

UNIVERSITÉ DE LIMOGES

Faculté de Médecine

ANNÉE 2016

THÈSE N°

ETUDE BECONEC
INTERET DES INJECTIONS SOUS-CONJONCTIVALES
DE BEVACIZUMAB COMME TRAITEMENT DES
NEOVAISSEAUX CORNEENS
PREMIERS RESULTATS

THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement

le 16 septembre 2016

par

Sofiane LARIBI

né le 06 avril 1986, à Bordeaux

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

M. le Professeur Pierre-Yves ROBERTPrésident et directeur de thèse
M. le Professeur Jean-Paul ADENIS Juge
M. le Professeur Jean-Jacques MOREAU Juge
M. le Professeur Pierre FOURNIE Juge
Mme le Docteur Laura DOST Juge

UNIVERSITÉ DE LIMOGES

Faculté de Médecine

ANNÉE 2016

THÈSE N°

ETUDE BECONEC
INTERET DES INJECTIONS SOUS-CONJONCTIVALES
DE BEVACIZUMAB COMME TRAITEMENT DES
NEOVAISSEAUX CORNEENS
PREMIERS RESULTATS

THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement

le 16 septembre 2016

par

Sofiane LARIBI

né le 06 avril 1986, à Bordeaux

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

M. le Professeur Pierre-Yves ROBERTPrésident et directeur de thèse
M. le Professeur Jean-Paul ADENIS Juge
M. le Professeur Jean-Jacques MOREAU Juge
M. le Professeur Pierre FOURNIE Juge
Mme le Docteur Laura DOST Juge

DOYEN DE LA FACULTE : Monsieur le Professeur Denis VALLEIX

ASSESEURS : Monsieur le Professeur Jean-Jacques MOREAU
Monsieur le Professeur Pierre-Marie PREUX

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS :

ABOYANS Victor (CS)		CARDIOLOGIE
ACHARD Jean-Michel		PHYSIOLOGIE
ALAIN Sophie		BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE
ALDIGIER Jean-Claude	(SUR. 31.08.2016)	NEPHROLOGIE
ARCHAMBEAUD Françoise (CS)		MEDECINE INTERNE
ARNAUD Jean-Paul TRAUMATOLOGIQUE	(SUR. 31.08.2016)	CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE ET
AUBARD Yves (C.S.)		GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE
AUBRY Karine		O.R.L.
BEDANE Christophe (CS)		DERMATOLOGIE-VENEREOLOGIE
BERTIN Philippe (CS)		THERAPEUTIQUE
BESSEDE Jean-Pierre (CS)		O.R.L.
BORDESSOULE Dominique (CS)		HEMATOLOGIE
CAIRE François		NEUROCHIRURGIE
CHARISSOUX Jean-Louis TRAUMATOLOGIQUE		CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE ET

CLAVERE Pierre (CS)	RADIOTHERAPIE
CLEMENT Jean-Pierre (CS)	PSYCHIATRIE D'ADULTES
COGNE Michel (CS)	IMMUNOLOGIE
CORNU Elisabeth VASCULAIRE	CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIO-
COURATIER Philippe (C.S.)	NEUROLOGIE
DANTOINE Thierry VIEILLISSEMENT (CS)	GERIATRIE ET BIOLOGIE DU
DARDE Marie-Laure (C.S.)	PARASITOLOGIE et MYCOLOGIE
DAVIET Jean-Christophe	MEDECINE PHYSIQUE et de READAPTATION
DESCAZEAUD Aurélien	UROLOGIE
DES GUETZ Gaëtan	CANCEROLOGIE
DESSPORT Jean-Claude	NUTRITION
DRUET-CABANAC Michel (CS)	MEDECINE ET SANTE AU TRAVAIL
DUMAS Jean-Philippe (SUR. 31.08.2018) (C.S.)	UROLOGIE
DURAND-FONTANIER Sylvaine	ANATOMIE (CHIRURGIE DIGESTIVE)
ESSIG Marie (CS)	NEPHROLOGIE
FAUCHAIS Anne-Laure (CS)	MEDECINE INTERNE
FEUILLARD Jean (CS)	HEMATOLOGIE
FOURCADE Laurent (CS)	CHIRURGIE INFANTILE
GAINANT Alain (SUR. 31.08.2017)	CHIRURGIE DIGESTIVE
GUIGONIS Vincent	PEDIATRIE

JACCARD Arnaud	HEMATOLOGIE
JAUBERTEAU-MARCHAN M. Odile	IMMUNOLOGIE
LABROUSSE François (CS)	ANATOMIE et CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES
LACROIX Philippe	MEDECINE VASCULAIRE
LAROCHE Marie-Laure	PHARMACOLOGIE CLINIQUE
LIENHARDT-ROUSSIE Anne (CS)	PEDIATRIE
LOUSTAUD-RATTI Véronique	HEPATOLOGIE
MABIT Christian	ANATOMIE
MAGY Laurent	NEUROLOGIE
MARQUET Pierre (CS)	PHARMACOLOGIE FONDAMENTALE
MATHONNET Muriel	CHIRURGIE DIGESTIVE
MELLONI Boris (CS)	PNEUMOLOGIE
MOHTY Dania	CARDIOLOGIE
MONTEIL Jacques (CS)	BIOPHYSIQUE ET MEDECINE NUCLEAIRE
MOREAU Jean-Jacques (C.S.)	NEUROCHIRURGIE
MOUNAYER Charbel	RADIOLOGIE et IMAGERIE MEDICALE
NATHAN-DENIZOT Nathalie (CS)	ANESTHESIOLOGIE-REANIMATION
NUBUKPO Philippe	ADDICTOLOGIE
PARAF François (CS)	MEDECINE LEGALE et DROIT de la SANTE
PLOY Marie-Cécile (CS)	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE
PREUX Pierre-Marie	EPIDEMIOLOGIE, ECONOMIE DE LA SANTE ET PREVENTION
ROBERT Pierre-Yves (C.S.)	OPHTALMOLOGIE

SALLE Jean-Yves (C.S.)	MEDECINE PHYSIQUE ET DE READAPTATION
SAUTEREAU Denis (CS)	GASTRO-ENTEROLOGIE ; HEPATOLOGIE
STURTZ Franck (CS)	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
TEISSIER-CLEMENT Marie-Pierre	ENDOCRINOLOGIE , DIABETE ET MALADIES METABOLIQUES
TREVES Richard (SUR. 31.08.2018)	RHUMATOLOGIE
TUBIANA-MATHIEU Nicole (SUR. 31.08.2018) (CS)	CANCEROLOGIE
VALLEIX Denis (CS)	ANATOMIE CHIRURGIE GENERALE
VERGNENEGRE Alain (CS)	EPIDEMIOLOGIE, ECONOMIE DE LA SANTE et PREVENTION
VERGNE-SALLE Pascale	THERAPEUTIQUE
VIGNON Philippe	REANIMATION
VINCENT François (CS)	PHYSIOLOGIE
VIROT Patrice (SUR. 31.08.2016)	CARDIOLOGIE
WEINBRECK Pierre (C.S)	MALADIES INFECTIEUSES
YARDIN Catherine (C.S)	CYTOLOGIE ET HISTOLOGIE

PROFESSEUR ASSOCIE DES UNIVERSITES à MI-TEMPS DES DISCIPLINES MEDICALES

BRIE Joël STOMATOLGIE	CHIRURGIE MAXILLO-FACIALE et
---------------------------------	------------------------------

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

AJZENBERG Daniel	PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE
-------------------------	----------------------------

BARRAUD Olivier	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE
BOURTHOUMIEU Sylvie	CYTOLOGIE et HISTOLOGIE
BOUTEILLE Bernard	PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE
CHABLE Hélène	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
DURAND Karine	BIOLOGIE CELLULAIRE
ESCLAIRE Françoise	BIOLOGIE CELLULAIRE
HANTZ Sébastien	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE
JESUS Pierre	NUTRITION
LE GUYADER Alexandre VASCULAIRE	CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIO-
LIA Anne-Sophie	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
MARIN Benoît	EPIDEMIOLOGIE, ECONOMIE de la SANTE et PREVENTION
MURAT Jean-Benjamin	PARASITOLOGIE et MYCOLOGIE
QUELVEN-BERTIN Isabelle	BIOPHYSIQUE ET MEDECINE NUCLEAIRE
TCHALLA Achille	GERIATRIE et BIOLOGIE du VIEILLISSEMENT
RIZZO David	HEMATOLOGIE
TERRO Faraj	BIOLOGIE CELLULAIRE
WOILLARD Jean-Baptiste	PHARMACOLOGIE FONDAMENTALE

P.R.A.G

GAUTIER Sylvie	ANGLAIS
-----------------------	---------

PROFESSEUR DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE

BUCHON Daniel

PROFESSEURS ASSOCIES A MI-TEMPS DES MEDECINE GENERALE

DUMOITIER Nathalie

MEDECINE GENERALE

PREVOST Martine

MEDECINE GENERALE

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE A MI-TEMPS

MENARD Dominique

MEDECINE GENERALE

PAUTOUT-GUILLAUME Marie-Paule

MEDECINE GENERALE

PROFESSEURS EMERITES

ADENIS Jean-Paul

du 01.09.2015 au 31.08.2017

MERLE Louis

du 01.09.2015 au 31.08.2017

MOULIES Dominique

du 01.09.2015 au 31.08.2017

VALLAT Jean-Michel

du 01.09.2014 au 31.08.2017

Remerciements

*A notre maître et Président de Jury,
Monsieur le Professeur Pierre-Yves Robert,
Professeur des Universités d'Ophtalmologie,
Ophtalmologiste des hôpitaux,
Responsable de service,*

Je vous remercie d'avoir accepté la Présidence de mon jury et l'encadrement de mon travail de thèse,

*Merci pour votre enseignement et votre accompagnement tout au long de mon internat,
Merci pour votre patience lors de mes premiers gestes chirurgicaux, pour votre disponibilité et pour la confiance que vous avez su m'accorder.*

C'est avec grand plaisir que je continue de travailler à vos côtés.

Trouvez ici le témoignage de ma profonde gratitude.

*A notre maître et Juge,
Monsieur le Professeur Jean-Paul Adenis,
Professeur des Universités d'Ophtalmologie,
Ophtalmologiste des hôpitaux,
Ancien chef de service,*

Je vous suis éternellement reconnaissant pour tout le savoir que vous avez pu me transmettre et pour me pousser à toujours aller de l'avant,

*Vous m'avez donné l'envie d'aller découvrir la belle île de la Réunion et je vous en remercie,
C'est un honneur que de travailler à vos côtés.*

Trouvez ici le témoignage de mon profond respect.

A notre maître et Juge,
Monsieur le Professeur Jean-Jacques Moreau,
Professeur des Universités,
Neurochirurgien des hôpitaux,
Chef de service

Je vous remercie de m'avoir accueilli et accompagné lors de mes premiers pas en tant qu'interne dans votre service et aujourd'hui d'accepter de faire partie de mon jury de thèse.

Recevez l'expression de mon profond respect.

A notre maître et Juge,
Monsieur le Professeur Pierre Fournié,
Professeur des Universités d'Ophtalmologie,
Ophtalmologiste des hôpitaux,

Je vous remercie d'avoir accepté de juger ce travail de thèse et de faire le déplacement jusqu'à notre belle ville de Limoges.

Soyez assuré de ma gratitude.

A notre maître et Juge,
Madame le Docteur Laura Dost,
Chef de clinique des hôpitaux en Ophtalmologie,

*C'est un grand plaisir que de t'avoir dans mon jury de thèse,
J'ai adoré travailler avec toi à la fin de ton internat et tout au long de ton clinicat,
Je te souhaite plein de bonheur dans la poursuite de ton aventure au pays basque.*

Merci au Dr. Bourmault, au Dr. Ben Ammar, au Dr. Barreau, au Dr. Delmas, au Dr. Leclerc, cela a été un plaisir que de se former à l'ophtalmologie à vos côtés.

Merci à toute l'équipe du service d'ophtalmologie de Limoges aux infirmières de consultation, du service, du bloc, aux secrétaires, aux orthoptistes, aux attachés de recherche et aux aides-soignants avec qui j'ai plaisir à travailler chaque jour dans la bonne humeur.

Merci à toute l'équipe de la réunion au Dr. Nguyen, au Dr. Villeroy, au Dr. Cherrat, à Mina et aux secrétaires pour le superbe stage que vous m'avez réservé sur votre magnifique île.

Merci au Dr. Brakbi et à toute l'équipe de Brive, cela a été un réel plaisir que de faire ses premiers pas en ophtalmologie à vos côtés.

Merci à l'équipe de l'hôpital de Saint-Yrieix-La-Perche, au Dr. Cessot et au Dr. Rida, je me réjouis de travailler de nouveau à vos côtés.

Merci au Pr. Archambeaud, au Pr. Teissier, au Dr. Mausset et à toute l'équipe de Médecine interne B pour m'avoir accueilli dans votre service.

Merci à toute l'équipe de la clinique Chénieux, au Dr. Salomon, au Dr. Mourgues, au Dr. Detre, au Dr. Decourteix, pour m'avoir accueilli chez vous à bras ouvert.

Merci à mes co-internes d'ophtalmologie et d'ailleurs avec qui cela a été un bonheur de faire cet internat : Thomas, Romain, Nathalie, Kirwan, Adrien, Walaa, Aurianne, Sébastien, Cécile, Jean-marc, Aissa, Alexandre, Jeremy, Alexis, Antoine, Rémy, Fabien, Victor, Florian, Hélène, Anne, Ludivine, Aymeric.

Un grand merci à mes parents, à mes frères (Yanis et Lounis), mes oncles et tantes (avec un merci spécial à Mus et Kader sans qui je ne serais peut-être jamais venu faire ophtalmologie à Limoges), mes cousins et cousines, mes grands-parents, et à mes amis (surtout Maxime et John) pour m'avoir soutenu tout au long de ces longues études médicales et sans qui je ne serais jamais arrivé où je suis aujourd'hui.

Merci à ma Fanny pour tout le bonheur que tu m'apportes chaque jour à tes côtés.

Droits d'auteurs



Cette création est mise à disposition selon le Contrat : « **Attribution-Pas d'Utilisation Commerciale-Pas de modification 3.0 France** » disponible en ligne

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/fr/>

Table des matières

Introduction	16
1. Etat actuel des connaissances	18
1.1. Le privilège angiogénique de la cornée.....	18
1.2. Néovascularisation cornéenne.....	19
1.2.1. Physiopathologie	19
1.2.1.1. L'angiogenèse.....	19
1.2.1.2. Processus de néovascularisation au niveau cornéen	19
1.2.1.3. Les facteurs pro-angiogéniques	22
1.2.1.4. Les facteurs anti-angiogéniques.....	25
1.2.2. Aspects cliniques	26
1.2.3. Etiologies	27
1.2.4. Néovascularisation et greffe de cornée	28
1.3. Les Traitements actuels de la néovascularisation cornéenne	29
1.3.1. Les anticorps monoclonaux anti-VEGF	29
1.3.2. Bévacizumab et Néovascularisation Cornéenne	30
1.3.3. Les Autres traitements de la Néovascularisation cornéenne	32
1.3.3.1. Les anti-inflammatoires stéroïdiens	32
1.3.3.2. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens	33
1.3.3.3. Les tétracyclines	33
1.3.3.4. La cyclosporine	33
1.3.3.5. La thérapie génique	34
1.3.3.6. Les inhibiteurs des tyrosine kinases.....	34
1.3.3.7. Les traitements laser.....	35
1.3.3.8. Les traitements Chirurgicaux.....	35
1.4. Quantification de la néovascularisation cornéenne	36
1.4.1. Imagerie.....	36
1.4.2. Critère d'évaluation de la néovascularisation	36
1.4.3. Quantification de la néovascularisation cornéenne	37
1.4.3.1. Échelle de gradation clinique	37
1.4.3.2. Surlignage et comptage manuelle	37
1.4.3.3. Analyse semi-automatique	37
2. Matériels et Méthodes de l'étude BECONEC.....	38
2.1. Objectifs	38
2.1.1. Objectif principal	38
2.1.2. Objectif Secondaire.....	38
2.2. Conception de la recherche	39
2.2.1. Schéma de la recherche	39
2.2.2. Randomisation.....	39
2.3. Critères d'éligibilité.....	40
2.3.1. Critères d'inclusion.....	40
2.3.2. Critères d'exclusion : avant amendement d'avril 2016	40
2.3.3. Critères d'exclusion : après amendement d'avril 2016	41
2.4. Traitements de la recherche	42
2.4.1. Traitements à l'étude	42
2.4.2. Placebo.....	43
2.4.3. Préparation des seringues	43
2.4.4. Procédure d'injection du produit.....	44
2.4.5. Traitement et procédure associées	45
2.5. Organisation de l'insu	46
2.6. Critère de jugement	47
2.6.1. Critère de jugement principal	47

2.6.2. Critère de jugement secondaire	47
2.7. Réalisation de la photographie	48
2.8. Analyse semi automatisée	49
2.9. Déroulement de la recherche.....	52
2.9.1. Calendrier de la recherche.....	52
2.9.2. Calendrier de suivi patient.....	52
2.10. Statistiques	56
2.10.1. Calcul du nombre de sujets.....	56
2.10.2. Méthodes statistiques	56
2.11. Bénéfices attendus	57
3. Résultats	58
3.1. Population d'étude	58
3.2. Etiologie et ancienneté des néovaisseaux	60
3.3. Critère de Jugement principal	61
3.4. Critère de Jugement Secondaire	62
3.4.1. Néovascularisation à M6.....	62
3.4.2. Recours à une greffe de cornée.....	66
3.4.3. Tolérance.....	66
3.5. Résultats intermédiaires	67
3.6. Autres Données	67
3.6.1. Score de Gradding Clinique	67
3.6.2. Acuité visuelle (AV).....	69
3.6.3. Pachymétrie.....	70
3.6.4. Examen Spéculaire de cornée	70
3.6.5. Tonus intraoculaire	70
3.6.6. Examen de la cornée	71
4. DISCUSSION	72
4.1. Analyse des patients répondeurs au traitement	72
4.1.1. Patient 09	73
4.1.2. Patient 11	75
4.1.3. Patient 13	77
4.1.4. Patient 03	79
4.2. Difficultés rencontrées au cours de l'étude	80
4.3. Comparaison des résultats à la littérature	81
4.4. Le schéma de l'étude.....	83
4.5. Le critère de jugement principal / la surface cornéenne néovascularisée.....	83
4.6. Comparaison de la surface néovascularisée et de l'aire d'invasion des néovaisseaux	84
4.7. Le Bévacicumab	86
4.8. La dose de 5mg.....	87
4.9. La voie sous conjonctivale	88
4.10. Influence de l'étiologie	90
4.11. Influence de l'ancienneté de la néovascularisation	91
4.12. Influence de la surface néovascularisée	92
4.13. Une ou plusieurs injections.....	92
4.14. Tolérance / effets indésirables	93
4.15. Intérêts pour les patients.....	94
Conclusion	96
Références bibliographiques	97

Introduction

Une cornée saine est nécessaire pour assurer les propriétés réfractives du segment antérieur et une vision normale. C'est le caractère avasculaire de la cornée qui lui permet d'être complètement transparente.

Le maintien d'une cornée avasculaire passe par un équilibre entre molécule pro-angiogénique et anti-angiogénique. Cet équilibre va être rompu lors d'une agression intense de la cornée et aboutir à une néovascularisation cornéenne.

De nombreuses pathologies peuvent entraîner une néovascularisation : kératite infectieuse (herpétique), traumatisme chimique ou physique, maladies auto-immunes, greffe de cornée.

Cette néovascularisation va entraîner une perte de la transparence cornéenne et donc une baisse d'acuité visuelle.

C'est dans les années 1980 que fut découverte une des premières molécules pro-angiogéniques : le Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF).

Les premiers traitements anti-angiogéniques quant à eux datent des années 1990 avec la mise au point du Bévacicumab, premier anticorps monoclonal ciblant le VEGF. Il sera commercialisé en 2004 comme traitement du cancer colorectal.

Les traitements actuels de la néovascularisation cornéenne passent essentiellement par les corticoïdes topiques, mais qui ont une efficacité limitée et de nombreux effets secondaires. A ce jour nous ne disposons toujours pas d'une thérapeutique efficace et sans risque dans le traitement de la néovascularisation cornéenne.

Depuis une dizaine d'années le Bévacicumab a montré des résultats encourageants pour faire régresser la néovascularisation cornéenne tout d'abord sur des modèles animaux puis via des études cliniques chez l'homme mais de faibles effectifs.

Il reste aujourd'hui à préciser l'efficacité du Bévacizumab ainsi que ses modalités d'utilisation dans cette indication (dose, voie d'administration, durée du traitement, tolérance) dans une étude à fort niveau de preuve.

Une étude randomisée, versus placebo, multicentrique et en double aveugle, évaluant l'efficacité du Bévacizumab sur la néovascularisation cornéenne toutes étiologies confondues, en injection sous conjonctivale, a été débutée en 2012. La surface cornéenne néovascularisée a été mesurée via analyse semi-automatisée de photographie numérisée.

Nous présenterons ici les premiers résultats de cet essai clinique.

1. Etat actuel des connaissances

1.1. Le privilège angiogénique de la cornée

Plusieurs éléments participent au caractère avasculaire de la cornée.

Son stroma est composé essentiellement de fibres de collagène qui via leurs arrangements en maille va offrir une résistance mécanique qui s'oppose à la pénétration des vaisseaux.

Les protéoglycanes, qui entourent les fibres de collagène, permettent de lutter contre l'hyperhydratation de la cornée, qui aurait pour conséquence des espaces entre les fibres de collagène facilitant la pénétration de néovaisseaux.

Le limbe, zone de transition entre la sclère opaque et la cornée transparente, jouerait un rôle de barrière physique s'opposant à l'invasion de la conjonctive et de néovaisseaux mais dont le mécanisme reste mal connu à ce jour.(1)

Enfin un équilibre entre facteurs pro-angiogéniques et anti-angiogéniques est nécessaire pour le maintien d'une cornée avasculaire.(2)

C'est ce caractère avasculaire qui permet à la cornée de rester parfaitement transparente et d'assurer une bonne acuité visuelle.

1.2. Néovascularisation cornéenne

1.2.1. Physiopathologie

La néovascularisation cornéenne se définit comme l'apparition de nouveaux vaisseaux, qui se développent à partir de structures vasculaires préexistantes situées au niveau limbique et vont envahir la cornée normalement avasculaire et d'une transparence totale. (3)

Elle entraîne la formation de taies cornéennes et de dépôts lipidiques responsable d'une perte de la transparence cornéenne avec baisse de l'acuité visuelle.

