

**VETAGRO SUP
CAMPUS VETERINAIRE DE LYON**

Année 2011 - Thèse n° 67

*ETUDE DE L'EFFICACITE DU SPRAY HYDRATANT ERMIDRA®
SUR LA REPARATION DE LA FONCTION BARRIERE DE LA PEAU
DANS UN MODELE EXPERIMENTAL DE RUPTURE CHRONIQUE
DE LA BARRIERE CUTANEE*

THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)

et soutenue publiquement le 28 novembre 2011
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

Lucile, Andrée, Cécile FARDOUET

Née le 31 octobre 1986

à Mont Saint Aignan



VetAgro Sup



**VETAGRO SUP
CAMPUS VETERINAIRE DE LYON**

Année 2011 - Thèse n° 67

*ETUDE DE L'EFFICACITE DU SPRAY HYDRATANT ERMIDRA®
SUR LA REPARATION DE LA FONCTION BARRIERE DE LA PEAU
DANS UN MODELE EXPERIMENTAL DE RUPTURE CHRONIQUE
DE LA BARRIERE CUTANEE*

THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)

et soutenue publiquement le 28 novembre 2011
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

Lucile, Andrée, Cécile FARDOUET

Née le 31 octobre 1986

à Mont Saint Aignan



VetAgro Sup



Département et corps enseignant de l'ENVL

Directeur Stéphane MARTINOT

NOM	Prénom	Grade	Unité Pédagogique
ALOGNINOUBA	Théodore	Professeur 1ere cl	Pathologie du bétail
ALVES-DE-OLIVEIRA	Laurent	Maître de conférences hors cl	Gestion des élevages
ARCANGIOLI	Marie-Anne	Maître de conférences cl normale	Pathologie du bétail
ARTOIS	Marc	Professeur 1ere cl	Santé Publique et Vétérinaire
BECKER	Claire	Maître de conférences cl normale	Pathologie du bétail
BELLI	Patrick	Maître de conférences associé	Pathologie morphologique et clinique
BELLUCO	Sara	Maître de conférences cl normale	Pathologie morphologique et clinique
BENAMOU-SMITH	Agnès	Maître de conférences cl normale	Equine
BENOIT	Etienne	Professeur 1ere cl	Biologie fonctionnelle
BERNY	Philippe	Professeur 1ere cl	Biologie fonctionnelle
BONNET-GARIN	Jeanne-Marie	Professeur 2eme cl	Biologie fonctionnelle
BOULOCHER	Caroline	Maître de conférences cl normale	Anatomie Chirurgie (ACSAI)
BOURDOISEAU	Gilles	Professeur 1ere cl	Santé Publique et Vétérinaire
BOURGOIN	Gilles	Maître de conférences cl normale	Santé Publique et Vétérinaire
BRUYERE	Pierre	Maître de conférences Contractuel	Biotechnologies et pathologie de la reproduction
BUFF	Samuel	Maître de conférences cl normale	Biotechnologies et pathologie de la reproduction
BURONFOSSE	Thierry	Maître de conférences hors cl	Biologie fonctionnelle
CACHON	Thibaut	Maître de conférences Contractuel	Anatomie Chirurgie (ACSAI)
CADORE	Jean-Luc	Professeur 1ere cl	Pathologie médicale des animaux de compagnie
CALLAIT-CARDINAL	Marie-Pierre	Maître de conférences cl normale	Santé Publique et Vétérinaire
CAROZZO	Claude	Maître de conférences cl normale	Anatomie Chirurgie (ACSAI)
CHABANNE	Luc	Professeur 1ere cl	Pathologie médicale des animaux de compagnie
CHALVET-MONFRAY	Karine	Maître de conférences hors cl	Biologie fonctionnelle
COMMUN	Loic	Maître de conférences cl normale	Gestion des élevages
DELIGNETTE-MULLER	Marie-Laure	Professeur 2eme cl	Biologie fonctionnelle
DEMONT	Pierre	Professeur 2eme cl	Santé Publique et Vétérinaire
DESJARDINS PESSON	Isabelle	Maître de conférences Contractuel	Equine
DJELOUADJI	Zorée	Maître de conférences stagiaire	Santé Publique et Vétérinaire
ESCRIOU	Catherine	Maître de conférences cl normale	Pathologie médicale des animaux de compagnie
FAU	Didier	Professeur 1ere cl	Anatomie Chirurgie (ACSAI)
FOURNEL	Corinne	Professeur 1ere cl	Pathologie morphologique et clinique
FRANCK	Michel	Professeur 1ere cl	Gestion des élevages
FRIKHA	Mohamed-Ridha	Maître de conférences cl normale	Pathologie du bétail
GANGL	Monika	Maître de conférences Contractuel	Equine
GARNIER	François	Professeur 1ere cl	Biologie fonctionnelle
GENEVOIS	Jean-Pierre	Professeur cl ex	Anatomie Chirurgie (ACSAI)
GILOT-FROMONT	Emmanuelle	Professeur 2eme cl	Biologie Fonctionnelle
GONTHIER	Alain	Maître de conférences cl normale	Santé Publique et Vétérinaire
GRAIN	Françoise	Professeur 2eme cl	Gestion des élevages
GRANCHER	Denis	Maître de conférences hors cl	Gestion des élevages
GREZEL	Delphine	Maître de conférences cl normale	Santé Publique et Vétérinaire
GUERIN	Pierre	Professeur 2eme cl	Biotechnologies et pathologie de la reproduction
GUERIN-FAUBLEE	Véronique	Maître de conférences hors cl	Biologie fonctionnelle
HUGONNARD	Marine	Maître de conférences cl normale	Pathologie médicale des animaux de compagnie

NOM	Prénom	Grade	Unité Pédagogique
JUNOT	Stéphane	Maître de conférences cl normale	Anatomie Chirurgie (ACSAI)
KECK	Gérard	Professeur 1ere cl	Biologie fonctionnelle
KODJO	Angeli	Professeur 2eme cl	Santé Publique et Vétérinaire
LACHERETZ	Antoine	Professeur 1ere cl	Santé Publique et Vétérinaire
LAMBERT	Véronique	Maître de conférences cl normale	Gestion des élevages
LE-GRAND	Dominique	Maître de conférences hors cl	Pathologie du bétail
LEBLOND	Agnes	Professeur 2eme cl	Santé Publique et Vétérinaire
LEFRANC-POHL	Anne-Cécile	Maître de conférences cl normale	Biotechnologies et pathologie de la reproduction
LEPAGE	Olivier	Professeur 1ere cl	Equine
LOUZIER	Vanessa	Maître de conférences cl normale	Biologie Fonctionnelle
MARCHAL	Thierry	Maître de conférences hors cl	Pathologie morphologique et clinique
MIALET	Sylvie	Inspecteur de la santé publique vétérinaire (ISPV) faisant fonction de MC	Santé Publique et Vétérinaire
MOUNIER	Luc	Maître de conférences cl normale	Gestion des élevages
PEPIN	Michel	Professeur 1ere cl	Santé Publique et Vétérinaire
PIN	Didier	Maître de conférences cl normale	Pathologie morphologique et clinique
PONCE	Frédérique	Maître de conférences cl normale	Pathologie médicale des animaux de compagnie
PORTIER	Karine	Maître de conférences cl normale	Anatomie Chirurgie (ACSAI)
PROUILLAC	Caroline	Maître de conférences cl normale	Biologie fonctionnelle
REMY	Denise	Professeur 2eme cl	Anatomie Chirurgie (ACSAI)
ROGER	Thierry	Professeur 1ere cl	Anatomie Chirurgie (ACSAI)
SABATIER	Philippe	Professeur 2eme cl	Biologie fonctionnelle
SAWAYA	Serge	Maître de conférences cl normale	Anatomie Chirurgie (ACSAI)
SERGEANT	Delphine	Maître de conférences cl normale	Santé Publique et Vétérinaire
THIEBAULT	Jean-Jacques	Maître de conférences hors cl	Biologie fonctionnelle
VIGUIER	Eric	Professeur 1ere cl	Anatomie Chirurgie (ACSAI)
VIRIEUX-WATRELOT	Dorothée	Maître de conférences Contractuel	Pathologie morphologique et clinique
ZENNER	Lionel	Professeur 2eme cl	Santé Publique et Vétérinaire

Remerciements

A Monsieur le Professeur Jean-François NICOLAS,
De la Faculté de médecine de Lyon,

Qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de ce Jury de thèse.
Hommages respectueux.

A Monsieur le Professeur Didier PIN,
De VetAgro Sup, Campus Vétérinaire de Lyon,

Pour son encadrement, sa disponibilité sans faille et ses conseils précieux.
Avec toute ma gratitude et mes sincères remerciements.

A Monsieur le Docteur Thierry Marchal,
De VetAgro Sup, Campus Vétérinaire de Lyon,

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de participer à ce Jury de thèse.
Sincères remerciements.

A Madame le Docteur Emilie VIDEMONT,
De VetAgro Sup, Campus Vétérinaire de Lyon,

Pour m'avoir accompagnée tout au long de ce travail,
Pour son aide, sa patience et sa gentillesse,
Travailler avec toi a été un réel plaisir.

**Aux techniciennes du laboratoire d'hématologie et d'histologie et au personnel de
l'Institut Claude Bourgelat,**
Du campus vétérinaire de VetAgro Sup,

Qu'ils soient remerciés pour leur aide et leur travail,

Au laboratoire ICF,
Pour avoir financé cette étude

Table des matières

<i>Table des matières</i>	7
<i>Index des abréviations utilisées</i>	9
<i>Index des figures</i>	10
<i>Index des schémas</i>	11
<i>Index des photographies</i>	12
<i>Index des tableaux</i>	13
<i>Index des annexes</i>	14
<i>Introduction</i>	15
I. Etude bibliographique	17
A. Structure de la peau chez le chien	17
1. L'épiderme (Figure 2)	18
a) La couche basale	19
b) La couche épineuse	19
c) La couche granuleuse	20
d) La couche cornée	20
e) Le film hydro-lipidique superficiel	21
2. Le derme	21
B. La fonction de barrière cutanée	22
1. La barrière physique	22
a) Les cornéocytes	22
b) Les lipides	27
2. Le processus de desquamation	30
3. La différenciation des kératinocytes (Schéma 3)	30
4. Les acteurs de la régulation	32
a) Les cytokines	32
b) Les gradients ioniques	32
c) La 3', 5' cyclic-adenosine-monophosphate (cAMP)(ou 3'5' adénosine-monophosphate cyclique)	34
d) Le pH	34
C. Altération expérimentale de la barrière cutanée	35
1. La procédure de tape-stripping	35
2. Conséquences d'une rupture de la barrière cutanée (Schéma 5)	36
a) Données disponibles chez les espèces murine et humaine	36
b) Données disponibles chez l'espèce canine	37
D. Altération de la barrière cutanée lors de dermatoses	40
1. Le syndrome de sécheresse cutanée (Schéma 6)	40
2. Améliorer la barrière cutanée : les réhydratants cutanés	42
a) L'hydratation de la peau	42
b) Les différents types de produits hydratants	42
c) Propriétés des constituants de l'ERMIDRA® (Tableau 1)	43
E. Eléments bibliographiques concernant la mesure de la perte insensible en eau (PIE)	47
1. Définition de la perte insensible en eau et validation de cette mesure pour évaluer le statut de la barrière cutanée	47

2. Description et comparaison des différents appareils de mesure à disposition	48
3. Facteurs de variation chez le chien (Tableau 2)	50
II. Etude expérimentale	54
A. Principe et hypothèse	54
B. Matériel et méthode	54
1. Sujets	54
2. Méthode	55
a) Détermination des sites d'étude (Schémas 9 et 10).....	55
b) Rupture chronique de la barrière cutanée par tape-stripping	57
c) Application de l'ERMIDRA®	57
d) Etude histopathologique	58
e) Mesures de la PIE.....	59
f) Analyse statistique.....	59
C. Résultats	60
1. Valeurs de perte insensible en eau.....	60
a) Comparaison de l'évolution des valeurs de la perte insensible en eau entre le côté traité et le côté témoin sur les huit premières heures	60
• Etude graphique	60
• Etude statistique	62
b) Comparaison de l'évolution des valeurs de la perte insensible en eau entre le côté traité et le côté témoin sur les vingt-quatre premières heures.....	64
• Etude graphique	64
• Etude statistique	66
c) Comparaison de l'évolution des valeurs de la perte insensible en eau entre le côté traité et le côté témoin sur la totalité de la durée de l'étude.....	68
• Etude graphique	68
• Etude statistique	70
2. Examen histopathologique en coloration standard HE.....	72
a) En peau saine, avant « tape-stripping » (Photographie 3).....	72
b) Après deux semaines de « tape-stripping » et avant application de l'ERMIDRA® (Photographies 4 et 5)	72
c) Après une semaine d'applications bi-quotidiennes d'ERMIDRA® ou d'une solution isotonique de chlorure de sodium et sans « tape-stripping ».....	74
• Côté témoin (Photographies 6 et 7)	74
• Côté traité (Photographies 8 et 9)	76
D. Discussion	78
1. Détermination des sites d'étude.....	78
2. Etablissement du modèle de rupture chronique de la barrière cutanée	79
3. Mesure de la perte insensible en eau	80
a) Contrôle des facteurs de variation influençant la mesure de la perte insensible en eau	81
b) Interprétation des résultats obtenus	85
4. Examen histopathologique des biopsies cutanées	86
5. Mode d'action de l'ERMIDRA®	87
Conclusion.....	89
Annexes.....	91
Bibliographie	103

Index des abréviations utilisées

cAMP = Cyclic-adenosine-monophosphate

HE = Hémalum éosine

HMG-CoA reductase = 3-hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzyme A reductase

NMF = Natural moisturizing factor

PIE = Perte insensible en eau

sPLA2 = secretory phospholipase A2

TEWL = Transepidermal water loss

Index des figures

<i>Figure 1 : Structure de la peau, x 200, HE. Photographie : Dr Didier Pin.</i>	18
<i>Figure 2 : Structure de l'épiderme [LLOYD, 2003]</i>	21
<i>Figure 3 : Glycérol</i>	44
<i>Figure 4 : Propylène glycol</i>	44
<i>Figure 5 : Panthénol</i>	44
<i>Figure 6 : Les différents types de liposomes [DANIELS, 2011]</i>	45
<i>Figure 7 : Les cyclodextrines. a : Formule chimique ; b : Structure tridimensionnelle. [PHARMAINFO, 2011]</i>	46
<i>Figure 8 : Principes de mesure dans le cas d'un appareil à chambre fermée ; %RH = pourcentage d'humidité, [IMHOF, 2009]</i>	50
<i>Figure 9 : Evolution des valeurs de la PIE du côté traité et du côté témoin chez les 6 chiens lors des huit premières heures</i>	61
<i>Figure 10 : Evolution moyenne des valeurs de la PIE du côté traité et du côté témoin sur les huit premières heures</i>	62
<i>Figure 11 : Normal Q-Q plot, sur les huit premières heures</i>	63
<i>Figure 12 : Boxplot des différences des valeurs de la PIE du côté traité et du côté témoin sur les huit premières heures</i>	63
<i>Figure 13 : Evolution des valeurs de la PIE du côté traité et du côté témoin chez les 6 chiens lors des vingt-quatre premières heures</i>	65
<i>Figure 14 : Evolution moyenne des valeurs de la PIE du côté traité et du côté témoin sur les vingt-quatre premières heures</i>	66
<i>Figure 15 : Normal Q-Q plot, sur les vingt-quatre premières heures</i>	67
<i>Figure 16 : Boxplot des différences des valeurs de la PIE du côté traité et du côté témoin sur les vingt-quatre premières heures</i>	67
<i>Figure 17 : Evolution des valeurs de la PIE du côté traité et du côté témoin chez les 6 chiens sur toute l'étude</i>	69
<i>Figure 18 : Evolution moyenne des valeurs de la PIE du côté traité et du côté témoin sur toute la durée de l'étude</i>	70
<i>Figure 19 : Normal Q-Q plot, sur toute la durée de l'étude</i>	71
<i>Figure 20 : Boxplot des différences des valeurs de la PIE du côté traité et du côté témoin sur toute la durée de l'étude</i>	71

Index des schémas

<i>Schéma 1 : Assemblage de l'enveloppe cornée, d'après KALININ, 2002</i>	26
<i>Schéma 2 : Formation des lamelles lipidiques intercellulaires, d'après FEINGOLD 2009 et FEINGOLD 2007</i>	29
<i>Schéma 3 : Différenciation des kératinocytes</i>	31
<i>Schéma 4 : Gradient en calcium dans l'épiderme</i>	34
<i>Schéma 5 : Conséquences d'une rupture de la barrière cutanée</i>	39
<i>Schéma 6 : Syndrome de sécheresse cutanée</i>	41
<i>Schéma 7 : Appareil à chambre ouverte [d'après IMHOF, 2009]</i>	49
<i>Schéma 8 : Appareil à chambre fermée [d'après IMHOF, 2009]</i>	50
<i>Schéma 9 : Localisation des sites</i>	55
<i>Schéma 10 : Représentation schématique des sites</i>	55
<i>Schéma 11 : Planning des manipulations, avec T0 = fin de la partie « rupture chronique de la barrière cutanée », M = mesure de la PIE sur chaque site, E = Application de l'ERMIDRA® du côté traité et du placebo du côté témoin</i>	56

Index des photographies

<i>Photographie 1 : Spray ERMIDRA®.....</i>	<i>58</i>
<i>Photographie 2 : Mesure de la PIE sur un de nos sujets à l'aide duVapoMeter®</i>	<i>59</i>
<i>Photographie 3 : Peau saine, x 200, HE.....</i>	<i>72</i>
<i>Photographie 4 : Peau après deux semaines de « tape-stripping », x 100, HE.....</i>	<i>73</i>
<i>Photographie 5 : Peau après deux semaines de « tape-stripping », x 200, HE.....</i>	<i>74</i>
<i>Photographie 6 : Peau après une semaine d'applications bi-quotidiennes de soluté physiologique de chlorure de sodium et sans « tape-stripping », x 400, HE.....</i>	<i>75</i>
<i>Photographie 7 : Peau après une semaine d'applications bi-quotidiennes de soluté physiologique de chlorure de sodium et sans « tape-stripping », x 200, HE.....</i>	<i>76</i>
<i>Photographie 8 : Peau après une semaine d'applications bi-quotidiennes d'ERMIDRA® et sans « tape-stripping », x 400, HE.....</i>	<i>77</i>
<i>Photographie 9 : Peau après une semaine d'applications bi-quotidiennes d'ERMIDRA® et sans « tape-stripping », x 200, HE.....</i>	<i>78</i>

Index des tableaux

<i>Tableau 1 : Propriétés des constituants de l'ERMIDRA®.....</i>	<i>46</i>
<i>Tableau 2 : Facteurs susceptibles d'influencer une mesure de PIE réalisée avec un appareil à chambre fermée.....</i>	<i>53</i>
<i>Tableau 3 : Valeurs moyennes de la PIE à la fin de la procédure de rupture chronique de la barrière cutanée.....</i>	<i>57</i>
<i>Tableau 4 : Contrôle des facteurs intrinsèques et extrinsèques lors de la procédure de tape-stripping.....</i>	<i>80</i>

Index des annexes

<i>Annexe 1 : Données supplémentaires concernant la structure de la peau</i>	<i>91</i>
<i>Annexe 2 : Autres moyens d'améliorer la barrière cutanée</i>	<i>93</i>
<i>Annexe 3 : Champ de pulvérisation de l'ERMIDRA®.....</i>	<i>93</i>
<i>Annexe 4 : Tableaux des valeurs de la perte insensible en eau chez chacun des six sujets.....</i>	<i>94</i>
<i>Annexe 5 : Extrait de la matrice ergonomique utilisée pour effectuer les tests statistiques sur le logiciel R.....</i>	<i>100</i>
<i>Annexe 6 : Tableau détaillant les résultats de l'examen histopathologique pour chacun des six chiens.....</i>	<i>101</i>

Introduction

La peau constitue l'organe le plus étendu de l'organisme. Il s'agit d'un système dynamique au métabolisme important assurant le maintien de l'hydratation cutanée.

La peau a pour fonction première le rôle de barrière, elle agit comme une interface entre l'organisme et le milieu extérieur. Ce rôle vital permet la vie en milieu terrestre et donc plus sec. La fonction de barrière se situe au niveau de l'épiderme – et plus précisément au niveau de la couche cornée, elle est d'ailleurs classiquement désignée comme la « raison d'être » de l'épiderme. La structure particulière de la couche cornée, à savoir des cellules anucléées incrustées dans une matrice lipidique, assure une barrière efficace.

Cette surface est constamment soumise à des agressions physiques, chimiques et biologiques et toute rupture de la barrière cutanée entraîne une réponse de la part de l'organisme visant à restaurer cette fonction de barrière. Lors de dermatoses, l'intégrité de la couche cornée est compromise par des traumatismes physiques ou un défaut constitutif. La rupture est permanente et les mécanismes de réparation ne suffisent plus à assurer une normalisation de la barrière. Un traitement est, alors, nécessaire. Le fait que la peau ne soit pas totalement imperméable aux substances appliquées permet d'envisager un traitement topique.

Chez l'Homme, les réhydratants cutanés font partie intégrante de la thérapeutique en dermatologie et entraînent une amélioration clinique. Probablement parce que leur apparition, sur le marché des médicaments destinés à nos animaux de compagnie, est récente, l'utilisation d'un réhydratant en dermatologie n'est pas encore un réflexe pour tous les vétérinaires. En médecine vétérinaire, l'utilisation des réhydratants cutanés reste la plupart du temps empirique et basée sur la transposition des études réalisées chez l'Homme ou la souris.

L'objectif de l'étude présentée ici est d'évaluer l'efficacité de l'ERMIDRA®, hydratant cutané récemment commercialisé, dans un modèle de rupture chronique de la barrière cutanée chez le chien, c'est-à-dire dans des conditions se rapprochant le plus possible de celles rencontrées lors de dermatoses.

Dans un premier temps, après un bref rappel concernant la structure de la peau, nous effectuerons un bilan des connaissances sur la barrière cutanée et les conséquences d'une rupture de cette dernière ainsi que sur les réhydratants cutanés.

Dans un second temps, nous présenterons puis discuterons les résultats de cette étude expérimentale visant à évaluer l'effet de l'ERMIDRA® sur la réparation de la fonction barrière de la peau suite à une rupture chronique de cette dernière. L'étude de la restauration épidermique se fera par le suivi de la perte insensible en eau corroborée par l'examen histopathologique de biopsies cutanées des zones étudiées.

I. Etude bibliographique

A. Structure de la peau chez le chien

La peau est formée de 4 couches : l'épiderme, le derme, l'hypoderme et le peaucier. Cette structure assure de nombreuses fonctions très importantes pour l'organisme [SCOTT, 2001].

Parmi celles-ci, le rôle de **barrière** entre le milieu extérieur et le milieu intérieur est capital. La peau permet le maintien d'un milieu clos, limitant ainsi la perte d'eau, d'électrolytes et de macromolécules de l'intérieur vers l'extérieur. Elle procure aussi une protection contre les agressions extérieures (agents chimiques, physiques, infectieux).

Il s'agit d'un organe **immunitaire** à part entière, via les kératinocytes, les cellules de Langerhans et les lymphocytes.

C'est également un organe **sensitif** majeur (nociception, proprioception, sensibilités tactile et thermique).

La peau produit les **annexes** cornées : poils, griffes.

La **régulation de la température interne** se fait par le biais du pelage et de la circulation sanguine superficielle.

La peau constitue, en outre, un organe de **stockage**, en servant de réservoir d'électrolytes, d'eau, de vitamines, de graisses, de protéines.

La peau présente encore de nombreuses autres fonctions : sécrétion et excrétion de certaines molécules, pigmentation, métabolisme d'hormones (vitamine D, hormones sexuelles).

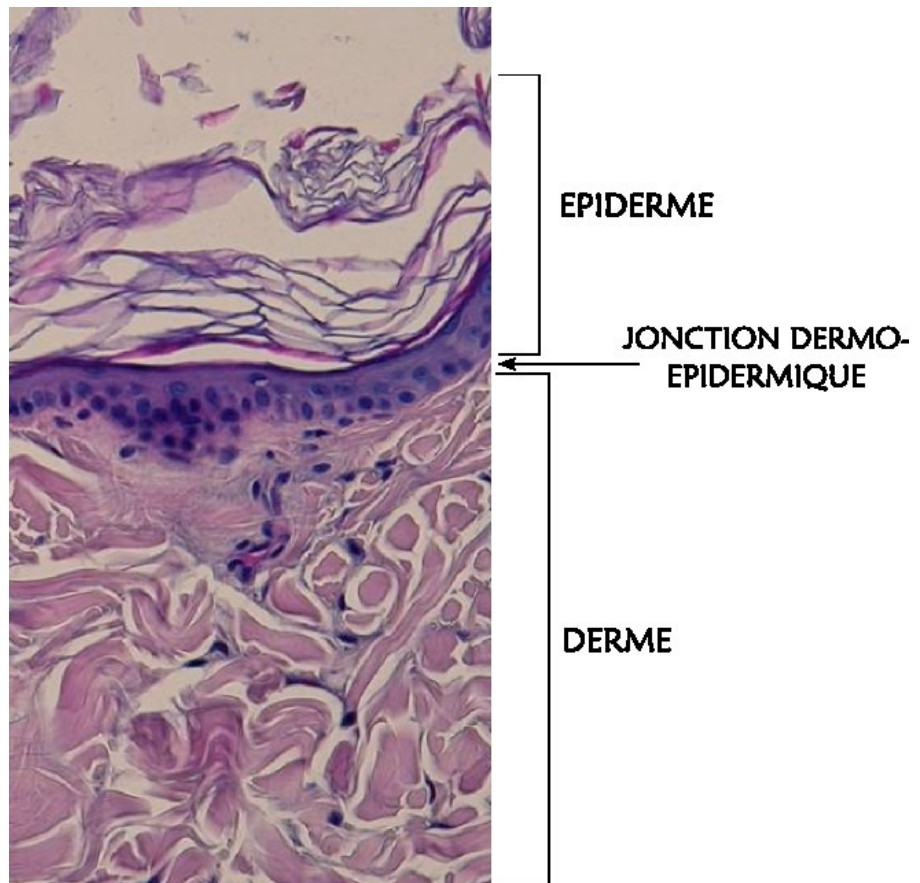


Figure 1 : Structure de la peau, x 200, HE. Photographie : Dr Didier Pin.

1. L'épiderme (Figure 2)

Couche la plus superficielle de la peau, l'épiderme est formé d'un épithélium malpighien kératinisé pluristratifié. Il se renouvelle en permanence, durant toute la vie de l'animal. Chez le chien, il mesure entre 0,1 et 0,5 mm. Différents types de cellules composent cet épithélium : les **kératinocytes** (85%), les mélanocytes (5%), les cellules de Langerhans (3-8%) et les cellules de Merkel (2%) [SCOTT, 2001]. Il est mince sur l'ensemble du corps des mammifères domestiques, excepté au niveau de la truffe et des coussinets chez les carnivores. Les kératines sont des composants majeurs de l'épiderme et participent au réseau de tension qui assure sa cohésion.

L'épiderme est lui-même composé de 4 couches cellulaires :

- La couche basale
- La couche épineuse
- La couche granuleuse
- La couche cornée, située en surface, et qui s'exfolie en permanence.

La couche cornée est constituée de 45 à 52 strates cellulaires. Son épaisseur est variable, de 5 à 1500 μm selon le site anatomique. Au niveau des flancs, elle mesure environ 13,3 μm [SCOTT, 2001]. Les trois autres couches ne comprennent que 3 à 4 strates cellulaires et mesurent de 8 à 12 μm [LLOYD, 2003].

L'équilibre entre la multiplication des cellules de la couche basale et l'exfoliation des cellules de la couche cornée confère à l'épiderme une épaisseur constante [MACHADO, 2010].

a) La couche basale

Il s'agit de la couche la plus profonde de l'épiderme, c'est la seule qui se multiplie en conditions normales. Elle repose sur la jonction dermo-épidermique.

Cette couche est composée d'une seule strate de cellules cuboïdales à cylindriques, majoritairement des **kératinocytes** en phase de multiplication. Ces kératinocytes ont un noyau volumineux entouré de fins filaments de kératine qui s'insèrent sur les desmosomes et les hémidesmosomes. Ils donneront les cellules épidermiques différenciées des couches supérieures lors du processus dit de **kératinisation**.

Le second type de cellules que l'on trouve dans la couche basale est le **mélanocyte**. Ils élaborent les pigments naturels de la peau, les mélanines, au sein d'organites spécialisés, les mélanosomes. Dans la couche basale, on compte environ 1 mélanocyte pour 10 à 20 kératinocytes. Les mélanocytes possèdent des processus dendritiques qui permettent le transfert des mélanosomes des mélanocytes vers les kératinocytes. Le terme d'unité de mélanisation épidermique désigne cette symbiose structurelle et fonctionnelle qui existe entre les deux types de cellules.

Sont présentes également dans la couche basale les **cellules de Merkel**. Ce sont des mécanorécepteurs à adaptation lente appartenant au système neuro-endocrinien diffus.

b) La couche épineuse

La couche épineuse se trouve au-dessus de la couche basale. Les cellules qui la composent sont issues des kératinocytes en multiplication de la couche basale. La couche épineuse comporte plusieurs assises d'**acanthocytes**. Elle doit son qualificatif d'épineuse à la présence de nombreux desmosomes proéminents visibles à l'examen microscopique. La cohésion intercellulaire est possible grâce à quatre systèmes principaux d'adhésion et de communication :

- Les desmosomes ;
- Les zones d'adhérence localisées, composées de cadhérines ;
- Les jonctions gap ;
- Les jonctions serrées.

Dispersées parmi les acanthocytes, on trouve des **cellules de Langerhans**. Il s'agit de cellules dendritiques présentatrices d'antigènes qui ont une origine non pas épidermique mais hématopoïétique.

c) *La couche granuleuse*

Dans les zones velues, la couche granuleuse est représentée par 1 à 2 assises cellulaires. Les kératinocytes de la couche granuleuse sont aplatis parallèlement à la surface et leur noyau apparaît rétracté. Ils deviennent des cornéocytes via leur mort programmée au cours de laquelle on assiste à la perte du noyau et du contenu cellulaire excepté des filaments de kératine.

Deux types « d'organites » apparaissent dans la couche granuleuse : les **grains de kératohyaline**, chargés de protéines, et les **corps lamellaires**, contenant principalement des lipides [WICKETT, 2006]. Leur rôle, primordial dans la mise en place d'une barrière cutanée efficace, sera vu plus tard dans l'étude bibliographique.

d) *La couche cornée*

Il s'agit de la couche la plus superficielle, entièrement kératinisée et en constante desquamation [KASUMASA, 2003]. La couche cornée ne contient que 15% d'eau. Elle est formée de plusieurs couches de **cornéocytes** qui sont issus des kératinocytes de la couche granuleuse. Les volumes cellulaires des kératinocytes et des cornéocytes sont sensiblement les mêmes mais la densité intracellulaire augmente avec la différenciation [MARKS, 2004]. C'est l'assise de l'épiderme qui contient le plus de strates. L'organisation de la couche cornée peut être comparée à des briques (les cornéocytes) entourées de ciment (les lipides extracellulaires) [KASUMASA, 2003].

On distingue schématiquement le *stratum compactum*, partie située juste au-dessus de la couche granuleuse et où les cellules sont encore jointives, et le *stratum disjunctum*, partie qui desquame. Les cellules qui desquament participent peu à la fonction de barrière cutanée ; cette

dernière est assurée principalement par le *stratum compactum* et la jonction entre la couche cornée et la couche granuleuse.

e) Le film hydro-lipidique superficiel

Il est formé à partir du produit de sécrétion des glandes sébacées et sudoripares ainsi que des débris cellulaires et des lipides contenus entre les cornéocytes. Il abrite la flore commensale, possède une action antibactérienne et antifongique et participe à l'imperméabilisation du pelage.

