

Université de Montréal

ÉTUDE DES EFFETS SECONDAIRES ASSOCIÉS À UN TRAITEMENT
PROLONGÉ DE FLUTICASONE INHALÉE CHEZ LES CHEVAUX ATTEINTS
DE SOUFFLE (ASTHME ÉQUIN)

par

Trohadio Tomás Muñoz Diaz

Département de sciences cliniques
Faculté de médecine vétérinaire

Mémoire présenté à la Faculté de médecine vétérinaire
en vue de l'obtention du grade de
maître ès sciences (M. Sc.)
en sciences vétérinaires
option sciences cliniques

Février 2009

© Trohadio Tomás Muñoz Diaz, 2009

Université de Montréal
Faculté de médecine vétérinaire

Ce mémoire intitulé

ÉTUDE DES EFFETS SECONDAIRES ASSOCIÉS À UN TRAITEMENT
PROLONGÉ DE FLUTICASONE INHALÉE CHEZ LES CHEVAUX ATTEINTS
DE SOUFFLE (ASTHME ÉQUIN)

présenté par

Trohadio Tomás Muñoz Diaz

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes

André Vrins,	président-rapporteur
Jean-Pierre Lavoie,	directeur de recherche
Daniel Jean,	codirecteur
Pierre Hélie,	membre du jury

Résumé

Le souffle équin est une maladie inflammatoire chronique des petites voies respiratoires, très fréquente chez les chevaux gardés à l'intérieur avec de la paille et du foin moisi et poussiéreux. Les signes cliniques peuvent être prévenus par le contrôle de l'environnement et soulagés par l'administration de corticostéroïdes systémiques et inhalés. L'objectif de cette étude était de déceler les effets secondaires présents sur des chevaux atteints de souffle traités à la fluticasone (Flovent 250 µg HFA®, 2000 µg BID, pendant six mois, et puis 2000 µg SID, pendant six autres mois) par le cortisol sérique et la présence d'ulcères gastriques. Cinq chevaux exempts de maladie respiratoire et onze chevaux atteints du souffle ont été gardés à l'intérieur d'une écurie avec du foin moisi et de la paille dans le but de provoquer la maladie chez le groupe atteints du souffle. Une fois les chevaux atteints de souffle devenus symptomatique, ils ont été divisés en deux groupes : un premier groupe traité avec de la fluticasone, nourri avec du foin et gardé sur une litière de paille, et un deuxième groupe non traité nourri avec de la moulée et gardé sur une litière de ripe, pendant six mois. Par la suite, les deux groupes ont été mis au pâturage. Le cortisol a été mesuré par Immuno-essai enzymatique par chimiluminescence (CEIA, Immunolite 1000, Siemens®) les 12^e et 10^e jours avant et les 7^e, 28^e, 80^e, 160^e, 200^e, 250^e, 290^e et 320^e jours après le début du traitement afin de déterminer le degré de suppression du cortisol sérique. On a également fait un suivi de la présence d'ulcères gastriques à l'aide de vidéo endoscopique. La fluticasone inhalée deux fois par jour cause une diminution du cortisol sérique les 28^e, 80^e et 160^e jours, mais elle n'entraîne pas d'effets sur le score des ulcères gastriques. Les pellets de luzerne causent quant à elles, une augmentation du score des ulcères gastrique chez les animaux exempts de maladie respiratoire.

Mots-clés : souffle, cortisol, fluticasone.

Abstract

Recurrent Airways Obstruction (RAO) is a small airways inflammatory disease, very common in horses stabled in mouldy-dusty hay and straw environments. The clinical signs are prevented by environmental control, relieved by systemic and inhaled corticosteroids. Our objectives were to determine whether inhaled corticosteroids cause a suppression of cortisol levels and gastric ulceration in RAO horses treated with fluticasone 2000µg (Flovant HFA®) BID for 6 months and 2000µg SID for another 6 months. Five (5) healthy horses were used as controls and eleven (11) RAO affected horses were stabled in a moldy-dusty environment to induce disease exacerbation. Once they were symptomatic, they were divided into two groups, the treated group was kept on hay/straw and the untreated group was fed with pellets food and bedded on wood shavings six months. Afterwards, all horses were pasture for the next 6 months. Serum cortisol was measured by Immuno-essai enzymatique par chimiluminescence (CEIA, Immunolite 1000®, Siemens) 12, 10 days before and 7, 28, 80, 160, 200, 250, 290, 320 days after treatment initiation, in order to determine cortisol suppression. Fluticasone administered twice a day reduces blood cortisol levels after 28, 80 and 160 days, but did not cause any change in gastric ulcers. However, pellets slightly increased gastric ulcer scores in healthy horses.

Keywords: RAO, cortisol, fluticasone

Table des matières

Résumé.....	iii
Table des matières.....	v
Liste des tableaux.....	viii
Liste des figures.....	ix
Liste des abréviations.....	x
Recension de la littérature.....	1
Définitions.....	1
Épidémiologie.....	2
Pathogénie.....	2
Symptômes cliniques.....	4
Options thérapeutiques.....	5
Contrôle de l'environnement.....	5
Thérapie de glucocorticoïdes.....	6
Corticostéroïdes/glucocorticoïdes.....	7
Description.....	7
Historique.....	7
Rôles biologiques et physiologiques.....	8
Structure chimique.....	8
Action anti-inflammatoire.....	9
Corticothérapie par inhalation chez l'humain.....	10
Corticothérapie par inhalation chez le cheval.....	12
Effets secondaires associés à une thérapie systémique/inhalothérapie.....	13
Système endocrinien.....	14
Infections.....	20
Yeux (oculaires).....	22
Estomac.....	22
Peau.....	22
Cortisol.....	24
Niveaux normaux et variation circadienne.....	24
Méthodes de mesure.....	26
Évaluation de la fonction de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien....	26
Méthode de mesure chez les chevaux.....	28
Ulcères gastriques.....	29
Description.....	29
Prévalence.....	29
Anatomie de l'estomac.....	30

Causes	32
Physiopathologie	32
Les symptômes cliniques	34
Diagnostic des ulcères gastriques	35
Système de notation (score clinique/évaluation).....	36
Score de l' <i>Equine Gastric Ulcer Council</i> (EGUC)	36
Score nécropsique	37
Facteurs protecteurs	38
Rôle des prostaglandines (enzymes COX-1 et COX-2).....	39
Facteurs ulcérogéniques	40
Niveau de gastrine / diète	40
Effet des acides gras volatils (acétique, butyrique, propionique et valérique) / pH / acide chlorhydrique.....	41
Facteurs chimiques et médicaments (les AINS, les corticostéroïdes)....	42
AINS (anti-inflammatoires non stéroïdiennes).....	42
Corticostéroïdes.....	43
Motivations	45
Objectifs	45
Hypothèses.....	45
Matériels et méthodes	46
Protocole expérimental.....	46
Animaux	47
Contrôles.....	48
Critères d'inclusion.....	48
Système de gradation du score clinique respiratoire.....	48
Critères d'exclusion.....	49
Environnement.....	49
Protocole et méthode de traitement	50
Méthode d'administration par inhalothérapie :	50
Examen physique	50
Mesure du cortisol	51
Gastroscopie	52
Analyse statistique	53
Résultats	54
Score clinique respiratoire	54
Cortisol	56
Ulcères Gastriques.....	58
Effet de la maladie.....	58
Effet de la nourriture	59
Effet du traitement	61
Discussion	62
Scores cliniques.....	62

Ulcères gastriques.....	65
Effet de la maladie.....	65
Effet de la nourriture	66
Effet du traitement (fluticasone)	67
Conclusion	68
Références	69

Liste des tableaux

Tableau I : Glucocorticoïdes inhalés chez le cheval	20
Tableau II : Scores cliniques respiratoires selon la présence ou l'absence de traitement.....	54
Tableau III : Cortisolémie des chevaux atteints du souffle traités avec de la fluticasone (2000µg, BID, aux jours 7, 28, 80, 160 jours puis 2000µg, SID, aux jours 200, 250, 290 et 320 jours) et des chevaux atteints du souffle non traités ..	57

Liste des figures

Figure 1 : Les mécanismes moléculaires de l'effet anti-inflammatoire des corticostéroïdes	10
Figure 2 : Les mécanismes moléculaires et les effets cellulaires des glucocorticostéroïdes	16
Figure 3 : Les mécanismes impliqués dans les effets secondaires associés des glucocorticoïdes.	17
Figure 4 : Estomac chez le cheval	30
Figure 5 : Protocole expérimental	47
Figure 6 : Immunoessai enzymatique par chimiluminescence en phase solide (CEIA).....	52
Figure 7 : Score clinique respiratoire chez les chevaux atteints du souffle traités avec de la fluticasone et les chevaux non traités	55
Figure 8 : Cortisolémie des chevaux atteints du souffle traités avec de la fluticasone (2000 µg, BID, aux jours 7, 28, 80, 160 jours puis 2000 µg, SID, aux jours 200, 250, 290 et 320 jours) et des chevaux atteints du souffle non traités.....	58
Figure 9 : Les effets du souffle sur la sévérité des ulcères gastriques.....	59
Figure 10 : Les effets de l'alimentation sur le score des ulcères gastriques chez les chevaux atteints du souffle non traités recevant du foin ou des pellets de luzerne.....	60
Figure 11 : Le score des ulcères gastriques de chevaux exempts de maladie respiratoire (n=6) recevant du foin ou des pellets de luzerne	60
Figure 12 : Les effets de la fluticasone par inhalation sur le score des ulcères gastriques chez les chevaux atteints du souffle	61

Liste des abréviations

ACTH : Adrenocorticotrope hormone / corticotrope;

ADH : Hormone antidiurétique;

Annexine : Lipocortine-1;

BAL : Lavage bronchoalvéolaire;

CEIA : Immuno-essai enzymatique par chimiluminescence;

CGRP : Peptide lié au gène de la calcitonine;

CIA : Immuno-essai par chimiluminescence;

COPD : Maladie pulmonaire obstructive chronique;

COX-1 : Cyclo-oxygénase de type 1;

COX-2 : Cyclo-oxygénase de type 2;

CMV : Cytomégalovirus;

CRH : Corticotropin release hormone or factor ; Corticolibérine;

ECL : Cellule entérochromaffine, argentaffin ou cellules de Kultchizky;

EGF : Facteur de croissance épidermique;

EGFr : Récepteur du facteur de croissance épidermique;

EGUC : *Equine Gastric Ulcer Council* / Conseil des ulcères gastriques équins;

EGUS : Equine gastric ulcers syndrome / SUGC : syndrome des ulcères gastriques du cheval;

GJIC (GAP) : *Junctional intercellular communication* / écart de liaison dans la communication intercellulaire;

HCL : acide chlorhydrique;

HPA : *Hypothalamus-pituitary--adrenal axis* / HHS : Axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien.

ACTH : Corticotrope;

IL-1 β : Interleukine 1 bêta;

INF- γ : Interféron gamma;

LPS : Lypopolysaccharide;

mRNA : ARN messager;

NSAIDs : *Non steroidal anti-inflammatory drug* / AINS : anti-inflammatoires non stéroïdiennes;

NF κ β : Facteur nucléaire kappa bêta;

NO : Oxyde nitrique;

PDGF : *Platelet derived growth factor* / Facteur de croissance dérivé des plaquettes;

PG : Prostaglandine;

PLZ : Phénylbutazone;

PLA2 : Phospholipase A ;

PSL : Prednisolone ;

RAO : *Reccurent airway obstruction* / Obstruction récurrente des voies respiratoires inférieures / souffle;

RIA : Radioimmunanalyse;

SPAOPD : *Summer pasture associated obstruction pulmonary disease* / syndrome d'obstruction pulmonaire associé aux pâturages;

TGF : Facteur de croissance transformant;

VFA : Volatils acids fatty / AGV : Acides gras volatils.

Recension de la littérature

Définitions

Le souffle, ou obstruction récurrente des voies respiratoires inférieures (RAO : *recurrent airway obstruction*) est une maladie inflammatoire chronique des voies respiratoires inférieures du cheval qui se caractérise par le développement d'une réponse inflammatoire de phase tardive suite à l'exposition à la poussière organique, typiquement du foin moisi et de la paille. Cette réponse tardive comporte l'obstruction, l'inflammation et l'hyperréactivité des voies respiratoires des chevaux affectés (Lavoie 2007; Robinson 2001). Le souffle équin peut donc être utilisé comme modèle animal de l'asthme humain (Snapper 1986).

Le souffle chez le cheval et l'asthme félin sont les seules maladies spontanées des animaux domestiques ayant des similitudes cliniques, fonctionnelles et pathologiques avec l'asthme humain (Snapper 1986). Le principal mécanisme responsable de cette condition chez le cheval serait une hypersensibilité induite par des allergènes présents dans le foin ou la paille qui provoquent une inflammation chronique des voies aériennes. Il a été suggéré que l'inflammation est le résultat de la libération des cytokines de type Th2 (Lavoie *et al.* 2001). Elle est caractérisée par une métaplasie des glandes à mucus (*goblets cells*) associée à une production massive de mucus (Anton *et al.* 2005), à une augmentation de la masse musculaire lisse (Herszberg *et al.* 2006) et à la bronchiectasie (Lavoie *et al.* 2004).

Un rapport récent d'un consensus de cliniciens et de chercheurs intéressés au domaine des maladies respiratoires équines a recommandé l'utilisation du terme *heaves* (souffle ou la pousse, en français) ou *recurrent airway obstruction* (RAO) pour décrire un syndrome présent chez les chevaux adultes ayant une obstruction chronique des voies respiratoires (périodes pendant lesquelles la respiration est difficile), réversible par un contrôle antigénique de l'environnement ou l'utilisation de bronchodilatateurs (Lavoie 2007; Robinson 2001).

Épidémiologie

L'incidence du souffle est variable dans les différentes régions du globe. La maladie est plus fréquente dans l'hémisphère nord où les chevaux sont gardés en stabulation et alimentés avec du foin récolté lors d'étés humides. Elle est, par contre, très rare dans les régions où le climat est chaud et sec, comme en Californie ou en Australie. Chez les chevaux suisses, l'incidence rapportée de souffle était de 54 %. Toutefois, le diagnostic était basé, dans cette étude, sur la présence de bruits respiratoires anormaux et sur la présence de sécrétions contenant des neutrophiles dans les voies aériennes (Bracher *et al.* 1991). D'autres études stipulent que l'incidence de la maladie varie entre 2 et 80 %, selon le critère d'inclusion utilisé (Bracher *et al.* 1991; Dixon *et al.* 1995; Larson and Busch 1985; McPherson *et al.* 1978; Morris and Seeherman 1991; Seahorn *et al.* 1996). Les conditions de stabulation à long terme avec une grande quantité de matières organiques et de pollution dans les zones urbaines pourraient constituer un facteur relié au souffle chez les chevaux adultes (Hotchkiss *et al.* 2007a, b). Les chevaux de plus de cinq ans sont les plus fréquemment affectés et la prédisposition augmente avec l'âge. Il n'y a aucune prédisposition selon le sexe, mais certaines prédispositions dues à la race et à l'hérédité ont été rapportées (Couetil and Ward 2003; Marti *et al.* 1991; McPherson *et al.* 1978). Une autre maladie, la maladie pulmonaire obstructive reliée au pâturage (SPAPOD, en anglais) est, par ailleurs, rapportée dans la partie sud des États-Unis. Elle ressemble au souffle, mais se manifeste alors que les chevaux sont gardés au pâturage (Seahorn and Beadle 1993).

Pathogénie

Le souffle est probablement une maladie multifactorielle incluant une composante génétique (Jost *et al.* 2007; Marti *et al.* 1991; Ramseyer *et al.* 2007). Il se caractérise par un effort expiratoire exagéré, associé à de la toux, à de l'hyperréactivité ainsi qu'à une accumulation de neutrophiles et de mucus dans les voies aériennes inférieures.

L'inhalation de spores de *Faenia rectivirgula*, *Aspergillus fumigatus* et *Thermoactinomyces vulgaris* provenant de foin moisi est capable d'induire de la bronchoconstriction, de l'inflammation et une réaction d'hypersensibilité chez les chevaux atteints du souffle (Derksen *et al.* 1988; McGorum *et al.* 1993). L'inhalation expérimentale d'endotoxine induit une neutrophilie dose-dépendante dans les voies aériennes et ce, aussi bien chez les chevaux affectés du souffle que chez les chevaux exempts de maladie respiratoire. Par contre, une mécanique respiratoire anormale est seulement observée chez les chevaux atteints du RAO (Pirie *et al.* 2001).

Marti *et al.* ont démontré une prédisposition génétique en observant que, dans la progéniture de deux chevaux affectés de souffle, la maladie était plus fréquente que dans la progéniture de parents exempts de maladie respiratoire (Marti *et al.* 1991). Une autre étude montre une forte prédisposition génétique et une association mineure, mais également marquée, entre l'alimentation au foin et l'âge, avec une manifestation modérée à grave de signes cliniques de souffle (Ramseyer *et al.* 2007). Cependant, chez les chevaux présentant des signes moins marqués de la maladie, il ne semble pas y avoir d'influence héréditaire ou par l'alimentation avec le foin et ce, dans la population étudiée.

Deux formes de cette maladie respiratoire chronique ont été identifiées, selon la saison d'apparition : le souffle (RAO), qui se produit principalement en hiver chez les chevaux en stabulation (Robinson *et al.* 1995), et la maladie pulmonaire obstructive associée aux pâturages d'été (SPAOPD), qui se produit lorsque les chevaux sont gardés au pâturage (Seahorn and Beadle 1993). Les signes cliniques semblables et la composition cellulaire du liquide de lavage bronchoalvéolaire suggèrent un mécanisme commun pour les deux maladies. De la même manière, la nature clinique et réversible du souffle équin est semblable à l'asthme chez l'humain, suggérant une base immunologique commune. Le modèle immunologique généralement accepté pour l'asthme humain implique des cellules auxiliaires de type Th2 comme

source primaire d'interleukines et cytokines (IL-4, IL-5) impliquées dans la réponse physiopathologique aux allergènes inhalés (Gutierrez-Ramos *et al.* 2000; Lukacs and Tekkanat 2000; Olson and Ley 2002).

Le souffle est l'une des conditions pulmonaires les plus souvent diagnostiquées chez le cheval. Bien que différentes voies de signalisation peuvent mener aux changements inflammatoires, la réponse des voies respiratoires inférieures est complexe, mais les cellules Th2 et leurs cytokines pourraient jouer un rôle central dans leur développement (Beadle *et al.* 2002; Cordeau *et al.* 2004; Lavoie *et al.* 2001). D'autres travaux ont démontré des niveaux élevés d'ARN messenger (ARNm) de IL-4 et IL-13 dans les voies aériennes et dans le sang périphérique des chevaux affectés du RAO (Horohov *et al.* 2005). Toutefois, l'INF- γ , une cytokine Th1, pourraient également être impliquée (Ainsworth *et al.* 2003; Bowles *et al.* 2002).

Ainsi, on rapporte que les chevaux atteints de souffle produisent des anticorps de type IgE, des évidences de dégranulation des cellules basophiles et mastocytes, et de recrutement de cellules de T dans les poumons, induites par les allergènes (Bowles *et al.* 2002; Eder *et al.* 2000; Halliwell *et al.* 1993; Lavoie *et al.* 2001; Schmallenbach *et al.* 1998).

Symptômes cliniques

Au cours des périodes d'exacerbation de la maladie chez les chevaux atteints du souffle et de SPAOPD, les symptômes cliniques ne sont pas spécifiques et incluent la présence de sécrétions nasales, de toux, d'intolérance à l'exercice et une respiration laborieuse au repos (Lavoie 2007). La présentation clinique du souffle change avec la sévérité de la condition; lorsque la maladie progresse, les sécrétions trachéobronchiques ainsi que la quantité de neutrophiles augmentent, la toux est plus fréquente et les chevaux deviennent de plus en plus intolérants à l'exercice (Robinson *et al.* 1996). Dans la forme la plus grave du souffle, la toux est fréquente, les bruits respiratoires qui se développent sont forts (avec sifflements), les

sécrétions respiratoires sont riches en neutrophiles et les chevaux démontrent un effort abdominal expiratoire qui cause une hypertrophie des muscles abdominaux obliques externes, caractéristiques du souffle (Heave en anglais). La détresse respiratoire chez les chevaux affectés s'exprime par une dilatation des nasaux et une fréquence respiratoire exagérée (Lavoie 2007; Robinson *et al.* 1996).

Options thérapeutiques

Le contrôle du souffle requiert une prévention de l'exposition à l'allergène (poussière organique et moisissures), le soulagement symptomatique à l'aide de bronchodilatateurs ainsi qu'une thérapie anti-inflammatoire par l'intermédiaire de corticostéroïdes (Lavoie 2007; Leguillette 2003).

