

Étude pilote d'un nouvel agent de thérapie matricielle (RGTA OTR4120[®]) dans les ulcères de cornée et les dystrophies cornéennes rebelles

C. Khammari Chebbi (1), K. Kichenin (2), N. Amar (1), H. Nourry (4), J.M. Warnet (4), D. Barritault (2), C. Baudouin (1, 3)

(1) Service d'Ophtalmologie III, Centre Hospitalier National d'Ophtalmologie des Quinze-Vingts, Paris.

(2) OTR3 SAS, Paris.

(3) INSERM UMRS 592, Institut de la vision Université Paris VI.

(4) Service de pharmacie, Centre Hospitalier National d'Ophtalmologie des Quinze-Vingts, Paris.

Correspondance : C. Khammari, Service d'Ophtalmologie III, Centre Hospitalier National d'Ophtalmologie des Quinze-Vingts, Paris

E-mail : cyrine.k@voila.fr

Reçu le 4 février 2008. Accepté le 26 mars 2008.

Pilot study of a new matrix therapy agent (RGTA OTR4120[®]) in treatment-resistant corneal ulcers and corneal dystrophy

C. Khammari Chebbi, K. Kichenin, N. Amar, H. Nourry, J.M. Warnet, D. Barritault, C. Baudouin

J. Fr. Ophtalmol., 2008; 31, 5: 465-471

Aims: This study's objective was to evaluate the tolerance and safety of a new ophthalmic solution based on ReGeneraTing agent (RGTA) technology in a pilot noncontrolled exploration on compassion use for corneal ulcers and severe chronic dystrophies resistant to the usual treatments.

Rational: RGTA are large biopolymers engineered to replace heparan sulfates specifically bound to matrix proteins and growth factors destroyed after a lesion has occurred. The RGTA-bound proteins are protected from proteolysis and this allows the extracellular matrix micro-environment to restore its original proper organization. The initial endogenous signals needed for tissues to regenerate are back on the restored matrix. They are expected to trigger the natural onset of events, signaling cells to migrate and multiply with the cascades and equilibrium found in tissue homeostasis. RGTA-induced matrix therapy is a possible alternative to cell or gene therapy in regenerative medicine. In a rabbit preclinical model of alkali-induced severe corneal ulcers, a single instillation of RGTA ophthalmic solution was found sufficient to enhance speed and quality of healing, restoring an almost normal corneal histology after only 1 week. These data prompted us to initiate this study.

Patients and methods: Eleven eyes from ten patients were included in this study. All patients had severe dystrophic cornea or painful corneal ulcers rated over 50 on the VAS pain scale ranging from 0 to 100 and had undergone unsuccessful treatments. The RGTA ophthalmic solution was administered by the investigator during each weekly consultation as a single drop over 1 month. Tolerance and efficacy were judged on subjective criteria based on pain evaluation and functional inconvenience as well as on objective clinical criteria through a complete ophthalmic examination at days 3, 7, 14, 21, 28 and after 2 and 3 months from the beginning of the treatment.

Results: The study was conducted to completion for all patients included at the beginning. Tolerance was excellent both locally and generally: no uneasiness during instillation, no worsening of the initial pathology, no occurrence of ocular inflammation or increase in ocular pressure, and no general side effects were observed. In addition, we observed a noticeable analgesic effect, increasing with time and instillations, but pain reappeared in the majority of cases as treatment ended. The mean visual analog scale pain score was 72.73 ± 7.86 , it decreased significantly with the first drops of treatment. After 1 month, the mean visual analog scale pain score was 32 ± 15.49 , then it increased after the end of the treatment, confirming the link between the effects observed and the treatment. Efficacy on keratitis was moderate but with an overall tendency toward improvement. The initial Oxford Score was 3.37 ± 1.06 . After 1 month, it decreased significantly to 1.57 ± 0.97 and then it rose again after the end of the treatment. As for corneal ulcers, of the five cases included, four healed during the

INTRODUCTION

Des altérations cornéennes rebelles et douloureuses sont observées dans de nombreuses pathologies de la surface oculaire d'étiologies différentes, comme les syndromes secs oculaires, les kératites auto-immunes, la toxicité des collyres avec conservateurs au long cours ou les traumatismes chimiques ou physiques. Toutes ces pathologies aboutissent à une altération de la surface oculaire et du film lacrymal, avec perte de ses propriétés protectrices et libération de médiateurs inflammatoires [1-3]. L'atteinte touche de façon variable les différentes couches de la cornée selon l'étiologie, la sévérité et la durée de l'agression, ce qui peut aboutir à des réactions fibrotiques cicatricielles avec opacité cornéenne permanente. Actuellement, les traitements usuels de ces altérations de la surface oculaire sont représentés par les vitamines, les inhibiteurs des collagénases, les anti-inflammatoires et les substituts lacrymaux. Dans les cas sévères, on peut avoir recours à la ciclosporine, au sérum autologue ou aux greffes de membrane amniotique [4-7]. Les larmes contiennent plusieurs facteurs de croissance biologiquement actifs qui jouent différents rôles dans la prolifération, la migration, la différenciation et la survie cellulaires ainsi

protocol. Two reversed when the treatment stopped, two healed without reversion at the last follow-up visit. The last case was characterized by stem cell deficiency and no improvement was noted. It is important to keep in mind that these ulcers were all resistant to usual therapies.