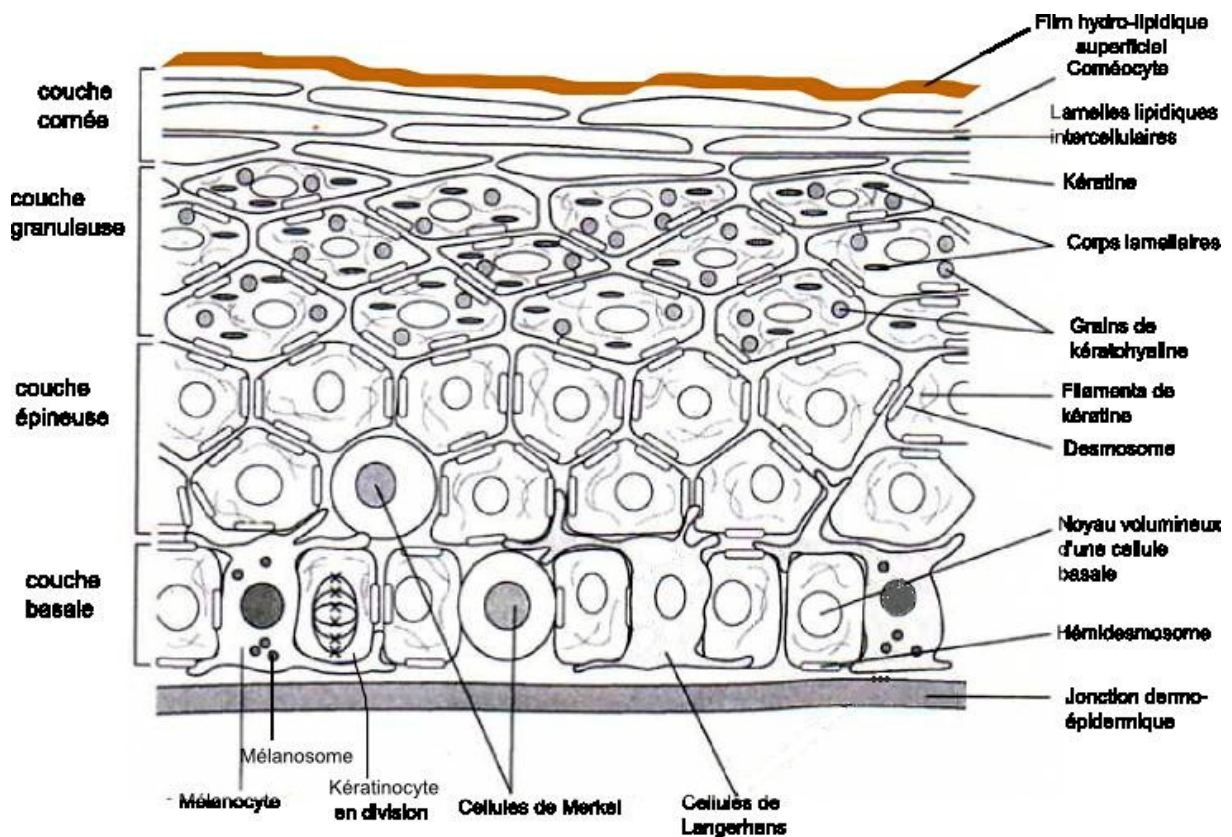


Figure 2 : Structure de l'épiderme [LLOYD, 2003]

2. Le derme

Situé sous la couche basale de l'épiderme, le derme a pour origine le mésoderme. Sa cohésion avec l'épiderme est assurée par la jonction dermo-épidermique [SCOTT, 2001].

Le derme participe à la régulation de la croissance des cellules épidermiques ainsi qu'à leur prolifération, leur adhésion, leur migration et leur différenciation. Il est composé :

- d'éléments cellulaires : fibroblastes, cellules dendritiques, histiocytes et mastocytes

- de fibres de collagène et de fibres d'élastine
- d'une matrice non fibreuse.

Pour plus de détails concernant la structure de la peau, se reporter à l'annexe 1.

B. La fonction de barrière cutanée

La peau constitue à la fois une barrière physique, chimique et immunologique. La barrière physique est surtout assurée par la jonction entre la couche granuleuse et le *stratum compactum*. Elle mesure au maximum 3 µm. Les jonctions serrées entre les cellules nucléées de l'épiderme participent, dans une moindre mesure, à la fonction de barrière cutanée. La barrière chimique et biochimique comprend les lipides, les acides, les hydrolases, les peptides antimicrobiens et les macrophages. La barrière immunologique est constituée d'éléments cellulaires et humoraux.

1. La barrière physique

La couche cornée a pour fonction de réguler la perte insensible en eau (PIE) et d'empêcher la pénétration percutanée de substances exogènes [MADISON, 2003]. Il s'agit d'une structure solide formée de cornéocytes reliés entre eux par des cornéodesmosomes et d'espaces intercellulaires enrichis en lipides.

a) Les cornéocytes

Ce sont des cellules riches en protéines. A la fin du processus de différenciation, elles se présentent sous la forme de cellules plates, anucléées et chargées en filaments de kératine [PROKSCH, 2008]. Les filaments de kératine partent d'un anneau périnucléaire, s'étendent à travers tout le cytoplasme pour finir au niveau des cornéodesmosomes [EKANAYAKE-MUDIYANSELAGE, 1998]. Au final, les cornéocytes sont « une lentille de kératine » ; on parle de vitrification de la cellule.

Les **cornéodesmosomes**, structures macromoléculaires complexes, lient les cornéocytes entre eux. Ils sont constitués de glycoprotéines transmembranaires appartenant à la famille des cadhérines, telles que la desmoglérine 1, la desmocolline 1, auxquelles s'ajoute la cornéodesmosine. La desmoglérine 1 et la desmocolline 1 relient deux cornéocytes adjacents

et passent donc à travers l'espace intercellulaire. Leur partie intracellulaire est liée aux filaments de kératine via des protéines réunies au sein de plaques cornéodesmosomales (plakoglobine, desmoplakine, plakophiline). La cornéodesmosine est associée aux protéines desmosomales lors de la transformation du desmosome en cornéodesmosome [RAWLINGS, 2008 ; RAWLINGS, 2005].

Les cornéocytes sont « encapsulés » dans une structure hautement spécialisée appelée **l'enveloppe cornée**, composée de nombreux protéines (90%) et lipides [KALININ, 2002]. L'enveloppe cornée est une structure insoluble et extrêmement stable. Elle est constituée en face interne d'une couche protéique d'environ 10 nm [MADISON, 2003 ; KALININ, 2002] et en face externe d'une couche lipidique d'environ 5 nm d'épaisseur [KALININ, 2002]. L'intérieur de l'enveloppe protéique est lié aux filaments de kératine qui remplissent le compartiment intracellulaire des cornéocytes [EKANAYAKE-MUDIYANSELAGE, 1998]. A l'extérieur, elle est liée par liaisons covalentes à l'enveloppe lipidique, représentée notamment par des céramides particuliers [KALININ, 2002].

L'enveloppe protéique périphérique est composée, entre autres, d'involucrine et de loricrine [KASUMASA, 2003]. L'involucrine est exprimée précocement lors du processus de différenciation des kératinocytes, alors que la loricrine est exprimée plus tardivement [EKANAYAKE-MUDIYANSELAGE, 1998]. On sait que la **loricrine** est synthétisée dans la couche granuleuse, en association avec les grains de kératohyaline [SCOTT, 2001]. L'**involucrine** est le principal support pour l'attache des céramides [KALININ, 2002]. Les souris déficientes en loricrine et involucrine présentent une enveloppe protéique d'aspect normal, malgré l'importance que ces protéines semblent avoir. Ceci suggère que d'autres protéines d'enveloppe sont capables de remplir leur rôle [MADISON, 2003 ; KALININ, 2002].

Les **transglutaminases** sont indispensables à l'élaboration de l'enveloppe cornée. Ce sont des enzymes permettant la liaison des protéines de l'enveloppe protéique entre elles. Leur activité est régulée par le calcium.

L'assemblage de l'enveloppe cornée est un processus complexe (Schéma 1) qui peut schématiquement se décomposer en trois étapes [KALININ, 2002] :

- La première étape est sous le contrôle de la concentration intracellulaire en calcium. On assiste à l'expression d'envoplakine et de périplakine, qui se lient respectivement aux filaments intermédiaires, à proximité de leur attache sur la plaque desmosomale, et aux protéines desmosomales. Surviennent ensuite l'expression et l'association à la membrane

plasmique d'involucrine. Les molécules d'involucrine se lient entre elles et à celles d'envoplakine. Ces événements se produiraient en premier au niveau des sites interdesmosomaux. A la fin de cette première étape, on a un tapissage complet de la face interne de la membrane cytoplasmique des kératinocytes par des protéines. La fixation de l'ensemble de ces protéines est médiée par les transglutaminases.

- La seconde étape débute par l'extrusion des corps lamellaires. Des ω -hydroxycéramides à longue chaîne constituent très certainement les membranes qui limitent ces granules lamellaires ; quand ils sont libérés lors de l'extrusion des corps lamellaires, ils sont liés aux protéines citées plus haut grâce aux transglutaminases 1. Les autres lipides contenus dans les granules lamellaires s'organisent en lamelles intercellulaires.

- La dernière étape permet le « renforcement » de l'enveloppe cornée. La transglutaminase 3 lie les particules de lorincrine avec les SPRs (Small Proline-Rich proteins). Ces complexes nouvellement formés sont ensuite liés au tapissage protéique évoqué précédemment.

Les précurseurs de l'enveloppe cornée des cornéocytes, tels que la lorincrine, l'involucrine, la cystatine A, se trouvent dans les **grains de kératohyaline**, situés dans le cytoplasme des kératinocytes de la couche granuleuse. On considère ces éléments plus comme des agrégats insolubles que des organites. La **profilaggrine** est le constituant principal des grains de kératohyaline. Elle est fortement phosphorylée et insoluble. Ce précurseur de 400 kDa est déphosphorylé et clivé en monomères de filaggrine d'environ 37 kDa par des sérines protéases lors de la transition de la couche granuleuse à la couche cornée. La profilaggrine ne peut pas condenser les filaments de kératine. L'expression de la profilaggrine et son clivage sont finement régulés par des mécanismes complexes. On sait que, suite à sa synthèse, la profilaggrine est phosphorylée, ce qui évite une association trop précoce avec les kératines et ainsi une compaction prématurée du cytoplasme des kératinocytes. Le clivage d'une profilaggrine donne entre 10 et 12 monomères de filaggrine. Le domaine N-terminal de la profilaggrine peut se diviser en deux : le domaine A, bien conservé quelle que soit l'espèce et présentant deux sites de fixation du calcium, et le domaine B. Le calcium serait un élément clé de la régulation des transformations de la profilaggrine au cours de la différenciation des kératinocytes [SANDILANDS, 2009].

La **filaggrine** ne peut pas se lier au calcium, contrairement à son précurseur. Elle interagit avec les filaments intermédiaires, en particulier les kératines, mais pas avec les autres éléments du cytosquelette tels que les microtubules ou les filaments d'actine. Elle permet

l'agrégation des filaments intermédiaires en macrofibrilles [SANDILANDS, 2009]. La filaggrine et la kératine constituent à elles deux 80 à 90% de la masse protéique de l'épiderme des mammifères [PROKSCH, 2008]. La filaggrine est aussi source d'acides aminés permettant le maintien de l'hydratation cutanée. En effet, la filaggrine est protéolysée en acides aminés polaires libres, en acide urocanique (UCA) et en acide pyrrolidone carboxylique (PCA) qui constituent les « **facteurs hydratants naturels** » (NMF = Natural Moisturizing Factor en anglais) de la couche cornée en surface. L'humidité de l'air ambiant et tout changement dans la teneur en eau de la couche cornée semblent avoir une influence sur la dégradation de la filaggrine en NMF [SANDILANDS, 2009]. Le rôle de la filaggrine est donc double : elle permet l'agrégation des kératines lors du stade terminal de différenciation des kératinocytes et sa dégradation produit les éléments regroupés sous le nom de NMF, indispensable au maintien d'une hydratation suffisante de la couche cornée [SANDILANDS, 2009]. Chez l'Homme, une mutation du gène codant pour la profilaggrine peut entraîner des troubles dermatologiques graves, tels que l'ichtyose vulgaire ou la dermatite atopique [McGRATH, 2007 ; PIEKUTOWSKA, 2008 ; POPA, 2011b].

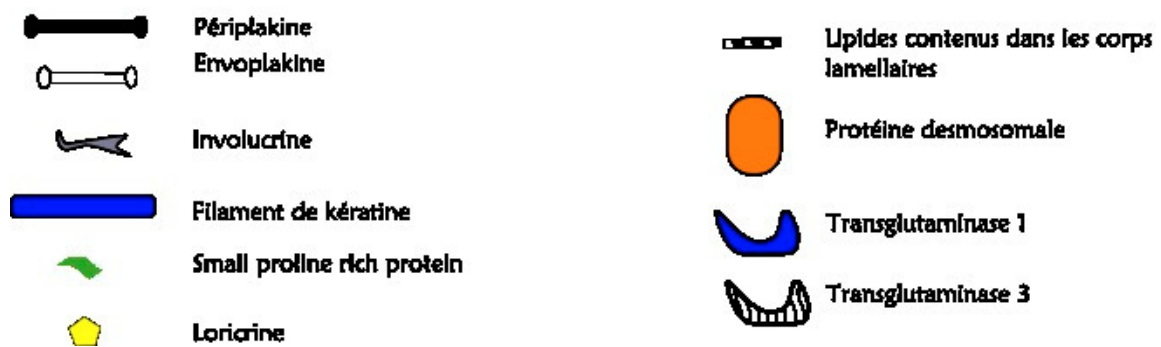
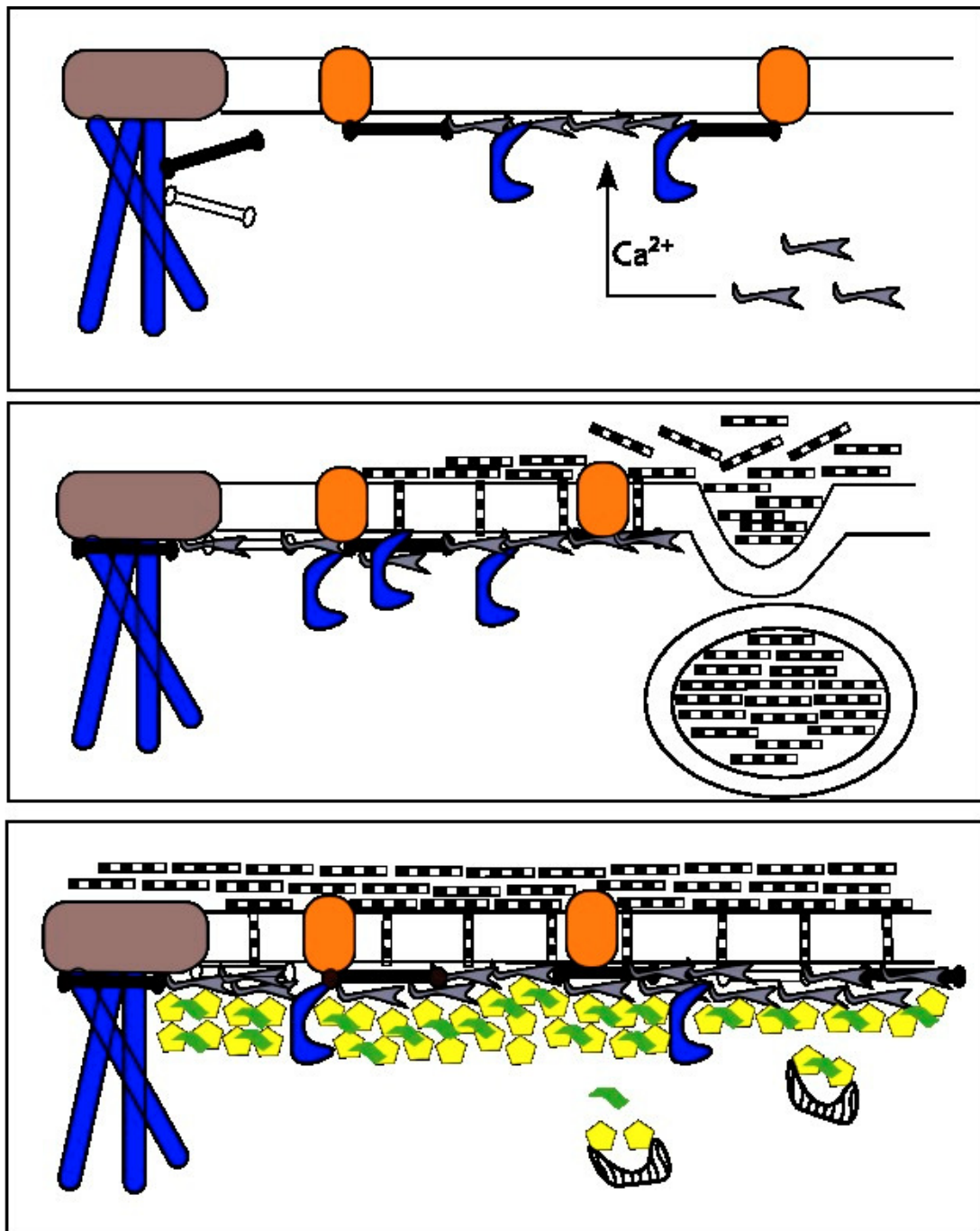


Schéma 1 : Assemblage de l'enveloppe cornée, d'après KALININ, 2002

b) Les lipides

La majorité des données sur le métabolisme lipidique cutané concerne les espèces murine et humaine. Il est maintenant confirmé que la composition et l'organisation des lipides dans le *stratum corneum* sont semblables chez l'Homme et dans l'espèce canine [PIEKUTOWSKA, 2008 ; POPA, 2010 ; POPA, 2011a ; POPA, 2011b].

Les cornéocytes sont incrustés dans une matrice lipidique extra-cellulaire, enrichie en lipides non polaires et organisée en couches lamellaires [MENON, 1992] ; cette structure est très hydrophobe. Ce gel hautement organisé est peu fluide et peu perméable. Les lipides représentent environ 10% du poids de la couche cornée. Leur capacité à remplir le rôle de barrière cutanée peut être attribuée à leur caractère hautement hydrophobe, à leur localisation en position extracellulaire et à leur organisation en couches [GRUBAUER, 1989].

Les lipides de la couche cornée sont synthétisés par les kératinocytes puis exportés en région extra-cellulaire. Ils proviennent des **corps lamellaires**, vésicules issues de l'appareil de Golgi. Les corps lamellaires apparaissent dans les parties supérieures de la couche épineuse [MENON, 1992]. Ils sont bien développés et très nombreux dans la couche granuleuse [FEINGOLD, 2009] et contiennent des lipides polaires tels que des phospholipides, des glucosylcéramides et du cholestérol [MADISON, 2003]. Ces derniers sont les précurseurs des lipides non polaires retrouvés en position extra-cellulaire dans la couche cornée [FEINGOLD, 2007 ; FEINGOLD, 2009]. Les corps lamellaires déversent leur contenu, constitué notamment de ces lipides, d'hydrolases telles que la β -glucocérébrosidase, la sphingomyélinase, la sPLA2 (secretory phospholipase A2) et de lipases [FEINGOLD, 2009], dans le milieu extra-cellulaire par exocytose (Schéma 2). Les enzymes sécrétées avec les lipides précurseurs servent à obtenir la forme définitive des lipides présents en position extracellulaire [HOLLERAN, 1993]. La β -glucocérébrosidase convertit les glucosylcéramides en céramides, la sphingomyélinase convertit la sphingomyéline en céramides et les phospholipases clivent les phospholipides pour donner des acides gras libres et du glycérol [FEINGOLD, 2007 ; FEINGOLD, 2009]. Le pH optimum pour l'activité de ces enzymes se situe autour de 5, d'où l'importance de l'acidification de la couche cornée. Des protéases (SC tryptic enzyme et SC chymotryptic enzyme) qui jouent un rôle dans la rupture des desmosomes, et par conséquent qui contribuent à la desquamation de la couche cornée, pourraient être également libérées par les corps lamellaires [MADISON, 2003].

Les lipides présents en quantités les plus importantes dans le milieu extracellulaire de la couche cornée sont les céramides (45-50%), le cholestérol (25%) et les acides gras libres (10-15%) [MADISON, 2003 ; FEINGOLD 2007].

La couche cornée compte onze types de **céramides**. Certains sont attachés, par liaison covalente, à l'enveloppe protéique et sont des éléments sur lesquels peuvent s'accrocher les céramides libres, les acides gras libres et le cholestérol [PROKSCH, 2008]. Le profil des céramides est anormal chez les humains souffrant de dermatite atopique. Il est établi que, de même, chez les chiens atopiques, l'observation d'une barrière cutanée anormale soit en partie due à un défaut en céramides [SHIMADA, 2009 ; PIEKUTOWSKA, 2008 ; POPA, 2011a ; POPA, 2011b].

La couche cornée contient également des **acides gras** libres et des acides gras liés aux triglycérides, aux phospholipides, aux glycosphingolipides et aux céramides. La longueur des chaînes des acides gras libres varie de C12 à C24. Les acides gras libres saturés et monoinsaturés sont synthétisés dans l'épiderme notamment grâce à l'acétyl-CoA-carboxylase ; les autres sont apportés par l'alimentation. Ils jouent un rôle important dans l'acidification de la couche cornée, essentielle pour la régulation de l'activité de nombreuses enzymes [FEINGOLD, 2007]. Chez l'homme, comme chez le chien, une déficience en acides gras essentiels est associée à un syndrome de sécheresse cutanée et une barrière cutanée moins efficace.

La plupart du **cholestérol** présent dans l'épiderme est synthétisé *in situ* [FEINGOLD, 2007 ; PROKSCH, 2008]. Le cholestérol peut apporter de la fluidité mais peu aussi rendre la structure plus rigide [MADISON, 2003 ; DARLENSKI, 2009]. Sa concentration est régulée par ABCA12 (ATP-binding cassette sous groupe 1 member 12 transporter). La synthèse du cholestérol est augmentée lors du processus de réparation de la barrière cutanée [PROKSCH, 2008 ; FEINGOLD, 2009].

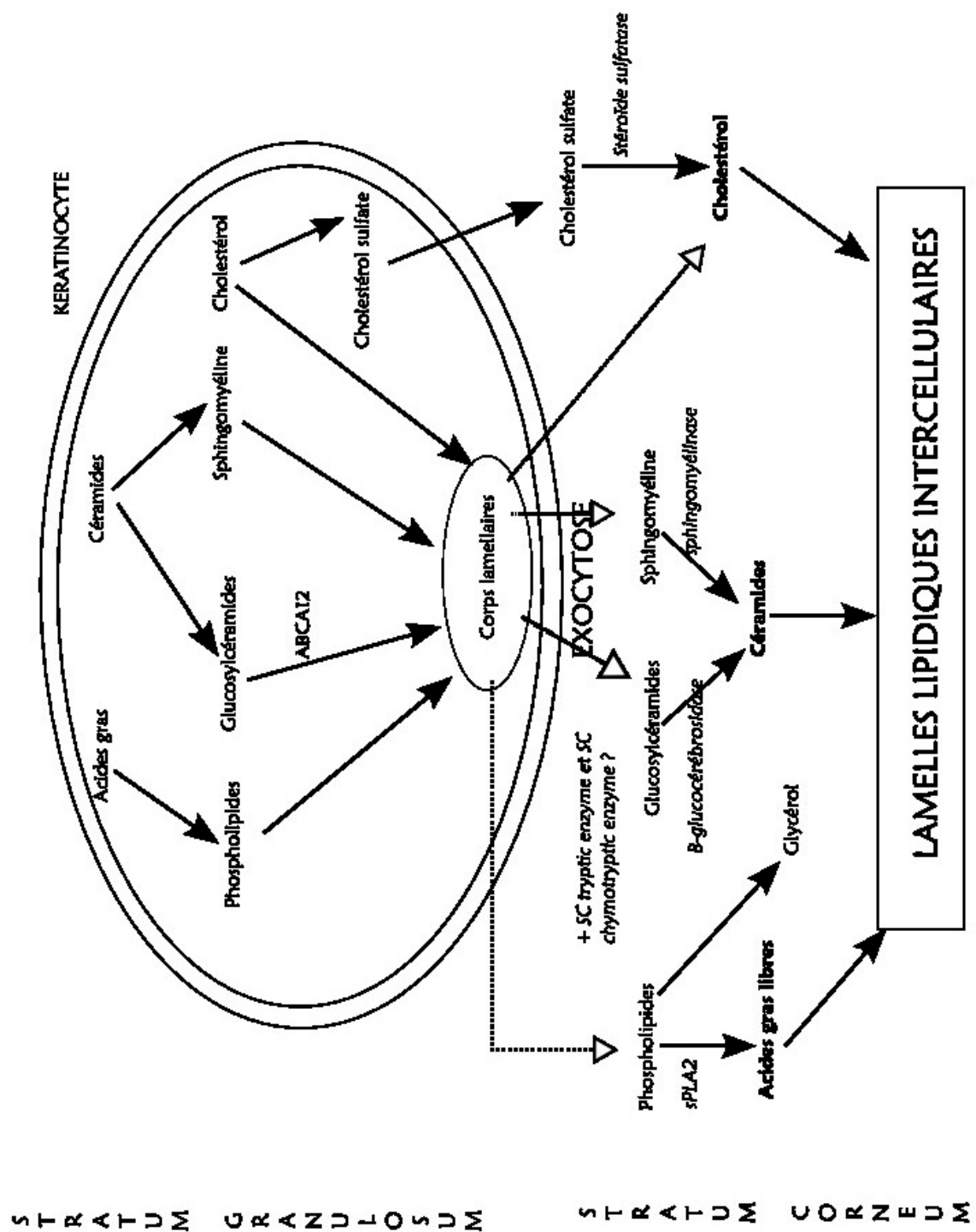


Schéma 2 : Formation des lamelles lipidiques intercellulaires, d'après FEINGOLD 2009 et FEINGOLD 2007

2. Le processus de desquamation

La desquamation implique la dégradation des cornéodesmosomes. L'exfoliation des cornéocytes à la surface est facilitée par l'action d'enzymes spécifiques qui dégradent les composants des cornéodesmosomes. Les précurseurs de ces enzymes seraient présents dans l'espace intercellulaire de la couche cornée. Leur activité est modulée, entre autres, par le pH et la teneur en eau de la couche cornée. La desquamation nécessite une chute de la concentration intracellulaire en calcium lors du passage de la couche granuleuse à la couche cornée [MENON, 1985] et peut être inhibée par la présence de calcium [RAWLINGS, 2005]. Elle débute par l'action progressive des sérines protéases dans la partie basse de la couche cornée [FEINGOLD, 2009]. L'action d'enzymes intracellulaires et extracellulaires, dont principalement la kallikréine, est primordiale pour ce processus. Ces enzymes dégradent les cornéodesmosomes [RAWLINGS, 2008].

Leur action est influencée par les propriétés physiques des lipides intercellulaires, l'activité de l'eau et le pH, lui-même influencé par le NMF [RAWLINGS, 2008]. Par exemple, un taux suffisamment bas de cholestérol sulfate augmente l'activité des sérines protéases et donc la dégradation des cornéodesmosomes [FEINGOLD, 2007 ; FEINGOLD, 2009]. Au contraire, une teneur en eau peu élevée dans la couche cornée ralentit la dégradation de la desmogléine 1, de la desmocolline 1 et de la cornéodesmosine [FLUHR, 2008].

3. La différenciation des kératinocytes (Schéma 3)

La différenciation débute quand le kératinocyte quitte la couche basale. De nombreux changements dans la structure et la composition de la cellule ont alors lieu. L'expression des kératines varie selon la localisation de la cellule dans l'épiderme : les kératines K1 et K10/K11 sont exprimées en position suprabasale alors que les kératines K5 et K14 sont exprimées en position basale. Le cornéocyte correspond à l'ultime stade de différenciation du kératinocyte.

On distingue classiquement quatre événements majeurs dans la différenciation des kératinocytes [SCOTT, 2001]:

- la synthèse des principaux composants du cytosquelette, à savoir les kératines
- la synthèse de la profilaggrine et la formation des grains de kératohyaline
- la formation de l'enveloppe cornée
- l'exocytose des corps lamellaires et la formation des lamelles lipidiques extracellulaires.

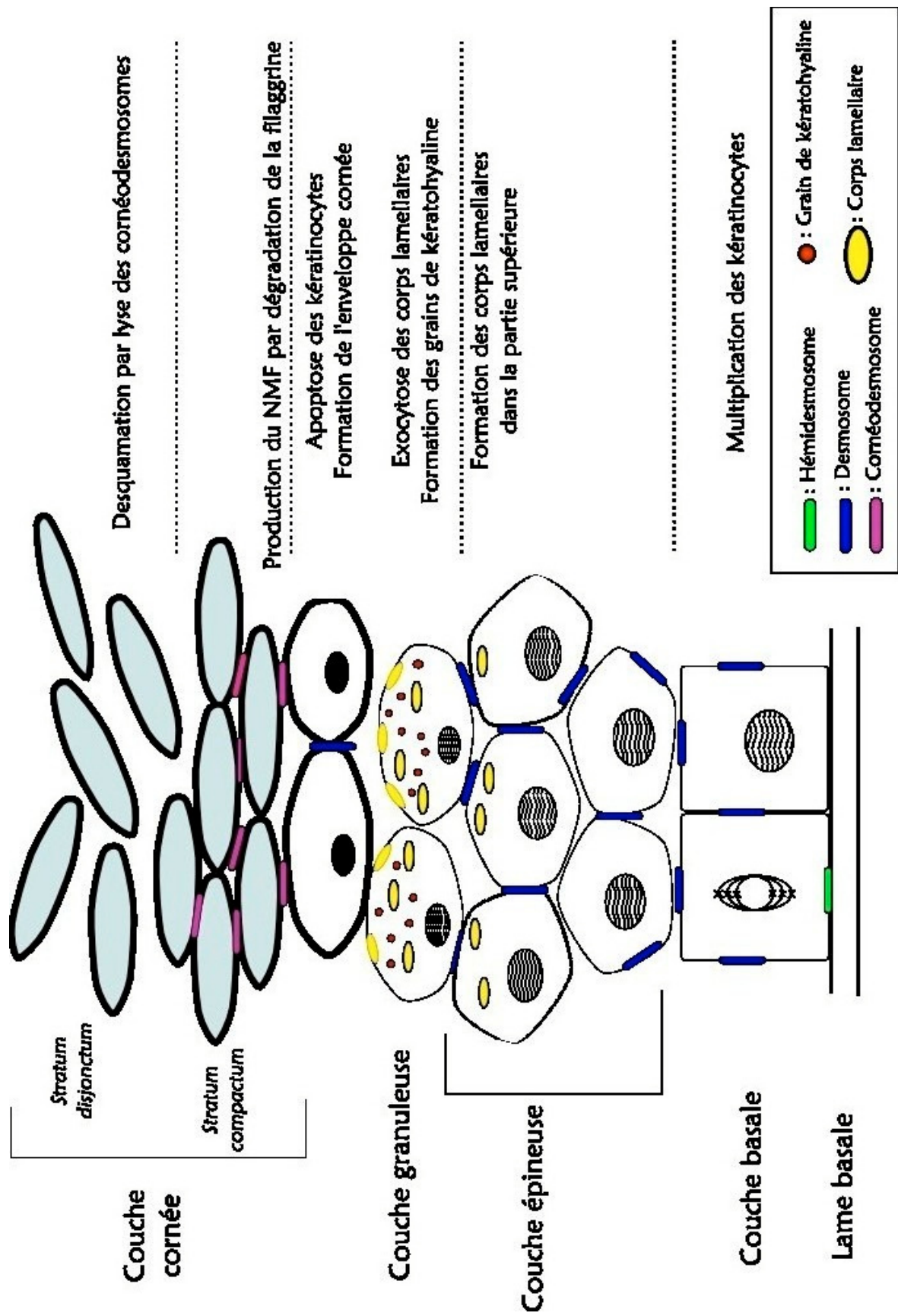


Schéma 3 : Différenciation des kératinocytes

4. Les acteurs de la régulation

La régulation de la formation et du maintien de la barrière implique des cytokines, la 3', 5' cyclique-adénosine-monophosphate, certains gradients ioniques et le pH.

a) Les cytokines

Les cytokines stimulent la synthèse de lipides et la prolifération des kératinocytes. Leurs taux augmentent après une rupture de la barrière cutanée, ce qui semble être crucial pour une réparation efficace [PROKSCH, 2008 ; FEINGOLD, 2007]. Toutefois, une augmentation chronique des cytokines peut conduire à une inflammation et à une prolifération de l'épiderme [PROKSCH, 2008].

b) Les gradients ioniques

L'existence d'un gradient en calcium dans l'épiderme a été démontrée (Schéma 4) : la concentration extracellulaire en calcium est faible au niveau de la couche basale et de la couche épineuse, elle augmente progressivement jusqu'à atteindre son maximum dans la partie supérieure de la couche granuleuse, et plus précisément à la jonction couche granuleuse/couche cornée, puis diminue dans la couche cornée [PROKSCH, 2008 ; HARRIS, 1997 ; MENON, 1993 ; TU, 2004 ; DENDA, 2000 ; MENON, 1985]. La concentration intracellulaire en calcium est élevée au niveau de la couche basale et de la partie supérieure de la couche granuleuse ; elle reste faible au niveau des autres couches de l'épiderme [MENON, 1985]. Le magnésium présente le même gradient que le calcium, alors que le potassium suit une répartition inverse, sa concentration extracellulaire étant plus élevée au niveau de la couche épineuse et plus basse au niveau de la couche granuleuse [DENDA, 2000]. Lors d'une rupture de la barrière cutanée, l'afflux d'eau et l'élimination d'une partie de la couche cornée font disparaître le gradient en calcium [PROKSCH, 2008 ; FEINGOLD, 2007 ; DENDA, 2000] ainsi que les gradients en magnésium et potassium dans les trente minutes suivant la procédure de tape-stripping [DENDA, 2000].