Contrôle de l'environnement

La réduction de l'exposition à la poussière est la clé du traitement des chevaux atteints de souffle. La disparition des signes cliniques, résultant du changement d'environnement, peut prendre de trois à quatre semaines (Davis and Rush 2002; Thomson and McPherson 1984). Une bonne corrélation a été observée entre la sévérité et la rémission de la maladie, selon les conditions d'environnement dans lesquelles les chevaux sont gardés. Par exemple, des chevaux qui sont gardés dans l'écurie et qui sont nourris avec du foin de bonne qualité ne présentent pas de symptômes cliniques même s'ils sont gardés à l'intérieur pendant de longues périodes (Davis and Rush 2002). La concentration de poussière organique est 35 fois plus élevée chez les chevaux gardés sur une litière de paille et nourris avec du foin que chez les chevaux gardés sur une litière de copeaux de bois et nourris avec des pellets (Woods *et al.* 1993).

Le contrôle de l'environnement des chevaux atteints de souffle doit comprendre (Davis and Rush 2002; Lavoie 2007; Tesarowski *et al.* 1996) :

- La modification de l'exposition aux allergènes (foin humide, pellets);

- L'amélioration du nettoyage de l'environnement par la ventilation des poussières et des moisissures.

L'exposition à des endotoxines peut être un autre facteur important concernant cette maladie, car la concentration totale d'endotoxines dans l'environnement de chevaux exposés au foin moisi excède les niveaux minimums nécessaires pour induire l'hyperréactivité des voies aériennes inférieures, chez les chevaux en bonne santé (McGorum *et al.* 1998).

Thérapie de glucocorticoïdes

La thérapie avec un glucocorticoïde, associée à un bon contrôle de l'environnement, constitue la clé pour le contrôle de l'inflammation produite dans les poumons des chevaux atteints de souffle (Couetil *et al.* 2005). Les corticostéroïdes agissent en tant qu'inhibiteurs directs du cycle inflammatoire (Barnes 2005). Plusieurs corticostéroïdes par voies orale et intraveineuse sont utilisés pour le contrôle de l'inflammation pulmonaire, mais des corticostéroïdes inhalés sont préférables afin de minimiser les effets systémiques. Les médicaments inhalés (aérosol-doseur pressurisé ou nébuliseur), comme la béclométasone et la fluticasone, sont les plus utilisées dans le domaine équin (Ammann *et al.* 1998; Couetil *et al.* 2005; Laan *et al.* 2006; Rush *et al.* 1998a).

Corticostéroïdes/gluocorticoïdes

Description

Les corticostéroïdes sont des hormones stéroïdiennes naturellement produites par le cortex des glandes surrénales et sont essentielles pour l'homéostasie. Les corticostéroïdes endogènes sont produits à partir du cholestérol par les glandes surrénales. Ils sont divisés en trois catégories, selon leur action. Les minéralocorticoïdes (aldostérone) sont synthétisés par la zone glomérulée, régulent l'équilibre hydrique et électrolytique au niveau rénal. Les glucocorticoïdes, comme le cortisol ou l'hydrocortisone, sont produits par la zone fasciculée et agissent sur le métabolisme des sucres, des acides aminés et des lipides. Les corticostéroïdes sexuels (androgènes et œstrogènes), produits par la zone réticulée, qui est une source secondaire de synthèse de ces hormones, sont très importants pour le développement des caractères sexuels primaires et secondaires (Goodman *et al.* 2006).

Il existe également des hormones stéroïdiennes synthétiques de 21 atomes de carbone (Goodman *et al.* 2006), lesquelles constituent un groupe important de médicaments qui fournissent au vétérinaire un choix d'effets pharmacologiques divers. Elles sont employées pour traiter plusieurs maladies chez le cheval, incluant le souffle, le purpura hémorragique, l'inflammation et les traumatismes du système nerveux central, l'hépatite, l'anémie hémolytique auto-immune, la thrombocytopénie auto-immune, le choc et l'inflammation oculaire (Johnson *et al.* 2002).

Historique

La forme inactive du cortisol est la cortisone. La cortisone a été purifiée dans les années 1936-1940 et le cortisol a été synthétisé pour la première fois par Reichstein dans les années 1937-1938 (Reichstein 1951, 1954). Environ 10 ans plus tard, les corticostéroïdes ont été introduits en médecine (Hench *et al.* 1949). Depuis lors, ils ont été utilisés pour traiter de nombreuses

maladies, mais des effets non désirés ont été observés. Pour cette raison, des glucocorticoïdes comme la prednisolone et la méthylprednisolone ont été synthétisés. Ces médicaments ont des effets anti-inflammatoires et immunosuppresseurs accrus et une activité minéralocorticoïde réduite. Afin de diminuer les effets secondaires, les corticostéroïdes sont administrés directement au site inflammatoire, par exemple, par inhalation, en cas d'asthme, par application topique, pour l'eczéma, ou par injection intra-articulaire, dans le cas de maladies rhumatismales (Stahn *et al.* 2007).

Rôles biologiques et physiologiques

La fonction spécifique des glucocorticoïdes et, spécialement, du cortisol, est de favoriser les processus cataboliques en permettant une meilleure utilisation de l'énergie lors d'activité physique (Gordon *et al.* 2007). Le cortisol est présent dans tous les fluides corporels et est capable de traverser la barrière hémato-méningée. Ceci signifie donc qu'il maintient la fonction normale des systèmes nerveux, cardiaque, circulatoire et musculaire, module la réponse immunologique et affecte les bilans intracellulaire et extracellulaire de l'eau et des minéraux (Cavallone 2002). Le cortisol est présent dans le plasma, la salive et l'urine des animaux. Il est transporté dans le plasma, principalement par liaison aux protéines, bien qu'un 10 à 15 % reste libre (Pell and McGreevy 1999).

Structure chimique

Tous les corticostéroïdes sont des molécules comportant une structure chimique commune de 21 atomes de carbones assemblés en trois cycles à six carbones et un cycle à cinq carbones. L'activité biologique des corticostéroïdes dépend de la présence du groupe hydroxyle au carbone 11 de la molécule, du complexe d'acétone-oxygène au carbone 20, de deux chaînes carbonées au carbone 17 et des groupes méthyles aux carbones 18 et 19 (Goodman *et al.* 2006; Trotter 1996).

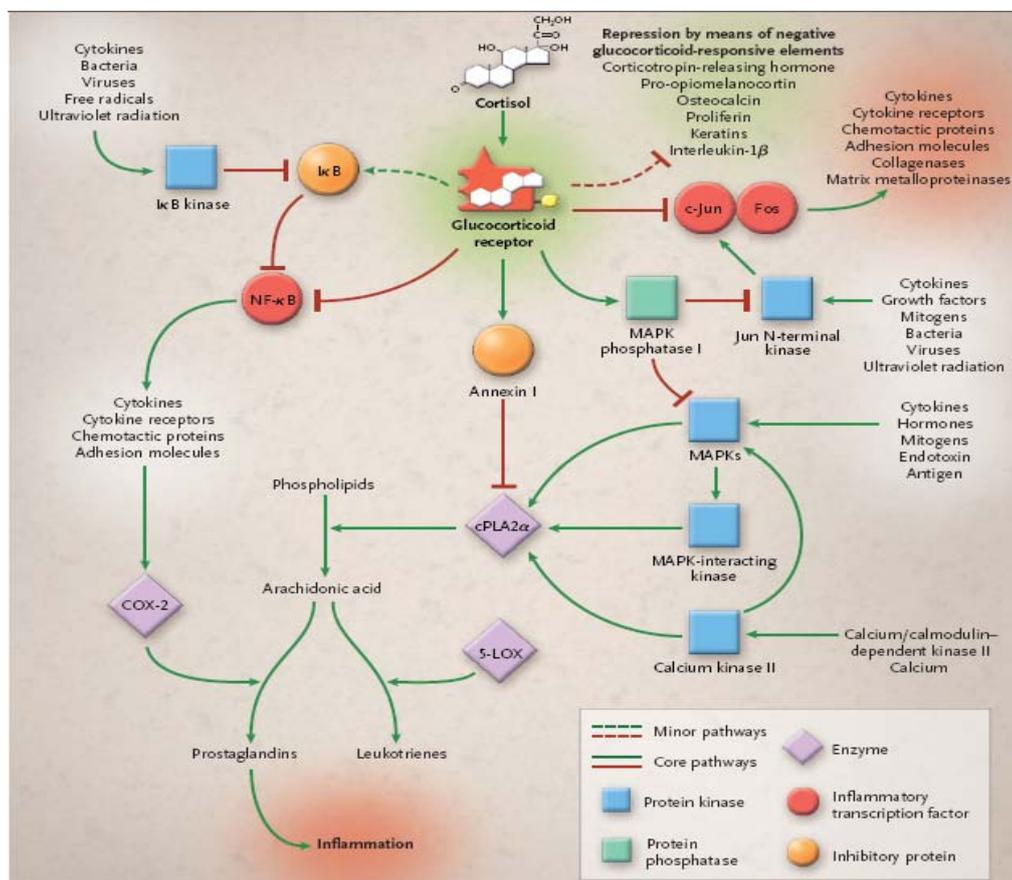
Action anti-inflammatoire

Les effets cliniques les plus importants des glucocorticoïdes sont les effets immunosuppresseurs, anti-inflammatoires et antiallergiques qu'ils exercent sur les cellules, les tissus et les organes lymphoïdes primaires et secondaires (Rhen and Cidlowski 2005; Stahn *et al.* 2007). Les effets immunosuppresseurs et anti-inflammatoires des glucocorticoïdes sont basés sur leur capacité à supprimer l'activation du facteur de transcription nucléaire NF- κ B, ou par des mécanismes non génomiques non reliés à la transcription de gènes comme l'activation de la synthétase d'oxyde nitrique (iNOS). Le NF- κ B est responsable de la production de cytokines et de chimiokines, de la régulation de la réponse immunitaire et de l'induction de la cascade inflammatoire (Barnes 2005; Rhen and Cidlowski 2005; Trune *et al.* 2007; Yamamoto and Gaynor 2001).

Le facteur NF- κ B stimule également l'expression des enzymes et de ses produits qui contribuent à la pathogénie du processus inflammatoire, incluant la forme induite de la synthétase d'oxyde nitrique (iNOS), qui produit l'oxyde nitrique (NO), et de la cyclo-oxygénase inductible (COX-2), ce qui résulte en la synthèse des prostanoïdes (Rhen and Cidlowski 2005). La voie de signalisation NF- κ B est importante aussi dans la réponse immunitaire en modulant la survie, la prolifération et la différenciation des lymphocytes B circulant et en régulant la prolifération et la différenciation des lymphocytes T via l'IL-2 (Brandon *et al.* 2006; Yamamoto and Gaynor 2001).

Les corticostéroïdes empêchent la synthèse de plusieurs médiateurs inflammatoires impliqués dans l'asthme par un effet inhibiteur sur l'induction enzymatique. Les corticostéroïdes empêchent le codage de gènes pour la cyclo-oxygénase induite (COX-2) par les monocytes et les cellules épithéliales, et ceci semble également être modulé par l'activation de NF- κ B (Newton *et al.* 1997).

Figure 1 : Les mécanismes moléculaires de l'effet anti-inflammatoire des corticostéroïdes.



Rhen, T. and Cidlowski, J.A. (2005) Antiinflammatory action of glucocorticoids--new mechanisms for old drugs. *The New England journal of medicine* **353**, 1711-1723.

Corticothérapie par inhalation chez l'humain

Actuellement, pour l'humain, on retrouve sur le marché plusieurs corticostéroïdes inhalés tels que le propionate de fluticasone, la budésonide, le dipropionate de béclométazone, l'acétonide de triamcinolone et le furoate de mometasone (Rossi *et al.* 2007).

Les corticostéroïdes constituent la thérapie la plus efficace disponible pour des patients souffrant d'asthme. Ils peuvent être administrés oralement ou par inhalation, pour plus de sécurité. Comme l'inflammation est présente dans les voies aériennes, même chez les patients atteints d'asthme léger, l'inhalation de glucocorticoïdes à faibles doses a été recommandée dans la première étape de l'inflammation (Barnes *et al.* 1998a). La dose de corticostéroïdes inhalés nécessaire pour empêcher des exacerbations d'asthme peut différer de celle utilisée pour traiter l'asthme chronique (Barnes *et al.* 1998a; Barnes *et al.* 1998b).

Les corticostéroïdes sont les médicaments les plus efficaces pour inhiber l'inflammation des voies aériennes, principalement en diminuant les protéines pro-inflammatoires. Ils semblent inhiber le remodelage des voies respiratoires induit par l'asthme, en réduisant la vascularisation des bronches (Horvath *et al.* 2007).

Les effets anti-inflammatoires des corticostéroïdes se produisent avec un certain délai (heures-jours) en raison des multiples étapes cellulaires nécessaires pour modifier l'expression des protéines (Horvath *et al.* 2007). En parallèle, il y a plusieurs évidences qui suggèrent que les corticostéroïdes peuvent induire des modifications rapidement en agissant sur des récepteurs stéroïdiens présents sur la membrane (Horvath *et al.* 2007). De plus, il a été démontré que la dexaméthasone a un effet anti-inflammatoire sur les neutrophiles équinaux dans un délai de 15 min (Lecoq *et al.* 2008).

L'effet clinique des différents corticostéroïdes synthétiques dépend du taux d'absorption, de la concentration dans les tissus ciblés, de l'affinité pour les récepteurs des corticostéroïdes et du taux de métabolisation et d'élimination qui s'en suivent (Schacke *et al.* 2002).

Chez l'humain, il a été démontré que l'absorption de fluticasone est plus importante chez les individus normaux que chez les patients asthmatiques qui présentent une obstruction du flux d'air, ce qui peut causer des effets

systémiques différents pour une même dose (Harrison and Tattersfield 2003).

Corticothérapie par inhalation chez le cheval

L'administration de prednisone par voie orale est souvent employée dans la pratique clinique et peut aider à réduire l'inflammation des voies aériennes chez le cheval. Toutefois, son effet sur la fonction pulmonaire est probablement limité, vraisemblablement en raison de sa pauvre biodisponibilité (Couetil *et al.* 2005; Jackson *et al.* 2000; Peroni *et al.* 2002; Robinson *et al.* 2002)

Le dipropionate de béclométhasone est un corticostéroïde prescrit pour traiter l'inflammation des patients asthmatiques humains. L'administration de 3750µg de béclométhasone en inhalation peut améliorer les mesures de fonction pulmonaire chez le cheval (Ammann *et al.* 1998). L'amélioration des signes cliniques du souffle se produit dans les trois jours suivants le début du traitement (Rush *et al.* 2000).

On a constaté une amélioration de la fonction pulmonaire après un traitement de 10 jours de 500 µg béclométhasone, deux fois par jour. Cependant, aucune modification de la cytologie ou de l'activité des facteurs NF-κβ et AP-1 dans le lavage bronchoalvéolaire n'a été démontrée (Couetil *et al.* 2006).

Le propionate de fluticasone est un corticostéroïde inhalé, fluoré, dont la pharmacologie a été évaluée chez les chevaux en santé. Une étude mentionne que la seule voie d'absorption systémique possible et capable de causer la suppression de cortisol endogène au troisième jour du traitement, est la voie pulmonaire (Laan, 2004). La fluticasone est aussi capable de diminuer la production de l'IL-8, après une exposition à l'antigène d'*Aspergillus fumigatus*. (Laan *et al.* 2006).

Une étude rapporte qu'un traitement de 21 jours de fluticasone 2 000 µg, deux fois par jour, améliore les signes cliniques de souffle, rétablit la fonction pulmonaire, diminue la neutrophilie et l'ARN messager d'IL-4, et augmente le ratio INF-γ/IL-4 dans le lavage bronchoalvéolaire (Giguere *et al.* 2002).

Effets secondaires associés à une thérapie systémique/inhalothérapie

L'administration systémique de glucocorticoïdes peut provoquer des effets nuisibles, incluant la suppression du cortisol par les glandes surrénales, l'amyotrophie, l'hyperglycémie, la polyurie, la polydipsie, la fourbure et l'immunosuppression (Bailey and Elliott 2007; Bathe 2007; Dutton 2007; Johnson *et al.* 2004a; Johnson *et al.* 2004b; Johnson *et al.* 2002; MacHarg *et al.* 1985; Toutain *et al.* 1988).

Bien que la dose requise pour un effet thérapeutique des corticostéroïdes inhalés soit relativement basse, le ratio profit/risque, ou la marge de sécurité, demeure très faible (Masoli *et al.* 2004a, b; Rossi *et al.* 2007). Aussi, bien que l'efficacité des corticostéroïdes inhalés et un profil amélioré de sécurité aient été prouvés par rapport aux corticostéroïdes oraux, ils peuvent causer des effets locaux et systémiques, surtout à hautes doses et à long terme (Kelly and Nelson 2003; Leone *et al.* 2003; Rossi *et al.* 2007).

Les effets secondaires associés aux corticostéroïdes inhalés incluent la suppression de l'axe hypothalamique-hypophysaire-surrénalien (HHS), le retard de croissance, la réduction de la densité minérale des os, des fractures, de l'ostéoporose, des cataractes sous-capsulaires postérieures, du glaucome, l'amincissement et l'hémorragie de la peau (Leone *et al.* 2003; Lipworth 1999; Rossi *et al.* 2007).

L'administration de corticostéroïdes par inhalation peut réduire les effets indésirables, en diminuant la dose thérapeutique administrée et en réduisant au minimum l'exposition aux autres systèmes (Barnes 2007; Barnes *et al.* 1998a; Barnes *et al.* 1998b; Rush *et al.* 1998a).

L'administration de corticostéroïdes inhalés comme la béclométasone peut améliorer les signes cliniques de l'obstruction des voies respiratoires inférieures, en réduisant l'inflammation pulmonaire et en améliorant les paramètres de la fonction pulmonaire chez les chevaux affectés du souffle (Ammann *et al.* 1998; Rush *et al.* 1998a; Rush *et al.* 1998b; Rush *et al.* 2000). L'inhalation de béclométhasone, toutefois, peut être associée à des effets secondaires (Rush *et al.* 2000; Rush *et al.* 1999; Rush *et al.* 1998c).

Malgré l'efficacité prouvée des corticostéroïdes inhalés dans le traitement de l'asthme, l'enthousiasme de leur utilisation a été atténué par l'apparition d'effets systémiques indésirables (Barnes 2007; Barnes 1995; Barnes *et al.* 1998b).

Comme tous les corticostéroïdes inhalés agissent en se liant à un récepteur glucocorticoïde commun, leur efficacité clinique est à peu près similaire (Barnes 2007). Toutefois, la principale variation entre les différents corticostéroïdes inhalés se situe dans le profil des effets secondaires à doses cliniquement équivalentes (Barnes 2007; Barnes 2005).

Systeme endocrinien

Humain

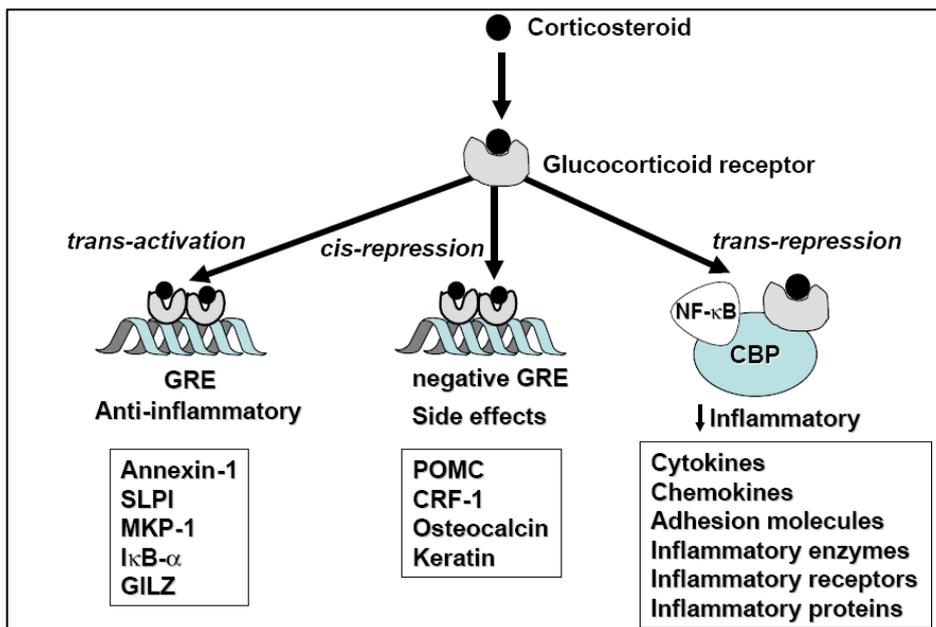
La protéine annexine I (lipocortine I) a été impliquée en tant que médiateur de l'activité anti-inflammatoire des glucocorticoïdes en empêchant l'activité de la phospholipase 2 (*in vitro*) par le blocage de son accès aux substrat phospholipides (Dolan-O'keefe and Nick 1999). Elle semble jouer un rôle dans le contrôle de l'inflammation, mais elle régule également la croissance de cellules et participe au fonctionnement normal des systèmes nerveux et neuroendocrinien. La lipocortine est fortement induite par les glucocorticoïdes et elle augmente dans le lavage bronchoalvéolaire chez

l'humain après traitement aux glucocorticoïdes (Ambrose and Hunninghake 1990; Flower and Rothwell 1994).