1.2.1.1. L'angiogenèse

L'angiogenèse est la formation de nouveaux vaisseaux à partir d'un réseau vasculaire préexistant. On distingue l'hémangiogenèse avec croissance de cellules endothéliales (capillaires et veinules terminales de l'appareil microcirculatoire) et la lymphangiogenèse avec croissance de vaisseaux lymphatiques (lymphangioblastes et cellules souches hématopoïétiques). (4)

Ces deux processus sont sous le contrôle de facteurs de croissance à type de cytokines pro-angiogéniques et inhibitrice de néovascularisation.

1.2.1.2. Processus de néovascularisation au niveau cornéen

Le caractère avasculaire de la cornée résulte d'un équilibre entre production de facteurs anti-angiogéniques (Endostatine, Angiostatine, PEDF) et répression de facteurs pro-angiogéniques (VEGF-A, bFGF, PDGF...). Lors d'une agression tissulaire majeure (intense, prolongée), les facteurs pro-angiogéniques vont être surexprimés par rapport aux facteurs anti-angiogéniques. Ces facteurs sont solubles et vont traverser les tissus pour se lier aux cellules endothéliales (notamment limbique) à proximité de la lésion et activer prolifération et migration cellulaire.(5)

Les cellules endothéliales vont voir leur cytosquelette se modifier avec expression de molécule d'adhésion de surface (intégrine et sélectine) et vont produire des enzymes protéolytiques capable de dégrader le collagène de la membrane basale des capillaires et des veinules. Les cellules endothéliales vont alors pouvoir passer au travers de la membrane basale du capillaire d'origine pour un constituer un nouveau tube capillaire. **(cf. figure 1)**

Au sein de la matrice extracellulaire des kératocytes sont activés et se transforment en fibroblastes qui sécrètent des enzymes protéolytiques (métalloprotéinases) capable de dégrader le collagène du stroma, le rendant plus perméable aux nouveaux tubes capillaires.

Des cellules musculaires lisses et des péricytes vont aussi venir renforcer la structure des tubes capillaires.

Ce sont ces tubes capillaires qui une fois ramifiés et vascularisés vont former les néovaisseaux.

L'afflux de néovaisseaux au niveau stromal va entrainer une altération du collagène et s'accompagner d'exsudation, d'œdème, de dépôts lipidiques voir d'hémorragies intrastromales.

Cette altération de la cornée sera responsable d'aberrations optiques et d'une baisse d'acuité visuelle variable en fonction de l'intensité de la néovascularisation, de l'opacification cornéenne et de l'atteinte de l'axe optique.

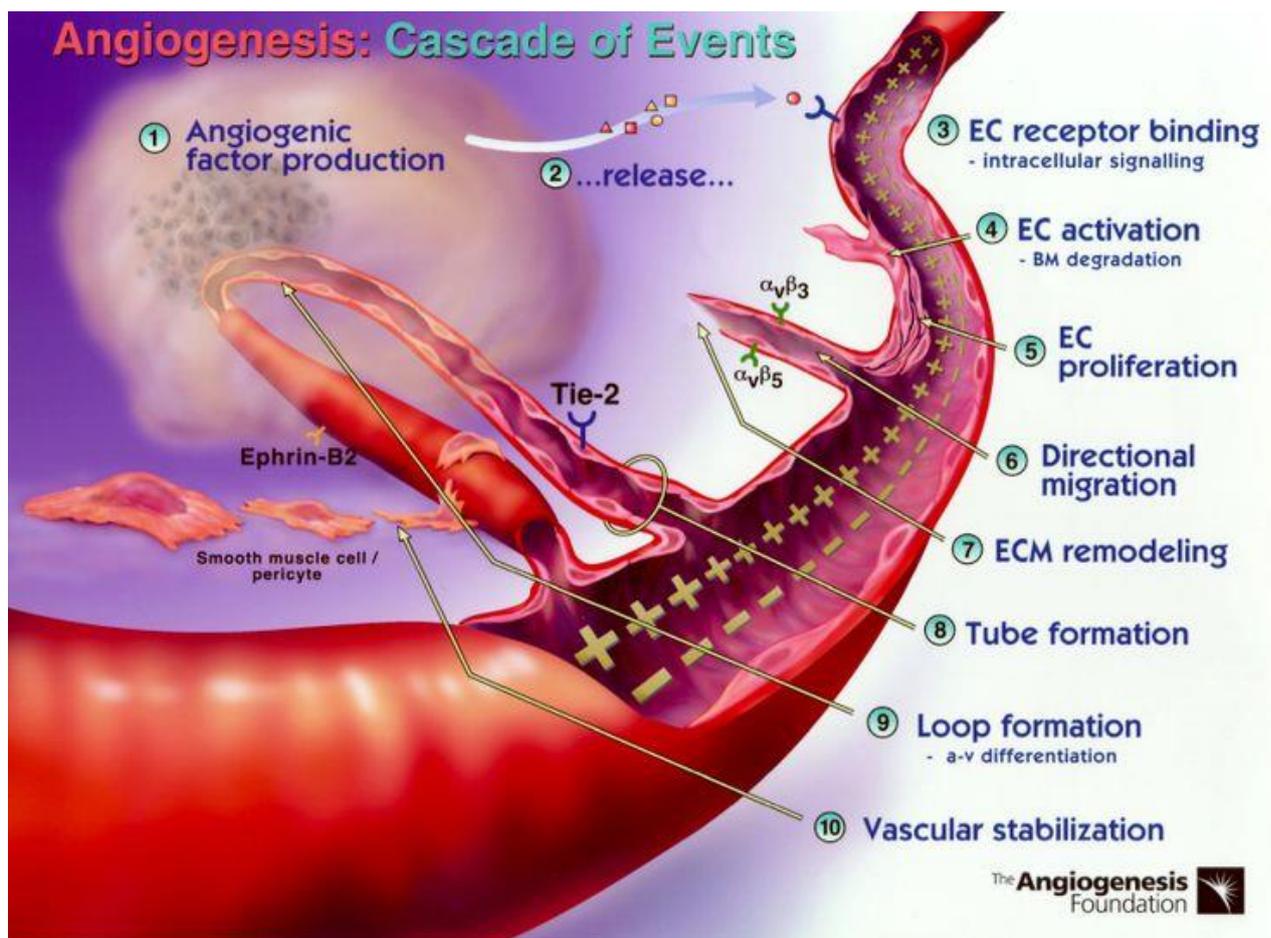


Figure 1 : Représentation schématique des mécanismes de l'angiogenèse.
D'après The Angiogenesis Foundation 2010.

1.2.1.3. Les facteurs pro-angiogéniques

Le Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) est le principal facteur angiogénique impliqué dans la néovascularisation cornéenne.(6)

C'est une glycoprotéine homodimère liée à un dissulfide.

La famille du VEGF comprend :

- 6 facteurs de croissance : les 5 isoformes du VEGF (A, B, C, D, et E) et le facteur de croissance placentaire (PLGF)

- 3 récepteurs : VEGFR1 (flt1), VEGFR2 (KDR/Flk1) et VEGFR3 (Flt4)

C'est principalement le VEGF-A qui stimule l'angiogenèse en se fixant au VEGFR1 et VEGFR2 ce qui a pour conséquence une augmentation de la prolifération cellulaire endothéliale, une migration cellulaire, une stimulation de la protéolyse, la formation de tubes capillaires et une augmentation de la perméabilité vasculaire.(7)

L'importance du VEGF-A dans l'angiogenèse de la cornée a été démontré expérimentalement sur des modèles animaux en inhibant la néovascularisation après l'implantation stromale d'anticorps anti-VEGF-A.(8)

L'activité du VEGFR2 peut être inhibée par des anticorps neutralisants, des inhibiteurs de tyrosine kinase, des récepteurs du VEGF et par administration de récepteurs solubles (VEGF-trap).

Un épithélium cornéen sain sécrète une forme soluble de VEGFR1 capable d'agir comme un VEGF-Trap endogène et de juguler un excès de sécrétion de VEGF-A.(9)

Dans les modèles expérimentaux de cornées néovascularisées, on retrouve un niveau d'expression élevé de l'ARNm et de la protéine de VEGF.(10)

Les études réalisées chez les patients présentant des cornées néovascularisées ont démontré l'existence d'une plus forte concentration de VEGF et de son récepteur comparativement aux cornées non pathologiques toutes étiologies confondues.(11)

Les FGF (Fibroblast Growth Factors) stimulent l'angiogenèse en activant MAP kinase et p38 kinase qui ont un rôle important dans la morphogenèse tubulaire des vaisseaux capillaires, on retrouve notamment du bFGF dans la membrane basale des néovaisseaux cornéens.(12)

Les métalloprotéinases matricielles (MMPs), notamment celle de type 2, sont des enzymes protéolytiques qui participent au remodelage de la matrice extracellulaire cornéenne lors de processus d'angiogenèse, leur hyper expression a été retrouvée au cours de la néovascularisation cornéenne au niveau de la couche basale épithéliale et du stroma superficiel.(13)

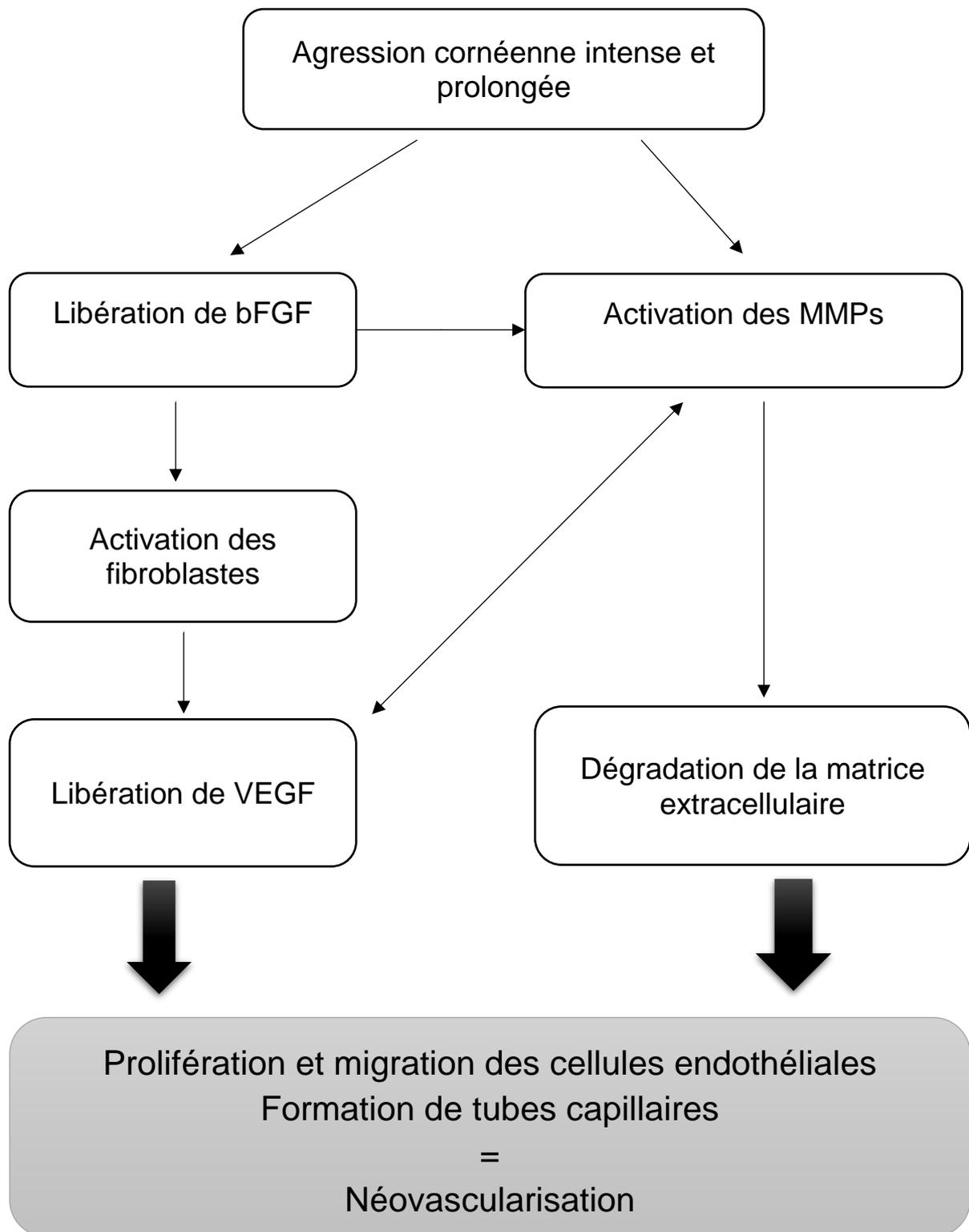


Figure 2 : Relations entre VEGF, bFGF et MMPs.

1.2.1.4. Les facteurs anti-angiogéniques

L'Endostatine est un fragment protéolytique du collagène, elle possède des propriétés anti-angiogéniques en inhibant la production de bFGF et l'action du VEGF sur les cellules endothéliales (prolifération et migration cellulaire).(14)

L'Angiostatine est une molécule produite par le clivage du plasminogène qui régule la prolifération et la migration des cellules endothéliales via une ATP synthase.(15)

Le Pigment Epithelium-Derived Factor (PEDF) fait partie de la famille des protéases serines. Il est localisé au niveau de l'épithélium et de l'endothélium cornéen et a une action anti-angiogénique en inhibant la production de bFGF.(16)

1.2.2. Aspects cliniques

Les néovaisseaux se développent à partir des capillaires et veinules du plexus vasculaire péricornéen situé au niveau du limbe.(17)

On distingue 3 types de néovaisseaux :

- les néovaisseaux du stroma profond qui sont de mauvais pronostic car associés à une exsudation lipidique importante source de taie cornéenne, que l'on rencontre dans les kératites herpétiques,

- les néovaisseaux du stroma moyen,

- les néovaisseaux du stroma superficiel, situés entre membrane de Bowman et épithélium, rencontrés surtout en périphérie cornéenne lors d'altération de l'épithélium cornéen ou de la conjonctive juxta-limbique.

On considère normale une extension de néovaisseaux au niveau cornéen de 0,13 mm chez un sujet non porteur de lentilles de contact, 0,22 mm chez un porteur de lentilles rigides, 0,47 mm chez un porteur de lentilles souples et de 1,40 mm chez un porteur de lentilles souples en port prolongé, au-delà il s'agit de néovascularisation pathologique.(18)

L'évolution sera variable en fonction de l'étiologie, rapide dans le cas de traumatisme par brûlure chimique alors qu'elle sera lente sur un port prolongé de lentille de contact.

La néovascularisation est active tant que l'agression tissulaire est présente et pendant toute la durée de la réparation tissulaire du fait d'une production de facteur pro-angiogénique qui reste élevée. Une fois le facteur causal traité et la cicatrisation terminée on peut parfois observer une régression de la néovascularisation. Le flux vasculaire disparaît, la lumière du vaisseau se ferme ne laissant que la paroi, avec un aspect de vaisseaux fantômes qui persistent et pourront se reperfuser en cas de nouvelle agression tissulaire.

1.2.3. Etiologies

Toute pathologie avec souffrance des tissus cornéens responsable d'un déséquilibre entre facteur pro et anti-angiogénique peut aboutir à une néovascularisation cornéenne. (2)

Peu de données sont disponibles sur la prévalence et l'incidence de la néovascularisation cornéenne mais on estime que son incidence serait de 1,4 millions de patients par an aux États-Unis.(19)

Les infections cornéennes sont une des premières causes de souffrance cornéenne avec notamment les kératites herpétiques, sources de néovascularisation qui persiste même une fois traitées correctement.

Le port de lentilles de contact peut être responsable d'une néovascularisation soit par un mécanisme d'hypoxie avec des lentilles souples notamment en hydrogel ou par un mécanisme irritatif avec des lentilles rigides.(20)

Une néovascularisation cornéenne survient chez 30 à 50 % des patients ayant bénéficié d'une kératoplastie transfixiante et chez qui la cornée receveuse ne comportait pas de néovaisseaux.(21)

Les brûlures chimiques sont une source de néovaisseaux surtout lorsqu'un produit basique est incriminé.(22)

Les pathologies inflammatoires peuvent aussi être source de néovascularisation de cornée : kérato-conjonctivite allergique, kérato-sclérite, pemphigoïde, syndrome sec sévère.

1.2.4. Néovascularisation et greffe de cornée

La néovascularisation d'un greffon cornéen s'accompagne d'un afflux de cellules immunitaires qui traverse les parois des vaisseaux par diapédèse et vont infiltrer la matrice extracellulaire. Elles reconnaissent les antigènes du donneur exprimés à la surface des kératocytes et libèrent des cytokines pro-inflammatoires entraînant une réaction de rejet.

La néovascularisation cornéenne multiplie le risque de rejet par cinq.(23)

Au cours d'une greffe de cornée les néovaisseaux peuvent saigner avec risque d'hyphéma, d'hématocornée, de retard de cicatrisation et les sutures peuvent entraîner un appel néovasculaire.

1.3. Les Traitements actuels de la néovascularisation cornéenne

1.3.1. Les anticorps monoclonaux anti-VEGF

Le facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGF-A) et ses récepteurs jouent un rôle majeur dans l'angiogenèse vasculaire et l'augmentation de la perméabilité vasculaire au niveau cornéen(29). Il induit la migration et la mitose des cellules endothéliales, active la méthane mono-oxygénase avec production locale de monoxyde d'azote pro-dilatateur, et active le bourgeonnement néovasculaire. (24–26)

Plusieurs inhibiteurs le prenant pour cible se sont développés ces dernières années, le Bévacicumab (Avastin®, Roche, France) est un anticorps monoclonal recombinant humanisé dirigé contre les récepteurs de toutes les isoformes du VEGF-A (séquence d'acides aminés à 93% d'origine humaine et à 7% d'origine murine). (27,28)

Il est utilisé depuis 2005, en voie intraveineuse, avec une autorisation de mise sur le marché (AMM) pour 4 types de tumeur :

- le cancer colorectal métastatique, en association à une chimiothérapie (fluoropyrimidine)

- le cancer bronchique non à petites cellules, en association à une chimiothérapie à base de sels de platine, en première ligne des stades avancés et non opérables, métastatiques ou en rechute, dès lors que l'histologie n'est pas à prédominance épidermoïde,

- le cancer du sein métastatique, en première ligne, en association au paclitaxel,

- le cancer du rein avancé et/ou métastatique, en première ligne, en association à l'interféron alfa-2a.

En ophtalmologie il est utilisé, hors AMM, de façon efficace en voie intravitréenne dans la DMLA exsudative, la rétinopathie diabétique proliférante, l'occlusion veineuse rétinienne ou encore le glaucome néovasculaire.

Le Ranibizumab (Lucentis®, Novartis) est un anticorps monoclonal ciblant le VEGF-A de plus faible poids moléculaire que le Bévacicumab, il a une affinité pour le VEGF-A environ 20 fois supérieure mais semblent moins efficace en voie sous conjonctivale du fait d'une élimination intraoculaire plus importante (demi vie de 6h)(30). Le prix élevé de cette molécule limite son utilisation en pratique.

L'Aflibercept (Eylea®, Bayer) est un VEGF-Trap, c'est une protéine soluble qui agit comme un leurre pour les récepteurs des VEGF. Il est utilisé dans le traitement de la DMLA et de la rétinopathie diabétique. Il n'a pas été étudié chez l'homme dans la néovascularisation cornéenne à ce jour, mais montre des résultats intéressants sur cornée animale notamment en association avec le Bévacicumab.(31,32)

1.3.2. Bévacicumab et Néovascularisation Cornéenne

Dans les études l'efficacité est variable selon la voie d'administration, la fréquence, la posologie, l'étiologie de la néovascularisation et le critère de jugement utilisé. (33)

L'efficacité semble être supérieure dans la phase aiguë d'agression tissulaire, en cas de néovascularisation récente et immature. C'est dans cette phase que la croissance de la néovascularisation dépend le plus du VEGF-A. Les néovaisseaux anciens requièrent un taux plus faible de VEGF-A et sont donc moins sensibles à l'action du Bévacicumab.

L'efficacité va être plus grande pour certaines étiologies avec fort taux d'expression du VEGF comme les kératites herpétiques et les brûlures cornéennes.

L'action anti-angiogénique se fait en premier par une réduction du flux vasculaire et du calibre des néovaisseaux sur le versant capillaire artériel (petits néovaisseaux profonds) puis sur le versant capillaire veineux (néovaisseaux plus grands et superficiels).(34)

Différentes voies d'administration existent : topique, sous-conjonctivale, intra-stromale et intravitréenne, la voie générale étant évitée à cause du risque d'effets systémiques graves (complications thromboemboliques, hémorragies digestives).

Pour la voie topique, qui est moins invasive, les concentrations varient selon les études de 5 mg/ml à 25 mg/ml et une instillation de 1 à 5 fois par jour.(30,35,36) Seulement 1 à 3 % du principe actif pénètre dans l'œil du fait de la barrière que constitue l'épithélium cornéen, pour avoir une bonne biodisponibilité il faut donc une forte concentration et un temps de contact prolongé. Une grande partie du principe actif passe en transcornéen, le reste passant en conjonctivo-lymphatique.(37)

En injection sous-conjonctivale la pénétration du principe actif se fait à travers le limbe vers la chambre antérieure, l'iris, les corps ciliaires, la cornée mais aussi dans le vitré. La biodisponibilité est rapide et importante avec une diffusion uniforme à l'ensemble de la cornée.

L'action débute dans les jours qui suivent l'injection avec un effet maximal à 3 semaines puis une décroissance d'où la nécessité de réinjection mensuelle.(38)

Les concentrations utilisées varient de 1.25 mg/0.05 mL à 5 mg/0.2 mL.

Agarwal a pu analyser des cornées ayant reçu 3 injections de Bévacicumab à 1.25 mg (récupérés après des procédures de kératoplastie transfixiante) et a retrouvé un taux d'expression du VEGF significativement plus bas par rapport à des cornées non traitées.(39)

La voie sous conjonctivale est invasive avec un risque d'infection locale, d'hémorragie sous conjonctivale, de douleur à l'injection ou encore de complication systémique (à ce jour jamais décrit dans la littérature).

La voie intra-stromale a été peu étudiée, l'efficacité semblerait importante, et les effets secondaires limités à des hémorragies intra-stromales.(40,41) Elle pourrait être utilisée en association avec la voie sous-conjonctivale pour en améliorer l'efficacité.(42)

La voie intravitréenne permettrait d'avoir la plus grande concentration dans l'humeur aqueuse mais au prix de complication plus grave : endophtalmie, déchirure et décollement de rétine.(43)

1.3.3. Les Autres traitements de la Néovascularisation cornéenne

1.3.3.1. Les anti-inflammatoires stéroïdiens

Les corticoïdes ont un effet anti-angiogénique via leur propriété anti-inflammatoire avec inhibition du chimiotactisme cellulaire, modulation de l'activité protéolytique des cellules endothéliales vasculaires, inhibition des cytokines pro-inflammatoires (TNF α , IL-1, IL-6), du plasminogène, des prostaglandines, augmentation de la perméabilité vasculaire aux polynucléaires neutrophiles, stabilisation du lysozyme membranaire et destruction des lymphocytes.(44)

L'effet anti-angiogénique serait lié à une action en synergie avec l'héparine et les inhibiteurs du plasminogène sur les membranes basales néovasculaires.