Plusieurs études ont été réalisées afin de définir le rôle de ces gradients ioniques dans l'épiderme. Le rôle du magnésium reste à ce jour encore mal défini ; des données plus précises sont disponibles en ce qui concerne le potassium et surtout le calcium, d'une importance majeure dans l'homéostasie cutanée. Si, après une rupture de la barrière cutanée, le gradient en calcium ou en potassium est préservé par application d'une solution contenant du calcium ou du potassium, l'excrétion des corps lamellaires préformés est inhibée [LEE,

1994] et la synthèse lipidique est retardée notamment à cause de l'inhibition de la HMG-CoA réductase, enzyme impliquée dans la synthèse du cholestérol [HARRIS, 1997] ; par conséquent la restauration de la barrière cutanée ne peut avoir lieu correctement [LEE, 1994 ; DENDA, 2009]. On observe un effet cumulatif lors de l'application d'une solution contenant à la fois du calcium et du potassium [LEE, 1994].

Le calcium régule la prolifération et la différenciation des kératinocytes. La faible concentration extracellulaire en calcium dans la couche basale et la couche épineuse favoriserait la prolifération cellulaire. L'influx de calcium dans les cellules de la partie supérieure de la couche granuleuse constitue un signal favorisant la différenciation des kératinocytes en cornéocytes [MENON, 1985]. En effet, la concentration élevée en calcium dans le milieu extracellulaire de la couche granuleuse augmente la concentration en calcium libre dans le milieu intracellulaire et active des gènes liés à la différenciation [TU, 2004]. De plus, le calcium joue un rôle dans la synthèse protéique de l'épiderme et dans l'adhésion des cellules entre elles. L'assemblage de l'enveloppe cornée serait déclenché par l'augmentation de la concentration intracellulaire en calcium dans les dernières strates de la couche granuleuse, augmentation qui survient en même temps que l'apparition des signaux initiant le stade terminal de la différenciation des kératinocytes [KALININ, 2002]. Enfin, la chute de la concentration intracellulaire en calcium lors du passage à la couche cornée est responsable de l'extrusion des corps lamellaires [MENON, 1985]. Le retour à un gradient en calcium normal est observé dans les 6 à 24 heures suivant un traitement entraînant une rupture de la barrière cutanée [TU, 2004] ; le calcium intervient, par conséquent, dans les premiers stades de la réparation de la barrière cutanée.

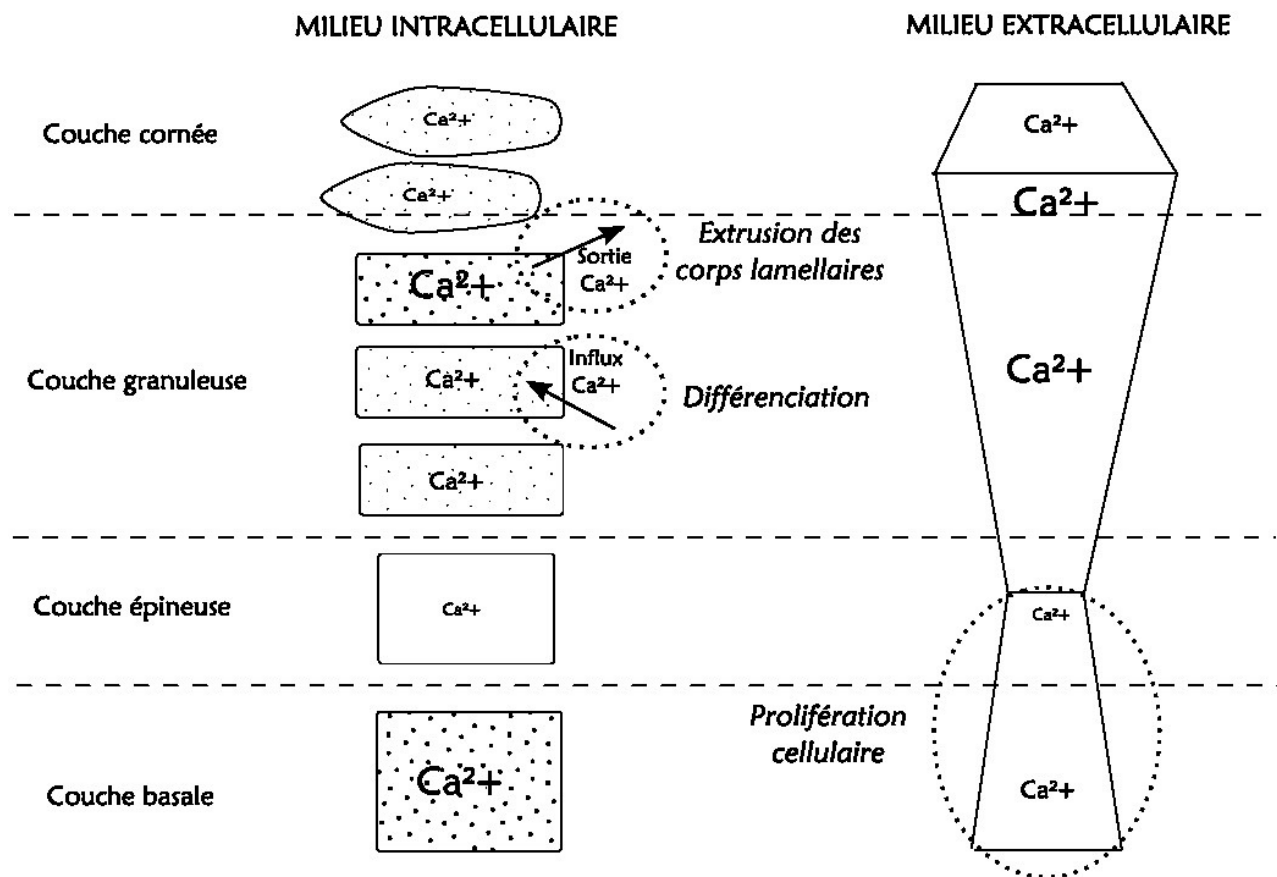


Schéma 4 : Gradient en calcium dans l'épiderme

c) La 3', 5' cyclic-adenosine-monophosphate (cAMP)(ou 3'5'adénosine-monophosphate cyclique)

Une augmentation de la concentration intracellulaire de cAMP retarde la réparation de la barrière cutanée alors que la présence de ces antagonistes l'accélère.

d) Le pH

Une augmentation de pH stimule l'activité des sérines protéases, enzymes qui dégradent les cornéodesmosomes, et par conséquent stimule la desquamation. Des valeurs élevées de pH cutané ont aussi pour conséquence une diminution de l'exocytose des corps lamellaires et du métabolisme lipidique dans l'épiderme et une diminution de l'activité antimicrobienne [RAWLINGS, 2008].

C. Altération expérimentale de la barrière cutanée

Expérimentalement, on distingue trois méthodes permettant de reproduire une rupture de la barrière cutanée :

- Chimique : application cutanée d'acétone
- Mécanique : tape-stripping
- Animaux présentant un déficit en acides gras essentiels.

1. La procédure de tape-stripping

La procédure de tape-stripping consiste en l'application répétée de morceaux de cellophane adhésive sur la peau et permet le retrait d'une partie ou de l'intégralité de la barrière cutanée, y compris la partie compacte, d'où une altération, plus ou moins importante, de la barrière cutanée. L'usage du tape-stripping en dermatologie est multiple. Il permet d'étudier le rôle de la couche cornée *in vivo*, de mimer une atteinte de la couche cornée sans utiliser de composés chimiques, d'estimer la pénétration percutanée de nombreuses substances [WONG, 2006], d'étudier la nature des lipides cutanés en fonction de la profondeur dans l'épiderme [POPA, 2010 ; POPA, 2011a ; POPA, 2011b].

La quantité de couche cornée retirée par tape-stripping est sous l'influence de plusieurs facteurs extrinsèques et intrinsèques. Parmi les facteurs intrinsèques, on peut noter le site anatomique [LADEMAN, 2009 ; BREitenitz, 2007 ; LOFFLER, 2004], l'âge du sujet et la présence de plis [LADEMAN, 2009 ; BREitenitz, 2007]. Un certain nombre de facteurs extrinsèques tels que le type d'adhésif, la durée d'application de l'adhésif sur la peau [LADEMAN, 2009 ; BREitenitz, 2007 ; LOFFLER, 2004], la rapidité avec laquelle le strip est retiré [LADEMAN 2009 ; LOFFLER, 2004], la pression exercée lors de l'application [BREitenitz, 2007 ; LOFFLER, 2004] interviennent de façon non négligeable. Même une procédure bien établie, pour diminuer l'influence de ces facteurs extrinsèques, ne suffit pas à obtenir une quantité constante de couche cornée retirée par chaque tape-stripping [LADEMAN, 2009]. Le contrôle de ces facteurs durant notre étude sera vu dans la discussion.

2. Conséquences d'une rupture de la barrière cutanée (Schéma 5)

a) Données disponibles chez les espèces murine et humaine

Une atteinte modérée et ponctuelle de la barrière cutanée conduit à une modification du métabolisme lipidique et de la synthèse d'ADN, bénéfique pour la réparation de la barrière cutanée. Une atteinte plus sévère ou chronique déclenche, de plus, un relargage de cytokines et un processus inflammatoire marqué [RAWLINGS, 2008].

Durant les 15 premières minutes suivant une rupture modérée de la barrière cutanée, on assiste à la libération du contenu des corps lamellaires préformés dans la couche granuleuse [MENON, 1992]. Par la suite a lieu une augmentation de l'activité des enzymes impliquées dans la synthèse des trois principaux types de lipides présents dans la couche cornée, à savoir le cholestérol, les acides gras et les céramides [FEINGOLD, 2007 ; FEINGOLD, 2009 ; HARRIS, 1997]. De nouveaux corps lamellaires apparaissent dans le cytoplasme des cellules de la couche granuleuse dès 30 minutes après la rupture de la barrière [MENON, 1992]. Finalement, la sécrétion de lipides dans l'espace intercellulaire par les corps lamellaires permet de recouvrir une barrière imperméable en une heure [DENDA, 2003]. Six heures plus tard, la couche granuleuse a retrouvé un aspect normal [MENON, 1992].

L'application d'une membrane imperméable sur la peau, après la rupture de la barrière, empêche la perte d'eau. Suite à cette occlusion, il y a bien exocytose des corps lamellaires préformés [FEINGOLD, 2007] mais l'augmentation des taux d'ARNm codant les enzymes clés n'a pas lieu [HARRIS, 1997], la formation de nouveaux corps lamellaires est retardée, ceux qui sont nouvellement formés sont anormaux [FEINGOLD, 2007 ; MENON, 1992] et l'exocytose des corps lamellaires est inhibée [MENON, 1992]. Lors d'occlusion avec une membrane perméable, la restauration de la barrière cutanée se déroule normalement [MENON, 1992]. Ceci montre bien que l'augmentation des taux d'ARNm et la formation correcte de nouveaux corps lamellaires sont dues à l'augmentation de la PIE secondaire à l'altération de la fonction barrière et non à des effets non spécifiques de la procédure.

La synthèse d'ADN au niveau de l'épiderme est multipliée par deux, dans les 16 à 20 heures, suivant la rupture de la barrière cutanée. L'augmentation de la synthèse d'ADN intervient alors que la restauration de la barrière cutanée est déjà de 80%. Il semblerait que cette augmentation soit inhibée en partie par occlusion par une membrane imperméable, d'où l'hypothèse que ce phénomène est contrôlé partiellement, mais pas totalement, par les mouvements d'eau créés par le traitement [DENDA, 1996]. Les conclusions des différentes

études divergent [DENDA, 1996 ; PROKSCH, 1991]; la relation entre l'augmentation de la synthèse d'ADN et l'augmentation de la perte insensible en eau reste encore floue.

De façon plus synthétique, la réponse à une rupture modérée de la barrière cutanée consiste en :

- Une sécrétion rapide des corps lamellaires préformés
- L'assemblage et la mise en place accélérés de nouveaux corps lamellaires
- Une augmentation de la synthèse de cholestérol, d'acides gras et de céramides dans l'épiderme
- Une augmentation de la synthèse d'ADN dans l'épiderme.

Dans un premier temps, une rupture sévère ou chronique de la barrière cutanée a pour conséquence les mêmes phénomènes que ceux décrits pour une rupture modérée et ponctuelle. Elle peut conduire à l'extrusion de 70 à 90% des corps lamellaires présents dans la couche granuleuse [FEINGOLD, 2009]. On observe également, dans ce cas, une hyperplasie de l'épiderme et une inflammation du derme. Le degré de l'hyperplasie de l'épiderme est corrélé à l'intensité de la rupture cutanée et à la durée de celle-ci. L'hyperplasie de l'épiderme, observée lors de rupture chronique de la barrière cutanée, est due à une augmentation de l'index mitotique dans la couche basale, à l'origine des bourgeons de prolifération observés à l'examen histopathologique. Il est fort probable que ce phénomène soit sous influence cytokinique. En effet, la concentration de TNF- α et d'IL-1 α augmente lors de rupture de la barrière cutanée ; or il a été démontré que les cytokines stimulent la multiplication des kératinocytes. L'occlusion avec une membrane imperméable ne permettant, ni de freiner l'hyperplasie de l'épiderme, ni d'inhiber l'augmentation des taux de TNF- α et d'IL-1 α , le degré d'hyperplasie ne semble pas dépendre de l'augmentation de la perte en eau. L'hyperplasie de l'épiderme débute 24 heures après le début du traitement et augmente avec le temps. A 7 jours d'altération mécanique ou chimique de la barrière cutanée, l'épaisseur de l'épiderme est multipliée par 3. La réparation de la barrière après rupture chronique intervient rapidement, en 36 heures. Cependant, l'hyperplasie de l'épiderme persiste jusqu'à 108 heures, donc bien au-delà du retour à la normale des valeurs de PIE [DENDA, 1996].

b) Données disponibles chez l'espèce canine

Une étude visant à créer un modèle de rupture aiguë de la barrière cutanée chez le chien a été menée en 2011 [VIDEMONT, 2011b].

L'examen histopathologique des biopsies réalisées a montré que 30 applications successives d'adhésif permettent de retirer la totalité de la couche cornée sur la zone traitée. Quarante-huit heures après l'altération mécanique de la barrière cutanée, environ la moitié de la couche cornée est réapparue. Soixante-douze heures après le traitement, l'aspect de la couche cornée est normal.

Une discrète inflammation du derme est observée dès une heure suivant la procédure de tape-stripping. L'intensité de cette inflammation augmente jusqu'à atteindre un pic à 18 heures. Dans le même temps, un œdème et une congestion marqués du derme sont notés. Lors d'une rupture aiguë, l'inflammation dermique n'est que modérée et transitoire.

Une hyperplasie de l'épiderme commence à apparaître dès 48 heures après la rupture aiguë mais l'épaisseur de l'épiderme diminue rapidement en l'absence d'altération supplémentaire.

Cette étude a permis d'établir que, dans l'espèce canine comme dans l'espèce murine, la restauration de la couche cornée, suite à une rupture aiguë de la barrière cutanée, s'effectue rapidement.

Certaines données sont également disponibles concernant la rupture chronique de la barrière cutanée chez le chien [VIDEMONT, 2011a].

La rupture chronique induit une hyperplasie épidermique, marquée et durable, et une inflammation dermique, elle aussi durable. Le retour à la normale a lieu moins rapidement que lors d'une rupture aiguë. L'intérêt du modèle chronique est donc de reproduire expérimentalement les modifications observées lors d'une dermatose inflammatoire chronique (dermatite hyperplasique périvasculaire superficielle).

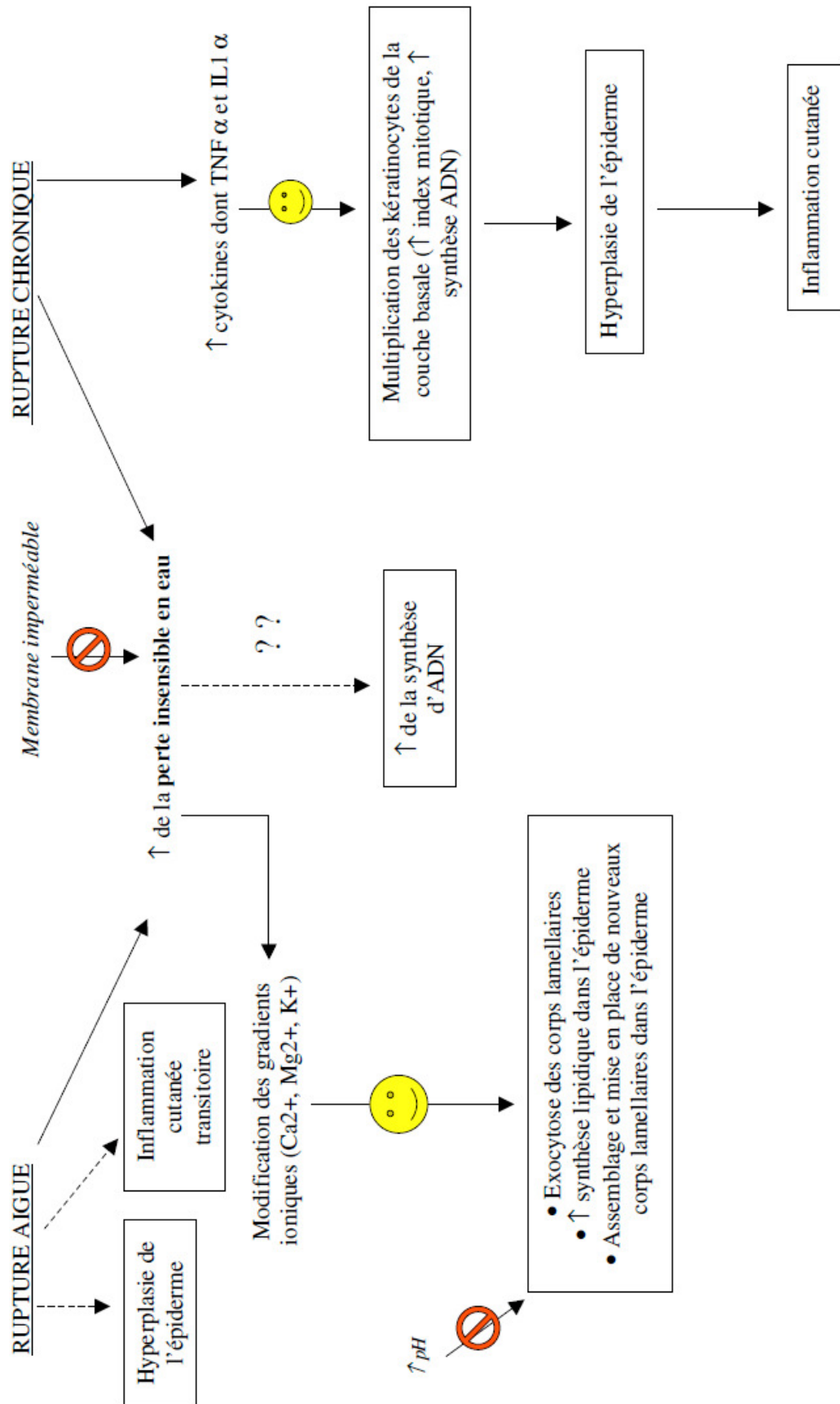


Schéma 5 : Conséquences d'une rupture de la barrière cutanée

D. Altération de la barrière cutanée lors de dermatoses

1. Le syndrome de sécheresse cutanée (Schéma 6)

L'altération de la barrière cutanée peut être primaire, comme lors de dermatite atopique, ou secondaire. Dans les deux cas, le prurit et l'inflammation contribuent à aggraver le défaut de barrière.

On se trouve, alors, dans le cas d'une rupture chronique de la barrière cutanée, avec une augmentation de la perte insensible en eau et une déshydratation cutanée. Les conséquences de cette baisse de la teneur en eau de la couche cornée sont multiples : modification du pH cutané, augmentation de la production des cytokines [LODEN, 2003], mauvais fonctionnement enzymatique [CAUSSIN, 2009]. La modification de l'activité des enzymes est aggravée par le changement du pH de la peau ainsi que par l'hyperkératose et l'inflammation, conséquences du relargage des cytokines. L'enveloppe cornée des cornéocytes est immature, à cause de la baisse d'activité des transglutaminases, aggravant les lésions causés par le prurit [CAUSSIN, 2009]. Les enzymes responsables de la cornéodesmolyse présentent elles aussi une activité diminuée ; la desquamation se fait donc moins bien. La synthèse de la filaggrine et, par conséquent, du NMF diminue [LODEN, 2003] ; la capacité de la couche cornée à retenir les molécules d'eau s'en trouve amoindrie. La diminution du taux en NMF pourrait être une des causes majeures du syndrome de sécheresse cutanée [WICKETT, 2006].

Enfin, chez les patients souffrant de dermatite atopique, on rapporte une diminution du taux de céramides et une augmentation du taux de cholestérol. Les proportions normales des lipides dans la couche cornée n'étant plus respectées, l'organisation lamellaire des lipides intercellulaires est perturbée, aggravant encore la perte insensible en eau [LODEN, 2003 ; PIEKUTOWSKA, 2008 ; POPA, 2011a ; POPA, 2011b ; RAWLINGS, 2005]. Le syndrome de sécheresse cutanée est un phénomène auto-entretenu nécessitant la mise en place d'un traitement.

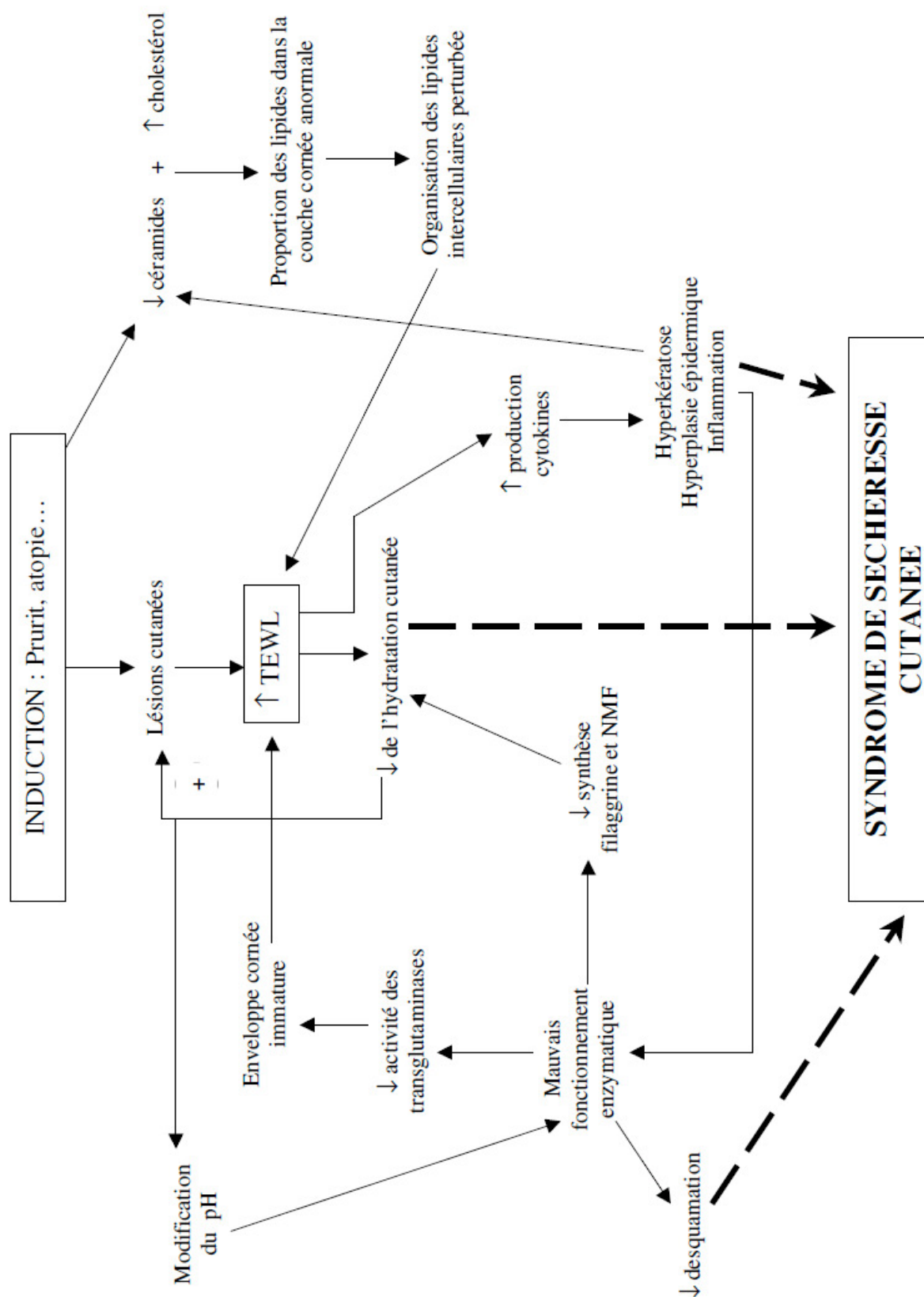


Schéma 6 : Syndrome de sécheresse cutanée

2. Améliorer la barrière cutanée : les réhydratants cutanés

a) L'hydratation de la peau

L'hydratation normale de la couche cornée est de 10-13% [KRAFT, 2005]. L'eau présente dans la couche cornée provient du derme et des couches basales de l'épiderme ainsi que du milieu extérieur. Elle est associée aux éléments hydrophiles des lipides intercellulaires et aux filaments de kératine présents dans les cornéocytes [LODEN, 2005].

La présence d'eau dans la couche cornée permet de maintenir une certaine flexibilité de cette couche et autorise les réactions enzymatiques [RAWLINGS, 2005]. En effet, en dessous de 10% d'hydratation, les enzymes nécessaires à la cornéodesmolyse ne fonctionnent plus correctement, la desquamation est moindre.

L'architecture de la couche cornée est d'une importance majeure dans l'hydratation de la peau. Trois mécanismes majeurs permettent de maintenir un taux d'hydratation supérieur à 10% [FLUHR, 2008 ; KRAFT, 2005 ; RAWLINGS, 2005] :

- La présence de **lipides** en position extracellulaire et leur agencement en lamelles, qui limitent la fuite de l'eau vers l'extérieur et permettent d'en retenir une certaine quantité,
- La présence de **cornéodesmosomes** et de **l'enveloppe cornée**,
- La présence de **NMF**, mélange de substances hygroscopiques riche en acides aminés.

b) Les différents types de produits hydratants

La lutte contre la déshydratation cutanée implique d'apporter une certaine quantité d'eau exogène, de fixer cette eau au sein de la couche cornée, de contrôler les mouvements d'eau et de freiner l'évaporation de l'eau intrinsèque. Les réhydratants sont utilisés dans le but de restaurer la barrière cutanée et d'augmenter la quantité en eau de l'épiderme.

On distingue trois catégories de produits hydratants [KRAFT, 2005] :

- Les **substances hygroscopiques** et **agents hydratants**. Les humectants les plus communément utilisés sont l'urée, le propylène glycol, l'acide pyrrolidone carboxylique, l'acide lactique, le glycérol ou glycérine, le panthénol et le sorbitol [LODEN, 2003]. Leur faible poids moléculaire leur permet de pénétrer en profondeur dans la couche cornée. Ils agissent comme le NMF en facilitant la migration de l'eau du derme vers l'épiderme et en participant à l'absorption de l'eau par la couche cornée depuis le milieu extérieur [KRAFT, 2005]. Leur efficacité dépend bien évidemment de leur capacité à retenir les molécules d'eau mais aussi de leur capacité à pénétrer en profondeur dans le *stratum corneum* [LODEN, 2003].

- Les **émollients**. Ils désignent des lipides identiques ou proches des lipides naturels des espaces interkératinocytaires et susceptibles de s'y incorporer. Ils reconstituent le film protecteur lipidique. Ils comprennent les acides gras, les céramides, le cholestérol, les phospholipides.

- Les **agents de surface occlusifs**. Cette catégorie comprend les filmogènes hydrophiles, polymères macromoléculaires qui forment des gels plus ou moins visqueux et doués d'un fort pouvoir de rétention d'eau, ainsi que les filmogènes hydrophobes, de moins en moins utilisés.

Dans l'idéal, un réhydratant cutané doit contenir des agents humidifiants et des agents occlusifs qui permettront de « piéger » les molécules d'eau qui auront été attirées par les agents humidifiants [KRAFT, 2005 ; KECECIOGLU, 1995]. Ainsi, combiner les effets humectant et occlusif améliore la capacité de rétention d'eau de la couche cornée [KRAFT, 2005].

c) Propriétés des constituants de l'ERMIDRA® (Tableau 1)

L'ERMIDRA® est composé de cyclodextrines et de liposomes, de D-panthénol, de propylène glycol et de glycérol.

Il possède des propriétés hygroscopiques grâce au glycérol (Figure 3), au propylène glycol (Figure 4) et au D-panthénol (Figure 5). Le **glycérol** est connu pour sa capacité à retenir l'humidité [FEINGOLD, 2007] et à moduler la composition en lipides ainsi que l'activité des agents responsables de la lyse des cornéodesmosomes [RAWLINGS, 2008]. Il possède trois groupes hydrophiles, d'où son importante solubilité dans l'eau. De plus, il peut pénétrer profondément dans la couche cornée. Il possède également un effet anti-irritant et accélère la cicatrisation des plaies [FLUHR, 2008]. Après application cutanée de glycérol, des quantités importantes d'eau sont présentes à la surface de la couche cornée [CAUSSIN, 2009]. Le **propylène glycol** inhibe la fermentation et la croissance des champignons dont *Malassezia sp.* L'avantage du propylène glycol, par rapport aux antibiotiques et aux antiseptiques, réside dans le fait qu'il est moins irritant pour la peau et moins sujet aux résistances microbiennes [LODEN, 2003]. Il facilite de plus la pénétration du produit dans la couche cornée [LODEN, 2005]. Le **panthénol**, aussi appelé provitamine B5, est le précurseur de l'acide pantothénique ou vitamine B5. L'acide pantothénique est un composant de la coenzyme A, qui joue un rôle dans la synthèse des acides gras de l'épiderme. Il favorise la prolifération des fibroblastes et possède des propriétés anti-inflammatoires et anti-prurigineuses. Il est soluble dans l'eau et est hygroscopique, ce qui contribue à augmenter

l'hydratation de la peau, d'autant plus qu'il est associé au glycérol. Il a également l'avantage d'être extrêmement bien toléré par la peau [BISSETT, 2009].

