 Devenir de la CsA administrée par voie générale. (16) (50) (60)

La pharmacologie et le métabolisme de la CsA ont été étudiés essentiellement chez la souris, le rat, le chien et le lapin, surtout après l'administration de produit tritié par voie orale ou intraveineuse.

3.1.1 Biodisponibilité.

Localisation de la résorption. La résorption orale de la CsA a lieu dans la partie supérieure de l'intestin grêle.

Taux de résorption. La résorption est lente et incomplète et fait appel à un phénomène de diffusion. Lorsque la CsA est administrée per os en solution à base d'huile d'olive, le taux d'absorption est de 30 à 40 % chez le chien avec de grandes variations individuelles.

La biodisponibilité absolue. Elle semble être située entre 10 et 60 % après une administration par voie orale. Certains auteurs ont montré que cette biodisponibilité augmentait dans le temps après des administrations répétées. L'administration orale entraîne un pic sanguin de CsA entre deux et quatre heures après la prise ; un deuxième pic cinq à six heures après est généralement attribué à la prise d'un repas (la bile sécrétée favorisant la résorption de la CsA).

Facteurs de variation de la biodisponibilité. La biodisponibilité de la molécule est dépendante de plusieurs facteurs qui peuvent être anatomiques ou médicamenteux.

- Ainsi, une lésion de l'épithélium intestinal, l'obstruction ou la dérivation du tractus biliaire diminuent l'absorption de la molécule. La bile semble avoir un rôle émulsifiant qui permet à la CsA de passer d'une forme très lipophile à une forme un peu plus hydrophile favorable à sa résorption.

- L'administration conjointe de certains médicaments peut aussi agir directement sur la résorption de la CsA. La rifampicine ou la phénitoïne entraînent une diminution des taux sériques de CsA parce que ces molécules engendrent l'induction du système d'hydroxylation microsomial. A l'inverse, le kétoconazole et la cimétidine augmentent les taux sériques de CsA parce que ces molécules inhibe ce même équipement enzymatique.

La durée du traitement entre également en compte, ainsi on note une augmentation de la résorption en fonction du temps lors d'administration orale prolongée.

3.1.1 Distribution.

3.1.1.1 Distribution sanguine.

La distribution de la CsA dans les éléments figurés du sang dépend à la fois de la concentration du médicament, du taux de lipoprotéines, de l'hématocrite et de la température.

Aux concentrations supérieures à 11 ng/ml, la CsA présente une liaison saturable aux érythrocytes, mais aux concentrations habituellement rencontrées, la répartition est la suivante (60) :

40 à 60 % du produit sont contenus dans les érythrocytes.

10 à 20 % se trouvent dans les leucocytes.

30 à 40 % sont dans le plasma.

Du fait des variations importantes des taux et de la composition des lipoprotéines entre les populations, il faut s'attendre à des variations interindividuelles de la liaison plasmatique globale du produit. Le ratio concentration plasmatique (séparation à 37°C) versus concentration sanguine est peu influencé par des variations d'hématocrite. En revanche, la distribution entre les érythrocytes et le plasma est très dépendante des faibles variations de température lors de la séparation des hématies et du plasma autour de 37°C : une diminution

de température entraîne une diffusion de la CsA du plasma vers les hématies. Enfin, certains médicaments agissent sur la concentration sanguine de la CsA: la rifampicine et la phénytoïne la diminuent tandis que le kétoconazole, la cimétidine et l'érythromycine l'augmentent par inhibition enzymatique.

3.1.1.2 Distribution tissulaire.

Il n'existe pas de différence de distribution entre les mâles et les femelles. Dans la plupart des espèces étudiées, on observe une large diffusion du produit dans les tissus et les organes, avec un maximum atteint en 24 heures après l'administration orale et en 8 heures après celle intraveineuse. La CsA diffuse chez le fœtus. En revanche, on n'en retrouve que peu dans les muscles, la moelle épinière et le cerveau.

Les concentrations en CsA dans les tissus et les organes sont toujours supérieures après une administration intraveineuse. Elles sont en effet multipliées par 10 par rapport à une administration orale.

La distribution tissulaire de la CsA ne peut être expliquée seulement par ses caractéristiques physico-chimiques. Il faut aussi observer la teneur en cyclophilline des différents tissus, protéine cytosolique à activité enzymatique et fixant la CsA. La CsA se retrouve principalement au niveau des organes riches en leucocytes (thymus, rate, nœuds lymphatiques, tissus lymphoïdes, moelle osseuse...) et des organes riches en lipides (foie, pancréas, reins, poumons, mamelle). Dans ces organes, la concentration en CsA est deux à dix fois supérieure à celle que l'on peut trouver dans les autres organes. Ces organes jouent le rôle de réservoir de CsA. Des études ont montré que la CsA est détectable dans les tissus et les organes plusieurs mois après l'arrêt du traitement (50).

3.1.2.3 Distribution oculaire.

La distribution est différente selon que les yeux sont sains ou non.

Quand les yeux sont sains, on retrouve après une administration générale des taux significatifs de CsA dans les larmes, la conjonctive et la cornée.

Dans le cas où il existe une inflammation intraoculaire, on note des taux significatifs de CsA dans l'humeur aqueuse, la choroïde, la rétine, la conjonctive, l'iris et le vitré. Si l'inflammation est monoculaire uniquement, on n'observe pas d'augmentation de perméabilité de la barrière hémato-oculaire sur l'œil sain. Les taux intraoculaires de CsA chez des patients humains atteints d'uvéïte sont très variables. En effet, ils peuvent aller de 16 à 81 % des taux plasmatiques après une administration par voie générale. Les résultats diffèrent néanmoins selon la méthode de dosage utilisée, la durée de l'affection, l'individu...

3.1.2 Métabolisme.

L'isolement et l'identification des principaux métabolites de la CsA ont été effectués d'une part sur l'urine de chien et d'homme et d'autre part à partir de fécès de rat après administration par voie générale de CsA tritiée.

Il n'apparaît pas de différence majeure entre les espèces. La CsA inchangée est le composé majeur au niveau sanguin et représente 50 % de la radioactivité dans le plasma de rat et de lapin et 25 % dans le plasma canin.

La CsA est fortement métabolisée au niveau hépatique (environ 15 métabolites). Elle met en jeu le système enzymatique du cytochrome P450. Son métabolisme fait intervenir un nombre limité de réactions avec principalement des hydroxylations microsomiales, des carboxylations, des cyclisations et des N-déméthylations. La proportion relative de métabolites par rapport au produit inchangé est variable en fonction du temps. Tout dysfonctionnement hépatique ralentit le métabolisme de la CsA. Par ailleurs, les médicaments métabolisés par le système enzymatique du cytochrome P450 entreront en concurrence avec le métabolisme de la CsA. Au contraire, des molécules qui activent l'activité du cytochrome P450 accéléreront le métabolisme de la CsA tel est le cas de la rifampicine et du phénobarbital.

3.1.3 Elimination.

Elle est essentiellement assurée par le foie sous forme de métabolites. Chez le chien, 70 % de la radioactivité est retrouvée dans les fécès après administration de CsA tritiée. Chez l'homme plus de 90 % de la dose injectée par voie intraveineuse est excrété dans la bile et moins de 6 % dans les urines. Quoiqu'il en soit moins d'1 % de la dose totale injectée est retrouvée sous sa forme initiale (50).

3.2 Devenir de la CsA administrée par voie topique au niveau oculaire. (5) (16) (34) (44) (46) (63) (64)

La CsA appliquée localement au niveau oculaire sera éliminée en grande partie par des phénomènes de dilution et de drainage lacrymal.

3.2.1 Résorption.

3.2.1.1 Pénétration transcornéenne.

La CsA liposoluble et hydrophobe passe facilement l'épithélium cornéen qui est lipophile. Ceci permet à la CsA d'être utilisée par application topique. Les taux intracornéens sont importants et persistants. En revanche, le stroma très hydrophile constitue un facteur limitant la pénétration transcornéenne de la molécule. Ceci contribue à faire de l'épithélium cornéen un réservoir de la molécule. L'endothélium cornéen, quant à lui très lipophile, s'avère 90 fois plus perméable que l'épithélium cornéen. La concentration cornéenne est dose dépendante avec un effet cumulatif. (44) (46) (64)

3.2.1.2 Pénétration conjunctivo-sclérale.

Il est possible que la CsA gagne le globe oculaire par voie conjunctivo-sclérale sans passer par l'humeur aqueuse ce qui expliquerait le fait qu'on n'y retrouve que de faibles traces après son administration locale (44).

3.2.1.3 Facteurs de variations.

La perméabilité oculaire est accrue lors d'infections, d'ulcérations et de traumatismes. En effet, lors d'inflammations oculaires, la concentration protéique de l'humeur aqueuse augmente ce qui facilite le flux transcornéen de la CsA.

Les différents excipients qui peuvent être utilisés sont aussi des facteurs de variation. Ainsi, l'alpha-cyclodextrine ne permet qu'une faible pénétration transcornéenne de CsA, qu'il soit utilisé en collyre ou en pommade, contrairement à l'huile de maïs. Par ailleurs, l'huile de maïs est le solvant végétal le mieux toléré au niveau oculaire, c'est lui qui est utilisé pour la préparation de l'Optimmune ND (64).

3.2.2 Distribution.

La distribution de la CsA dans les différentes structures oculaires d'un œil sain est de :

- 67 % dans l'épithélium cornéen.
- 25 % dans le stroma.
- 8 % dans l'endothélium.

Toutes les études portant sur les mesures des concentrations oculaires de CsA démontrent qu'elles dépassent toujours les taux thérapeutiques nécessaires de façon rapide et persistante dans la cornée, la sclère, la membrane nictitante et les glandes lacrymales (34).

Ainsi des études sur des lapins ayant reçu des applications locales de CsA à 10 % atteignent des pics de 900 ng/ml dans la cornée 3 heures après l'application et des taux résiduels équivalents à 700 ng/ml sont observés 24 heures après. Cette dernière constatation permet à la cornée de jouer le rôle d'un réservoir pour le médicament. (44) (46)

Par contre, les taux intraoculaires de CsA sont généralement faibles ou inférieurs au taux thérapeutique estimé pour le traitement des uvéites. La même étude que précédemment a montré que les taux dans l'humeur aqueuse n'atteignent que 100 ng/ml.

Les taux sanguins de CsA mesurés après une administration topique se révèlent généralement faibles voire inexistantes. (63)

Mosteller et coll. (46) ont trouvé des résultats très faibles chez le lapin égaux à 100 ng/ml après 3 heures et des concentrations non mesurables après 24 heures. Ceci semble néanmoins montrer qu'après une administration locale de CsA, celle-ci passerait dans la circulation sanguine locale de l'œil grâce aux vaisseaux périlimbiques. Par ailleurs, il semble que des applications multiples de cyclosporine provoqueraient une accumulation systémique qui entraînerait une augmentation des taux de CsA dans le sérum et dans l'humeur aqueuse (46).

Une étude menée par Gilger and coll. (23) a montré que les taux sanguins de CsA chez des chiens traités à la cyclosporine A à 2 % est de 22 +/- 7,4 ng/ml mais que ce taux décroît de façon significative avec l'augmentation du poids du chien.

Une étude menée par Weingarten (63) a montré que la CsA utilisée au niveau oculaire n'a aucune répercussion sur la réponse immunitaire à la vaccination contre la maladie de Carré et la rage.

3.2.3 Elimination.

L'élimination de la CsA localisée dans la cornée est très lente. Son temps de demi-vie dans certains tissus a été estimé (34) :

Cornée :	33,5 heures
Sclère antérieure :	19,5 heures
Uvée antérieure :	26,7 heures
Sclère postérieure :	20 heures

3.3 Devenir de la CsA administrée par voie sous-conjonctivale. (5) (16)

Une simple diffusion permet à la molécule de rejoindre l'humeur aqueuse de l'œil ipsilatéral. Mais, pour ce qui concerne l'œil controlatéral, la CsA n'y est retrouvée qu'en petite quantité, la CsA ne l'atteignant que par l'intermédiaire de la circulation systémique.

Des études menées par Kalsi et coll. en 1991 (16) ont permis de comparer chez le lapin les administrations intra-veineuse et sous-conjonctivale de CsA. Ainsi, les taux de CsA sanguins après une administration sous-conjonctivale sont 10 fois plus faibles qu'après une administration intraveineuse. Par contre, les taux de CsA après une administration sous-conjonctivale sont largement décelables dans l'humeur aqueuse (718 ng/ml) alors qu'ils ne le sont pas après une administration intraveineuse. Pour ce qui est du vitré, les concentrations y sont pratiquement 4 fois supérieures par rapport à une administration intraveineuse.

4 Étude toxicologique de la CsA. (16) (60)

L'administration orale ou intraveineuse de fortes doses de CsA chez différentes espèces animales, a permis d'identifier deux principaux organes cibles : les reins et, à un moindre degré, le foie.

4.1 Résultats des tests toxicologiques.

4.1.1 Par administration unique.

Les valeurs des DL50 de la CsA par voie orale et par voie intraveineuse chez la souris, le rat et le lapin, sont résumées dans le tableau II.

Espèce	Voie	DL50 en mg/kg de principe actif
Souris	IV	107
	orale	2329 (1848-3020)
Rat	IV	25 (22-29)
	orale	1480 (1105-1997)
Lapin	IV	>10
	orale	>1000

Tableau II : Valeur de la DL50 de la cyclosporine chez la souris, le rat et le lapin. (16)

Les symptômes les plus couramment observés sont une diminution de l'activité locomotrice à très forte dose par voie orale, et à toutes les doses par voie intraveineuse. De fortes diarrhées apparaissent après administration per os.

4.1.2 Par administrations répétées.

Chez le rat et le lapin, des études sur la reproduction ont révélé un effet léthal sur l'embryon à des doses toxiques pour les mères, mais aucun effet tératogène n'a été observé. Ces résultats contrastent d'ailleurs avec l'effet tératogène des agents immunosuppresseurs cytotoxiques tels que l'azathioprine ou le cyclophosphamide.

Le développement périnatal et postnatal, la fertilité et les performances reproductrices des produits ne sont pas affectés à des doses non toxiques pour les parents.

Contrairement aux immunosuppresseurs cytostatiques, la CsA n'entraîne pas d'effet mutagène sur de nombreux systèmes expérimentaux.

Le potentiel carcinogène a été étudié chez des souris et des rats traité à la CsA pendant plusieurs semaines. Aucun résultat significatif ne fut obtenu quant à l'augmentation du nombre ou le comportement de cellules tumorales.

Il n'a pas été noté, en particulier, d'augmentation du nombre de cas de tumeurs lymphoréticulaires qui sont communément trouvées chez les animaux immunodéficients.

Aucun effet inhibiteur sur le système hématopoïétique et aucune myélotoxicité n'ont été significativement mis en évidence dans les espèces animales étudiées.