L'hypothalamus et l'hypophyse antérieure sont particulièrement riches en lipocortine, qui possèdent des effets marqués et sélectifs sur le relâchement de plusieurs facteurs neuroendocriniens, en particulier les médiateurs de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (Sudlow *et al.* 1996). La lipocortine *in vivo* supprime l'activation hypophyso-surrénalienne en réponse à la corticolibérine exogène (CRF) et empêche la libération de CRF hypothalamique après administration d'IL-1 β chez les rats (Sudlow *et al.* 1996). La lipocortine agit également sur l'hypophyse antérieure et est aussi capable d'inhiber la libération de l'hormone corticotropine (ACTH) en réponse à la corticolibérine et à un extrait hypothalamique (Taylor *et al.* 1993).

Les corticostéroïdes exerceraient des effets supprimeurs sur l'axe hypothalamique hypophysaire surrénalien par des mécanismes génomiques (cis-répression) et non génomiques (Barnes 2005; Schacke *et al.* 2002). Ils causeraient une rétroaction négative sur l'hypothalamus et l'hypophyse par la suppression de la synthèse de corticolibérine (CRH), de la prolactine, de pro-opiomélanocortine (POMC) et finalement de la corticotropine (ACTH) et le cortisol par les glandes surrénales (Barnes 2005; Schacke *et al.* 2002).

Figure 2 : Les mécanismes moléculaires et les effets cellulaires des glucocorticostéroïdes



Source : Barnes, P.J. (2005) Molecular mechanisms and cellular effects of glucocorticosteroids. *Immunology and allergy clinics of North America* **25**, 451-468.

Legend:

GRE: Glucocorticoids response elements / Éléments de la réponse aux corticostéroïdes.

NF-κB: Nuclear factor Kappa Beta / Facteur nucléaire Kappa Beta

SLPI : Secretory leukoprotease inhibitor / inhibiteur sécrétoire de la leukoprotease

MKP-1: Mitogen-activated kinase phosphatase1 / Phosphatase kinase mitogène active 1

IκB-α: IκB-α inhibitor of NF-κB / Inhibiteur du facteur nucléaire Kappa Beta

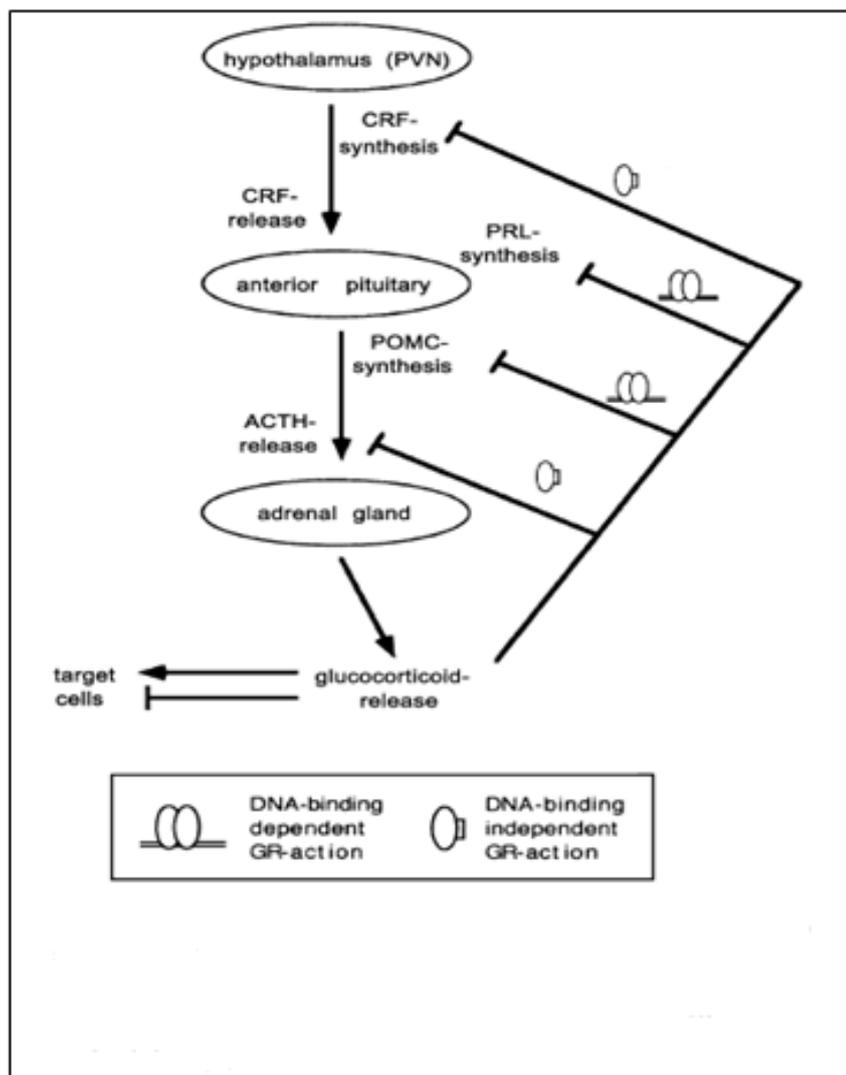
GILZ: Glucocorticoid-induced leucine zipper protein / Protéine zipper induite par les corticostéroïdes

POMC: POMC Pro-opiomelanocortine / pro-opiomélanocortine

CRF-1: CRF-1 Corticotrophin releasing Factor / corticolibérine

CBP: Calmodulin binding protein / Protéine calmoduline (Trois subunite 33,37,45)

Figure 3 : Les mécanismes impliqués dans les effets secondaires associés des glucocorticoïdes.



Source: Schacke, H., Docke, W.D. and Asadullah, K. (2002) Mechanisms involved in the side effects of glucocorticoids. *Pharmacology & therapeutics* **96**, 23-43.

Cheval

L'administration parentérale de dexaméthasone (0,05mg/kg) ou de succinate sodique de prednisolone (0,6mg/Kg) réduit la concentration sérique du cortisol à des niveaux très bas ou indétectables après une période d'une heure (Soma *et al.* 2005; Toutain *et al.* 1988) ou de deux à 24 heures (Autefage *et al.* 1986; MacHarg *et al.* 1985; Rush *et al.* 1998c; Toutain *et al.*

1988). Le retour de la concentration en cortisol sérique à sa valeur de base prendra approximativement trois à quatre jours suivants l'arrêt du traitement (Autefage *et al.* 1986; MacHarg *et al.* 1985; Soma *et al.* 2005).

Dans une étude, l'activité biologique de la prednisolone (2,2 mg/Kg) après une administration orale a été testée à partir des mesures de l'hydrocortisone endogène, qui ont diminué pendant 12 à 24 heures chez chacun des cinq chevaux testés (Peroni *et al.* 2002). Plus récemment, une étude a démontré qu'une dose unique de 200 mg intra-articulaire de méthylprednisolone pouvait induire une suppression des niveaux du cortisol, qui revenaient à leurs valeurs de base 10 jours après administration (Soma *et al.* 2006).

Dans une autre étude chez le cheval, l'administration par la voie orale de prednisone 500 mg, deux fois par jour, pendant deux semaines, suivie de 200 mg une fois par jour pendant une autre semaine, peut causer une diminution significative du cortisol au jour 14 après le début de traitement (Couetil *et al.* 2005).

L'activité de l'isofluprédone (0,03 mg/kg) et de la dexaméthasone (0,04 mg/kg) sur le cortisol a été étudiée chez le cheval. Ces médicaments causaient une suppression importante après 21 jours, jusqu'à 28 jours de traitement pour la dexaméthasone et 31 jours pour l'isoflupredone, par rapport aux valeurs de base du cortisol (Picandet *et al.* 2003).

Par contre, chez les chevaux atteints de souffle, une seule dose de 0,09 mg/Kg de triamcinolone IM cause une diminution du cortisol sérique en quatre semaines avec une augmentation observée huit semaines après l'injection, mais toujours avec une bonne réponse de l'axe HHS à l'action de l'ACTH (100 IU) en augmentant le cortisol sérique les quatrièmes et huitièmes semaines après (Lapointe *et al.* 1993).

La béclo-métasone inhalée ne cause pas de suppression hypophyso-surrénalienne chez l'humain atteint d'asthme aux dosages thérapeutiques de

400 à 800 µg par jour. L'utilisation de béclométasone inhalée comme remplacement d'une corticothérapie systémique permet le retour à une fonction normale de l'axe hypothalamique-hypophyso-surrénalien (Barnes 2007; Barnes *et al.* 1998b).

Des études expérimentales cliniques et des méta-analyses effectuées chez des patients asthmatiques ont montré que la fluticasone à des doses bioéquivalentes avait deux fois plus de toxicité que la béclométasone (Barnes *et al.* 1998a; Barnes *et al.* 1993; Barnes *et al.* 1998b). La fluticasone apporte une meilleure fonction pulmonaire avec le même niveau de suppression du cortisol (Barnes *et al.* 1998a; Barnes *et al.* 1998b). L'utilisation de doses inférieures à 800 µg entraîne moins d'effets indésirables locaux par rapport à des doses supérieures à 800 µg (Barnes 2007).

Il a été établi que le traitement avec la béclométasone inhalée (1 320 mg, deux fois par jour, pendant sept jours) et la dexaméthasone parentérale (0,1 mg/kg, pendant sept jours) peut causer la suppression de l'axe hypophyso-surrénalien. Toutefois, la production d'hormones endogènes reprend approximativement deux à quatre jours après l'arrêt des corticostéroïdes (Rush *et al.* 1998c). Une autre étude a montré que la béclométhasone à 528 µg, deux fois par jour, était la dose-seuil capable d'induire la suppression de l'axe HHS. Cette dose seuil est plus faible que celle observée chez l'humain (Rush *et al.* 1999).

Il a été aussi démontré chez le cheval que la fluticasone inhalée, à 1 500 mg, deux fois par jour, pendant 7 jours, cause une réduction significative du cortisol sanguin à 5 et 8 jours post-traitement chez des patients par rapport aux chevaux contrôles et aux valeurs de base chez les patients traités. Le cortisol sérique chez les patients traités est revenu complètement aux valeurs de base 27 jours après l'arrêt du traitement (Laan *et al.* 2004).

Tableau I :

Principales études décrivant les différents dosages de glucocorticoïdes inhalés chez le cheval			
Étude	Dosage	Chevaux	Suppression du cortisol
(Laan <i>et al.</i> 2004)	Fluticasone propionate 1500µg BID pendant 7 jours	Exempts de maladie respiratoire	Oui
(Couetil <i>et al.</i> 2005)	Fluticasone propionate -1980 µg BID pendant 14 jours -1100µg SID pendant 7 jours -1100 µg chaque 2 jours pendant 7 jours	Atteints du souffle	Non
(Rush <i>et al.</i> 1998c)	Béclométasone 1320µg BID pendant 7 jours	Atteints du souffle	Oui
(Rush <i>et al.</i> 1999)	Béclométasone 528µg BID pendant 6 jours	Atteints du souffle	Oui

Infections

Humain

Chez le patient humain recevant une dose orale quotidienne de moins de 10 mg de prednisolone, le taux d'infection n'était pas augmenté (Stuck *et al.* 1989). Bien que le risque d'infection ne soit pas accru avec une dose modérée de corticostéroïdes en général, il y a malgré tout des preuves que les infections opportunistes sont plus fréquentes (Stuck *et al.* 1989). L'augmentation des incidences de la tuberculose, de la candidiase, de l'aspergillose orale, de la varicelle, et de réactivation du cytomégalovirus a été décrite chez le patient humains (Kennedy *et al.* 2000; Schacke *et al.* 2002). Des cas d'aspergillose et d'autres infections fongiques pulmonaires ont été rapportés également chez les humains traités avec des corticostéroïdes inhalés (Bulpa *et al.* 2007; Fairfax *et al.* 1999; Leav *et al.*

2000; Peter *et al.* 2002). Les risques néonataux et maternels d'infection augmentaient après un traitement prénatal de corticostéroïdes, pour la prévention de l'affection pulmonaire chronique (Walfisch *et al.* 2001).

Par ailleurs, les effets secondaires associés aux corticostéroïdes inhalés, aux bronchodilatateurs β - agonistes et à la combinaison des deux médicaments ont été comparés. Une augmentation du taux de pneumonie était rapportée dans des proportions de 49 et de 60 % dans le groupe de corticostéroïdes inhalés et dans celui des corticostéroïdes inhalés/bronchodilatateurs β -agonistes, respectivement (Woodhead 2007). D'autres études rapportent 18,3 et 19,6 % de pneumonie avec un traitement de corticostéroïdes inhalés, seuls ou en combinaison avec des β -agonistes, respectivement (Calverley *et al.* 2007).

Également, une autre étude a démontré que le risque d'hospitalisation et de mortalité suite à des pneumonies chez les patients atteints de COPD traités avec des corticostéroïdes était dose-dépendante (Ernst *et al.* 2007).

Cheval

Une étude rapporte trois cas de pneumonie bactérienne chez des chevaux traités aux corticostéroïdes systémiques (Mair 1996). Dans une autre étude avec la béclométazone inhalée, un cheval sur six développait une infection bactérienne des voies respiratoires inférieures 24 heures après le début du traitement (Ammann *et al.* 1998).

Une étude, chez des chevaux traités pendant sept jours avec de la béclométazone inhalée et de la dexamétazone intraveineuse, montre une diminution significative du nombre de neutrophiles, de lymphocytes B, de lymphocytes CD4, du ratio CD4-CD8 les jours 14 et 21 suivants dans le lavage bronchoalvéolaire chez les traités, par rapport aux chevaux utilisés comme contrôles (Rush *et al.* 1998a).

Yeux (oculaires)

Chez 48 patients humains traités aux corticostéroïdes, 27 % ont montré la présence de cataractes subcapsulaires postérieures (Toogood *et al.* 1993). D'autres études de méta-analyses, dont une en Australie (3 654 patients adultes) et une autre en Angleterre (15 479 patients-cas et 15 479 patients-contrôles), montrent que des traitements prolongés avec des hautes doses de corticostéroïdes inhalées augmentent le risque de développer des cataractes nucléaires et subcapsulaires postérieures (Cumming *et al.* 1997; Smeeth *et al.* 2003).

Estomac

Chez l'humain, les effets secondaires provoqués par les corticostéroïdes sur le système gastro-intestinal incluent des ulcères peptiques, des hémorragies gastro-intestinales, la pancréatite et, particulièrement après utilisation des corticostéroïdes inhalés, la candidose orale (Schacke *et al.* 2002). Une méta-analyse portant sur 2 105 patients a démontré qu'il y avait de deux à quatre fois plus de risques de complications gastriques associées à l'utilisation orale de corticostéroïdes (Hernandez-Diaz and Rodriguez 2001). D'autres études montrent un risque de 1,8 fois supérieur chez les patients qui prennent des corticostéroïdes comparativement à ceux qui n'en prennent pas (Garcia Rodriguez and Hernandez-Diaz 2001; Messer *et al.* 1983).

Peau

Des études montrent que, chez l'humain, de fortes doses de prednisolone (5-20 mgrs/jour), de béclométasone (1 000-2 250 µ/jour) (Capewell *et al.* 1990), de béclométasone ou de fluticasone (800-2 000 µ/jour)(Roy *et al.* 1996) peuvent provoquer à long terme l'amincissement de la peau et du purpura hémorragique (Capewell *et al.* 1990; Roy *et al.* 1996).

D'autres études rapportent une augmentation du risque d'hémorragie de la peau chez les patients traités avec des doses faibles (1388 µg) de corticostéroïdes inhalées sur une courte période des 6 semaines (Mak *et al.* 1992) de même qu'une diminution de la synthèse de collagène des types I et III après de 55 mois de traitement à un dose de environ 400-1600 µg de budesonide par jour (Autio *et al.* 1996).

Chez le cheval, une étude *in vitro* montre que le triamcinolone diminue la croissance de fibroblastes cutanés (Miller *et al.* 2000).

Cortisol

Niveaux normaux et variation circadienne

La sécrétion de cortisol suit un rythme circadien semblable à celui des hormones pituitaires, avec une sécrétion maximale se produisant tôt le matin (Irvine and Alexander 1994). Ces rythmes peuvent être troublés par l'exercice, la reproduction, le stress causé par des protocoles de l'étude, l'excitation ainsi que par des autres facteurs de stress tels que les prises de sang par voie intraveineuse ou le changement d'environnement (Alexander *et al.* 1991; Irvine and Alexander 1994). La concentration sérique de cortisol a été fréquemment employée pour caractériser les réponses au stress chez les chevaux (Alexander *et al.* 1988; Martinez *et al.* 1988; Mills *et al.* 1997). L'interprétation des résultats de cortisol doit se faire avec prudence car ceux-ci peuvent être influencés par un certain nombre de facteurs (Rushen 1986).

Le rythme circadien des niveaux de cortisol sérique chez plusieurs espèces animales, incluant l'humain, le singe et le rat, a été observé par Keller-Wood et Dallman (Keller-Wood and Dallman 1984). Chez les chevaux, un rythme circadien a été démontré avec un pic entre 6 et 9 h et un taux minimum (nadir) entre 19 et 23 h (Toutain *et al.* 1988). Cependant, d'autres études n'ont pas constaté de changements circadiens (Eiler *et al.* 1979; Sojka *et al.* 1993; Storer *et al.* 2007).

Une réponse aigüe au stress induit une augmentation des concentrations en cortisol plasmatique en activant l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HHS) (Alexander *et al.* 1996). L'augmentation de la concentration de cortisol sérique est fréquemment rapportée comme une réponse de stress à des stimuli tels que le transport, l'exercice, ou la maladie (Janssens *et al.* 1995a; Ley *et al.* 1991; Wong *et al.* 1992).

Plusieurs facteurs semblent coordonner la libération de l'hormone corticotrope (ACTH) et l'importance relative de divers secrétagogues est probablement dépendante de l'espèce (Alexander *et al.* 1996; Engler *et al.* 1988). La corticolibérine (CRH) constitue le secrétagogue le plus efficace, mais plusieurs autres secrétagogues ont été rapportés, dont l'hormone antidiurétique (ADH) (Alexander *et al.* 1996; Engler *et al.* 1988; Plotsky 1988). Un système négatif de rétroaction existe, par lequel les élévations en cortisol de plasma réduisent de manière significative les taux de sécrétion de l'ACTH (Fazio *et al.* 2008; Livesey *et al.* 1991; Storer *et al.* 2007).

Une certaine polémique existe cependant concernant l'effet de la réponse de stress chronique au niveau du cortisol. Par exemple, le stress chronique par contention chez les porcs augmente le cortisol plasmatique (Janssens *et al.* 1995b) tandis qu'une autre étude chez le mouton souffrant de boiterie a rapporté soit une augmentation ou une diminution (Ley *et al.* 1991). La diminution du cortisol urinaire et de la réponse altérée à la CRH a été rapportée lors de fatigue chronique chez l'homme (Demitrack and Greden 1991). De même, chez les chevaux, le stress chronique diminue de 50 % les niveaux de cortisol plasmatique dans un délai d'une semaine après introduction des chevaux à un nouveau groupe déjà établi (Alexander and Irvine 1998).

Les chevaux soumis à une réponse chronique de stress ne répondent pas à l'action de la corticolibérine (CRH) endogène ou exogène, qui s'exprime par une réduction de sécrétion d'ACTH et, plus tard, par une réduction dans la production de cortisol (Alexander and Irvine 1998). Le mécanisme exact par lequel un stress chronique peut diminuer la production de cortisol est incertain, mais, chez le cheval, on rapporte la production d'un facteur inhibiteur central relié à l'ACTH (Alexander and Irvine 1998; Alexander *et al.* 1996). Il est possible aussi que d'autres formes de réponses chroniques au stress puissent être induites chez le cheval, soit la douleur pour une boiterie prolongée, une alimentation ou un environnement défavorable de stabulation. Celles-ci peuvent également diminuer la production de cortisol

plasmatique et, d'une manière primordiale, empêcher le pic physiologique de cortisol pendant les périodes suivant le stress aigu (Mills *et al.* 1997; Storer *et al.* 2007).