Les corticoïdes ayant la plus forte activité anti-angiogénique sont les corticoïdes naturels : le tétrahydrocortisol (30 fois celle de la dexaméthasone), l'hydrocortisone, l'épicortisol, et la désoxycorticostérone.(45)

En pratique la dexaméthasone topique est la plus utilisée du fait de sa disponibilité sur un plan pharmaceutique. La seule spécialité contenant un corticoïde naturel disponible étant la Bacicoline® (hydrocortisone).

Leur efficacité est limitée sur la néovascularisation liée à une hypoxie cornéenne plutôt qu'une inflammation (port lentille de contact, taie cornéenne étendue).

Les corticoïdes sont surtout efficaces sur les formes actives de néovascularisation et très peu sur les formes matures et stabilisées.

Leurs effets secondaires potentiellement graves limitent leur utilisation : surinfection bactérienne, réactivation virale herpétique, hypertonie, cataracte, toxicité épithéliale avec retard de cicatrisation et effet rebond à l'arrêt du traitement.

Ce traitement est purement empirique, il n'a fait l'objet d'aucune étude sérieuse contrôlée ni d'aucune AMM.

1.3.3.2. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens

Ils agissent en bloquant les cyclo-oxygénases qui transforment l'acide arachidonique en prostaglandines qui ont une action pro-angiogénique et pro-inflammatoire avec notamment les eicosanoïdes, issues des COX-2, qui modulent l'expression des VEGF.(46)

En pratique leur efficacité est très variable avec un risque d'ulcère et de perforation cornéenne.

1.3.3.3. Les tétracyclines

Elles ont une action sur les matrix métallo-protéinases (MMP) avec réduction de l'expression du Tumor Necrosis factor alpha (TNF α). Ils semblent efficaces sur la réduction de la néovascularisation cornéenne seul ou en association. Il pourrait potentialiser l'action des anti-VEGF.(47)

On peut les utiliser par voie topique ou per os.

1.3.3.4. La cyclosporine

Son effet anti-angiogénique serait secondaire à son action immunomodulatrice, elle bloque l'action des lymphocytes T et l'expression de l'interleukine 2.

Elle serait uniquement efficace sur les néovascularisations d'origine immunitaire et montre des résultats intéressants sur modèle animal avec un effet supérieur au Bévacicumab en topique.(48)

1.3.3.5. La thérapie génique

Les siRNA ("small interfering RNA") sont de petites séquences d'ADN synthétiques capable de se lier à l'ARN messager codant pour la protéine du VEGF ou de ses récepteurs. En se liant à l'ARN messager ils induisent une réaction cellulaire enzymatique détruisant le complexe ainsi formé.(49)

Les siRNA vont bloquer la production de VEGF par les cellules. Ils agissent en amont des anticorps monoclonaux qui bloquent la forme sécrétée du VEGF ou sa liaison avec son récepteur.

L'Aganirsen (Genesignal, Suisse) est un oligonucléotide antisense, il bloque la production du récepteur à l'insuline substrat-1 des cellules endothéliales (GS-101) entraînant une réduction de l'activité de la protéine kinase B, une diminution de l'expression du VEGF-A et de l'interleukine -1-bêta pro-inflammatoire.(50)

Son utilisation semble efficace avec une réduction de 26% en moyenne de surface cornéenne néovascularisée chez les patients atteints de kératite chronique en administration topique.(51)

1.3.3.6. Les inhibiteurs des tyrosine kinases

Le Pazopanib (GlaxoSmithKline, Londres) est un inhibiteur des tyrosines kinases activées par les récepteurs du VEGF et du PDGF bloquant ainsi les mécanismes intracellulaires de l'angiogenèse, il est utilisé dans le traitement de cancer du rein ou des sarcomes des tissus mous.(52)

En administration topique pendant 12 semaines, on obtiendrait une réduction moyenne de la surface néovascularisée de 37.5% sans effet secondaire notable.(53)

Le Sunitinib a été utilisé avec de meilleurs résultats que le Bévacicumab en administration topique sur un modèle animal.(54)

Les études sur des cornées de rat néovascularisées retrouvent une efficacité du Pegaptanib en injection sous conjonctivale mais qui reste inférieure à celle du Bévacicumab.(55,56)

1.3.3.7. Les traitements laser

La photocoagulation directe des néovaisseaux a pour objectif l'occlusion des néovaisseaux par coagulation thermique. Les différents lasers ont été utilisés (argon(57), Nd:Yag, lumière jaune(58)) avec une efficacité variable. L'effet est limité aux néovaisseaux superficiels avec des effets secondaires locaux : hémorragies intracornéennes, amincissement cornéen, sclérite nécrosante.

La photothérapie dynamique semblerait être efficace avec une réduction de 42% de la surface néovascularisée si utilisée seule et de 51% lorsqu'elle est combinée avec une injection de Bévacizumab(59). Son utilisation est limitée par son coût élevé.

1.3.3.8. Les traitements Chirurgicaux

L'électrocoagulation des néovaisseaux à l'aiguille fine entraîne une régression des néovaisseaux en 24h, qui sera complète en quelques semaines. (60,61) Elle serait plus efficace que les traitements anti-angiogéniques en cas de néovaisseaux stables et anciens. Les complications retrouvées sont le blanchiment transitoire de la cornée, des hémorragies et des précipités cristallins intra-stromaux.

Le traitement de l'insuffisance limbique via la transplantation de tissu limbique sain ou de cellules épithéliales limbiques cultivées ex vivo sera d'autant plus efficace qu'elle sera réalisée précocement.(62)

1.4. Quantification de la néovascularisation cornéenne

L'étude de l'efficacité d'une molécule anti-angiogénique sur des néovaisseaux cornéens suppose de pouvoir mesurer de façon objective la valeur de cette néovascularisation avant et après traitement. (63)

1.4.1. Imagerie

L'imagerie de la néovascularisation cornéenne passe principalement par la photographie couleur. On peut aussi réaliser une angiographie à la fluorescéine (64) ou au vert d'indocyanine, qui sont des examens plus invasifs. La microscopie confocale a aussi été utilisée.

1.4.2. Critère d'évaluation de la néovascularisation

Ils peuvent être multiples : surface cornéenne vascularisée, aire d'invasion des néovaisseaux, calibre des néovaisseaux, degré de circonférence cornéenne néovascularisée, longueur des pédicules néovasculaires, tortuosité vasculaire, acuité visuelle, taux de recours à une greffe de cornée.

1.4.3. Quantification de la néovascularisation cornéenne

1.4.3.1. Échelle de gradation clinique

L'analyse se fait directement à partir des clichés photographiques ou d'angiographie. Un score est attribué en fonction de la densité, du nombre ou du degré d'invasion des néovaisseaux dans le stroma coréen, pour l'ensemble de la cornée ou par cadran. Facile et rapide, cette méthode reste subjective et approximative.(65)

1.4.3.2. Surlignage et comptage manuelle

Les contours de chaque néovaisseau sont surlignés manuellement à l'aide d'un logiciel d'analyse photographique pour obtenir la surface néovascularisée par rapport à l'aire cornéenne totale. Cette technique laborieuse a été remplacée par la méthode semi-automatique.

1.4.3.3. Analyse semi-automatique

Cette méthode consiste à mesurer les seuils de niveaux de gris de photographies ou de clichés d'angiographie numérisés qui ont été modifiés pour faire ressortir uniquement les néovaisseaux cornéens. Elle présente l'avantage d'être beaucoup plus rapide que la technique manuelle et serait plus performante pour quantifier la néovascularisation en cas de réseau complexe. Cette technique présente une bonne reproductibilité de mesure pour un même observateur (coefficient de corrélation intraclasse de 0.982).(66)

Sur des photographies couleurs, l'analyse peut être gênée par la coloration de l'iris, l'éclairage (ombre, reflet) les défauts de centrage et de mise au point. Ces problèmes sont moins rencontrés en cas de clichés tirés d'angiographie.

De multiples logiciels d'analyse existent : image J®, Photoshop®, Olympus®.

Les résultats sont donnés soit en nombre de pixels (valeur absolue) soit en pourcentage de surface cornéenne.

2. Matériels et Méthodes de l'étude BECONEC

2.1. Objectifs

2.1.1. Objectif principal

L'objectif principal était de démontrer l'efficacité du Bévacizumab, administré localement sous forme d'injections sous-conjonctivales, sur la proportion de patients répondeurs c'est à dire avec une réduction de la néovascularisation cornéenne de plus de 30%, et ceci comparativement à un placebo, après 3 mois de traitement et quelle que soit l'origine des néovaisseaux cornéens.

2.1.2. Objectif Secondaire

L'objectif secondaire est de déterminer après trois mois de traitement, comparativement à un placebo, l'efficacité du Bévacizumab sur la réduction du pourcentage de surface cornéenne occupé par les néovaisseaux à 6 mois, sur la diminution au recours à la greffe de cornée et d'évaluer la toxicité locale et générale du Bévacizumab administré par voie sous-conjonctivale.

2.2. Conception de la recherche

2.2.1. Schéma de la recherche

Beconec est un essai clinique, de phase 3 (étude expérimentale), comparatif, randomisé, de supériorité du Bévacizumab contre placebo et en double insu (patient / investigateur).

L'étude est multicentrique avec les CHU de Limoges, Toulouse, Poitiers, Strasbourg, et Saint Etienne.

Le promoteur est le CHU de Limoges.

L'investigateur coordonnateur principal est le **Pr Pierre-Yves Robert**.

2.2.2. Randomisation

La liste de randomisation est établie par le statisticien du CEBIMER (Centre d'Epidémiologiste, de Biostatistique, et de Méthodologie de la Recherche) avant le début de la recherche. La randomisation sera réalisée par blocs de taille variable permettant d'obtenir un équilibre parfait du nombre de patients inclus dans chaque bras de traitement à l'issue de chaque bloc.

Les patients inclus sont randomisés dans deux groupes :

- un groupe Bévacizumab
- un groupe Placebo

2.3. Critères d'éligibilité

2.3.1. Critères d'inclusion

- Patient atteint de néovascularisation cornéenne toutes étiologies confondues
- Patient n'ayant pas reçu de traitement par corticoïdes locaux durant le mois précédent l'inclusion.
- Test de grossesse négatif à l'inclusion pour les femmes
- Patient ayant été correctement informé et ayant signé son consentement
- Patient majeur capable
- Patient affilié à un régime d'assurance maladie ou bénéficiant d'un tel régime

2.3.2. Critères d'exclusion : avant amendement d'avril 2016

- Patient ayant reçu un traitement local ou général concomitant par des dérivés des prostaglandines
- Patient ayant une infection en cours de la cornée ou de tout autre tissu / organe
- Femme en âge de procréer sans contraception
- Grossesse et allaitement
- (Toute femme en âge de procréer doit avoir une contraception efficace durant le temps de l'étude et les six mois qui suivent l'arrêt de l'administration du Bévacizumab. De même, elle ne doit pas allaiter durant ces deux périodes)
- Patient participant à une autre étude
- Patient porteur de lentilles de contact
- Patient avec hypertension artérielle non équilibrée
- Patient avec antécédents d'accident vasculaire cérébral, d'infarctus du myocarde, d'angor, de thrombophlébite, de syndrome de Raynaud
- Patient hypersensible à la substance active ou à l'un des excipients
- Patient hypersensible aux produits des cellules ovariennes de Hamster Chinois (CHO) ou à d'autres anticorps recombinants humains ou humanisés.
- Patient souffrant d'une infection oculaire active bactérienne, fongique, parasitaire ou virale (à l'exception de l'herpès)

2.3.3. Critères d'exclusion : après amendement d'avril 2016

Le critère « Patient avec antécédents d'accident vasculaire cérébral, d'infarctus du myocarde, d'angor, de thrombophlébite, de syndrome de Raynaud » a été remplacé par :

- Patient avec antécédents d'évènement cardiovasculaire aigu datant de moins de 6 mois et/ou évolutif tel qu'accident vasculaire cérébral, infarctus du myocarde, thrombophlébite
- Patient avec antécédent d'angor, de syndrome de Raynaud considérés comme non stabilisés

Les patients avec greffe de cornée sont autorisés à participer à l'étude.

Les autres critères demeurent inchangés.

2.4. Traitements de la recherche

2.4.1. Traitements à l'étude

- Dénomination commune internationale : Bévacizumab
- Nom commercial en France : AVASTIN®
- Laboratoire : Roche
- Composition : AVASTIN®, 100mg Flacon 25 mg/ml
- Nature : anticorps monoclonal humanisé recombinant produit par la technologie de l'ADN recombinant dans des cellules d'ovaire de Hamster chinois
- Forme pharmaceutique : solution à diluer pour perfusion, limpide à légèrement opalescent, incolore à brun pâle
- Forme galénique : seringue pré-remplie préparée par la pharmacie du centre investigateur
- Posologie : 1 injection sous-conjonctivale de 0,2 ml de Bévacizumab (soit 5mg) à répéter 2 fois, à 1 mois d'intervalle, soit 3 injections
- Durée : 3 mois
- Durée de conservation : 12 heures entre +2 et +8°C
- Contre-indications :
 - hypersensibilité à la substance active ou un de ses excipients
 - hypersensibilité aux produits des cellules ovariennes de Hamster Chinois ou à d'autres anticorps recombinants humains ou humanisés
 - Grossesse et allaitement
- Statut : Hors AMM dans cette indication

2.4.2. Placebo

- Chlorure de sodium à 0.9 %
- Forme Galénique : seringue pré-remplie préparée par la pharmacie du CHU centre investigateur
- Posologie : 1 injection sous-conjonctivale de 0,2 ml de NaCl à 0,9% à répéter 2 fois, à 1 mois d'intervalle, soit 3 injections
- Durée de conservation : 12 heures entre +2 et +8°C

2.4.3. Préparation des seringues

Les seringues sont préparées de façon aseptique sous hotte à flux laminaire ou isolateur par la pharmacie du centre investigateur.

2.4.4. Procédure d'injection du produit

- Intervention réalisée au bloc opératoire.
- Patient installé en décubitus dorsal.
- Anesthésie locale par instillation de 2 gouttes d'oxybuprocaine dans l'œil concerné.
- Désinfection cutanée péri-orbitaire à la Povidone Iodée (Bétadine Ophtalmique) et des culs-de-sac conjonctivaux à la Povidone Iodée.
- Mise en place d'un champ percé au niveau oculaire.
- La seringue pré-remplie de Bévacizumab / placebo est montée sur une aiguille fine de 30 Gauges
- Mise à niveau de la seringue en ne gardant que 0,2 ml.
- Nous choisissons d'injecter le produit à proximité du site de cornée le plus vascularisé, repéré au préalable sur photographie.
- Réalisation d'une injection unique péri-limbique sous conjonctivale de la totalité du contenu de la seringue.
- La conjonctive est pincée au moment du retrait de l'aiguille pour éviter toute fuite de produit.
- Fin de la procédure et retrait des champs.
- Prescription postopératoire de lavages oculaires biquotidiens au sérum physiologique et d'un antiseptique (Biocidan® 1 goutte matin et soir) pendant 7 jours.

2.4.5. Traitement et procédure associées

Les traitements locaux autorisés sont les antibiotiques et antiviraux. Les traitements généraux autorisés sont tous les médicaments habituels du patient sauf les corticoïdes et les inhibiteurs du VEGF.

Les traitements concomitants non autorisés sont les corticoïdes locaux, les analogues de prostaglandines locaux ou généraux.

Toute chirurgie oculaire durant la durée de l'essai entraîne la sortie d'essai du patient.

2.5. Organisation de l'insu

Le protocole se déroule en double-insu. Les seringues préparées à la pharmacie (Bévacizumab ou placebo) sont présentées de manière rigoureusement identique, l'étiquetage des seringues garantissant l'insu auprès du médecin et du patient.

Au terme de la durée de suivi et du recueil des données et après l'analyse statistique l'appartenance de chaque patient au groupe Bévacizumab ou placebo pourra être révélée.

2.6. Critère de jugement

2.6.1. Critère de jugement principal

Dans chaque groupe sera comparée la proportion de patients répondeurs définie par un pourcentage de surface cornéenne occupée par les néovaisseaux à 3 mois réduit de plus de 30%, évaluée sur les photos selon l'échelle préétablie, et par logiciel de mesure des surfaces.

Un pourcentage de néovascularisation cornéenne sera donné pour chaque photographie en fonction de la surface totale de la cornée occupée par les néovaisseaux.

En fin d'étude les photos de chaque patient seront comparées afin d'obtenir la valeur du pourcentage de réduction de la néovascularisation.

2.6.2. Critère de jugement secondaire

Le pourcentage de surface cornéenne occupée par les néovaisseaux à 6 mois sera comparé entre les deux groupes.

Le taux de recours à la greffe de cornée en fin d'étude sera comparé dans chaque groupe.

La toxicité locale et générale du Bévacizumab aura été évaluée :

- par le recueil des réponses à un questionnaire rempli à chaque visite de suivi et de fin d'étude
- par l'examen clinique réalisé à la lampe à fente à chaque visite de suivi et de fin d'étude.

2.7. Réalisation de la photographie

La réalisation de la photographie est un moment capital pour l'étude : il conditionne le critère de jugement principal.

La qualité de l'analyse semi-automatisée va dépendre entièrement de la qualité de la photographie. La technique de photographie doit être parfaitement standardisée de façon à être la plus reproductible possible.

Elle est réalisée par un des co-investigateurs de l'étude ou l'investigateur principal.

Il s'agit d'une photographie du segment antérieur réalisée à l'aide d'un appareil photographique monté sur un biomicroscope. Elle sera réalisée toujours dans la même pièce avec le même appareil.

Le réglage du grossissement est : « x 1 ».

Il permet de visualiser l'ensemble de la cornée jusqu' au limbe ainsi qu'une partie de la conjonctive et de la sclère.

L'illumination doit être diffuse et limiter au maximum les reflets cornéens et les ombres, pour cela on peut utiliser un filtre devant le prisme de la lampe à fente qui sera incliné à 45° avec le variateur ouvert au maximum.

La lumière de la pièce sera réduite au minimum (lumière d'appoint à plus d'1.50 mètre de l'objectif de l'appareil photographique).

Les paupières doivent être maintenues grandes ouvertes au doigt ou à l'aide d'un blépharostat. Le globe doit rester en position primaire.

La focalisation se fait de façon à voir net du limbe à l'apex cornéen.

La fluorescéine ne devra pas être instillée dans les yeux avant les photos pour ne pas fausser l'aspect de la cornée.

La lampe à fente est une BQ 900 du fabricant H-streit et l'appareil photographique est un Sony, chaque centre investigateur disposant du même matériel.

2.8. Analyse semi automatisée

L'analyse semi automatisée est réalisée selon la méthode décrite par **Bock et al.** à l'aide du logiciel de traitement d'image Image J, 1.42q/java 1.6.0_10[32-bit], logiciel JAVA distribué gratuitement en ligne par la N.I.H (National Institutes of Health, U.S.A).

A chaque visite la meilleure photographie est sélectionnée de façon à avoir 6 photos pour l'analyse :

- M0 avant injection
- M1 à 1 mois post 1ère injection
- M2 à 1 mois post 2ème injection
- M3 à 1 mois post 3ème injection
- M6 à 3 mois post 3ème injection

Différentes étapes sont nécessaires pour arriver à chiffrer la surface néovascularisée :

1. Les photos sont redimensionnées et centrées au limbe de façon à ce que chaque photo fasse le même nombre de pixel : utilisation de l'ellipse de sélection (« elliptical or brush selection ») et de la commande « Menu/Image/Crop ».
2. Dès le départ sont sélectionnées les zones source d'artefact (reflet cornéen, ombre) qui seront exclues de l'analyse pour chaque photo afin d'améliorer la précision des mesures : « Freehand sélections » et « Menu/Edit/Selection/Create a mask »
3. Les trois couches principales de couleurs rouge, verte et bleu sont séparées et l'image est transformée en niveau de gris via la commande "Menu/Image/Color/Split channels". Nous ne gardons que l'image verte ("green") qui fait ressortir le mieux les néovaisseaux.
4. Nous appliquons le filtre "Menu/Process/FFT/Brandpass Filter", qui est une bande passante qui exclut les bruits de fond de l'image via une transformation de Fourier qui fusionne dans l'image les microstructures de moins de 3 pixels et les macrostructures de plus de 40 pixels.
5. La luminosité et le contraste sont ajustés de façon à faire ressortir au maximum les néovaisseaux : « Menu/Image/Adjust/Brightness and contrast », le meilleur réglage étant celui défini en réglant les paramètres de manière à obtenir une ligne qui s'étend de l'aplomb de la courbe à son minimum.
6. Nous appliquons la commande "Menu/Image/Adjust/Threshold" qui permet de transformer la photo en image binaire : la néovascularisation apparaît en noir sur un fond blanc.
7. Les régions sources d'artefact sont supprimées via l'utilisation du masque : « Menu/Edit/Selection/Restore selection »
8. La zone d'intérêt est établie via l'outil « elliptical », correspondant à la surface cornéenne totale.
9. La commande "Menu/Analyse/Measure" permet de mesurer la surface de la néovascularisation par rapport à la surface de la cornée en nombre de pixel, qui pourra ensuite être exprimée en pourcentage.