Ces études de toxicité par administration répétées ont permis d'évaluer la dose de CsA dénuée d'effet toxique (16) :

Par voie orale :	rat :	14 mg/kg/j	pendant 13 semaines
		0,52 à 2,1 mg/kg/j	pendant 2 ans
	singe :	60mg/kg/j	pendant 13 semaines
	chien :	15 mg/kg/j	pendant 52 semaines
Par voie IV :	rat :	6 mg/kg/j	pendant 4 semaines
	chien :	5 mg/kg/j	pendant 4 semaines

4.1.3 Tolérance locale.

En injections intraveineuses ou intra-artérielles chez le lapin, les études ont montré une légère inflammation ainsi qu'un œdème au niveau du point d'injection. Des lésions nécrotiques ont également été notées après injection intra-artérielle, mais ces lésions disparaissent après le 7^{ème} jour. La CsA n'est en revanche pas dépourvue d'effets secondaires qui varient selon la posologie utilisée, la pharmacocinétique propre à l'individu, la pathologie traitée et les interactions médicamenteuses.

4.2 Effets secondaires de la CsA. (16) (60)

La néphrotoxicité et l'hypertension artérielle restent l'écueil majeur du traitement par la CsA.

4.2.1 Insuffisance rénale.

La CsA s'est révélée néphrotoxique chez l'homme mais elle ne s'est pas avérée néphrotoxique dans les expériences animales. Chez l'homme, 30 à 50 % des patients présentent une altération de leur fonction rénale conduisant parfois à l'interruption de la CsA. (60)

Les taux de CsA circulante considérés comme devenant toxiques pour les reins ne sont pas bien établis. Il semble que la néphrotoxicité soit diversement corrélée avec les taux sériques de CsA (toxicité potentielle au dessus de 200 ng/ml, toxicité certaine au dessus de 400 ng/ml) ou la dose totale de CsA (supérieure à 300 mg/kg) selon les différentes équipes de transplantation. (60)

Les mécanismes de cette néphrotoxicité ne sont pas clairs mais ils feraient intervenir une diminution du taux de filtration glomérulaire avec augmentation de la résistance vasculaire rénale. Des mécanismes vasoconstricteurs tels que le système rénine-angiotensine, le système nerveux sympathique et les prostaglandines interviendraient aussi.

On distingue deux types d'atteintes au niveau rénal : une dysfonction rénale réversible à l'ajustement des doses, et une néphrotoxicité chronique, plus rare, avec atteinte histologique dont :

- Tubulopathie avec vacuolisations, microcalcifications, voire atrophie tubulaire
- Fibrose interstitielle en bandes traversant le cortex rénal
- Artériolopathie avec obstruction progressive de la lumière des vaisseaux par épaissement muqueux puis scléreux de l'intima, congestion capillaire péritubulaire.

L'amélioration de la fonction rénale s'observe parallèlement à la réduction des doses de CsA.

4.2.2 Hypertension artérielle.

On l'observe en moyenne chez 20 à 40 % des patients sous cyclosporine, associée ou non aux stéroïdes.

Cette hypertension artérielle ne semble pas directement corrélée avec les anomalies des paramètres fonctionnels rénaux. L'étiologie semble être multifactorielle : action directe du produit par vasoconstriction, augmentation de la concentration en calcium ionisé dans les myocytes de la paroi artérielle.

Cette hypertension artérielle reste bien contrôlée par les hypertenseurs classiques. (60)

4.2.3 Neurotoxicité.

Les signes de neurotoxicité fréquemment observés, bien que rarement majeurs, restent difficilement interprétables vues les concentrations très faibles en CsA retrouvées dans le système nerveux central.

Parmi les signes mineurs, les plus typiques sont des tremblements fins involontaires des mains (15 à 25 % des patients) et des paresthésies des extrémités.

Le mécanisme proposé à l'heure actuelle ferait intervenir une hypomagnésémie liée à une élévation non appropriée de l'excrétion urinaire. Cette hypomagnésémie serait également responsable d'anorexie, de nausées et d'un certain degré d'apathie.

4.2.4 Hépatotoxicité.

La concentration hépatique en CsA est assez importante chez l'homme, particulièrement en cas de dysfonction de l'organe. Elle est dans ce cas multipliée par 4 par rapport aux taux retrouvés chez un sujet à fonction hépatique normale. (60)

Les anomalies observées sont essentiellement infra-clinique, réversibles et le plus souvent en rapport avec les fortes doses des anciens protocoles.

4.2.5 Autres effets.

Lymphomes : Certains cas de lymphomes dits "induits" ont été rapportés. Ils sont probablement dus à une anomalie du contrôle par les lymphocytes T de la prolifération de cellules B infectées par des virus comme l'Epstein-Barr Virus (EBV). (60)

Hypertrichose : Elle est fréquente (30 à 40 % des patients), précoce et réversible. (60)

Hypertrophie gingivale : Elle semble pouvoir être prévenue par une meilleure hygiène. (60)

4.3 Toxicité locale du traitement à la cyclosporine A au niveau oculaire. (16) (35) (63)

Elle peut être due à la CsA elle-même ou à l'excipient.

Une étude menée par Singh et coll sur des cultures de cellules endothéliales montre que des concentrations en CsA inférieures à 1 000 ng/ml, ne sont pas toxiques après 7 jours d'incubation. En revanche, des concentrations supérieures à ce seuil entraînent des phénomènes de désintégration et de dégénérescence par vacuolisation.

Quelques symptômes généraux comme des maux de tête ont également été observés, ainsi qu'une augmentation transitoire et asymptomatique des transaminases sériques chez des patients recevant de la pommade oculaire à base de CsA.

Concernant l'excipient employé dans les solutions de CsA à usage oculaire local, l'éthanol est à éviter car il peut provoquer des lésions de l'épithélium cornéen. Quant à l'huile de ricin, elle est bien tolérée et n'entrave pas les phénomènes de cicatrisation cornéenne. Avec les pommades ophtalmiques, des symptômes oculaires transitoires tels que des sensations de brûlure, des larmoiements (CsA dose dépendante puisque l'épiphora est plus marqué quand on utilise de la CsA à 2 % qu'avec de la CsA à 0,2 %), des rougeurs, un œdème focal des paupières très léger, des démangeaisons voire une certaine photosensibilité et parfois de la cellulite palpébrale ont pu être rapportés. Ces effets sont davantage provoqués par les excipients que par la CsA elle-même. Par ailleurs, contrairement aux corticostéroïdes topiques, la CsA n'inhibe pas de façon significative la guérison des lésions de l'épithélium ou du stroma cornéen (63). La CsA apparaît donc être globalement bien tolérée, même à long terme, en application oculaire. D'où l'intérêt de cette voie lorsqu'un traitement immunosuppresseur local relativement long est recherché, tout en limitant les effets secondaires généraux de la CsA.

Un dernier effet secondaire d'une application locale régulière de CsA concerne une modification de l'immunité protectrice locale. Cette immunité protectrice et l'acquisition d'une résistance à des infections implique en majeure partie des phénomènes à médiations cellulaires. Néanmoins une administration de CsA peu avant et/ou au moment où débute l'infection engendrera une sensibilité accrue à des agents infectieux. Quoiqu'il en soit, la persistance d'antigènes bactériens ou viraux peut entraîner une hypersensibilité à médiation cellulaire, caractérisée par des réactions granulomateuses. (35)

QUATRIEME PARTIE : ÉTUDE EXPERIMENTALE.

1 Protocole expérimental.

1.1 Objectifs.

Comme nous l'avons déjà indiqué, la KCS résulte de la diminution de sécrétion des larmes qui assurent normalement une fonction de lubrification, de nutrition et d'antiseptie de l'œil. La glande nictitante est directement responsable de la sécrétion de la phase aqueuse de ce film lacrymal.

Le traitement de choix actuellement mis en œuvre dans les KCS est la cyclosporine en solution dans une pommade ou une huile. De nombreuses études ont déjà été effectuées mais il semble que nous ne connaissions pas les répercussions d'un traitement à la CsA sur l'histologie de la glande nictitante.

Étant donné que la KCS est une affection que l'on rencontre fréquemment chez le chien, il nous a semblé intéressant d'élucider ce dernier point. Ceci se fera par l'intermédiaire de deux biopsies réalisées avant et après 6 semaines de traitement à l'Optimmune ND. La durée du traitement a été fixée à 6 semaines pour trois raisons :

- ◆ La cicatrisation de la première biopsie doit être obtenue lors de la seconde biopsie,
- ◆ Les améliorations cliniques sont déjà bien avancées après 6 semaines de traitement,
- ◆ Les études déjà amorcées portent sur une durée de 6 semaines ce qui permettrait d'effectuer des comparaisons des résultats.

Des études ont déjà montré l'efficacité clinique d'un traitement local par la pommade à la cyclosporine A à 0,2 % (Optimmune ND). Nous avons malgré tout jugé intéressant de vérifier que nos résultats sont en accord avec ceux déjà admis étant donné que notre étude implique deux biopsies glandulaires à 6 semaines d'intervalle ce qui pourrait être un facteur de modification de ces résultats.

Dans un premier temps, notre étude s'attachera donc à noter différents signes cliniques qui découlent de l'inflammation oculaire engendrée par la KCS. Les signes d'appel qui font penser à une KCS que nous retiendrons au cours de cette étude sont :

- ◆ Une douleur oculaire appréciée par le blépharospasme,
- ◆ Une certaine rougeur oculaire appréciée par l'hyperhémie conjonctivale,
- ◆ Une vascularisation cornéenne,
- ◆ Une pigmentation cornéenne,
- ◆ Des ulcérations cornéennes.

La suspicion de KCS est confirmée par une faible valeur du test de Schirmer.

Dans un second temps, nous comparons les analyses histologiques de la glande nictitante avant et après un traitement de 6 semaines à l'Optimmune ND. Ceci est essentiellement effectué à travers l'étude de la lobulation glandulaire, des acini, de l'importance quantitative des cellules inflammatoires et leur type, de la présence ou non de fibrose au sein de la structure glandulaire. Ceci nous permet de répondre à différentes questions restées en suspens concernant l'activité lacrymomimétique de la CsA. Il a en effet été suggéré que la CsA diminuerait l'inflammation au sein de la glande nictitante. Par ailleurs, on ne sait pas si l'activité lacrymomimétique est la conséquence d'un accroissement des sécrétions des acini encore fonctionnels ou si la CsA stimule la régénération des acini glandulaires. Cette étude doit permettre d'aider à répondre à ces questions.

1.2 Matériel.

1.2.1 Animaux inclus dans l'étude.

Au total 11 chiens ont été retenus dans cette étude.

9 chiens sont de race pure (2 Cockers américain, 2 Cockers spaniel, 1 Cavalier King Charles, 1 Colley, 1 Lhasa Apso, 1 Basset griffon vendéen, 1 Yorkshire terrier et 1 Whippet) et 1 croisé Teckel/Cocker spaniel.

Leur âge varie de 2 mois à 9,5 ans.

Ce sont 5 mâles (1 castré et 4 entiers) et 6 femelles (non ovariectomisées).

1.2.2 Unité expérimentale.

L'unité expérimentale est l'œil de chien atteint de KCS. Si les 2 yeux sont atteints, les 2 yeux recevront le même traitement et chaque œil sera évalué séparément.

1.2.3 Le traitement.

On recommande au propriétaire de l'animal d'appliquer un trait d'environ 1 cm de pommade à base de CsA à 0,2 %, l'Optimmune ND, deux fois par jour dans le cul-de-sac conjonctival des yeux atteints de KCS pendant toute la durée de l'étude.

Il est à noter que le fabricant recommande l'application d'un trait de 0,75 cm et que l'efficacité maximale du produit est déjà atteinte avec cette application. Nous avons demandé au propriétaire d'appliquer un trait d'environ 1cm afin de simplifier le traitement pour le propriétaire et avoir la certitude que le chien recevrait une quantité suffisante de produit.

1.3 Méthode.

1.3.1 Sélection des animaux.

Critères d'inclusion :

Les chiens sélectionnés sont amenés en consultation d'ophtalmologie de l'École d'Alfort. Ces chiens sont atteints de KCS uni ou bilatérale. Le diagnostic de KCS est établi en s'appuyant sur plusieurs critères :

- 1- Test de Schirmer (STT) ≤ 10 mm/minute sur 1 ou 2 yeux.
- 2- +/- signes de conjonctivite.
- 3- +/- signes de kératite.

Ces chiens ne doivent pas présenter de critère de non inclusion.

Critères de non inclusion :

- ◆ La KCS dure depuis moins d'un mois.
- ◆ Le réflexe palpébral est absent (paralysie du nerf facial).
- ◆ La glande nictitante de l'œil atteint de KCS a été retirée.
- ◆ Le chien a été opéré d'une transposition du canal de Sténon dans l'œil atteint de KCS.
- ◆ Le chien a des antécédents de maladie de Carré.
- ◆ Le chien a des antécédents de traitement local ou systémique épisodique aux sulfamides ou phenazopyridine depuis moins de 14 jours.
- ◆ Le chien a des antécédents de traitement local ou systémique aux corticoïdes depuis moins de 15 jours.
- ◆ Le chien a des antécédents de traitement local ou systémique à la cyclosporine depuis moins de 15 jours.
- ◆ Le chien a des antécédents de traitement local ou systémique à la pilocarpine depuis moins de 2 jours.
- ◆ Le chien a des antécédents de traitement local ou systémique à l'atropine depuis moins de 2 jours.
- ◆ Le chien a des antécédents de traitement local avec des larmes artificielles depuis moins de 2 heures.
- ◆ Si l'œil présente simultanément une infection oculaire il faudra d'abord la traiter avant de pouvoir envisager le traitement de la KCS avec la pommade à la cyclosporine A à 0,2 %.

Critères d'exclusion :

- ◆ Interruption du traitement à l'Optimmune.
- ◆ Interruption d'un traitement continu aux sulfamides ou phenazopyridine.
- ◆ Utilisation d'un traitement non autorisé (pilocarpine, atropine, larmes artificielles, corticoïde, sulfamides ou phenazopyridines épisodiques).

1.3.2 Traitement.

Le traitement à la pommade à la cyclosporine A (CsA) à 0,2 % (Optimmune ND : Schering Plough Santé Animale) est initialement entrepris sur un œil indemne d'infection. Si le chien présente une conjonctivite purulente au cours du traitement, il sera possible d'effectuer un traitement à l'aide de produits autorisés.

Le traitement consiste en l'application biquotidienne par les propriétaires d'un trait de pommade d'environ 1 centimètre dans l'œil atteint de KCS.

Au cours du traitement, il est possible d'utiliser un traitement autorisé si l'œil s'infecte.