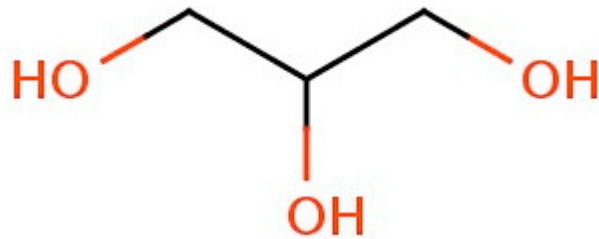


Figure 3 : Glycérol

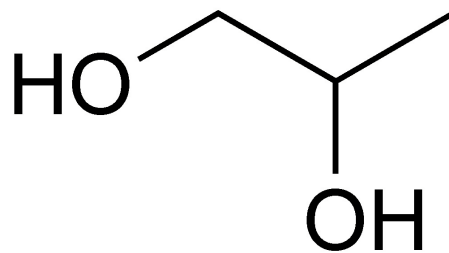


Figure 4 : Propylène glycol

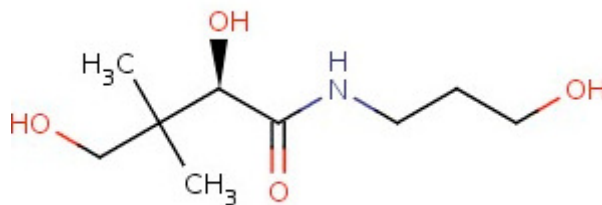


Figure 5 : Panthénol

Les **liposomes** sont des vésicules microscopiques constituées de, une à plusieurs, bicouches lipidiques séparées par des compartiments aqueux [REDZINIAK, 2003]. La membrane lipidique est formée de bicouches de phospholipides en alternance avec des

molécules de cholestérol. La fonction des liposomes est multiple. D'une part, ils permettent l'inclusion des substances actives hydrophiles et leur relargage progressif. D'autre part, les constituants de cette membrane étant très proches des lipides de la couche cornée, ils participent à la restructuration des lamelles lipidiques [MARTINI, 1995]. De nos jours, les liposomes les plus utilisés dans les produits cosmétiques sont de type MLV ou MVV (Figure 6). Les liposomes présents dans l'ERMIDRA® contiennent de l'eau et du propylène glycol [DELLA MURA, 2011].

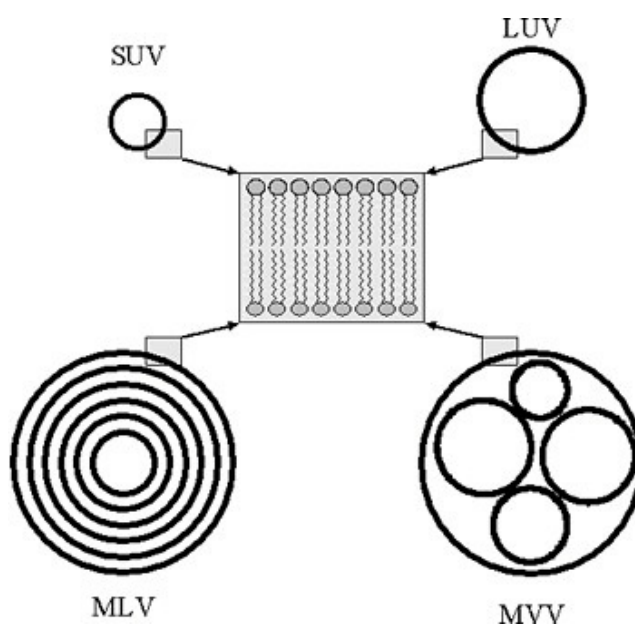


Figure 6 : Les différents types de liposomes [DANIELS, 2011]

Les **cyclodextrines** sont des oligosaccharides cycliques, dérivés de l'amidon, qui ont la capacité d'agglomérer en leur centre des substances amphiphiles. Elles se présentent sous la forme d'un cône tronqué (Figure 7). La partie extérieure des cyclodextrines est quant à elle hydrophile grâce à l'orientation de ses fonctions hydroxyles. Elles forment des complexes d'inclusion en milieu aqueux. Les composants logeant en son milieu sont libérés facilement lors de l'application car aucune liaison covalente n'est établie entre la cyclodextrine et la molécule qu'elle contient [LOFTSSON, 2001 ; CAL, 2008]. Elles peuvent lier le cholestérol et permettent notamment de stabiliser les émulsions. Les cyclodextrines présentes dans l'ERMIDRA® transportent uniquement le panthénol [DELLA MURA, 2011].

Combiner les liposomes et les cyclodextrines permet un relargage progressif et une pénétration plus importante des principes actifs dans le *stratum corneum* [CAL, 2008].

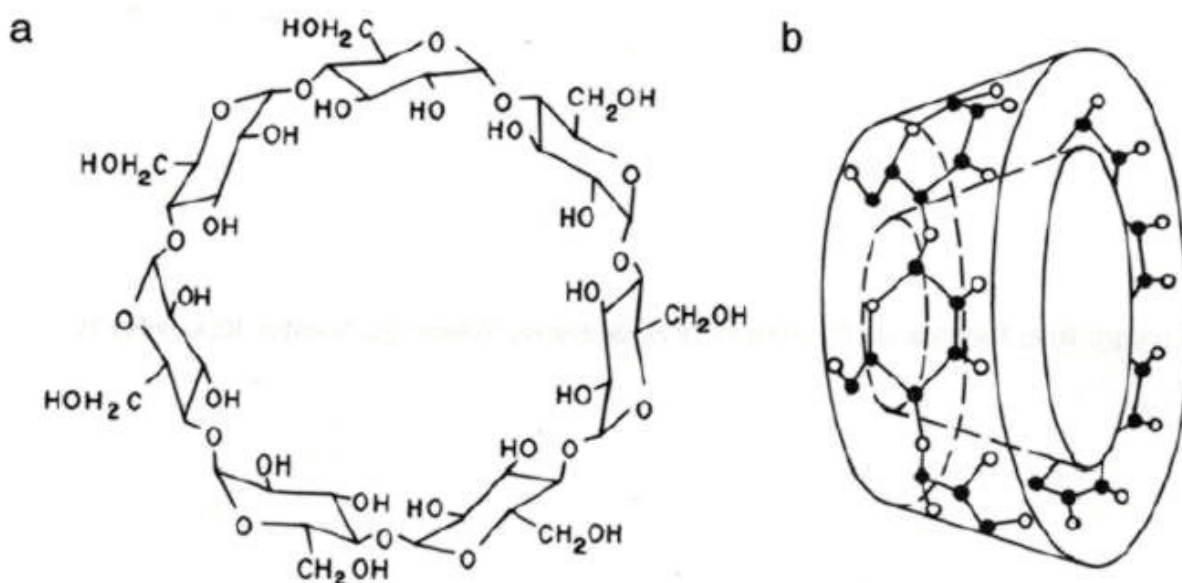


Figure 7 : Les cyclodextrines. a : Formule chimique ; b : Structure tridimensionnelle.
[PHARMAINFO, 2011]

Constituants de l'ERMIDRA®	Propriétés
Glycérol	<ul style="list-style-type: none"> • Effet hygroscopique +++ • Effet anti-irritant • Effet cicatrisant
Propylène glycol	<ul style="list-style-type: none"> • Effet hygroscopique ++ • Peu irritant • Facilite la pénétration du produit hydratant • Inhibition de la fermentation et de la croissance des champignons
Panthénol	<ul style="list-style-type: none"> • Effet hygroscopique ++ • Bonne tolérance • Rôle dans la synthèse des acides gras de l'épiderme • Favorise la prolifération des fibroblastes • Propriétés anti-inflammatoires et anti-prurigineuses
Liposomes	<ul style="list-style-type: none"> • Inclusion et relargage progressif des substances actives hydrophiles • Restructuration des lamelles lipidiques extracellulaires
Cyclodextrines	<ul style="list-style-type: none"> • Complexe d'inclusion en milieu aqueux • Inclusion et relargage progressif des substances actives hydrophiles

Tableau 1 : Propriétés des constituants de l'ERMIDRA®

E. Eléments bibliographiques concernant la mesure de la perte insensible en eau (PIE)

Il existe plusieurs méthodes d'évaluation du statut de la barrière cutanée, comme l'évaluation de l'hydratation de la peau, la cornéométrie, l'acidité de la surface de la peau ou bien encore la mesure de la perte insensible en eau [DARLENSKI, 2009].

1. Définition de la perte insensible en eau et validation de cette mesure pour évaluer le statut de la barrière cutanée

La **PIE**, perte insensible en eau, ou TEWL (transepidermal water loss en anglais), est un phénomène passif qui se fait par diffusion à travers la couche cornée. Cette diffusion est liée au gradient de pression de vapeur d'eau de chaque côté de l'épiderme. En effet, la surface de l'épiderme au contact du derme est bien hydratée alors que celle au contact de l'air ambiant est beaucoup plus sèche [COHEN, 2009].

La peau protège l'organisme contre une perte en eau (de l'intérieur vers l'extérieur) trop importante et contre la pénétration de substances nocives (de l'extérieur vers l'intérieur). Quand on mesure la perte insensible en eau, on mesure le flux d'eau diffusant à travers la peau, du corps vers le milieu extérieur. Il s'agit d'une quantité d'eau par surface et par unité de temps [IMHOF, 2009] : $\text{g.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$. La mesure de la PIE serait, en théorie, un marqueur uniquement de la fonction de barrière de l'intérieur vers l'extérieur [MADISON, 2003]. Cependant, cette dernière est souvent corrélée à la fonction de barrière de l'extérieur vers l'intérieur. Lors d'une étude réalisée sur des humains et des souris, le degré de rupture de la barrière, estimé par la perte insensible en eau, est corrélé avec le degré de pénétration de différentes substances donc avec le degré de la perte de la fonction de barrière « extérieur-intérieur ». La mesure de la PIE renseignerait donc sur le statut de la barrière dans les deux sens [FLUHR, 2006].

Chez l'Homme, il est admis qu'une valeur basse de PIE signifie, en général, que la barrière cutanée est intacte, alors que des valeurs élevées sont habituellement observées lors de dysfonctionnement ou de rupture expérimentale de cette barrière cutanée [DARLENSKI, 2009]. De même, chez le chien, on considère que la mesure de la perte insensible en eau reflète la fonction de barrière car les valeurs de PIE augmentent de façon hautement significative avec le nombre de strips réalisés [SHIMADA, 2008].

2. Description et comparaison des différents appareils de mesure à disposition

Les appareils mesurent le flux de vapeur d'eau juste au-dessus de la couche cornée, qui dépend de la vitesse d'apparition de l'eau à la surface de la peau – propriété de la peau - et du taux d'évaporation de l'eau de la surface de la peau – propriété du microclimat. La mesure donnée par l'appareil reflète donc le taux qui nous intéresse, c'est-à-dire le premier, uniquement lorsque celui-ci est le facteur limitant [IMHOF, 2009], d'où l'importance de réaliser les mesures dans une pièce avec microclimat contrôlé.

Différents types d'appareils existent pour mesurer la perte insensible en eau : les appareils à chambre ouverte, les appareils à condensateur et les appareils à chambre fermée non ventilée.

Les appareils à chambre ouverte sont formés d'un cylindre ouvert aux deux extrémités. Une des extrémités est placée au contact de la peau, l'autre est au contact de l'air ambiant. La vapeur d'eau migre de la surface de la peau à l'air ambiant par diffusion. Deux capteurs de température et d'humidité placés à une distance définie l'un de l'autre sur le trajet des molécules d'eau permettent de mesurer le flux d'eau de la surface de la peau à l'air ambiant (Schéma 7). Des mesures en continu peuvent être réalisées avec ce matériel [COHEN, 2009 ; IMHOF, 2009] mais le temps de mesure est long [COHEN, 2009]. La mesure est très dépendante des perturbations de l'air dans l'environnement et des mouvements du sujet, même ceux dus à la respiration. La sensibilité des appareils à chambre ouverte aux mouvements d'air à proximité limite leur utilisation à des cas où les conditions de la pièce peuvent être bien contrôlées. De plus, il est nécessaire que la sonde soit tenue à la verticale durant le temps de la mesure afin que les molécules d'eau passent bien par les deux capteurs [COHEN, 2009 ; IMHOF, 2009].

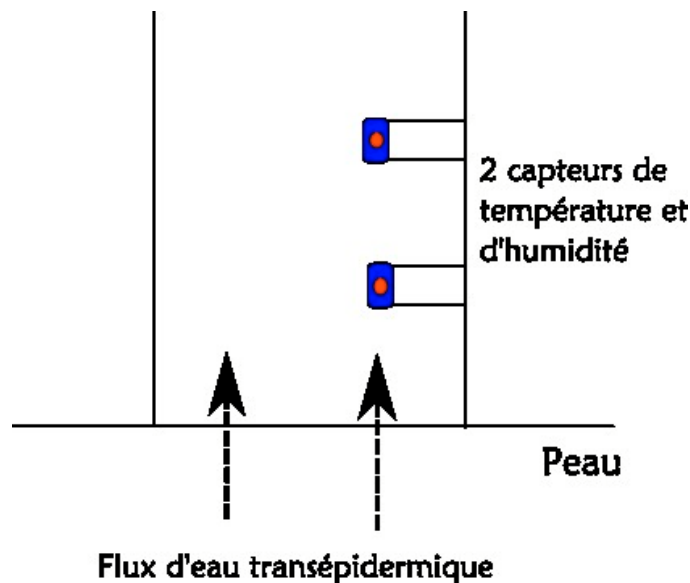


Schéma 7 : Appareil à chambre ouverte [d'après IMHOF, 2009]

Les appareils à condensateur sont formés d'un cylindre fermé à une extrémité par un condensateur maintenu à une température négative constante. Ce type d'appareil, peu connu et peu utilisé, se rapproche d'un appareil à chambre ouverte avec condensation sur glace.

Les appareils à chambre fermée non ventilée sont formés d'un cylindre fermé à une extrémité. L'extrémité ouverte se place au contact de la peau durant la mesure. La chambre est équipée d'un capteur thermique et d'un capteur d'humidité (Schéma 8). L'humidité à l'intérieur de la chambre augmente progressivement durant la mesure car la vapeur d'eau ne peut pas s'échapper. Cet appareil permet de corréler grâce à une équation l'augmentation de l'humidité dans la chambre de mesure et la PIE (Figure 8). A la fin de la mesure, le temps de réinitialisation de la sonde permet à la chambre d'évacuer la vapeur d'eau accumulée et de retrouver une humidité égale à celle du milieu extérieur [IMHOF, 2009]. Ce matériel ne permet pas un suivi dynamique de la perte insensible en eau [DARLENSKI, 2009 ; COHEN, 2009 ; IMHOF, 2009]. Les avantages supposés d'un appareil à chambre fermée par comparaison avec un appareil à chambre ouverte serait la possibilité de prendre des mesures fiables quel que soit l'angle avec lequel on applique l'appareil sur la peau, un temps de mesure réduit, et une indépendance vis-à-vis des mouvements d'air extérieurs [COHEN, 2009 ; NUUTINEN 2003].

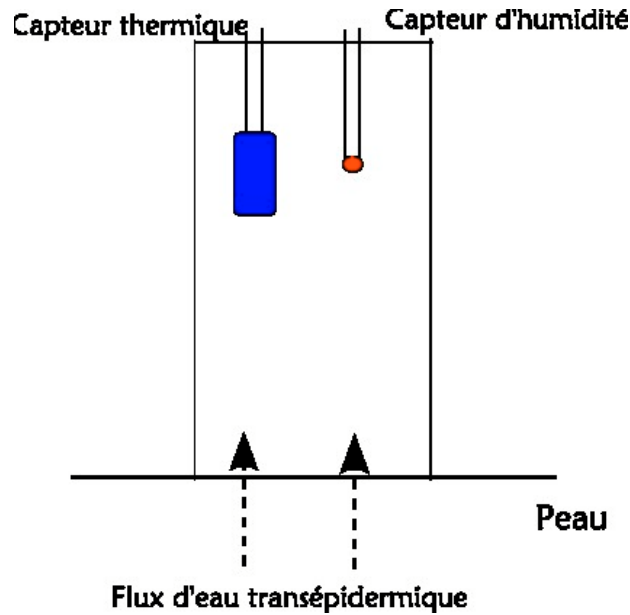


Schéma 8 : Appareil à chambre fermée [d'après IMHOF, 2009]

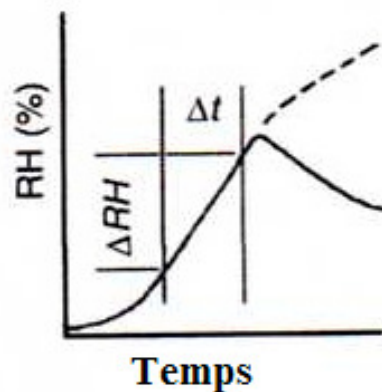


Figure 8 : Principes de mesure dans le cas d'un appareil à chambre fermée ; %RH = pourcentage d'humidité, [IMHOF, 2009]

3. Facteurs de variation chez le chien (Tableau 2)

La perte insensible en eau est fonction de plusieurs facteurs intrinsèques.

La plupart des articles s'accordent à dire que la mesure varie de façon significative en fonction du **site corporel** [HESTER, 2004 ; LAU-GILLARD, 2009 ; WATSON, 2002] et en fonction de l'**individu** [HESTER, 2004 ; BECO, 2000 ; LAU-GILLARD, 2009]. Concernant

ce dernier point, les mesures de PIE ne sont pas assez reproductibles pour être comparables entre différents individus [HESTER, 2004].

L'influence d'autres facteurs reste floue. Par exemple, si certains auteurs ont mis en évidence que les mesures effectuées chez un même chien à trois jours d'intervalle variaient significativement [BECO, 2000], d'autres, au contraire, ne trouvent aucune différence significative entre les mesures de la perte insensible en eau en fonction du **temps** [HESTER, 2004 ; HIGHTOWER, 2010]. Les résultats récents de Hightower et al. ont démontré que pour un même site, chez des chiens beagles normaux, la mesure de PIE ne varie pas de façon significative selon le moment de la journée ou à quelques jours d'intervalle [HIGHTOWER, 2010].

L'éventualité de l'influence d'une **tonte** avant les mesures a aussi été étudiée. Même si une étude affirme que tondre les poils au site de mesure n'influence pas significativement les valeurs de PIE [LAU-GILLARD, 2009], il semblerait que la réalisation d'une tonte ou, du moins, la façon de réaliser cette tonte soit à l'origine de variations de ces valeurs [HESTER, 2004 ; OH, 2009 ; WATSON, 2002]. Le fait de tondre diminuerait les valeurs de perte insensible en eau de 44% [WATSON, 2002]. Ce résultat est à interpréter avec précaution car aucune modification de la PIE n'est observée, dans cette étude, lorsque le poil est coupé aux ciseaux. D'après une étude de 2009, la méthode de tonte influence de façon significative la mesure de la PIE quand cette dernière est réalisée 3 minutes après la tonte. L'obtention de résultats fiables nécessite donc une tonte douce, qui ne lèse pas la couche cornée [OH, 2009].

Les quelques données disponibles concernant l'**âge** et le **sexe** laissent à penser que, dans l'espèce canine, ces facteurs n'ont pas ou peu d'influence [HESTER, 2004 ; YOSHIHARA, 2007 ; WATSON, 2002], même si Watson et al. notent une tendance à l'augmentation des valeurs de PIE avec l'âge [WATSON, 2002].

Enfin, une étude rapporte que la **race** influence de façon hautement significative les mesures de PIE [HESTER, 2004]. De même, une influence de l'**alimentation** sur les mesures de PIE est très probable [HESTER, 2004 ; WATSON, 2006].

Les variations des valeurs de PIE peuvent aussi, et surtout, être la résultante de facteurs liés à l'appareil et à l'environnement dans lequel est réalisée la mesure, tels que la température, l'humidité et les mouvements d'air.

La valeur de la PIE varie significativement selon que la mesure est réalisée à une **température** de 18°C ou à une température de 28°C mais il n'existe aucune différence significative entre les mesures prises à 20°C, 22°C, 24°C et 26°C. On peut donc s'affranchir

de ce facteur de variation en réalisant les mesures dans une pièce où la température se situe entre 20°C et 26°C [YOSHIHARA, 2007]. Toutefois, la température de la pièce ne reflète pas forcément la température de la sonde. De Paepe rapporte qu'en tenant la sonde à deux mains, on peut augmenter sa température de 6°C, ce qui, dans l'étude, augmente les valeurs basales lues de $7 \pm 2 \text{ g.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$ à $15 \pm 6 \text{ g.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$ [DE PAEPE, 2005]. Certains auteurs recommandent de ne pas tenir la sonde directement avec les mains pour éviter de modifier la température de la sonde [IMHOF, 2009].

Les **mouvements d'air du milieu extérieur** peuvent perturber la mesure de la perte insensible en eau avec un appareil à chambre ouverte, ce qui n'est pas le cas pour un appareil à chambre fermée [IMHOF, 2009].

L'influence de la **pression exercée** sur la peau avec la sonde lors de la mesure a aussi été étudiée. Augmenter la pression d'application de la sonde peut conduire à des changements au niveau de la peau tels que son étirement ou la compression des tissus sous-jacents ainsi que des changements de positionnement de la sonde : la peau au centre de l'orifice de mesure est surélevée et la position des capteurs s'en trouve modifiée [IMHOF, 2009]. De plus, appliquer une pression trop importante sur la sonde peut perturber la circulation sanguine et fausser les mesures ultérieures [DE PAEPE, 2005].

Facteurs	Probabilité	Oui	Non
INTRINSEQUES			
Site corporel	+++	<ul style="list-style-type: none"> • HESTER, 2004 • LAU-GILLARD, 2009 • WATSON, 2002 	
Individu	+++	<ul style="list-style-type: none"> • BECO, 2000 • HESTER, 2004 • LAU-GILLARD, 2009 	
Temps	+/-	• BECO, 2000	<ul style="list-style-type: none"> • HESTER, 2004 • HIGHTOWER, 2010
Tonte	++	<ul style="list-style-type: none"> • HESTER, 2004 • OH, 2009 • WATSON, 2002 	• LAU-GILLARD, 2009
Alimentation	++	<ul style="list-style-type: none"> • HESTER, 2004 • WATSON, 2006 	
Race	++	• HESTER, 2004	
Age	-		<ul style="list-style-type: none"> • HESTER, 2004 • YOSHIHARA, 2007 • WATSON, 2002
Sexe	-		<ul style="list-style-type: none"> • HESTER, 2004 • YOSHIHARA, 2007 • WATSON, 2002
EXTRINSEQUES			
Température	+++	<ul style="list-style-type: none"> • DE PAEPE, 2005 • IHMOF, 2009 • YOSHIHARA, 2007 	
Mouvements d'air	-		• IMHOF, 2009
Pression sur la sonde	++	<ul style="list-style-type: none"> • DE PAEPE, 2005 • IHMOF, 2009 	

Tableau 2 : Facteurs susceptibles d'influencer une mesure de PIE réalisée avec un appareil à chambre fermée

En conclusion, il est important de mesurer la perte insensible en eau chez des chiens de même race, de même âge et de même sexe, habitués à être manipulés, nourris avec le même régime et hébergés dans les mêmes conditions pour obtenir des mesures reproductibles dans le cadre d'une étude.

II. Etude expérimentale

A. Principe et hypothèse

Le but de cette expérience est d'évaluer et de quantifier l'effet du réhydratant cutané ERMIDRA®, produit par le laboratoire ICF et distribué en France par MPLabo, sur la réparation de la barrière cutanée. L'hypothèse est que l'application du spray ERMIDRA® accélère la réparation de la barrière cutanée suite à une rupture chronique de cette dernière par la méthode de tape-stripping.

L'effet de l'ERMIDRA® sur la restauration de la barrière cutanée est comparé à celui d'une solution isotonique de NaCl. L'étude de la restauration de la barrière se fait par le suivi de la perte insensible en eau et par l'examen histopathologique de biopsies cutanées itératives des zones étudiées.

B. Matériel et méthode

1. Sujets

L'expérience est menée sur cinq chiennes de race Beagle, adultes, de même âge. L'absence d'antécédent pathologique et un examen clinique complet nous permettent d'affirmer que les chiennes sont en bonne santé. Aucun traitement, systémique ou topique, autre qu'un traitement anti-parasitaire, n'a été réalisé dans les trois mois précédant le début de l'étude.

Tous les chiens sont logés, seul ou à deux, dans un box nettoyé deux fois par jour, dans la même pièce, où la température et l'humidité sont contrôlées (25-28°C, 40-60% d'humidité relative). Avant le début de l'expérience, les chiens disposent d'une période d'une semaine pour s'acclimater à leur nouvel environnement. Ils sont nourris avec des croquettes physiologiques 12 semaines avant le début de l'étude et disposent d'eau à volonté. Les chiens portent des colliers Elizabethain durant l'étude pour limiter le léchage des sites.

Toutes les modalités de cette expérience ont été approuvées par le comité d'éthique de VetAgro Sup Campus Vétérinaire de Lyon.

2. Méthode

a) Détermination des sites d'étude (Schémas 9 et 10)

Les flancs de chaque chien sont tondus, 72 heures avant le début de l'étude et chaque fois que cela est nécessaire durant l'étude, à droite et à gauche. Six sites de 2 cm sur 3 cm sont dessinés au feutre dermatologique de chaque côté. Un côté constitue le côté traité, l'autre constitue le côté témoin.

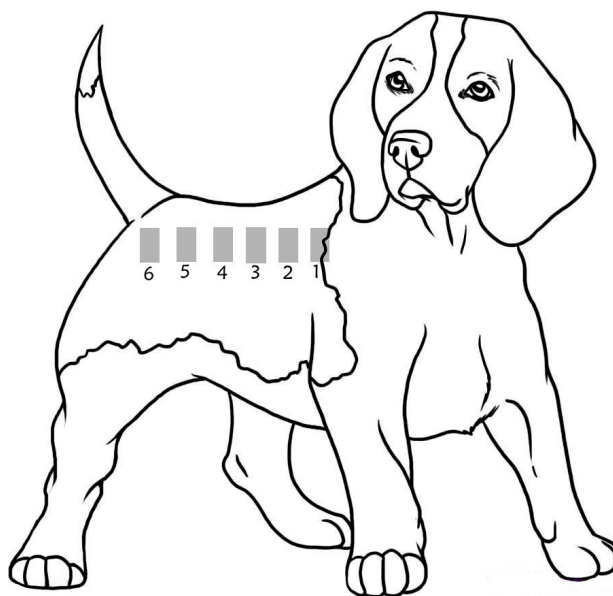


Schéma 9 : Localisation des sites

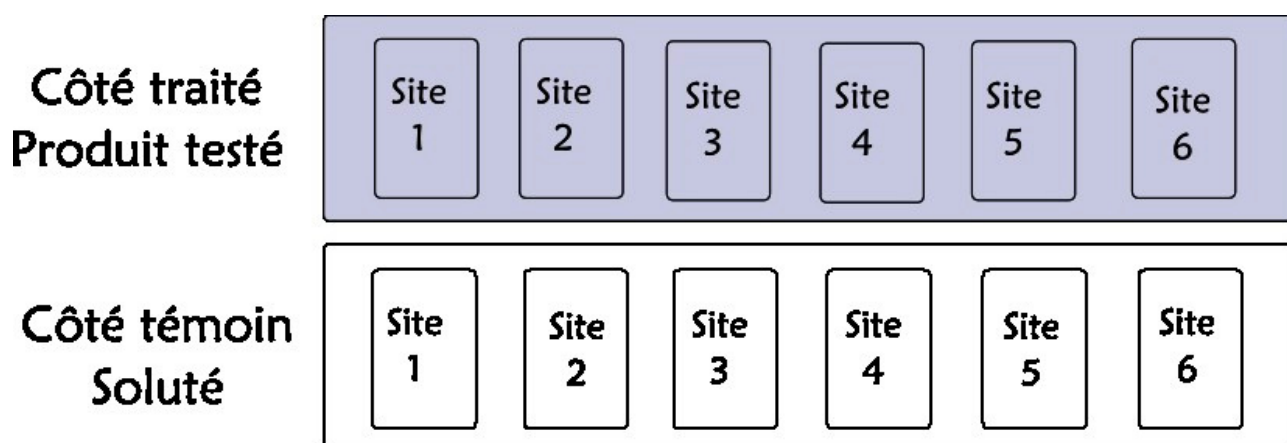


Schéma 10 : Représentation schématique des sites

Chien 1 et 2

M + E	M	M	M	E	M + E	M + E	M + E	E	M + E	M + E	E	E	E	M + E	E	E	E	M	
T0	+2h	+4h	+8h	+12h	+24h	+36h	+48h	+60h	+72h	+84h	+96h	+108h	+120h	+132h	+144h	+156h	+168h	+180h	+192h

Chien 3 et 4

M + E	M	M	M	E	M + E	M + E	E	E	E	E	E	E	E	E	M + E	M + E	E	M	
T0	+2h	+4h	+8h	+12h	+24h	+36h	+48h	+60h	+72h	+84h	+96h	+108h	+120h	+132h	+144h	+156h	+168h	+180h	+192h

Chien 5 et 6

M + E	M	M	M	E	M + E	E	M + E	E	E	E	M + E	E	E	E	M + E	E	M
T0	+2h	+4h	+8h	+12h	+24h	+36h	+48h	+60h	+72h	+84h	+96h	+108h	+120h	+132h	+144h	+156h	+168h

Schéma 11 : Planning des manipulations, avec T0 = fin de la partie « rupture chronique de la barrière cutanée », M = mesure de la PIE sur chaque site, E = Application de l'ERMIDRA® du côté traité et du placebo du côté témoin

b) Rupture chronique de la barrière cutanée par tape-stripping

Les modalités de cette partie sont détaillées dans la thèse de Lucie Perrin. Le modèle chronique permet de tester l'efficacité d'un produit à la fois sur la restauration de la barrière imperméable, évaluée par la mesure de la perte insensible en eau, et sur les modifications induites par une rupture chronique (hyperplasie épidermique et inflammation dermique persistantes), évaluées par l'examen histopathologique.

Au terme de cette première partie d'une durée de 15 jours, la moyenne des valeurs de la perte insensible en eau est de 46,82 g.m⁻².h⁻¹ du côté témoin et de 55,7 g.m⁻².h⁻¹ du côté traité. Le tableau 3 regroupe les moyennes des valeurs de la PIE à T0 des sites témoins et des sites traités pour chaque chien.

Chien	Côté témoin	Côté traité
1	30	33,62
2	36,23	36,2
3	51,63	47,72
4	51,90	73,67
5	54,69	68,47
6	56,48	74,52
Moyenne	46,82	55,7

Tableau 3 : Valeurs moyennes de la PIE à la fin de la procédure de rupture chronique de la barrière cutanée

L'aspect des biopsies réalisées à la fin de l'établissement du modèle de rupture chronique de la barrière cutanée sera présenté plus tard, dans la partie « Résultats ».

c) Application de l'ERMIDRA®

Pour chaque chien, les sites du côté droit reçoivent une application d'ERMIDRA® (Photographie 1) deux fois par jour et les sites du côté gauche, côté témoin, reçoivent une application de soluté salé physiologique deux fois par jour également. Avant application, le produit est homogénéisé en renversant doucement le flacon plusieurs fois. Quatre à cinq pulvérisations sont effectuées à une distance de 15 cm environ à chaque application. Aucun massage n'est effectué après application.



Photographie 1 : Spray ERMIDRA®

d) Etude histopathologique

Des biopsies cutanées sont réalisées, à l'aide de trépan à biopsie de 6 mm de diamètre, en peau saine, à T0 avant la première application de l'ERMIDRA® et du soluté isotonique et après une semaine d'applications bi-quotidiennes d'ERMIDRA® ou de soluté isotonique, sous anesthésie locale (injection sous-cutanée de xylocaïne). Pour chaque biopsie, un site du côté traité et un site du côté témoin sont choisis au hasard.

Les biopsies cutanées sont fixées dans du formol à 10% et incluses en paraffine ; des sections de 5 µm sont réalisées et colorées à l'hémalun-éosine.

e) Mesures de la PIE

La perte insensible en eau est mesurée avec un appareil à chambre fermée : VapoMeter® (Delfin Technologies Ltd, Kuopio, Finlande), sur chaque site, aux temps définis dans le schéma 11, avant application du produit testé ou du placebo. Cet appareil contient un capteur d'humidité directement intégré à la sonde. Un écran digital affiche le résultat de la mesure en $\text{g.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$. L'humidité et la température de la chambre sont mesurées avant l'application de la sonde sur la peau. Le VapoMeter® est activé via un bouton puis la sonde est placée perpendiculairement à la surface de la peau (Photographie 2). La pression appliquée sur la sonde est modérée, juste assez pour éviter les flux d'air entre la chambre et le milieu extérieur. Les valeurs sont directement transmises à un logiciel de traitement des données installé sur un ordinateur portable. Toutes les mesures sont réalisées trois fois sur le même site et la moyenne de ces trois valeurs est utilisée pour l'étude statistique. Toutes les mesures sont réalisées dans une pièce à ambiance contrôlée : la température est de $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ et l'humidité relative de $45\% \pm 8\%$ et les sujets disposent de 15 minutes dans la pièce pour s'acclimater avant la mesure.