Méthodes de mesure

La mesure des hormones plasmatiques ou sériques est généralement réalisée par radioimmunanalyse (RIA) en utilisant des hormones marquées par le radio-isotope H-3 (tritium) ou ¹²⁵I (Iodine) radioactifs. La RIA est une méthode rapide, facile et sensible pour la mesure de l'hormone thyroïdienne (T4) et du cortisol chez les humains et les animaux, mais, avec l'utilisation des marqueurs radioactifs, demeurent les inconvénients des permis, des bâtiments pour le stockage, de la biosécurité et des contrôles qui augmentent les coûts et compliquent son utilisation (Singh *et al.* 1997).

Le cortisol peut être également mesuré par des méthodes d'immuno-essai par chimiluminescence (CIA) ou d'immuno-essai enzymatique par chimiluminescence (CEIA). Une étude montre que les niveaux de détection par ces techniques sont similaires ou meilleurs que par radioimmunanalyse (RIA) (Babson *et al.* 1991). Dans une autre étude, des mesures des niveaux de cortisol chez les animaux par les techniques de RIA, de CIA et de CEIA avaient une bonne corrélation entre elles (Singh *et al.* 1997).

Évaluation de la fonction de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien

En général, il y a deux grandes catégories d'essais pour la mesure de l'activité de l'axe HHS : les essais qui mesurent la sécrétion endogène de cortisol et les essais dynamiques de stimulation pour mesurer la réserve de cortisol (Lipworth and Seckl 1997). La suppression de l'axe hypothalamique-hypophyso-surrénalien est le marqueur le plus sensible pour quantifier l'effet des corticostéroïdes. Des mesures d'activité de l'axe hypothalamus-hypophyso-surrénalien (HHS) peuvent être employées pour démontrer les effets de dose-réponse des corticostéroïdes administrés, en termes de leur

bioactivité systémique. Les corticostéroïdes exogènes produisent ensuite une rétroaction négative sur l'axe HHS ayant pour résultat la suppression des niveaux de corticolibérine (CRH), d'hormone corticotrope (ACTH) et de la sécrétion de cortisol. Le traitement prolongé cause l'atrophie du cortex surrénalien (Lipworth *et al.* 1997; Lipworth and Seckl 1997; Wilson *et al.* 1998).

Les mesures de cortisol (sécrétion et élimination) peuvent être effectuées dans plusieurs laboratoires avec une bonne sensibilité et peuvent donc s'avérer un outil clinique et de recherche (Lipworth and Seckl 1997).

L'utilisation d'une mesure unique de cortisol le matin a une valeur limitée pour le dépistage de la suppression surrénalienne, en particulier si le temps de prélèvement est inconstant, comme c'est le cas dans beaucoup d'études multicentriques (Lipworth and Seckl 1997). Chez l'humain, en effet, on observe une variabilité journalière très marquée dans les niveaux de cortisol plasmatique, avec des niveaux maximaux qui se produisent normalement avant 8 h et avec une différence jusqu'à trois fois plus grande dans les niveaux mesurés entre 8 et 10 h (Grahnen *et al.* 1994; Lonnebo *et al.* 1996).

Une approche alternative consiste à mesurer la cinétique du cortisol sanguin ou urinaire durant une période de 24 heures. Des études ont rapporté des mesures de cortisol lors d'utilisation des différents corticostéroïdes inhalés et il semble y avoir une bonne concordance sur la suppression de cortisol (Lipworth *et al.* 1997; Martin *et al.* 2002).

Une étude rapporte les effets d'une seule dose et de doses multiples de propionate de fluticasone et de budésonide sur l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien par la cortisolémie évaluée sur une période de 24 heures. Des différences ont été mises en évidence de l'aire sous la courbe (AUC) de concentrations sériques en comparant les résultats avec ceux d'un groupe placebo, à l'aide de la formule suivante :

% CCS = 100 x (AUC placebo – AUC médicament)/AUC placebo
(Mollmann *et al.* 2001)

L'*Asthma Clinical Research Network* (ACRN 2002) a proposé une méthode pour établir la biodisponibilité systémique (doses équivalentes liées à la suppression du cortisol sérique) de six corticostéroïdes inhalés chez des patients atteints d'asthme. L'aire sous la courbe de concentration sérique du cortisol a été testée chaque deux heures pendant 12 h (20 à 8 h), en tant que méthode d'approche la plus précise (Martin, 2002).

Méthode de mesure chez les chevaux

Chez les chevaux, pour estimer le degré de suppression hypothalamo-hypophyso-surrénalien par des mesures du cortisol sérique après un traitement aux corticostéroïdes, on doit établir des valeurs de bases avec plusieurs mesures avant le début du traitement et estimer le degré de suppression en comparant les différences avec les valeurs de bases avant et après le traitement et par rapport à des chevaux contrôles (Couetil *et al.* 2005; Edner *et al.* 2007; Laan *et al.* 2004; Lapointe *et al.* 1993; Rush *et al.* 2000).

Ulcères gastriques

Description

Les ulcères gastriques constituent une maladie complexe probablement multifactorielle qui englobe plusieurs entités dont les manifestations clinicopathologiques sont distinctes, qui peut se présenter de deux façons différentes, soit comme une maladie primaire chez le poulain, et comme une maladie secondaire, principalement de la portion non glandulaire, chez le cheval adulte et le poulain. On la nomme syndrome des ulcères gastriques équins (*Equine Gastric Ulcer Syndrome*) (Bell *et al.* 2007c; Merritt 2003). C'est une maladie fréquente chez le poulain et chez les chevaux adultes (Dionne *et al.* 2003; Hammond *et al.* 1986; Rabuffo *et al.* 2002; Vatistas *et al.* 1999a; Vatistas *et al.* 1999c).

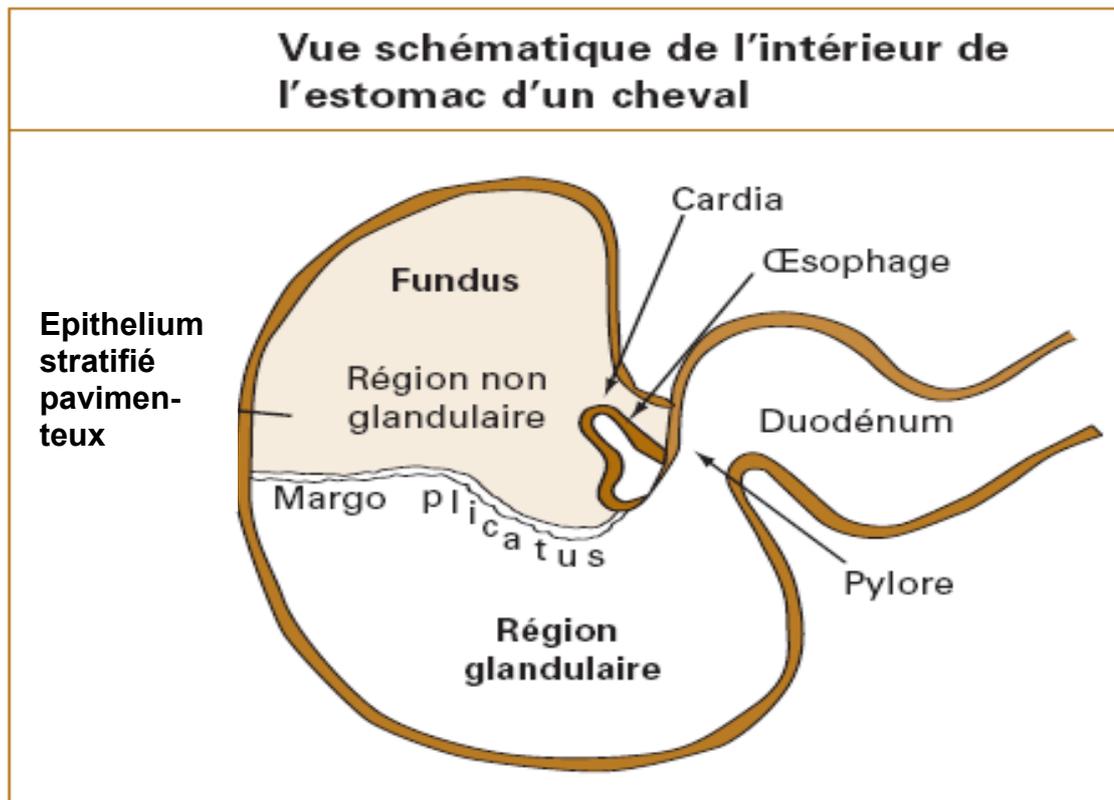
Prévalence

Chez les chevaux de course, la prévalence des ulcères gastriques varie de 55 à 100 % (Hammond *et al.* 1986; Johnson *et al.* 1994; Murray *et al.* 1989; Vatistas *et al.* 1999c).

Dans une étude faite au Canada, la prévalence était de 15,9 % chez des Standardbred au repos, de 28,3 % à l'entraînement et de 63,3 % chez les chevaux de course (Dionne *et al.* 2003). Par ailleurs, en Suède, chez des Standardbred, on a mesuré une prévalence de 70 % sur les chevaux de course (Jonsson and Egenvall 2006). Chez le cheval âgé de plus de 20 ans, on a rapporté une prévalence de 18 % (Brosnahan and Paradis 2003), ce qui est similaire à celle de jeunes chevaux de courses au repos (Dionne *et al.* 2003).

Anatomie de l'estomac

Figure 4 : Estomac chez le cheval



Source : www.garondescliniques.ca

Divisé par la *margo plicatus*, l'estomac du cheval comprend deux parties anatomiques :

Une région squameuse, ou non glandulaire, (le tiers proximal), tapissée par un épithélium stratifié pavimenteux, qui est considéré comme une extension de l'œsophage et dans laquelle il n'y a aucune structure glandulaire, d'absorption ou transport actif;

Une autre région glandulaire (les deux tiers distaux), recouverte d'une muqueuse glandulaire, sécrète du mucus, de l'acide chlorhydrique (HCl) et du pepsinogène (Merritt 1999; Merritt 2003; Sisson 1975).

Muqueuse non-glandulaire

Chez le cheval, l'épithélium stratifié pavimenteux s'étend de l'œsophage jusqu'au fundus de l'estomac (Sisson 1975). Il est histologiquement formé de quatre couches : la couche cornée (*stratum corneum*), la couche de transition (*stratum* transitionnel), la couche épineuse (*stratum spinosum*) et la couche basale (*stratum germinativum*). La plus superficielle, la strate cornée, comprend plusieurs couches cellulaires. La suivante, la strate de transition, est située sous la couche cornée et contient des cellules à noyaux ronds. Ensuite, le stratum épineux est constitué de cellules avec un aspect d'épines. La plus profonde, la strate basale ou germinative, contient des cellules cubiques, à grands noyaux centraux (Argenzio 1999). La muqueuse non-glandulaire est plus épaisse au niveau de la *margo plicatus* et diminue jusqu'à une épaisseur de 15-25 mm autour d'elle (Murray *et al.* 2001a). Les quatre couches de cellule épithéliale sont présentes chez le nouveau-né; l'épaisseur augmente avec l'âge et lors de la gestation pour les femelles (Merritt 1999).

Muqueuse glandulaire

Chez le cheval, la muqueuse glandulaire est divisée en trois régions différentes : le cardia, le fundus et le pylore. La région glandulaire du cardia est une zone étroite directement adjacente à la *margo plicatus*. Sa fonction est peu connue. La région glandulaire du fundus est localisée le long du corps de l'estomac, en incluant la petite courbure et la grande courbure, vers l'union avec le cardia (Andrews 1999). Cette région contient les glandes gastriques dans lesquelles se trouvent les cellules pariétales (qui sécrètent le HCl), les cellules principales (qui sécrètent du pepsinogène) et les ECL (*enterochromaffin-like cells*), qui sécrètent de l'histamine, celle-ci stimule la sécrétion d'acide par les cellules pariétales en agissant sur les récepteurs histaminiques de type 2 qui se trouvent à leur surface. La muqueuse gastrique contient aussi des cellules capables de sécréter du mucus et du bicarbonate de sodium dont la fonction est de protéger l'épithélium de

l'acidité. Le pylore contient des glandes pyloriques qui contiennent les cellules G (qui sécrètent la gastrine), les cellules D (qui produisent la somatostatine) ainsi que de nombreuses ECL productrices de sérotonine (Merritt 1999; Merritt 2003).

Causes

Les facteurs de risque des ulcères gastriques chez le cheval sont nombreux : le stress (McClure *et al.* 1999), le transport (Ferrucci *et al.* 2003), l'alimentation riche en hydrates de carbone (Murray *et al.* 1996), le jeûne (Buchanan and Andrews 2003; Lorenzo-Figueras *et al.* 2002; Vatistas *et al.* 1999b), l'activité physique intense (Buchanan and Andrews 2003; Lorenzo-Figueras *et al.* 2002; Vatistas *et al.* 1999b), la stabulation (McClure *et al.* 2005), les anti-inflammatoires non stéroïdiens (MacAllister *et al.* 1993), les corticostéroïdes (Luo *et al.* 2007; Luo *et al.* 2004; Richardson 1985; Yokota *et al.* 2007), l'hypersécrétion d'acide chlorhydrique (Nadeau *et al.* 2003), la production d'acides gras volatils (Nadeau *et al.* 2003), l'âge et le sexe (Rabuffo *et al.* 2002).

Les modèles actuels utilisés pour induire des ulcères gastriques chez les chevaux sont les suivants : stabulation avec privation d'alimentation en alternance (Murray and Eichorn 1996; Murray *et al.* 2001a), régimes intensifs d'exercice (Vatistas *et al.* 1999b) ou doses excessives d'anti-inflammatoires non stéroïdiens (MacAllister *et al.* 1993).

Physiopathologie

La physiopathologie des ulcères gastriques n'est pas bien définie, mais plusieurs études soutiennent l'hypothèse que leur développement sur la muqueuse non glandulaire résulte de l'exposition excessive à l'acide gastrique (Andrews and Nadeau 1999; Murray and Grodinsky 1989; Murray *et al.* 1989; Murray *et al.* 1996).

L'anatomie de l'estomac équine est unique et le prédispose aux ulcères, tel que mentionné précédemment. Le tiers proximal de l'estomac est couvert par un épithélium stratifié pavimenteux. Il s'agit d'une prolongation de l'œsophage où sont trouvés la plupart des ulcères (80 %). Les deux tiers distaux de l'estomac sont couverts par la muqueuse glandulaire qui est responsable de la sécrétion du mucus, de l'acide chlorhydrique (HCL) et du pepsinogène (Murray 1999). La muqueuse non glandulaire, contrairement à la muqueuse glandulaire, n'est pas protégée par le mucus riche en bicarbonates présent dans la région glandulaire (Andrews 1999; Buchanan and Andrews 2003; Ross *et al.* 1981). En contrepartie, la région glandulaire possède de nombreux mécanismes protecteurs : une couche de mucus riche en bicarbonates ainsi qu'un réseau capillaire étendu qui permet un meilleur apport sanguin afin d'améliorer la réparation de l'épithélium endommagé. Les ulcères dans cette région sont moins fréquents et guérissent rapidement (Buchanan and Andrews 2003). Le développement d'ulcères dans ces régions est pourtant le résultat d'un déséquilibre entre les facteurs protecteurs et les agresseurs (Buchanan and Andrews 2003).

Une augmentation des facteurs qui endommagent la muqueuse gastrique (pH bas) et une diminution des facteurs protecteurs de la muqueuse glandulaire et non glandulaire (mucus et bicarbonate) ont été incriminés comme facteurs causals des ulcères gastriques dans la portion glandulaire près de la *margos plicatus* chez les chevaux (Nadeau *et al.* 2000).

Comme les chevaux sécrètent sans interruption l'acide gastrique, l'exposition à l'acide pourrait être la cause principale des ulcères (Campbell-Thompson and Merritt 1990). L'acidité dans l'estomac est plus élevée quand le cheval est à jeûn (Murray and Schusser 1993). Au cours de l'exercice, le contenu gastrique acide vient probablement en contact avec la partie dorsale non glandulaire de l'estomac, à cause de l'augmentation de la pression intra-abdominale et de la compression gastrique (Lorenzo-Figueras *et al.* 2002). Les ulcères qui se développent sur la muqueuse non glandulaire sont quasi

similaires à ceux de la maladie du reflux gastrique chez les humains (Murray *et al.* 2001a).

Les acides biliaires sont responsables de l'augmentation de la perméabilité des cellules de la muqueuse non glandulaire aux ions d'hydrogène, ce qui favorisent le développement des ulcères gastriques (Berschneider *et al.* 1999). Cependant, les effets des acides biliaires chez le cheval restent inconnus (Argenzio 1999; Berschneider *et al.* 1999). Le pepsinogène, qui s'active et se transforme en pepsine à un pH inférieur à 4, joue un rôle dans le développement des ulcères. Cette enzyme protéolytique peut agir de façon synergique avec le HCl et provoquer des dommages. Il est possible aussi qu'une combinaison de HCl, d'acides organiques et de pepsine agisse de façon synergique pour causer des ulcères (Buchanan and Andrews 2003).

Malgré une prévalence de 47% des ulcères pyloriques chez le cheval, il n'y a aucune association entre la présence de ces ulcères pyloriques et la sévérité de ceux localisés dans la muqueuse non glandulaire de l'estomac (Begg and O'Sullivan 2003; Murray *et al.* 2001b). Une étude expérimentale chez le cheval où on a créé une obstruction pylorique a montré que l'histamine et la pentagastrine augmente la sécrétion d'électrolytes duodénales vers l'estomac afin d'augmentait le pH de l'estomac. La diminution du pH était plus importante chez les chevaux avec une obstruction pylorique et pourrait s'avérer une cause d'ulcères gastrique (Kitchen *et al.* 2000).

Les symptômes cliniques

Les signes cliniques associés aux ulcères gastriques dans la muqueuse non glandulaire sont généralement non spécifiques. Ils peuvent inclure un faible appétit (Dionne *et al.* 2003), du bruxisme et un comportement stéréotypé (Nicol *et al.* 2002), des fèces molles, une perte de poids, une condition corporelle médiocre, de l'hirsutisme, une diminution des performances, des coliques d'intensité variable et récurrentes, et, dans le cas des poulains, une

diminution de la fréquence des tétées (Murray 1992, 1999; Murray *et al.* 1989; Vatistas *et al.* 1999c).

Un grand nombre de chevaux de course avec des ulcères gastriques de la partie non glandulaire observés à l'endoscopie ne présentent pas de signes cliniques (Bell *et al.* 2007b; Jonsson and Egenvall 2006; Murray *et al.* 1989).

Diagnostic des ulcères gastriques

Le diagnostic des ulcères peut être basé sur l'histoire, les symptômes cliniques, l'évaluation endoscopique et la réponse au traitement (Buchanan and Andrews 2003). Cependant, la seule méthode diagnostique *ante mortem* définitive chez le cheval est la visualisation directe de l'estomac avec un gastroscopie (2 à 3 m) (Andrews *et al.* 2002; Murray *et al.* 2001b). Cette procédure s'effectue après une période de jeûne 6 à 24 heures (Murray *et al.* 1989).

Aucune modification des marqueurs hématologiques, biochimiques et sérologiques n'a été associée à la présence d'ulcères. La recherche de sang digéré dans les fèces n'est utile que chez le poulain. Chez les chevaux adultes, la flore intestinale dégrade l'hémoglobine (Buchanan and Andrews 2003; Vatistas *et al.* 1999a).

L'augmentation de la perméabilité gastrique au saccharose (sucrose) est un indicateur fiable d'ulcères gastriques chez le lapin, le chien et l'humain (Meddings *et al.* 1995; Meddings *et al.* 1993; Sutherland *et al.* 1994). En situation physiologique, le saccharose est rapidement hydrolysé dans la partie proximale de l'intestin grêle, par la sucrase. Il est dégradé en glucose et fructose qui traversent facilement la paroi digestive. Cette hydrolyse se produit même lorsqu'il y a des dommages graves à l'intestin grêle. Le saccharose est une molécule trop grosse pour être absorbée par l'épithélium gastrique sain. Ainsi, la présence de saccharose dans l'urine ou dans le sang indique que le saccharose a traversé l'épithélium digestif proximal à l'intestin

grêle où il est normalement hydrolysé (Hewetson *et al.* 2006; Meddings *et al.* 1993). Cela indique donc la présence d'une lésion de la muqueuse gastrique.

Il ressort d'une étude que les niveaux de saccharose dans l'urine sont un bon marqueur de dommages gastriques chez le cheval ayant des ulcères d'une sévérité supérieure à 1 (dans une échelle de 0 à 3, 0 étant une absence de lésion et 3 la présence de lésions sévères), avec une bonne spécificité (83 %) et une bonne sensibilité (97 %) (O'Conner *et al.* 2004).