1.3.3 Biopsies.

Deux biopsies de la glande nictitante successives sont réalisées à J0 et J0 + 6 semaines. Elle sont faites sous anesthésie générale avec le mélange domitor + kétamine. Le prélèvement est réalisé à l'aide de ciseaux. La première biopsie concerne la partie nasale de la glande et la seconde biopsie la partie temporale afin de limiter au maximum les éventuels artéfacts inflammatoires. La biopsie est ensuite envoyée dans du formol à 10 % à un laboratoire qui le colore avec de l'hématoxyline et de l'éosine. Ce laboratoire n'a pour commémoratif que celui de KCS sans précision sur la gravité clinique de l'affection afin de limiter au maximum les biais d'analyse.

1.3.4 Réalisation pratique.

Les chiens inclus dans l'étude subissent les examens qui suivent et on remplit la fiche d'évaluation clinique (annexe 1) pour chaque animal.

à J0 :

- recueil des commémoratifs,
- examen à distance : blépharospasme,
- test de Schirmer (STT),

- examen rapproché : conjonctives, exsudat, rougeur, œdème, cornée : vascularisation œdème, pigmentation, ulcération, accord du propriétaire, 1^{ère} biopsie de la glande nictitante, envoi au laboratoire d'histopathologie vétérinaire de Maisons Alfort.

entre J0 et J0 + 6 semaines :

- traitement à l'Optimmune ND biquotidien réalisé par les propriétaires.

à J0 + 6 semaines :

- examen à distance : blépharospasme,
- STT,
- examen rapproché : conjonctives, exsudat, rougeur, œdème,
- cornée vascularisation œdème, pigmentation, ulcération,
- 2^{ème} biopsie de la glande nictitante,
- envoi au même laboratoire.

De cette manière, nous pouvons comparer l'évolution clinique des yeux des chiens atteints de KCS et les modifications des caractéristiques histologiques des glandes nictitantes des yeux de ces chiens.

1.3.4 Evaluation des animaux.

1.3.4.1 Examens oculaires.

Examen de l'œil à distance.

Blépharospasme :

Absent	0
Présent	1

Test de Schirmer (STT) :

Une bandelette de papier filtre normalisée est placée 1 minute dans le cul de sac conjonctival inférieur. La valeur notée sur la fiche est la distance parcourue par le front humide après une minute au delà du trait large ou de l'encoche du papier test.

Examen rapproché de l'œil.

Sécrétions oculaires mucopurulentes :

Absence de sécrétions mucopurulentes	0
Présence de sécrétions mucopurulentes	1

Hyperhémie des conjonctives:

Absence de vaisseau	0
Vaisseaux individualisables	1
Vaisseaux non individualisables	2

Néovascularisation cornéenne :

Absente	0
Petits vaisseaux	1
Quelques grands vaisseaux	2
Nombreux grands vaisseaux	3

Pigmentation cornéenne :

Absente	0
Pigmentation $\leq 25\%$	1
Pigmentation $25\% < < 50\%$	2
Pigmentation $50\% \leq < 75\%$	3
Pigmentation $\geq 75\%$	4

Ulcération cornéenne :

Absente	0
Ulcération 25 %	1
Ulcération 25 % < < 50 %	2
Ulcération 50 % \leq < 75 %	3
Ulcération $\geq 75\%$	4

L'évolution des critères sur chaque individu est envisagée séparément. Les modifications sont ensuite comparées sur tous les animaux de l'étude.

1.3.4.2 Examen histologique.

Les lésions histologiques observées sont consignées dans des rapports individuels d'analyses, puis un grading lésionnel est affecté à chaque œil des animaux de l'étude en appliquant les critères proposés par Bounous et coll (6) cf tableau III.

Glande nictitante normale. Arrangement lobulaire de tubules arborisés et courts. Tissu graisseux interlobulaire, tissu conjonctif, quelques cellules plasmatiques.	0
Inflammation chronique légère. Légère infiltration de cellules plasmatiques et/ou lymphocytaires.	1
Inflammation chronique modérée. Infiltration locale de >40 cellules lymphocytaires et/ou plasmatiques par champ de fort grossissement. Atrophie ou destruction des structures tubulaires.	2
Inflammation marquée. Infiltration multifocale à diffuse de cellules plasmatiques et lymphocytaires avec perte ou destruction de la majeure partie de la glande.	3
Fibrose marquée. Inflammation minime.	4

Tableau III : Affectation d'un grade à la glande nictitante en fonction de son inflammation. D'après (6).

1.4 Conclusion.

La réalisation de ce protocole doit permettre de préciser les modifications histologiques induits par un traitement local de pommade à la cyclosporine A 0,2 %. Nous attachons particulièrement d'importance à l'observation de l'évolution de l'aspect des lobules et des acini des glandes étudiées ainsi que des infiltrats inflammatoires rencontrés. Cette étude doit permettre d'aider à répondre aux questions posées concernant la régénération ou non des acini qui pourrait être responsable de l'activité lacrymomimétique de la CsA.

2 Résultats.

Nous avons été amené à exclure trois animaux :

- Deux animaux ont subi une première évaluation sans qu'une deuxième évaluation ait pu être envisagée. L'un d'eux était un très jeune chiot qui a été euthanasié quelques jours après la première biopsie suivant l'instruction des propriétaires (cas 11), l'autre a dû interrompre le traitement au cours de l'étude car il a présenté une très nette intolérance au traitement (cas 10) qui s'est traduite par une très forte hyperhémie conjonctivale associée à un œdème sans épiphora.
- Un troisième animal a du être exclu de l'étude car les propriétaires avaient suspendu l'administration du traitement 2 semaines avant la deuxième biopsie (cas 8).

Nous ne nous intéresserons en détail qu'aux 8 animaux inclus et non exclus de l'étude. Les résultats de tous les animaux sont présentés en annexes II et III.

2.1 Résultats individuels.

Ils sont consignés dans les rapports qui suivent :

• CAS 1: Jody, Cocker américain, femelle, âgée de 4 ans.

Motif de consultation : La chienne est amenée en consultation pour un suivi post-opératoire. L'œil gauche a subi une intervention d'extraction extra-capsulaire du cristallin 4 mois auparavant à l'ENVA à la suite de l'apparition d'une cataracte d'origine héréditaire. Le STT était déjà limite et égal à 10mm.

La propriétaire a aussi noté l'apparition d'écoulements depuis 15 jours sur l'œil gauche.

T0 :

Examen ophtalmologique :

Des sécrétions mucopurulentes sont présentes sur les deux yeux. Une conjonctivite modérée est remarquée sur l'œil gauche. Au niveau cornéen, on note une vascularisation discrète sur l'œil droit et une vascularisation modérée associée à une pigmentation représentant entre 25 et 50 % de la surface cornéenne sur l'œil gauche.

Le STT est limite et égal à 10 mm sur l'œil gauche, et normal sur l'œil droit (égal à 14 mm). Un diagnostic de KCS est fait sur l'œil gauche. Seul l'œil gauche du cas 1 (OG1) est inclus dans l'étude.

La taille macroscopique des deux glandes est équivalente et normale. Une biopsie des glandes nictitantes gauche et droite est pratiquée dans l'angle nasal. L'animal reçoit de l'Optimmune ND sur les deux yeux.

Analyses histologiques :

La glande nictitante gauche présente quelques infiltrats mononucléés (principalement des lymphocytes mais aussi quelques plasmocytes et mastocytes) qui classent la glande à un grade 1. Certains des canaux glandulaires observés sur la biopsie sont dilatés.

La muqueuse de la membrane nictitante est congestionnée et présente aussi quelques infiltrats mononucléés.

La glande nictitante droite présente un aspect histologique normal qui équivaut à un grade 0.

T1 :

Examen ophtalmologique :

Les STT des 2 yeux sont remontés à 14 mm pour l'œil gauche et 17 mm sur l'œil (soit une augmentation de respectivement 4 et 3 mm). Les sécrétions ont disparu mais pas les signes d'hyperhémie conjonctivale. On ne constate aucune évolution de la vascularisation ni de la pigmentation cornéenne.

Analyses histologiques :

La glande nictitante gauche ne présente pas d'infiltrats. Elle est classée au grade 0.

Certains des canaux glandulaires observés sur la biopsie sont dilatés.

La muqueuse de la membrane nictitante n'est pas présente sur cette biopsie.

La glande nictitante droite présente quelques infiltrats mononucléés qui restent périacineux lorsqu'ils sont présents. La glande est encore classée 0 limite grade 1.

Certains des canaux glandulaires observés sur la biopsie sont dilatés.

La muqueuse de la membrane nictitante présente une congestion et une infiltration mononucléée plus marquée que la glande.

• CAS 2 : Erquy, Basset griffon vendéen, mâle castré, âgé de 9,5 ans.

Motif de consultation : Le chien est présenté à la consultation car le service de parasitologie de l'École a jugé sa cornée suspecte et a pensé bon de le transférer au service d'ophtalmologie. Le chien a présenté de façon chronique des infections cutanées qui ont du être traitées avec des sulfamides vu la résistance des germes en cause (Pseudomonas, Staphylocoques) à d'autres antibiotiques (résistance avérée par des antibiogrammes). L'animal a un traitement chronique à base de sulfamide (sulfadiméthoxine Bactrim ND) depuis 1 an. Le traitement n'a pas été interrompu pendant toute la durée de l'étude.

T0 :

Examen ophtalmologique :

La cornée est terne et les deux yeux présentent une mydriase aréflexive avec un iris dentelé et perforé par endroits. Aucune autre anomalie n'a été mise en évidence.

Les deux STT sont égaux à 5mm, le chien présente donc une KCS avérée sur les deux yeux.

Analyses histologiques :

La glande nictitante gauche présente quelques cellules mononucléées. La lobulation paraît normale mais les acini ne sont pas identifiables sur la biopsie. Elle est classée à un grade 3.

La muqueuse de la membrane nictitante présente quelques infiltrats mononucléés mais ni congestion capillaire ni fibrose.

La glande nictitante droite présente de nombreux infiltrats mononucléés, une fibrose ainsi qu'une destruction de la plupart des acini. La glande nictitante droite est classée à un grade 3.

Elle présente une lobulation anormale.

La muqueuse de la membrane nictitante est aussi très inflammatoire, elle présente une congestion des capillaires et d'importants infiltrats mononucléés associés à une fibrose.

T1 :

Examen ophtalmologique :

Aucun signe ne s'est détérioré.

Le STT est devenu normal après 6 semaines de traitement à la CsA. Il est égal à 14 mm sur les deux yeux ce qui représente une amélioration de 9 mm par rapport au STT initial.

Analyses histologiques :

La glande nictitante gauche présente une infiltration mononucléée discrète et une fibrose glandulaire. La lobulation de la glande nictitante gauche est devenue totalement anormale. Les acini sont atrophiés. La glande est classée à un grade 4.

La muqueuse de la membrane nictitante n'est pas présente sur la biopsie.

La glande nictitante droite présente encore de rares infiltrats mononucléés mais la fibrose glandulaire a disparu. La lobulation de la glande reste anormale. Des acini sont atrophiés. La perte de l'architecture normale de la glande a conduit à la classer au grade 4. L'anatomopathologiste a néanmoins souligné l'aspect hétérogène de la glande.

La muqueuse de la membrane nictitante est inflammée de la même façon qu'à T0 sans toutefois présenter d'épaississement épithélial.

• CAS 3 : Gaeta, Lhassa-Apso, femelle, âgée de 7 ans.

Motif de consultation : La chienne est présentée en consultation car elle présente des écoulements oculaires mucopurulents et elle ferme souvent les yeux depuis 3 jours.

T0 :

Examen ophtalmologique :

Le jour de la consultation la chienne ne présente pas de blépharospasme. Des sécrétions oculaires bilatérales sont observées. L'œil gauche présente une néovascularisation cornéenne modérée, une pigmentation représentant moins de 25 % de la surface cornéenne et des ulcérations s'étendant sur 25 à 50 % de la surface cornéenne. L'œil droit présente une néovascularisation discrète ainsi qu'une pigmentation de moins de 25 % de la surface cornéenne.

Le STT est égal à 5 mm sur l'œil gauche et 12 mm sur l'œil droit. Donc seul l'œil gauche présente une KCS et est inclus dans l'étude.

Deux biopsies concernant les deux yeux ont néanmoins été effectuée tout en gardant en mémoire que l'œil droit ne peut pas être inclus dans l'étude. Le traitement à l'Optimmune ND a été instauré sur les deux yeux.

Analyses histologiques :

La glande nictitante gauche présente quelques très rares infiltrats mononucléés. Les acini ont tous un aspect normal, certains canaux sont dilatés. La glande est classée au grade 0.

La muqueuse de la membrane nictitante présente quelques infiltrats mononucléés sans que les capillaires de la muqueuse soient congestionnés.

La glande nictitante droite ne présente pas d'infiltrats inflammatoires. Sa lobulation et l'aspect de ses acini sont normaux. Ses canaux. sont parfois discrètement dilatés. Elle est classée au grade 0.

La muqueuse de la membrane nictitante est discrètement inflammatoire avec des capillaires congestionnés et quelques infiltrats mononucléés.

T1 :

Examen ophtalmologique :

Les sécrétions oculaires ont disparu mais pas l'hyperhémie conjonctivale. La néovascularisation de l'œil gauche a diminué et les ulcérations cornéennes constatées précédemment ont disparu.

Les deux STT se sont améliorés. L'œil droit est passé de 12 à 16 mm et l'œil gauche de 5 à 14 mm.

Analyses histologiques :

La glande nictitante gauche ne présente pas de structure glandulaire normale sur la biopsie ce qui la classe au grade 4. Les canaux sont atrophiés ou dilatés. Les acini sont atrophiés. La glande ne présente pas d'inflammation particulière.

La muqueuse de la membrane nictitante n'est pas visible sur la biopsie.

La glande nictitante droite présente de très rares infiltrats plasmocytaires. Elle est toujours classé au grade 0.

Certains acini sont atrophiés et des canaux dilatés.

La muqueuse de la membrane nictitante n'est pas visible sur la biopsie.

• CAS 4 : Noisette, Yorkshire terrier, femelle, âgée de 1,5ans.

Motif de consultation : La chienne nous est présentée pour une sécheresse oculaire déjà avérée sur l'œil gauche par un vétérinaire il y a 3 mois.

T0 :

Examen ophtalmologique :

L'examen clinique révèle une réduction de la fente palpébrale unilatérale de l'œil gauche. La narine gauche est sèche. Une hyperhémie conjonctivale est observée sur l'œil gauche ainsi qu'un léger œdème cornéen généralisé et une tache blanchâtre stromale en région centrale de la cornée. Aucun autre signe n'a été remarqué.

Les STT révèlent une KCS bilatérale avec des valeurs de 9 mm pour l'œil droit et de 1mm pour l'œil gauche.