Photographie 2 : Mesure de la PIE sur un de nos sujets à l'aide du VapoMeter®

f) Analyse statistique

Une matrice ergonomique a été créée pour permettre une utilisation optimale des données (voir annexe 5). Chaque ligne comprend, comme information, le temps auquel la mesure a été

réalisée, le chien et le site sur lesquels la mesure a été effectuée, la valeur de la mesure de la PIE et s'il s'agissait du côté traité ou du côté témoin.

On crée des sous-ensembles pour les temps T0, T0+8h, T0+24h, T0+192h pour les chiens 1 à 4 et T0+168h pour les chiens 5 et 6. Pour des raisons exposées dans la discussion, l'analyse statistique est menée sur les différences entre les valeurs de PIE à T0 et les valeurs aux temps définis précédemment. Ainsi, plus une différence sera élevée, plus la récupération du site aura été rapide. On vérifie les conditions d'utilisation grâce à la visualisation d'un Q-Q plot. Dans cette étude, il s'agit d'un modèle croisé mixte avec répétitions. On utilise par conséquent un test statistique ANOVA 2. Le degré de signification, noté p, est fixé à 0,05. On parle de différence hautement significative pour $0,0001 < p < 0,001$, de différence très significative pour $0,001 < p < 0,01$ et de différence significative pour $0,01 < p < 0,05$. Les tests statistiques et les graphiques sont réalisés à l'aide du logiciel R.

C. Résultats

1. Valeurs de perte insensible en eau

Les valeurs des mesures de la perte insensible en eau, pour chaque site et aux différents temps, sont disponibles en annexe 4.

a) *Comparaison de l'évolution des valeurs de la perte insensible en eau entre le côté traité et le côté témoin sur les huit premières heures*

- Etude graphique

Pour chaque chien, un graphique représentant les courbes de la valeur moyenne de la PIE en fonction du temps sur les huit premières heures est réalisé (Figure 9).

On remarque que :

- Dans les deux premières heures, les courbes des sites traités montrent une décroissance plus rapide que les courbes des sites témoins (chien 1, chien 5 et chien 6) ou une décroissance semblable (chien 2, chien 3 et chien 4).
- De 2 heures à 8 heures, pour les chiens 1 à 4, les courbes des sites témoins montrent une croissance alors que les courbes des sites traités sont stables ou présentent une croissance moins rapide (chien 3). Pour les chiens 5 et 6, l'évolution des courbes est semblable sur cette période.

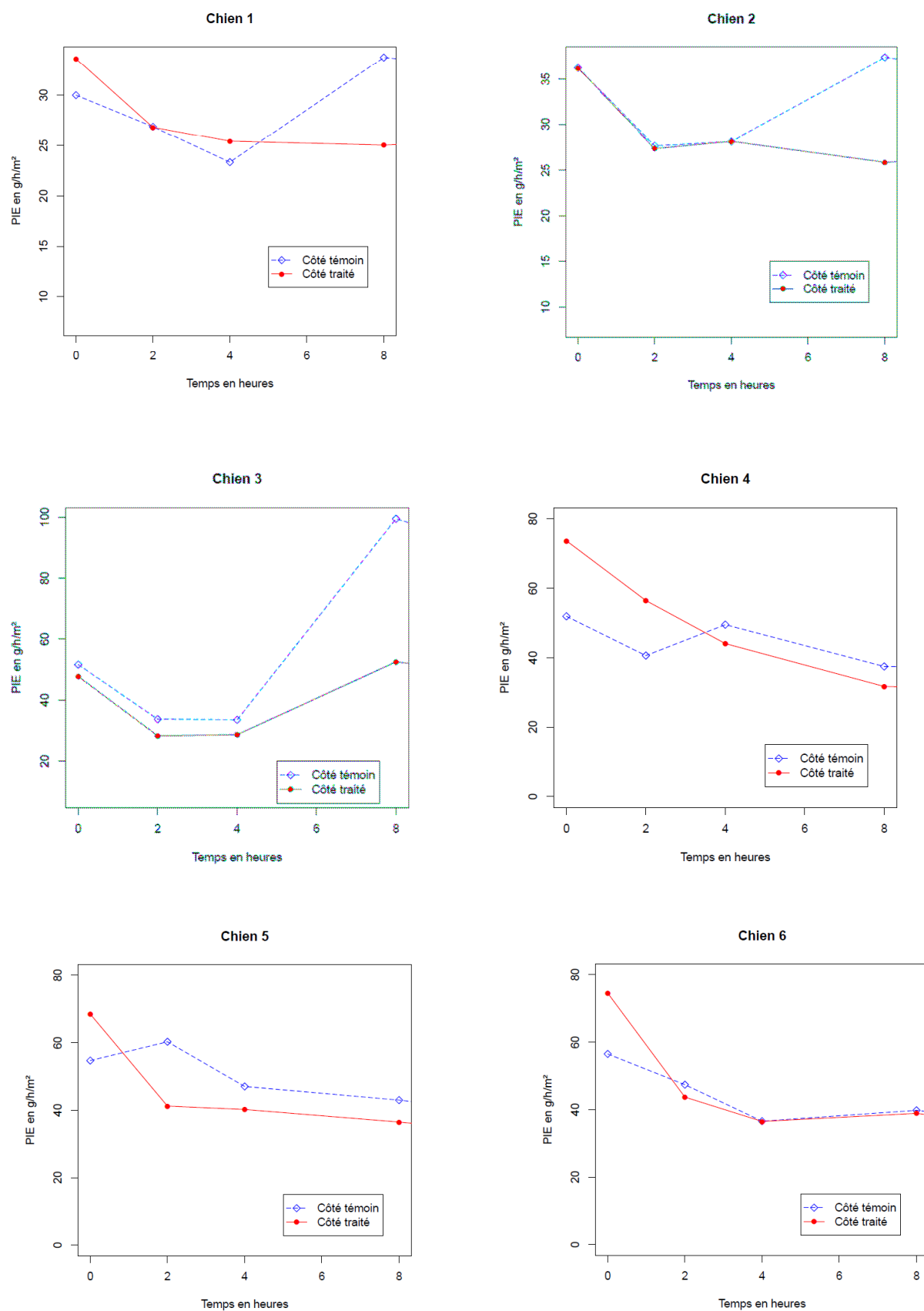


Figure 9 : Evolution des valeurs de la PIE du côté traité et du côté témoin chez les 6 chiens lors des huit premières heures

Une moyenne des valeurs de la PIE sur les six chiens est calculée pour chaque temps, du côté traité et du côté témoin. Le graphique représentant l'évolution de ces valeurs sur les huit premières heures (Figure 10) confirme les observations précédemment exposées, à savoir une décroissance plus rapide de la courbe des sites traités dans les deux premières heures et, de deux heures à huit heures, une croissance marquée de la courbe des sites témoins et une stabilisation de la courbe des sites traités.

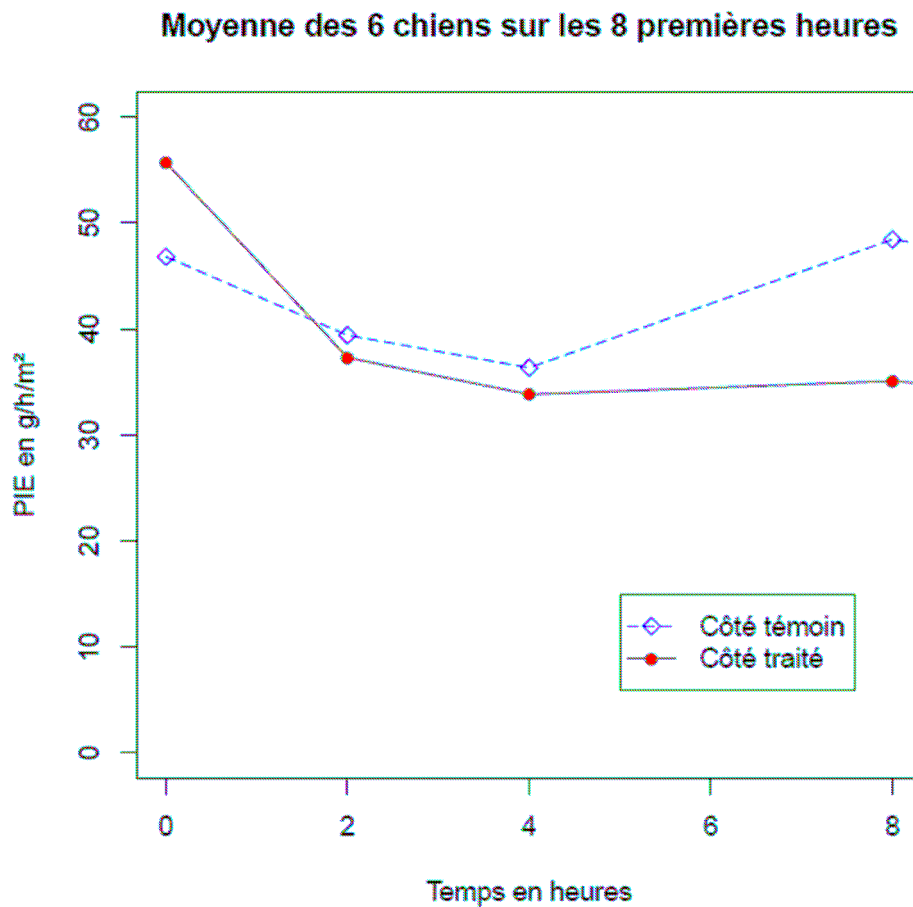


Figure 10 : Evolution moyenne des valeurs de la PIE du côté traité et du côté témoin sur les huit premières heures

- Etude statistique

La répartition des données est normale (Figure 11). Il existe une **différence très significative** ($p = 0,005621$) entre la différence des valeurs de la PIE du côté traité et la différence des valeurs de la PIE du côté témoin sur les huit premières heures.

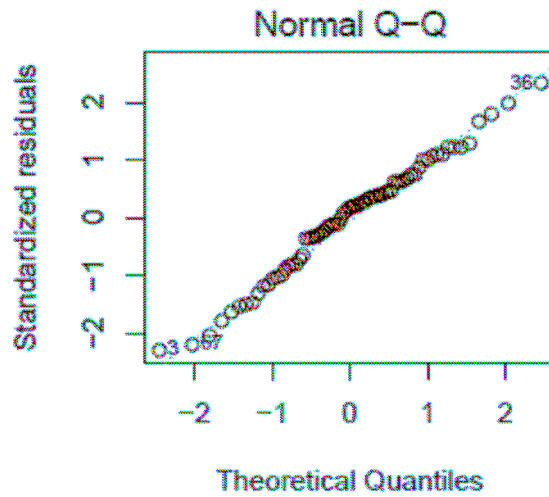


Figure 11 : Normal Q-Q plot, sur les huit premières heures

Sur les huit premières heures, la médiane de la différence de la PIE pour les sites traités est de **19 g.m⁻².h⁻¹** alors qu'elle est de **6 g.m⁻².h⁻¹** pour les sites témoins (Figure 12).

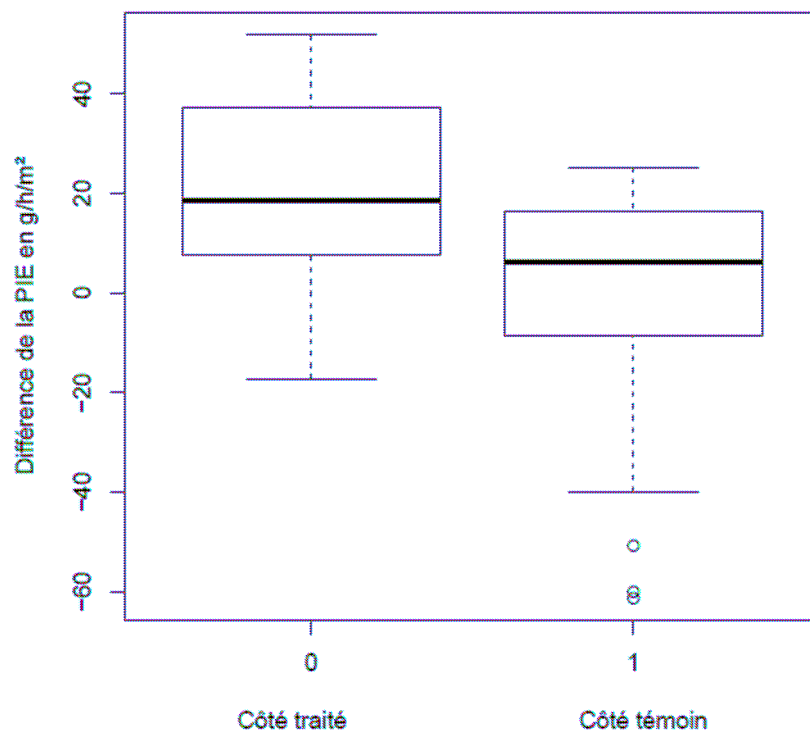


Figure 12 : Boxplot des différences des valeurs de la PIE du côté traité et du côté témoin sur les huit premières heures

b) Comparaison de l'évolution des valeurs de la perte insensible en eau entre le côté traité et le côté témoin sur les vingt-quatre premières heures

- Etude graphique

Pour chaque chien, un graphique représentant les courbes de la valeur moyenne de la PIE en fonction du temps sur les vingt-quatre premières heures est réalisé (Figure 13).

Les courbes des sites témoins de tous les chiens présentent un pic, à 8 heures pour les chiens 1, 2, 3 et 6, à 2 heures pour le chien 5 et à 4 heures pour le chien 4. Les courbes des sites traités ne présentent pas ce pic pour les chiens 1, 2, 4 et 5. Le pic de la courbe des sites traités du chien 3 est beaucoup moins marqué que celui de la courbe des sites témoins. Le pic de la courbe des sites traités du chien 6 est semblable à celui de la courbe des sites témoins.

A partir de 4 heures, toutes les courbes des sites traités se trouvent sous les courbes des sites témoins, malgré des valeurs de départ de la PIE plus élevées du côté traité chez certains chiens (chiens 1, 4, 5, 6).

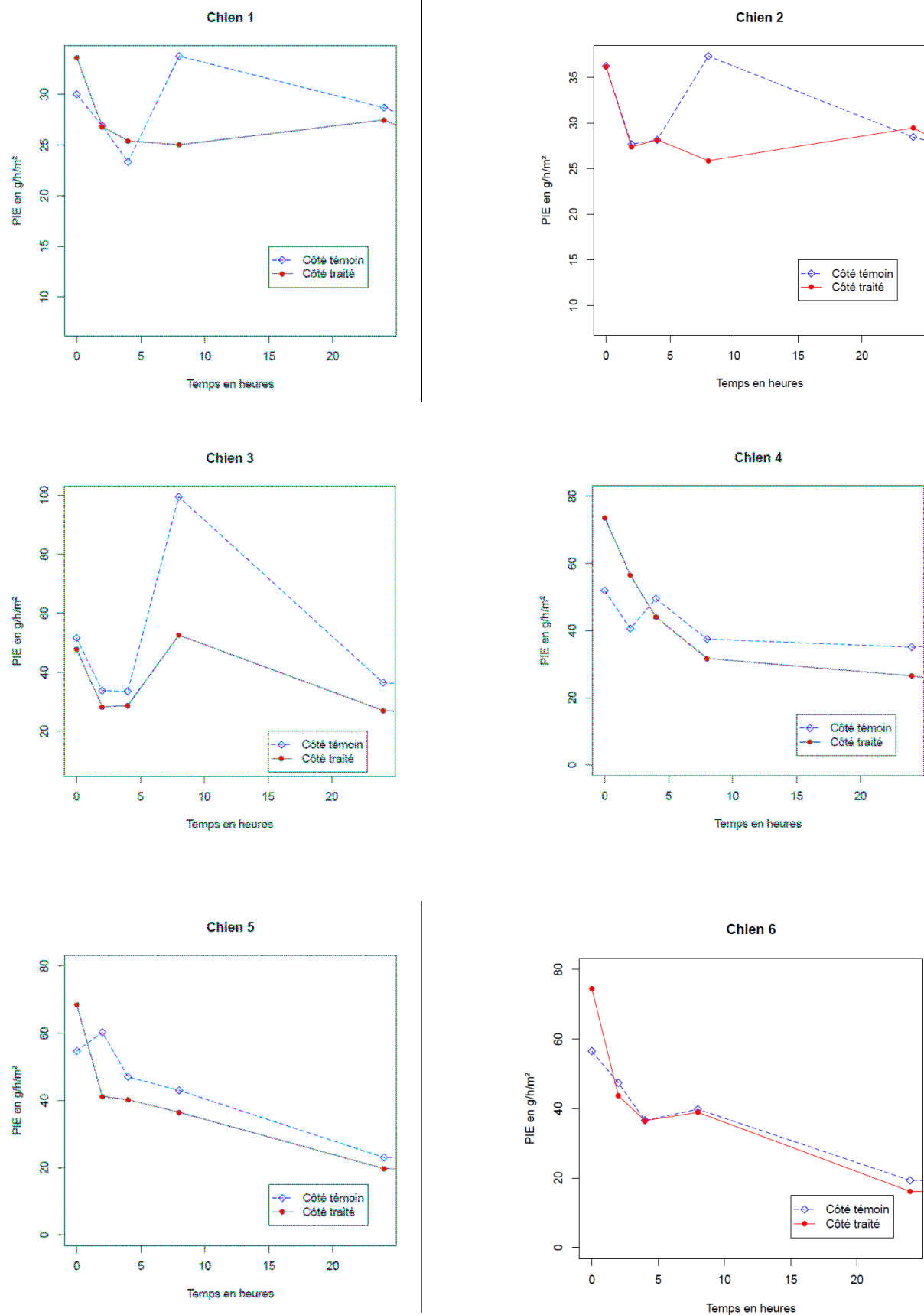


Figure 13 : Evolution des valeurs de la PIE du côté traité et du côté témoin chez les 6 chiens lors des vingt-quatre premières heures

Une moyenne des valeurs de la PIE sur les six chiens est calculée pour chaque temps, du côté traité et du côté témoin. Le graphique représentant l'évolution de ces valeurs sur les vingt-quatre premières heures (Figure 14) confirme les observations précédemment exposées, à savoir l'existence d'un pic de la courbe des sites témoins à 8 heures alors que la courbe des sites traités reste stable à cette période. De plus, la courbe des sites traités reste sous celle des sites témoins à partir de 4 heures.

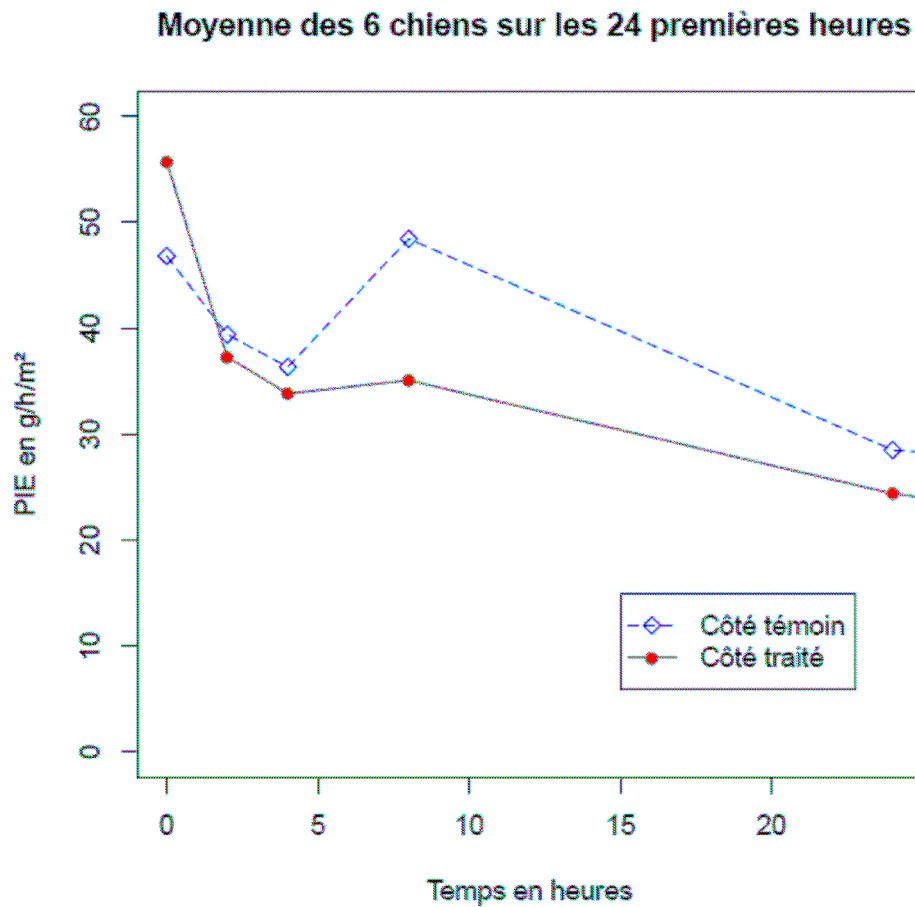


Figure 14 : Evolution moyenne des valeurs de la PIE du côté traité et du côté témoin sur les vingt-quatre premières heures

- Etude statistique

La répartition des données est normale (Figure 15). Il existe une **différence significative** ($p = 0,04367$) entre la différence des valeurs de la PIE du côté traité et la différence des valeurs de la PIE du côté témoin sur les vingt-quatre premières heures.

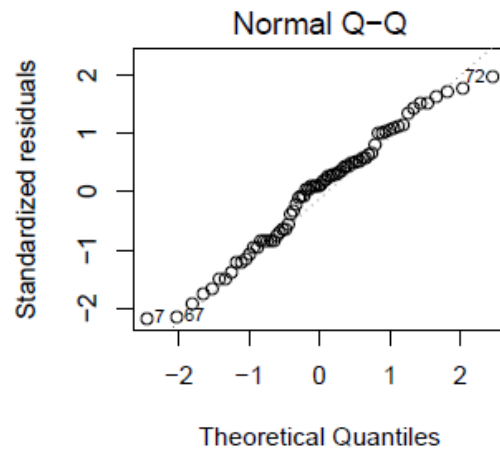


Figure 15 : Normal Q-Q plot, sur les vingt-quatre premières heures

Sur les vingt-quatre premières heures, la médiane de la différence de la PIE pour les sites traités est de **33 g.m⁻².h⁻¹** alors qu'elle est de **16 g.m⁻².h⁻¹** pour les sites témoins (Figure 16).

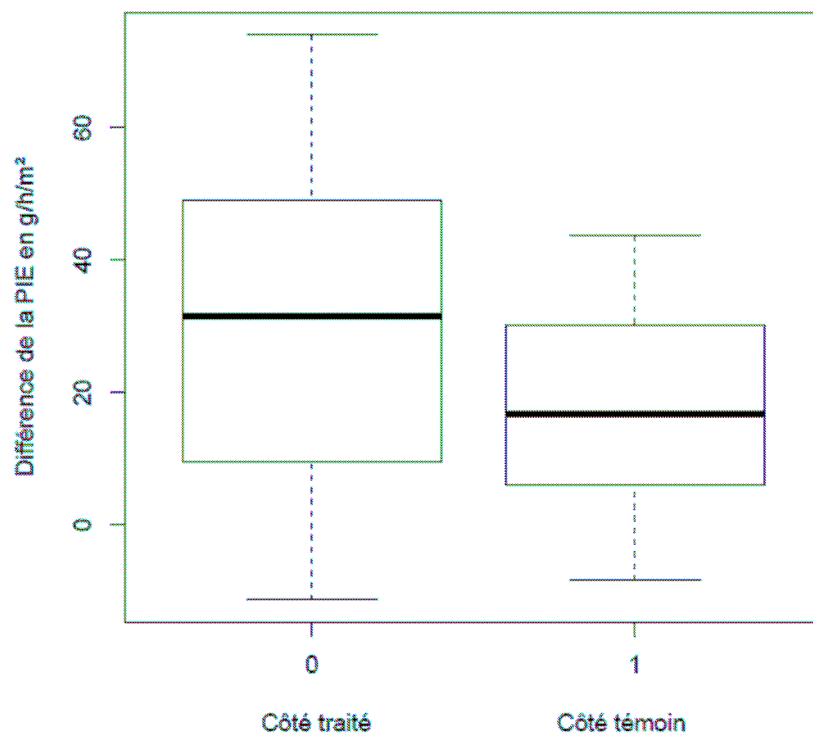


Figure 16 : Boxplot des différences des valeurs de la PIE du côté traité et du côté témoin sur les vingt-quatre premières heures

c) *Comparaison de l'évolution des valeurs de la perte insensible en eau entre le côté traité et le côté témoin sur la totalité de la durée de l'étude*

- Etude graphique

Pour chaque chien, un graphique représentant les courbes de la valeur moyenne de la PIE en fonction du temps sur la totalité de la durée de l'étude est réalisé (Figure 17).

Les courbes des sites témoins et les courbes des sites traités suivent la même évolution, à savoir une descente rapide dans les 24 premières heures pour les chiens 3, 5 et 6 et dans les 48 premières heures pour les chiens 1, 2 et 4 suivie d'une descente lente.

A partir de 4 heures, les valeurs de la perte insensible en eau des côtés traités sont inférieures à celles des côtés témoins.

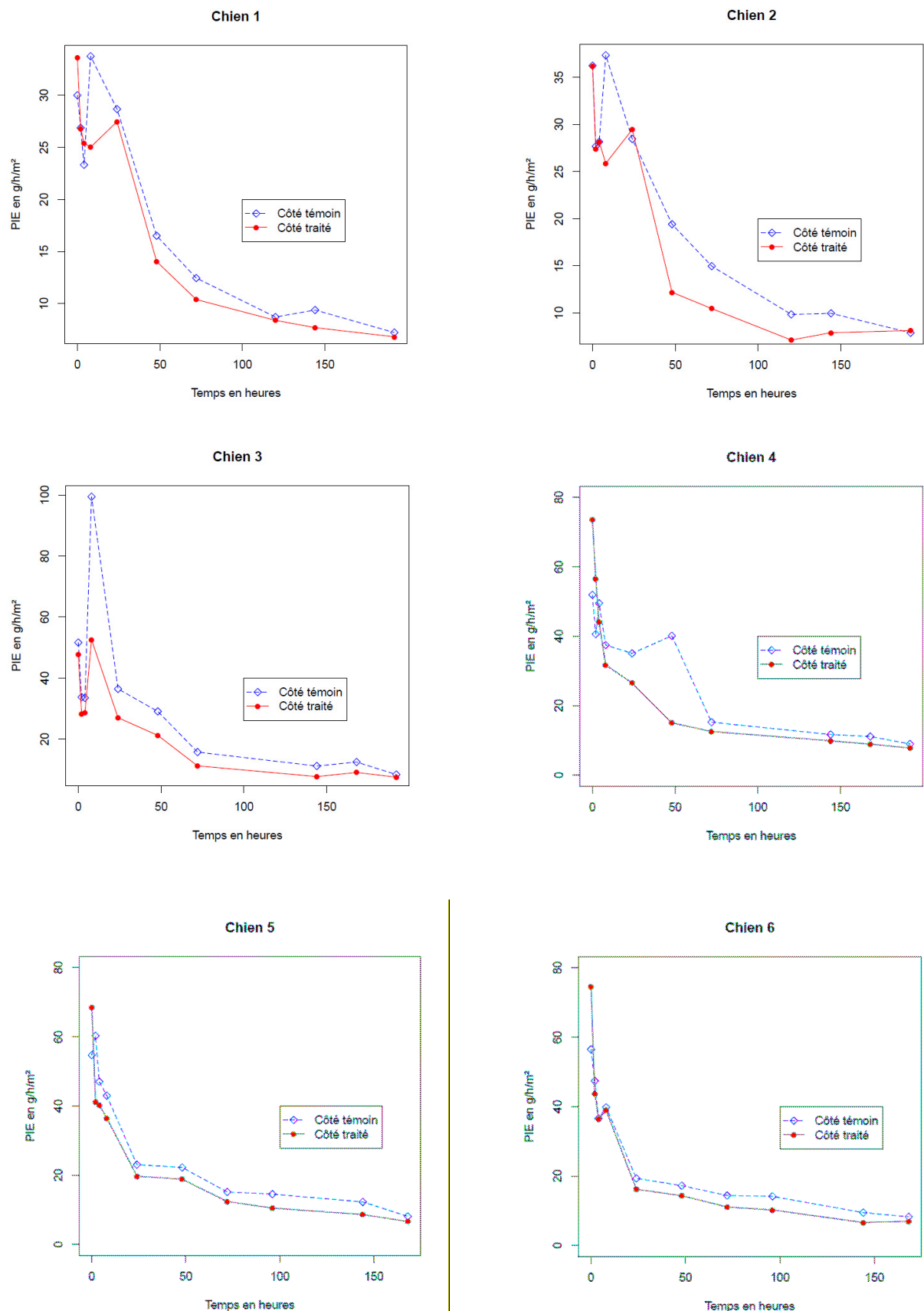


Figure 17 : Evolution des valeurs de la PIE du côté traité et du côté témoin chez les 6 chiens sur toute l'étude

Une moyenne des valeurs de la PIE sur les six chiens est calculée pour chaque temps, du côté traité et du côté témoin. Le graphique représentant l'évolution de ces valeurs sur toute la durée de l'étude (Figure 18) confirme les observations précédemment exposées.

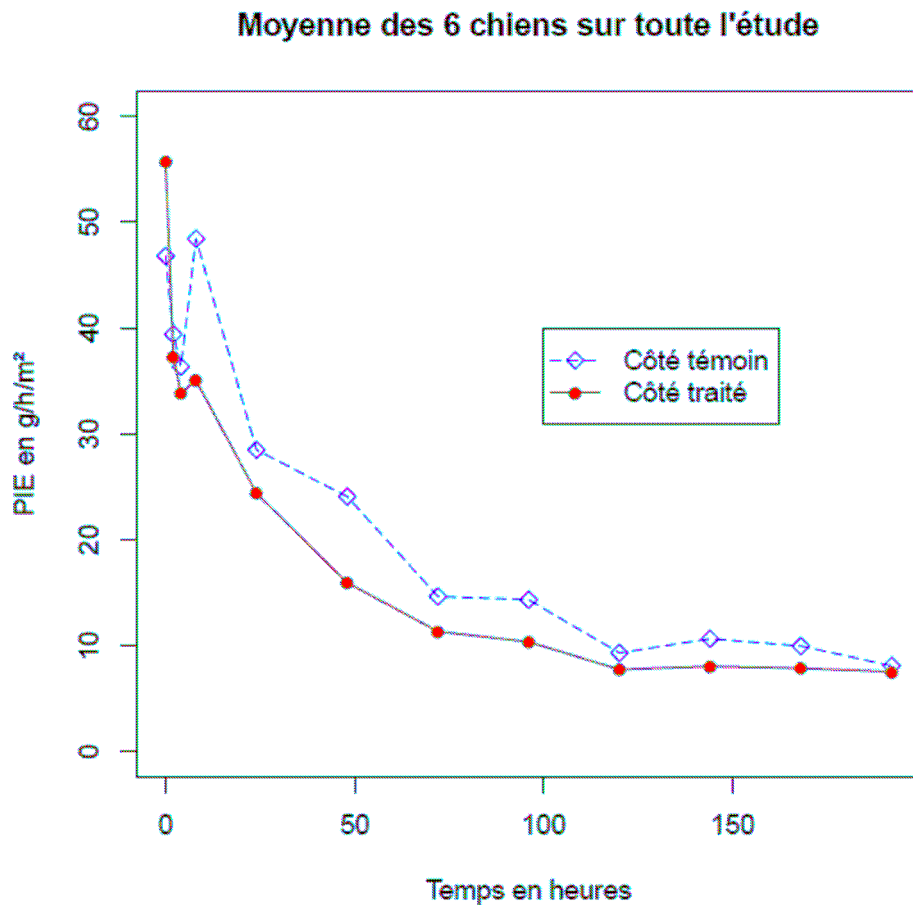


Figure 18 : Evolution moyenne des valeurs de la PIE du côté traité et du côté témoin sur toute la durée de l'étude

- Etude statistique

La répartition des données est normale (Figure 19). Il n'existe **aucune différence significative** ($p = 0,08091$) entre la différence des valeurs de la PIE du côté traité et la différence des valeurs de la PIE du côté témoin sur la durée totale de l'étude.