Système de notation (score clinique/évaluation)

Plusieurs systèmes de notation pour la portion non glandulaire ont été proposés jusqu'à ce que l'*Equine Gastric Ulcer Council* propose son système de gradation (Andrews 1999). L'uniformisation d'un système de notation est importante afin de permettre la comparaison entre les différentes études (Bell *et al.* 2007a).

Score de l'*Equine Gastric Ulcer Council* (EGUC)

Le système de notation proposé par le *Equine Gastric Ulcer Council* comporte une échelle de 0 à 4, 0 étant normal et 4 étant attribué aux lésions étendues et profondes (Andrews 1999). Dans une autre étude, on a validé et montré que ce système de notation est plus facilement répétable, faisable et rapide que le système de nombre et sévérité utilisé dans le passé (Bell *et al.* 2007a).

Système de Notation de l'EGUC pour la sévérité des ulcères gastriques	
Grade 0	L'épithélium est intact et la muqueuse n'apparaît ni hyperhémique (rouge) ni hyperkératosique (jaune dans la zone non glandulaire).
Grade 1	La muqueuse est intacte, mais certaines zones sont hyperémiques ou hyperkératosiques (non-glandulaire).
Grade 2	Les lésions sont superficielles et focales (une ou plusieurs).
Grade 3	Les lésions sont sévères et focales (une ou plusieurs), ou les lésions sont superficielles et étendues
Grade 4	Les lésions sont sévères et étendues.

Source : (Andrews et al. 2002)

Score nécropsique

Il a été démontré que la mesure de la profondeur réelle d'une image bidimensionnelle d'une lésion ulcéreuse gastrique n'est pas simple. L'évaluation des lésions gastriques à la nécropsie reste la méthode la plus fiable de déterminer la taille réelle. Une bonne corrélation a été rapportée pour un système de notation du nombre de lésions de la partie non glandulaire par examen gastroscopique et à la nécropsie. Par contre, aucune corrélation n'a été établie de la profondeur des ulcères par un système de notation simple pour le praticien et la nécropsie (Andrews et al. 2002).

Facteurs protecteurs

Le développement de l'ulcération gastrique est probablement une conséquence d'un déséquilibre entre les causes et les mécanismes protecteurs de la muqueuse (Andrews and Nadeau 1999). L'épithélium de la muqueuse glandulaire gastrique possède un certain nombre de mécanismes limitant les dommages causés par le HCl. Ceux-ci incluent les facteurs de croissance, le tamponnage par les bicarbonates, l'augmentation du flux sanguin dans la muqueuse, la sécrétion de mucus, la réparation cellulaire et des prostaglandines (Arakawa *et al.* 1998; Doherty *et al.* 2003; Miller 1983).

Les peptides de croissance produits par les cellules normales sont des substances de régulation très importantes. Ils se lient aux récepteurs cellulaires spécifiques de surface, qui contrôlent la croissance et la différenciation cellulaires par des mécanismes de transduction, une fois le signal initié. Les effets des facteurs de croissance sont typiquement modulés par des mécanismes paracrines et autocrines, bien que certains puissent agir en tant qu'hormones et être transportés par la voie sanguine (Murphy 1998). Plusieurs facteurs de croissance, dont le facteur de croissance épidermique (EGF- α), le facteur de croissance transformant alpha (TGF- α), le facteur de croissance transformant bêta (TGF- β), le facteur de croissance des fibroblastes (FGF) et le facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGF), sont impliqués dans la croissance, la régénération et la réparation des tissus, incluant le tissu gastrique (Geburek *et al.* 2005; Haber *et al.* 2003; Murphy 1998).

Chez le cheval, on a prouvé que les récepteurs du facteur de croissance épidermique (EGFr) sont induits dans l'épithélium gastrique non glandulaire après un dommage peptique, sa distribution étant plus grande dans les régions de plus grande prolifération cellulaire. Un ligand de récepteurs, comme pour le facteur de croissance épidermique (EGF- α) ou le facteur de croissance transformant (TGF), peut avoir un rôle dans la guérison des

ulcères dans la muqueuse gastrique non glandulaire chez les chevaux (Jeffrey *et al.* 2001).

Rôle des prostaglandines (enzymes COX-1 et COX-2)

L'inhibition de la production des métabolites pro-inflammatoires dérivés de l'acide arachidonique, comme les prostaglandines, contribue à l'action anti-inflammatoire des corticostéroïdes. Cette action est due à l'inhibition de la phospholipase (PLA-2) par les lipocortines, un groupe de protéines induit par les corticostéroïdes (Dolan-O'keefe and Nick 1999).

Des métabolites importants de l'acide arachidonique, comprenant les prostaglandines, les leucotriènes, les thromboxanes et le facteur d'activation des plaquettes, ont été impliqués dans la régulation paracrine et autocrine du développement, de la différenciation cellulaire et de la réponse inflammatoire (Dolan-O'keefe and Nick 1999).

Les corticostéroïdes peuvent supprimer l'inflammation en augmentant la synthèse de la lipocortine-1, une protéine de 37-kD qui exerce un effet inhibiteur sur la phospholipase A2 (PLA2), et peut donc empêcher la production des médiateurs lipidiques. Les corticostéroïdes induisent la formation de lipocortine-1 dans plusieurs cellules et la lipocortine-1 possède des propriétés anti-inflammatoires (Barnes *et al.* 1998b).

Une étude chez le rat conclut que des prostaglandines et plusieurs autres médiateurs tels que l'oxyde nitrique (NO), le peptide lié au gène de la calcitonine (CGRP) et les polyamines jouent un rôle important pour maintenir l'intégrité de la muqueuse gastrique et dans les mécanismes du pré-conditionnement ischémique, de la protection et de l'adaptation gastrique aux insultes répétées, particulièrement le stress (Brzozowski *et al.* 2005).

La PGE-2 (analogue-exogène) produite par la cyclo-oxygénase de types 1 et 2 (COX-1 et COX-2) joue un rôle crucial dans la protection gastrique. Les facteurs de croissance, les flavonoïdes, certaines hormones intestinales, et d'autres médiateurs, libérés par les nerfs sensitifs activés, peuvent également contribuer aux mécanismes de protection gastrique (Brzozowski *et al.* 2005).

Une étude a établi que l'administration de lipopolysaccharides (LPS) cause une diminution significative des concentrations et des sécrétions d'hydrogène (sécrétion acide) et des ions de potassium ainsi qu'une augmentation significative des concentrations d'ions de sodium dans le contenu de l'estomac du cheval à jeûn. Ce changement de contenu gastrique semble être associé, en partie, au relâchement de prostaglandines induites par les LPS (Doherty *et al.* 2003).

Facteurs ulcérogéniques

Niveau de gastrine / diète

Le type de nourriture, la taille des particules alimentaires et la quantité d'énergie soluble peuvent augmenter le niveau sérique de gastrine (Sandin *et al.* 1998). Il y a aussi une association entre le niveau d'insuline, la sécrétion soutenue et élevée de gastrine avec une diète de pellets. Le contact des pellets avec les récepteurs cause la libération soutenue de gastrine et, par conséquent, l'augmentation de sa concentration sérique par rapport à une alimentation de foin (Smyth *et al.* 1989).

Une étude chez le porc suggère que la taille des pellets augmentent la sévérité des ulcères gastriques (Amory *et al.* 2006). Chez des chevaux Standardbred, le régime foin-grain (0,6 kg/100 kg du poids corporel par jour) augmente la concentration plasmatique de gastrine jusqu'à quatre heures suivant le repas (Sandin *et al.* 1998). On a observé que le pH gastrique de

chevaux nourris respectivement avec un mélange luzerne-grain et du brome (*bromegrass*) varie de 2,30 à 4,84 et de 1,95 à 5,12 avec le brome sur une période de 24 heures. Le pH gastrique des chevaux nourris avec la combinaison luzerne-grain était sensiblement plus élevé deux à cinq heures après le repas que celui des chevaux nourris avec du brome, (Nadeau *et al.* 2000). Toutefois, douze heures après, le pH était sensiblement plus bas dans les échantillons obtenus des chevaux nourris avec la combinaison luzerne-grain par rapport aux valeurs obtenues pour les chevaux nourris avec du brome (Nadeau *et al.* 2000).

Effet des acides gras volatils (acétique, butyrique, propionique et valérique) / pH / acide chlorhydrique

Les hydrates de carbone sont fermentés par la flore intestinale et transformés en acides gras volatils (AGV). Ces acides gras volatils ont une faible pKa et sont très solubles dans les lipides. En présence d'un pH faible, les AGV deviennent non ionisés et peuvent traverser la muqueuse non glandulaire (région gastro-œsophagienne de l'estomac). Une fois à l'intérieur des cellules épithéliales de la muqueuse non glandulaire, l'acidification, causée par les acides gras volatils (AGV), provoque l'arrêt du transport de sodium, avec gonflement cellulaire, inflammation et, finalement, formation des ulcères (Argenzio and Meuten 1991).

L'acide acétique a obtenu la concentration la plus élevée de tous les acides gras volatils mesurés dans le suc gastrique juste après alimentation sur deux régimes et a diminué sensiblement après une heure, sa concentration allant de 1,10 à 16,31 mmol/L, chez les chevaux nourris avec le mélange luzerne-grain, et allant de 6 à 14 mmol/L, chez les chevaux nourris de brome (Nadeau *et al.* 2000).

Dans la même étude, le régime grain-luzerne induit un pH et une concentration d'AGV plus élevée, comme aussi un nombre et une sévérité des lésions gastriques sensiblement inférieurs dans la muqueuse non

glandulaires, par rapport au régime de foin seulement. Malgré de hautes concentrations d'AGV, la concentration de calcium et de protéines de la luzerne peut avoir un effet neutralisant sur le pH jusqu'à six heures après son ingestion (Nadeau *et al.* 2000).

Une étude expérimentale chez le cheval rapporte que l'acide chlorhydrique ou les acides gras volatils, qui sont des produits de fermentation des hydrates de carbone, peuvent causer des dommages fonctionnels de la muqueuse non glandulaire de l'estomac des chevaux ayant un pH bas (≤ 4). Ces dommages par érosion des cellules profondes adjacentes au *stratum corneum* de la muqueuse non glandulaire et de leurs fonctions de barrière et de mécanismes de transporteur du sodium mènent à la nécrose des tissus et la présence d'ulcères. Les effets synergiques de l'acide chlorhydrique et des acides gras volatils peuvent être la raison pour laquelle les diètes riches en hydrates de carbone ont été impliqués dans le développement des ulcères gastriques (Argenzio 1999; Nadeau *et al.* 2003).

Facteurs chimiques et médicaments (les AINS, les corticostéroïdes)

AINS (anti-inflammatoires non stéroïdiennes)

L'administration d'anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) (phénylbutazone 4,4 mg/kg, flunixin méglumine 1,1 mg/kg et kétoprofène 2,2 mg/kg; trois fois par jour, pendant huit jours) à des chevaux cliniquement normaux est accompagnée d'une perte de protéines plasmatiques et d'ulcères oraux (MacAllister *et al.* 1993).

Une dose unique de phénylbutazone (PLZ) (13,46 mg/kg) produit des dommages microvasculaires liés à la formation d'érosions duodénales et du côlon chez les chevaux (Meschter *et al.* 1990). En utilisant une dose plus élevée, la toxicité de la phénylbutazone est augmentée, sans améliorer significativement son effet analgésique (Hu *et al.* 2005).

Des études expérimentales, réalisées chez le rat, avec l'indométhacine (Tsuji, 1992) et une autre, chez le cheval, avec la phénylbutazone (Doherty *et al.* 2003), montre que ces médicaments ont une action inhibitrice de la sécrétion d'acides gastriques induite par la LPS (Doherty *et al.* 2003).

La COX-1 est exprimée constitutivement dans la plupart des tissus et produit des prostanoides impliqués dans des processus physiologiques normaux. Les PGE2 et PGI2 gastro-intestinaux réduisent la sécrétion d'acides gastriques, augmentent la production du mucus protecteur, la vasodilatation dans la muqueuse et la sécrétion duodénale de bicarbonate (Martin and Wallace 2006).

La COX-2 est considérée comme une isoenzyme inductible nécessaire pour le bon fonctionnement de l'organisme. Il a été démontré qu'une surrégulation de son expression locale *in vivo* se manifeste par une inflammation chronique active et par une ischémie stimulée par des cytokines et des mitogènes pro-inflammatoires (Little *et al.* 2007). Toutefois, le rôle de l'expression de la COX-2 en présence des inhibiteurs de COX-2 devient plus complexe parce que, par exemple, l'inhibition de la COX-2 retarde la guérison des ulcères gastriques et peut aggraver les colites chez le rat (Schmassmann *et al.* 1998).

Corticostéroïdes

Les corticostéroïdes augmentent la sécrétion d'acide gastrique, réduisent la sécrétion de mucus, augmentent la sécrétion de gastrine, causent l'hyperplasie de cellules pariétales et retardent la guérison des ulcères chez les animaux (Richardson 1985). D'autres études ont montré également des effets délétères des corticostéroïdes sur l'estomac chez des animaux de laboratoire, par l'inhibition de la production d'oxyde nitrique gastrique,

l'inhibition de la synthèse de COX-1, de EGF α et de la prolifération des cellules épithéliales gastriques (Akiba *et al.* 1998; Luo *et al.* 2007; Luo *et al.* 2004; Yokota *et al.* 2007).

Motivations

La béclométhasone et la fluticasone sont les deux corticostéroïdes les plus utilisés par inhalation pour traiter les chevaux atteints de souffle. On retrouve peu d'informations sur l'efficacité de la fluticasone chez le cheval et les informations disponibles proviennent de l'expérience acquise en médecine humaine. L'utilisation de béclométhasone est associée à l'apparition d'effets secondaires à court terme sur l'axe HHS avec une faible dose de 528 µg, deux fois par jour (Rush *et al.* 1998b; Rush *et al.* 2000; Rush *et al.* 1999; Rush *et al.* 1998c).

À notre connaissance, il n'y a pas d'information sur les effets secondaires associés à une corticothérapie par inhalation sur une longue période chez les chevaux atteints de souffle. Ce projet a été réalisé dans le cadre d'une étude globale visant à étudier les effets d'une stimulation antigénique sur le remodelage tissulaire pulmonaire de chevaux atteints de souffle.

Objectifs

Les objectifs de cette étude visaient à déterminer si une inhalothérapie prolongée pouvait : 1) entraîner une suppression de la production de cortisol; 2) causer des ulcères gastriques.

Hypothèses

Nous anticipons qu'une dose initiale de 2 000 µg de fluticasone inhalée (Flovent®), deux fois par jour, pendant six mois, suivie d'une dose 2000 µg SID, pour une deuxième période de six mois, administrée par Aeromask® et aérochambre, causera des ulcères gastriques de la portion non glandulaire ainsi que des effets systémiques sur l'axe HHS se traduisant par la diminution de cortisol.

Matériels et méthodes

Protocole expérimental

Ce projet s'inscrit dans le cadre d'une étude de cas-témoins d'une durée d'un an. Onze chevaux atteints de souffle (six chevaux dans le groupe-traitement et cinq chevaux non traités) de même que six chevaux contrôles en santé (sans maladie respiratoire) ont participé au projet. Après une période d'induction d'environ deux mois avec du foin moisi et de la litière de paille afin d'exacerber la maladie respiratoire chez les onze chevaux ciblés (groupe malade), l'échantillonnage a été divisé en deux groupes : 1) un groupe a été traité avec de la fluticasone par inhalation; et 2) un deuxième groupe n'a pas reçu de fluticasone et a été mis dans un environnement plus favorable (pellets de luzerne et copeaux de bois). La fluticasone a été administrée par inhalation à raison d'une dose initiale de 2 000 µg, deux fois par jour, pendant six mois. Dans le cas de deux chevaux, la dose a été modifiée après 5 semaines afin d'identifier la dose minimale requise pour le contrôle de l'obstruction respiratoire (de 3000 à 2000 µg BID). Le groupe des chevaux traités a été nourri avec du foin et gardé sur une litière de paille tandis que le groupe des chevaux non traités a reçu des pellets et a été gardé sur une litière de copeaux de bois. Après la période de six mois, tous les chevaux ont été gardés au pâturage. Durant la période au pâturage, les chevaux du groupe traité ont continué à recevoir de la fluticasone par inhalation 2000 µg une fois par jour. Les prélèvements sanguins pour le dosage du cortisol ont été réalisés à des moments où les chevaux n'étaient pas exposés à des stress importants. Pendant cette période, des prélèvements de poumon ont été réalisés par thoracoscopie à trois reprises. Le taux de cortisol n'a pas été mesuré durant ces trois périodes de prélèvement.

Le groupe des chevaux exempts de maladie respiratoire a été gardé sur une litière de copeaux de bois et nourris dans un premier temps avec du foin pendant 6 semaines et dans un deuxième temps avec des pellets de luzerne pendant aussi 6 semaines.

Contrôles

Six juments en santé (sans indice de maladie respiratoire), âgées de 8 à 14 ans ont été utilisées. La division des races était la suivante : Arabe (2), Standardbred (2), Quarterhorse (1) et croisé (1).

Critères d'inclusion

Ces chevaux présentaient une histoire de souffle. Le critère d'inclusion était la présence de signes cliniques respiratoires. Les symptômes cliniques respiratoires ont été gradés selon le système décrit par Robinson (Robinson *et al.* 2000).

Système de gradation du score clinique respiratoire

Dilatation nasale :

- 1 = Aucune dilatation;
- 2 = Dilatation légère, occasionnelle des narines;
- 3 = Dilatation modérée des narines;
- 4 = Dilatation grave et continue à chaque inspiration.

Composante abdominale de la respiration :

- 1 = Aucune composante abdominale de la respiration;
- 2 = Léger mouvement abdominal;
- 3 = Mouvement abdominal modéré;
- 4 = Mouvement abdominal marqué.

Points cliniques totaux :

2 = Aucun signe respiratoire;

3 ou 4 = Signes respiratoires légers;

5 ou 6 = Signes respiratoires modérés;

7 ou 8 = Signes respiratoires graves.

Critères d'exclusion

Aucun cheval n'a montré de signes cliniques d'une infection respiratoire (fièvre et de sécrétions mucopurulentes) pendant la période d'étude.

Environnement

Les chevaux ont été gardés à l'intérieur de l'écurie pendant deux mois avant de commencer l'expérience et durant six mois après l'apparition des signes cliniques. Les conditions à l'intérieur de l'écurie ont été contrôlées pendant toute la durée de l'étude, soit un pourcentage d'humidité variant de 60 à 70 % et une température ambiante se situant entre 14 et 17 °C.

Dans la première étape de l'étude (*challenge* antigénique), les chevaux ont été nourris avec du foin de mauvaise qualité et sont demeurés sur une litière de paille. Ils ont été exposés à un foin poussiéreux afin d'exacerber la maladie respiratoire.

Dans une deuxième étape, la moitié des chevaux malades (groupe malade non traité) n'ont pas reçu de foin et ont été nourris avec des pellets de luzerne et gardés sur une litière de copeaux de bois, dans le but d'améliorer leurs conditions environnementales et afin de pouvoir comparer les résultats de ce groupe avec ceux des chevaux traités (corticostéroïdes inhalés) qui, eux, ont été nourris avec du foin moisi et gardés sur la paille.

Dans une troisième étape, tous les chevaux atteints de souffle ont été gardés au pâturage.

Protocole et méthode de traitement

Le traitement consistait en l'administration de propionate de fluticasone (Flovent®) à 2 000 µg ou huit vaporisations (aérosol doseur pressurisé ou nébuliseur), à l'aide d'un Aeromask® et d'une Aérochambre®. Pour la première étape, le traitement de fluticasone a été administré, deux fois par jour (8:00 et 20:00), pendant six mois et, pour la deuxième étape thérapeutique, une fois par jour (8:00), sur une période de six mois.

Méthode d'administration par inhalothérapie :

- 1) L'aeromask® est placé sur la narine du cheval et attaché autour de sa tête.
- 2) L'aérochambre est assemblée selon les instructions disponibles sur le site l'aeromask®, et finalement, l'appareil-doseur contenant la fluticasone (Flovent-HFA 250 µg ®) est installé.
- 3) Huit vaporisations de 250 µg sont administrées chaque fois. Il faut attendre un intervalle de trois inspirations, entre chaque vaporisation. Il faut appuyer sur le vaporisateur à la fin de la phase expiratoire de façon à ce que la fluticasone soit présente dans l'aérochambre au moment de l'inspiration.

Examen physique

Un examen physique a été réalisé au début de l'étude et à chaque fois que des prélèvements pour le cortisol ont été fait. De plus, une évaluation de l'appétit, du poids, la présence d'une boiterie et des signes de coliques ont été vérifiés pendant toute la durée de l'étude. Le score clinique respiratoire a été déterminé de même que le score de l'état corporel, selon la description

rapporté par Robinson (Robinson *et al.* 2000) et Henneke (Henneke *et al.* 1983).