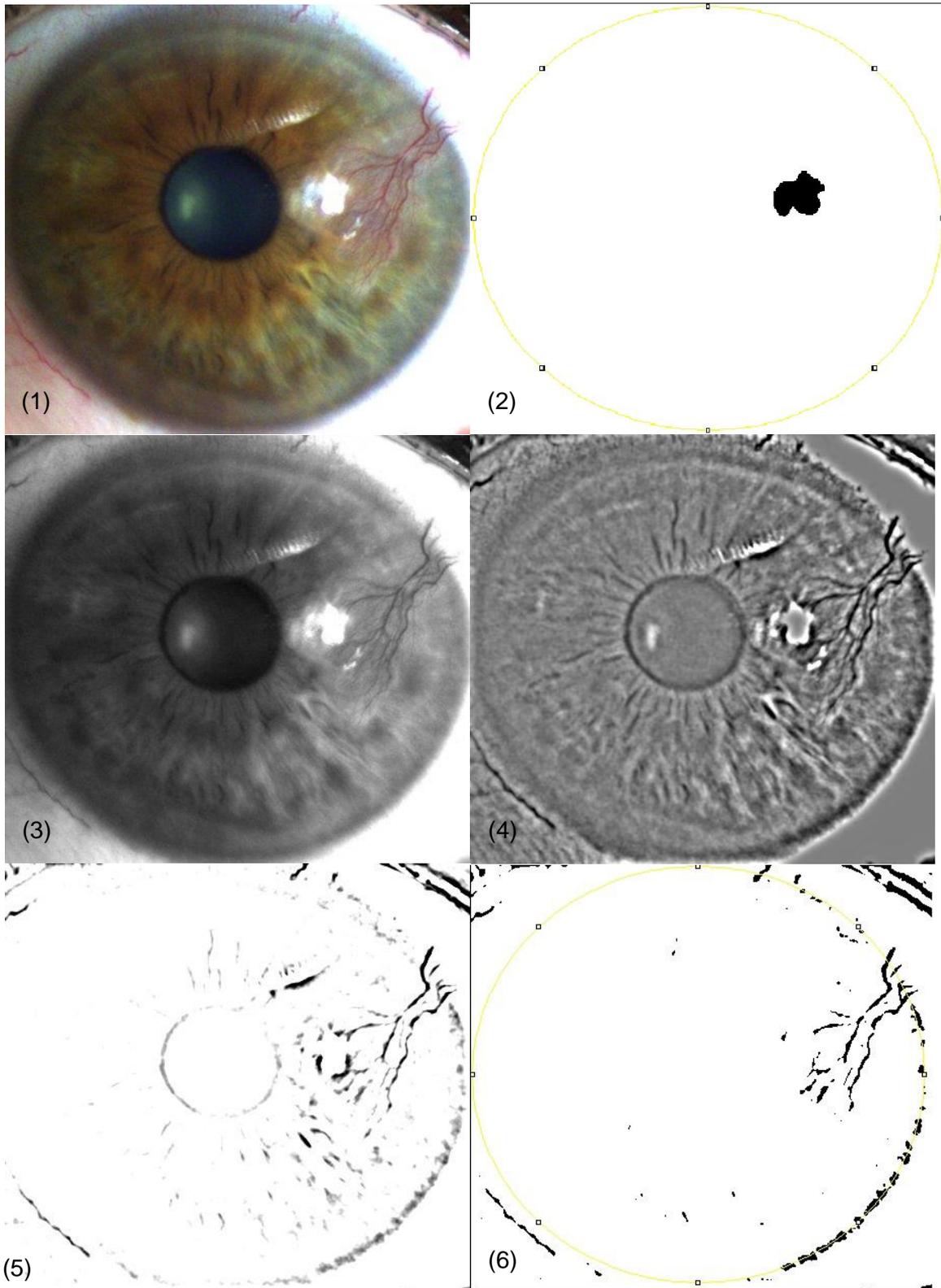


Figure 3 : Les différentes étapes de l'analyse semi-automatisée.

2.9. Déroulement de la recherche

2.9.1. Calendrier de la recherche

Début des inclusions : 16/01/2012

Durée de la période d'inclusion : 60 mois

Durée de participation de chaque patient : 6 mois

Durée totale : 66 mois

2.9.2. Calendrier de suivi patient

Un premier rendez-vous de sélection a lieu avec information, vérification des critères d'inclusion et d'exclusion.

Le patient dispose ensuite d'un délai de réflexion entre 1 et 6 semaines.

Le second rendez-vous permet l'inclusion avec revérification des critères d'inclusion et de non inclusion, signature du consentement éclairé, examen clinique, test de grossesse pour les femmes en âge de procréer, photographie et randomisation.

A la visite M0 sont réalisés examen clinique, photographie et premier traitement.

Une visite a lieu 1 mois après chaque traitement (M1, M2 et M3) avec examen clinique, photographie, recueil des effets indésirables et traitement (sauf pour M3).

Une dernière visite a lieu 3 mois après le dernier traitement (M6) avec examen clinique, photographie et recueil des effets indésirables.

Un récapitulatif du calendrier de suivi patient est reporté **figure 4**.

	Sélection	M0 (inclusion)	M1 (1 mois)	M2 (2 mois)	M3 (3mois)	M6 (6mois)
Information	X					
Vérification critère	X	X				
Signature consentement		X				
Randomisation		X				
Examen clinique		X	X	X	X	X
Photographie		X	X	X	X	X
Traitement		X	X	X		
Recueil des effets indésirables			X	X	X	X

Figure 4 : Récapitulatif du calendrier patient.

L'examen clinique comportera :

- mesure de l'acuité visuelle avec les échelles de Monoyer et Parinaud
- mesure de la pression intraoculaire à air et/ou à l'aplanation
- la description clinique de l'état cornéen
- le grading cornéen de la néovascularisation (**cf. figure 5**)
- la description du segment antérieur de l'œil
- la description du segment postérieur de l'œil
- une pachymétrie
- un examen spéculaire de la cornée

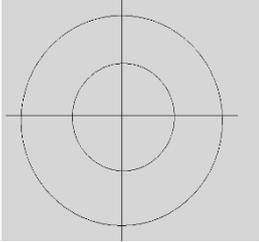
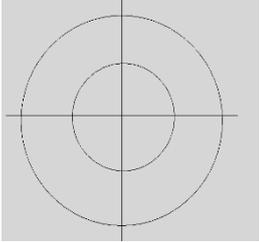
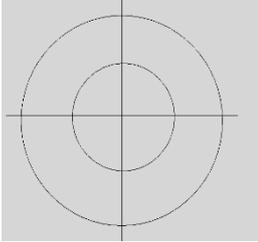
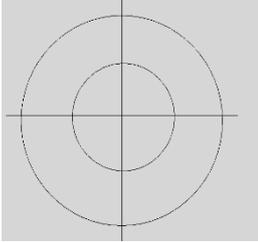
ŒIL DROIT		ŒIL GAUCHE	
<u>Gradding cornéen de la néovascularisation</u> On note pour chaque cadran : 0 : si pas de néovaisseaux 1 : si présence de néovaisseaux limbiques envahissant la cornée sur ≤ 2 mm 2 : si présence de néovaisseaux envahissant la cornée centrale au-delà de 2 mm du limbe Le score total est donné comme la somme des 4 cadrans, donc de 0 à 8 pour l'examen de l'œil entier			
<u>schéma</u>			
A __ 0 à 2	B __ 0 à 2	A __ 0 à 2	B __ 0 à 2
			
D __ 0 à 2	C __ 0 à 2	D __ 0 à 2	C __ 0 à 2
Score totale = A + B + C + D = __ 0 à 8		Score totale = A + B + C + D = __ 0 à 8	

Figure 5 : Evaluation de la Néovascularisation via le score de Gradding Cornéen Clinique.

2.10. Statistiques

2.10.1. Calcul du nombre de sujets

Le calcul de nombre de sujets nécessaires a été réalisé au moyen du logiciel Nquery Advisor® en tenant compte de la correction de Yates pour petits effectifs.

Sur la base d'un risque alpha de 5% et d'un risque bêta de 10%, pour réaliser un test bilatéral de comparaison de proportions de réponders (définis par une réduction de la surface cornéenne occupée par les néovaisseaux de plus de 30%) dans le groupe traité par « Bévacizumab » (pourcentage 50%) et dans le groupe « Placebo » (hypothèse attendue de 1%), le nombre minimum de sujets à recruter est de 19 par groupe. Compte tenu d'un pourcentage de patients non évaluables de 10%, le nombre de sujets nécessaires à recruter par groupe est de 21, soit 42 patients au total.

2.10.2. Méthodes statistiques

Les analyses statistiques seront réalisées au moyen du logiciel SAS®V 9.1.3(SAS institute INC,Cary,USA).

Analyse descriptive :

Les variables quantitatives seront décrites selon les médianes et intervalle interquartiles.

Les variables qualitatives seront décrites par les effectifs, pourcentages et intervalle de confiance à 95%, selon la méthode exacte pour petits effectifs.

• Analyse principale :

Elle se fera en intention de traiter. L'analyse principale de comparaison des pourcentages de réponders dans les deux bras de traitement sera réalisée par test exact de Fisher.

• Analyses secondaires :

Les comparaisons de répartition d'effectifs (croisement de 2 variables catégorielles à 2 modalités ou plus) seront réalisées au moyen de tests exacts de Fisher.

Les comparaisons de moyennes (croisement d'une variable continue et d'une variable catégorielle à 2 modalités ou plus) seront réalisées par le Test de Mann Whitney (2 modalités) ou Test de Kruskal Wallis (plus de 2 modalités).

2.11. Bénéfices attendus

Les bénéfices attendus pour les patients dans le bras Bévacicumab sont :

- amélioration de la qualité de vie
- diminution des traitements
- amélioration de l'acuité visuelle
- diminution du nombre de recours à une greffe de cornée
- augmentation de la survie des greffes de cornée

Et pour la communauté scientifique :

- Prouver l'efficacité et l'innocuité d'un produit sur la néovascularisation cornéenne.

3. Résultats

3.1. Population d'étude

26 patients ont été inclus dans l'étude mais seulement 20 patients avaient des données suffisamment exploitables à ce jour. **(cf. figure 6)**

Les données de M6 n'étaient pas disponibles pour 2 patients (abandon en cours d'étude).

La moyenne d'âge des patients est de 66 ans (26 à 83 ans), avec 55% d'hommes.

Les patients ont été inclus à partir de janvier 2012.

Les photographies de cornées néovascularisées à l'inclusion étaient analysable pour 18 des 20 patients, 2 patients présentaient des photographies de qualité insuffisante pour l'analyse.

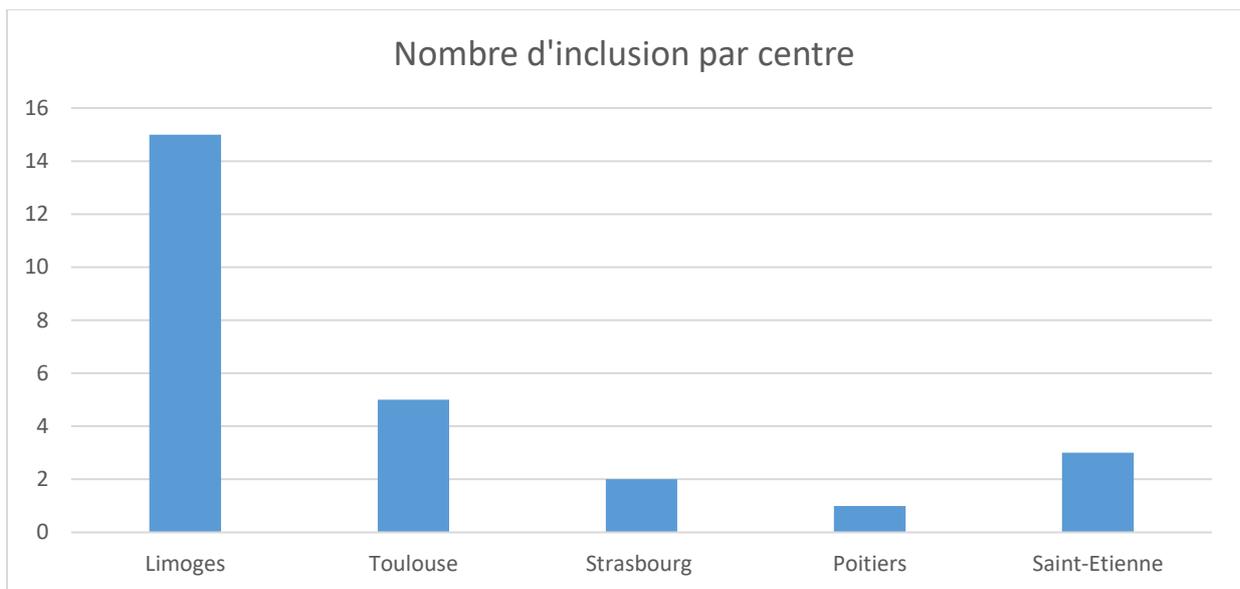
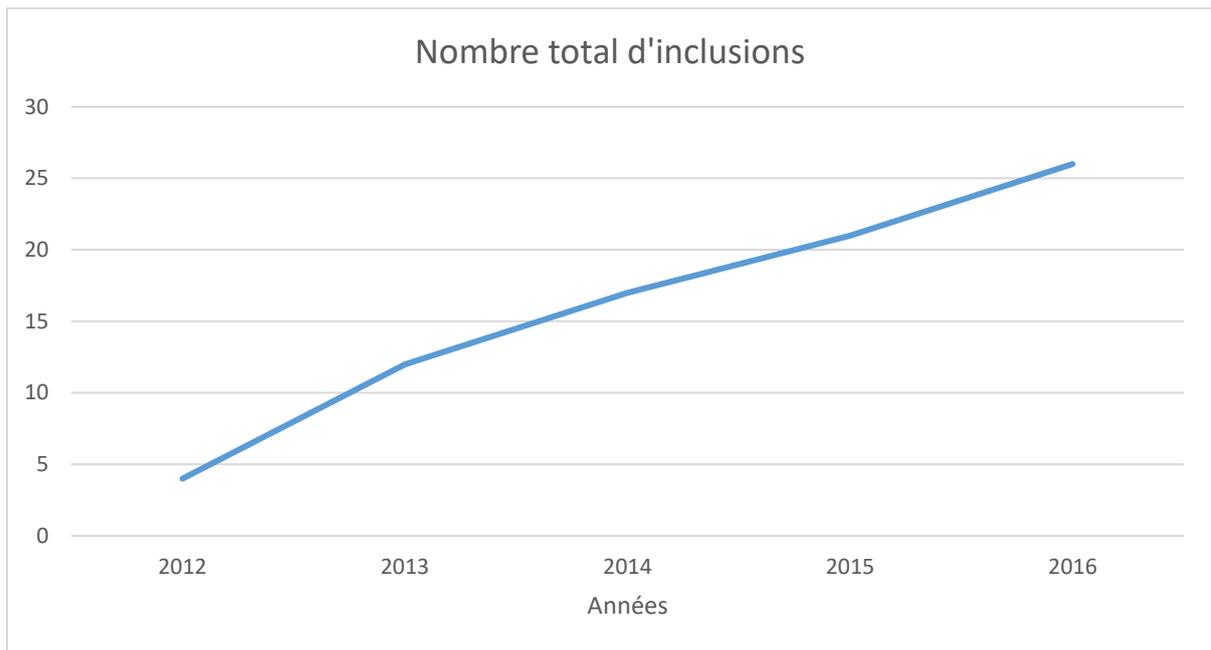


Figure 6 : : Inclusion depuis janvier 2012 et inclusion par centre.

3.2. Etiologie et ancienneté des néovaisseaux

L'ancienneté de la néovascularisation était très variable : de 1 mois à 25 ans.

Traumatisme physique	5
Traumatisme Chimique	2
Kératite Virale	6
Kératite Bactérienne	3
Anomalie Palpébrale	2
Post-chirurgie	1
Malformation congénitale	1

Tableau 1 : Etiologie des Néovaisseaux.

3.3. Critère de Jugement principal

Avant injection (**M0**) le pourcentage moyen de surface cornéenne néovascularisée était de **6.7%** avec des extrêmes allant de 0.87% à 21.3% (déviatiion standard de 4.67).

A 1 mois de la 3^{ème} injection (**M3**) le pourcentage moyen de surface cornéenne néovascularisée était de **5.35%** avec des extrêmes allant de 0.2% à 20.4% (déviatiion standard de 4.67).

La comparaison des moyennes montre une différence du pourcentage de surface cornéenne néovascularisée de 1.35% soit une réduction de 20% de surface cornéenne néovascularisée.

A M3 **4 patients** ont présenté une réduction d'au moins 30% de la surface néovascularisée.

(cf. figure 7, 8 et tableau 2)

3.4. Critère de Jugement Secondaire

3.4.1. Néovascularisation à M6

A 3 mois de la 3^{ème} injection (**M6**) le pourcentage de surface cornéenne néovascularisée était de **5.32%** avec des extrêmes allant de 0,15% à 22,8% (déviatoin standard de 5.23) soit une différence de 1.38% (réduction de 20.5%).

A M6, **3 patients** présentaient une réduction d'au moins 30% de la surface néovascularisée.

(cf. figure 7, 8 et tableau 2)

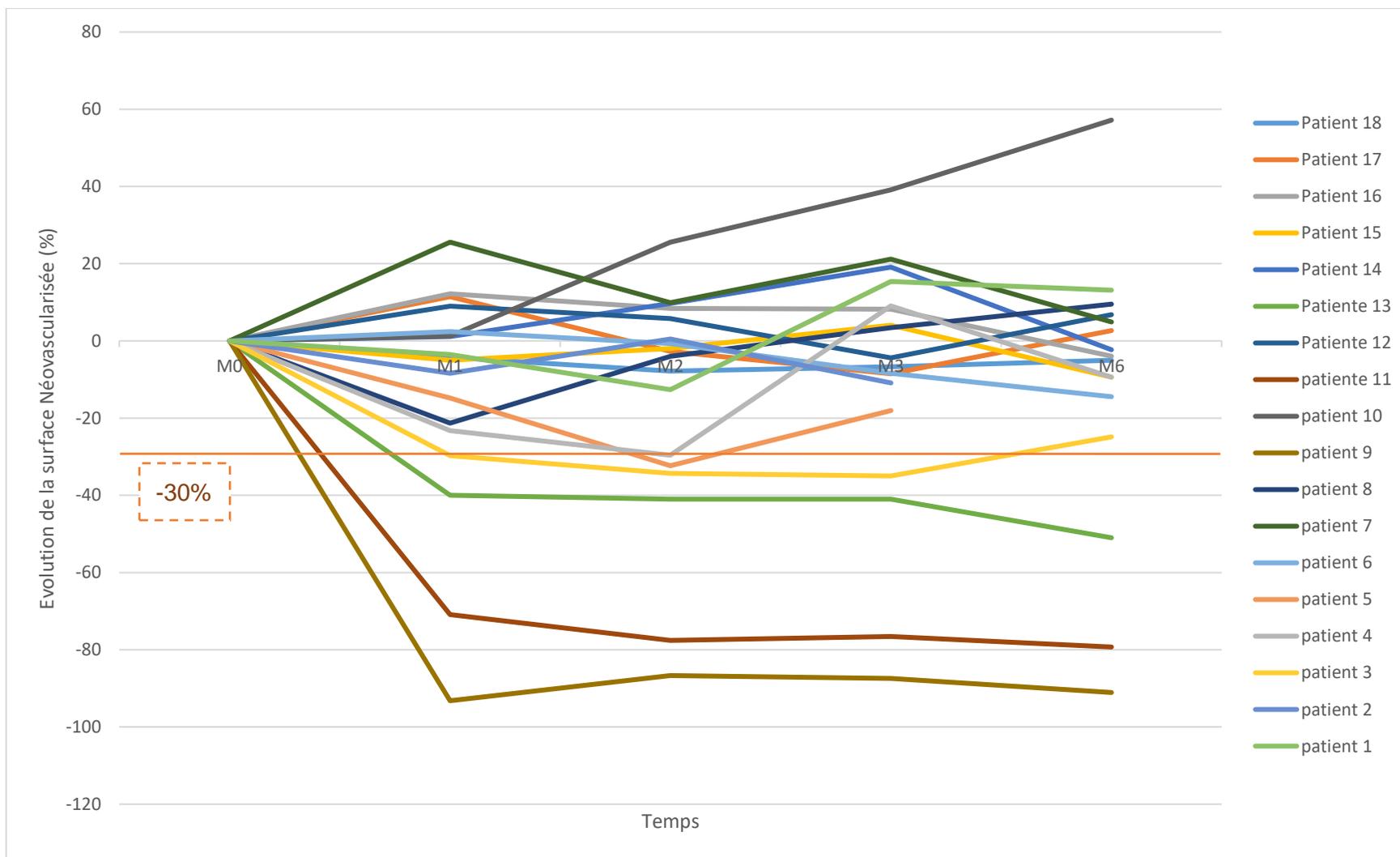


Figure 7 : Evolution de la surface néovascularisée à M0, M1 M2, M3 et M6.