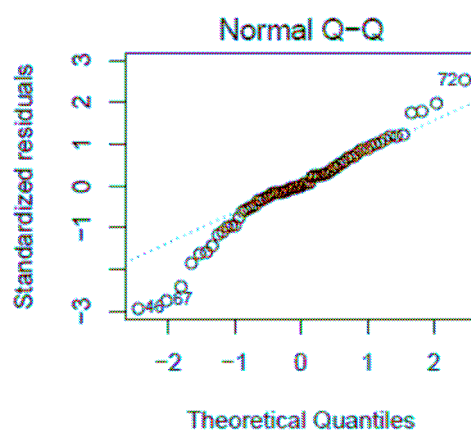


Figure 19 : Normal Q-Q plot, sur toute la durée de l'étude

Sur toute la durée de l'étude, la médiane de la différence de la PIE pour les sites traités est de **46 g.m⁻².h⁻¹** alors qu'elle est de **42 g.m⁻².h⁻¹** pour les sites témoins (Figure 20).

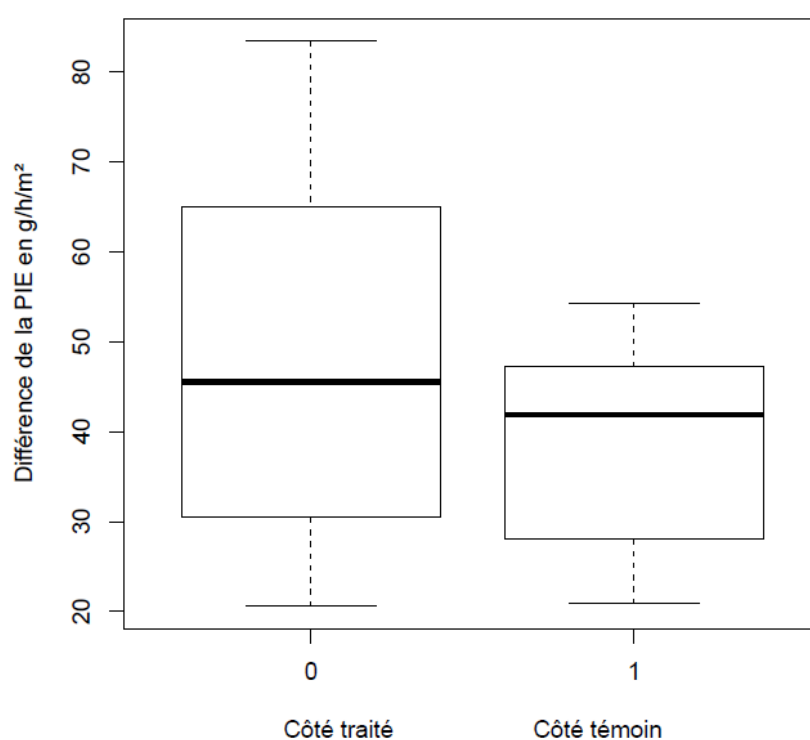


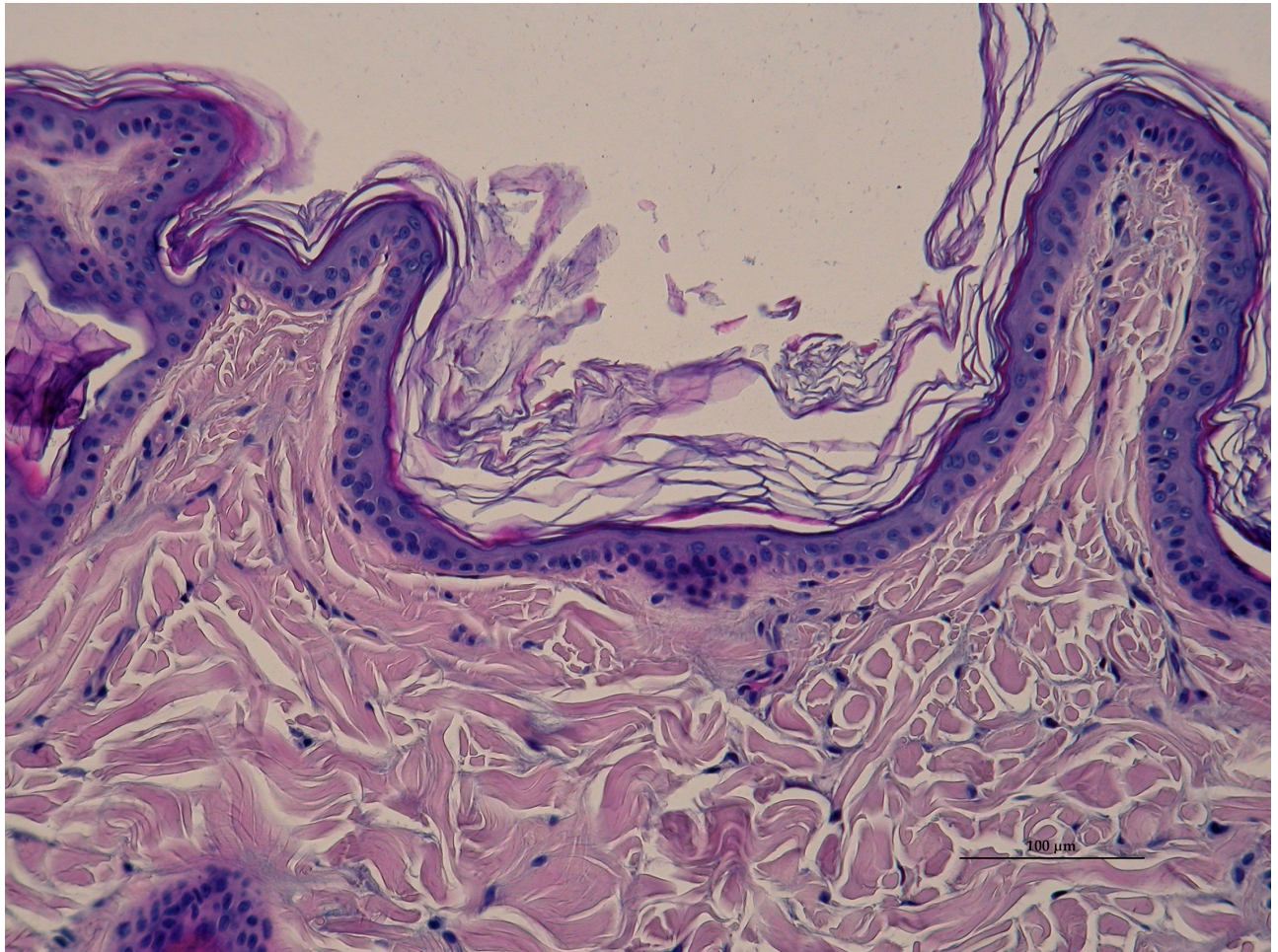
Figure 20 : Boxplot des différences des valeurs de la PIE du côté traité et du côté témoin sur toute la durée de l'étude

2. Examen histopathologique en coloration standard HE

L'aspect des biopsies des six chiens présente, à chaque stade, un aspect similaire, à quelques différences d'intensité près. L'étude détaillée des biopsies pour chaque chien et chaque stade est présentée dans le tableau en annexe 6.

a) En peau saine, avant « tape-stripping » (Photographie 3)

L'épiderme compte 2 à 3 couches cellulaires. La couche cornée est présente et aérée. On distingue bien le *stratum compactum* et le *stratum disjunctum*.

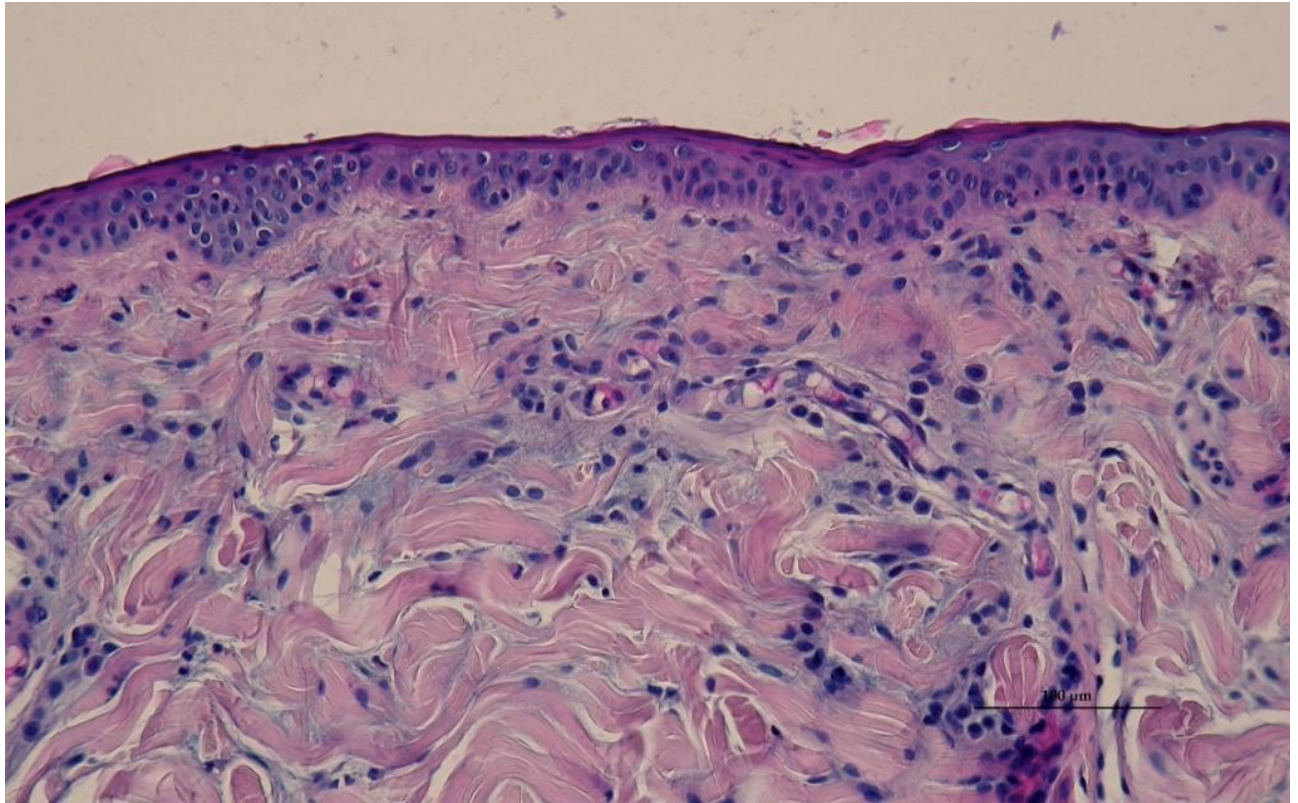


Photographie 3 : Peau saine, x 200, HE

b) Après deux semaines de « tape-stripping » et avant application de l'ERMIDRA® (Photographies 4 et 5)

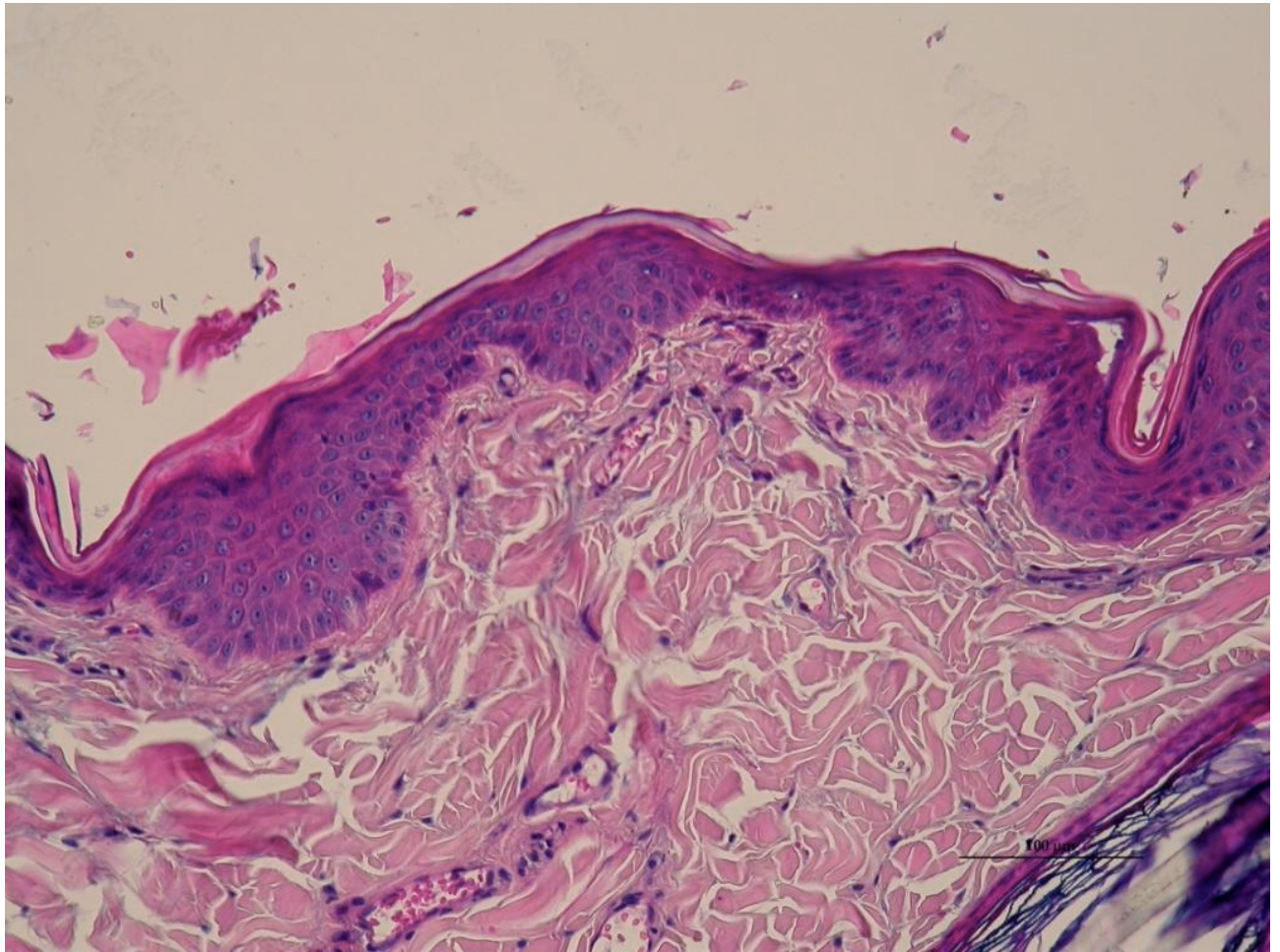
L'aspect de l'épiderme est anormal. La couche cornée est remplacée par une fine couche compacte de kératine. L'épiderme compte 5 à 7 couches cellulaires ; l'**acanthose** est donc

marquée. On note également un **bourgeonnement épidermique** à l'origine de crêtes épidermiques donnant un aspect « ondulé » anormal à la lame basale. Les kératinocytes des assises profondes de ces bourgeons sont de petite taille, arrondis, avec un fort rapport nucléocytoplasmique : elles ont toutes un aspect de cellules basales, ce qui traduit le **caractère prolifératif de l'épiderme**.



Photographie 4 : Peau après deux semaines de « tape-stripping », x 100, HE

Le derme présente lui aussi des anomalies. Un **œdème** et une **congestion** marqués sont notés. L'**infiltrat inflammatoire**, de densité moyenne, est périvasculaire à diffus et composé en majorité de mastocytes. On note également la présence de quelques polynucléaires éosinophiles et de rares histiocytes.

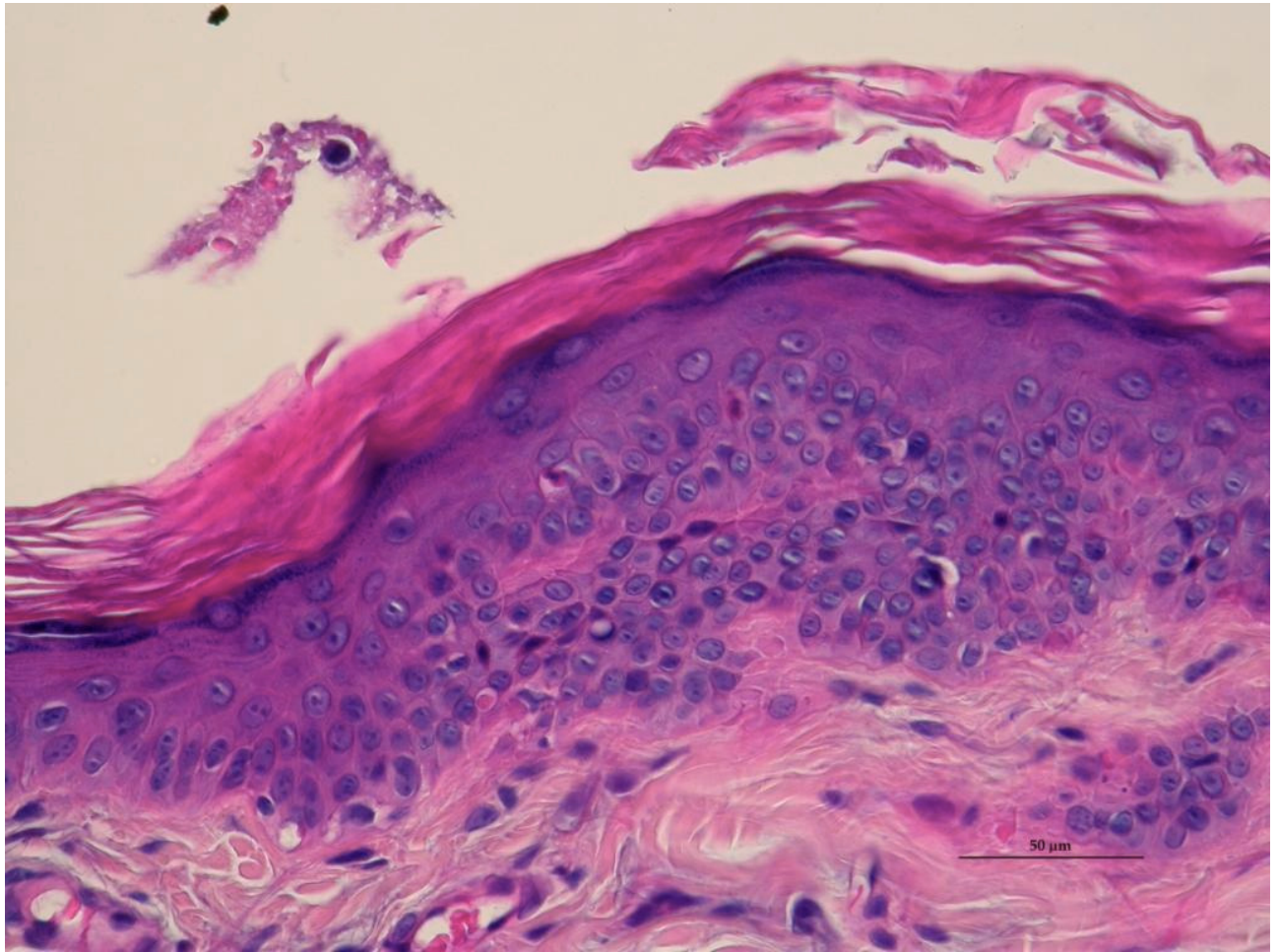


Photographie 5 : Peau après deux semaines de « tape-stripping », x 200, HE

c) *Après une semaine d'applications bi-quotidiennes d'ERMIDRA® ou d'une solution isotonique de chlorure de sodium et sans « tape-stripping »*

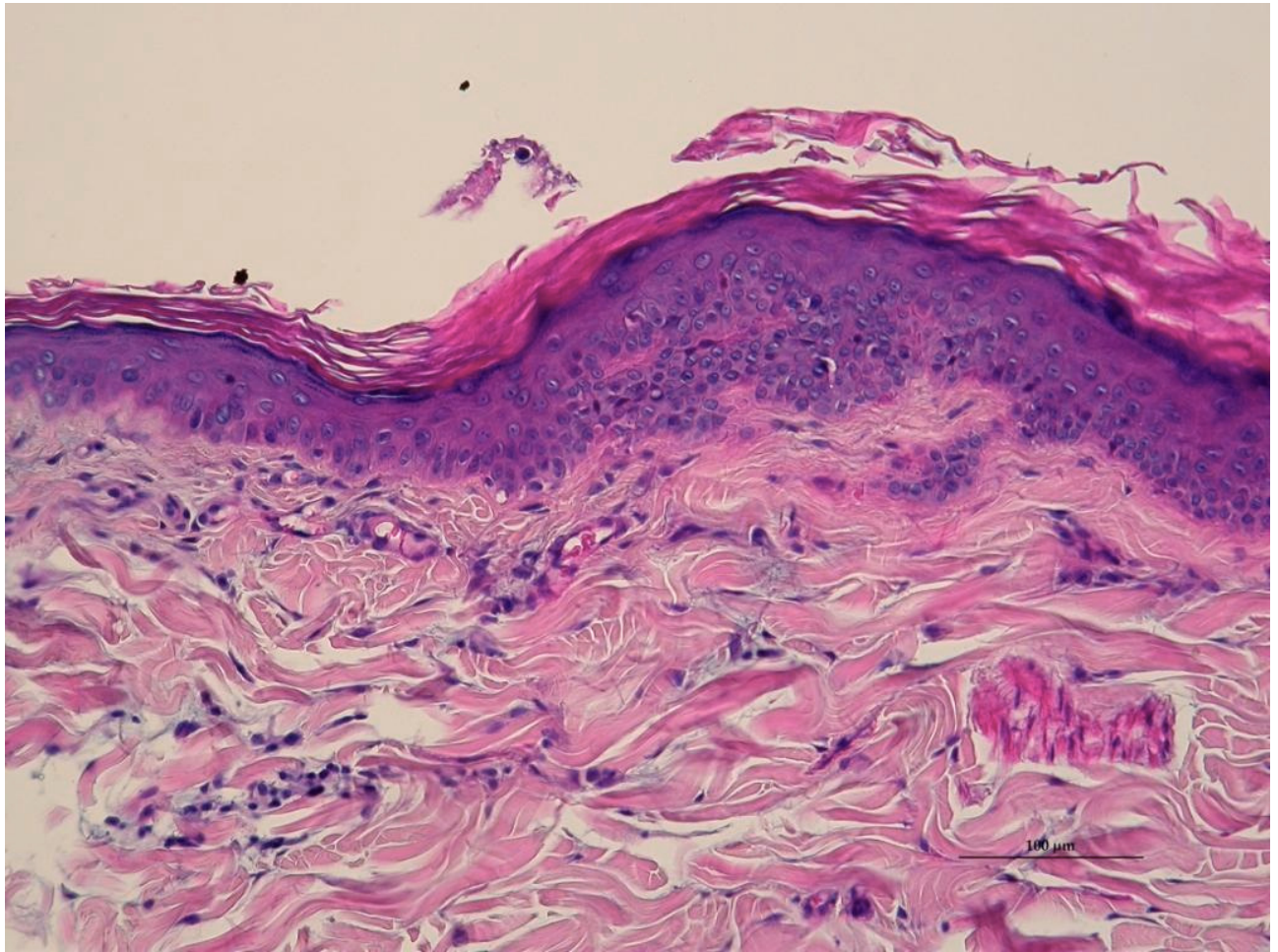
- Côté témoin (Photographies 6 et 7)

La couche cornée réapparaît mais son aspect est anormal. Elle est **très compacte, peu aérée**. L'**acanthose** et le **bourgeonnement épidermique**, donnant de nombreuses crêtes épidermiques, sont toujours présents. On remarque que l'aspect « ondulé » de la membrane basale persiste. De nombreux kératinocytes **apoptotiques** sont visibles, signe d'une régulation du phénomène hyperplasique et d'un retour à l'homéostasie.



Photographie 6 : Peau après une semaine d'applications bi-quotidiennes de soluté physiologique de chlorure de sodium et sans « tape-stripping », x 400, HE

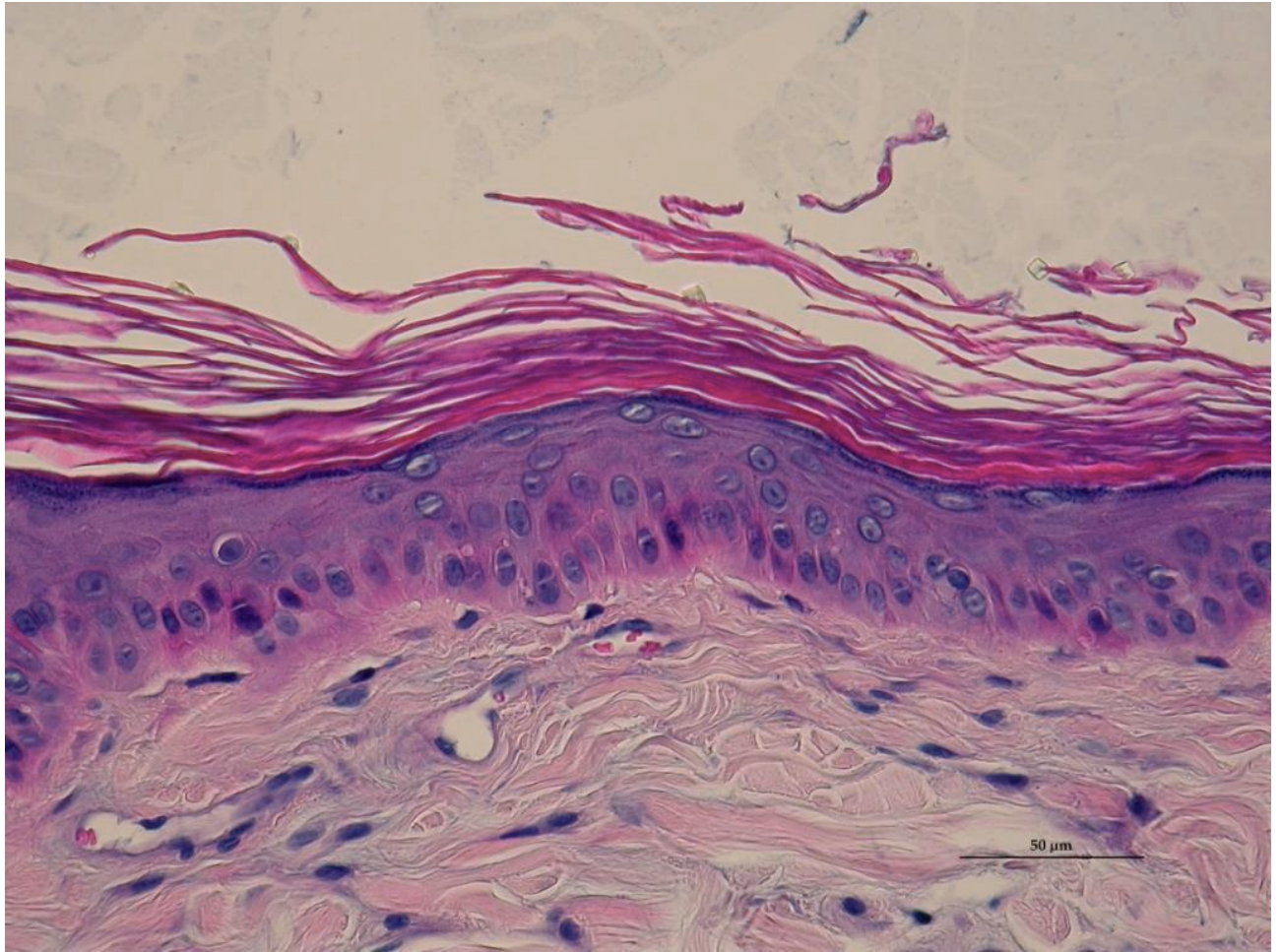
On note une diminution de la congestion et une disparition de l'œdème. La densité de l'infiltrat inflammatoire est diminuée, sa localisation est principalement périvasculaire et le caractère diffus reste discret. Une diminution du nombre de mastocytes, ainsi qu'une disparition des polynucléaires éosinophiliques, sont observées.



Photographie 7 : Peau après une semaine d'applications bi-quotidiennes de soluté physiologique de chlorure de sodium et sans « tape-stripping », x 200, HE

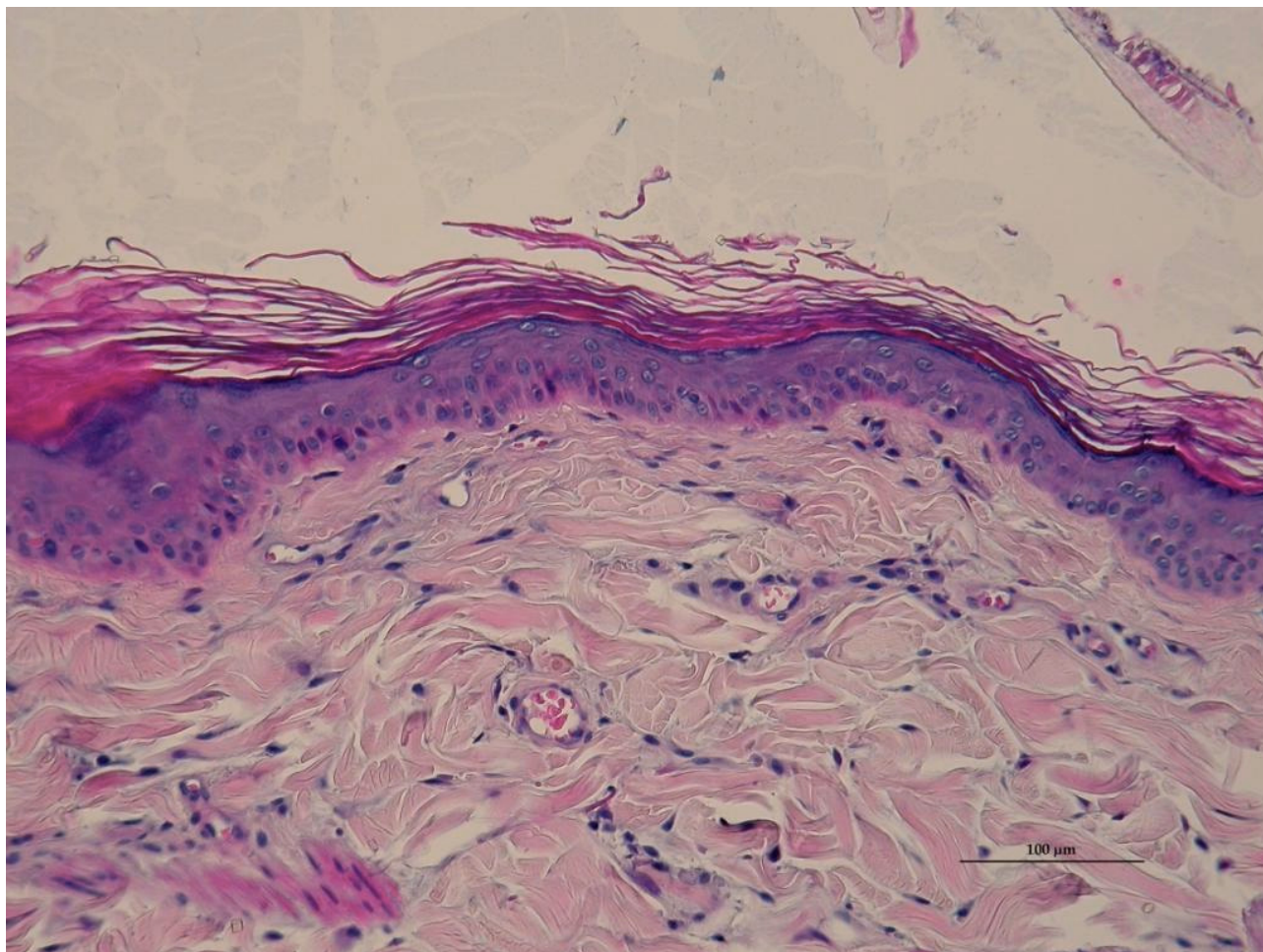
- Côté traité (Photographies 8 et 9)

La couche cornée a récupéré un aspect très proche de la normale sur toute la surface des biopsies. L'épaisseur de l'épiderme a nettement diminué et est inférieure à celle des sites témoins. Le bourgeonnement épidermique a diminué et la membrane basale apparaît rectiligne et horizontale. Les kératinocytes de la couche basale ont récupéré un aspect proche de la normale et aucune image d'apoptose n'est visible.