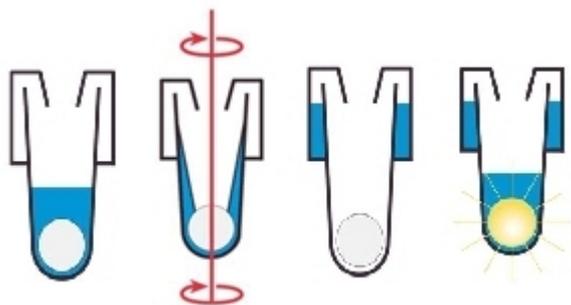
Mesure du cortisol

Les prélèvements pour le dosage de cortisol sérique ont toujours été réalisés le matin entre 8 et 9 h. Ils ont été prélevés dans la veine jugulaire, avec des tubes sans anticoagulant, gardés à la température de la pièce (15 °C approximativement) pendant 60 minutes et ensuite centrifugés à 1 000 G (1 900 RPM) à 15 °C pendant 20 minutes. Dans un intervalle de deux heures, le sérum a été congelé à –80 °C jusqu'à l'analyse par le Service de diagnostic de la Faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Montréal. La méthode d'immunoessai enzymatique par chimiluminescence en phase solide (CEIA)¹ a été utilisée. La chimiluminescence en phase solide est une méthode adéquate pour la mesure de cortisol sérique et a montré une très bonne corrélation par rapport à la mesure par RIA. La procédure est la suivante :

- 1) Une fois que le sérum est obtenu par centrifugation, l'échantillon et le réactif sont introduits à l'aide d'une pipette dans le banc d'essai, qui est alors incubé à 37 degrés Celsius avec une agitation intermittente.
- 2) Après l'incubation, le banc d'essai tourne à grande vitesse autour de son axe vertical, le produit de la réaction est expulsé vers le haut et gardé dans la chambre de vidange.
- 3) Après une série de lavages, le matériel non lié au fond et sur la paroi du tube est prélevé.
- 4) Le substrat de chimiluminescence est ajouté au banc d'essai et le signal est quantifié avec un compteur de photons à haute sensibilité;
- 5) La lecture de la chimiluminescence est proportionnelle à la concentration.

¹ Immulite® 1 000 Cortisol, Siemens Healthcare Diagnostics, Tarrytown, New York, USA.

Figure 6 : Immunoessai enzymatique par chimiluminescence en phase solide (CEIA)



Source : <http://diagnostics.siemens.com/>

Gastroscopie

L'examen gastroscopique a été réalisé après une période de jeûne de 18 heures. Pour la procédure, chaque cheval a été tranquilisé avec de la xylazine (0,03 mg/kg) et du butorphanol (0,02 mg/kg). Un gastroscopie (Olympus, modèle EV-15 de 3 mètres x 1 cm), est introduit dans une narine et acheminé jusqu'à l'estomac.

L'évaluation gastrique a été réalisée systématiquement, selon la description faite par Murray (Murray 2003), de la façon suivante : muqueuse non glandulaire, margus plicatus, muqueuse glandulaire, cardia et pylore. Chaque gastroscopie a été enregistrée et évaluée ultérieurement selon un système de notation du EGUC (0 à 4), déjà décrit (Andrews 1999), avec une échelle graduée de 0 à 4. Une gradation modifiée a été utilisée : le grade 3 a été divisé en deux catégories : 3A et 3B.

Système de gradation modifiée des ulcères gastriques :

- Grade 0 :** L'épithélium est intact et la muqueuse n'apparaît ni hyperhémique (rouge) ni hyperkératosique (jaune dans la zone non glandulaire).
- Grade 1 :** La muqueuse est intacte, mais certaines zones sont hyperémiques ou hyperkératosiques (non-glandulaire).
- Grade 2 :** Les lésions sont superficielles et focales (une ou plusieurs).
- Grade 3a :** Les lésions sont sévères et focales (une ou plusieurs).
- Grade 3b :** Les lésions sont superficielles et étendues.
- Grade 4 :** Les lésions sont sévères et étendues.

Source : Andrews, 1999.

Analyse statistique

Le test de Cochran-Mantel-Haenszel a été utilisé pour des mesures ordinales répétées. Nous avons utilisé le test de Kappa pour établir la concordance entre les mesures du score des ulcères gastriques entre les trois observateurs. Pour le cortisol, le modèle linéaire à mesures répétées (ANOVA) avec les temps (neuf niveaux), comme facteur intra-sujet, et le groupe (deux niveaux), comme facteur entre les sujets, a été retenu.

Résultats

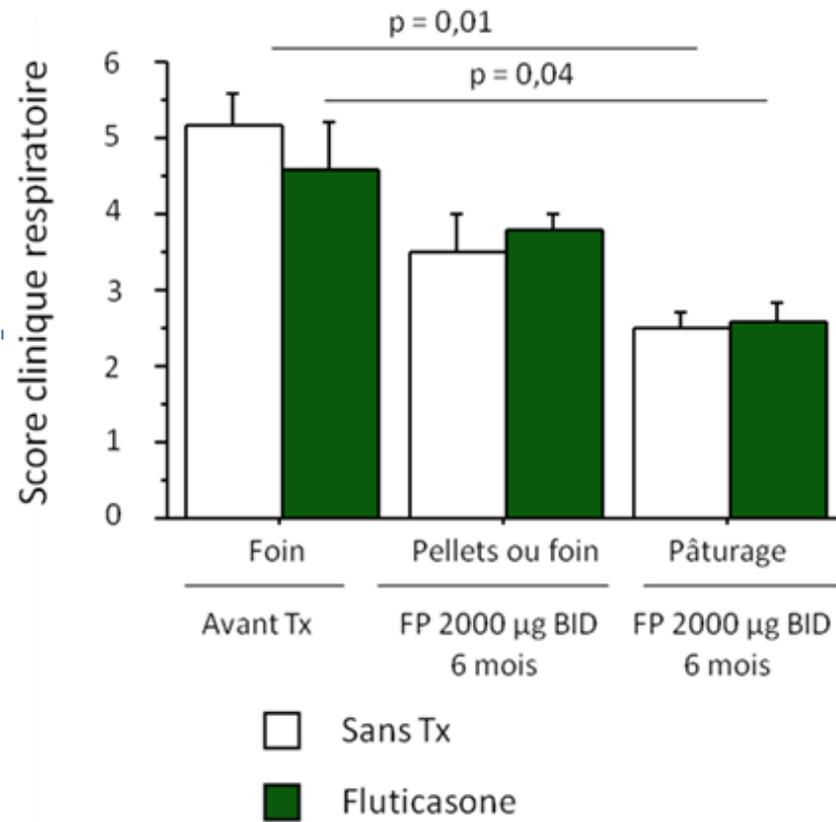
Score clinique respiratoire

Avant le début du traitement, le score respiratoire des deux groupes de chevaux varie de 3 à 6, ce qui correspond à une difficulté respiratoire importante. Le score respiratoire est significativement plus bas au temps 2 par rapport au temps 0 chez les chevaux traités avec de la fluticasone ($p = 0,01$) et chez les chevaux non traités ($p = 0,04$). Lorsqu'ils sont au pâturage (temps 2), leur score respiratoire de 2,5 en moyenne ce qui correspond à une respiration jugée normale.

Tableau II : Score clinique respiratoire des chevaux atteints de souffle symptomatiques.

Cheval	Score clinique respiratoire		
	Temps 0	Temps 1	Temps 2
Souffle/sans Traitement			
61	4	4	3
123	4	3	2
308	3	4	3
315	6	4	3
319	6	4	2
Souffle/ fluticasone			
91	5	2	3
96	4	4	3
312	6	4	3
316	5	4	2
317	4	2	2
322	6	5	2

Figure 7 : Score clinique respiratoire chez les chevaux atteints du souffle traités avec de la fluticasone et des chevaux non traités



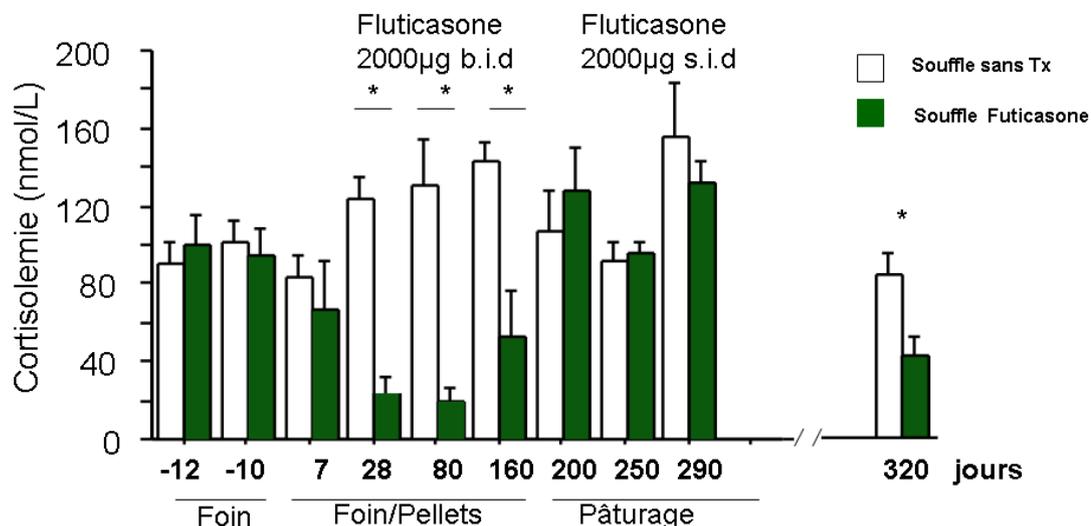
Cortisol

La figure 8 présente les variations du cortisol chez les chevaux atteints de souffle traités et non traités. Avant le début du traitement à la fluticasone, deux prélèvements ont été réalisés à des moments différents (10 et 12 jours) pour établir les valeurs de base. Il n'y a pas de différence de cortisolémie entre les deux groupes (chevaux traités et chevaux non traités) aux deux temps évalués. Durant la période où les chevaux ont reçu le traitement de fluticasone, deux fois par jour, les valeurs du cortisol sont significativement plus basses dans le groupe des chevaux traités par rapport à celui des chevaux non traités et ce, aux temps 28, 80 et 160 jours. Aussi, le cortisol sanguin est significativement moins élevé dans le groupe des chevaux traités aux jours 28, 80, 160 comparativement aux valeurs de base. Durant la période où les chevaux recevaient le traitement une fois par jour (aux jours 200, 250, 290 et 320), les valeurs du cortisol sanguin sont similaires dans les deux groupes. Comme les prélèvements pour le dosage du cortisol ont été réalisés le matin, un prélèvement a également été réalisé l'après-midi, au jour 320, afin de déterminer l'effet du moment de la journée sur la cortisolémie. Pour ce prélèvement au jour 320, la valeur du cortisol est significativement plus basse chez les chevaux qui reçoivent une corticothérapie comparés aux valeurs constatées chez les chevaux non traités.

Tableau III : Cortisolémie des chevaux atteints du souffle traités avec de la fluticasone (2000µg, BID, aux jours 7, 28, 80, 160 jours puis 2000µg, SID, aux jours 200, 250, 290 et 320 jours) et des chevaux atteints du souffle non traités.

Niveaux du cortisol (nmol/L)											
Cheval	Groupe	-12 jours	-10 jours	7 jours	28 jours	80 jours	160 jours	200 jours	250 jours	290 jours	320 jours
61	Souffle non-traité	101,00	102,00	104,00	111,00	87,50	114,00	69,40	103,00	88,50	118,00
123	Souffle non-traité	106,00	108,00	110,00	100,00	158,00	157,00	183,00	92,30	258,00	101,00
308	Souffle non-traité	94,60	114,00	85,70	128,00	113,00	135,00	98,40	107,00	152,00	62,50
315	Souffle non-traité	47,60	59,10	50,80	114,00	82,80	163,00	108,00	101,00	151,00	85,60
319	Souffle non-traité	105,00	124,00	63,10	165,00	210,00	148,00	78,70	56,10	127,00	59,70
Moyenne		90,84	101,42	82,72	123,60	130,26	143,40	107,50	91,88	155,30	85,36
Écart-type		24,58	25,01	25,54	25,21	53,63	19,53	44,90	20,71	62,93	24,96
91	Souffle/ fluticasone	73,20	70,20	19,30	10,40	10,60	10,70	N/A	N/A	95,10	41,60
96	Souffle/ fluticasone	128,00	98,90	10,20	10,20	10,20	10,20	86,90	93,80	107,00	34,10
312	Souffle/ fluticasone	71,20	69,40	86,50	66,60	52,60	104,00	135,00	86,50	144,00	38,20
316	Souffle/ fluticasone	76,00	59,40	13,70	10,20	10,20	31,70	118,00	82,30	125,00	28,50
317	Souffle/ fluticasone	160,00	135,00	148,00	10,20	10,20	10,20	96,00	106,00	158,00	25,30
322	Souffle/ fluticasone	93,10	132,00	125,00	31,60	23,00	149,00	206,00	110,00	160,00	89,30
Moyenne		100,25	94,15	67,12	23,20	19,47	52,63	128,38	95,72	131,52	42,83
Écart type		36,21	33,22	61,07	22,91	17,01	59,54	47,29	12,02	26,97	23,54

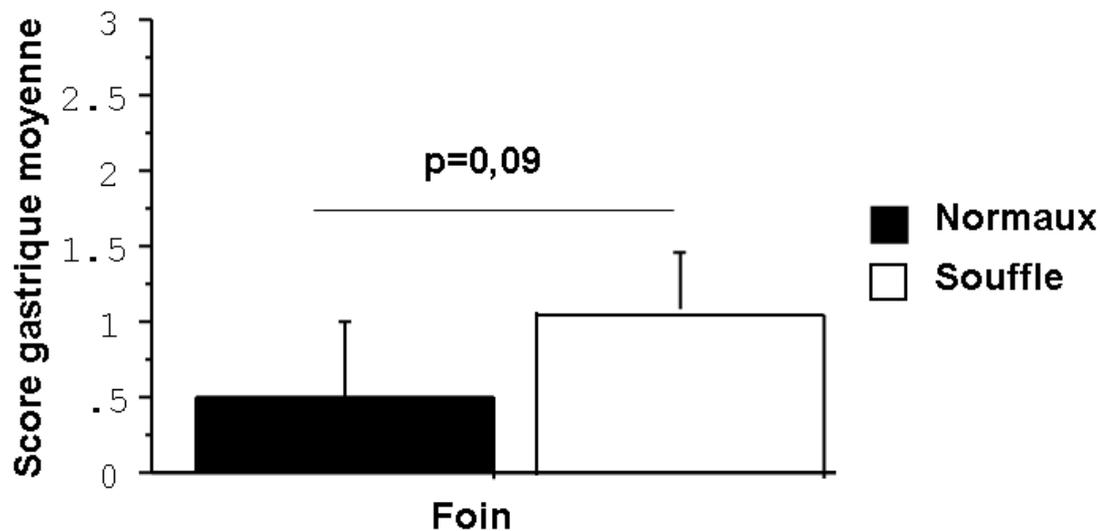
Figure 8 : Cortisolémie (nmole/L, moyenne +/- écart type) des chevaux atteints du souffle traités avec la fluticasone (n=6) et non traités (n=5). La cortisolémie a été évaluée par un test de suppression à la dexaméthasone au jour 320 jours post-traitement (à 16 :00).



Ulcères Gastriques

Effet de la maladie

La sévérité des ulcères gastriques est plus élevée chez les chevaux atteints du souffle en période symptomatique par rapport aux chevaux normaux, mais la différence n'est pas significative ($p = 0,09$). Il faut préciser que la sévérité moyenne des ulcères gastriques des chevaux atteints du souffle est légèrement supérieure à 1, ce qui est peu sévère (Figure 9).

Figure 9 : Les effets du souffle sur la sévérité des ulcères gastriques

Effet de la nourriture

La figure 10 montre que le score des ulcères gastriques est plus élevé chez les chevaux atteints du souffle non traités recevant des pellets par rapport à une alimentation de foin, mais cette différence n'est pas significative. La figure 11 présente les scores des ulcères gastriques de chevaux exempts de maladie respiratoire recevant une alimentation de foin et une alimentation à base de pellets de luzerne. Le score des ulcères gastriques est significativement plus élevé chez les chevaux exempts de maladie respiratoire recevant des pellets de luzerne.

Figure 10 : Les effets de l'alimentation sur le score des ulcères gastriques chez les chevaux atteints du souffle non traités recevant du foin ou des pellets de luzerne.

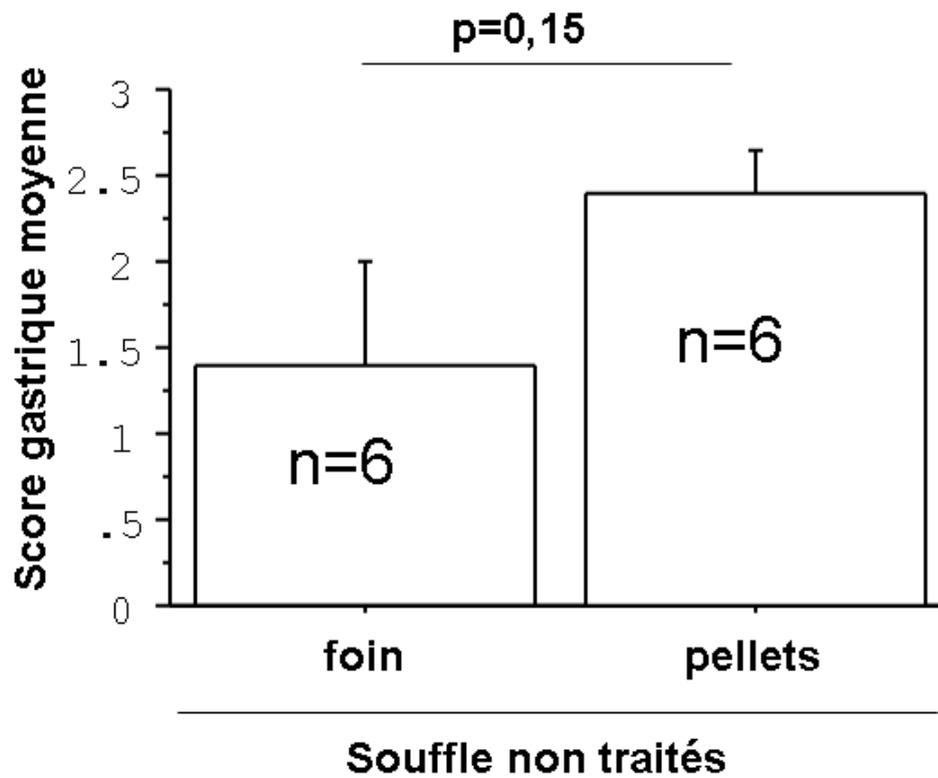
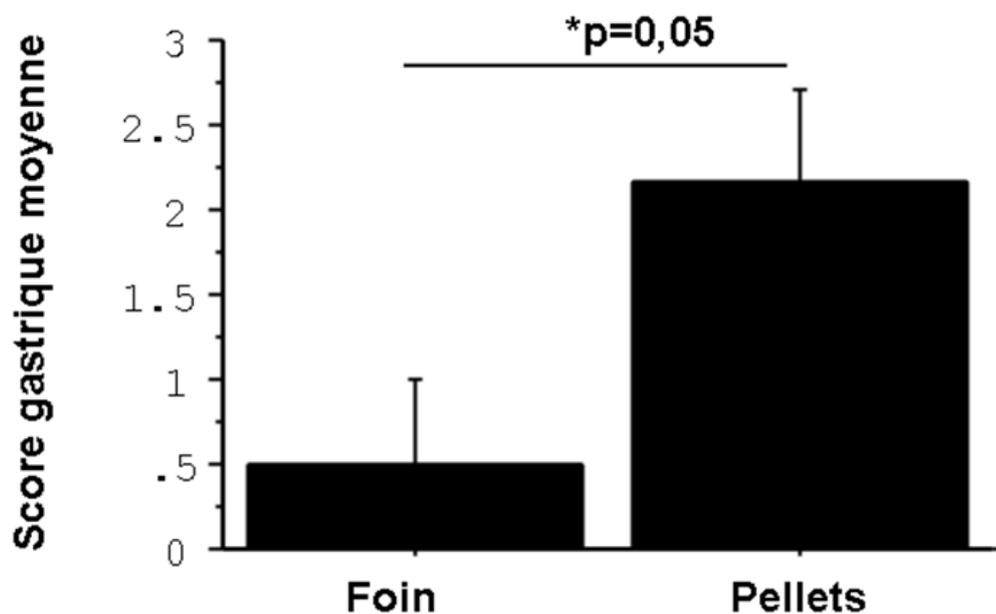


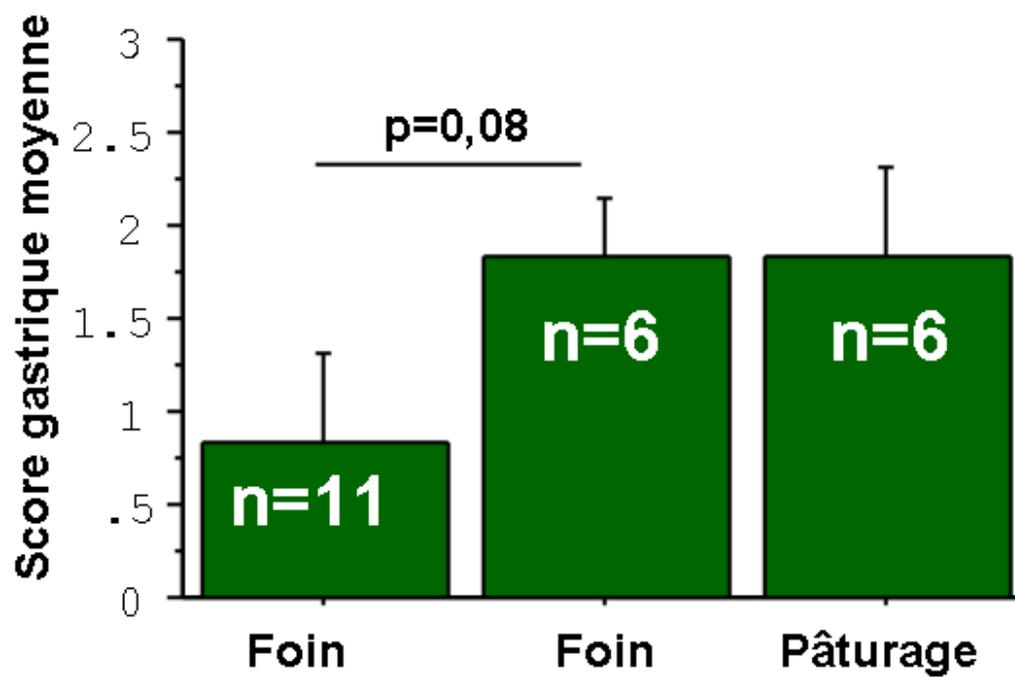
Figure 11 : Le score des ulcères gastriques de chevaux exempts de maladie respiratoire (n=6) recevant du foin ou des pellets de luzerne.