Conclusion: This RGTA ophthalmic solution is the first matrix therapy product in ophthalmology. The RGTA OTR4120 was used in treating chronic and severe corneal dystrophies as well as corneal ulcers resistant to usual treatments. It was very well tolerated with no side effects. It significantly reduced pain and favored corneal healing in almost all corneal ulcers. Weekly instillation of a single drop seems insufficient and these very promising data need to be confirmed on a larger population in a controlled trial with more adapted dosages. Based on these preliminary data, a RGTA-based matrix therapy product may be a very innovative solution to unresolved pain and corneal surface healing problems.

Key-words: Corneal dystrophy, keratitis, matrix therapy, heparan mimetics, RGTA.

Étude pilote d'un nouvel agent de thérapie matricielle (RGTA OTR4120®) dans les ulcères de cornée et les dystrophies cornéennes rebelles

Objectif : Étude pilote exploratrice à usage compassionnel, non contrôlée, visant à évaluer la tolérance et l'efficacité d'une nouvelle solution ophtalmique à base d'agents de régénération, analogues des héparanes sulfates (RGTA) dans les ulcères de cornée et les dystrophies cornéennes chroniques sévères résistantes aux traitements usuels.

Rationnel : Les RGTA sont des biopolymères de grande taille conçus pour remplacer les héparanes sulfates liés spécifiquement aux protéines de la matrice et aux facteurs de croissance mais détruits lors de lésions tissulaires. Les protéines fixées sur le RGTA sont alors protégées contre une protéolyse, ce qui permet de restaurer le microenvironnement de la matrice extracellulaire. Les signaux endogènes nécessaires au renouvellement cellulaire qui assurent localement l'homéostasie tissulaire sont à nouveau en place sur la matrice restaurée pour déclencher la bonne séquence spatio-temporelle de migration et de multiplication cellulaire. La thérapie matricielle par le RGTA représente une alternative aux thérapies géniques ou cellulaires proposées en médecine régénérative. Dans un modèle pré-clinique d'ulcération sévère de cornée induite par base chez le lapin, une seule instillation avait été suffisante pour augmenter fortement la vitesse et la qualité de la cicatrisation et permettre après seulement une semaine une restauration de la cornée d'une qualité histologique presque normale. Ce sont ces résultats qui nous ont poussés à entreprendre cette première étude clinique dont le but principal était d'évaluer la tolérance locale de cette préparation.

Patients et méthodes : Onze yeux de dix patients ont été inclus dans l'étude. Tous les patients avaient des dystrophies cornéennes sévères ou des ulcères cornéens douloureux, avec des douleurs cotées au moins 50 sur une échelle visuelle analogique (EVA) notée de 0 à 100, et en échec de traitement. La solution oculaire à base de RGTA a été instillée par l'investigateur en consultation à raison d'une goutte hebdomadaire pendant un mois. La tolérance et l'efficacité ont été jugées sur des critères subjectifs basés essentiellement sur l'appréciation de la douleur et de la gêne fonctionnelle et sur des critères objectifs cliniques lors d'un examen ophtalmologique complet à J3, J7, J14, J21, J28 puis à 2 mois et 3 mois du début du traitement.

Résultats : L'étude a pu être menée à terme chez tous les patients inclus au départ. La tolérance était excellente sur le plan local et général : pas de gêne à l'instillation, pas d'aggravation de la pathologie initiale, d'apparition d'inflammation oculaire ou d'augmentation de la tension oculaire, et pas d'effets adverses généraux. Par ailleurs, on a observé un effet antalgique notable rapide augmentant au fil des instillations avec un retour des douleurs dans la majorité des cas après arrêt du traitement. Le score d'EVA à l'inclusion était de $72,73 \pm 7,86$, il a baissé de façon significative dès la première administration du traitement. À un mois, le score d'EVA moyen était de $32 \pm 15,49$ puis il est remonté à l'arrêt du traitement renforçant ainsi l'hypothèse d'un lien entre les effets observés et l'application du produit. L'efficacité sur la kératite a été modérée mais avec une tendance générale vers l'amélioration après l'instillation de la solution ophtalmique. Le score d'Oxford décrivant l'intensité de la kératite ponctuée superficielle était de $3,37 \pm 1,06$ à l'inclusion. Après un mois il était de $1,57 \pm 0,97$, il a donc baissé de façon significative au cours du traitement. Sur les cinq cas inclus d'ulcères de cornée, quatre ont cicatrisé au cours du protocole. Deux ont récidivé dès l'arrêt du traitement, deux ont cicatrisé sans récidive au dernier contrôle. Le dernier cas était caractérisé par une insuffisance limbique et aucune amélioration n'a été notée. Il est important de rappeler ici que ces ulcères étaient résistants à toutes les thérapeutiques usuelles.

Conclusion : Cette nouvelle solution ophtalmique à base de RGTA utilisée dans les dystrophies cornéennes chroniques et les ulcères de cornée rebelles est très bien tolérée sur le plan local et général. Elle diminue les douleurs de façon significative et favoriserait la cicatrisation cornéenne dans certains cas. Toutefois l'instillation hebdomadaire d'une goutte peut sembler insuffisante et ces premiers résultats prometteurs méritent d'être étayés par des études plus larges, contrôlées et des posologies mieux adaptées.