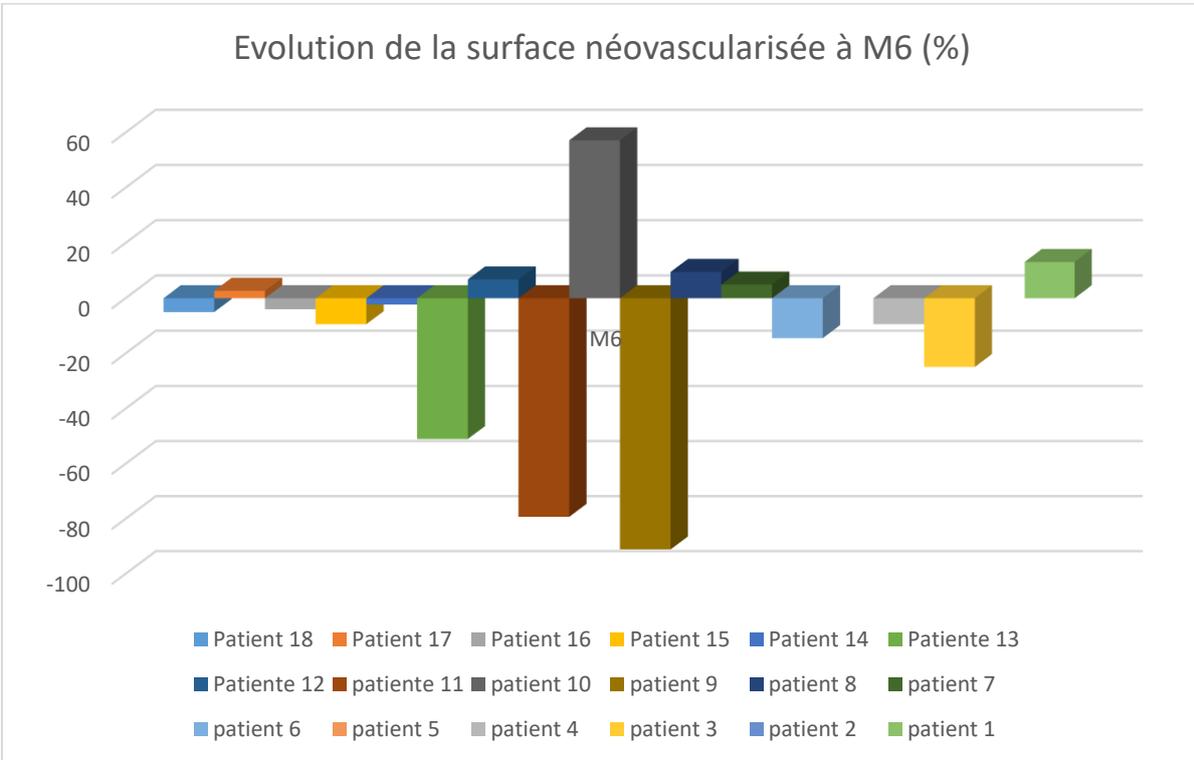
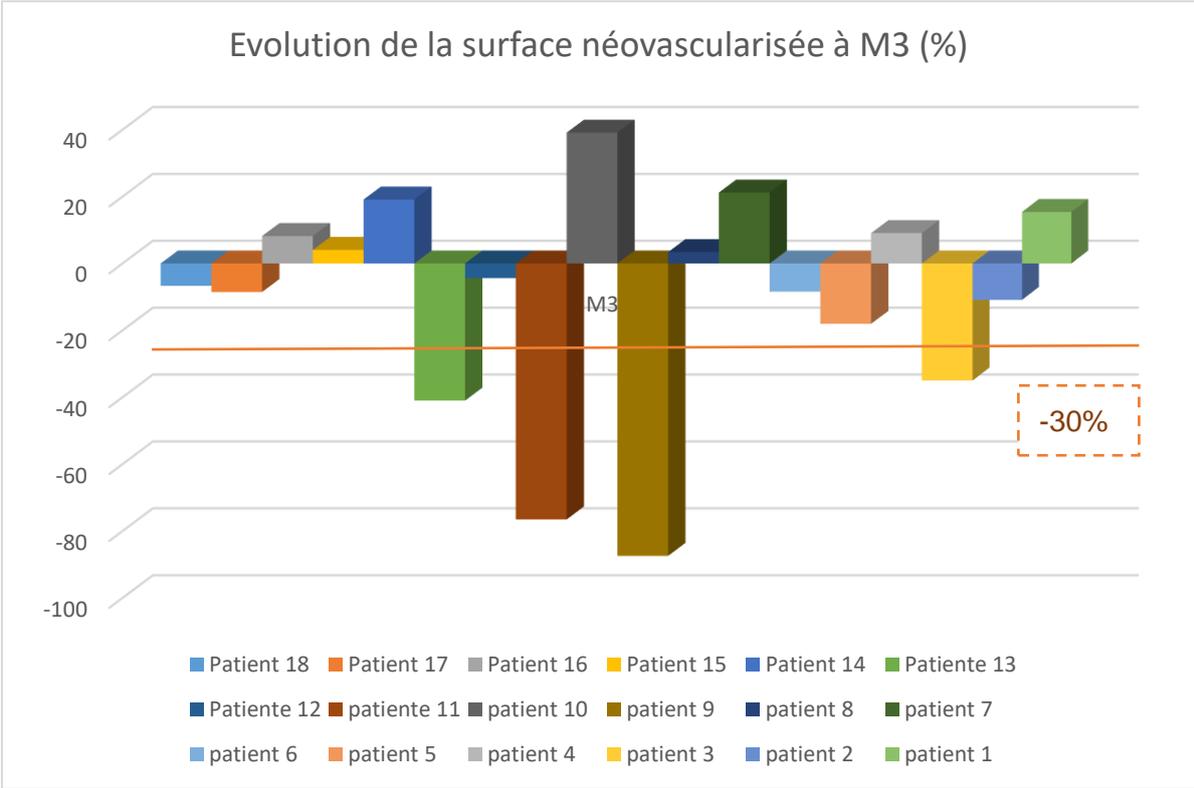


Figure 8 : Evolution de la surface néovascularisée à M3 et M6.

Patient	M0	M1	M2	M3	M6
1	8	7,7	6,98	9,2	9
2	2,02	1,85	2,03	1,8	NC
3	2,3	1,6	1,5	1,5	1,7
4	6,3	4,8	4,4	6,8	5,7
5	10,3	8,8	6,99	8,5	NC
6	5,8	5,7	5,8	5,3	5
7	3,3	4,1	3,6	3,9	3,4
8	8	6,3	7,7	8,3	8,7
9	1,7	0,1	0,2	0,2	0,15
10	2,9	2,99	3,7	4,1	4,6
11	0,87	0,26	0,2	0,2	0,18
12	21,3	23,2	22,6	20,4	22,8
13	3,5	2,1	2,07	2,08	1,7
14	4,7	4,7	5,1	5,6	4,6
15	8,8	8,4	8,7	9,2	8
16	1,26	1,4	1,36	1,36	1,2
17	3,3	3,7	3,2	3	3,4
18	5,4	5,1	4,9	5	5,1

Tableau 2 : Surface Cornéenne néovascularisée après analyse semi-automatisée en pourcentage (%) de surface cornéenne totale.

3.4.2. Recours à une greffe de cornée

A M0, 6 patients présentaient une indication de kératoplastie alors qu'il n'était plus que 4 à la fin de l'étude.

3.4.3. Tolérance

80% des patients ont présenté au moins un effet indésirable.

Ils étaient principalement des complications locales à type de douleur à l'injection (35% des patients), d'œil rouge (60% des patients), de sensation de grain de sable (30% des patients), et de larmoiement (20% des patients).

10 événements indésirables généraux légers ont été rapportés pendant l'étude :

- 2 maux de tête,
- 3 rhinites,
- 2 acouphènes,
- 1 essoufflement,
- 1 douleur abdominale
- 1 angine.

Aucun effet indésirable grave n'a été signalé pendant l'étude tant sur le plan local que général.

Aucun cas d'hypertension artérielle n'a été noté pendant l'étude.

3.5. Résultats intermédiaires

A 1 mois de la première injection (**M1**) le pourcentage de surface cornéenne néovascularisée était de **5.15%** avec des extrêmes allant de 0.1% à 23.2% (déviation standard de 5.06) soit une différence de 1.55% (réduction de 23%).

A 1 mois de la 2ème injection (**M2**) le pourcentage de surface cornéenne néovascularisée était de **5.05%** avec des extrêmes allant de 0.2% à 22.6% (déviation standard de 4.91) soit une différence de 1.65% (réduction de 24.6%).

3.6. Autres Données

3.6.1. Score de Gradding Clinique

Le score de gradding clinique moyen était de :

- 5 +/- 2,3 (2-8) à M0
- 5,2 +/- 2,3 (2-8) à M1
- 5 +/- 2,3 (2-8) à M2
- 5,2 +/- 2,4 (2-8) à M3
- 5,27 +/- 2,5 (2-8) à M6

65% des patients ont un score de gradding clinique qui reste inchangé de M0 à M6.

Entre M0 et M3 aucun patient n'a amélioré son score de gradding clinique et 4 patients l'ont aggravé.

(cf. tableau 3)

	M0	M1	M2	M3	M6
Patient 1	6	7	6	8	6
Patient 2	2	4	3	3	NC
Patient 3	4	4	4	4	5
Patient 4	4	4	4	4	4
Patient 5	8	8	8	8	5
Patient 6	8	8	8	8	8
Patient 7	4	6	4	4	6
Patient 8	8	8	8	8	8
Patient 9	2	2	2	2	2
Patient 10	2	2	2	2	2
Patient 11	2	2	2	2	2
Patient 12	7	8	8	8	8
Patient 13	2	2	2	2	2
Patient 14	6	6	6	6	6
Patient 15	7	7	7	8	8
Patient 16	8	8	8	8	8
Patient 17	3	3	3	3	3
Patient 18	8	8	8	8	8
Patient 19	4	4	4	4	NC
Patient 20	4	4	4	4	4

Tableau 3 : Evolution du score de Gradding Clinique.

3.6.2. Acuité visuelle (AV)

Sur le plan de la vision de l'œil atteint de néovascularisation à l'inclusion : 6 patients (29%) avaient une très mauvaise acuité visuelle (compte les doigts, voit la main bouger ou perception lumineuse), 6 patients (29%) avaient une AV $\geq 5/10$ et 9 patients (42%) une AV entre 1 et 4/10.

L'évolution de l'acuité visuelle est rapportée dans cette figure :

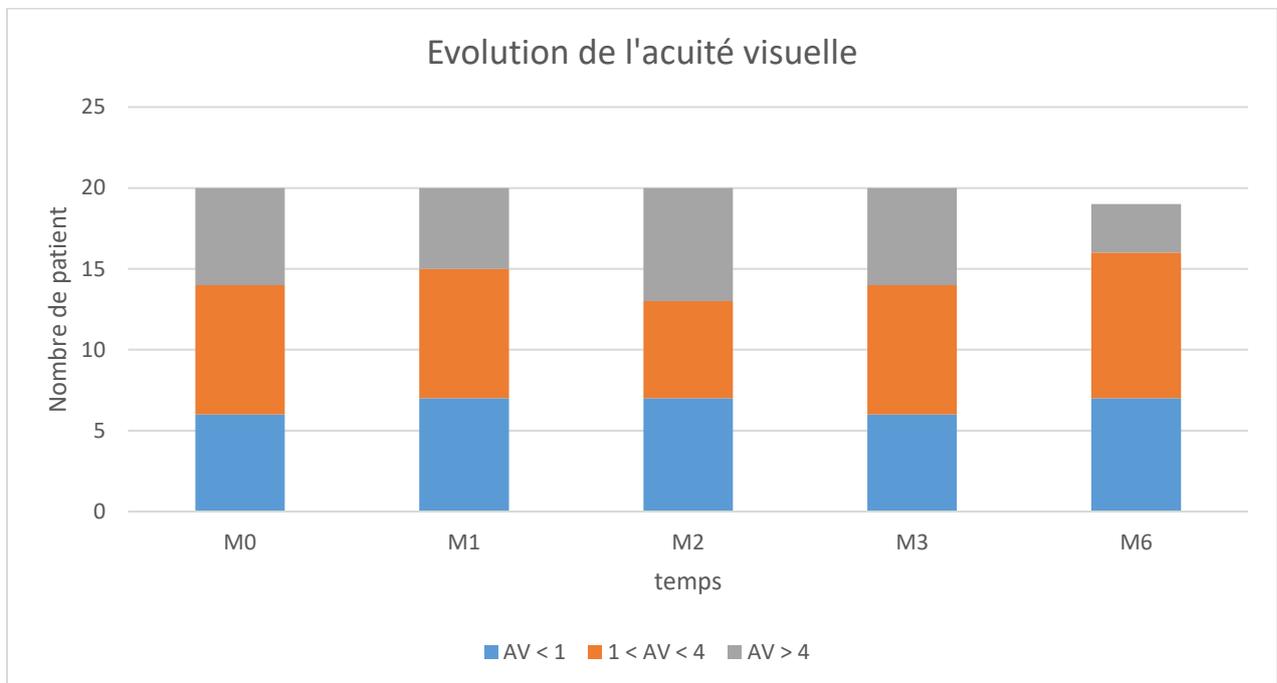


Figure 9 : Evolution de l'acuité visuelle

3.6.3. Pachymétrie

La pachymétrie moyenne était :

- 516 +/- 206 (390-676) μm à M0
- 593 +/- 200 (390-813) μm à M1
- 575 +/- 194 (391-750) μm à M2
- 571 +/- 272 (392-740) μm à M3
- 567 +/- 270 (395-717) μm à M6

Il n'a pas été noté d'amincissement cornéen au cours de l'étude.

3.6.4. Examen Spéculaire de cornée

L'examen spéculaire n'a été réalisable que chez environ la moitié des patients du fait de la transparence cornéenne.

Le résultat de l'examen spéculaire moyen était de :

- 2029 +/- 1059 (1213-2791) cel/mm² à M0
- 2283 +/- 1204 (985-3212) cel/mm² à M1
- 2231 +/- 1155 (1302-2679) cel/mm² à M2
- 2351 +/- 1205 (1797-2861) cel/mm² à M3
- 2216 +/- 1124 (1392-2694) cel/mm² à M6

3.6.5. Tonus intraoculaire

Le tonus intraoculaire moyen (air ou aplanation) était de :

- 13,5 +/- 2,2 (8-18) mmHg à M0,
- 14,5 +/- (7-19) 4,2 mmHg à M1,
- 12 3 +/- (8-20) mmHg à M2,
- 10,5 +/- 4,4 (7-19) mmHg à M3,
- 10 +/- 5,1 (7-19) mmHg à M6.

Aucun cas d'hypertonie intraoculaire n'a été noté pendant l'étude.

3.6.6. Examen de la cornée

Le score d'hyperhémie moyen d'oxford était de :

- 3,5 +/- 1,5 (0-4) à M0,
- 3,5 +/- 1,4 (0-4) à M1,
- 3 +/- 1,2 (0-4) à M2,
- 3,5 +/- 1,5 (0-5) à M3,
- 2,5 +/- 1 (0-3) à M6.

Le score de Von Bijsterveld moyen était :

- 2,9 +/- 2,3 (0-7) à M0,
- 3,45 +/- 2,7 (0-10) à M1,
- 3,3 +/- 2,7 (0-9) à M2,
- 3,25 +/- 2,4 (0-8) à M3
- 2,1 +/- 2 (0-6) à M6.

70% des patients présentaient une kératite ponctuée à M0, 50% à M1, 55% à M2, 55% à M3 et 45% à M6.

Un seul même patient a présenté un ulcère à M3 et M6 (qui était présent à M0 mais pas à M1 et M2).

Aucun patient n'a présenté de réaction de chambre antérieure au cours de l'étude.

Un seul patient présentait des symblépharons de M0 à M6 (patient opéré de tumeur palpébrale).

4. DISCUSSION

4.1. Analyse des patients répondeurs au traitement

L'analyse des données n'a pu être faite que de façon globale sans lever l'aveugle étant donné que l'étude n'est pas terminée à ce jour.

Si l'on suppose que les 4 patients qui ont présenté une diminution d'au moins 30% de surface néovascularisée ont bien reçu des injections de Bévacizumab et sachant que la moitié des patients ont reçu du placebo, le traitement semble fonctionner dans 40% des cas de notre étude.

Les patients pour lesquels les meilleurs résultats ont été observés présentaient :

- des kératites herpétiques (-87% et -41% de surface néovascularisée à M3), une kératite bactérienne (-76% à M3), et une kératite post traumatisme chimique (-35% à M3),
- des cornées présentant de petites néovascularisations cornéennes (1 à 2 cadrans et une surface néovascularisée < 5% à M0)
- des néovascularisations récentes (< 12 mois).

L'efficacité semble maximale dès la première injection avec une importante réduction de la néovascularisation qui ne varie que peu avec les deuxièmes et troisièmes injections. Nous pouvons voir que 3 mois après la dernière injection à M6 la surface néovascularisée reste stable et ne réaugmente que chez un seul de ces 4 patients (de 1,5% à M3 à 1,7% à M6).

4.1.1. Patient 09

Un patient présentant une petite néovascularisation suite à une kératite herpétique depuis moins de 12 mois, sur un seul cadran de plus de 2 mm (1,7% de surface néovascularisée à M0) a présenté une importante diminution de la surface néovascularisée dès M1 (-93%) jusqu' à M6 (-91%) avec presque une disparition de la néovascularisation.

Son acuité visuelle est restée à 10/10 et sur le plan symptomatique on note la disparition des symptômes à type d'impression de baisse d'acuité visuelle, de picotements oculaires et de sensation de grain de sable dès de la première injection, symptômes qui ne réapparaîtront pas par la suite même à M6.

(cf. figure 10)

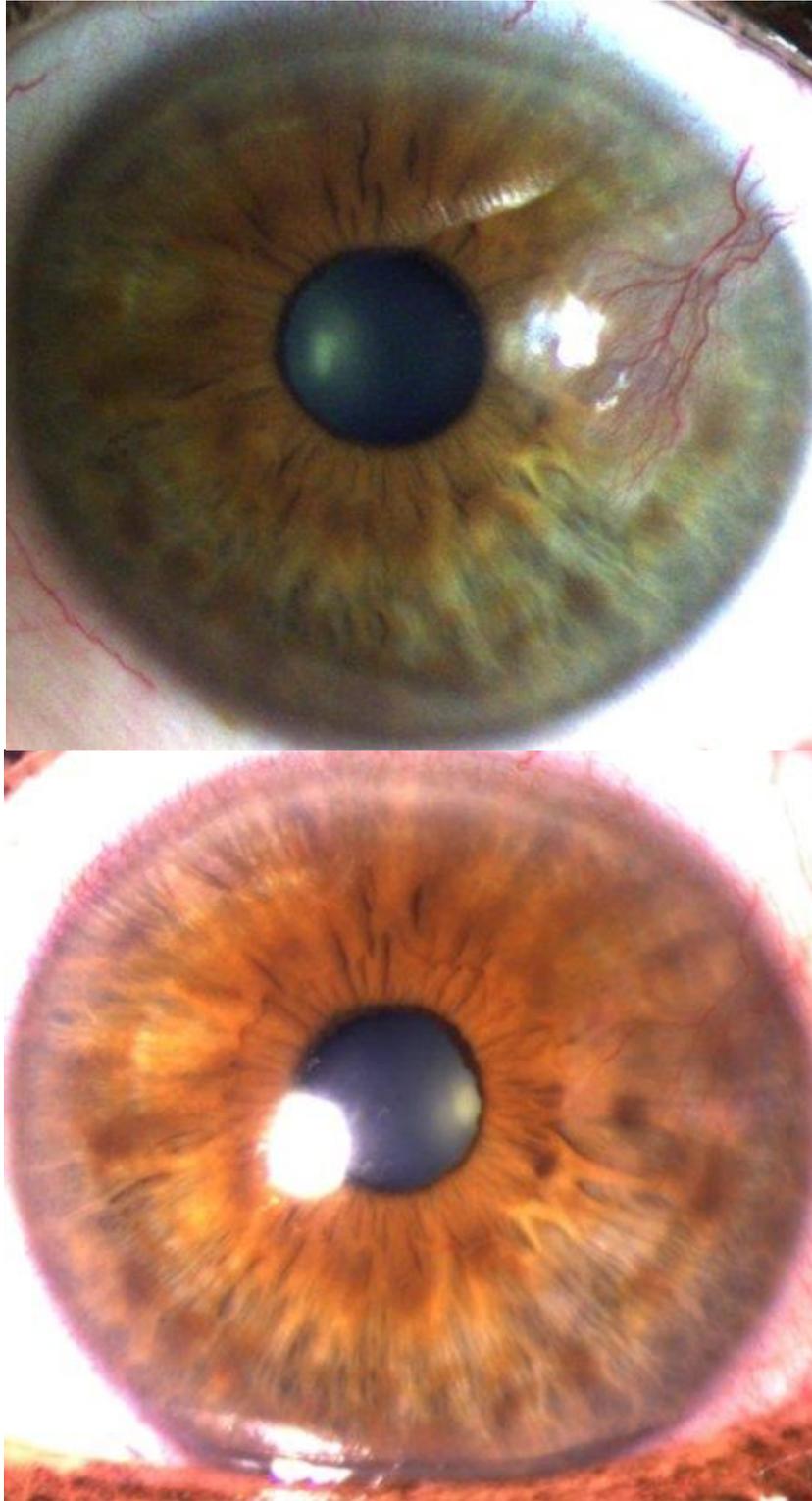


Figure 10 : Photographie couleur patient 09 à M0 (en haut) et M6 (en bas)

4.1.2. Patient 11

Ce patient présentait une néovascularisation suite à un important abcès de cornée depuis 5 mois sur un seul cadran de plus de 2mm (0,87% de surface néovascularisée à M0), avec une importante diminution dès M1 (-71%) jusqu' à M6 (-79%).

Nous n'avons pas retrouvé d'amélioration de l'acuité visuelle qui reste limitée à 3/10 p10 (à M0, M3 et M6), ni de la transparence cornéenne (limitée à "crypte irienne visible" dans les 8mm centraux), ni de modification au niveau de la symptomatologie fonctionnelle (limitée à l'impression de baisse d'acuité visuelle).

L'indication de kératoplastie n'aura pas été modifiée par le traitement.

Il est à noter que ce patient a bénéficié d'une greffe de membrane amniotique (dans le cadre du traitement de son abcès) ce qui peut expliquer l'importante opacité cornéenne qui ne régresse pas malgré la diminution de la néovascularisation et l'absence d'amélioration de l'acuité visuelle.

Nous pouvons quand même supposer qu'une éventuelle greffe de cornée pourra être réalisée dans de meilleures conditions (diminution du risque de rejet de greffe).

(cf. figure 11)

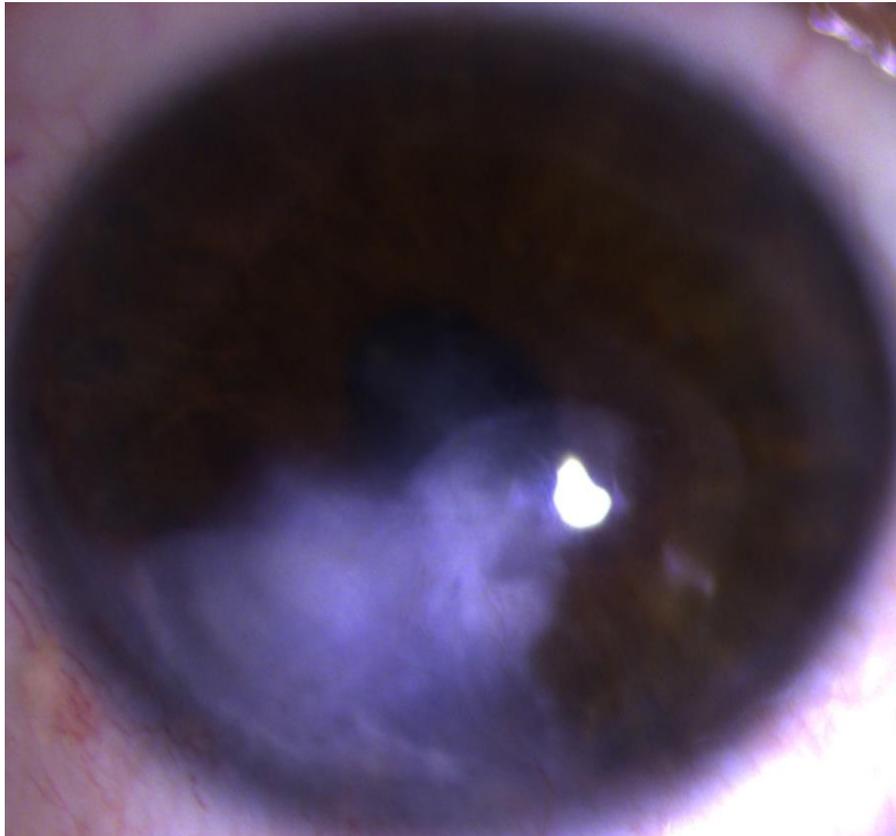
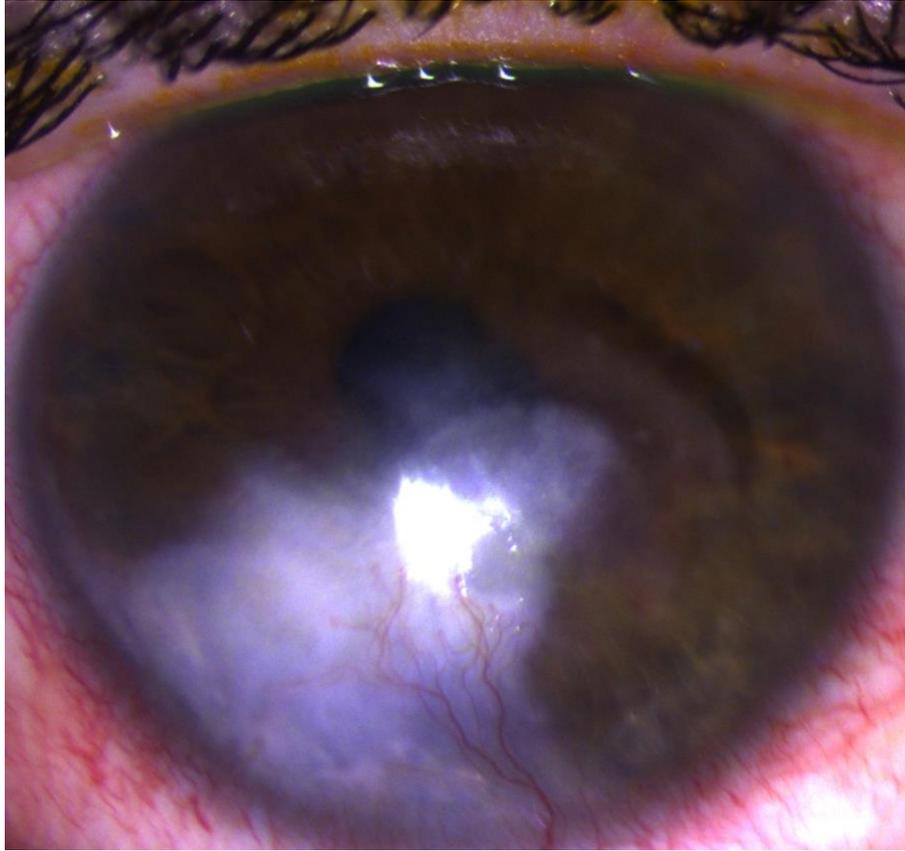


Figure 11 : Photographie couleur du patient 11 à M0 (en haut) et M6 (en bas).