Effet du traitement

Le score des ulcères gastriques est plus élevé chez les chevaux atteints du souffle traités avec de la fluticasone par rapport à la période symptomatique sans traitement (avant le début de traitement), mais cette différence n'est pas significative. L'exposition au pâturage ne modifie pas le score des ulcères gastriques chez les chevaux traités avec de la fluticasone. Donc, une corticothérapie inhalée prolongée de fluticasone n'entraîne pas d'augmentation de la sévérité des ulcères gastriques chez les chevaux atteints du souffle.

Figure 12 : Les effets de la fluticasone par inhalation sur le score des ulcères gastriques chez les chevaux atteints du souffle



Discussion

Les objectifs de l'étude étaient d'évaluer les effets d'une corticothérapie sur le score des ulcères gastriques chez des chevaux atteints de souffle (traités ou non traités à la fluticasone) et chez des chevaux exempts de maladie respiratoire ainsi que d'évaluer le cortisol sérique chez des chevaux atteints de souffle recevant une corticothérapie par inhalation.

Scores cliniques

Les scores cliniques respiratoires moyens des chevaux atteints du souffle de notre étude sont significativement plus bas lorsqu'ils reçoivent un traitement de fluticasone par inhalation ($p = 0,01$) ou en présence de changements environnementaux (alimentation des pellets de luzerne) ($p = 0,04$). Ces résultats vont dans le sens de ceux rapportés dans plusieurs études où il est mentionné que la corticothérapie et/ou une diminution de l'exposition aux allergènes environnementaux entraînent une amélioration du score clinique respiratoire. Le foin moisi et la paille trop riche en allergènes sont des causes reconnues pouvant causer des exacerbations de l'obstruction respiratoire chez les chevaux atteints du souffle (Ainsworth *et al.* 2003; Couetil *et al.* 2005; DeLuca *et al.* 2008; Rush *et al.* 1998a; Rush *et al.* 1998c).

Taux de cortisol

Le cortisol sanguin moyen des chevaux atteints du souffle traités à raison de 2 000 μg de fluticasone inhalée (HFA Flovent®), deux fois par jour, est significativement moins élevé aux jours 28, 80 et 160 après le début du traitement. Une autre étude effectuée sur des chevaux exempts de maladie respiratoire, traités avec de la fluticasone à la dose de 1500 μg aussi deux fois par jour pendant une semaine, a entraîné une diminution significative du taux du cortisol au troisième jour de traitement, par rapport aux valeurs de base ainsi qu'aux cinquième et huitième jours, par rapport aux valeurs recueillies pour les chevaux-contrôles (Laan *et al.* 2004). Donc, Laan montre

qu'avec une dose plus faible, 1500 µg de fluticasone, l'effet supprimeur sur la cortisolémie est plus rapide que celui observé dans notre étude. Une des explications de cette différence pourrait être le contexte de cette étude qui a utilisé des chevaux exempts de maladie respiratoire, sans maladie respiratoire, par rapport à notre étude où nous avons utilisé des chevaux atteints du souffle. En comparant deux études une fait sur des chevaux malades et une autre chez des chevaux normaux, il est possible que l'absorption de la fluticasone soit plus faible chez les chevaux atteints du souffle par rapport à celle que démontre les chevaux exempts de maladie respiratoire (Couetil *et al.* 2005; Laan *et al.* 2004). Chez l'humain, l'absorption de fluticasone est plus élevée chez les patients normaux par comparaison à celle observée chez les patients atteints d'asthme (Harrison and Tattersfield 2003). Chez le cheval, cette information n'est pas connue.

Une autre étude rapporte des diminutions de la cortisolémie chez des chevaux atteints du souffle traités avec de la fluticasone à une dose de 1980 µg, deux fois par jour, pendant deux semaines, suivie d'une dose de 1100 µg, une fois par jour, pendant une semaine et, finalement, d'une dose de 1100 µg à chaque deux jours pendant une autre semaine. Les résultats de cette étude ne montrent pas de différences significatives du cortisol sérique avec une stimulation à l'ACTH et ce, deux à quatre semaines après le début du traitement (Couetil *et al.* 2005). Dans cette étude, les auteurs proposent plusieurs hypothèses pour expliquer ces résultats : 1) l'absorption de la fluticasone est faible chez les chevaux atteints du souffle à cause de l'obstruction des voies respiratoires; 2) il est possible que la courte période du traitement (quatre semaines), la faible dose de la deuxième partie du traitement n'ait pas eu un effet suffisant pour entraîner une suppression² de la sécrétion de cortisol dans le sang (Couetil *et al.* 2005; Dluhy 1998; Rossi *et al.* 2007). Ces résultats vont dans le même sens que ceux de notre étude pour la deuxième partie du traitement, où une seule administration de

² Suppression: interruption soudaine d'une sécrétion, d'une excrétion ou d'une décharge normale.

Atrophie : Réduction du volume d'une cellule, d'une tissu ou d'un organe au cours de phénomènes physiologiques, ou des processus pathologiques. Quevauvilliers, J. (2007) Dictionnaire médical Elsevier Masson, Les Moulins Cedex.

2000 ug de fluticasone n'entraîne pas de modification des valeurs de cortisolémie. Une raison pour expliquer cette absence de suppression de la sécrétion de cortisol pourrait être la durée de la demi-vie de la fluticasone, laquelle est de 14 heures (Rossi *et al.* 2007) et donc, une seule administration de fluticasone est probablement insuffisante pour supprimer de façon significative la production de cortisol.

Chez le cheval, la dose-seuil de fluticasone pouvant entraîner une suppression de la cortisolémie n'a pas été définie. La dose-seuil de béclométhasone a été établie à 528 µg, deux fois par jour, ce qui coïncide avec une amélioration des signes cliniques (Rush *et al.* 2000; Rush *et al.* 1999), et de 500 µg BID avec une amélioration de la fonction pulmonaire (Couetil *et al.* 2006).

Chez l'humain, des méta-analyses ont établi qu'une dose de 800 µg de béclométhasone entraînait des complications secondaires minimales telles que la suppression du cortisol, la candidose orale, l'amincissement et des hémorragies cutanées (Barnes 2007; Barnes *et al.* 1998a).

Ces résultats suggèrent que la concentration, le moment, et la fréquence d'administration de la fluticasone pourrait influencer le degré de suppression de l'axe HHS et la présence de signes cliniques, comme cela a été déjà démontré chez l'humain (Dluhy 1998). Il faut se rappeler que la sécrétion de plusieurs hormones comme l'ACTH et le cortisol est contrôlée chez le cheval, comme chez la plupart de mammifères, par le SNC, lequel est influencé selon un cycle circadien (Koyanagi *et al.* 2006). Les corticostéroïdes sont considérés comme des molécules importantes dans le synchronisme des horloges périphériques (Zeitgeber) (Balsalobre *et al.* 2000; Kramer *et al.* 2001; McNamara *et al.* 2001). En fait, le rythme quotidien de la sécrétion de corticostéroïdes est réglé par l'axe hypothalamo-hypophysaire-surrénalien. (Meyer-Bernstein *et al.* 1999).

Ulcères gastriques

La totalité des ulcères gastriques observés chez les chevaux de notre étude étaient localisés sur la partie non glandulaire de l'estomac, près de la *margus plicatus*, comme cela est rapporté dans plusieurs études (Dionne *et al.* 2003; Jonsson and Egenvall 2006; McClure *et al.* 1999; Roy *et al.* 2005; Vatistas *et al.* 1999c). Plusieurs raisons ont été proposées pour expliquer cette localisation : 1) une diminution des ECL (*enterochromaffin-like cells*) chez l'adulte, cellules qui ont pour fonction d'augmenter la motilité et d'inhiber la sécrétion d'acide gastrique (Fink *et al.* 2006b); 2) l'absence des protéines CX31 (protéines de jonction intercellulaire) dans la partie non glandulaire, lesquelles ont été décrites comme un mécanisme de défense de la muqueuse gastrique pour garder sa cohésion et son intégrité en empêchant le développement des ulcères par l'action érosive de l'acide gastrique (Fink *et al.* 2006a; Fink *et al.* 2006b) et 3) l'absence de mécanisme de sécrétion de mucus et de bicarbonates (Buchanan and Andrews 2003)

Effet de la maladie

La sévérité des ulcères gastriques n'est pas plus élevée chez les chevaux atteints du souffle en période symptomatique par rapport à celle des chevaux exempts de maladie respiratoire. Il faut préciser que la sévérité moyenne des ulcères gastriques des chevaux atteints du souffle est légèrement supérieure à 1, ce qui reste peu sévère. Cette tendance d'un effet de la maladie sur la sévérité des ulcères gastriques pourraient s'expliquer par les conséquences gastriques d'un effort respiratoire plus marqué. Ce contexte pourrait être comparable à l'effort respiratoire observé durant un exercice intense. Il a été proposé que la pression respiratoire observée durant l'exercice intense pourrait déplacer les contenu et suc gastriques jusqu'au cardia et ainsi modifier le gradient du pH dans l'estomac. Ceci pourrait exposer la muqueuse non glandulaire à un pH plus faible, ce qui pourrait favoriser le développement d'ulcères gastriques (Lorenzo-Figueras *et al.* 2002).

Effet de la nourriture

Le score des ulcères gastriques est plus élevé chez les chevaux atteints du souffle non traités recevant des pellets de luzerne par rapport à une alimentation de foin, mais cette différence n'est pas significative. Aussi, le score des ulcères gastriques est significativement plus élevé chez les chevaux exempts de maladie respiratoire recevant des pellets de luzerne par rapport aux chevaux exempts de maladie respiratoire nourris avec du foin et des pellets de luzerne. Ces deux résultats vont dans le sens d'un effet délétère des pellets de luzerne sur l'estomac du cheval. Tel que décrit chez le porc, un effet mécanique/ulcérogénique pourrait être l'explication de cet effet délétère des pellets sur la muqueuse de l'estomac (Amory *et al.* 2006). La raison pour laquelle les scores gastriques ne sont pas significativement différents entre les chevaux atteints du souffle nourris avec du foin (traités avec de la fluticasone) et ceux recevant des pellets de luzerne reste indéterminée. Il est possible que la fluticasone ait pu augmenter légèrement le score d'ulcère gastrique chez les chevaux traités et donc maintenir un niveau similaire à celui retrouvé chez les chevaux non-traités et recevant des pellets de luzerne. La variation de l'effet maladie a pu avoir un effet bénéfique sur le score gastrique, diminuant ainsi les effets délétères des pellets de luzerne.

Des pellets de grosse taille ont d'ailleurs été associés à la sévérité des ulcères chez le porc (Amory *et al.* 2006). Chez le cheval, son effet reste inconnu, son effet ulcérogénique pourrait être dû à un effet mécanique direct sur la paroi de l'estomac ou au contact prolongé avec la paroi qui provoque plus de sécrétion de gastrine, comme le montrent des études réalisées sur l'effet d'une diète de pellets (Smyth *et al.* 1989), sur des petits repas à haute énergie soluble (hydrates de carbone) (Lorenzo-Figueras *et al.* 2005; Sandin *et al.* 1998; Smyth *et al.* 1989) et sur la sécrétion de gastrine sérique avec un pH bas (Sandin *et al.* 1998; Smyth *et al.* 1989). Jusqu'à maintenant, aucune étude chez le cheval n'a montré clairement une relation entre consommation

des pellets et l'apparition des ulcères gastriques, la baisse de pH ou la sécrétion de gastrine dans le suc gastrique.

Effet du traitement (fluticasone)

Le score des ulcères gastriques est plus élevé chez les chevaux atteints du souffle traités avec la fluticasone par rapport à la période symptomatique sans traitement (avant le début de traitement), mais cette différence n'est pas significative. Et l'exposition au pâturage ne modifie pas le score des ulcères gastriques chez les chevaux traités avec la fluticasone. Chez le cheval, il n'y a pas d'étude qui rapporte les effets secondaires associés à l'utilisation de fluticasone par inhalation autres que ses effets sur l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénaliene. Chez l'humain, des méta-analyses ont essayé de montrer une cause-effet entre l'utilisation de corticostéroïdes inhalés et des effets systémiques tels que des ulcères gastriques. Il a été montré que seulement 12 à 13 % de la fluticasone (Derendorf *et al.* 2001; Hubner *et al.* 2005; Rossi *et al.* 2007) se retrouvait dans les poumons alors que 40 à 90 % se retrouvait dans le système digestif et prenait la circulation sanguine (Hubner *et al.* 2005; Mollmann *et al.* 2001). Dans ce contexte, on imagine que les risques de complications secondaires digestives et systémiques sont plus élevés.

Les corticostéroïdes, donc la fluticasone, peuvent causer des effets locaux sur la muqueuse de l'estomac (ulcères gastriques), par inhibition des enzymes cyclo-oxygénase (COX-1 et COX-2) productrices de plusieurs types de prostaglandines (Yokota *et al.* 2007). Dans un modèle d'ulcères gastriques induits avec l'indométacine chez la souris, les corticostéroïdes endogènes, comme la corticostérone, ont montré des effets protecteurs chez les souris intactes par rapport aux souris avec une ablation des glandes surrénales (Filaretova *et al.* 2002).

Conclusion

La fluticasone par inhalation à 2000 µg, deux fois par jour, chez les chevaux atteints de souffle pendant 6 mois entraîne une diminution significative de la cortisolémie les 28, 80 et 160 jours. Cette suppression de l'axe HHS disparaît lorsque le traitement à la fluticasone est diminué à une seule fois par jour pendant un autres 6 mois, et n'a aucun effet significatif sur la présence d'ulcères gastriques décelés par gastroscopie. L'impact clinique de la suppression de cortisol reste à déterminer mais pourrait favoriser potentiellement un état d'hypoadrénocorticisme.

A notre connaissance, c'est la première fois qu'on rapporte que les pellets de luzerne favorisent l'apparition d'ulcères gastriques chez les chevaux sains et cette information pourrait être utile dans la gestion alimentaire des chevaux atteints d'ulcères gastriques chez le cheval.

En conclusion, cette étude montre qu'un traitement prolongé à la fluticasone par inhalation 2000µg une fois par jour est sécuritaire chez les chevaux atteints de souffle.

Références

- Ainsworth, D. M., G. Grunig, et al. (2003). "Recurrent airway obstruction (RAO) in horses is characterized by IFN-gamma and IL-8 production in bronchoalveolar lavage cells." Vet Immunol Immunopathol **96**(1-2): 83-91.
- Akiba, Y., M. Nakamura, et al. (1998). "Inhibition of inducible nitric oxide synthase delays gastric ulcer healing in the rat." J Clin Gastroenterol **27 Suppl 1**: S64-73.
- Alexander, S. L. and C. H. Irvine (1998). "The effect of social stress on adrenal axis activity in horses: the importance of monitoring corticosteroid-binding globulin capacity." J Endocrinol **157**(3): 425-32.
- Alexander, S. L., C. H. Irvine, et al. (1996). "Dynamics of the regulation of the hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis determined using a nonsurgical method for collecting pituitary venous blood from horses." Front Neuroendocrinol **17**(1): 1-50.
- Alexander, S. L., C. H. Irvine, et al. (1991). "The effect of acute exercise on the secretion of corticotropin-releasing factor, arginine vasopressin, and adrenocorticotropin as measured in pituitary venous blood from the horse." Endocrinology **128**(1): 65-72.
- Alexander, S. L., C. H. Irvine, et al. (1988). "Effect of isolation stress on concentrations of arginine vasopressin, alpha-melanocyte-stimulating hormone and ACTH in the pituitary venous effluent of the normal horse." J Endocrinol **116**(3): 325-34.
- Ambrose, M. P. and G. W. Hunninghake (1990). "Corticosteroids increase lipocortin I in BAL fluid from normal individuals and patients with lung disease." J Appl Physiol **68**(4): 1668-71.
- Ammann, V. J., A. A. Vrins, et al. (1998). "Effects of inhaled beclomethasone dipropionate on respiratory function in horses with chronic obstructive pulmonary disease (COPD)." Equine Vet J **30**(2): 152-7.
- Amory, J. R., A. M. Mackenzie, et al. (2006). "Factors in the housing environment of finisher pigs associated with the development of gastric ulcers." Vet Rec **158**(8): 260-4.
- Andrews, F. J. (1999). "Recommendations for the diagnosis and treatment of equine gastric ulcer syndrome (EGUS)." Equine Vet Educ **1**((2)): 122-34.
- Andrews, F. M. and J. A. Nadeau (1999). "Clinical syndromes of gastric ulceration in foals and mature horses." Equine Vet J Suppl(29): 30-3.
- Andrews, F. M., C. R. Reinemeyer, et al. (2002). "Comparison of endoscopic, necropsy and histology scoring of equine gastric ulcers." Equine Vet J **34**(5): 475-8.
- Anton, F., I. Leverkoehne, et al. (2005). "Overexpression of eCLCA1 in small airways of horses with recurrent airway obstruction." J Histochem Cytochem **53**(8): 1011-21.
- Arakawa, T., K. Higuchi, et al. (1998). "Prostaglandins in the stomach: an update." J Clin Gastroenterol **27 Suppl 1**: S1-11.
- Argenzio, R. A. (1999). "Comparative pathophysiology of nonglandular ulcer disease: a review of experimental studies." Equine Vet J Suppl(29): 19-23.