Mots-clés : Dystrophie cornéenne, kératite, thérapie matricielle, analogues aux héparanes, RGTA.

que dans le maintien de la transparence cornéenne [8-10]. Un déficit ou un déséquilibre de ces facteurs est incriminé dans plusieurs pathologies cornéennes, surtout celles affectant la cicatrisation cornéenne [8-9]. Certains de ces facteurs de croissance tels que l'*epidermal growth factor* (EGF), le *nerve growth factor* (NGF) et l'*insulin-like growth factor* (IGF) [11-14] ainsi que des protéines matricielles comme la fibronectine [15] ont montré leur efficacité sur des cultures cellulaires *in vivo* et sur des modèles animaux de lésions cornéennes. Des études récentes montrent aussi des résultats encourageants de l'utilisation du NGF chez l'homme [16-17].

Les agents de régénération (RGTA pour ReGenerating Agents) sont des biopolymères conçus pour mimer

les propriétés de protection des héparanes sulfates vis-à-vis des protéines matricielles et des facteurs de croissance [18-19]. Les premiers membres de la famille des RGTA sont des dextrans substitués par des groupes carboxyméthyl, sulfate et hydrophobes. [20-22], le dextran étant parfaitement bien toléré et connu dans la pharmacopée. Ces RGTA protègent différents facteurs de croissance et facteurs angiogéniques qui ont comme ligand l'héparine tels que les *Fibroblast Growth Factors 1 et 2* (FGF-1 et FGF-2), le *Transforming Growth Factor beta1* (TGFβ-1), ou le *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) [23-26], mais en réalité la quasi-totalité des facteurs de croissance, cytokines ou chimiokines se lient à l'héparine et aux héparanes sulfates.

Ainsi, le TGFβ, régule la synthèse du collagène et des glycosaminoglycanes [23, 26] et contribue à la formation de la matrice extracellulaire. Sa protection par le RGTA démontrée *in vitro* ne peut que favoriser cette activité *in vivo*. Ces propriétés expliqueraient que lors de lésions tissulaires, les RGTAs remplaceraient les héparanes sulfates détruits en se fixant sur les protéines matricielles et résisteraient aux enzymes du remodelage car ils ne sont pas détruits par les héparanases. La fixation des RGTAs aux protéines matricielles permettrait aussi aux facteurs de croissance et aux cytokines d'agir sur le site lésé. Le RGTA favoriserait ainsi un retour à une organisation matricielle proche de l'état physiologique. Par ces doubles fixations et protections, les RGTAs permettraient de reconstituer le microenvironnement et le bon positionnement dans l'espace et le temps des facteurs sécrétés par les cellules impliquées dans le processus de régénération.

Comme l'héparine, l'héparane sulfate et ses analogues, le RGTA inhibe *in vitro* des enzymes protéolytiques telles les élastases, les plasmines, la cathepsine G [27-29]. Cette propriété pourrait renforcer cet aspect de protection *in vivo* de la matrice. Ces hypothèses ont été confortées par de nombreuses études *in vivo* sur des modèles animaux qui ont démontré que l'administration locale ou systémique de RGTA améliore la vitesse et la qualité de la cicatrisation tissulaire. Ces études ont porté sur des animaux ayant des défauts osseux, des lésions du tractus digestif, des lésions musculaires, gingivales et des ulcérations cutanées, buccales ou cornéennes [30-39].

Afin d'entreprendre des études chez l'homme, nous avons identifié le RGTA OTR4120, à la fois pour son efficacité dans des modèles précliniques comme agent de régénération tissulaire et comme protecteur des protéines matricielles et des facteurs de croissance, et pour son absence de toxicité prévisible. En effet, OTR4120 ne possède pas de substitutions potentiellement toxiques comme le carcinogène benzylamine ni de traces résiduelles de produits de classe 3 interdits comme la pyridine utilisée traditionnellement dans les étapes de sulfatation. Ainsi l'OTR4120 accélère la cicatrisation des ulcères buccaux dans un modèle de mucites chimio-induites chez le hamster et assure la protection de la lame basale des épithélia [40]. Chez le lapin, dans un modèle d'ulcération profonde à la soude, altérant la cornée jusqu'aux deux tiers de son épaisseur, une seule goutte d'une solution d'OTR4120 avait suffi pour récupérer en une semaine une cornée presque normale à l'histologie. La cornée traitée avec une solution physiologique était encore très déstructurée et 3 fois plus épaisse et enflammée que celle traitée avec le RGTA OTR4120. Il avait été également observé une nette différence de sensibilité douloureuse, l'œil traité restant ouvert, alors que l'œil non traité restait très sensible et la paupière fermée (Brignole-Baudouin *et al.*, ARVO abstract 2004). Dans ces modèles, le RGTA OTR4120 agirait comme protecteur tissulaire favorisant le processus cicatriciel en préservant les facteurs et cytokines endogènes.

Ces résultats ont motivé cette première étude pilote compassionnelle chez l'homme portant sur des volontaires atteints d'ulcères de cornée et de dystrophies cornéennes sévères douloureuses résistant aux traitements usuels.