4.1.3. Patient 13

Ce patient présentait une néovascularisation suite à une kératite herpétique depuis 9 mois sur un seul cadran de plus de 2mm (3,5% de surface néovascularisée à M0), avec une importante diminution dès M1(-41%) jusqu' à M6 (-51%).

Nous avons noté une amélioration de l'acuité visuelle de 2/10 à 4/10 dès la première injection liée à la diminution des exsudats cornéens et une amélioration de la transparence cornéenne.

Au terme des 3 injections l'indication de greffe de cornée ne sera plus retenue pour ce patient.

Nous n'avons pas retrouver d'amélioration sur le plan de sa symptomatologie fonctionnelle (photophobie).

(cf. figure 12)

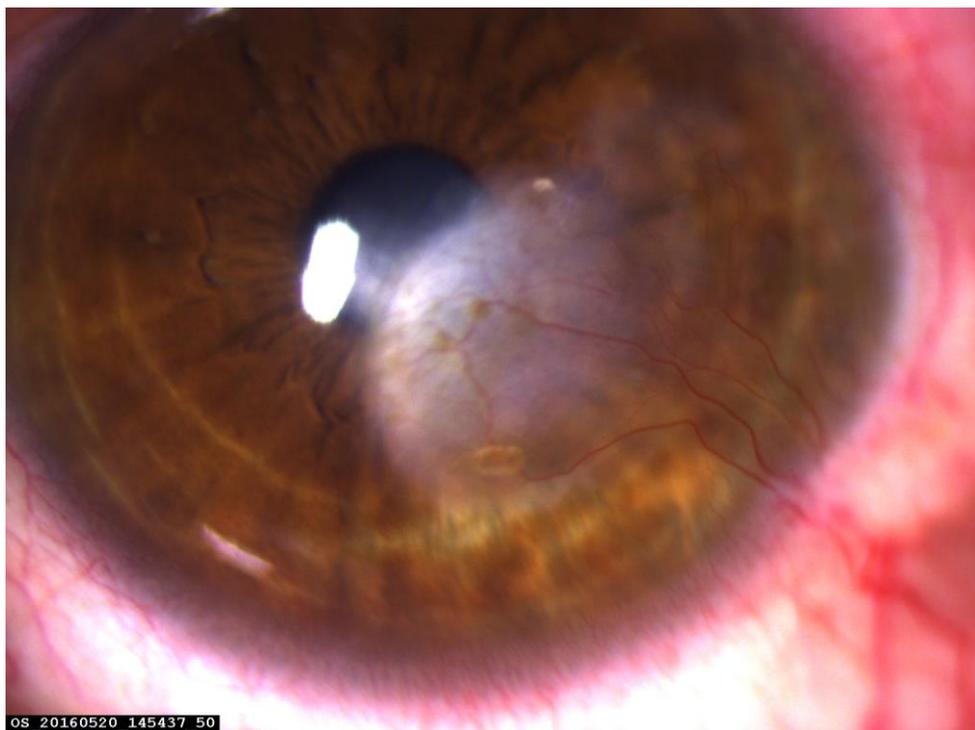
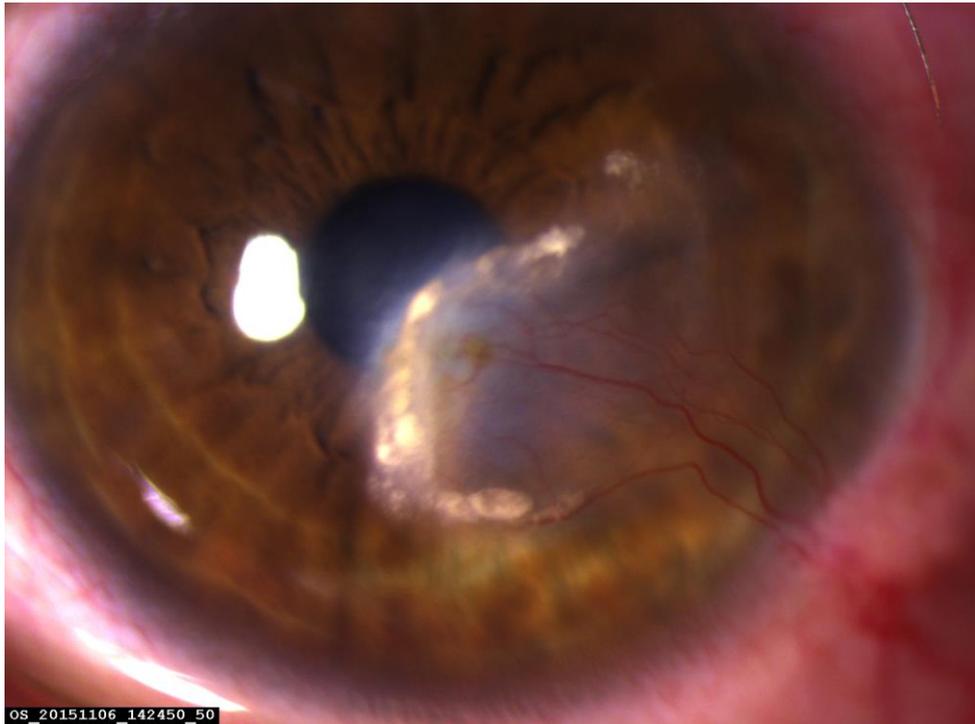


Figure 12 : Photographie couleur du patient 13 à M0 (en haut et M6 (en bas).

4.1.4. Patient 03

Ce patient présentait une néovascularisation suite à un traumatisme chimique (projection gaz lacrymogène) depuis 4 mois de plus de 2 mm sur 2 cadrans (2,3% de surface néovascularisée à M0) avec une diminution dès M1 (-30%) qui persiste à M2 et M3 (-35%) et régresse légèrement à M6 (-25%).

Son acuité visuelle est restée stable à 6/10 p2.

Nous avons noté une disparition de la kératite ponctuée dès la première injection qui n'est pas réapparue par la suite.

Une amélioration de la symptomatologie fonctionnelle a été retrouvée, avec disparition de la douleur oculaire et de la sensation de picotement dès la première injection, puis disparition de la sensation de grain de sable après la 3ème injection.

4.2. Difficultés rencontrées au cours de l'étude

La principale difficulté a été liée au recrutement de patient, raison pour laquelle l'étude n'est pas terminée à ce jour.

Cela s'explique tout d'abord par les critères d'exclusion initiaux très strict sur le plan cardiovasculaire, en effet de nombreux patients présentant une néovascularisation étaient âgés et présentaient des antécédents ne leur permettant pas de participer à l'étude : accident vasculaire cérébral, angor, infarctus du myocarde.

De nombreux patients ayant eu une greffe de cornée et présentant une néovascularisation cornéenne ne pouvait être inclus initialement.

Ainsi sur le centre de Limoges 72% des patients sélectionnés ne pouvaient être inclus dans l'étude.

Un amendement datant du 08/04/2016 a allégé ces critères d'exclusion, avec possibilité d'inclure les patients ayant des antécédents cardiovasculaires datant de plus de 6 mois et des néovascularisations sur greffe de cornée, ce qui devrait faciliter le recrutement pour la suite de l'étude.

Ensuite le caractère invasif de l'injection a pu décourager quelques patients (« piqure dans l'œil ») notamment les patients présentant une néovascularisation cornéenne sans plainte fonctionnelle.

Enfin certains patients ne souhaitaient pas participer à l'étude de peur d'être dans le groupe placebo et de recevoir plusieurs injections sans bénéfice potentiel.

Une deuxième difficulté a été liée à l'analyse des photographies, en effet elle nécessite des photographies de qualité de suffisante et qui ont été réalisés de façon reproductible à chaque visite.

2 patients sur les 20 étudiés présentaient des photos d'une qualité insuffisante pour être analysée. La prise de photographie nécessite d'être réalisée par une personne sensibilisée aux impératifs liés à la mesure semi automatisée de la néovascularisation cornéenne.

4.3. Comparaison des résultats à la littérature

Les résultats des principales études chez l'homme à ce jour ont été regroupés dans ce tableau :

Auteurs	Année	Nombre de cornée	Etiologies	Dose	Efficacité/réduction de la surface néovascularisée (si disponible)	Effets secondaires
Nava-Castañeda(67)	2015	38	Récidive ptérygion	2,5mg	Oui	0
Hamdan(59)	2015	2	Causes multiples	10 mg	Oui/ Réduction de 34%	0
Krizova(68)	2014	28	Causes multiples	5 mg	Oui/ Réduction de 21%	0
Kim(30)	2013	8	Causes multiples	2,5 mg	Oui/ Réduction de 28%	0
Petsoglou(69)	2013	15	Causes multiples	2,5 mg	Oui/ Réduction de 36%	0
Chu(70)	2013	20	Kératopathie lipidique	NC	Oui	0
Faramarzi(71)	2013	10	Néoplasie squameuse	2,5 mg	Oui/ Réduction de 42%	0
Bhatti(72)	2013	41	Causes multiples	2,5 mg	Oui	0
Acar(73)	2013	24	Causes multiples	2,5/5 mg	Oui/ Réduction de 31%	0
Maurin(74)	2012	15	Causes multiples	2,5 mg	Oui	0
Benayoun(34)	2012	11	Causes multiples	2,5 mg	Oui/ Réduction de 25%	0
Mikou(75)	2011	17	Causes multiples	2,5 mg	Oui	1 ulcère épithéliale
Gueudry(76)	2010	13	Causes multiples	2,5 mg	Oui	3 ulcérations épithéliales
Zaki(77)	2010	10	Inflammatoires et lentilles	2,5 mg	Oui/ Réduction de 33%	0
Oh(78)	2009	3	Kératopathie lipidique	1,25 mg	Oui	0
Vassileva(79)	2009	14	Grefe	2,5 mg	Oui	0
You(80)	2009	29	Causes multiples	1,25/2,5/5 mg	Oui	0
Doctor(81)	2008	8	Inflammatoires	2,5 mg	Oui	0
Bahar(82)	2008	10	Causes Multiples	2,5 mg	Oui / Réduction de 29%	0
Bahar(83)	2008	5	Ptérygion	2,5 mg	Non	0

En 2013 **Papathanassiou** a réalisé une méta analyse sur la néovascularisation de cornée et les traitements par anti VEGF. Dans les études cliniques chez l'homme il retrouve une réduction de la surface néovascularisée de 36% (18-54%) au total, elle est de 32% (10-54%) avec les injections sous conjonctivales d'anti VEGF, et de 48% (32-65%) avec un traitement topique.(84)

La seule étude randomisée versus placebo, en double aveugle, publiée à ce jour est celle de **Petsoglou** datant de 2013. Il retrouve une réduction de 36% de la néovascularisation cornéenne dans le groupe ayant reçu 3 injections de Bévacicumab 2.5mg à 1 mois d'intervalle, alors qu'elle se majorait de 90% dans le groupe placebo (p=0.007).

Il est à noter que dans leur étude tous les patients étaient aussi sous traitement par dexaméthasone 0.1% collyre 4 fois par jour.(69)

S. Belghmaidi a réalisé des injections de Bévacicumab, en association avec une corticothérapie topique, dans une étude prospective chez des patients atteints de néovascularisation cornéenne en préopératoire de greffe de cornée.

Il a injecté 2.5 mg de Bévacicumab chez 33 patients avec entre 1 et 4 injections sous conjonctivales et constate une régression totale des néovaisseaux dans 34% des cas, partielle dans 40% et absente dans 26% des cas.(85)

En 2014 **Krizova** a traité 28 yeux avec une seule injection sous conjonctivale de Bévacicumab (0.2-0.5ml à 25 mg/ml), après un suivi de 6 mois il retrouve une diminution des segments périphériques cornéens néovascularisés de 21.6% et des segments centraux de 9.6%.(68)

4.4. Le schéma de l'étude

Avec pour objectif d'évaluer l'efficacité d'une molécule ayant fait la preuve de son efficacité mais dans une nouvelle indication (DMLA), la réalisation d'un essai comparatif randomisé en double insu contre placebo permet d'obtenir un niveau de preuve maximal.

Le Bévacizumab a montré des résultats intéressants dans de nombreuses études mais une seule seulement était randomisé contre placebo et en double aveugle à ce jour.

4.5. Le critère de jugement principal / la surface cornéenne néovascularisée

La réduction de la surface cornéenne néovascularisée traduit un effet biologique observable qui peut être quantifié de façon fiable et reproductible, il est utilisé par la plupart des auteurs.

L'aire d'invasion des néovaisseaux est un critère réducteur car il ne tient pas compte de la réduction du calibre vasculaire.

On voit bien dans notre étude que le grading clinique basé sur l'invasion des néovaisseaux (inférieur ou supérieur à 2mm) ne montre pas de différence même chez les patients où l'on note une diminution de la surface néovascularisée.

L'étude de **Bock** individualise deux types de patients : ceux dont la réponse est franchement importante (74%, 68% et 66% de réduction) et ceux dont la réponse est franchement moindre (13 et 27%), le seuil de 30% se situant entre ces 2 groupes.(35)

On peut craindre qu'une réduction de la surface néovascularisée inférieure à 30% ne soit pas cliniquement significative et n'apporte pas de bénéfice sur la symptomatologie des patients ou vis-à-vis du risque de rejet de greffe.

Enfin on peut considérer que les variations dans les résultats de mesure de la surface néovascularisée inférieure à 10% sont liés aux différences de condition de prise des photographies (luminosité, position du patient) plus qu'à de véritable changement de la surface néovascularisée.

4.6. Comparaison de la surface néovascularisée et de l'aire d'invasion des néovaisseaux

Pour les 4 patients répondeurs nous avons comparé l'évolution de l'aire d'invasion des néovaisseaux par rapport à l'évolution de la surface néovascularisée au cours de l'étude :

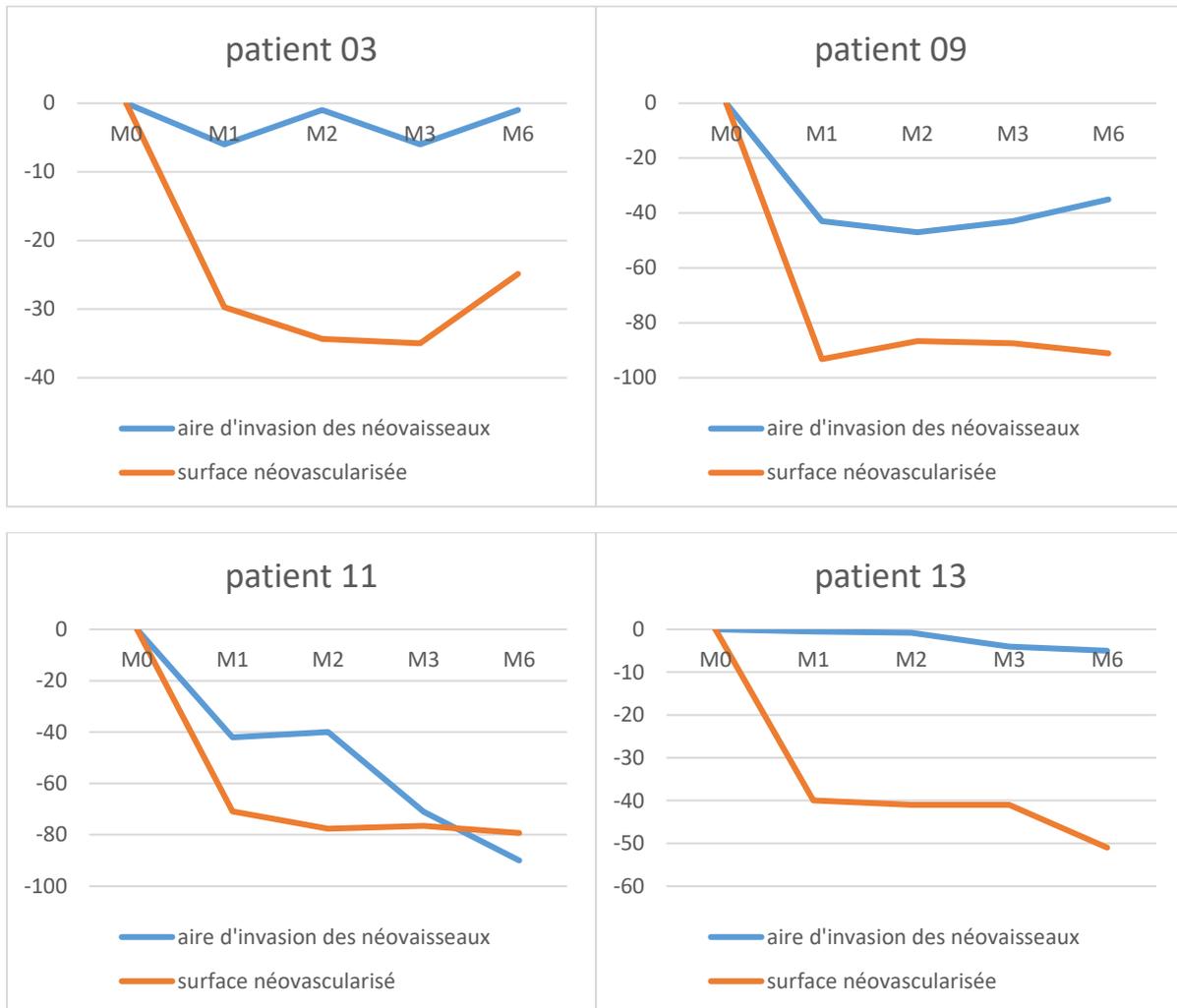


Figure 13 : Evolution de l'aire d'invasion des néovaisseaux et de la surface néovascularisée

L'aire d'invasion de la néovascularisation est plus le reflet de l'arborisation vasculaire alors que la surface néovascularisée est le reflet à la fois de l'arborisation et du calibre des néovaisseaux.

L'évolution de l'aire d'invasion a été variable en fonction des patients.

Chez les patients 3 et 13 on voit que l'aire d'invasion de la néovascularisation ne diminue pratiquement pas alors que la surface diminue, cela suggère que le Bévacicumab entraîne principalement une diminution du calibre vasculaire, probablement par diminution du débit vasculaire au sein des néovaisseaux qui persistent ensuite sous forme de néovaisseaux fantômes (phénomène de « vasoconstriction passive »).

Chez le patient 11, qui présentait une néovascularisation récente, on voit une réduction de l'aire d'invasion, qui se fait progressivement après chaque injection jusqu'à une quasi disparition de la néovascularisation. Cela fait suggérer qu'en plus de réduire le calibre vasculaire des néovaisseaux anciens, le Bévacicumab peut entraîner une disparition des néovaisseaux d'apparition plus récente après plusieurs injections.

Chez le patient 09 on voit une réduction de l'aire d'invasion qui reste stable à mesure des injections mais on peut voir que 3 mois après la dernière injection, l'aire d'invasion remonte alors que la surface reste stable. Cela correspond probablement à la réapparition de nouveaux vaisseaux qui n'ont pas encore augmenté leur calibre vasculaire et irait dans le sens de la nécessité de faire des injections répétées pour certains patients.

4.7. Le Bévacicumab

Dans la même classe des anti-VEGF, le Ranibizumab (LUCENTIS®) a été très peu étudié dans la littérature dans le traitement de la néovascularisation cornéenne.(86–88)

Par ailleurs, le Ranibizumab n'est disponible qu'au prix de 875 euro le milligramme (AAM dans la DMLA) alors que le Bévacicumab est disponible pour 28 euro le milligramme (AMM dans le traitement de cancer).

Le Bévacicumab est aussi facilement préparable en pharmacie hospitalière à la dose désirée.

Pour ces raisons la plupart des études préliminaires de sécurité et d'efficacité ont été mené chez l'homme et l'animal avec le Bévacicumab.

Récemment **Kim et al.** ont comparé l'efficacité du ranibizumab et du Bévacicumab sur 16 yeux de patients, il retrouve une diminution plus importante avec le Bévacicumab ($28.4 \pm 9.01\%$) qu'avec le ranibizumab ($4.51 \pm 11.64\%$) à 1 mois.(30)

4.8. La dose de 5mg

Le choix a été basé sur le résultat d'études expérimentales chez l'animal et d'études pilotes menées chez l'homme.

You a réalisé une importante série de cas avec 29 cornées ayant reçu une injection unique de Bévacizumab avec différentes doses : 1.25 mg, 2.5 mg et 5mg. Il n'observe aucune modification avec la dose de 1.25 mg à 1 semaine et 3 mois mais retrouve une réduction à 1 semaine de 85.5%+-18% ($p=0.01$) avec 2.5mg et 73.1%+-23.4% ($p=0.02$) à 5 mg. A 3 mois il observe une réaugmentation de l'aire néovascularisée. Il conclut à un effet dose dépendant du Bévacizumab sur la réduction de la néovascularisation cornéenne présent dès la première semaine qui suit l'injection.