Une biopsie concernant les deux yeux est entreprise (il est à noter que la glande gauche était très atrophiée alors que la droite était d'aspect macroscopique normal). Le traitement est entrepris sur les deux yeux.

Analyses histologiques :

La glande nictitante gauche ne présente qu'une très légère congestion des capillaires. Elle est classée au grade 0.

La muqueuse de la membrane nictitante n'est pas visible.

La glande nictitante droite présente une légère dilatation des canaux. Elle est classée au grade 0.

La muqueuse de la membrane nictitante n'est pas visible.

T1 :

Examen ophtalmologique :

L'examen clinique des deux yeux révèle une dégradation des signes cliniques de l'œil gauche puisqu'on note l'apparition d'un blépharospasme et de sécrétions mucopurulentes. L'hyperhémie conjonctivale persiste sans être plus marquée ainsi que l'œdème cornéen et la tache stromale. L'œil droit quant à lui n'évolue pas.

Les STT montrent un accroissement des sécrétions lacrymales sur l'œil droit, il passe de 9 mm à 20 mm. On n'observe pas d'évolution du STT à gauche : il reste égal à 1mm.

Analyses histologiques :

La glande nictitante gauche est maintenant classée à un grade 3. Les acini sont atrophiés. Une fibrose glandulaire discrète associée à des infiltrats de cellules mononucléées sont observés.

La muqueuse de la glande nictitante présente quelques infiltrats mononucléés mais pas de congestion des capillaires.

La glande nictitante droite est de nouveau classée au grade 0. Aucune évolution n'est observée au sein de la glande.

La muqueuse de la glande nictitante présente quelques infiltrats mononucléés et une congestion des capillaires.

• CAS 5 : Farine, croisé Teckel et Cocker spaniel, femelle, âgée de 8 ans.

Motif de consultation : La chienne nous est présentée en consultation car elle présente des sécrétions oculaires mucopurulentes bilatérales ainsi qu'une mydriase bilatérale et une photophobie depuis quelques semaines.

T0 :

Examen ophtalmologique :

L'examen clinique révèle une diminution des réflexes photomoteurs directs et indirects droit et gauche. Le clignement à la menace est conservé. On ne voit pas de sécrétions ce jour et seul un point fluorescéine positif est noté sur la cornée droite. Une dégénérescence irienne sans atteinte rétinienne est mise en évidence.

Les résultats du STT montrent une KCS bilatérale avec des valeurs de 9 mm sur l'œil gauche et 10 mm sur l'œil droit.

Analyses histologiques :

La glande nictitante gauche est classée au grade 0 limite 1 à cause de rares infiltrats mononucléés glandulaires.

La muqueuse de la membrane nictitante n'est pas visible sur la biopsie.

La glande nictitante droite est classée au grade 1. Elle présente quelques infiltrats mononucléés au sein de la glande.

La muqueuse de la membrane nictitante ne présente aucun signe d'inflammation.

T1 :

Examen ophtalmologique :

L'examen clinique révèle une amélioration de l'aspect de l'œil droit puisque l'ulcère a disparu.

Les STT se sont tous les deux améliorés en passant de 9 à 15 mm pour l'œil gauche et de 10 à 18 mm pour l'œil droit.

Analyses histologiques :

La glande nictitante gauche présente des infiltrats glandulaires en quantité un peu plus importante que lors de la première biopsie sans congestion capillaire ni fibrose. L'architecture de la glande est normale. Elle est classée au grade 1 limite 0.

La muqueuse de la membrane nictitante présente quelques infiltrats mononucléés sans fibrose ni congestion des capillaires.

La glande nictitante droite présente une infiltration mononucléée glandulaire modérée (lymphocytes et plasmocytes) sans fibrose. L'aspect de la glande reste normal. La glande est classée au grade 2.

La muqueuse de la membrane nictitante présente quelques infiltrats mononucléés ainsi qu'une fibrose discrète.

• CAS 6 : Grimm, Cocker américain, mâle, âgé de 8 ans.

Motif de consultation : Le chien est présenté pour une KCS bilatérale diagnostiquée deux ans auparavant. Il n'a jamais eu d'autres traitements que des traitements substitutifs des larmes. Le chien est par ailleurs sourd.

T0 :

Examen ophtalmologique :

Le chien présente des sécrétions mucopurulentes bilatérales, une hyperhémie conjonctivale, une vascularisation cornéenne avec quelques grands vaisseaux cornéens. L'œil gauche présente une pigmentation intéressant plus de 75 % de la surface cornéenne et le droit une pigmentation intéressant entre 50 et 75 % de la surface cornéenne. Aucun autre signe n'est mis en évidence. Les structures postérieures à la cornée n'ont pas pu être visualisées correctement à cause de la pigmentation.

Les STT ont confirmé la KCS bilatérale avec des valeurs de 2 mm pour les deux yeux.

Analyses histologiques :

La glande nictitante gauche a un aspect normal. Elle est classée au grade 0.

La muqueuse de la membrane nictitante présente quelques infiltrats mononucléés ainsi que des capillaires congestionnés.

La glande nictitante droite présente une sévère infiltration cellulaire inflammatoire plasmocytaire et lymphocytaire sans fibrose ni congestion capillaire. L'architecture de la glande est anormale : les lobules sont anormaux et les acini sont détruits. Elle est classée au grade 3.

La muqueuse de la membrane nictitante présente quelques infiltrats mononucléés ainsi que des capillaires congestionnés.

T1 :

Examen ophtalmologique :

L'hyperhémie conjonctivale est plus marquée par rapport à la première consultation. Les autres signes n'ont pas évolué.

Les résultats du STT ne se sont pas améliorés, ils sont tous les deux passés de 2 à 1mm.

Analyses histologiques :

La glande gauche présente quelques infiltrats mononucléés glandulaires. Des acini sont atrophiés et des canaux sont dilatés. Elle est maintenant classée au grade 2.

La muqueuse de la membrane nictitante présente quelques infiltrats mononucléés, des capillaires congestionnés ainsi qu'une fibrose.

La glande nictitante droite est normale. Elle est classée au grade 0.

La muqueuse de la membrane nictitante présente de nombreux infiltrats mononucléés ainsi que des capillaires congestionnés.

• CAS 7 : Fanny, Cocker spaniel, femelle, âgée de 8 ans.

Motif de consultation : La chienne est présentée en consultation car elle présente une diminution de la vision avec aggravation depuis 3-4 mois ainsi qu'une sécheresse nasale. Un diagnostic de KCS a été fait par le vétérinaire traitant. La chienne a eu un traitement à base de larmes artificielles et d'antibiotiques dont l'efficacité n'a pas semblé probante.

T0 :

Examen ophtalmologique :

La chienne ne présente pas de réflexe de clignement à la menace. On note la présence de sécrétions mucopurulentes bilatérales, une hyperhémie conjonctivale modérée, une cornée vascularisée et pigmentée sur une surface comprise entre 25 et 50 % de la surface cornéenne et un œdème cornéen sévère sur les deux yeux. La seule différence réside dans la présence de deux points fluorescéine positifs sur l'œil gauche.

Les STT sont égaux à 0 mm.

Seule la glande nictitante gauche a été biopsée à T0 car la troisième paupière droite avait été l'objet d'un prélèvement 2 semaines auparavant (elle n'avait révélée qu'une inflammation chronique à forte composante plasmocytaire).

Analyses histologiques :

La glande nictitante gauche présente des infiltrats lymphoplasmocytaires. Des acini sont hypertrophiés et d'autres atrophiés. Les canaux sont dilatés. La lobulation est anormale. La glande est classée à un grade 3.

La muqueuse de la membrane nictitante présente de nombreux infiltrats mononucléés, des capillaires congestionnés ainsi qu'une fibrose.

T1 :

Examen ophtalmologique :

Les signes cliniques n'ont pas changé excepté pour l'ulcération cornéenne de l'œil gauche qui a disparu.

Les STT sont toujours nuls et égaux à 0 mm.

Analyses histologiques :

La glande nictitante gauche présente encore de nombreux infiltrats mononucléés et l'infiltration mononucléée du chorion superficiel est toujours dense. Les acini qui étaient tous atrophiés sur la première biopsie, ne le sont plus tous sur la deuxième : certains sont normaux et d'autres dilatés. La glande est encore classée au grade 3.

La muqueuse de la membrane nictitante présente de nombreux infiltrats mononucléés, des capillaires congestionnés ainsi qu'une fibrose.

•CAS 9 : Hasley, Cocker, femelle, âgée de 7 ans.

Motif de consultation : Le chien est présenté pour une baisse de la vision depuis environ un an.

T0 :

Examen ophtalmologique :

L'examen clinique montre la présence de sécrétions mucopurulentes sur deux yeux, une hyperhémie conjonctivale marquée, une vascularisation cornéenne intéressant 25 à 50 % de la surface cornéenne et une pigmentation représentant moins de 25 % de la surface cornéenne. Une ligne fluorescéine positive est mise en évidence sur l'œil gauche.

Les STT sont faibles et égaux à 4 mm sur l'œil gauche et 2 mm sur l'œil droit.

Examen ophtalmologique :

La glande nictitante gauche présente des infiltrats de cellules mononucléées en quantité modérée. Les canaux sont dilatés. Les acini sont atrophiés. La glande est classée au grade 2.

La muqueuse de la membrane nictitante n'est pas visible.

La glande nictitante droite est sévèrement infiltrée de cellules mononucléées et fibrosée. La lobulation est totalement anormale. Les acini sont en nombre réduits et atrophiés avec parfois une discrète dilatation de leur lumière. La glande est classée au grade 3.

La muqueuse de la membrane nictitante présente quelques cellules mononucléées, des capillaires congestionnés et une fibrose.

T1 :

Examen ophtalmologique :

Seuls trois signes cliniques ont évolués : les sécrétions mucopurulentes ont disparu, l'hyperhémie conjonctivale a diminué, et l'ulcération cornéenne de l'œil gauche a disparu.

Les valeurs du STT se sont accrues en passant de 4 à 8mm sur l'œil gauche et de 2 à 10 mm pour l'œil droit.

Examen ophtalmologique :

La glande nictitante gauche présente des infiltrats de cellules mononucléées plus marqués associés à une fibrose. Les acini sont toujours atrophiés et les canaux dilatés. La glande évolue vers le grade supérieur 3.

La muqueuse de la membrane nictitante présente quelques cellules mononucléées et des capillaires congestionnés sans fibrose.

La glande nictitante droite présente une infiltration de cellules mononucléées modérée, une atrophie des acini et une dilatation des canaux. Elle est classée au grade 2.

La muqueuse de la membrane nictitante présente de nombreux infiltrats mononucléés, des capillaires congestionnés et une fibrose.

2.2 Présentation par paramètre clinique.

Les observations consignées au service d'ophtalmologie de l'École Vétérinaire d'Alfort au cours de cette étude figurent en annexe (annexe II).

Les tableaux IV à IX et la figure 20, pages 12 à 126, montrent, aux deux temps de l'étude, T0 pour le premier jour de la biopsie et T1 pour le jour de la deuxième biopsie soit 6 semaines après, la répartition des cas cliniques en fonction de la gravité des symptômes oculaires pour un paramètre donné.

STT

T1 \ T0	0 < ≤ 5	5 < ≤ 10	10 < ≤ 15	> 15	
0 < ≤ 5	5	0	0	0	<div style="display: flex; flex-direction: column; align-items: center;"> <div style="display: flex; align-items: center; margin-bottom: 5px;"> <div style="width: 15px; height: 15px; background-color: #000000; margin-right: 5px;"></div> évolution défavorable </div> <div style="display: flex; align-items: center; margin-bottom: 5px;"> <div style="width: 15px; height: 15px; background-color: #cccccc; margin-right: 5px;"></div> stagnation </div> <div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="width: 15px; height: 15px; background-color: #ffffff; border: 1px solid black; margin-right: 5px;"></div> évolution favorable </div> </div>
5 < ≤ 10	2	1	0	0	
10 < ≤ 15	3	1	0	0	
> 15	0	2	0	0	

Tableau IV : Répartition des cas, au cours du temps, en fonction du paramètre "résultat du STT".

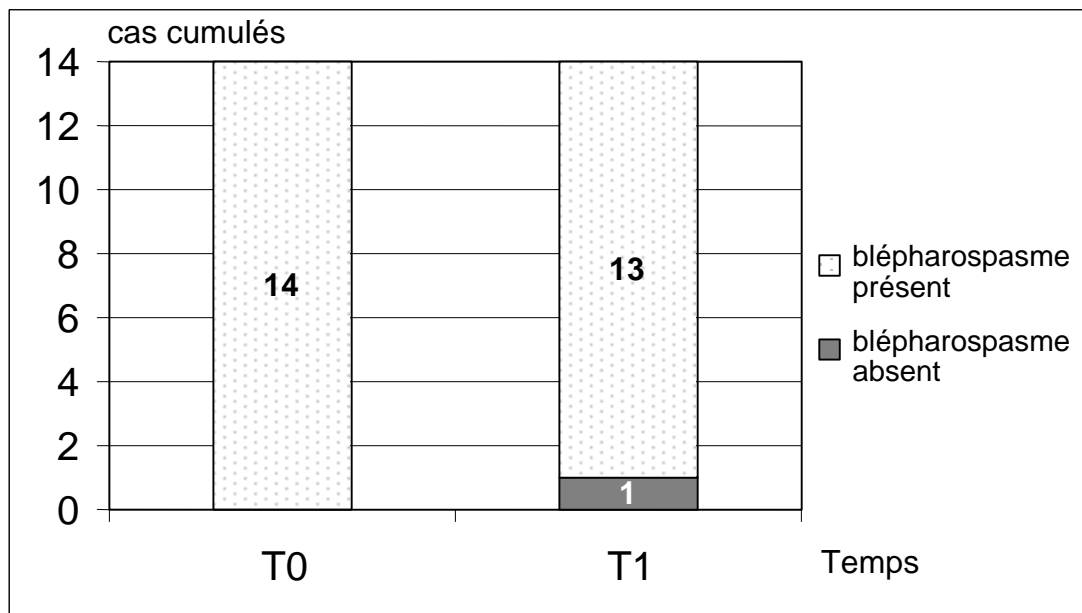


Figure 20 : Répartition des cas, au cours du temps, en fonction du paramètre "blépharospasme".

Sécrétions mucopurulentes

T ₁ \ T ₀	présentes	absentes	
présentes	4	1	<div style="display: flex; flex-direction: column; gap: 10px;"> <div style="display: flex; align-items: center;"> évolution défavor</div> <div style="display: flex; align-items: center;"> stagnation</div> <div style="display: flex; align-items: center;"> évolution favorab...</div> </div>
absentes	4	5	

Tableau V:

Répartition des cas, au cours du temps, en fonction du paramètre "sécrétions mucopurulentes".