PATIENTS ET MÉTHODES

Préparation du RGTA

Le RGTA OTR4120 est un polymère de carboxyméthyl dextran sulfate dont la formule et le procédé de synthèse ont été décrits en 2005 par Papy Garcia *et al.* [22]. La synthèse a été réalisée selon les normes de bonnes pratiques de fabrication (BPF). Le motif de base est constitué de 15 unités glucosidiques, répétées environ 40 fois et dont le poids moléculaire moyen est de 80 000 Da. Le polymère a été ensuite, dans une salle propre à atmosphère contrôlée, dissous dans une solution de NaCl 0.9p100 (p/v) à une concentration de 100 µg/ml et en présence de dextran à 40 mg/ml, puis répartis dans des flacons en verre de type II et étiquetés, toujours selon les BPF. Les préparations ont subi une double stérilisation par filtration sur filtres de 0,22 µm, et les tests de stérilité se sont révélés négatifs pour chacun des lots de préparation. Les lots ont été conservés à température ambiante. Les études de stabilité de l'OTR4120 seul ou en solution ophtalmique ont été réalisées selon les normes ICH dans leur flaconnage final. Le produit n'a pas subi d'altération détectable sur des durées allant jusqu'à 18 mois. Les études réglementaires de génotoxicité (Ames, micronoyau et Locus TK) ont montré une absence de toxicité. Les tests de tolérance cutanée et cornéenne par applications itératives sur l'œil de lapin pendant 28 jours et sur la peau ont montré une parfaite tolérance par voie topique. La mesure de la pénétration d'OTR4120 fluorescent appliqué localement sur des cornées de lapin saines ou ulcérées n'a pas permis de mettre en évidence de passage dans l'humeur aqueuse, ce qui était attendu pour une molécule de cette taille.

Protocole de l'étude

Il s'agit d'une étude pilote prospective exploratrice à usage compassionnel, non contrôlée évaluant la sécurité et l'efficacité d'une solution oculaire à base de RGTA OTR4120 dans les ulcères de cornée et les dystrophies cornéennes chroniques sévères résistant aux traitements usuels.

Tous les patients inclus dans l'étude étaient majeurs, capables de recevoir une information éclairée et de se présenter aux visites de suivi. Ils présentaient un ulcère de cornée ou une dystrophie cornéenne chronique sévère avec une douleur cotée au moins 50 sur une échelle EVA (échelle visuelle analogique) allant de 0 (pas de douleur) à 100 (douleur intolérable permanente), et résistant

aux traitements usuels (collyres cicatrisants, substituts lacrymaux, anti-inflammatoires...). Ont été exclus de l'étude les patients présentant un ulcère de cornée perforé ou préperforatif, un ulcère infectieux ou un abcès de cornée. Il en a été de même pour les patients sous anti-inflammatoires locaux si ceux-ci n'ont pas été arrêtés au moins huit jours avant le début de l'étude, ainsi que pour ceux recevant un traitement systémique anti-inflammatoire, antiallergique, psychotrope ou antibiotique modifié depuis moins de 8 jours ou susceptibles de l'être à court terme. Le port éventuel de lentilles de contact devait être arrêté depuis plus de huit jours avant le début du protocole. Un test de grossesse négatif et une méthode contraceptive efficace étaient exigés pour les femmes en âge de procréer. Tous les patients inclus ont été informés par le médecin investigateur de l'objet de cette étude, du protocole de suivi et de l'attitude à avoir en cas d'effets indésirables. Leur accord a été obtenu par la signature du consentement volontaire et éclairé. La demande d'essai clinique a été accordée par le CCPPRB de l'hôpital Ambroise Paré le 22 juin 2006.

Tous les patients ont eu à la visite d'inclusion un interrogatoire ciblé sur la symptomatologie fonctionnelle (douleurs, brûlures, picotements...) avec une évaluation de la douleur sur l'échelle visuelle analogique (EVA) et un examen ophtalmologique complet avec mesure de l'acuité visuelle des deux yeux, examen des paupières, de la conjonctive, de la cornée, de la chambre antérieure, de l'iris, du cristallin et du fond d'œil ainsi qu'une mesure de la tension intraoculaire. La présence d'une blépharite a été cotée de 0 à 4. Au niveau de la conjonctive, on a noté la présence éventuelle d'une hyperhémie conjonctivale ainsi que son intensité et la présence de papilles et/ou de follicules conjonctivaux. L'examen de la cornée a recherché en particulier la présence d'une opacité cornéenne, de néovaisseaux cornéens et de dystrophie endothéliale. Il a été complété dans tous les cas par un test à la fluorescéine à la recherche d'une kératite diffuse, localisée ou ulcéreuse. La kératite ponctuée superficielle a été cotée sur l'échelle d'Oxford de 0 à 5. Les ulcères de cornée ont été mesurés à la lampe à fente avec évaluation de la profondeur de l'ulcération (épithéliale, atteignant la membrane de Bowman, le stroma antérieur ou moyen). En cas d'atteinte du stroma profond, le patient n'a pas été inclus. La chambre antérieure a été examinée pour rechercher un effet Tyndall.

Une fois le patient inclus, le protocole de l'étude a commencé par une instillation d'une goutte de la solution ophtalmique à J1 puis d'un examen à J3. Si une amélioration était observée, le protocole était continué avec une instillation à J7, J14 et J21 avec contrôles cliniques avant chaque nouvelle administration du collyre. Si au 3^e jour, aucune amélioration n'était notée, une deuxième goutte à J3 était instillée et un contrôle effectué à J7. Si aucune amélioration n'était observée, le traitement était arrêté. Les patients inclus ont ensuite été suivis une fois par mois après J28 pendant 2 mois.