Photographie 8 : Peau après une semaine d'applications bi-quotidiennes d'ERMIDRA® et sans « tape-stripping », x 400, HE

On note une diminution de la congestion et une disparition de l'œdème. La densité de l'infiltrat inflammatoire est diminuée, sa localisation est principalement périvasculaire et le caractère diffus a disparu. Une diminution du nombre de mastocytes, ainsi qu'une disparition des polynucléaires éosinophiles, sont observées.



Photographie 9 : Peau après une semaine d'applications bi-quotidiennes d'ERMIDRA® et sans « tape-stripping », x 200, HE

D. Discussion

1. Détermination des sites d'étude

Douze sites ont été choisis par chien pour obtenir des statistiques fiables. Certains sites étant biopsiés précocement, les sites devaient être suffisamment grands pour continuer à être exploités après la biopsie, d'où le choix d'une taille de 2 cm sur 3 cm pour ces derniers.

L'option de placer ces sites en face ventrale du corps a été écartée par manque de place sur cette région chez des chiens de race Beagle. A noter également que cette zone est plus soumise aux irritations. De plus, les manipulations, à savoir la réalisation des strips et la réalisation des mesures, étaient chronophages et nécessitaient une immobilité des sujets. Il

aurait été difficile d'exiger des chiens de rester un temps aussi long sur le dos tous les jours. Enfin, il est difficile d'avoir une orientation correcte de la sonde à cet endroit.

Le choix de la localisation des sites s'est, par conséquent, porté sur la zone des flancs à droite et à gauche. Cette localisation présente cependant deux inconvénients : la densité importante du pelage nécessitant des tontes régulières pouvant interférer avec les mesures et la gêne engendrée par la présence des côtes pour le positionnement de la sonde de mesure.

2. Etablissement du modèle de rupture chronique de la barrière cutanée

Comme il a été précisé dans la partie bibliographique, la procédure de tape-stripping est influencée par de nombreux facteurs. Des éléments aidant à standardiser la procédure sont proposés par certains auteurs (Tableau 4). Le site d'application ne doit pas comprendre de poils et aucun shampoing préalable ne doit être réalisé. Les adhésifs peuvent être appliqués sur la peau à l'aide d'un rouleau, ce qui permettrait de diminuer l'influence des sillons et des plis de la peau et d'éviter les plis de l'adhésif. Si l'adhésif est assez fin et flexible, l'utilisation d'un rouleau s'en trouve optimisée. La composition et la distribution de la couche adhésive doivent être uniformes sur toute la surface de l'adhésif. Dans l'idéal, il faut s'astreindre à appliquer une pression suffisamment forte et constante lors de l'application et à contrôler la rapidité avec laquelle on retire l'adhésif du site d'étude. Elle dépend bien évidemment du manipulateur, dans l'idéal il faudrait s'astreindre à garder une vitesse constante [LADEMANN, 2009]. La rupture de la barrière cutanée est plus importante si les strips sont retirés à une vitesse relativement lente [LADEMANN, 2009 ; LOFFLER, 2004] et si le temps et la pression d'application sont élevés [LOFFLER, 2004]. Enfin, Lademann et al. suggèrent que l'application d'une solution à base d'éthanol permet d'augmenter l'épaisseur de couche cornée retirée par l'adhésif [LADEMANN, 2009].

	Standardisation de la procédure
Facteurs intrinsèques	
• Site anatomique	<ul style="list-style-type: none"> • Même zone anatomique • Tondue ou sans poil • Pas de shampoing préalable
• Age des sujets	• Sujets dans la même tranche d'âge
• Présence de plis cutanés	• Utilisation d'un rouleau
Facteurs extrinsèques	
• Type d'adhésif	<ul style="list-style-type: none"> • Même adhésif • Fin et flexible
• Durée d'application	• Longue
• Rapidité de retrait	• Vitesse constante et relativement lente
• Pression exercée lors de l'application	• Forte et constante

Tableau 4 : Contrôle des facteurs intrinsèques et extrinsèques lors de la procédure de tape-stripping

Chez l'homme, une étude a estimé que la réalisation de 20 strips permet de retirer environ 66% de la couche cornée et que la réalisation de 50 strips supprime près de 95% de la couche cornée. La quantité de couche cornée retirée par strip décroît, de façon non linéaire, avec l'augmentation du nombre de strips, pour un même site, donc avec la profondeur de couche cornée atteinte. Une des raisons à ce phénomène pourrait être une augmentation de la cohésion des cornéocytes entre eux avec la profondeur de la couche cornée [LADEMANN, 2009 ; JACOBI 2005 ; BASHIR, 2001 ; TOKUMURA, 2005].

Cependant, malgré une standardisation optimale de la procédure, la quantité de couche cornée et, par conséquent, la valeur de la perte insensible en eau peuvent varier de façon importante d'un individu à l'autre, d'un côté à l'autre et, même, d'un site à l'autre. Les valeurs de la perte insensible en eau à T0 étant très différentes selon les sites (voir annexe 4), il a été décidé de mener les études statistiques sur la **différence** entre les valeurs de PIE à T0 et les valeurs aux temps T0+8, T0+24h et T0+168h ou T0+192h.

3. Mesure de la perte insensible en eau

Chez l'Homme, de nombreux articles valident l'utilisation de la mesure de la perte insensible en eau pour évaluer la réparation de la barrière cutanée. Dans une étude récente, la mesure de la PIE est considérée comme la meilleure méthode non invasive pour apprécier les changements de la fonction de barrière cutanée lors d'une procédure de tape-stripping [DARLENSKI, 2009]. Nous nous sommes donc tout naturellement basés sur l'évolution de ce paramètre pour évaluer la restauration de la barrière cutanée.

a) *Contrôle des facteurs de variation influençant la mesure de la perte insensible en eau*

Comme il l'a été précisé dans l'étude bibliographique, cette mesure est soumise à de nombreux facteurs de variation.

L'appareil de mesure dont nous disposons est un appareil à chambre fermée (VapoMeter®). Fluhr, Feingold et Elias ont publié en 2006 un article portant sur l'évaluation de différents appareils de mesure chez l'Homme et la souris *in vivo* et *ex vivo*. Dans cette étude, le VapoMeter®, entre autres, apparaît comme capable de détecter de faibles variations de PIE et sa reproductibilité est qualifiée de très bonne [FLUHR, 2006]. Les mesures de notre étude étaient effectuées sur des animaux non tranquillisés. Les propriétés du VapoMeter® (temps de mesure réduit, indépendance vis-à-vis des mouvements d'air extérieurs, angle de mesure indifférent) nous ont, a priori, permis de limiter l'influence des mouvements éventuels du sujet lors de la mesure. Les mouvements d'air du milieu extérieur ne perturbant pas la mesure de la perte insensible en eau avec un appareil à chambre fermée, on peut raisonnablement émettre l'hypothèse que l'orientation de la sonde n'influence pas la mesure [IMHOF, 2009], ce qui est confirmé par la notice. Toutefois, l'agitation des sujets lors de certaines mesures a pu quelque peu modifier les valeurs obtenues. En effet, Watson et al. ont démontré que les variations entre les valeurs de PIE mesurées avec un appareil à chambre ouverte sont beaucoup moins importantes chez les chiens entraînés à rester immobiles que chez les chiens n'ayant pas reçu cette éducation [WATSON, 2002]. On peut supposer que cette tendance, même si elle est moindre, est la même pour un appareil à chambre fermée. Une éducation préalable des animaux, comme il est décrit dans un certain nombre d'études, [HESTER, 2004 ; WATSON, 2002] n'a pas été réalisée par manque de temps mais aurait été souhaitable. Les chiens participant à cette étude sont cependant habitués à être manipulés et à rester calmes durant les manipulations. Mesurer la perte insensible en eau à l'aide d'un appareil à chambre ouverte présente deux inconvénients non négligeables : la mesure est hautement influencée par les mouvements de l'animal et l'humidité absorbée par les poils résiduels est détectée par les capteurs de la sonde. L'emploi d'un appareil à chambre fermée permet de limiter fortement l'influence de ces facteurs sur les mesures. L'option d'une tranquillisation n'a pas été retenue principalement pour deux raisons. Tout d'abord, la totalité de l'étude s'étend sur plus d'un mois ; or il est difficilement envisageable de tranquilliser presque tous les jours des chiens pendant une période aussi longue. Ensuite, cela aurait pu modifier de façon artéfactuelle la physiologie cutanée. En effet, il a été démontré, chez le

chien, qu'une tranquillisation à la médétomidine réduit la perfusion cutanée de 70 à 90%, interférant ainsi avec les mesures de PIE [BECO, 2000].

Malgré la bonne fiabilité du VapoMeter®, Cohen et al. ont souligné une lacune dans son utilisation : la sonde se réinitialise automatiquement après deux minutes, même si le microclimat dans la chambre de mesure n'est pas encore revenu à la normale et ne correspond pas au milieu extérieur [COHEN, 2009]. L'humidité dans la chambre de la sonde lors de la mesure suivante peut donc parfois être plus élevée que l'humidité du milieu extérieur et fausser la valeur de la mesure.

La pluralité des opérateurs a aussi pu constituer un facteur de variation, notamment parce que la pression exercée sur la sonde n'était peut-être pas la même d'un opérateur à l'autre.

Quelques mesures ont été effectuées au début de l'étude sur peau saine pour avoir une idée des valeurs de base dans le groupe d'étude mais les valeurs de PIE n'ont pas été mesurées pour tous les sites avant de débiter la procédure de tape-stripping. Nous avons considéré que la réparation de la barrière d'un site était terminée quand sa valeur de TEWL se situait autour de $10 \text{ g.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$. Il aurait été intéressant d'avoir les valeurs basales de chaque chien et de chaque site et de disposer ainsi des éléments de comparaison pour présenter nos résultats en pourcentage de récupération. Les valeurs basales chez l'espèce canine ne sont pas toujours concordantes selon les études. Des études réalisées sur des chiens de race Beagle et des chiens croisés rapportent des valeurs basales autour de $20 \text{ g.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$ [YOSHIHARA, 2007 ; SHIMADA, 2008] alors que d'autres situent leurs valeurs basales autour de $10 \text{ g.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$ [DE PAEPE, 2005 ; HESTER, 2004 ; HIGHTOWER, 2010 ; BECO, 2000 ; SHIMADA, 2009], ce qui correspond aux quelques mesures que nous avons faites au début de l'étude. Ces différences peuvent être dues à de nombreux facteurs, tels que l'appareil de mesure ou la race des chiens [LAU-GILLARD, 2009], qui rendent les études difficilement comparables.

Le temps nécessaire de mesure pour chaque sujet (chaque site est mesuré trois fois au minimum, chaque chien comporte douze sites) a été largement sous-estimé. En pratique, le temps de mesure des douze sites d'un sujet se situait entre trente minutes et une heure. Par conséquent, alors que nous avions prévu de débiter la partie « évaluation de l'ERMIDRA® » à J15 pour tous les sujets, nous avons été obligés de les dégrouper et de les faire deux par deux. En effet, il nous était impossible de réaliser des mesures à T0, T0 + 2h, T0 + 6h et T0 + 8h pour les six sujets la même journée. Le temps de mesure a réellement été un facteur limitant dans cette partie de l'étude.

L'influence du site corporel sur les valeurs de PIE a été clairement établie. Tous les sites d'étude se trouvaient sur les flancs de nos sujets, cependant nous avons noté une légère

tendance à des valeurs plus hautes en partie thoracique qu'en partie abdominale, ce qui pourrait être dû à une structure de l'épiderme et une cohésion entre les cornéocytes différentes selon la localisation anatomique. De plus, il semblerait que les valeurs de perte insensible en eau puissent, chez certains sujets, varier entre le côté droit et le côté gauche. En effet, dans une étude de 2009, Lau-Gillard et al. ont démontré que, chez 7 des 20 chiens testés, les valeurs de PIE différaient significativement d'un côté à l'autre [LAU-GILLARD, 2009]. Ces observations soulignent l'importance de choisir des sites d'étude proches, structurellement parlant, pour limiter l'influence de ce facteur.

En raison de considérations pratiques, les mesures ont été effectuées à des moments de la journée différents. Darlenski et al. rapportent que, chez l'Homme, il existe une variation des valeurs de la PIE en fonction cycle circadien [DARLENSKI, 2009] ; cependant comme nos sujets n'avaient pas accès à l'extérieur, on peut supposer que le rythme nyctéméral avait peu d'influence sur nos mesures.

Les études réalisées chez l'Homme montrent une influence modérée voire nulle du sexe [GIACOMONI, 2009] et de l'âge des sujets sur la mesure de la perte insensible en eau [MACHADO, 2010]. Etant donné que l'influence de ces deux paramètres sur la perte insensible en eau reste inconnue dans l'espèce canine, les animaux retenus dans l'étude étaient de même âge, de même sexe et de même race, ce qui nous a permis de nous affranchir de ces facteurs de variation potentiels. Qui plus est, une des chiennes a déclaré ses chaleurs durant notre étude. Même si l'influence hormonale n'est pas établie chez le chien, on peut légitimement se demander si cela a faussé les lectures de TEWL.

La tonte constitue un facteur moins bien contrôlé. La première tonte a été réalisée 72 heures avant les premières mesures, comme dans l'étude de Beco et Fontaine [BECO, 2000]. Nous avons prévu de tondre une fois par semaine environ, dans la mesure du possible le vendredi car aucune mesure n'était réalisée le weekend. Dans ce cas de figure, l'influence de la tonte aurait pu être considéré comme nulle car 72 heures au minimum aurait séparé la tonte des mesures. Il s'est avéré que la repousse des poils a été beaucoup plus rapide que prévu, et nous nous sommes retrouvés dans l'obligation d'effectuer une tonte des sites environ tous les deux jours. Certains auteurs choisissent de ne pas tondre et d'écarter les poils pour réaliser la mesure [HIGHTOWER, 2010]. Etant donné la forte densité de poils, au niveau des flancs, de nos sujets, la détermination précise des sites d'étude, les strips, les mesures de perte insensible en eau et l'application de l'ERMIDRA® n'auraient pas été réalisables dans ces conditions.

Toutes les mesures ont été réalisées dans une pièce à ambiance contrôlée, avec extrêmement peu de passage pour limiter l'excitation des sujets. Cependant, la sonde était

tenue avec les mains et sa température n'était pas contrôlée, il se peut que ceci ait eu une influence sur les mesures. Les sujets étaient logés en permanence dans des box où les conditions de température et d'humidité étaient constantes, mis à part un après-midi où ils ont été sortis par erreur de l'institut sous un temps pluvieux. Nous n'avons par conséquent pas réalisé l'application de l'ERMIDRA® prévue le soir car le fait de sécher les flancs des chiennes nous a paru être plus à même de fausser les lectures de TEWL que de la non-application pour une fois du réhydratant cutané. Nous nous sommes posé la question de l'influence de cette exposition accidentelle à un environnement humide sur les valeurs obtenues le lendemain. Il est probable que le contact avec l'eau, en elle-même, ne modifie pas de façon durable les valeurs de PIE car une évaporation a lieu rapidement. Néanmoins, il est rapporté qu'un changement soudain de l'humidité de l'environnement peut influencer l'hydratation de la couche cornée [RAWLINGS, 2005].

Denda et al. rapportent qu'un stress, induit par immobilisation ou par un environnement surpeuplé, chez des souris retarde de façon significative la réparation de la barrière cutanée [DENDA, 1998]. Malgré les bonnes conditions de traitement des chiens d'expérimentation, on peut se demander si le logement permanent à l'intérieur, le peu de place et de possibilité d'exercice qui en résulte ainsi que le port de la collerette pendant un mois n'aurait pas été à l'origine d'un stress qui aurait pu, comme dans l'espèce murine, retarder la réparation de la barrière cutanée. Toutefois, cette influence, si elle existe, apparaît moins importante que le léchage des sites et leur exposition aux UV et à la pluie.

Une étude, en parallèle, sur des sujets présentant une dermatose s'accompagnant d'une altération de la barrière cutanée, aurait été intéressante. En effet, les patients atteints de dermatite atopique, par exemple, présentent en permanence une barrière cutanée altérée à cause du prurit [TANAKA, 1997] et du déficit constitutif de barrière cutanée. Les mesures de TEWL dans les zones concernées sont bien plus élevées que chez les sujets normaux et, ce, même au niveau des zones non lésionnelles [SHIMADA, 2009]. Cette procédure aurait été néanmoins difficile à réaliser. La comparaison des données aurait été hautement critiquable à cause de la disparité des sujets et des nombreux facteurs de variation tels que l'alimentation, la race, le sexe, l'âge, l'environnement, l'observance du traitement... De plus, le fait que la capacité des sujets souffrant de dermatite atopique à restaurer la fonction de barrière cutanée, suite à une procédure de tape-stripping, dans les zones non atteintes cliniquement, soit la même que chez les témoins [PROKSCH, 1991], nous permet de prendre comme modèle la rupture chronique par tape-stripping sur chiens sains.

b) Interprétation des résultats obtenus

Dans les modèles murins, l'efficacité des traitements visant à restaurer la barrière cutanée est testée dans des conditions similaires et est évaluée dans les premières heures de la restauration. Souvent, deux phases sont distinguées : une phase précoce de 0 à 6-8h et une phase tardive de 6-8h à 24h. L'efficacité du traitement est, le plus souvent, jugée dans la phase précoce. En effet, *in vivo*, le défaut de barrière est permanent et constitutif dans certaines dermatoses, notamment dans la dermatite atopique, ou peut être induit en permanence, notamment lors de dermatoses prurigineuses. Cet état équivaut aux conditions rencontrées dans les premières heures dans cette étude.

Les courbes des sites témoins présentent une décroissance dans les deux premières heures puis un pic vers 8 heures. Ce type d'évolution des valeurs de la PIE est classiquement observé chez le chien sain. En effet, comme il a été vu dans l'étude bibliographique, l'exocytose des corps lamellaires préformés et stockés dans la partie supérieure de la couche granuleuse a lieu rapidement suite à une rupture de la barrière cutanée et limite dans un premier temps l'augmentation de la perte insensible en eau. Une fois que le stock en corps lamellaires est épuisé, la compensation disparaît et la PIE augmente jusqu'à ce que de nouveaux corps lamellaires soient formés. La décroissance des courbes des sites traités, dans les deux premières heures, est plus importante. De plus, l'application de l'ERMIDRA® efface le pic, observé vers 8 heures du côté témoin, montrant ainsi la compensation du défaut de barrière par le réhydratant. La différence entre les valeurs de PIE à T0 et les valeurs de PIE à T0+8h est très significativement plus importante du côté traité que du côté témoin ; la récupération de la barrière cutanée durant la phase précoce est, par conséquent, beaucoup plus rapide lors d'application d'ERMIDRA®. Cette différence est toujours significative sur les 24 premières heures ; l'effet bénéfique d'une application bi-quotidienne d'ERMIDRA® sur la restauration de la barrière cutanée lors d'une rupture chronique se poursuit donc durant la phase tardive. La différence reste significative jusqu'à T0+144h ($p = 0,04274$, résultats non présentés) ; cependant la différence entre la valeur de PIE « basale » et la valeur de PIE obtenue lors de la phase de restauration n'étant plus significativement différente après 48 heures lors d'une rupture chronique [VIDEMONT, 2011a], ce résultat est difficilement interprétable.

Chez le chien, après une rupture aiguë de la barrière cutanée, le pourcentage de restauration de la barrière cutanée est de 55% en 24h, 87% en 48h et 93% en 72h [VIDEMONT, 2011]. Même si cette restauration est plus lente dans le cas d'une altération

chronique de la barrière cutanée, il est normal d'observer une restauration spontanée avec retour aux valeurs basales sur les sites témoins. Il est, ainsi, peu surprenant que la différence entre les valeurs de PIE à T0 et les dernières valeurs mesurées de PIE – retour aux valeurs basales – soit non significative.

4. Examen histopathologique des biopsies cutanées

On a vu que la mesure de la perte insensible en eau évalue, de façon fiable, le statut de barrière cutanée mais n'offre pas de renseignement sur l'hyperplasie de l'épiderme et l'inflammation causées par la répétition du tape-stripping. Se trouvant dans le cas d'un modèle chronique, nous nous devons d'évaluer ces deux paramètres. Ceci a été permis par l'étude histopathologique.

Après deux semaines de tape-stripping, on note la présence d'une couche cornée mince et compacte, d'une acanthose épidermique, de foyers de prolifération de la couche basale à l'origine du bourgeonnement épidermique, d'un œdème et d'une congestion du derme et d'un infiltrat inflammatoire périvasculaire à diffus. Ces lésions microscopiques traduisent le caractère chronique de la rupture de la barrière cutanée. Elles ont disparu ou ont nettement diminué après une semaine d'applications bi-quotidiennes d'ERMIDRA®. Au contraire, ces critères persistent ou présentent une décroissance moins importante sur les sites témoins.

L'examen des biopsies réalisées du côté traité une semaine après le début de l'étude montre que l'épiderme a retrouvé une couche cornée épaisse et aérée, similaire à celle observée sur les biopsies en peau saine. Sur les biopsies réalisées du côté témoin, la couche cornée se présente sous la forme d'une couche de kératine compacte mais plus épaisse qu'à T0. Le retour à une couche cornée normale et, donc, à une barrière cutanée efficace est plus rapide lors d'applications bi-quotidiennes d'ERMIDRA®, ce qui explique la décroissance plus rapide des valeurs de la PIE observée avec le traitement.

On observe donc une régulation de la prolifération des kératinocytes plus efficace du côté traité. En effet, après une semaine de traitement, le retour à l'homéostasie a déjà eu lieu du côté traité, contrairement au côté témoin où des images d'apoptose des kératinocytes sont visibles et où l'acanthose persiste.

En revanche, peu de différences sont notées concernant l'œdème, la congestion et l'inflammation du derme. Des biopsies réalisées quelques jours avant nous auraient permis de savoir si l'ERMIDRA® n'a pas d'effet sur ces critères ou si ces effets sont plus précoces.

5. Mode d'action de l'ERMIDRA®

D'après les résultats de l'étude de l'évolution des valeurs de la PIE et les résultats de l'étude histopathologique, il apparaît que l'ERMIDRA® agit, à la fois, lors de la phase précoce et lors de la phase tardive de la restauration de la barrière cutanée.

L'application d'ERMIDRA® permet, en effet, dans un premier temps, de limiter la perte insensible en eau, marqueur de la fonction barrière, certainement grâce à la présence, entre autres, dans sa composition, de liposomes permettant une restructuration des lamelles lipidiques de la couche cornée.

Dans un second temps, les propriétés des constituants de l'ERMIDRA® favorisent la différenciation kératinocytaire et, par conséquent, la diminution de l'hyperplasie et un retour à l'homéostasie plus rapide. Les substances hygroscopiques, présentes dans l'ERMIDRA®, permettent le rétablissement d'une teneur en eau autorisant les réactions enzymatiques. La synthèse lipidique est améliorée grâce au glycérol et au panthénol. Enfin, bien qu'aucune différence concernant l'infiltrat inflammatoire n'ait pu être mise en évidence à l'examen histopathologique des prélèvements effectués du côté témoin et du côté traité, après une semaine de traitement, les propriétés anti-inflammatoires et anti-prurigineuses du panthénol et des autres substances hygroscopiques, dans une moindre mesure, constituent indéniablement un effet bénéfique lors de rupture chronique de la barrière cutanée, notamment par la régulation du relargage de cytokines.

Conclusion

Les affections dermatologiques sont des affections fréquentes en médecine des animaux de compagnie. Même si elles mettent rarement la vie de l'animal en danger, elles peuvent nuire de façon importante à la qualité de vie de l'animal et de ses propriétaires. En particulier lorsqu'elles s'accompagnent d'une altération de la barrière cutanée qui entraîne une augmentation de la perte insensible en eau, une diminution du taux d'hydratation de la couche cornée et une perturbation du métabolisme cutané.

Une des mesures les plus simples à mettre en œuvre, lors de rupture de la barrière cutanée, est l'application d'un réhydratant cutané. Bien que cette application permette, de l'avis des vétérinaires et des propriétaires, une diminution du prurit et une amélioration du bien-être du patient, aucune étude de l'effet d'un réhydratant sur la réparation de la barrière cutanée n'avait encore été effectuée chez le chien.

Après avoir élaboré un modèle de rupture chronique de la barrière cutanée par tape-stripping, nous plaçant ainsi dans des conditions proches de ce qui se passe lors d'affections cutanées inflammatoires chroniques, nous avons évalué l'efficacité de l'ERMIDRA® sur la réparation de cette barrière, grâce à la mesure de la perte insensible en eau et à l'examen histopathologique de biopsies cutanées. La mesure de la PIE constitue un indicateur fiable de l'état de la fonction de barrière cutanée ; l'histopathologie nous renseigne sur l'évolution des lésions induites par la rupture chronique de la barrière.

La récupération de la fonction barrière de la peau est très significativement meilleure à 8 heures et encore significativement meilleure à 24 heures lors d'application d'ERMIDRA®. L'application biquotidienne d'ERMIDRA® permet une compensation du défaut de barrière durant la phase précoce et durant la phase tardive. Le réhydratant cutané agit également sur les lésions microscopiques associées : il permet de retrouver plus rapidement une couche cornée d'aspect normal, de limiter l'hyperplasie épidermique et de modérer la prolifération des kératinocytes. Notre étude n'a pas permis de mettre en évidence un effet du réhydratant sur l'infiltrat inflammatoire, l'œdème et la congestion du derme.

En résumé, l'ERMIDRA®, d'application simple, accélère la restauration de la barrière cutanée et représente une option complémentaire au traitement étiologique des affections cutanées inflammatoires, avec altération de la barrière cutanée, dans l'espèce canine.

Annexes

Annexe 1 : Données supplémentaires concernant la structure de la peau

Constituants du derme

- **Éléments cellulaires**

⇒ **Les fibroblastes**

Ils synthétisent la plupart des constituants de la matrice extracellulaire du derme en réponse à des stimuli variés tels que des facteurs de croissance synthétisés par les kératinocytes, les cellules inflammatoires ou les fibroblastes eux-mêmes. Ils sont également responsables de sa dégradation notamment en synthétisant des protéases.

⇒ **Les cellules dendritiques du derme et les histiocytes**

Les cellules dendritiques du derme sont principalement des cellules présentatrices d'antigènes situées à proximité des vaisseaux.

Les histiocytes correspondent à des macrophages non activés, sans activité phagocytaire.

Ces cellules sont originaires de la moëlle osseuse.

⇒ **Les mastocytes**

Ils interviennent dans l'inflammation et les phénomènes d'hypersensibilité et sont caractérisés par la présence, dans leur cytoplasme, de granules contenant des médiateurs de l'inflammation (histamine, sérotonine, tryptase, chymase...). Ils sont présents de façon plus abondante autour des vaisseaux superficiels du derme.

- **Fibres**

Elles sont élaborées par les fibroblastes et permettent de résister aux forces de tension.

⇒ **Les fibres de collagène**

Elles représentent environ 90% des fibres et 80% de la matrice extracellulaire du derme [SCOTT, 2001]. Elles sont très résistantes et procurent une protection contre les cisaillements, les étirements, les traumatismes extérieurs.

⇒ **Les fibres d'élastine**

Elles constituent 4% de la matrice extracellulaire du derme. Elles sont plus nombreuses autour des follicules pileux. Comme leur nom le suggère, elles apportent à la peau son élasticité et sa souplesse.

- **Matrice non fibreuse**

Il s'agit d'un gel produit par les fibroblastes et constitué de glycosaminoglycanes et de protéoglycanes. Cette matrice joue un rôle primordial dans le derme, l'épiderme, la jonction dermo-épidermique et le développement des follicules pileux. Elle comble les espaces entre les différentes structures du derme mais laisse passer les électrolytes, les cellules et les nutriments des vaisseaux du derme vers l'épiderme.

Ses fonctions sont multiples. Elle permet de résister et de dissiper les forces de compression.

Les agrégats de protéoglycanes correspondent à une molécule d'acide hyaluronique sur laquelle se lient de multiples protéoglycanes. Leur charge négative élevée leur permet de retenir de grandes quantités d'eau, jusqu'à 100 fois leur poids [SCOTT, 2001]. La matrice extracellulaire contribue donc à l'hydratation de la peau. Les protéoglycanes ont également la capacité de fixer certaines cytokines ou facteurs de croissance, et ainsi de moduler leur biodisponibilité, d'où un rôle notamment dans la synthèse, l'orientation et la différenciation des fibres de collagène.

Les annexes folliculaires

- Les follicules pileux

Leur formation durant le développement embryonnaire découle d'interactions complexes entre les cellules mésodermiques et ectodermiques [LLOYD, 2003]. La croissance du poil est sous le contrôle de facteurs endogènes (cytokines, molécules d'adhésion...) et exogènes (photopériode, température, nutrition, état général...). Le cycle pileux est divisé en trois phases principales : la phase anagène qui est la phase de croissance proprement dite, la phase télogène correspondant à une phase de repos et la phase catagène, phase de transition entre les deux phases citées ci-dessus.

Les follicules pileux des carnivores domestiques sont composés, c'est-à-dire qu'un poil primaire, de gros diamètre et plusieurs poils secondaires, plus fins, sortent par le même ostiole folliculaire. Chaque follicule primaire est associé à un muscle arrecteur, une glande sébacée et une glande sudoripare apocrine. D'un point de vue anatomique, le follicule pileux comprend trois parties : l'infundibulum qui s'étend de l'ostiole folliculaire à l'abouchement du canal de la glande sébacée, l'isthme qui est la partie comprise entre l'abouchement du canal de la glande sébacée et l'insertion du muscle arrecteur et le bulbe pileux qui est une partie transitoire car présente uniquement lors de la phase de croissance et qui s'étend de l'insertion du muscle arrecteur à la papille dermique.

- Les glandes sébacées

Ce sont des glandes composées exocrines. Leur densité et leur taille dépendent de la localisation anatomique. Elles sont en effet plus nombreuses au niveau des jonctions cutanéomuqueuses, du train arrière, du cou, du menton, des espaces interdigités et de la queue et absentes au niveau des coussinets et de la truffe [LLOYD, 2003]. Les lobules des glandes sébacées sont délimités par une strate de cellules basales basophiles, dont le contenu s'enrichit peu à peu en lipides. Ces cellules dégénèrent et donnent le sébum, évacué dans la lumière du follicule. Le canal sébacé est, quant à lui, formé par un épithélium kératinisé [SCOTT, 2001].

Le sébum, en association avec la sueur, possède une action anti-microbienne. Il limite également la perte d'eau transépidermique [SCOTT, 2001]. Les glandes sébacées spécialisées peuvent sécréter des phéromones et jouent par conséquent un rôle social.

- Les glandes sudoripares

Elles sont de deux types : les glandes sudoripares épitrichiales ou apocrines, qui s'abouchent au niveau de l'infundibulum, et les glandes sudoripares atrichiales ou eccrines, qui s'abouchent directement à la surface de la peau.

La distribution des glandes sudoripares épitrichiales suit celle des glandes sébacées. Les glandes sudoripares atrichiales se retrouvent uniquement au niveau des coussinets.

Leur sécrétion protège, la peau et ses annexes spécialisées, des frottements et possède une action anti-microbienne grâce à la présence d'immunoglobulines ou de cytokines, par exemple. Son rôle dans la thermorégulation est par contre extrêmement limité chez les carnivores domestiques.

Annexe 2 : Autres moyens d'améliorer la barrière cutanée

La barrière cutanée peut être améliorée par de nombreux moyens autres que les réhydratants cutanés.