Hoffart retrouve aussi une réduction significative de la néovascularisation à partir d'une dose de 5 mg de Bévacizumab en injection sous conjonctivale journalière.(89)

La plupart des études tendent à prouver qu'il existe une relation dose-effet du produit pourtant récemment **Acar** n'a pas retrouvé de différence significative chez des patients traités à une dose de 2.5 mg/0.1 ml (avec une réduction de 32% de surface néovascularisée) par rapport au patients traités par 5 mg/0.2 ml (réduction de 31%).(73)

4.9. La voie sous conjonctivale

En ce qui concerne la voie intra-stromale, nous disposons de trop peu de données pour entreprendre une étude.

Le Bévacizumab a montré dans de nombreuses études (90,91) son efficacité en voie topique mais il pose le problème du conditionnement du collyre, la stabilité du produit en dehors du flacon n'étant pas garanti au-delà de 48 heures. De plus l'administration en collyre nécessite une plus grande quantité de produit et génère donc un coût plus important.

A l'opposé pour une injection sous-conjonctivale la pharmacie conditionne le produit le jour même garantissant la stabilité du produit.

Dastjerdi a retrouvé une réduction de surface néovascularisée plus importante via une injection sous conjonctivale (55%) par rapport à la voie topique (33%) sur des cornées animales ayant subi une greffe.(92)

Ozdemir retrouve une surface néovascularisée plus faible après une injection unique sous conjonctivale à 1.25mg de Bévacizumab (42.7%) qu'après une utilisation topique 2 fois par jour (55.8%) sur des cornées de rat cautérisé au sel d'argent.(93)

Oner retrouve une efficacité semblable entre voie sous conjonctivale et topique sur des cornées de rat cautérisé au sel d'argent.(94)

Sur un plan pharmacocinétique, en cas d'instillation, 80% du principe actif pénètre dans l'œil par voie transcornéenne puis se distribue au niveau de l'humeur aqueuse, de l'iris, du corps ciliaire et enfin du vitré, les 20% restant pénètrent dans l'œil par voie conjonctivo-lymphatique et par voie générale à travers les capillaires situés dans les voies lacrymales. Seulement 1 à 3% du principe actif délivré par une goutte pénètrent dans l'œil. La cornée réalise une véritable barrière, de forte concentration et un temps de contact prolongé sont donc nécessaires pour obtenir une biodisponibilité satisfaisante.

En cas d'injections sous-conjonctivales la pénétration dans l'œil se fait directement à travers le limbe vers la chambre antérieure, l'iris, les corps ciliaires et la cornée par rétrodiffusion.

Le principe actif persiste longtemps dans l'œil donc plus la quantité de principe actif qui pénètre dans l'œil est importante plus sa durée d'action sera longue.

Ainsi **Nomoto** retrouve une concentration dans l'humeur aqueuse après injection sous-conjonctivale 30 fois supérieure à celle obtenue après administration en collyre mais aussi un passage systémique de principe actif plus important dans la voie sous conjonctivale augmentant le risque d'effet indésirable générale.(38)

Dastjerdi a montré qu'en application topique le Bévacizumab pénètre peu dans le stroma d'une cornée avec un épithélium intact et de façon variable dans une cornée néovascularisée. Il trouve une bonne pénétration du Bévacizumab après une injection sous conjonctivale qui reste détectable jusqu'à 21 jours après l'injection.(37)

4.10. Influence de l'étiologie

Dans notre étude 3 des 4 patients répondeurs présentaient une kératite d'origine infectieuse (deux herpétiques et une bactérienne).

Il semble que les injections d'anti-VEGF soient particulièrement efficaces sur les kératites herpétiques stromales.(95)

Saravia a étudié l'impact d'une injection de Bêvacizumab (0.25mg) sur des cornées de rat présentant une kératite herpétique aiguë (injection à J13 de l'inoculation d'herpès simplex virus 1). Il observe la régression totale de la néovascularisation, une amélioration de la transparence cornéenne et une absence de cicatrice cornéenne.(96)

4.11. Influence de l'ancienneté de la néovascularisation

Il semblerait que plus l'injection est réalisée tôt par rapport à l'apparition de la néovascularisation et plus l'efficacité est importante.

Dans notre étude les patients répondeurs au traitement présentaient tous une néovascularisation datant de moins de 12 mois. Et nous n'avons noté aucune réponse chez les patients présentant une néovascularisation très ancienne.

Papathanassiou retrouve une réduction de la surface cornéenne néovascularisée d'autant plus importante que l'injection est réalisée précocement sur des cornées de rat après brûlure alcaline (soude).(97)

Hurmeric retrouve une réduction significative de la néovascularisation sur des cornées animales cautérisées après injection de 0.1 ml/1.25 mg et ce de façon d'autant plus marquée que l'injection a été réalisée précocement après la brûlure.(98)

Mikou, dans une étude rétrospective, retrouve une efficacité du Bévacicumab en une injection sous conjonctivale dans 88% des cas avec une meilleure efficacité pour les « jeunes néovaisseaux » avec parfois une totale régression.(75)

Wei-Li Chen a étudié des cornées néovascularisées suite au port de lentille de contact associés à une tarssoraphie sur des cornées animales. Des injections de Bévacicumab 5 mg étaient réalisés toutes les semaines dès l'apparition de la néovascularisation dans le premier groupe et 1 mois après dans le deuxième. Il note que le traitement précoce inhibe de façon plus significative la néovascularisation, avec des taux de VEGF, VEGFR1 et 2 dans le stroma cornéen significativement plus élevé dans le groupe traité à 1 mois. Il note aussi que l'infiltration macrophagique est inhibée dans le groupe traitement précoce et pas dans le groupe traité tardivement.(99)

Lin a étudié l'effet des injections de 2.5 mg de Bévacicumab, en sous-conjonctival, sur des insuffisances limbiques de cornée de rat, il retrouve que des injections réalisées immédiatement ou à 1 semaine inhibe la néovascularisation cornéenne, diminue les altérations épithéliales et les opacités stromales alors que ce n'est pas le cas avec un traitement à 1 mois.(100)

4.12. Influence de la surface néovascularisée

Cette donnée a été peu analysée dans les études mais l'on remarque que les 4 patients répondeurs présentaient une petite néovascularisation (inférieur à 5% de la surface cornéenne totale) : un seul cadran était touché pour 3 patients.

4.13. Une ou plusieurs injections

Dans la DMLA il est recommandé de réaliser trois injections espacées d'un mois à l'initiation du traitement.

Dans l'hypothèse d'une diminution de l'efficacité du Bévacizumab à partir du deuxième mois, une deuxième injection permettrait d'augmenter ou de consolider l'effet de la première injection.

Dans notre étude on voit que l'effet a été d'emblée maximal dès la première injection et s'est poursuivi après la deuxième injection.

Pour 3 des 4 patients répondeurs l'effet a persisté à 3 mois de la dernière injection, alors que pour 1 patient la néovascularisation semble récidiver suggérant d'ajuster d'éventuelles nouvelles injections en fonction de l'efficacité dans le temps, tout comme dans la DMLA.

Chu, sur une série de 20 patients injectés pour une néovascularisation associée à des dépôts lipidiques, retrouve que 35% des patients récidivent entre 6 et 15 mois et nécessitent de nouvelles injections.(70)

Nava-Castañeda retrouve que la diminution de la surface néovascularisée et de l'opacification cornéenne persiste à 12 mois après 3 injections sous conjonctivales (espacées de 2 semaines) de Bévacizumab 2.5mg dans les cas de récurrence précoce de ptérygion.(67)

4.14. Tolérance / effets indésirables

En théorie il existe des risques liés au passage systémique du Bévacicumab :

- Hypertension artérielle
- Insuffisance cardiaque
- Hémorragies, thromboses, embolies
- Accident vasculaire cérébral
- Anomalie de la numération sanguine
- Perforation gastro-intestinale, perforation de la cloison nasale

Aucun de ces effets n'a été décrit dans notre étude et dans toutes les séries de cas publiées à ce jour.

Les effets indésirables retrouvés dans l'étude étaient plus liés à la procédure d'injection qu'au Bévacicumab lui-même, et ils restaient non grave : douleur à l'injection, hémorragie sous-conjonctivale.

Yoeruek a analysé par microscopie à fluorescence des cornées après exposition à des concentrations de 2.5 à 5 mg/ml de Bévacicumab et ne retrouve aucun dommage cellulaire. Il a aussi étudié des cornées de rat ayant subi une brûlure chimique alcaline et bénéficié de Bévacicumab en topique et ne retrouve pas de toxicité spécifique sur l'analyse histologique des cellules cornéennes (kératinocytes, cellules épithéliales et endothéliales).(101)

Bock n'a retrouvé aucun signe de modification morphologique, ni altération de cicatrisation, ni changement dans la densité des fibres nerveuses après administration de Bévacicumab en topique.(102)

Chalam met en évidence l'absence complète de cytotoxicité quelles que soient les doses testées.(103)

Kim a démontré que l'administration de Bévacicumab en topique retarde le processus de cicatrisation cornéenne à partir du dosage de 1 mg/ml. Avec une croissance de cellules épithéliales et des fibroblastes ralentie.(104)

Lichtinger ne retrouve pas de toxicité endothéliale ou d'altération morphologique cornéenne après 3 injections de 1,25 mg Bévacicumab en sous conjonctivale et intra-stromale après 6 mois de suivi.(105)

4.15. Intérêts pour les patients

La réduction de la néovascularisation cornéenne permet en théorie de diminuer l'opacification cornéenne et d'améliorer l'acuité visuelle. Un de nos patients a présenté une amélioration de l'acuité visuelle (de 2/10 à 4/10), avec réduction des dépôts lipidiques, faisant rediscuter chez ce patient l'indication de la greffe.

On note aussi dans notre étude qu'un patient ayant une acuité visuelle à 10/10 avant ces injections a amélioré sa symptomatologie.

Dans notre étude on retrouve une diminution du recours aux greffes de cornée mais ce critère reste très subjectif et difficile à interpréter. En effet une cornée entièrement néovascularisée et opaque pourrait bénéficier d'une greffe de cornée pour certains alors que d'autres penseront que le risque de rejet est trop important pour prendre les risques liés à une intervention de greffe de cornée.

Oh a traité 3 yeux de patients atteints de kératopathies lipidiques, avec 2 injections de Bévacizumab à 1 mois d'intervalle, il retrouve une réduction de la néovascularisation dans les 3 cas mais la disparition des dépôts lipidiques que chez un seul patient.(78)

Dans une revue de la littérature **Bachmann** note que sur 10 études retrouvant une réduction de la surface cornéenne néovascularisée significative seules 4 rapportaient une amélioration significative de l'acuité visuelle après traitement.(106)

Vis à vis des succès de greffe de cornée, réduire la néovascularisation augmente les chances de succès. La présence d'une néovascularisation multipliant par 5 le risque de rejet (107,108) et 20 % des patients subissant une greffe de cornée présentent une néovascularisation cornéenne préalable.(21)

Fasciani a publié une étude prospective avec 2 groupes de patients greffés de cornée, le premier groupe ayant bénéficié de 3 injections de Bévacizumab en préopératoire et d'une injection en fin d'intervention (5 mg/0.2 ml en sous conjonctivale ou intra-stromale), le groupe contrôle n'ayant eu aucune injection. 6 patients du groupe contrôle (sur 13) ont présenté un rejet de greffe alors qu'aucun des patients du groupe traités (14 patients) n'a présenté de rejet de greffe avec un suivi de 36 mois. (109)

Chiang en combinant grattage cornéen, coagulation des néovaisseaux et une injection de Bévacizumab au cours de DSAEK pour kératopathie bulleuse chez 8 patients ne retrouve aucune récurrence de néovascularisation ni rejet après un suivi de 24 mois.(110)

Conclusion

La néovascularisation cornéenne est une pathologie fréquente et de mauvais pronostic qui jusqu'à aujourd'hui ne dispose pas de thérapeutique efficace.

Depuis plusieurs années maintenant de nombreuses études démontrent des résultats intéressants avec le Bévacicumab, un anticorps monoclonal ciblant spécifiquement le VEGF.

Les premiers résultats de Beconec sont encourageants avec une réduction importante de la néovascularisation chez des patients présentant des néovascularisations récentes (moins de 12 mois), d'origine infectieuse (herpétique) et avec un effet qui persiste dans le temps grâce à un schéma en trois injections.

La tolérance est bonne sans aucun effet indésirable grave à ce jour ce qui a permis d'alléger les critères d'exclusion et devrait permettre des inclusions plus simples à l'avenir.

On peut voir se dégager deux situations dans laquelle le traitement par Bévacicumab en injection sous-conjonctivale va trouver son intérêt.

La première situation sera en phase aiguë d'une agression cornéenne, kératite infectieuse et notamment herpétique, traumatisme chimique ou physique. Dans cette situation un traitement le plus précoce possible pourra permettre de limiter de développement d'une néovascularisation afin de préserver la transparence cornéenne et une bonne acuité visuelle, tout en limitant l'utilisation des corticoïdes et leurs éventuels effets secondaires.

La deuxième situation sera dans la préparation d'une greffe de cornée ou les injections sous conjonctivales de Bévacicumab seul ou en association (coagulation, laser) auront pour objectif de réduire au maximum la néovascularisation et de réaliser la greffe de cornée dans les meilleures conditions afin de minimiser le risque de rejet.

Les résultats définitifs de cette étude vont constituer une importante avancée dans la prise en charge de la néovascularisation cornéenne.

Références bibliographiques

1. Ma DH-K, Chen J-K, Zhang F, Lin K-Y, Yao J-Y, Yu J-S. Regulation of corneal angiogenesis in limbal stem cell deficiency. *Prog Retin Eye Res.* nov 2006;25(6):563-90.
2. Azar DT. CORNEAL ANGIOGENIC PRIVILEGE: ANGIOGENIC AND ANTIANGIOGENIC FACTORS IN CORNEAL AVASCULARITY, VASCULOGENESIS, AND WOUND HEALING (AN AMERICAN OPHTHALMOLOGICAL SOCIETY THESIS). *Trans Am Ophthalmol Soc.* déc 2006;104:264-302.
3. Benayoun Y, Casse G, Forte R, Dallaudière B, Adenis J-P, Robert P-Y. [Corneal neovascularization: epidemiological, physiopathological, and clinical features]. *J Fr Ophthalmol.* sept 2013;36(7):627-39.
4. Witmer AN, Vrensen GFJM, Van Noorden CJF, Schlingemann RO. Vascular endothelial growth factors and angiogenesis in eye disease. *Prog Retin Eye Res.* janv 2003;22(1):1-29.
5. Chang JH, Gabison EE, Kato T, Azar DT. Corneal neovascularization. *Curr Opin Ophthalmol.* août 2001;12(4):242-9.
6. Penn JS, Madan A, Caldwell RB, Bartoli M, Caldwell RW, Hartnett ME. Vascular endothelial growth factor in eye disease. *Prog Retin Eye Res.* juill 2008;27(4):331-71.
7. Grisanti S, Tatar O. The role of vascular endothelial growth factor and other endogenous interplayers in age-related macular degeneration. *Prog Retin Eye Res.* juill 2008;27(4):372-90.
8. Schlaeppli JM, Siemeister G, Weindel K, Schnell C, Wood J. Characterization of a new potent, in vivo neutralizing monoclonal antibody to human vascular endothelial growth factor. *J Cancer Res Clin Oncol.* 1999;125(6):336-42.
9. Ambati BK, Patterson E, Jani P, Jenkins C, Higgins E, Singh N, et al. Soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 contributes to the corneal antiangiogenic barrier. *Br J Ophthalmol.* avr 2007;91(4):505-8.
10. Zheng M, Deshpande S, Lee S, Ferrara N, Rouse BT. Contribution of vascular endothelial growth factor in the neovascularization process during the pathogenesis of herpetic stromal keratitis. *J Virol.* oct 2001;75(20):9828-35.
11. Philipp W, Speicher L, Humpel C. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in inflamed and vascularized human corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* août 2000;41(9):2514-22.
12. Matsumoto T, Turesson I, Book M, Gerwins P, Claesson-Welsh L. p38 MAP kinase negatively regulates endothelial cell survival, proliferation, and differentiation in FGF-2-stimulated angiogenesis. *J Cell Biol.* 7 janv 2002;156(1):149-60.
13. Saika S, Yamanaka O, Okada Y, Miyamoto T, Kitano A, Flanders KC, et al. Effect of overexpression of PPARgamma on the healing process of corneal alkali burn in mice. *Am J Physiol Cell Physiol.* juill 2007;293(1):C75-86.

14. Eriksson K, Magnusson P, Dixelius J, Claesson-Welsh L, Cross MJ. Angiostatin and endostatin inhibit endothelial cell migration in response to FGF and VEGF without interfering with specific intracellular signal transduction pathways. *FEBS Lett.* 11 févr 2003;536(1-3):19-24.
15. Gabison E, Chang J-H, Hernández-Quintela E, Javier J, Lu PCS, Ye H, et al. Anti-angiogenic role of angiostatin during corneal wound healing. *Exp Eye Res.* mars 2004;78(3):579-89.
16. Dawson DW, Volpert OV, Gillis P, Crawford SE, Xu H, Benedict W, et al. Pigment epithelium-derived factor: a potent inhibitor of angiogenesis. *Science.* 9 juill 1999;285(5425):245-8.
17. Carmichael TR. Corneal Angiogenesis. In: Tombrain-Tink J, DPhil CJB, éditeurs. *Ocular Angiogenesis [Internet]. Humana Press; 2006 [cité 14 août 2016]. p. 45-71. (Ophthalmology Research). Disponible sur: http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-59745-047-8_3*
18. McMonnies CW, Chapman-Davies A, Holden BA. The vascular response to contact lens wear. *Am J Optom Physiol Opt.* oct 1982;59(10):795-9.
19. Lee P, Wang CC, Adamis AP. Ocular neovascularization: an epidemiologic review. *Surv Ophthalmol.* déc 1998;43(3):245-69.
20. Cursiefen C, Kruse FE. New Aspects of Angiogenesis in the Cornea. In: MD TR, FRCS DFPLM MRCPF, éditeurs. *Cornea and External Eye Disease [Internet]. Springer Berlin Heidelberg; 2006 [cité 14 août 2016]. p. 83-99. (Essentials in Ophthalmology). Disponible sur: http://link.springer.com/chapter/10.1007/3-540-31226-9_7*
21. Cursiefen C, Küchle M, Naumann GO. Angiogenesis in corneal diseases: histopathologic evaluation of 254 human corneal buttons with neovascularization. *Cornea.* nov 1998;17(6):611-3.
22. Chen J, Xu J. [Early corneal limbal autograft transplantation after alkali burns]. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi Chin J Ophthalmol.* mai 1997;33(3):233-5.
23. Rahman I, Huang MC, Carley F, Hillarby MC, Vasileiadis GT, Tullo A. The influence of donor and recipient factors in allograft rejection of the human cornea. *Eye Lond Engl.* févr 2010;24(2):334-9.
24. Benayoun Y, Petellat F, Leclerc O, Dost L, Dallaudière B, Reddy C, et al. [Current treatments for corneal neovascularization]. *J Fr Ophtalmol.* déc 2015;38(10):996-1008.
25. Chang J-H, Garg NK, Lunde E, Han K-Y, Jain S, Azar DT. Corneal neovascularization: an anti-VEGF therapy review. *Surv Ophthalmol.* sept 2012;57(5):415-29.
26. Menzel-Severing J. Emerging techniques to treat corneal neovascularisation. *Eye Lond Engl.* janv 2012;26(1):2-12.
27. Voiculescu OB, Voinea LM, Alexandrescu C. Corneal neovascularization and biological therapy. *J Med Life.* déc 2015;8(4):444-8.