À chaque visite de contrôle, le même protocole d'examen précédemment décrit a été suivi.

RÉSULTATS

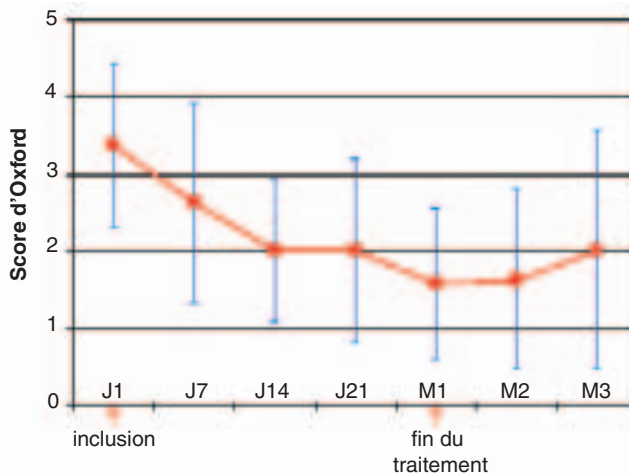
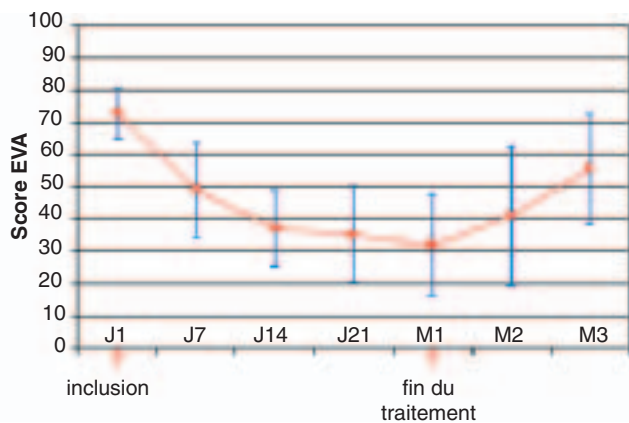
Onze yeux de dix patients ont été inclus dans cette étude pilote de tolérance. Six yeux présentaient une dystrophie cornéenne douloureuse avec kératite ponctuée superficielle chronique et cinq yeux présentaient des ulcères de cornée douloureux sans tendance à la cicatrisation. L'inclusion des deux yeux d'un même patient a été motivée par l'amélioration constatée au niveau de l'œil traité alors que l'état de l'œil non traité s'aggravait et ne répondait à aucun des traitements usuels. Le deuxième œil a donc été secondairement traité, à la demande du patient.

Les pathologies initiales étaient un déficit limbique dans 4 cas, une décompensation endothéliale dans 3 cas, une ichtyose dans un cas, un rejet chronique de greffe dans un cas et une kératite immunologique dans un cas. Certains patients étaient en attente de greffe cornéenne.

Tous les patients inclus ont suivi tout le protocole. Leur âge moyen était de 67,8 ans (extrêmes de 35 à 83 ans). Le groupe était constitué de 6 femmes et de 4 hommes. L'acuité visuelle moyenne à l'inclusion était de 0,12 (extrêmes : perception lumineuse à 0,5) et au dernier contrôle de 0,12, donc sans différence significative ni dans le sens de l'amélioration ni dans le sens de l'aggravation.

La solution ophtalmique à base de RGTA a été très bien tolérée dès la première instillation. Sur le plan fonctionnel, aucune sensation de gêne ou d'inconfort n'a été rapportée par les patients au cours du suivi. Aucune réaction allergique locale ou générale ni aucun effet indésirable d'ordre général n'ont été notés. Au niveau de l'examen ophtalmologique, il n'a été constaté aucune aggravation de la pathologie initiale sous traitement, aucune augmentation de la tension oculaire, aucune inflammation intraoculaire, ni aucune modification du fond d'œil quand celui-ci était accessible à l'examen ophtalmoscopique.

La douleur a été évaluée sur l'échelle EVA. La moyenne d'EVA à la visite d'inclusion était de $72,73 \pm 7,86$. À la visite de contrôle à une semaine, la moyenne d'EVA était de $49,09 \pm 14,46$. Il y avait donc une amélioration significative de la symptomatologie fonctionnelle dès la première instillation avec une différence significative entre les moyennes d'EVA à l'inclusion et à une semaine ($p < 0,05$). L'étude de la courbe de tendance (fig. 1) a montré une amélioration dès le début du traitement qui s'est poursuivie au fil des instillations mais une reprise des douleurs après l'arrêt du traitement avec aggravation progressive aux visites de contrôle après la fin du protocole. Toutefois, la douleur n'est pas remontée à son niveau initial deux mois après la fin du traitement et la différence de l'échelle EVA est restée statistiquement significative entre le jour de l'inclusion et le dernier examen



1 | 2

Figure 1 : Évolution du score d'EVA au cours du suivi.

Figure 2 : Évolution du score d'Oxford au cours du suivi.

deux mois après la fin du traitement (moyenne d'EVA $55,71 \pm 22,28$; $p = 0,02$).