Hyperhémie conjonctivale

T ₁ \ T ₀	Vaisseaux non individualisables	vaisseaux individualisables	Absences de vaisseaux	
vaisseaux non individualisables				<div style="display: flex; flex-direction: column; gap: 10px;"> <div style="display: flex; align-items: center;"> évolution défavorable</div> <div style="display: flex; align-items: center;"> stagnation</div> <div style="display: flex; align-items: center;"> évolution favorable</div> </div>
vaisseaux individualisables	2	7		
absences de vaisseaux			5	

Tableau VI :

Répartition des cas, au cours du temps, en fonction du paramètre "hyperhémie conjonctivale".

Vascularisation cornéenne

T ₁ \ T ₀	nombreux grands vaisseaux	quelques grands vaisseaux	petits vaisseaux	absence de vaisseaux	
nombreux grands vaisseaux	0	0	0	0	<div style="display: flex; flex-direction: column; gap: 10px;"> <div style="display: flex; align-items: center;"> évolution défavorable</div> <div style="display: flex; align-items: center;"> stagnation</div> <div style="display: flex; align-items: center;"> évolution favorable</div> </div>
quelques grands vaisseaux	0	7	0	0	
petits vaisseaux	0	1	0	0	
absence de vaisseaux	0	0	0	6	

Tableau VII :

Répartition des cas, au cours du temps, en fonction du paramètre "vascularisation cornéenne".

Pigmentation cornéenne

T ₁ \ T ₀	≥ 75 %	50 ≤ < 75	25 < < 50	≤ 25 %	0%
≥ 75 %	1	0	0	0	0
50 ≤ < 75	0	3	0	0	0
25 < < 50	0	0	3	0	0
≤ 25 %	0	0	0	4	0
0%	0	0	0	0	6

évolution défavorable

stagnation

évolution favorable

Tableau VIII :

Répartition des cas, au cours du temps, en fonction du paramètre "pigmentation cornéenne".

Ulcération cornéenne

T ₁ \ T ₀	≥ 75 %	50 ≤ < 75	25 < < 50	≤ 25 %	0%
≥ 75 %	0	0	0	0	0
50 ≤ < 75	0	0	0	0	0
25 < < 50	0	0	0	0	0
≤ 25 %	0	0	0	0	0
0%	0	0	1	3	9

évolution défavorable

stagnation

évolution favorable

Tableau IX :

Répartition des cas, au cours du temps, en fonction du paramètre "ulcération cornéenne".

6.3 Présentation par paramètre histologique.

Les analyses histologiques faites au laboratoire d'histopathologie vétérinaire de Maisons Alfort au cours de cette étude figurent en annexe (annexe III). Les tableaux X à XIX pages 127 à 130, montrent, aux deux temps de l'étude, la répartition des cas en fonction de la gravité des observations histologiques pour un paramètre donné.

Lobulation

T ₁ \ T ₀	lobulation anormale	lobulation normale
lobulation anormale	2	1
lobulation normale	2	8

■ évolution défavorable

■ stagnation

□ évolution favorable

Tableau X : Répartition des cas, au cours du temps, en fonction du paramètre "lobulation de la glande".

Canaux

T ₁ \ T ₀	Canaux dilatés	Canaux normaux
Canaux dilatés	2	4
Canaux normaux	2	5

■ évolution défavorable

■ stagnation

□ évolution favorable

Tableau XI : Répartition des cas, au cours du temps, en fonction du paramètre "canaux de la glande".

Acini

T ₁ \ T ₀	destruction	atrophie	dilatation	normal
destruction	0	0	0	0
atrophie	1	2	0	4
dilatation	0	1	0	0
normal	1	1	0	4

■ évolution défavorable

■ stagnation

□ évolution favorable

Tableau XII : Répartition des cas, au cours du temps, en fonction du paramètre "acini glandulaires".

Vaisseaux de la glande

T ₁ \ T ₀	vaisseaux congestionnés	vaisseaux normaux
vaisseaux congestionnés	0	0
vaisseaux normaux	1	13

	évolution défavorable
	stagnation
	évolution favorable

Tableau XIII :

Répartition des cas, au cours du temps, en fonction du paramètre "vaisseaux de la glande".

Infiltrat de cellules mononucléées de la glande

T ₁ \ T ₀	nombreuses cellules mononucléées	quelques cellules mononucléées	quantité normale de cellules mononucléées
nombreuses cellules mononucléées	1	1	0
quelques cellules mononucléées	2	3	2
quantité normale de cellules mononucléées	1	1	2

	évolution défavorable
	stagnation
	évolution favorable

Tableau XIV :

Répartition des cas, au cours du temps, en fonction du paramètre "infiltrats de cellules mononucléées de la glande".

Fibrose de la glande

T ₁ \ T ₀	fibrose discrète	absence de fibrose
fibrose discrète	0	4
absence de fibrose	2	7

	évolution défavorable
	stagnation
	évolution favorable

Tableau XV :

Répartition des cas, au cours du temps, en fonction du paramètre "fibrose de la glande".

Stade de la glande

T ₀ \ T ₁	Stade 4	Stade 3	Stade 2	Stade 1	Stade 0
Stade 4	0	2	0	0	1
Stade 3	0	1	1	0	1
Stade 2	0	1	0	0	1
Stade 1	0	0	0	1	1
Stade 0	0	1	0	1	1




 évolution défavorable
 stagnation
 évolution favorable

Tableau XVI :

Répartition des cas, au cours du temps, en fonction du paramètre "grade de la glande".

Vaisseaux de la muqueuse

T ₀ \ T ₁	vaisseaux congestionnés	vaisseaux normaux
vaisseaux congestionnés	5	0
vaisseaux normaux	0	1




 évolution défavorable
 stagnation
 évolution favorable

Tableau XVII :

Répartition des cas, au cours du temps, en fonction du paramètre "vaisseaux de la muqueuse de la membrane nictitante".

Infiltrat de cellules mononucléées de la muqueuse

T ₀ \ T ₁	nombreuses cellules mononucléées	quelques cellules mononucléées	quantité normale de cellules mononucléées
nombreuses cellules mononucléées	2	2	0
quelques cellules mononucléées	0	1	1
quantité normale de cellules mononucléées	0	0	0




 évolution défavorable
 stagnation
 évolution favorable

Tableau XVIII :

Répartition des cas, au cours du temps, en fonction du paramètre "infiltrats de cellules mononucléées de la muqueuse de la membrane nictitante".



Fibrose de la muqueuse

T₁ \ T₀	épaississement local	absence de fibrose
épaississement local	2	2
absence de fibrose	1	1

■ évolution défavorable
■ stagnation
□ évolution favorable

Tableau XIX :

Répartition des cas, au cours du temps, en fonction du paramètre "fibrose de la muqueuse de la membrane nictitante".

3 Discussion.

Le nombre d'animaux inclus dans l'étude est trop faible pour permettre de réaliser une étude statistique des résultats obtenus.

Nous étudions donc dans un premier temps les évolutions observées au cas par cas. Puis nous tentons de dégager une direction évolutive à partir des résultats décrits.

3.1 Étude des résultats individuels.

CAS 1 : Œil Gauche (OG1).

A T0 le STT est limite normal sur l'œil gauche puisqu'il est égal à 10 mm. Les répercussions cliniques ne sont cependant pas absentes. La glande est classée 0.

A T1 le STT est remonté de 4 mm pour l'œil gauche et seules les sécrétions mucopurulentes ont disparu. La glande est toujours classée 0.

Les résultats cliniques sont en accord avec les études précédentes en montrant un accroissement de la sécrétion lacrymale et une amélioration de certains signes cliniques tel que la disparition des sécrétions mucopurulentes à court terme.

Du point de vue histologique, ce cas suggère que les biopsies ne modifient pas l'infiltration mononucléée de la glande puisque la glande nictitante gauche ne change pas de grade.

CAS 2 : Œil droit (OD2), Œil gauche (OG2).

A T0 les STT sont égaux à 5mm sur les deux yeux sans autre répercussion oculaire qu'un aspect terne de la cornée. Les deux glandes sont classées 3.

A T1 les deux STT se sont améliorés de 9 mm en passant à 14 mm. Les deux glandes sont classées 4.

On constate de nouveau une amélioration de la sécrétion lacrymale.

Du point de vue histologique, on n'observe plus d'acini détruits mais des acini atrophiés à T1 sur la glande droite. Cela pourrait correspondre à une régénération des acini.

Par ailleurs à gauche, les acini dont la densité semble faible à T0 sont retrouvés en densité normale à T1. Les acini observés à T1 sont néanmoins tous atrophiés.

CAS 3 : Œil gauche (OG3).

A T0 le STT est égal à 5 mm sur l'œil gauche avec des répercussions cliniques importantes. La glande gauche est classée au grade 0.

A T1 le STT est passé à 14 mm sur l'œil gauche, soit une augmentation de 9 mm (la même que le cas 2). Cet accroissement est associé à une amélioration des signes cliniques. Ces résultats sont en accord avec ceux observés au cours d'autres études (37).

Il nous semble important de souligner quelques points :

- Les STT initiaux des cas 2 et 3 sont équivalents mais ils ne correspondent pas à un même grade glandulaire initial.
- Ces deux cas n'évoluent pas depuis la même période. En fait le cas 2 a été pris très précocement alors que le cas 3 évolue depuis un moment.
- Les signes cliniques du cas 3 sont certainement aggravés par l'exophtalmie due à la race (Lhasa Apso).

Du point de vue histologique on assiste à une dégradation histologique de la glande nictitante qui passe du grade 0 au grade 4 sans qu'on remarque la présence de cellules inflammatoires. L'architecture de la glande est anormale et la fibrose est importante. Les acini, qui étaient auparavant normaux, sont maintenant atrophiés.

Il semble intéressant de constater que les glandes du cas 2 ont elles aussi vues leur grade s'aggraver d'un degré mais elles n'ont néanmoins pas atteints le grade 4.

Il est reconnu que la structure de la glande nictitante est hétérogène, mais cette constatation ne concerne que la disposition et la densité en canaux et acini de la glande. Il nous paraît peu probable que l'état de la fibrose lors du second prélèvement ait déjà concerné ce lieu lors du premier prélèvement.

On peut se demander si la deuxième biopsie du cas 3 n'a malheureusement pas intéressé un site cicatriciel malgré les précautions prises. Si ce n'est pas le cas, nous n'expliquons pas les résultats histologiques obtenus en regard de l'augmentation des sécrétions lacrymales (amélioration du STT de 4 mm) et des signes cliniques observés.

CAS 4 : Œil droit (OD4), Œil gauche (OG4).

A T0 le STT est égal à 9 mm sur l'œil droit et il passe à 20 mm à T1 soit une amélioration de 11 mm. Le STT à gauche reste égal à 1 mm à T0 et à T1. Les signes cliniques s'améliorent à droite et se détériorent à gauche. Les glandes sont toutes les deux classées 0 à T0, mais la glande droite reste classée 0 à T1, alors que la gauche passe au grade 3.

La glande droite est de nouveau classée 0 à T1 sans qu'aucune évolution n'ait été constatée au sein de la glande alors que le STT s'est accru. Cette observation n'est donc pas en faveur d'une action régénératrice de la CsA sur les acini glandulaires.

La glande gauche est classée 3 à T1. Le stade inflammatoire de la glande semble avoir évolué avec une aggravation toute relative du STT et la CsA ne paraît pas avoir empêché l'infiltration mononucléée glandulaire.

Les résultats histologiques de ce cas semblent corrélés avec les signes cliniques. D'autant plus que l'utilisation de l'Optimmune ND sur des yeux atteints de KCS sévère (STT = 0 – 1 mm) n'est pas pourvu d'effet sur les sécrétions lacrymales dans la majeure partie des cas comme nous l'avons déjà souligné (37). Néanmoins il nous semble important de souligner que les biopsies de la glande nictitante gauche n'ont pas été évidentes de par sa très petite taille. En particulier isoler l'angle nasal pour la première biopsie et l'angle temporal de la seconde n'a pas été facile. Il est tout à fait possible que la deuxième biopsie ait intéressé des zones cicatricielles occasionnées par la première biopsie malgré toutes les précautions prises et il n'est malheureusement pas possible de faire la différence entre une inflammation glandulaire pure et une inflammation cicatricielle.

CAS 5 : Œil droit (OD5), Œil gauche (OG5).

A T0 le STT est égal à 10 mm sur l'œil droit, il passe à 18 mm à T1, soit une augmentation de 8 mm. Le STT de l'œil gauche est égal à 9 mm à T0, il passe à 15mm à T1, soit un accroissement de 6mm. Les répercussions cliniques à T0 sont très faibles et sont inexistantes à T1. Les deux glandes sont classées au grade 0 à T0, la glande droite passe à 3 et la gauche reste à 1 limite stade 0. Les analyses histologiques montrent un accroissement de l'infiltration mononucléée de l'œil droit. Si l'on regarde de près les résultats de l'œil gauche, on constate que les modifications sont minimales. En tout cas l'architecture de la glande est toujours conservée et on n'a pas mis en évidence de dilatation des acini.

Il est intéressant de remarquer que l'OD4 et l'OG5 partent avec le même STT. Tous les deux passent à une sécrétion lacrymale normale, le cas 4 avec une amélioration plus notable puisqu'il augmente de 11 mm. Les grades glandulaires sont aussi équivalents initialement. L'OG5 est par contre classé au grade 1 limite 0 alors que l'OD4 est toujours classé 0. Il nous semble que puisque les signes cliniques évoluent dans le même sens et sont équivalents à T1, la seule explication à l'apparition de ce léger infiltrat inflammatoire est la 1^{ère} biopsie. Afin de confirmer (ou d'infirmer) cette hypothèse, il serait intéressant d'effectuer une biopsie plus tardive.

De même, les cas OD5 et OG1 partent avec un même STT. Tous les deux passent à une sécrétion lacrymale normale, l'OD5 avec une augmentation de 8 mm et l'OG1 avec une amélioration de 4 mm. L'OD5 est classé 1 alors que l'OG1 est classé 0. Les répercussions cliniques sont pourtant plus importantes sur l'OG1 que sur l'OD5 à T0. A T1, l'OD5 est classé au grade 2 alors que l'OG1 est classé au grade 0. On peut noter que l'accroissement des sécrétions lacrymales ne semble pas en rapport avec le grade de la glande puisque l'OD5 passe du grade 1 au grade 2 et présente une amélioration de 8 mm du STT, alors que l'OG1 initialement au grade 0 à T0 reste au grade 0 à T1 et ne présente qu'une amélioration de 4 mm du STT. Par ailleurs si on observe de plus près l'aspect de la glande de l'OD5, son architecture ne s'est pas modifiée.

CAS 6 : Œil droit (OD6), Œil gauche (OG6).