28. Hsu C-C, Chang H-M, Lin T-C, Hung K-H, Chien K-H, Chen S-Y, et al. Corneal neovascularization and contemporary antiangiogenic therapeutics. *J Chin Med Assoc JCMA*. juin 2015;78(6):323-30.
29. Bock F, Onderka J, Dietrich T, Bachmann B, Kruse FE, Paschke M, et al. Bevacizumab as a potent inhibitor of inflammatory corneal angiogenesis and lymphangiogenesis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. juin 2007;48(6):2545-52.
30. Kim J-H, Seo H-W, Han H-C, Lee J-H, Choi S-K, Lee D. The effect of bevacizumab versus ranibizumab in the treatment of corneal neovascularization: a preliminary study. *Korean J Ophthalmol KJO*. août 2013;27(4):235-42.
31. Sella R, Gal-Or O, Livny E, Dachbash M, Nisgav Y, Weinberger D, et al. Efficacy of topical aflibercept versus topical bevacizumab for the prevention of corneal neovascularization in a rat model. *Exp Eye Res*. mai 2016;146:224-32.
32. Ozdemir O, Altintas O, Altintas L, Yildiz DK, Sener E, Caglar Y. Effects of subconjunctivally injected bevacizumab, etanercept, and the combination of both drugs on experimental corneal neovascularization. *Can J Ophthalmol J Can Ophtalmol*. avr 2013;48(2):115-20.
33. Han YS, Lee JE, Jung JW, Lee JS. Inhibitory effects of bevacizumab on angiogenesis and corneal neovascularization. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol Albrecht Von Graefes Arch Für Klin Exp Ophthalmol*. avr 2009;247(4):541-8.
34. Benayoun Y, Adenis J-P, Casse G, Forte R, Robert P-Y. Effects of subconjunctival bevacizumab on corneal neovascularization: results of a prospective study. *Cornea*. août 2012;31(8):937-44.
35. Bock F, König Y, Kruse F, Baier M, Cursiefen C. Bevacizumab (Avastin) eye drops inhibit corneal neovascularization. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol Albrecht Von Graefes Arch Für Klin Exp Ophthalmol*. févr 2008;246(2):281-4.
36. Dastjerdi MH, Al-Arfaj KM, Nallasamy N, Hamrah P, Jurkunas UV, Pineda R, et al. Topical bevacizumab in the treatment of corneal neovascularization: results of a prospective, open-label, noncomparative study. *Arch Ophthalmol Chic Ill 1960*. avr 2009;127(4):381-9.
37. Dastjerdi MH, Sadrai Z, Saban DR, Zhang Q, Dana R. Corneal penetration of topical and subconjunctival bevacizumab. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. nov 2011;52(12):8718-23.
38. Nomoto H, Shiraga F, Kuno N, Kimura E, Fujii S, Shinomiya K, et al. Pharmacokinetics of bevacizumab after topical, subconjunctival, and intravitreal administration in rabbits. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. oct 2009;50(10):4807-13.
39. Agarwal S, Angayarkanni N, Iyer G, Srinivasan B, Natarajan R, Charola S, et al. Clinico-biochemical correlation of the effect of subconjunctival bevacizumab for corneal neovascularization. *Cornea*. oct 2014;33(10):1016-21.
40. Berrozpe-Villabona C, Santos-Bueso E, Díaz-Valle D, Gegúndez-Fernández JA, Benitez-Del-Castillo JM, Castellar-Cerpa J, et al. Intrastromal bevacizumab injection for

- corneal neovascularization in herpetic stromal keratitis. *J Fr Ophthalmol.* oct 2015;38(8):776-7.
41. Vieira ACC, Höfling-Lima AL, Gomes JÁP, Freitas D de, Farah ME, Belfort Jr R. Intrastromal injection of bevacizumab in patients with corneal neovascularization. *Arq Bras Oftalmol.* août 2012;75(4):277-9.
 42. Yeung SN, Lichtinger A, Kim P, Amiran MD, Slomovic AR. Combined use of subconjunctival and intracorneal bevacizumab injection for corneal neovascularization. *Cornea.* oct 2011;30(10):1110-4.
 43. Avisar I, Weinberger D, Kremer I. Effect of subconjunctival and intraocular bevacizumab injections on corneal neovascularization in a mouse model. *Curr Eye Res.* févr 2010;35(2):108-15.
 44. Murata M, Shimizu S, Horiuchi S, Taira M. Inhibitory effect of triamcinolone acetonide on corneal neovascularization. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol Albrecht Von Graefes Arch Für Klin Exp Ophthalmol.* févr 2006;244(2):205-9.
 45. folkman judah. *Angiogenesis: An Integrative Approach from Science to Medicine.* new york usa; (springer).
 46. Takahashi K, Saishin Y, Saishin Y, Mori K, Ando A, Yamamoto S, et al. Topical nepafenac inhibits ocular neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* janv 2003;44(1):409-15.
 47. Su W, Li Z, Li Y, Lin M, Yao L, Liu Y, et al. Doxycycline enhances the inhibitory effects of bevacizumab on corneal neovascularization and prevents its side effects. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011;52(12):9108-15.
 48. Bucak YY, Erdurmus M, Terzi EH, Kükner A, Çelebi S. Inhibitory effects of topical cyclosporine A 0.05% on immune-mediated corneal neovascularization in rabbits. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol Albrecht Von Graefes Arch Für Klin Exp Ophthalmol.* nov 2013;251(11):2555-61.
 49. Kim B, Tang Q, Biswas PS, Xu J, Schiffelers RM, Xie FY, et al. Inhibition of ocular angiogenesis by siRNA targeting vascular endothelial growth factor pathway genes: therapeutic strategy for herpetic stromal keratitis. *Am J Pathol.* déc 2004;165(6):2177-85.
 50. Al-Mahmood S, Colin S, Farhat N, Thorin E, Steverlynck C, Chemtob S. Potent in vivo antiangiogenic effects of GS-101 (5'-TATCCGGAGGGCTCGCCATGCTGCT-3'), an antisense oligonucleotide preventing the expression of insulin receptor substrate-1. *J Pharmacol Exp Ther.* mai 2009;329(2):496-504.
 51. Cursiefen C, Viaud E, Bock F, Geudelin B, Ferry A, Kadlecová P, et al. Aganirsen antisense oligonucleotide eye drops inhibit keratitis-induced corneal neovascularization and reduce need for transplantation: the I-CAN study. *Ophthalmology.* sept 2014;121(9):1683-92.
 52. van der Graaf WTA, Blay J-Y, Chawla SP, Kim D-W, Bui-Nguyen B, Casali PG, et al. Pazopanib for metastatic soft-tissue sarcoma (PALETTE): a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet Lond Engl.* 19 mai 2012;379(9829):1879-86.

53. Amparo F, Sadrai Z, Jin Y, Alfonso-Bartolozzi B, Wang H, Shikari H, et al. Safety and efficacy of the multitargeted receptor kinase inhibitor pazopanib in the treatment of corneal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* janv 2013;54(1):537-44.
54. Ko B-Y, Kim Y-S, Baek S-G, Lee G, Kim J-M, Jean W-S, et al. Inhibition of corneal neovascularization by subconjunctival and topical bevacizumab and sunitinib in a rabbit model. *Cornea.* mai 2013;32(5):689-95.
55. Akar EE, Oner V, Küçükerdönmez C, Aydın Akova Y. Comparison of subconjunctivally injected bevacizumab, ranibizumab, and pegaptanib for inhibition of corneal neovascularization in a rat model. *Int J Ophthalmol.* 2013;6(2):136-40.
56. Sener E, Yuksel N, Yildiz DK, Yilmaz B, Ozdemir O, Caglar Y, et al. The impact of subconjunctivally injected EGF and VEGF inhibitors on experimental corneal neovascularization in rat model. *Curr Eye Res.* nov 2011;36(11):1005-13.
57. Gerten G. Bevacizumab (avastin) and argon laser to treat neovascularization in corneal transplant surgery. *Cornea.* déc 2008;27(10):1195-9.
58. Baer JC, Foster CS. Corneal laser photocoagulation for treatment of neovascularization. Efficacy of 577 nm yellow dye laser. *Ophthalmology.* févr 1992;99(2):173-9.
59. Hamdan J, Boulze M, Aziz A, Alessi G, Hoffart L. Traitements comparés de la néovascularisation cornéenne : injections sous-conjonctivales de bévacizumab et/ou photothérapie dynamique. *J Fr Ophtalmol.* déc 2015;38(10):924-33.
60. Kim YC, Grossniklaus HE, Edelhauser HF, Prausnitz MR. Intrastromal delivery of bevacizumab using microneedles to treat corneal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* nov 2014;55(11):7376-86.
61. Koenig Y, Bock F, Kruse FE, Stock K, Cursiefen C. Angioregressive pretreatment of mature corneal blood vessels before keratoplasty: fine-needle vessel coagulation combined with anti-VEGFs. *Cornea.* août 2012;31(8):887-92.
62. Holland EJ. Epithelial transplantation for the management of severe ocular surface disease. *Trans Am Ophthalmol Soc.* 1996;94:677-743.
63. Benayoun Y, Rosenberg R, Casse G, Dallaudière B, Robert P-Y. [Imaging and quantification of corneal neovascularization]. *J Fr Ophtalmol.* oct 2013;36(8):693-703.
64. Mackman G, Polack FM, Sidrys L. Fluorescein angiography of soft contact lens induced vascularization in penetrating keratoplasty. *Ophthalmic Surg.* mars 1985;16(3):157-61.
65. Efron N. Grading scales for contact lens complications. *Ophthalmic Physiol Opt J Br Coll Ophthalmic Opt Optom.* mars 1998;18(2):182-6.
66. Bock F, Onderka J, Hos D, Horn F, Martus P, Cursiefen C. Improved semiautomatic method for morphometry of angiogenesis and lymphangiogenesis in corneal flatmounts. *Exp Eye Res.* nov 2008;87(5):462-70.
67. Nava-Castañeda A, Ulloa-Orozco I, Garnica-Hayashi L, Hernandez-Orgaz J, Jimenez-Martinez MC, Garfias Y. Triple subconjunctival bevacizumab injection for early corneal

- recurrent pterygium: one-year follow-up. *J Ocul Pharmacol Ther Off J Assoc Ocul Pharmacol Ther.* mars 2015;31(2):106-13.
68. Krizova D, Vokrojova M, Lihneova K, Studeny P. Treatment of Corneal Neovascularization Using Anti-VEGF Bevacizumab. *J Ophthalmol.* 2014;2014:178132.
 69. Petsoglou C, Balaggan KS, Dart JKG, Bunce C, Xing W, Ali RR, et al. Subconjunctival bevacizumab induces regression of corneal neovascularisation: a pilot randomised placebo-controlled double-masked trial. *Br J Ophthalmol.* janv 2013;97(1):28-32.
 70. Chu H-S, Chen T-C, Hu F-R, Chen W-L. Recurrence of corneal neovascularization associated with lipid deposition after subconjunctival injection of bevacizumab. *Cornea.* nov 2013;32(11):1446-53.
 71. Faramarzi A, Feizi S. Subconjunctival bevacizumab injection for ocular surface squamous neoplasia. *Cornea.* juill 2013;32(7):998-1001.
 72. Bhatti N, Qidwai U, Hussain M, Kazi A. Efficacy of sub-conjunctival and topical bevacizumab in high-risk corneal transplant survival. *JPMA J Pak Med Assoc.* oct 2013;63(10):1256-9.
 73. Acar BT, Halili E, Acar S. The effect of different doses of subconjunctival bevacizumab injection on corneal neovascularization. *Int Ophthalmol.* oct 2013;33(5):507-13.
 74. Maurin et al. Injection sous-conjonctivale de bevacizumab dans le cadre du traitement des néovaisseaux cornéens [Internet]. <http://www.consultation-poster.sfo.asso.fr>. 2012 [cité 14 août 2016]. Disponible sur: <http://www.consultation-poster.sfo.asso.fr/ModuleConsultationPoster/posterDetail.aspx?intIdPoster=1947>
 75. Mikou et al. Injection sous-conjonctivale de Bevacizumab pour le traitement des néovaisseaux cornéens Subconjunctival injection of Bevacizumab in the treatment of corneal neovascularization MIKOU R*, TOUBOUL J, JANY B, BREMOND-GIGNAC D, MILAZZO S (Amiens) - [Internet]. <http://www.consultation-poster.sfo.asso.fr>. 2011 [cité 14 août 2016]. Disponible sur: http://www.consultation-poster.sfo.asso.fr/ModuleConsultationPoster/posterDetail.aspx?intIdPoster=1472&strGUIDConsultation=c51c621b-d0b5-42b9-9a93-c3f61184174e#ctl00_plhContainerModule_hypDepotCommentaireAncre
 76. Gueudry J, Richez F, Tougeron-Brousseau B, Genevois O, Muraine M. Injections sous-conjonctivales de bévacizumab dans le traitement de la néovascularisation cornéenne. *J Fr Ophtalmol.* nov 2010;33(9):630-6.
 77. Zaki AA, Farid SF. Subconjunctival bevacizumab for corneal neovascularization. *Acta Ophthalmol (Copenh).* déc 2010;88(8):868-71.
 78. Oh JY, Kim MK, Wee WR. Subconjunctival and intracorneal bevacizumab injection for corneal neovascularization in lipid keratopathy. *Cornea.* oct 2009;28(9):1070-3.
 79. Vassileva PI, Hergeldzhieva TG. Avastin use in high risk corneal transplantation. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol Albrecht Von Graefes Arch Für Klin Exp Ophthalmol.* déc 2009;247(12):1701-6.

80. You I-C, Kang I-S, Lee S-H, Yoon K-C. Therapeutic effect of subconjunctival injection of bevacizumab in the treatment of corneal neovascularization. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. sept 2009;87(6):653-8.
81. Doctor PP, Bhat PV, Foster CS. Subconjunctival bevacizumab for corneal neovascularization. *Cornea*. oct 2008;27(9):992-5.
82. Bahar I, Kaiserman I, McAllum P, Rootman D, Slomovic A. Subconjunctival bevacizumab injection for corneal neovascularization. *Cornea*. févr 2008;27(2):142-7.
83. Bahar I, Kaiserman I, McAllum P, Rootman D, Slomovic A. Subconjunctival bevacizumab injection for corneal neovascularization in recurrent pterygium. *Curr Eye Res*. janv 2008;33(1):23-8.
84. Papathanassiou M, Theodoropoulou S, Analitis A, Tzonou A, Theodossiadis PG. Vascular endothelial growth factor inhibitors for treatment of corneal neovascularization: a meta-analysis. *Cornea*. avr 2013;32(4):435-44.
85. Belghmaidi S, Hajji I, Ennassiri W, Benhaddou R, Baha Ali T, Moutaouakil A. [Management of corneal neovascularization prior to corneal transplantation: Report of 112 cases]. *J Fr Ophtalmol*. juin 2016;39(6):515-20.
86. Ahn YJ, Hwang HB, Chung SK. Ranibizumab injection for corneal neovascularization refractory to bevacizumab treatment. *Korean J Ophthalmol KJO*. avr 2014;28(2):177-80.
87. Kim EK, Kong SJ, Chung SK. Comparative study of ranibizumab and bevacizumab on corneal neovascularization in rabbits. *Cornea*. janv 2014;33(1):60-4.
88. Dursun A, Arici MK, Dursun F, Ozec AV, Toker MI, Erdogan H, et al. Comparison of the effects of bevacizumab and ranibizumab injection on corneal angiogenesis in an alkali burn induced model. *Int J Ophthalmol*. 2012;5(4):448-51.
89. Hoffart L, Matonti F, Conrath J, Daniel L, Ridings B, Masson GS, et al. Inhibition of corneal neovascularization after alkali burn: comparison of different doses of bevacizumab in monotherapy or associated with dexamethasone. *Clin Experiment Ophthalmol*. mai 2010;38(4):346-52.
90. Waisbourd M, Levinger E, Varssano D, Moisseiev E, Zayit-Soudri S, Barak A, et al. High-dose topical bevacizumab for corneal neovascularization. *Pharmacology*. 2013;92(5-6):310-4.
91. Cheng S-F, Dastjerdi MH, Ferrari G, Okanobo A, Bower KS, Ryan DS, et al. Short-term topical bevacizumab in the treatment of stable corneal neovascularization. *Am J Ophthalmol*. déc 2012;154(6):940-948.e1.
92. Dastjerdi MH, Saban DR, Okanobo A, Nallasamy N, Sadrai Z, Chauhan SK, et al. Effects of Topical and Subconjunctival Bevacizumab in High-Risk Corneal Transplant Survival. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. mai 2010;51(5):2411-7.
93. Ozdemir O, Altintas O, Altintas L, Ozkan B, Akdag C, Yüksel N. Comparison of the effects of subconjunctival and topical anti-VEGF therapy (bevacizumab) on experimental corneal neovascularization. *Arq Bras Oftalmol*. août 2014;77(4):209-13.

94. Öner V, Küçükerdönmez C, Akova YA, Çolak A, Karalezli A. Topical and subconjunctival bevacizumab for corneal neovascularization in an experimental rat model. *Ophthalmic Res.* 2012;48(3):118-23.
95. Hosseini H, Khalili MR. Therapeutic potential of bevacizumab (Avastin) in herpetic stromal keratitis (HSK). *Med Hypotheses.* 2007;69(3):568-70.
96. Saravia M, Zapata G, Ferraiolo P, Racca L, Berra A. Anti-VEGF monoclonal antibody-induced regression of corneal neovascularization and inflammation in a rabbit model of herpetic stromal keratitis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol Albrecht Von Graefes Arch Für Klin Exp Ophthalmol.* oct 2009;247(10):1409-16.
97. Papathanassiou M, Theodossiadis PG, Liarakos VS, Rouvas A, Giamarellos-Bourboulis EJ, Vergados IA. Inhibition of corneal neovascularization by subconjunctival bevacizumab in an animal model. *Am J Ophthalmol.* mars 2008;145(3):424-31.
98. Hurmeric V, Mumcuoglu T, Erdurman C, Kurt B, Dagli O, Durukan AH. Effect of subconjunctival bevacizumab (Avastin) on experimental corneal neovascularization in guinea pigs. *Cornea.* avr 2008;27(3):357-62.
99. Chen W-L, Chen Y-M, Chu H-S, Lin C-T, Chow L-P, Chen C-T, et al. Mechanisms controlling the effects of bevacizumab (avastin) on the inhibition of early but not late formed corneal neovascularization. *PLoS One.* 2014;9(4):e94205.
100. Lin C-T, Hu F-R, Kuo K-T, Chen Y-M, Chu H-S, Lin Y-H, et al. The different effects of early and late bevacizumab (Avastin) injection on inhibiting corneal neovascularization and conjunctivalization in rabbit limbal insufficiency. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* déc 2010;51(12):6277-85.
101. Yoeruek E, Spitzer MS, Tatar O, Aisenbrey S, Bartz-Schmidt KU, Szurman P. Safety profile of bevacizumab on cultured human corneal cells. *Cornea.* sept 2007;26(8):977-82.
102. Bock F, Onderka J, Rummelt C, Dietrich T, Bachmann B, Kruse FE, et al. Safety profile of topical VEGF neutralization at the cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* mai 2009;50(5):2095-102.
103. Chalam KV, Shalam KV, Agarwal S, Brar VS, Murthy RK, Sharma RK. Evaluation of cytotoxic effects of bevacizumab on human corneal cells. *Cornea.* avr 2009;28(3):328-33.
104. Kim T, Chung JL, Hong JP, Min K, Seo KY, Kim EK. Bevacizumab application delays epithelial healing in rabbit cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* oct 2009;50(10):4653-9.
105. Lichtinger A, Yeung SN, Kim P, Amiran MD, Elbaz U, Slomovic AR. Corneal endothelial safety following subconjunctival and intrastromal injection of bevacizumab for corneal neovascularization. *Int Ophthalmol.* juin 2014;34(3):597-601.
106. Bachmann B, Taylor RS, Cursiefen C. The association between corneal neovascularization and visual acuity: a systematic review. *Acta Ophthalmol (Copenh).* févr 2013;91(1):12-9.

107. Maguire MG, Stark WJ, Gottsch JD, Stulting RD, Sugar A, Fink NE, et al. Risk factors for corneal graft failure and rejection in the collaborative corneal transplantation studies. Collaborative Corneal Transplantation Studies Research Group. *Ophthalmology*. sept 1994;101(9):1536-47.
108. Williams KA, Lowe M, Bartlett C, Kelly T-L, Coster DJ, All Contributors. Risk factors for human corneal graft failure within the Australian corneal graft registry. *Transplantation*. 27 déc 2008;86(12):1720-4.
109. Fasciani R, Mosca L, Giannico MI, Ambrogio SA, Balestrazzi E. Subconjunctival and/or intrastromal bevacizumab injections as preconditioning therapy to promote corneal graft survival. *Int Ophthalmol*. avr 2015;35(2):221-7.
110. Chiang C-C, Lin J-M, Tsai Y-Y. Combined scraping, coagulation, and subconjunctival bevacizumab in Descemet stripping automated endothelial keratoplasty for bullous keratopathy. *Eur J Ophthalmol*. juin 2013;23(3):309-15.

Table des figures

Figure 1 : Représentation schématique des mécanismes de l'angiogenèse. D'après The Angiogenesis Foundation 2010.....	21
Figure 2 : Relations entre VEGF, bFGF et MMPs.....	24
Figure 3 : Les différentes étapes de l'analyse semi-automatisée.....	51
Figure 4 : Récapitulatif du calendrier patient.....	53
Figure 5 : Evaluation de la Néovascularisation via le score de Gradding Cornéen Clinique.....	55
Figure 6 : : Inclusion depuis janvier 2012 et inclusion par centre.....	59
Figure 7 : Evolution de la surface néovascularisée à M0, M1 M2, M3 et M6.....	63
Figure 8 : Evolution de la surface néovascularisée à M3 et M6.....	64
Figure 9 : Evolution de l'acuité visuelle.....	69
Figure 10 : Photographie couleur patient 09 à M0 (en haut) et M6 (en bas).....	74
Figure 11 : Photographie couleur du patient 11 à M0 (en haut) et M6 (en bas).....	76
Figure 12 : Photographie couleur du patient 13 à M0 (en haut et M6 (en bas).....	78
Figure 13 : Evolution de l'aire d'invasion des néovaisseaux et de la surface néovascularisée	84

Table des tableaux

Tableau 1 : Etiologie des Néovaisseaux.....	60
Tableau 2 : Surface Cornéenne néovascularisée après analyse semi-automatisée en pourcentage (%) de surface cornéenne totale.	65
Tableau 3 : Evolution du score de Gradding Clinique.....	68

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des maîtres de cette école, de mes condisciples, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.

Je dispenserai mes soins sans distinction de race, de religion, d'idéologie ou de situation sociale.

Admis à l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser les crimes.

Je serai reconnaissant envers mes maîtres, et solidaire moralement de mes confrères. Conscient de mes responsabilités envers les patients, je continuerai à perfectionner mon savoir.

Si je remplis ce serment sans l'enfreindre, qu'il me soit donné de jouir de l'estime des hommes et de mes condisciples, si je le viole et que je me parjure, puisse-je avoir un sort contraire.

Sofiane LARIBI

ETUDE BECONEC

**INTERET DES INJECTIONS SOUS-CONJONCTIVALES DE BEVACIZUMAB
COMME TRAITEMENT DES NEOVAISSEaux CORNEENS**

Premiers résultats

Résumé :

Notre étude a pour objectif d'évaluer l'efficacité des injections sous conjonctivales de Bêvacizumab chez des patients porteurs de néovascularisations cornéennes toutes étiologies confondues.

Il s'agit d'une étude prospective, versus placebo, multicentrique et en double aveugle. Les patients ont reçu 3 injections de Bêvacizumab à 5 mg (0.2 ml) et la mesure de la surface cornéenne néovascularisée a été faite via analyse semi-automatisée de photographies numériques.

Sur 26 patients inclus à ce jour 20 ont été analysée. En analyse globale on retrouve une réduction de la surface néovascularisée de 20 % à M3 et 20,5% à M6. On retrouve une réduction de plus de 30% de la surface néovascularisée chez 4 patients à M3 et 3 patients à M6. Aucun effet indésirable grave n'a été relevé pendant l'étude.

Les premiers résultats suggèrent une efficacité sur les kératites infectieuses (herpétiques), sur de petites néovascularisations (moins de 5% de surface néovascularisée) et sur les néovascularisations récentes (moins de 12 mois).

Les résultats définitifs de cette étude vont constituer une importante avancée dans la prise en charge de la néovascularisation cornéenne.

Mots-clés : Néovascularisation cornéenne. Bêvacizumab. Greffe de cornée.

Abstract :

The aim of this study is to evaluate the effect of subconjunctival bevacizumab injection in patients with corneal neovascularization from all causes.

This is a prospective study, versus placebo, multicentric, and double blind. All eyes received three injections of 5 mg (0,2 ml) Bevacizumab and morphological changes in vessels were evaluated using computer-assisted semi-automatic analysis of corneal neovascularization area.

20 of 26 patients included to date have been analyzed. In global analysis we found a neovascularized area reduction of 20% at M3 and 20.5% at M6. We found a reduction of more than 30 % of the surface neovascularized in 4 patients at M3 and 3 patients at M6. No serious adverse effects were observed during the study.

The first results suggest efficacy in infectious keratitis (herpes), on small neovascularization (less than 5% of neovascularized surface) and on recent neovascularization (under 12 months).

The final results of this study will be an important advance in the treatment of corneal neovascularization.

Keywords : Corneal neovascularization .Bêvacizumab . Corneal transplant.

Discipline : Médecine. Ophtalmologie.

Université de Limoges.