Chez les patients présentant des kératites superficielles ($N = 6$), l'intensité de la kératite a été cotée selon le score d'Oxford. La moyenne du score d'Oxford à l'inclusion était de $3,37 \pm 1,06$ (sur une échelle allant de 0 à 5). À une semaine, le score d'Oxford moyen était de $2,62 \pm 1,30$ ($p = 0,042$). Après un mois, l'amélioration était plus nette avec un score d'Oxford moyen de $1,57 \pm 0,97$ ($p = 0,01$). Un mois après l'arrêt du traitement, ce résultat est resté assez stable (score d'Oxford moyen de $1,62 \pm 1,18$), puis la kératite s'est réaggravée en général comme le montre la courbe de tendance (fig. 2) à deux mois après arrêt du traitement avec un score d'Oxford moyen de $2 \pm 1,58$ (la différence avec l'Oxford à l'inclusion n'étant plus statistiquement significative, $p = 0,093$).

Concernant les cinq yeux inclus présentant des ulcères cornéens, l'évolution a été variable. Quatre patients ont eu une amélioration de l'ulcération avec cicatrisation progressive sous traitement et diminution des douleurs. Sur ces quatre patients, deux ont récidivé à l'arrêt du traitement. Le premier dans la semaine qui a suivi la fin du protocole et le deuxième deux mois après. Les deux autres patients n'ont pas récidivé leur ulcère au bout d'un suivi de deux mois après la dernière instillation. L'acuité visuelle n'a pour autant pas été améliorée vu l'état initial très altéré de la cornée et les opacités séquellaires. Chez le dernier patient aucune tendance à la cicatrisation de l'ulcère n'a été observée (quoique la diminution des douleurs ait été nette). Dans ce cas, l'ulcère se caractérisait par sa situation marginale juxtalimbique.

DISCUSSION

Les dystrophies cornéennes chroniques, les ulcères et les érosions de cornée peuvent dans certains cas,

comme chez les patients inclus dans cette étude, être réfractaires à tous les traitements usuels, surtout quand une composante inflammatoire chronique y est associée. Plusieurs auteurs se sont attachés à trouver de nouvelles molécules favorisant et améliorant la cicatrisation cornéenne. Ainsi, certaines molécules comme les inhibiteurs des collagénases, la fibronectine, l'héparine, l'EGF, l'IGF et le NGF [11-17] ont certes montré un effet sur la cicatrisation cornéenne dans des études *in vitro* et sur l'animal mais aucune n'est actuellement disponible dans la pharmacopée ophtalmologique.

Dans cette étude, dont le but principal était l'évaluation de la tolérance et de la sécurité d'une solution ophtalmique à base de RGTA OTR4120, nous avons constaté, qu'à la posologie utilisée, ce produit est très bien toléré sur le plan local et général. Nous n'avons noté aucune plainte fonctionnelle à l'application ou au cours du suivi ni aucun effet adverse systémique. Aucune aggravation de la pathologie initiale ou réaction allergique locale ou générale n'est survenue au cours du traitement ni au cours du suivi. Par ailleurs, cette solution ophtalmique n'a pas provoqué d'augmentation de la tension oculaire ou d'inflammation intraoculaire et n'a pas montré au moins sur cette courte période d'effet cataractogène.

De plus, nous avons constaté à travers notre série de patients que la solution OTR4120 avait un effet antalgique significatif, évident et rapide qui commençait dès les premières instillations, augmentait au fil du traitement et qui semblait s'épuiser après l'arrêt du protocole. La douleur a été cotée sur l'échelle EVA qui constitue un score composite d'inconfort et qui est largement utilisée dans les études cliniques pour les produits antalgiques. Cet effet sur la douleur a aussi été observé dans un essai clinique étudiant l'efficacité d'un pansement cutané également à base de RGTA OTR4120 chez des patients ayant des ulcères artériels liés à l'athérosclérose non accessibles au traitement chirurgical (étude non publiée).

La diminution des douleurs chez les patients inclus dans notre étude passerait probablement par une amélioration de la qualité de la matrice extracellulaire entourant les terminaisons nerveuses sensibles au niveau de la cornée. Il faut cependant modérer ces résultats en rap- pelant le caractère éminemment subjectif de la douleur et l'impossibilité de conclure à l'absence d'un effet placebo dans cette étude sans groupe contrôle dont le but principal était l'évaluation de la tolérance du RGTA en application oculaire topique.

Dans le groupe des patients présentant des kératites, l'amélioration du score d'Oxford a été modérée, mais significative dès les premières applications. Les courbes de tendance montrent clairement la réaggravation de la kératite à l'arrêt du traitement et suggèrent qu'une durée plus longue serait souhaitable.

D'autre part, les résultats obtenus dans le groupe des patients avec ulcères de cornée chroniques sont aussi prometteurs malgré le faible effectif de ce groupe. En effet, sur les 5 ulcères de cornée inclus, 4 ont cicatrisé au cours du traitement par la solution OTR4120. Il est important de rappeler ici que ces ulcères étaient résistants à toutes les thérapeutiques usuelles. L'ulcère qui n'a pas répondu au traitement se caractérisait par sa situation marginale limbique ce qui supposerait des mécanismes immunologiques plus agressifs le rendant encore plus difficile à traiter. Par ailleurs, sur les 4 ulcères cicatrisés, 2 ont récidivé dès l'arrêt du traitement, ce qui suggère là aussi l'intérêt d'une durée plus longue et/ou d'un traitement d'entretien.