Les STT des yeux droit et gauche à T0 sont tous les deux égaux à 2 mm. Les répercussions cliniques sont importantes et évoluent depuis une longue période. Les grades des glandes, même si les STT et les signes cliniques sont équivalents sur les deux yeux, diffèrent. En effet, l'OD6 est classé 3 et l'OG6 est classé 0 à T0. Les STT diminuent tous les deux de 2 mm à T1 et les répercussions cliniques sont toujours importantes. Par contre, l'OD6 est maintenant classé 0 soit une amélioration de 3 grades et l'OG6 est classé 2 soit une diminution de 2 grades.

Les infiltrats mononucléés de l'OD6 ont totalement disparus à T1. Ceci pourrait être en faveur de l'action anti-inflammatoire de la CsA au sein de la glande (contrairement à l'hypothèse que nous avons été amené à émettre face aux résultats obtenus sur l'OG4). En revanche des infiltrats sont apparus sur l'OG6. Les acini de l'OD6 initialement atrophiés sont devenus normaux alors que ceux de l'OG6 se sont atrophiés...

CAS 7 : Œil gauche (OG7).

Les STT sont nuls à T0 avec d'importantes répercussions cliniques. Les glandes sont classées au grade 3. Aucune évolution n'est observée à aucun niveau à T1.

La CsA ne paraît pas avoir eu d'action anti-inflammatoire au sein de la glande. Plusieurs hypothèses nous viennent alors :

- L'action anti-inflammatoire seule de la CsA ne suffit pas à diminuer les réactions inflammatoires glandulaires engendrées par l'insuffisance lacrymale.
- L'action de l'activité anti-inflammatoire de la CsA pourrait être dépendante de son activité lacrymomimétique.
- L'action anti-inflammatoire de la CsA ne suffit pas à réduire les réactions inflammatoires et cicatricielles post 1^{ère} biopsie (ceci ne semble pas appuyé par les études OG1 et OD4).
- L'action anti-inflammatoire de la CsA ne peut se faire lorsque les glandes sont trop atteintes (mais ceci ne semble pas appuyé par l'étude de l'OD9 et carrément infirmé par l'étude de l'OD9).

CAS 9 : Œil droit (OD9), Œil gauche (OG9).

L'OD9 a un faible STT égal à 2 mm à T0 qui s'améliore de 8 mm à T1 en passant à 10 mm et en devenant donc limite normal. L'OD9 part avec une même valeur du STT et des répercussions cliniques comparables à ceux de l'OD6 et l'OG6. Mais si le cas 9 présente une amélioration du STT de 8mm, le cas 6 présente plutôt une évolution défavorable du STT d'1 mm.

Les grades à T0 de l'OD9 et de l'OD6 sont équivalents et égaux à 3 à T0 mais différents de l'OG6 qui est égal à 0. Les grades de l'OD9 et de l'OD6 diffèrent à T1 puisqu'ils sont égaux respectivement à 2 et 0. Les analyses histologiques de l'OD9 montrent une diminution de l'inflammation de la glande mais les acini restent atrophiés. Ces résultats sont donc en défaveur d'une action régénératrice de la CsA sur les acini.

3.2 Étude des paramètres cliniques.

3.2.1 Étude du paramètre "Test de Schirmer (STT)".

Le tableau IV page 124 semble montrer une amélioration au cours du temps des résultats du STT. Au temps T0, 10 yeux présentaient une sécheresse oculaire très sévère (inférieure ou égale à 5 mm/min) et 4 présentaient un STT compris entre 5 et 10 mm/min. La répartition globale est bien différente au bout de 6 semaines de traitement à la CsA. Ainsi 7 yeux ont un STT normal après 6 semaines.

Si on observe les résultats du STT plus en détail, on remarque que la plupart des cas présentant un STT très faible n'ont vu aucune amélioration de leur situation à l'issue de l'étude (1 œil initialement à 1 mm reste à 1 mm, 2 autres initialement à 2 mm passent à 1 mm, 2 autres restent égaux à 0 mm). Seulement 2 yeux présentant un STT faible (4 et 2 mm) ont vu leur sécrétion lacrymale s'améliorer (respectivement 8 et 10mm).

La situation est bien différente pour les yeux présentant un STT plus élevé. Ces yeux peuvent présenter une nette amélioration de ce paramètre. En effet, tous les yeux dont le STT était supérieur ou égal à 5 mm ont vu leur sécrétion lacrymale s'améliorer très nettement jusqu'à atteindre une sécrétion lacrymale normale.

En fait 9 yeux sur 14 de l'étude présentent une très nette amélioration du STT.

Les résultats obtenus au cours de cette étude sont en harmonie avec ceux déjà obtenus au cours d'études précédentes (9) (37).

3.2.2 Étude du paramètre "blépharospasme".

La figure 20 page 124 montre qu'un cas qui ne présentait pas de blépharospasme en présentait un au bout de 6 semaines. Les autres cas n'ont pas évolué au cours du temps.

3.2.3 Étude du paramètre "sécrétions mucopurulentes".

Le tableau V page 125 indique que sur 14 yeux étudiés, 9 ont présenté une stabilité de leur propreté, 4 sont restés sales et 5 sont restés propres. 4 yeux ont présenté une amélioration de leur état de propreté. A la fin de l'étude un seul œil qui ne présentait pas de sécrétions mucopurulentes au début de l'étude sur 6 en a présenté à la fin de l'étude.

Il semble donc qu'on observe une amélioration de la propreté de l'œil.

3.2.4 Étude du paramètre "hyperhémie conjonctivale".

Le tableau VI page 125 indique au terme de l'étude une amélioration de ce paramètre. En effet 2 cas d'hyperhémie avancée se sont améliorés en passant à un stade inférieur d'hyperhémie où les vaisseaux étaient individualisables. Tous les cas normaux le sont restés et l'hyperhémie relative qui avait été observée sur 7 yeux au début de l'étude a persisté au cours des 6 semaines.

3.2.5 Étude du paramètre "vascularisation cornéenne".

Le tableau VII page 125 montre qu'à la fin de l'étude on retrouve encore des yeux dans chaque catégorie. Sur 8 yeux qui présentaient quelques grands vaisseaux cornéens, 7 n'ont pas évolués mais 1 a vu une diminution de sa vascularisation cornéenne. Aucune vascularisation cornéenne ne s'est développée sur des cornées initialement sans vaisseaux.

Il semble qu'on observe une amélioration de ce paramètre. Elle n'est cependant pas évidente ce qui est en accord avec la lente évolution déjà constatée par d'autres chercheurs de ce paramètre.

3.2.6 Étude du paramètre "pigmentation cornéenne".

Le tableau VIII page 126 indique qu'aucune évolution de ce paramètre n'a pu être observée au bout de 6 semaines de traitement à la pommade à la cyclosporine A à 2 %. Toutes les cornées pigmentées le sont restées sans qu'on puisse noter de diminution d'intensité ou d'étendue de la pigmentation.

Les résultats obtenus confirment le fait que si une amélioration de la vision est possible à travers une diminution de la pigmentation elle nécessite davantage de temps que 6 semaines. Ces résultats sont en accord avec les observations déjà effectuées par d'autres chercheurs.

3.2.7 Étude du paramètre "ulcération cornéenne".

L'étude de ce paramètre est montrée sur le tableau IX page 126. Les 4 yeux qui présentaient des ulcérations cornéennes au début du traitement sont devenus sains au bout de 6 semaines de traitement. Tous les yeux à surface cornéenne intacte le sont restés ce qui fait qu'à la fin de l'étude tous les yeux étaient sains.

3.2.8 Conclusion

Les résultats de l'étude clinique confirment les résultats des études précédentes. Certains paramètres s'améliorent de manière précoce (le test de Schirmer, les sécrétions mucopurulentes, l'hyperhémie conjonctivale, l'ulcération cornéenne) et d'autres s'ils s'améliorent, c'est de manière plus tardive (vascularisation et pigmentation cornéennes). Ces derniers ne s'améliorent en tout cas pas au terme des 6 semaines de l'étude.

3.3 Étude des paramètres histologiques.

3.3.1 Étude du paramètre "lobulation".

Le tableau X page 127 ne semble pas montrer une amélioration de l'aspect des lobules glandulaires.

En effet, sur 13 yeux, 8 présentent toujours une lobulation normale, 2 présentent une lobulation anormale et 3 cas évoluent (1 vers une détérioration et 2 vers une amélioration de ce paramètre).

3.3.2 Étude du paramètre "canaux".

Le tableau XI page 127 illustre l'évolution de ce paramètre.

4 cas auparavant normaux présentent une dilatation kystique de certains canaux à la fin de l'étude et 2 cas seulement qui présentaient une dilatation de leurs canaux au début de l'étude ont un aspect normal à la fin de l'étude. Ainsi, 7 cas ne voient pas de modification de leur aspect au cours de l'étude. L'évolution de ce paramètre ne paraît pas explicite.

3.3.3 Étude du paramètre "acini".

Le tableau XII page 127 montre la répartition des cas au cours du temps de ce paramètre.

Une majorité de cas présente un aspect normal de leurs acini lors de la première biopsie, ce n'est plus tout à fait vrai après la deuxième biopsie puisqu'on passe de 7 yeux à 6 yeux, 3 d'entre eux ayant évolué vers une atrophie. Mais alors qu'au début de l'étude on peut observer 2 yeux présentant une destruction de certains acini, il n'y en a plus à la fin de l'étude puisqu'ils évoluent vers un aspect normal ou atrophié de ces acini. On peut considérer cette dernière évolution vers une amélioration de l'aspect de ces acini.

Par ailleurs sur les 4 yeux qui présentaient une atrophie de certains de leurs acini au départ deux ont vu une modification de leur aspect : 1 présente une dilatation de ses acini et l'autre des acini d'aspect normal à la fin du traitement. Soit parmi les 4 yeux présentant une atrophie de leurs acini lors de la seconde biopsie, seuls 2 en présentaient au départ.

Il semble que l'évolution de ce paramètre soit favorable puisque seulement trois yeux voient une détérioration de leur état, tous les autres s'améliorent ou stagnent (ce qui reste la majorité puisque cela représente 10 yeux).

3.3.4 Étude de différents paramètres concernant la muqueuse de la glande nictitante.

Il est à noter que l'étude de la muqueuse n'a pas pu se faire dans tous les cas étant donné que toutes les biopsies n'ont pas intéressé la muqueuse. En effet, ce n'est qu'au cours de l'étude que l'anatomopathologiste nous a suggéré d'essayer de biopser la muqueuse de façon systématique. C'est pourquoi l'étude n'a pu se faire que dans 6 cas.

3.3.4.1 Étude du paramètre "capillaires de la muqueuse".

Le tableau XVII page 129 n'est pas représentatif de l'évolution de l'aspect des différentes biopsies.

Aucune évolution n'est remarquée puisque 5 yeux restent congestionnés et 1 reste normal. Il est pourtant à remarquer que les yeux intéressés ne sont pas du tout forcément ceux dont le stade n'évolue pas puisque seul celui correspondant au cas 5 reste au même stade que celui initial.

3.3.4.2 Étude du paramètre "cellules de la muqueuse".

Ce paramètre vise à étudier l'infiltration inflammatoire de la muqueuse en s'appuyant sur l'étude des cellules mononuclées (principalement lymphocytes, plasmocytes et histiocytes).

Le sens évolutif observé dans le tableau XVIII page 129 semble aller vers une aggravation de ce paramètre. En effet si 3 cas ne voient pas d'évolution (2 en restant sévèrement infiltré et 1 en le restant modérément), 3 cas se détériorent (1 cas passant d'une absence d'infiltration à une infiltration modérée et 2 cas passant d'une infiltration modérée à une infiltration sévère), aucun cas semble présenter d'amélioration de ce paramètre.

On peut se demander s'il existe une légère réaction inflammatoire consécutive à un traitement à base de pommade.

3.3.4.3 Étude du paramètre "fibrose de la muqueuse".

Le tableau XIX page 130 montre cette évolution.

L'évolution ne semble pas flagrante puisque 3 cas n'évoluent pas (1 ne présente jamais de fibrose et 2 présentent toujours un épaissement local), 1 évolue vers un désépaissement épithélial et 2 vers un épaissement au contraire.

3.3.5 Étude des paramètre concernant la glande nictitante.

3.3.5.1 Étude du paramètre "capillaires de la glande".

Un seul cas passe d'un aspect congestionné des capillaires à un aspect normal. Tous les autres cas n'évoluent pas et présentent un aspect normal des capillaires (cf tableau XIII page 128).

3.3.5.2 Étude du paramètre "cellules de la glande".

L'évolution des cas semble montrer une diminution de l'infiltration mononuclées au sein de la glande (cf tableau XIV page 128). Il faut néanmoins rester prudent quant à l'analyse des résultats.

On ne retrouve plus que 2 cas à T1 sur 4 cas d'infiltration marquée à T0. Le nombre de cas ne présentant pas d'infiltration de cellules inflammatoires est équivalent à T0 et à T1. En fait 6 cas n'évoluent pas (1 cas présente toujours une infiltration sévère, 3 cas présentent toujours une infiltration modérée et 2 cas restent sans infiltrats inflammatoires), 4 cas présentent une inflammation moindre au cours du temps (2 cas passent d'un stade très inflammatoire à un stade modéré et 2 cas voient disparaître toute trace d'inflammation), enfin 3 cas présentent l'apparition d'une inflammation (2 cas de façon modérée et 1 cas de façon sévère). En conséquence là encore l'évolution de ce paramètre n'est pas si évidente.

3.3.5.3 Étude du paramètre "fibrose de la glande".

Là encore l'étude globale de ce paramètre ne montre pas un sens d'évolution flagrante (cf tableau XV page 128).

L'observation plus fine de ce paramètre montre que 7 cas ne présentent jamais de fibrose, mais 6 cas évoluent dans un sens ou dans l'autre (2 passent d'un stade fibrosique à T0 et s'améliorent en passant à une absence de fibrose à T1 alors que 4 suivent le parcours inverse).

3.3.6 Étude du paramètre "stade de la glande".

Le tableau XVI page 129 semble montrer une dégradation du stade des yeux entre les deux biopsies. En effet :

- 3 cas montrent une stabilité de leur grade : 1 reste normal, 1 reste au stade 1, et 1 au stade 3.
- 3 cas démontrent une amélioration de l'inflammation : 2 cas présentent une amélioration d'un degré l'un passant de 1 à 0 et l'autre passant de 3 à 2, et 1 cas présente une amélioration de 3 degrés en passant de 3 à 0.
- 7 cas présentent une aggravation plus ou moins marquée de l'inflammation : 4 cas présentent une détérioration d'un degré : 2 en passant de 3 à 4, un autre en passant d'un grade 2 à un grade 3 et enfin un autre d'un grade 0 à un grade 1), 1 cas présente une détérioration de deux degrés en passant de 0 à 2, 1 autre cas présente une détérioration de 3 degrés en passant de 0 à 3, et enfin 1 dernier cas passe de 0 à 4.