Par exemple, l'application d'une crème synthétique proche du *vernix caseosa* serait plus efficace que l'application d'une formulation à base d'acides gras, de cholestérol et de céramides seulement. [Le *vernix caseosa* est un biofilm naturel formé de cornéocytes enveloppés dans une matrice lipidique et retrouvé sur les fœtus humains. Sa structure est très semblable à celle de la couche cornée.] [OUDSHOORN, 2009]

On peut également citer l'utilisation d'eau douce ultrapure comme eau de rinçage après un shampoing (UPSW = ultrapure soft water), qui permettrait une restauration de la barrière cutanée plus rapide que si le rinçage était effectué avec l'eau du robinet. L'eau douce ultrapure est une eau dans laquelle les ions calcium et les ions magnésium ont été remplacés par des ions sodium [OHMORI, 2010].

La supplémentation alimentaire par une combinaison de pantothénate, choline, nicotinamide, histidine et inositol réduirait de façon significative la perte d'eau transépidermique, après neuf semaines d'administration, en stimulant la synthèse lipidique dans l'épiderme [WATSON, 2006]. De même, la supplémentation en zinc et en acide linoléique diminuerait de façon significative la téwamétrie après 9 semaines [MARSH, 2000].

Ces pistes et bien d'autres méritent d'être approfondies pour pouvoir peut-être un jour constituer un traitement adjuvant en dermatologie.

Annexe 3 : Champ de pulvérisation de l'ERMIDRA®



Annexe 4 : Tableaux des valeurs de la perte insensible en eau chez chacun des six sujets

Les mesures à T0 sont réalisées avant la première application de l'ERMIDRA®. Elles correspondent donc aux valeurs obtenues à la fin de la première phase de l'expérimentation (rupture chronique de la barrière cutanée).

	T0	T0 + 2h	T0 + 4h	T0 + 8h	T0 + 24h	T0 + 48h	T0 + 72h	T0 + 120h	T0 + 144h	T0 + 192h
Site témoin 1	32,2	30,9	28,2	46,65	40,6	20,6	11,5	9,7	9	7,9
Site témoin 2	30	22,6	18,7	25,7	23,4	13,3	10,95	8,3	9,4	8,2
Site témoin 3	29,4	32,1	31,8	51,8	34,2	20,4	15,6	9,7	10,3	7,5
Site témoin 4	27,7	25,7	23,6	28,65	25,4	16	13,4	8,9	9,3	6,8
Site témoin 5	29,5	24,5	20,2	24,6	23,55	15,3	11,8	8,8	9,4	6,5
Site témoin 6	31,2	25,4	17,45	25,1	24,9	13,5	11,5	6,9	8,95	6,5
Site testé 1	35,7	27,4	24,15	29,05	47	16,8	10,6	11,2	8,8	7,05
Site testé 2	30,5	21,5	18,2	22	21,6	13,5	11,5	9,4	8,05	6,8
Site testé 3	35,8	32,2	30,9	28,05	28,9	13,5	10	9,1	8	6,8
Site testé 4	35,2	25,8	26,7	25,8	21	14,9	10,3	6,3	6,15	6,8
Site testé 5	34,7	29,4	29,7	27,4	24,7	14	10,1	7,7	7,5	7,45
Site testé 6	29,8	24,6	22,8	17,8	21,6	11,6	9,9	6,7	7,7	6
Moyenne des sites témoins	30	26,87	23,33	33,75	28,68	16,52	12,46	8,72	9,39	7,23
Moyenne des sites testés	33,62	26,82	25,41	25,02	27,47	14,05	10,4	8,4	7,7	6,82

Valeurs de la perte insensible en eau chez le chien 1

	T0	T0 + 2h	T0 + 4h	T0 + 8h	T0 + 24h	T0 + 48h	T0 + 72h	T0 + 120h	T0 + 144h	T0 + 192h
Site témoin 1	44,1	29,6	30	47,9	36,1	18	15,3	12,2	10,3	8,3
Site témoin 2	33,05	27,9	29,2	35,15	30,45	23,4	15,6	8,7	9,2	8,2
Site témoin 3	38,15	24,05	28,2	51,5	24,05	22,7	15,2	10,2	11,8	8,4
Site témoin 4	36,05	27,8	28,5	35	26,3	19,1	12,3	9,7	11,6	8,3
Site témoin 5	34,9	25	27,6	31,05	23,8	18,9	16	9,1	9	6,6
Site témoin 6	31,15	31,7	25,4	23,4	30,05	14,4	15,4	9,2	7,9	7,6
Site testé 1	39,8	30,6	32	27,8	32,3	13,8	8,9	7,5	8,4	7,7
Site testé 2	41,7	29,95	26,8	22,45	35,7	13,3	10,4	7,3	7,9	8,3
Site testé 3	41,7	28,65	35	30	26,8	11,1	9,7	7,4	8,2	8,1
Site testé 4	28,7	30,3	28,5	19,15	27,1	11,4	10,7	7,5	7,3	8,1
Site testé 5	29,8	21,45	27,3	27,8	27,55	12,2	10,9	6,9	8	8
Site testé 6	35,5	23,25	19,4	28	27,3	11,4	12,2	6,2	7,7	8,6
Moyenne des sites témoins	36,23	27,68	28,2	37,3	28,5	19,4	15,0	9,9	10,0	7,9
Moyenne des sites testés	36,2	27,37	28,2	25,9	29,5	12,2	10,5	7,1	7,9	8,1

Valeurs de la perte insensible en eau chez le chien 2

	T0	T0 + 2h	T0 + 4h	T0 + 8h	T0 + 24h	T0 + 48h	T0 + 72h	T0 + 120h	T0 + 144h	T0 + 192h
Site témoin 1	41,2	30	31	101	37,9	29,4	20,6	12,8	12,7	9,4
Site témoin 2	58,2	37,9	33,3	108,7	34,3	26,8	16,5	12,3	10,7	8,5
Site témoin 3	53,95	32,5	32,7	91,9	34,8	35,3	17,9	15	12	7,4
Site témoin 4	53,9	33,7	34,2	91,8	49,8	33,3	16,7	9,1	10,8	8,7
Site témoin 5	52,8	30	34,1	113,9	26,3	25,6	11	8,8	11,9	7,9
Site témoin 6	49,75	38,1	35,6	89,6	35,4	23,8	11,4	8,7	16,4	8
Site testé 1	47,85	23,6	28,5	54,9	23	27,4	11,5	8	9,1	7,3
Site testé 2	47,3	26,6	27,8	64,6	27,3	18,5	11,6	7,9	9,7	8,2
Site testé 3	47,85	31,6	32,8	53,7	24,8	19,2	10,7	9,6	9	7,8
Site testé 4	45,6	29,6	28,9	44,8	30,5	18,1	10,7	6,9	8,5	7,6
Site testé 5	45,5	30,5	27,4	59	33,9	27,2	10,9	6,9	8,7	6,2
Site testé 6	52,2	27,6	26,2	38,2	22,3	16,6	11,6	6,6	9	7,7
Moyenne des sites témoins	51,63	33,70	33,48	99,48	36,42	29,03	15,68	11,12	12,42	8,32
Moyenne des sites testés	47,72	28,25	28,60	52,53	26,97	21,17	11,17	7,65	9,00	7,47

Valeurs de la perte insensible en eau chez le chien 3

	T0	T0 + 2h	T0 + 4h	T0 + 8h	T0 + 24h	T0 + 48h	T0 + 72h	T0 + 144h	T0 + 168h	T0 + 192h
Site témoin 1	54,2	40,5	50,5	33,8	23,8	43,1	18,4	10	10,5	9,8
Site témoin 2	50,6	44,4	47	30,9	25,4	35,9	12,3	12,8	12,4	7,9
Site témoin 3	61,6	37,7	48,7	42,1	32,8	36,1	13,3	9,3	10,9	7,8
Site témoin 4	44,7	38,8	45,6	37,6	37,6	38,8	16,7	12,5	11,8	10,8
Site témoin 5	50,1	39	54,8	38,1	41,9	46,3	17,6	12,6	11,6	9,2
Site témoin 6	50,2	43,1	50,4	42,2	48,8	40,4	13	12,9	9,4	8,2
Site testé 1	79	54,4	43,9	35,6	31,1	17,6	13,5	9,3	9,4	7,5
Site testé 2	78,1	58,5	49,7	33,3	29,4	15,1	14,2	8,8	9,2	7,3
Site testé 3	70,3	61,7	52,7	26,4	25,8	14,9	12,2	10,9	10,5	8,4
Site testé 4	54,2	51,3	31,8	28,8	21,1	14,4	11,9	9,7	8,6	6,8
Site testé 5	86,7	63,9	48,6	37,7	25,4	13,8	12,2	10	7,7	8,5
Site testé 6	73,7	48,9	37,6	28,4	26,2	14,5	11,2	10,5	8	8,2
Moyenne des sites témoins	51,90	40,58	49,50	37,45	35,05	40,10	15,22	11,68	11,10	8,95
Moyenne des sites testés	73,67	56,45	44,05	31,70	26,50	15,05	12,53	9,87	8,90	7,78

Valeurs de la perte insensible en eau chez le chien 4

	T0	T0 + 2h	T0 + 4h	T0 + 8h	T0 + 24h	T0 + 48h	T0 + 72h	T0 + 96h	T0 + 144h	T0 + 168h
Site témoin 1	47,4	43,6	54,7	41	23,4	24,6	16,4	16,7	10,4	7,7
Site témoin 2	54,1	72,1	50,1	56,9	29,1	22,9	15,8	15,9	12,5	8,3
Site témoin 3	59,6	71,3	52,6	44,6	29,7	18,9	16,3	15,6	11,7	8,6
Site témoin 4	61,05	80,2	51,1	43,4	18,6	27,5	13,8	13,8	14,7	8,5
Site témoin 5	43,8	43,7	36,9	34,9	18,9	21,2	13,1	13,6	10,8	7,5
Site témoin 6	62,2	50,7	36,7	37	18,5	18,3	15,5	11,6	13,5	7,9
Site testé 1	52,5	35,4	35,8	30	17	26,9	11,8	10,8	8,1	5,9
Site testé 2	75,1	30,4	40,9	38	22,8	19,9	11,7	10,3	7,2	6,4
Site testé 3	66	40,9	31,3	33,3	16,6	14,8	13	9	8,5	6,3
Site testé 4	69,4	41,2	45,5	46,7	23,8	17,1	12,3	9,9	8,7	7,1
Site testé 5	71,7	51,4	42,3	37,1	19,6	17,6	12,3	10	9,1	7,1
Site testé 6	76,1	47,9	45,4	33,7	18,4	16,7	13,2	13	10,1	6,9
Moyenne des sites témoins	54,69	60,27	47,02	42,97	23,03	22,23	15,15	14,53	12,27	8,08
Moyenne des sites testés	68,47	41,20	40,20	36,47	19,70	18,83	12,38	10,50	8,62	6,62

Valeurs de la perte insensible en eau chez le chien 5

	T0	T0 + 2h	T0 + 4h	T0 + 8h	T0 + 24h	T0 + 48h	T0 + 72h	T0 + 96h	T0 + 144h	T0 + 168h
Site témoin 1	58,3	39,7	40,4	39,3	17,1	16,5	13,2	15,2	11,2	7,3
Site témoin 2	59,5	39,3	34,1	39,8	17,8	13,7	10,1	14,8	10,8	7,9
Site témoin 3	56,9	50,4	31	36,6	17,4	17,5	15,2	14,9	9,8	8,9
Site témoin 4	60,8	57,2	39	40,3	21	18	16,5	13,1	9,2	8,9
Site témoin 5	52,8	43,7	38,2	42	22,3	21,9	16,1	13,7	7,2	8,1
Site témoin 6	50,6	54	36,7	40,7	20,3	15,7	15,1	13,1	8,5	8,4
Site testé 1	56,6	34,9	32,9	38,8	15,4	13,5	10,6	9,4	5,3	6,3
Site testé 2	68,2	39,7	33,3	39,1	17,5	12,6	9,5	10,1	7,3	6,7
Site testé 3	81,1	49,3	42,9	43,7	14,7	14,1	10,4	11,3	6,2	7,2
Site testé 4	65,2	43,8	37,5	37,7	18,7	15,8	11,3	11,7	7,6	7,7
Site testé 5	85,7	48,8	34,2	33,9	14,3	15,6	12,8	9,6	5,9	6,9
Site testé 6	90,3	45,7	38,2	40,1	16,3	14,4	11,8	9,1	7,3	6,9
Moyenne des sites témoins	56,483333	47,383333	36,566667	39,783333	19,316667	17,216667	14,366667	14,133333	9,45	8,25
Moyenne des sites testés	74,516667	43,7	36,5	38,883333	16,15	14,333333	11,066667	10,2	6,6	6,95

Valeurs de la perte insensible en eau chez le chien 6

Annexe 5 : Extrait de la matrice ergonomique utilisée pour effectuer les tests statistiques sur le logiciel R

temps	chien	temoin	site	tewl
0	a	1	1	32,2
2	a	1	1	30,9
4	a	1	1	28,2
8	a	1	1	46,65
24	a	1	1	40,6
48	a	1	1	20,6
72	a	1	1	11,5
120	a	1	1	9,7
144	a	1	1	9
192	a	1	1	7,9
0	a	1	2	30
2	a	1	2	22,6
4	a	1	2	18,7
8	a	1	2	25,7
24	a	1	2	23,4
48	a	1	2	13,3
72	a	1	2	10,95
120	a	1	2	8,3
144	a	1	2	9,4
192	a	1	2	8,2
...				
0	c	0	3	47,85
2	c	0	3	31,6
4	c	0	3	32,8
8	c	0	3	53,7
24	c	0	3	24,8
48	c	0	3	19,2
72	c	0	3	10,7
144	c	0	3	9,6
168	c	0	3	9
192	c	0	3	7,8
0	c	0	4	45,6
2	c	0	4	29,6
4	c	0	4	28,9
8	c	0	4	44,8
24	c	0	4	30,5
48	c	0	4	18,1
72	c	0	4	10,7
144	c	0	4	6,9
168	c	0	4	8,5
192	c	0	4	7,6

Annexe 6 : Tableau détaillant les résultats de l'examen histopathologique pour chacun des six chiens

	EPIDERMIE			DERME				Aspect de la couche basale
	Epaisseur (en couches cellulaires)	Aspect de la couche cornée	Bourgeonnement épidermique	Oedème	Congestion	Intensité	Localisation	
Chien 1	Peau saine	Présente, aérée	-	-	-	Normale		Organisée, cellules cuboïdales
	A T0	Absente, présence d'une fine couche de kératine compacte	++	+++	+	+	Périvasculaire à diffuse	
	A T0 + 192h	Côté témoin						
<i>Biopsies non effectuées</i>								
Chien 2	Peau saine	Présente, aérée	-	-	-	Normale		Organisée, cellules cuboïdales
	A T0	Absente, présence d'une fine couche de kératine compacte	+++	+++	+	+	Périvasculaire à diffuse	
	A T0 + 192h	Côté témoin						
<i>Biopsies non effectuées</i>								
Chien 3	Peau saine	Présente, aérée	-	-	-	Normale		Organisée, cellules cuboïdales
	A T0	Absente	+	++	++	++	Périvasculaire à diffuse	Désorganisée
	A T0 + 192h	Anormalement compacte	+	-/+	-/+	+	Périvasculaire	Désorganisée, cellules apoptotiques
		Présente, aérée	-	-	-	Normale/+	Périvasculaire	Normal
Chien 4	Peau saine	Présente, aérée	-	-	-	Normale		Organisée, cellules cuboïdales
	A T0	Absente aux sommets	++	++	+++	+	Diffuse	Désorganisée, cellules apoptotiques
	A T0 + 192h	Peu aérée	+	-	+	+	Périvasculaire	Désorganisée, cellules allongées
		Présente, aérée	-/+	-	-/+	Normale		Quasi-normal

		EPIDERMIE				DERMIE			
		Epaisseur (en couches cellulaires)	Aspect de la couche cornée	Bourgeonnement épidermique	Oedème	Congestion	Infiltrat inflammatoire		Aspect de la couche basale
							Intensité	Localisation	
Chien 5	Peau saine	2 - 3	Présente, aérée	-	-	-	Normale		Organisée, cellules cuboïdales
	A T0	4 - 6	Absente, présence d'une fine couche de kératine compacte	++	++	++	++	Périvasculaire à diffuse	Cellules apoptotiques +
	Côté témoin	3 - 4	Anormal	+ / ++	- / +	+	Normale		Cellules apoptotiques ++
	A T0 + 192h Côté traité	2 - 3	Moins aérée / peau saine	-	- / +	-	Normale		Proche de la normale
Chien 6	Peau saine	2 - 3	Présente, aérée	-	-	-	Normale		Organisée, cellules cuboïdales
	A T0	5 - 6	Absente, présence d'une fine couche de kératine compacte	++	++	++	++	Périvasculaire à diffuse	Cellules apoptotiques +
	Côté témoin	3 - 4	Anormal	++	- / +	+	Normale		Cellules apoptotiques ++
	A T0 + 192h Côté traité	2 - 3	Moins aérée / peau saine	-	- / +	-	Normale		Proche de la normale

Bibliographie

1. BASHIR S. J. et al. Physical and physiological effects of stratum corneum tape-stripping. *Skin Res Technol* 2001; 7: 40-48.
2. BECO L., FONTAINE J. Cornéométrie et perte d'eau transépidermique: validation des techniques chez des chiens sains. *Ann Méd Vét* 2000; 144: 329-333.
3. BISSETT D. L. Common cosmeceuticals. *Clin Dermatol* 2009; 27: 435-445.
4. BRETENITZ M. et al. Acute barrier disruption by adhesive tapes is influenced by pressure, time and anatomical location: integrity and cohesion assessed by sequential tape stripping; a randomised, controlled study. *Brit J Dermatol* 2007; 156: 231-240.
5. CAL K., CENTKOWSKA K. Use of cyclodextrins in topical formulations: Practical aspects. *Eur J Pharm Biopharm* 2008; 68: 467-478.
6. CAUSSIN J. et al. Hydrophilic and lipophilic moisturizers have similar penetration profiles but different effects on SC water distribution in vivo. *Exp Dermatol* 2009; 18: 954-961.
7. COHEN J. C. et al. Comparison of closed chamber and open chamber evaporimetry. *Skin Res Technol* 2009; 15: 51-54.
8. DANIELS R., (Page consultée le 20 avril 2011). Liposomes – Classification, processing technologies, industry applications and risk assessment, [en ligne]. Adresse URL : www.azonano.com
9. DARLENSKI R. et al. Non-invasive in vivo methods for investigation of the skin barrier physical properties. *Eur J Pharm Biopharm* 2009; 72: 295-303.
10. DE PAEPE K. et al. Validation of the VapoMeter, a closed unventilated chamber system to assess transepidermal water loss vs. the open chamber Tewameter®. *Skin Res Technol* 2005; 11: 61-69.
11. DELLA MURA Teresa (2011, 12 juillet). Questions concernant la composition de l'ERMIDRA® [courrier électronique à VIDEMONT E.]. [en ligne]. Adressé par courrier électronique : e.videmont@vetagro-sup.fr.
12. DENDA M. et al. The epidermal hyperplasia associated with repeated barrier disruption by acetone treatment or tape stripping cannot be attributed to increased water loss. *Arch Dermatol Res* 1996; 288: 230-238.
13. DENDA M. et al. Immobilization-induced and crowded environment-induced stress delay barrier recovery in murine skin. *Brit J Dermatol* 1998; 138: 780-785.
14. DENDA M. et al. Visual imaging of ion distribution in human epidermis. *Biochem Bioph Res Co* 2000; 272: 134-137.

15. DENDA M. Methodology to improve epidermal homeostasis: How to accelerate the barrier recovery? *Int J Cosmet Sci* 2009; 31: 79-86.
16. EKANAYAKE-MUDIYANSELAGE S. et al. Expression of epidermal keratins and the cornified envelope protein involucrin is influenced by permeability barrier disruption. *J Invest Dermatol* 1998; 111: 517-523.
17. FEINGOLD K. R. The role of epidermal lipids in cutaneous permeability barrier homeostasis. *J Lipid Res* 2007; 48: 2531-2546.
18. FEINGOLD K. R. The outer frontier : the importance of lipid metabolism in the skin. *J Lipid Res* 2009; 50: S417-S422.
19. FLUHR J. W. et al. Transepidermal water loss reflects permeability barrier status: validation in human and rodent in vivo and ex vivo models. *Exp Dermatol* 2006; 15: 483-492.
20. FLUHR J. W. et al. Glycerol and the skin: holistic approach to its origin and functions. *Brit J Dermatol* 2008; 159: 23-34.
21. GIACOMONI P. U. et al. Gender-linked differences in human skin. *J Dermatol Sci* 2009; 55: 144-149.
22. GRUBAUER G. et al. Transepidermal water loss: the signal for recovery of barrier structure and function. *J Lipid Res* 1989; 30: 323-333.
23. HARRIS I. R. et al. Permeability barrier disruption coordinately regulates mRNA levels for key enzymes of cholesterol, fatty acid, and ceramide synthesis in the epidermis. *J Invest Dermatol* 1997; 109: 783-787.
24. HESTER S. L. et al. Evaluation of corneometry (skin hydration) and transepidermal water loss measurements in two canine breeds. *J Nutr* 2004; 134: 2110S-2113S.
25. HIGHTOWER K. et al. Effects of age and allergen exposure on transepidermal water loss in a house dust mite-sensitized beagle model of atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2010; 21: 89-96.
26. HOLLERAN W. M. et al. Processing of epidermal glucosylceramides is required for optimal mammalian cutaneous permeability barrier function. *J Clin Invest* 1993; 91: 1656-1664.
27. IMHOF R. E. et al. Closed-chamber transepidermal water loss measurement: microclimate, calibration and performance. *Int J Cosmet Sci* 2009; 31: 97-118.
28. JACOBI U. et al. Estimation of relative stratum corneum amount removed by tape stripping. *Skin Res Technol* 2005; 11: 91-96.
29. KALININ A. E. et al. Epithelial barrier function: assembly and structural features of the cornified cell envelope. *BioEssays* 2002; 24: 789-800.

30. KAZUMASA M., YOSHIKI M. Tight junctions in the skin. *J Dermatol Sci* 2003; 31: 81-89.
31. KECECIOGLU DRAELOS Z. Cosmetics: an overview. *Curr Probl Dermatol*; Mars-Avril 1995: 45-64.
32. KRAFT J. N., LYNDE C. W. (Page consultée le 15 juin 2011). Moisturizers: what they are and a practical approach to product selection [en ligne]. Adresse URL: www.skintherapyletter.com
33. LADEMAN J. et al. The tape stripping procedure – Evaluation of some critical parameters. *Eur J Pharm Biopharm* 2009; 72: 317-323.
34. LAU-GILLARD P. J. et al. Evaluation of a hand-held evaporimeter (VapoMeter®) for measurement of transepidermal water loss in healthy dogs. *Vet Dermatol* 2009; 21: 136-145.
35. LEE S. H. et al. A role for ions in barrier recovery after acute perturbation. *J Invest Dermatol* 1994; 102: 976-979.
36. LLOYD D. H., PATEL A. P. (2003). Structure and function of the skin. In: FOSTER A., FOIL C. *BSAVA Manual of Small Animal Dermatology*. Second Edition. BSAVA, Barcelona, 1-10.
37. LODEN M. The skin barrier and use of moisturizers in atopic dermatitis. *Clin Dermatol* 2003; 21: 145-157.
38. LODEN M. The clinical benefit of moisturizers. *JEADV* 2005; 19: 672-688.
39. LOFFLER H. et al. Stratum corneum adhesive tape stripping: influence of anatomical site, application pressure, duration and removal. *Brit J Dermatol* 2004; 151: 746-752.
40. LOFTSSON T., MASSON M. Cyclodextrins in topical drug formulations: theory and practice. *Int J Pharm* 2001; 225: 15-30.
41. MACHADO M. et al. Assessment of the variation of skin barrier function with anatomic site, age, gender and ethnicity. *Int J Cosmet Sci* 2010; 32: 397-409.
42. MADISON K. C. Barrier function of the skin: « La raison d'être » of the epidermis. *J Invest Dermatol* 2003; 121: 231-241.
43. MARKS R. The Stratum Corneum Barrier: The Final Frontier. *J Nutr* 2004; 134: 2017-2021.
44. MARSH K. A. et al. Effects of zinc and linoleic acid supplementation on the skin and coat quality of dogs receiving a complete and balanced diet. *Vet Dermatol* 2000; 11: 277-284.
45. MARTINI M. et al (1995). *Cosmétologie*. Simep/Masson, Paris. 136p.

46. McGRATH J. A., UITTO J. The filaggrin story: novel insights into skin-barrier function and disease. *Trends Mol Med* 2007; 14: 20-27.
47. MENON G. K. et al. Ionic calcium reservoirs in mammalian epidermis: ultrastructural localization by ion-capture cytochemistry. *J Invest Dermatol* 1985; 84: 508-512.
48. MENON G. K. et al. Lamellar body secretory response to barrier disruption. *J Invest Dermatol* 1992; 98: 279-289.
49. MENON G. K. et al. Epidermal calcium gradient and regulation of barrier homeostasis. *J Dermatol Sci* 1993; 6: 118.
50. NUUTINEN J. et al. A closed unventilated chamber for the measurement of transepidermal water loss. *Skin Res Technol* 2003; 9: 85-89.
51. OH W-S, OH T-H. Measurement of transepidermal water loss from clipped and unclipped anatomical sites on the dog. *Aust Vet J* 2009; 87: 409-412.
52. OHMORI K. et al. Pilot evaluation of the efficacy of shampoo treatment with ultrapure soft water for canine pruritus. *Vet Dermatol* 2010; 21: 477-483.
53. OUDSHOORN M. H. M. et al. Effect of synthetic vernix biofilms on barrier recovery of damaged mouse skin. *Exp Dermatol* 2009; 18: 695-703.
54. PHARMAINFO (Page consultée le 20 avril 2011). Role of cyclodextrins in drug delivery. [en ligne]. Adresse URL : www.pharmainfo.net
55. PIEKUTOWSKA A. et al. Effects of a topically applied preparation of epidermal lipids on the stratum corneum barrier of atopic dogs. *J Comp Pathol* 2008; 138: 197-203.
56. POPA I. et al. Analysis of free and protein-bound ceramides by tape stripping of stratum corneum from dogs. *Arch Dermatol Res* 2010; 302: 639-44.
57. POPA I. et al. Atopic dermatitis in dogs is associated with a high heterogeneity in the distribution of protein-bound lipids within the stratum corneum. *Arch Dermatol Res* 2011; 303: 433-40.
58. POPA I. et al. Analysis of epidermal lipids in normal and atopic dogs, before and after administration of an oral omega-6/omega-3 fatty acids feed supplement. A pilot study. *Vet Res Commun* DOI 10.1007/s11259-011-9493-7.
59. PROKSCH E. et al. Barrier function regulates epidermal DNA synthesis. *J Clin Invest* 1991; 87: 1668-1673.
60. PROKSCH E. et al. The skin: an indispensable barrier. *Exp Dermatol* 2008; 17: 1063-1072.
61. RAWLINGS A. V., MATTS P. J. Stratum corneum moisturization at the molecular level: an update in relation to the dry skin cycle. *J Invest Dermatol* 2005; 124: 1099-1110.

62. RAWLINGS A. V. et al. Skin biology, xerosis, barrier repair and measurement. *Drug Discov Today: Disease Mechanisms*, Vol. 5, N°2, 2008.
63. REDZINIAK G. Liposomes et peau. *Pathol Biol* 2003; 51: 279-281.
64. SANDILANDS A. et al. Filaggrin in the frontline: role in skin barrier function and disease. *J Cell Sci* 2009; 122: 1285-1294.
65. SCOTT D. W., MILLER W. H., GRIFFIN C. E. (2001). Structure and function of the skin. In: Müller & Kirk's small animal dermatology. 6^{ème} édition. WB SAUNDER COMPAGNY, Philadelphia, 1-70.
66. SHIMADA K. et al. Transepidermal water loss (TEWL) reflects skin barrier function of dog. *J Vet Med Sci* 2008; 70 (8): 841-843.
67. SHIMADA K. et al. Increased transepidermal water loss and decreased ceramide content in lesional and non lesional skin of dogs with atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2009; 20: 541-546.
68. TANAKA M. et al. Normal recovery of the stratum corneum barrier function following damage induces by tape stripping in patients with atopic dermatitis. *Brit J Dermatol* 1997; 136: 966-967.
69. TOKUMURA F. et al. Skin irritation due to repetitive application of adhesive tape: the influence of adhesive strength and seasonal variability. *Skin Res Technol* 2005; 11: 102-106.
70. TU C-L. et al. The role of the calcium-sensing receptor in epidermal differentiation. *Cell Calcium* 2004; 35: 265-273.
71. VIDEMONT E et al. Investigation of the efficacy of a moisturizer on the skin barrier recovery in a canine model of mechanical chronic barrier disruption. *Vet Dermatol* 2011; 22: 462.
72. VIDEMONT E. et al. Characterisation of the canine skin barrier restoration following acute disruption by tape stripping. *Vet Dermatol*. Accepté pour publication 2011.
73. WATSON A. L. et al. Reliable use of the ServoMed Evaporimeter EP-2 to assess transepidermal water loss in the canine. *J Nutr* 2002; 132: 1661S-1664S.
74. WATSON A. L. et al. Dietary constituents are able to play a beneficial role in canine epidermal barrier function. *Exp Dermatol* 2006; 15: 74-81.
75. WICKETT R. R., VISSCHER M. O. Structure and function of the epidermal barrier. *Am J Infect Control* 2006; 34: S98-S110.
76. WONG R. et al. Analysis of RNA recovery and gene expression in the epidermis using non-invasive tape stripping. *J Dermatol Sci* 2006; 44: 81-92.
77. YOSHIHARA T. et al. A new method of measuring the transepidermal water loss (TEWL) of dog skin. *J Vet Med Sci* 2007; 69 (3): 289-292.

FARDOUET Lucile

TITRE : Etude de l'efficacité du spray hydratant Ermidra® sur la réparation de la fonction barrière de la peau dans un modèle expérimental de rupture de la barrière cutanée

Thèse d'Etat de Doctorat Vétérinaire : Lyon, 28 novembre 2011

RESUME :

La peau, organe le plus étendu de l'organisme, possède, entres autres, un rôle de barrière vis-à-vis du milieu extérieur et est indispensable à la vie en atmosphère sèche. Elle est constamment soumise à des agressions de différentes natures et une lésion, même peu profonde, peut compromettre l'intégrité de la barrière cutanée. Lors de dermatoses, la rupture de la barrière cutanée est permanente et, en raison de la détérioration de la qualité de vie du patient, la mise en place d'un traitement est nécessaire. L'application d'un réhydratant cutané, mesure simple à mettre en œuvre, permet, de l'avis des vétérinaires et des propriétaires, une amélioration notable du bien-être de l'animal. Cependant, aucune étude de l'effet d'un réhydratant sur la réparation de la barrière cutanée n'avait encore été effectuée chez le chien.

L'objectif de notre étude est d'évaluer, grâce à la mesure de la perte insensible en eau et à l'examen histopathologique de biopsies cutanées, l'efficacité de l'ERMIDRA®, hydratant cutané récemment commercialisé, dans un modèle de rupture chronique de la barrière cutanée chez le chien, modèle, caractérisé par ailleurs, qui reproduit les lésions présentes de dermatoses inflammatoires prurigineuses chroniques.

La première partie de ce travail présente, en premier lieu, les connaissances actuelles, sur la barrière cutanée et les conséquences d'une rupture de cette dernière, puis, sur la mesure de la perte insensible en eau et enfin, sur les réhydratants cutanés. La seconde partie est consacrée aux résultats de l'étude expérimentale et à la discussion.

Ce travail nous a permis de démontrer qu'une application bi-quotidienne d'ERMIDRA® accélère la restauration de la barrière cutanée et représente une option complémentaire au traitement étiologique des affections cutanées inflammatoires, avec altération de la barrière cutanée, dans l'espèce canine.

MOTS CLES :

- Chien
- Peau
- Perméabilité
- Hydratation
- Médicaments dermatologiques

JURY :

Président : Monsieur le Professeur Jean-François NICOLAS
1^{er} assesseur : Monsieur le Professeur Didier PIN
2^{ème} assesseur : Monsieur le Docteur Thierry MARCHAL
Membre invité : Madame le Docteur Emilie VIDEMONT

DATE DE SOUTENANCE :

28 novembre 2011

ADRESSE DE L'AUTEUR :

3 rue Jean Charcot
76 800 Saint-Etienne du Rouvray