En conclusion, et malgré les limites de ce premier essai clinique, absence de randomisation, de groupe contrôle, faible effectif, faible dosage et courte durée de suivi, il apparaît que ce nouvel agent de thérapie matricielle à base de RGTA est un produit très bien toléré qui offre à travers une approche nouvelle de la cicatrisation cornéenne des perspectives prometteuses. Des études supplémentaires randomisées avec groupe contrôle et des dosages plus appropriés chez des patients avec des atteintes cornéennes moins sévères sont donc pleinement justifiées avec comme finalité d'enrichir notre arsenal thérapeutique pour des patients devant lesquels l'on se trouve encore bien souvent démunis.

Remerciements : Les auteurs remercient D. Lasnier (agence ARMM) pour la soumission des dossiers au CCP-PRB de l'hôpital Ambroise Paré. Cet article est dédié à la mémoire du Professeur Jean Pierre Caruelle, co-inventeur du RGTA et décédé en janvier 2006.

RÉFÉRENCES

1. Baudouin C. A new approach for better comprehension of diseases of the ocular surface, *J Fr Ophthalmol*, 2007;30:239-46.
2. Baudouin C. The pathology of dry eye. *Surv Ophthalmol*, 2001; 45(Suppl):11-20.
3. Ono SJ, Abelson MB. Allergic conjunctivitis: Update on pathophysiology and prospects for future treatment. *J Allergy Clin Immunol*, 2005;115:118-22.
4. Matsumoto Y, Dogru M, Goto E, Ohashi Y, Kojima T, Ishida R, et al. Autologous serum application in the treatment of neurotrophic keratopathy. *Ophthalmology*, 2004;111:1115-20.
5. Muraine M, Gueudry J, Toubeau D, Gardea E, Verspyck E, Menguy E, et al. [Advantages of amniotic membrane transplantation in eye surface diseases]. *J Fr Ophthalmol*, 2006;29:1070-83.
6. Kojima T, Ishida R, Dogru M, Goto E, Matsumoto Y, Kaido M, et al. The effect of autologous serum eyedrops in the treatment of severe dry eye disease: a prospective randomized case-control study. *Am J Ophthalmol*, 2005;139:242-6.
7. Foulks GN. Topical cyclosporine for treatment of ocular surface disease. *Int Ophthalmol Clin*, 2006;46:105-22.
8. Klenkler B, Sheardown H, Jones L. Growth factors in the tear film: role in tissue maintenance, wound healing, and ocular pathology. *Ocul Surf*, 2007;5:228-39.
9. Lim M, Goldstein MH, Tuli S, Schultz GS. Growth factor, cytokine and protease interactions during corneal wound healing. *Ocul Surf*, 2003;1:53-65.
10. Imanishi J, Kamiyana K, Iguchi I, Kita M, Sotozono C, Kinoshita S. Growth factors: importance in wound healing and maintenance of transparency of the cornea. *Prog Retin Eye Res*, 2000;19:113-9.
11. Yamada N, Yanai R, Kawamoto K, Nagano T, Nakamura M, Inui M, et al. Promotion of corneal epithelial wound healing by a tetrapeptide (SSSR) derived from IGF-1. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2006; 47:3286-92.
12. Micera A, Lambiase A, Puxeddu I, Aloe L, Stampachiacchiere B, Levi-Schaffer F, et al. Nerve growth factor effect on human primary fibroblastic-keratocytes: possible mechanism during corneal healing. *Exp Eye Res*, 2006;83:747-57.
13. Woo HM, Bentley E, Campbell SF, Marfurt CF, Murphy CJ. Nerve growth factor and corneal wound healing in dogs. *Exp Eye Res*, 2005; 80:633-42.
14. Coassin M, Lambiase A, Costa N, De Gregorio A, Sgrulletta R, Sacchetti M, et al. Efficacy of topical nerve growth factor treatment in dogs affected by dry eye. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2005;243:151-5.
15. Yamada N, Yanai R, Inui M, Nishida T. Sensitizing effect of substance P on corneal epithelial migration induced by IGF-1, fibronectin, or interleukin-6. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2005;46:833-9.
16. Cellini M, Bendo E, Bravetti GO, Campos EC. The use of nerve growth factor in surgical wound healing of the cornea. *Ophthalmic Res*, 2006;38:177-81.
17. Tan MH, Bryars J, Moore J. Use of nerve growth factor to treat congenital neurotrophic corneal ulceration. *Cornea*, 2006;25:352-5.
18. Rouet V, Meddahi-Pellé A, Miao HQ, Vlodavsky I, Caruelle JP, Barritault D. Heparin-like synthetic polymers, named RGTAs, mimic biological effects of heparin *in vitro*. *J Biomed Mater Res*, 2006, 15;78:792-7.
19. Barritault D, Caruelle J.-P. Les agents de régénération (ou RGTAs) : une nouvelle approche thérapeutique. *Ann Pharm Fr*, 2006;64: 135-44.
20. Mestries P, Borchiellini C, Barbaud C, Duchesnay A, Escartin Q, Barritault D, et al. Chemically modified dextrans modulate expression of collagen phenotype by cultured smooth muscle cells in relation to the degree of carboximethyl, benzamide, and sulfatation substitutions. *J Biomed Mater Res*, 1998;42:286-94.
21. Mestries P, Alexakis C, Papy-Garcia D, Duchesnay A, Barritault D, Caruelle JP et al. Specific RGTA increases collagen V expression by cultured aortic smooth muscle cells via activation and protection of transforming growth factor-beta1. *Matrix Biol*, 2001;20:171-81.
22. Papy-Garcia D, Barbier-Chassefière V, Rouet V, Kerros ME, Klochender C, Tournaire MC, et al. Non degradative sulfation of polysaccharides. Synthesis and structure characterization of biologically active heparin sulfate mimetics. *Macromolecules*, 2005;38:4647-54.
23. Logeart-Avramoglou D, Huynh R, Chaubet F, Sedel L, Meunier A. Interaction of specifically chemically modified dextrans with trans-