L'étude de ce dernier paramètre paraît aller dans le sens d'une aggravation de l'état inflammatoire des glandes nictitantes après une première biopsie et 6 semaines de traitement.

CONCLUSION

Notre étude confirme les résultats cliniques déjà obtenus par d'autres chercheurs concernant l'amélioration précoce du test de Schirmer, la diminution ou la disparition des sécrétions mucopurulentes, de l'hyperhémie conjonctivale et des ulcérations cornéennes. Ces résultats sont en effet remarquables dès le second contrôle après 6 semaines de traitement local à la cyclosporine A. Le protocole n'a par contre pas permis de constater de modification au niveau de la vascularisation et de la pigmentation cornéenne, certainement parce que le délai de l'étude est trop court pour permettre leur visualisation. Ces résultats prouvent que les deux biopsies ne perturbent pas les modifications cliniques observables après un traitement local à base de cyclosporine A.

Du point de vue histologique, il semble qu'il existe une dégradation de l'état inflammatoire des glandes nictitantes entre les deux biopsies. Il nous apparaît probable que la première biopsie soit en grande partie responsable de cette constatation. Par ailleurs nous n'avons pas observé de régénération de lobules ou d'acini significative étant donné qu'il faut garder en mémoire les variations naturellement présentes au sein de la glande. Notre étude ne semble donc pas en faveur d'une relation entre l'activité lacrymomimétique de la CsA et une action régénératrice sur la glande nictitante.

Notre protocole ne nous permet pas de dégager de façon certaine les répercussions d'un traitement local à la CsA sur l'histologie de la glande nictitante. Nous avons incriminé plusieurs facteurs qu'il faudrait prendre en considération dans l'élaboration d'un nouveau protocole. Ainsi il s'est révélé parfois difficile de pratiquer les deux biopsies de la glande en deux régions totalement distinctes. Il est donc possible que la seconde biopsie intéresse en partie une région cicatricielle et que des processus inflammatoires résiduels liés à la première biopsie persistent lors de l'étude de notre seconde biopsie. Or, il se révèle impossible de différencier des inflammations liées à la KCS d'inflammations éventuellement consécutives à la première biopsie.

De ce fait il nous paraît judicieux d'intégrer un lot d'animaux témoins indemnes de KCS qui permettrait d'évaluer l'existence ou non d'une éventuelle inflammation post cicatricielle. Il nous semble aussi intéressant d'accroître l'intervalle de temps entre les deux biopsies afin de réduire au maximum les risques de confusion entre les deux types d'inflammation s'ils existent.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) AGUIRRE GD, RUBIN LF, HARVEY CE. Keratoconjunctivitis sicca in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1971, **158** (9), 1566-1579.
- (2) AUDIGIE F. Les paupières, structure générale. *In* : Pathologie des annexes, Enseignement d'Ophtalmologie de l'Ecole d'Alfort, 1996, poly. n°4, 1-9.
- (3) BERGEAUD P. Repositionnement du canal parotidien. *Le Point Vétérinaire*, 1996, **27** (174), 83-85.
- (4) BERGER SL, SCAGLIOTTI RH, LUND EM. A quantitative study of the effects of Tribissen on canine tear production. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, May-June 1995, **31**, 236-241.
- (5) BOILLOT T. Apport de la cyclosporine A en application locale au traitement de la kératoconjunctivite sèche chez le chien. Thèse Méd. Vét., Nantes, 1995, n° 118.
- (6) BOUNOUS DI, CARMICHAEL KP, KASWAN RL, HIRSH S, STILES J. Effects of ophthalmic cyclosporine on lacrimal gland pathology and function in dogs with keratoconjunctivitis sicca. *Veterinary & Comparative Ophthalmology*, 1995, **5** (1), 5-12.
- (7) CHAHORY S. L'œil sec. Cours d'ophtalmologie. Alfort, 1998.
- (8) CHRISTMAS R. Canadian open clinical field study of cyclosporine ophthalmic ointment in dogs with keratoconjunctivitis sicca. *In* : Proceedings of a meeting held in conjunction with the meeting of the ESVO-ECVO, Dresden, Germany, 14 September 1994, Schering-Plough Animal Health, USA, 1994, 58-62.
- (9) CHRISTMAS R. Cyclosporine ophthalmic ointment in dogs with keratoconjunctivitis sicca. *Canine Practice*, 1995, **20** (5), 6-10.
- (10) CLERC B. La pathologie cornéenne du chat et du chien. *J. Fr. Ophtalmol.*, 1983, **6** (8-9), 731-747.
- (11) CLERC B. Traitement des maladies à médiation immune et des maladies auto-immunes oculaires du chien et du chat par la pommade à la cyclosporine A. (revue générale et expérience personnelle). *Prat. Méd. Chir. Anim. Comp.*, 1996, **31** (1), 73-81.

- (12) CLERC B. Ophthalmologie vétérinaire. 2^{ème} éd. Maisons Alfort, Editions du Point Vétérinaire, 1996, 659p.
- (13) CLERC B., JEGOU J.P., De HAAS V., LOCKWOOD P., WEINGARTEN A. Le traitement de la kératoconjonctivite sèche du chien par la pommade à la cyclosporine A à 0.2 %. *Prat. Méd. Chir. Anim. Comp.*, 1996, **31** (4), 331-338.
- (14) DIEHL K.J., ROBERTS S.M. Keratoconjunctivitis sicca in dogs associated with sulfonamide therapy : 16 cases (1980-1990). *Progress in Veterinary § Comparative Ophthalmology*, 1991, **1** (4), 276-282.
- (15) EL FOURGI L. Pathologie de l'appareil lacrymal chez les carnivores domestiques. *Rec. Méd. Vét.*, 1989, **165** (3), 241-246.
- (16) FAUXPOINT L. Essai de traitement de la kératite métaherpétique chez le chat par la cyclosporine A. Thèse Méd. Vét., Alfort, 1997, n° 83.
- (17) FIKS N. La kératoconjonctivite sèche du chien traitement par lacrisert. Thèse Méd. Vét., Toulouse, 1992, n° 4.
- (18) FOXWELL BMJ, WONG WC, BOREL JF, RYFFEL B. A comparison of cyclosporine binding by cyclophilin and calmodulin. *Transplant. Proc.*, 1989, **21** (1), 873-875.
- (19) FULLARD RJ, KASWAN RL, HIRSH SG. Characterisation of tears induced by cyclosporine. *In* : Proceedings of a meeting held in conjunction with the meeting of the ESVO-ECVO, Dresden, Germany, 14 September 1994, Schering-Plough Animal Health, USA, 1994, 17-20.
- (20) GELATT KN. Veterinary ophthalmology. Philadelphia, Lea et Fébiger ed., 1991, 788p.
- (21) De GEYER G. Anatomie et pathologie de la membrane nictitante chez le chien et le chat. *Prat. Méd. Chir. Anim. Comp.*, 1998, **33** (1), 7-28.
- (22) GILGER BC, ANDREWS J, WILKIE DA, WYMAN M, LAIRMORE MD. Cellular immunity in dogs with keratoconjunctivitis sicca before and after treatment with topical .2 % cyclosporine. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 1995, **49**, 199-208.

- (23) GILGER BC., ANDREWS J, WILKIE DA, LAIRMORE MD. Lymphocyte proliferation and blood drug levels in dogs with keratoconjunctivitis sicca receiving long-term topical ocular cyclosporine. *Veterinary & Comparative Ophthalmology*, 1996, **6** (2), 125-130.
- (24) GRANELLI-PIPERNO A. Lymphokine gene expression in vivo is inhibited by cyclosporine A. *J. Exp. Med.*, 1990, **171**, 533-544.
- (25) GUDMUNDSSON OG, BENEDIKTSSON H, OLAFSDOTTIR K. T-lymphocyte subsets in the human lacrimal gland. *Acta ophthalmologica*, 1988, **66**, 19-23.
- (26) HAKANSON NE. Index of numerical values.
- (27) HELPER LC, MAGRANE WG, KOEHM J, JOHNSON R. Surgical induction of keratoconjunctivitis sicca in the dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1974, **165** (2), 172-174.
- (28) HEMAR A. Régulation de l'expression des gènes codant pour l'interleukine 2 et ses récepteurs : effets d'un immunomodulateur, la CsA . Rôle des protéines NFkB et KBF1 dans la régulation de la transcription. Thèse de Doctorat en Médecine, Université Paris VI, 1991, n°155.
- (29) HESS AD, TUTSCHKA PJ, PU Z, SANTOS GW. Effect of cyclosporine A on human lymphocyte responses in vitro IV. Production of T cell stimulatory growth factors and development of responsiveness to these growth factors in CsA-treated primary MLR cultures. *J. Immunol.*, 1982, **128** (1), 360-367.
- (30) JEGOU JP. Techniques d'examen complémentaire en ophtalmologie chez les carnivores domestiques. *Rec. Méd. Vét.*, 1989, **165**, (3), 199-207.
- (31) JEGOU JP. La pathologie de l'appareil lacrymal. *In* : Pathologie des annexes, Enseignement d'Ophtalmologie de l'Ecole d'Alfort, 1996, poly n°4, 29-51.
- (32) JIMENEZ A, BARRERA R, MANE MC, ANDRES S, LOPES R, MOLLEDA JM. Immunoglobulins of tears and parotid saliva in the dog. *Prog. In Veterinary & Comparative Ophthalmology*, **2** (2), 55-57.

- (33) JOHNSON CK, LOCKWOOD PW, KATZ TL. Cyclosporine ophthalmic ointment for treatment of chronic idiopathic keratoconjunctivitis sicca in dogs : a summary of trials conducted in the United States. *In* : Proceedigs of a meeting held in conjunction with the meeting of the ESVO-ECVO, Dresden, Germany, 14 September 1994, Schering-Plough Animal Health, USA, 1994, 44-53.
- (34) KASWAN RL. Intraocular penetration of topically applied cyclosporine. *Transplant. Proc.*, 1988, **20** (2), suppl. 2, 650-655.
- (35) KASWAN RL. Ophthalmic cyclosporine : immunology, pharmacology and investigational indications. *In* : Proceedings of a meeting held in conjunction with the meeting of the ESVO-ECVO, Dresden, Germany, 14 September 1994, Schering-Plough Animal Health, USA, 1994, 7-16.
- (36) KASWAN RL, MARTIN CL, DAWE DL. Keratoconjunctivitis sicca : immunological evaluation of 62 canine cases. *Am. J. Vet. Res.*, 1985, **46**(2), 376-383.
- (37) KASWAN RL, SALISBURY MA. A new perspective on Canine keratoconjunctivitis sicca, treatment with ophthalmic cyclosporine. *Vet. Clin. North Am. (Small Anim. Pract.)*, 1990, **20** (3), 583-613.
- (38) KASWAN RL, BOUNOUS D, HIRSH SG. Canine keratoconjunctivitis sicca. *In* : Proceedings of a meeting held in conjunction with the meeting of the ESVO-ECVO, Dresden, Germany, 14 September 1994, Schering-Plough Animal Health, USA, 1994, 30-43.
- (39) KASWAN RL, BOUNOUS D, HIRSH SG. Diagnosis and management of keratoconjunctivitis sicca. *Vet. Med.*, 1995, **90** (6), 539-560.
- (40) KUNKL A, KLAUS GGB. Selective effects of cyclosporine A on functional B cell subsets in the mouse. *J. Immunol.*, 1980, **125** (6), 2526-2531.
- (41) LIGNEREUX Y. Eléments d'anatomie ophtalmologique du chien. *Prat. Méd. Chir. Anim. Comp.*, 1997, **32** (supplément), 7-20.
- (42) LIU SH, ZHOU DH, GOTTSH JD, HESS AD. Treatment of experimental auto-immune dacryoadenitis with cyclosporine A. *Clinical immunology and immunopathology*, 1993, **67**(1), 78-83.

- (43) MENTRE O. Contribution à l'étude diagnostique de la kératoconjonctivite sèche du chien. Thèse Méd. Vét., Alfort, 1981, n° 70.
- (44) MINGUEZ E, TIESTOS MT, CRISTOBAL JA, CASTILLO J, DAPENA MP, PALOMARA. Absorption intra-oculaire du collyre cyclosporine A. *J. Fr. Ophthalmol.*, 1992, **15** (4), 263-267.
- (45) MORGAN RV. Prolonged treatment of keratoconjunctivitis sicca with cyclosporine. *In* : Proceedings of a meeting held in conjunction with the meeting of the ESVO-ECVO, Dresden, Germany, 14 September 1994, Schering-Plough Animal Health, USA, 1994, 61-62.
- (46) MOSTELLER MW, GEBHARDT BM, HAMILTON AM, KAUFMAN HE. Penetration of topical cyclosporine into the rabbit cornea, aqueous humor and serum. *Arch. Ophthalmol.*, 1985, **103**, 101-102.
- (47) MOTTA I, COLLE JH, SHIDANI B, TRUFFA-BACHI P. Interleukin 2/interleukin 4-independent T helper cell generation during an in vitro antigenic stimulation of mouse spleen cells in the presence of cyclosporine A. *Eur. J. Immunol.*, 1991, **21**, 551-557.
- (48) NEUMANN W. Keratoconjunctivitis sicca : european field trials of cyclosporine ophthalmic ointment. *In* : Proceedings of a meeting held in conjunction with the meeting of the ESVO-ECVO, Dresden, Germany, 14 September 1994, Schering-Plough Animal Health, USA, 1994, 54-57.
- (49) PETERSEN-JONES SM. Quantification of conjunctival sac bacteria in normal dogs and those suffering from keratoconjunctivitis sicca. *Veterinary & Comparative Ophthalmology*, 1997, **7** (1), 29-35.
- (50) QUESNIAUX VFJ. Pharmacology of cyclosporine (Sandimmune) III. Immunochemistry and monitoring. *Pharmacological reviews*, 1989, **41** (3), 249-258.
- (51) READ RA, DUNN KA, SMITH KC, BARNETT KC. A histological study of nictitans glands from dogs with tear overflow of unknown cause. *Veterinary & Comparative Ophthalmology*, 1996, **6** (3), 195-204.
- (52) SALISBURY MA, KASWAN RL, BROWN J. Microorganisms isolated from the corneal surface before and during topical cyclosporine treatment in dogs with keratoconjunctivitis sicca. *Am. J. Vet. Res.*, 1995, **56** (7), 880-884.