- forming growth factor beta1: potentiation of its biological activity. *Biochem Pharmacol*, 2002;63:129-37.
24. Tardieu M, Gamby C, Avramoglou T, Jozefonvicz J, Barritault D. Derivatized dextrans mimic heparin as stabilizers, potentiators, and protectors of acidic or basic FGF. *J Cell Physiol*, 1992;150:194-203.
 25. Frank L, Lebreton-Decoster C, Godeau G, Coulomb B, Jozefonvicz J. Dextran derivatives modulate collagen matrix organization in dermal equivalent. *J Biomater Sci Polym Ed*. 2006;17:499-517.
 26. Alexakis C, Mestries P, Garcia S, Petit E, Barbier V, Papy-Garcia D, *et al*. Structurally different RGTA's modulate collagen-type expression by cultured aortic smooth muscle cells via different pathways involving fibroblast growth factor-2 or transforming growth factor-beta1. *FASEB J*. 2004;18:1147-9.
 27. Ledoux D, Merciris D, Barritault D, Caruelle JP. Heparin-like dextran derivatives as well as glycosaminoglycans inhibit the enzymatic activity of human cathepsin G. *FEBS*, 2003;537:23-9.
 28. Ledoux D, Papy-Garcia D, Escartin Q, Sagot MA, Cao Y, Barritault D, *et al*. Human plasmin enzymatic activity is inhibited by chemically modified dextrans. *J Biol Chem*, 2000;275:383-90.
 29. Meddahi A, Lemdjabar H, Caruelle JP, Barritault D, Hornebeck W. FGF protection and inhibition of human neutrophil elastase by carboxymethyl benzylamide sulfonate dextran derivatives. *Int J Biol Macromol*, 1996;18:141-5.
 30. Escartin Q, Lallam-Laroye C, Baroukh B, Morvan FO, Caruelle JP, Godeau G, *et al*. A new approach to treat tissue destruction in periodontitis with chemically modified dextran polymers. *FASEB J*, 2003;17:644-51.
 31. Colombier ML, Lafont J, Blanquaert F, Caruelle JP, Barritault D, Saffar JL. A single low dose of RGTA, a new healing agent, hastens wound maturation and enhances bone deposition in rat craniotomy defects. *Cells Tissues Organs*, 1999;164:131-40.
 32. Meddahi A, Brée F, Papy-Garcia D, Gautron J, Barritault D, Caruelle JP. Pharmacological studies of RGTA (11), a heparan sulfate mimetic polymer, efficient on muscle regeneration. *J Biomed Mater Res*, 2002;62:525-31.
 33. Lafont J, Baroukh B, Berdal A, Colombier ML, Barritault D, Caruelle JP, *et al*. RGTA11, a new healing agent, triggers developmental events during healing of craniotomy defects in adult rats. *Growth factors*, 1998;16:23-38.
 34. Meddahi A, Caruelle JP, Gold L, Rosso Y, Barritault D. New concepts in tissue repair: skin as an example. *Diabetes Metab*, 1996;22:274-8.
 35. Meddahi A, Alexakis C, Papy D, Caruelle JP, Barritault D. Heparin-like polymer improved healing of gastric and colic ulceration. *J Biomed Mater Res*, 2002;60:497-501.
 36. Lallam-Laroye C, Escartin Q, Zlowodski AS, Barritault D, Caruelle JP, Baroukh B *et al*. Periodontitis destructions are restored by synthetic glycosaminoglycan mimetic. *J Biomed Mater Res*, 2006;79A:675-83.
 37. Garcia-Felipe S, Barbier-Chassefière V, Alexakis C, Huet E, Ledoux D, Kerros ME *et al*. RGTA OTR4120, a heparan sulfate mimetic, is a possible long-term active agent to heal burned skin. *J Biomed Mater Res*, 2007;80A:75-84.
 38. Blanquaert F, Saffar JL, Colombier ML, Carpentier G, Barritault D, Caruelle JP. Heparan-like molecules induce the repair of skull defects. *Bone*, 1995;17:499-506.
 39. Fredj-Reygrobelle D, Hristova DL, Ettaiche M, Meddahi A, Jozefonvicz J, Barritault D. CMDBS, functional analogue of heparin sulfate as a new class of corneal ulcer healing agents. *Ophthalmic Res*, 1994;26:325-31.
 40. Morvan FO, Baroukh B, Ledoux D, Caruelle JP, Barritault D, Godeau G, *et al*. An engineered biopolymer prevents mucositis induced by 5-fluorouracil in hamsters. *Am J Pathol.*, 2004;164:739-46.