- (53) SANSOM J, BARNETT KC, NEUMANN W, SCHULTE-NEUMANN A, CLERC B, JEGOU JP et al. Treatment of keratoconjunctivitis sicca in dogs with cyclosporine ophthalmic ointment : a european clinical field trial. *Vet. Rec.*, 1995, **137** (20), 504-507.
- (54) SAMAILLE JP. Etiologie des kérato-conjonctivites sèches. *L'Action Vétérinaire*, 1995, supplément au n° 1323, 4.
- (55) SAURET J, MACHIE A. L'œil des carnivores et ses annexes. *Rec. Méd. Vét.*, 1989, **165** (3), 175-186.
- (56) SECCHI AG, TOGNON MS, LEONARDI A. Topical use of cyclosporine A (Sandimmun) in the treatment of immunologically mediated keratoconjunctivitis. *It. J. ophthalmol.*, 1990, **4** (3), 137-142.
- (57) SIMON M. L'œil qui pleure. *Prat. Méd. Chir. Anim. Comp.*, 1998, **33**, supp. P. Soignant 3, 5-8.
- (58) SLATTER D, SEVERIN GA. Use of pilocarpine for treatment of keratoconjunctivitis sicca. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1995, **206** (3), 287-288.
- (59) STILES J, CARMICHAEL P, KASWAN R, BOUNOUS D, MOORE A, HIRSH S. Keratectomy for corneal pigmentation in dogs with cyclosporine responsive chronic keratoconjunctivitis sicca. *Veterinary & Comparative Ophthalmology*, 1995, **5** (1), 25-34.
- (60) STOPPA A.M, MARANINCHI D, BERTAULT-PERES P, MICHEL G, GASPARD MH, BLAISE D et al. La cyclosporine A I. *Le Concours Médical*, 1988, **110** (39), 3578-3585.
- (61) URBAN M, WYMAN M, RHEINS M, MARRARO RV. Conjunctival flora of clinically normal dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1972, **161**, 201-206.
- (62) VERNILLET L. Pour une meilleure approche des taux de cyclosporine (Sandimmun). *Immunoanal. Biol. Spéc.*, 1992, **35**, 43-45.
- (63) WEINGARTEN AJ. The safety of cyclosporine ophthalmic ointment in dogs. *In* : Proceedings of a meeting held in conjunction with the meeting of the ESVO-ECVO, Dresden, Germany, 14 September 1994, Schering-Plough Animal Health, USA, 1994, 24-29.

(64) WEINGARTEN AJ, HUQ A. Ophthalmic use of cyclosporine : formulation considerations. *In* : Proceedings of a meeting held in conjunction with the meeting of the ESVO-ECVO, Dresden, Germany, 14 September 1994, Schering-Plough Animal Health, USA, 1994, 21-23.

(65) WELLS MS, VOGELSANG GB, COLOMBANI PM, HESS AD. Cyclosporine A binding to calmodulin. *Transplant. Proc.*, 1989, **21** (1), 850-852.

(66) WIEZOREEK R, JAKOBIEK FA, SACKS EH, KNOWLES DM. The immunoarchitecture of the Normal Human Lacrymal Gland. *Ophthalmology*, 1988, **95** (1), 100-109.

= + = + =

ANNEXES

Annexe I : Fiche d'évaluation clinique des animaux.

Annexe II : Résultats cliniques : examen des yeux des chiens participant à l'étude.

Annexe III : Résultats histologiques : examen des yeux des chiens participant à l'étude.

Annexe I

Fiche d'évaluation clinique					
Propriétaire	Nom		Téléphone		
	Adresse				
Animal	Nom		Age		
	Race		Sexe	M	F C
Commémoratifs					
Motif de consultation					
Antécédents					
à J0					
KCS durant depuis au moins 1 mois					
Présence du réflexe palpébral					
Présence de la glande nictitante dans l'œil affecté					
Pas d'antécédent de maladie de Carré					
Pas de traitement épisodique aux sulfamide ou phenazopyridine depuis au moins 14 jours					
Pas de traitement local ou systémique à la CsA depuis au moins 15 jours					
Pas de traitement local ou systémique aux corticoïdes depuis au moins 15 jours					
Pas de traitement local ou systémique à la pilocarpine depuis au moins 2 jours					
Pas de traitement local ou systémique à l'atropine depuis au moins 7 jours					
Pas de transposition du canal de Sténon dans l'œil atteint					
Pas d'utilisation de larmes artificielles depuis au moins 2 heures					
à J0+6 semaines					
Pas d'interruption du traitement à la CsA					
Pas de traitement avec un produit non autorisé (corticoïdes, pilocarpine, atropine, larmes artificielles)					
Pas d'interruption d'un traitement chronique aux sulfamides ou phenazopyridines					
				J0	J0+6
				oeil	G D G D
Examen à distance					
Blépharospasme	absent (0)				
	présent (1)				
STT	valeurs				
Examen rapproché					
Sécrétions mucopurulentes	absentes (0)				
	présentes (1)				
Hyperhémie conjonctivale	absence de vaisseau (0)				
	vaisseaux individualisables (1)				
	vaisseaux non individualisables (2)				
Oedème conjonctival	valeur				
Vascularisation cornéenne	absente (0)				
	petits vaisseaux (1)				
	quelques grands vaisseaux (2)				
	nombreux grands vaisseaux (3)				
Pigmentation cornéenne	absente (0)				
	≤ ¼ (1)				
	¼ < < ½ (2)				
	½ ≤ < ¾ (3)				
	≥ ¾ (4)				
Ulcération cornéenne	absente (0)				
	≤ ¼ (1)				
	¼ < < ½ (2)				
	½ ≤ < ¾ (3)				
	≥ ¾ (4)				
Notes					

Annexe II

Cas		STT	Blépharospasme	Sécrétions mucopurulentes	Hyperhémie conjonctivale	Vascularisation cornéenne	Pigmentation cornéenne	Ulcération cornéenne
1	G0	10	0	1	1	2	2	0
	D0	14	0	1	0	1	0	0
	G1	14	0	0	1	2	2	0
	D1	17	0	0	0	1	0	0
2	G0	5	0	0	0	0	0	0
	D0	5	0	0	0	0	0	0
	G1	14	0	0	0	0	0	0
	D1	14	0	0	0	0	0	0
3	G0	5	0	1	1	2	1	2
	D0	12	0	1	1	1	1	1
	G1	14	0	0	1	1	1	0
	D1	16	0	0	1	1	1	0
4	G0	1	0	0	1	0	0	0
	D0	9	0	0	0	0	0	0
	G1	1	1	1	1	0	0	0
	D1	20	0	0	0	0	0	0
5	G0	9	0	0	0	0	0	0
	D0	10	0	0	0	0	0	1
	G1	15	0	0	0	0	0	0
	D1	18	0	0	0	0	0	0
6	G0	2	0	1	1	2	4	0
	D0	2	0	1	1	2	3	0
	G1	1	0	1	1	2	4	0
	D1	1	0	1	1	2	3	0
7	G0	0	0	1	1	2	2	1
	D0	0	0	1	1	2	2	0
	G1	0	0	1	1	2	2	0
	D1	0	0	1	1	2	2	0
8	G0	0	0	1	2	2	2	0
	D0	2	0	1	2	2	2	0
	G1	1	0	1	2	2	2	0
	D1	5	0	1	1	2	2	0
9	G0	4	0	1	2	2	1	1
	D0	2	0	1	2	2	1	0
	G1	8	0	0	1	2	1	0
	D1	10	0	0	1	2	1	0
10	G0	0	0	0	0	0	1	0
	D0	0	0	0	0	1	0	0
	G1							
	D1							
11	G0	0	1	1	2	2	0	4
	D0	5	0	1	0	0	0	0
	G1							
	D1							

Annexe III

Cas	STT	lobulation		canaux		acini			muqueuse					glande					stade									
		normale (0)	anormale (1)	normaux (0)	dilatés (1)	normaux (0)	dilatés (1)	atrophies (2)	détruits (3)	vaisseaux		cellules mononucléées			fibrose		vaisseaux		cellules mononucléées			fibrose		0	1	2	3	4
										normaux (0)	congestionnés (1)	absentes (0)	quelques (1)	nombreuses (2)	absente (0)	discrète (1)	normaux (0)	congestionnés (1)	absentes (0)	quelques (1)	nombreuses (2)	absente (0)	discrète (1)					
1	G0	10	0			1	0				1		1		0		0		1		0			1				
	D0	14	0			1	0				0		0		0		0		0		0		0					
	G1	14	0			1	0				X	X	X	X	X	X	X	0		0		0		0				
	D1	17	0			1	0					1			2	0		0			1		0		0			
2	G0	5	0		0						0		1		0		0			1		0					3	
	D0	5		1	0						3		1		2		1	0			2		1				3	
	G1	14		1	0						2		X	X	X	X	X	X	0		1		1				4	
	D1	14		1	0						2			1		2	0		0		1		0					4
3	G0	5	0		0		0				0		1		0		0		0		0		0		0			
	D0	12	0		1	0					1		1		0		0		0		0		0		0			
	G1	14	0		1						2		X	X	X	X	X	X	0		0		1		1		4	
	D1	16	0		1						2		X	X	X	X	X	X	0		0		1		0			
4	G0	1	0		0		0				X	X	X	X	X	X	X	1	0		0		0		0			
	D0	9	0		1	0					X	X	X	X	X	X	X	0		0		0		0				
	G1	1	0		1						2		0		1		0		0		1		1				3	
	D1	20	0		1	0						1		1		0		0		0		0		0		0		
5	G0	9	0		0		0				X	X	X	X	X	X	0			1		0		0				
	D0	10	0		0		0				0		0		0		0			1		0			1			
	G1	15	0		0		0				0			1		0		0		1		0			1			
	D1	18	0		0		0				0			1			1	0		1		0			1			
6	G0	2	0		0		0					1		1		0		0		0		0		0				
	D0	2		1		1					3		1		1		0		0			2		0			3	
	G1	1	0		1						2		1		1		1	0			1		0			2		
	D1	1	0		0		0					1			2	0		0		0		0		0		0		
7	G0	0		1		1						1		2		1	0				2		0				3	
	D0	0	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	G1	0		1	0						1				2		1	0				2		0			3	
	D1	0	0			1						1			2	0		0			1		0			2		
8	G0	0	0		0		0					1		1		0		0			1		1			2		
	D0	2	0		0		0					1		1		0		0			1		0			1		
	G1	1	0		0						2		1		1		0		0		0		1				4	
	D1	5	0			1	0					1		1		0		0			1		0			1		
9	G0	4	0		1						X	X	X	X	X	X	X	0			1		0			2		
	D0	2		1		1						1		1			1	0				2		1			3	
	G1	8	0		1							1		1		0		0				2		1			3	
	D1	10	0			1	0					1			2		1	0			1		0			2		
10	G0	0																										
	D0	0																										
	G1																											
	D1																											
11	G0	0	0		0		0				X	X	X	X	X	X	X	1	0			0		0				
	D0	5	0		0		0				X	X	X	X	X	X	X	0			1		0		0			
	G1																											
	D1																											

X : pas de données

CONTRIBUTION A L'ETUDE DES MODIFICATIONS HISTOLOGIQUES DE LA GLANDE NICTITANTE DE CHIENS ATTEINTS DE KERATOCONJONCTIVITE SECHE APRES UN TRAITEMENT LOCAL A LA CYCLOSPORINE A 0,2 %.

Nom : DELAFON Prénom : Claire

RESUMÉ :

L'auteur effectue dans une première partie un rappel sur les caractéristiques anatomiques et physiologiques du film lacrymal. Puis, dans une seconde partie il entreprend une étude bibliographique des kératoconjunctivites sèches du chien. Enfin il effectue dans une troisième partie une mise au point sur les connaissances actuelles relatives à la CsA, notamment celles concernant son utilisation dans le traitement de la KCS. Une quatrième partie expose une expérimentation clinique personnelle visant à étudier l'action histologique sur la glande nictitante d'un traitement local à base de CsA.

Le protocole consiste en l'étude clinique et histologique des yeux de chiens atteints de KCS avant et après un traitement local de six semaines à la CsA à 0,2 % sous forme de pommade. Les résultats de l'étude clinique confirment les résultats des études antérieures. Certains paramètres cliniques comme le STT, les sécrétions mucopurulentes, l'hyperhémie conjonctivale et l'ulcération cornéenne s'améliorent précocément. D'autres paramètres cliniques comme la vascularisation et la pigmentation cornéenne stagnent. Si ces derniers s'améliorent, c'est dans une période plus tardive non prise en compte dans l'étude. Les résultats de l'étude histologique montreraient une dégradation de l'état inflammatoire des glandes nictitantes entre deux biopsies. Par ailleurs, l'auteur n'a pas pu mettre en évidence de régénération significative de lobules ou d'acini. L'étude ne met pas en évidence de relation entre l'activité lacrymomimétique de la CsA et une action régénératrice sur la glande lacrymale nictitante.

Un nouveau protocole prenant en considération les difficultés rencontrées en cours d'étude et qui permettrait d'obtenir des résultats plus déterminants est proposé en conclusion.

Mots-Clés :

Chien
Kératoconjunctivite sèche
Cyclosporine A

JURY :

Président :
Directeur : Pr Clerc
Assesseur : Pr Kolf Clauw

Adresse de l'auteur :

29, rue de l'Abbé Groult
F 75015 Paris

**CONTRIBUTION TO THE STUDY OF HISTOLOGIC MODIFICATIONS OF THE
NICTITANT GLAND OF DOGS SUFFERING FROM KERATOCONJUNCTIVITIS
SICCA AFTER A LOCAL TREATMENT WITH .2 % CYCLOSPORINE A.**

Surname: DELAFON Given name: Claire

ABSTRACT:

The author begins with a reminder of the anatomic and physiologic characteristics of the lacrimal liquid. Following is a bibliographic study of the canine keratoconjunctivitis sicca. In a third part he develops the current knowledge about CsA, especially its utilisation in KCS treatment. A fourth part presents a personal clinical experimentation which aims at studying the histologic action of a local CsA treatment on the nictitant gland.

The protocol consists of a clinical and histologic study of eyes of dogs suffering from KCS before and after a six weeks local treatment using .2 % CsA ointment. The results of the clinical study confirm prior studies. Certain clinical parameters such as STT, mucopurulent secretions, conjunctival hyperemia and corneal ulceration show clear improvement. Some other clinical parameters, such as vascularization and cornean pigmentation, stagnate. If these improve, it must be at a later stage not covered by this study. The results of the histologic study seem to indicate a degradation of the inflammatory state of nictitant glands between two biopsies. Furthermore, the author could not find evidence any significant regeneration of lobules and acinis. The study does not indicate any relation between the lachrymomimetic action of CsA and a regenerative action on the nictitant lachrymal gland.

An alternative protocol, which takes into account the difficulties met during this study, and which could enable to obtain more determining results, is proposed in the conclusion.

KEY WORDS:

Dog
Keratoconjunctivitis sicca
Cyclosporine A

JURY:

President:
Director: Pr Clerc
Assessor: Pr Kolf Clauw

Author's Address:

29, rue de l'Abbé Groult
F 75015 Paris