- Argenzio, R. A. and D. J. Meuten (1991). "Short-chain fatty acids induce reversible injury of porcine colon." Dig Dis Sci **36**(10): 1459-68.
- Autefage, A., M. Alvinerie, et al. (1986). "Synovial fluid and plasma kinetics of methylprednisolone and methylprednisolone acetate in horses following intra-articular administration of methylprednisolone acetate." Equine Vet J **18**(3): 193-8.
- Autio, P., J. Karjalainen, et al. (1996). "Effects of an inhaled steroid (budesonide) on skin collagen synthesis of asthma patients in vivo." Am J Respir Crit Care Med **153**(3): 1172-5.
- Babson, A. L., D. R. Olson, et al. (1991). "The IMMULITE assay tube: a new approach to heterogeneous ligand assay." Clin Chem **37**(9): 1521-2.
- Bailey, S. R. and J. Elliott (2007). "The corticosteroid laminitis story: 2. Science of if, when and how." Equine Vet J **39**(1): 7-11.
- Balsalobre, A., S. A. Brown, et al. (2000). "Resetting of circadian time in peripheral tissues by glucocorticoid signaling." Science **289**(5488): 2344-7.
- Barnes, N. C. (2007). "The properties of inhaled corticosteroids: similarities and differences." Prim Care Respir J **16**(3): 149-54.
- Barnes, N. C., C. Hallett, et al. (1998). "Clinical experience with fluticasone propionate in asthma: a meta-analysis of efficacy and systemic activity compared with budesonide and beclomethasone dipropionate at half the microgram dose or less." Respir Med **92**(1): 95-104.
- Barnes, N. C., G. Marone, et al. (1993). "A comparison of fluticasone propionate, 1 mg daily, with beclomethasone dipropionate, 2 mg daily, in the treatment of severe asthma. International Study Group." Eur Respir J **6**(6): 877-85.
- Barnes, P. J. (1995). "Inhaled glucocorticoids for asthma." N Engl J Med **332**(13): 868-75.
- Barnes, P. J. (2005). "Molecular mechanisms and cellular effects of glucocorticosteroids." Immunol Allergy Clin North Am **25**(3): 451-68.
- Barnes, P. J., S. Pedersen, et al. (1998). "Efficacy and safety of inhaled corticosteroids. New developments." Am J Respir Crit Care Med **157**(3 Pt 2): S1-53.
- Bathe, A. P. (2007). "The corticosteroid laminitis story: 3. The clinician's viewpoint." Equine Vet J **39**(1): 12-3.
- Beadle, R. E., D. W. Horohov, et al. (2002). "Interleukin-4 and interferon-gamma gene expression in summer pasture-associated obstructive pulmonary disease affected horses." Equine Vet J **34**(4): 389-94.
- Begg, L. M. and C. B. O'Sullivan (2003). "The prevalence and distribution of gastric ulceration in 345 racehorses." Aust Vet J **81**(4): 199-201.
- Bell, R. J., J. K. Kingston, et al. (2007). "A comparison of two scoring systems for endoscopic grading of gastric ulceration in horses." N Z Vet J **55**(1): 19-22.
- Bell, R. J., J. K. Kingston, et al. (2007). "The prevalence of gastric ulceration in racehorses in New Zealand." N Z Vet J **55**(1): 13-8.
- Bell, R. J., T. D. Mogg, et al. (2007). "Equine gastric ulcer syndrome in adult horses: a review." N Z Vet J **55**(1): 1-12.

- Beretta, C., G. Garavaglia, et al. (2005). "COX-1 and COX-2 inhibition in horse blood by phenylbutazone, flunixin, carprofen and meloxicam: an in vitro analysis." Pharmacol Res **52**(4): 302-6.
- Berschneider, H. M., A. T. Blikslager, et al. (1999). "Role of duodenal reflux in nonglandular gastric ulcer disease of the mature horse." Equine Vet J Suppl(29): 24-9.
- Bowles, K. S., R. E. Beadle, et al. (2002). "A novel model for equine recurrent airway obstruction." Vet Immunol Immunopathol **87**(3-4): 385-9.
- Bracher, V., R. von Fellenberg, et al. (1991). "An investigation of the incidence of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in random populations of Swiss horses." Equine Vet J **23**(2): 136-41.
- Brandon, C. I., M. Vandenplas, et al. (2006). "Cloning and pharmacological characterization of the equine adenosine A3 receptor." J Vet Pharmacol Ther **29**(4): 255-63.
- Brideau, C., C. Van Staden, et al. (2001). "In vitro effects of cyclooxygenase inhibitors in whole blood of horses, dogs, and cats." Am J Vet Res **62**(11): 1755-60.
- Brosnahan, M. M. and M. R. Paradis (2003). "Demographic and clinical characteristics of geriatric horses: 467 cases (1989-1999)." J Am Vet Med Assoc **223**(1): 93-8.
- Brzozowski, T., P. C. Konturek, et al. (2005). "Role of prostaglandins in gastroprotection and gastric adaptation." J Physiol Pharmacol **56 Suppl 5**: 33-55.
- Buchanan, B. R. and F. M. Andrews (2003). "Treatment and prevention of equine gastric ulcer syndrome." Vet Clin North Am Equine Pract **19**(3): 575-97.
- Bulpa, P., A. Dive, et al. (2007). "Invasive pulmonary aspergillosis in patients with chronic obstructive pulmonary disease." Eur Respir J **30**(4): 782-800.
- Calverley, P. M., J. A. Anderson, et al. (2007). "Salmeterol and fluticasone propionate and survival in chronic obstructive pulmonary disease." N Engl J Med **356**(8): 775-89.
- Campbell-Thompson, M. L. and A. M. Merritt (1990). "Basal and pentagastrin-stimulated gastric secretion in young horses." Am J Physiol **259**(6 Pt 2): R1259-66.
- Capewell, S., S. Reynolds, et al. (1990). "Purpura and dermal thinning associated with high dose inhaled corticosteroids." Bmj **300**(6739): 1548-51.
- Cavallone, E., Di Giancamillo, M., Secchiero, B., Belloli, A., Pravettoni, D., and Rimoldi, E. M. (2002). "Variations of serum cortisol in Argentine horses subjected to ship transport and adaptation stress. ." J Equine Vet Science **22**(12): 541-545.
- Cohn, L. A., A. E. DeClue, et al. (2008). "Endocrine and immunologic effects of inhaled fluticasone propionate in healthy dogs." J Vet Intern Med **22**(1): 37-43.
- Contreras, M., A. Morales, et al. (2007). "Detection of Helicobacter-like DNA in the gastric mucosa of Thoroughbred horses." Lett Appl Microbiol **45**(5): 553-7.

- Cordeau, M. E., P. Joubert, et al. (2004). "IL-4, IL-5 and IFN-gamma mRNA expression in pulmonary lymphocytes in equine heaves." Vet Immunol Immunopathol **97**(1-2): 87-96.
- Couetil, L. L., T. Art, et al. (2006). "Effect of beclomethasone dipropionate and dexamethasone isonicotinate on lung function, bronchoalveolar lavage fluid cytology, and transcription factor expression in airways of horses with recurrent airway obstruction." J Vet Intern Med **20**(2): 399-406.
- Couetil, L. L., C. D. Chilcoat, et al. (2005). "Randomized, controlled study of inhaled fluticasone propionate, oral administration of prednisone, and environmental management of horses with recurrent airway obstruction." Am J Vet Res **66**(10): 1665-74.
- Couetil, L. L. and M. P. Ward (2003). "Analysis of risk factors for recurrent airway obstruction in North American horses: 1,444 cases (1990-1999)." J Am Vet Med Assoc **223**(11): 1645-50.
- Cumming, R. G., P. Mitchell, et al. (1997). "Use of inhaled corticosteroids and the risk of cataracts." N Engl J Med **337**(1): 8-14.
- Davis, E. and B. R. Rush (2002). "Equine recurrent airway obstruction: pathogenesis, diagnosis, and patient management." Vet Clin North Am Equine Pract **18**(3): 453-67, vi.
- DeLuca, L., H. N. Erb, et al. (2008). "The effect of adding oral dexamethasone to feed alterations on the airway cell inflammatory gene expression in stabled horses affected with recurrent airway obstruction." J Vet Intern Med **22**(2): 427-35.
- Demitrack, M. A. and J. F. Greden (1991). "Chronic fatigue syndrome: the need for an integrative approach." Biol Psychiatry **30**(8): 747-52.
- Derendorf, H., G. Hochhaus, et al. (2001). "Evaluation of pulmonary absorption using pharmacokinetic methods." J Aerosol Med **14** **Suppl 1**: S9-17.
- Derksen, F. J., N. E. Robinson, et al. (1988). "Aerosolized *Micropolyspora faeni* antigen as a cause of pulmonary dysfunction in ponies with recurrent airway obstruction (heaves)." Am J Vet Res **49**(6): 933-8.
- Dionne, R. M., A. Vrins, et al. (2003). "Gastric ulcers in standardbred racehorses: prevalence, lesion description, and risk factors." J Vet Intern Med **17**(2): 218-22.
- Dixon, P. M., D. I. Railton, et al. (1995). "Equine pulmonary disease: a case control study of 300 referred cases. Part 1: Examination techniques, diagnostic criteria and diagnoses." Equine Vet J **27**(6): 416-21.
- Dluhy, R. G. (1998). "Clinical relevance of inhaled corticosteroids and HPA axis suppression." J Allergy Clin Immunol **101**(4 Pt 2): S447-50.
- Doherty, T. J., F. M. Andrews, et al. (2003). "Effects of lipopolysaccharide and phenylbutazone on gastric contents in the horse." Equine Vet J **35**(5): 472-5.
- Dolan-O'keefe, M. and H. S. Nick (1999). "Inhibition of cytoplasmic phospholipase A2 expression by glucocorticoids in rat intestinal epithelial cells." Gastroenterology **116**(4): 855-64.
- Dutton, H. (2007). "The corticosteroid laminitis story: 1. Duty of care." Equine Vet J **39**(1): 5-6.

- Eder, C., R. Cramer, et al. (2000). "Allergen-specific IgE levels against crude mould and storage mite extracts and recombinant mould allergens in sera from horses affected with chronic bronchitis." Vet Immunol Immunopathol **73**(3-4): 241-53.
- Edner, A. H., G. C. Nyman, et al. (2007). "Metabolism before, during and after anaesthesia in colic and healthy horses." Acta Vet Scand **49**: 34.
- Eiler, H., J. Oliver, et al. (1979). "Adrenal gland function in the horse: effect of dexamethasone on hydrocortisone secretion and blood cellularity and plasma electrolyte concentrations." Am J Vet Res **40**(5): 727-9.
- Engler, D., T. Pham, et al. (1988). "Studies of the regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in sheep with hypothalamic-pituitary disconnection. I. Effect of an audiovisual stimulus and insulin-induced hypoglycemia." Neuroendocrinology **48**(5): 551-60.
- Ernst, P., A. V. Gonzalez, et al. (2007). "Inhaled corticosteroid use in chronic obstructive pulmonary disease and the risk of hospitalization for pneumonia." Am J Respir Crit Care Med **176**(2): 162-6.
- Fairfax, A. J., V. David, et al. (1999). "Laryngeal aspergillosis following high dose inhaled fluticasone therapy for asthma." Thorax **54**(9): 860-1.
- Fazio, E., P. Medica, et al. (2008). "Circulating beta-endorphin, adrenocorticotrophic hormone and cortisol levels of stallions before and after short road transport: stress effect of different distances." Acta Vet Scand **50**(1): 6.
- Ferrucci, F., E. Zucca, et al. (2003). "Gastroscopic findings in 63 Standardbred racehorses in training." Vet Res Commun **27 Suppl 1**: 759-62.
- Filaretova, L., T. Bagaeva, et al. (2002). "Aggravation of nonsteroidal antiinflammatory drug gastropathy by glucocorticoid deficiency or blockade of glucocorticoid receptors in rats." Life Sci **71**(21): 2457-68.
- Fink, C., T. Hembes, et al. (2006). "Specific localisation of gap junction protein connexin 32 in the gastric mucosa of horses." Histochem Cell Biol **125**(3): 307-13.
- Fink, C., M. Tatar, et al. (2006). "Serotonin-containing cells in the gastrointestinal tract of newborn foals and adult horses." Anat Histol Embryol **35**(1): 23-7.
- Flower, R. J. and N. J. Rothwell (1994). "Lipocortin-1: cellular mechanisms and clinical relevance." Trends Pharmacol Sci **15**(3): 71-6.
- Garcia Rodriguez, L. A. and S. Hernandez-Diaz (2001). "The risk of upper gastrointestinal complications associated with nonsteroidal anti-inflammatory drugs, glucocorticoids, acetaminophen, and combinations of these agents." Arthritis Res **3**(2): 98-101.
- Geburek, F., B. Ohnesorge, et al. (2005). "Alterations of epidermal proliferation and cytokeratin expression in skin biopsies from heavy draught horses with chronic pastern dermatitis." Vet Dermatol **16**(6): 373-84.
- Giguere, S., L. Viel, et al. (2002). "Cytokine induction in pulmonary airways of horses with heaves and effect of therapy with inhaled fluticasone propionate." Vet Immunol Immunopathol **85**(3-4): 147-58.

- Goodman, L. S., A. Gilman, et al. (2006). Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. New York ; Toronto, McGraw-Hill.
- Gordon, M. E., K. H. McKeever, et al. (2007). "Exercise-induced alterations in plasma concentrations of ghrelin, adiponectin, leptin, glucose, insulin, and cortisol in horses." Vet J **173**(3): 532-40.
- Grahnén, A., S. A. Eckernas, et al. (1994). "An assessment of the systemic activity of single doses of inhaled fluticasone propionate in healthy volunteers." Br J Clin Pharmacol **38**(6): 521-5.
- Gutierrez-Ramos, J. C., C. Lloyd, et al. (2000). "Non-redundant functional groups of chemokines operate in a coordinate manner during the inflammatory response in the lung." Immunol Rev **177**: 31-42.
- Haber, M., Z. Cao, et al. (2003). "Effects of growth factors (EGF, PDGF-BB and TGF-beta 1) on cultured equine epithelial cells and keratocytes: implications for wound healing." Vet Ophthalmol **6**(3): 211-7.
- Halliwell, R. E., B. C. McGorum, et al. (1993). "Local and systemic antibody production in horses affected with chronic obstructive pulmonary disease." Vet Immunol Immunopathol **38**(3-4): 201-15.
- Hammond, C. J., D. K. Mason, et al. (1986). "Gastric ulceration in mature thoroughbred horses." Equine Vet J **18**(4): 284-7.
- Harrison, T. W. and A. E. Tattersfield (2003). "Plasma concentrations of fluticasone propionate and budesonide following inhalation from dry powder inhalers by healthy and asthmatic subjects." Thorax **58**(3): 258-60.
- Hench, P. S., E. C. Kendall, et al. (1949). "The effect of a hormone of the adrenal cortex (17-hydroxy-11-dehydrocorticosterone; compound E) and of pituitary adrenocorticotrophic hormone on rheumatoid arthritis." Mayo Clin Proc **24**(8): 181-97.
- Henneke, D. R., G. D. Potter, et al. (1983). "Relationship between condition score, physical measurements and body fat percentage in mares." Equine Vet J **15**(4): 371-2.
- Hernandez-Diaz, S. and L. A. Rodriguez (2001). "Steroids and risk of upper gastrointestinal complications." Am J Epidemiol **153**(11): 1089-93.
- Herszberg, B., D. Ramos-Barbon, et al. (2006). "Heaves, an asthma-like equine disease, involves airway smooth muscle remodeling." J Allergy Clin Immunol **118**(2): 382-8.
- Hewetson, M., N. D. Cohen, et al. (2006). "Sucrose concentration in blood: a new method for assessment of gastric permeability in horses with gastric ulceration." J Vet Intern Med **20**(2): 388-94.
- Horohov, D. W., R. E. Beadle, et al. (2005). "Temporal regulation of cytokine mRNA expression in equine recurrent airway obstruction." Vet Immunol Immunopathol **108**(1-2): 237-45.
- Horvath, G., S. Vasas, et al. (2007). "Inhaled corticosteroids reduce asthma-associated airway hyperperfusion through genomic and nongenomic mechanisms." Pulm Pharmacol Ther **20**(2): 157-62.
- Hotchkiss, J. W., S. W. Reid, et al. (2007). "A survey of horse owners in Great Britain regarding horses in their care. Part 1: Horse demographic characteristics and management." Equine Vet J **39**(4): 294-300.

- Hotchkiss, J. W., S. W. Reid, et al. (2007). "A survey of horse owners in Great Britain regarding horses in their care. Part 2: Risk factors for recurrent airway obstruction." Equine Vet J **39**(4): 301-8.
- Hu, H. H., C. G. MacAllister, et al. (2005). "Evaluation of the analgesic effects of phenylbutazone administered at a high or low dosage in horses with chronic lameness." J Am Vet Med Assoc **226**(3): 414-7.
- Hubner, M., G. Hochhaus, et al. (2005). "Comparative pharmacology, bioavailability, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of inhaled glucocorticosteroids." Immunol Allergy Clin North Am **25**(3): 469-88.
- Irvine, C. H. and S. L. Alexander (1994). "Factors affecting the circadian rhythm in plasma cortisol concentrations in the horse." Domest Anim Endocrinol **11**(2): 227-38.
- Jackson, C. A., C. Berney, et al. (2000). "Environment and prednisone interactions in the treatment of recurrent airway obstruction (heaves)." Equine Vet J **32**(5): 432-8.
- Janssens, C. J., F. A. Helmond, et al. (1995). "Chronic stress increases the opioid-mediated inhibition of the pituitary-adrenocortical response to acute stress in pigs." Endocrinology **136**(4): 1468-73.
- Janssens, C. J., F. A. Helmond, et al. (1995). "Chronic stress and pituitary-adrenocortical responses to corticotropin-releasing hormone and vasopressin in female pigs." Eur J Endocrinol **132**(4): 479-86.
- Jeffrey, S. C., M. J. Murray, et al. (2001). "Distribution of epidermal growth factor receptor (EGFr) in normal and acute peptic-injured equine gastric squamous epithelium." Equine Vet J **33**(6): 562-9.
- Johnson, B. J., S. M. Stover, et al. (1994). "Causes of death in racehorses over a 2 year period." Equine Vet J **26**(4): 327-30.
- Johnson, P. J., V. K. Ganjam, et al. (2004). "Tissue-specific dysregulation of cortisol metabolism in equine laminitis." Equine Vet J **36**(1): 41-5.
- Johnson, P. J., N. T. Messer, et al. (2004). "Cushing's syndromes, insulin resistance and endocrinopathic laminitis." Equine Vet J **36**(3): 194-8.
- Johnson, P. J., S. H. Slight, et al. (2002). "Glucocorticoids and laminitis in the horse." Vet Clin North Am Equine Pract **18**(2): 219-36.
- Jonsson, H. and A. Egenvall (2006). "Prevalence of gastric ulceration in Swedish Standardbreds in race training." Equine Vet J **38**(3): 209-13.
- Jost, U., J. Klukowska-Rotzler, et al. (2007). "A region on equine chromosome 13 is linked to recurrent airway obstruction in horses." Equine Vet J **39**(3): 236-41.
- Keller-Wood, M. E. and M. F. Dallman (1984). "Corticosteroid inhibition of ACTH secretion." Endocr Rev **5**(1): 1-24.
- Kelly, H. W. and H. S. Nelson (2003). "Potential adverse effects of the inhaled corticosteroids." J Allergy Clin Immunol **112**(3): 469-78; quiz 479.
- Kennedy, W. A., C. Laurier, et al. (2000). "Occurrence and risk factors of oral candidiasis treated with oral antifungals in seniors using inhaled steroids." J Clin Epidemiol **53**(7): 696-701.
- Kitchen, D. L., J. A. Burrow, et al. (2000). "Effect of pyloric blockade and infusion of histamine or pentagastrin on gastric secretion in horses." Am J Vet Res **61**(9): 1133-9.

- Koyanagi, S., S. Okazawa, et al. (2006). "Chronic treatment with prednisolone represses the circadian oscillation of clock gene expression in mouse peripheral tissues." Mol Endocrinol **20**(3): 573-83.
- Kramer, A., F. C. Yang, et al. (2001). "Regulation of daily locomotor activity and sleep by hypothalamic EGF receptor signaling." Science **294**(5551): 2511-5.
- Laan, T. T., S. Bull, et al. (2006). "The effect of aerosolized and intravenously administered clenbuterol and aerosolized fluticasone propionate on horses challenged with *Aspergillus fumigatus* antigen." Vet Res Commun **30**(6): 623-35.
- Laan, T. T., C. M. Westermann, et al. (2004). "Biological availability of inhaled fluticasone propionate in horses." Vet Rec **155**(12): 361-4.
- Lapointe, J. M., J. P. Lavoie, et al. (1993). "Effects of triamcinolone acetonide on pulmonary function and bronchoalveolar lavage cytologic features in horses with chronic obstructive pulmonary disease." Am J Vet Res **54**(8): 1310-6.
- Larson, V. L. and R. H. Busch (1985). "Equine tracheobronchial lavage: comparison of lavage cytologic and pulmonary histopathologic findings." Am J Vet Res **46**(1): 144-6.
- Lavoie, J. P. (2007). Recurrent Airway Obstruction (Heaves) and Summer-Pasture-associated Obstructive Pulmonary Disease. Equine Respiratory Medicine and Surgery. McGorum. Edinburgh, Saunders: 565-589
- Lavoie, J. P., S. Dalle, et al. (2004). "Bronchiectasis in three adult horses with heaves." J Vet Intern Med **18**(5): 757-60.
- Lavoie, J. P., K. Maghni, et al. (2001). "Neutrophilic airway inflammation in horses with heaves is characterized by a Th2-type cytokine profile." Am J Respir Crit Care Med **164**(8 Pt 1): 1410-3.
- Leav, B. A., B. Fanburg, et al. (2000). "Invasive pulmonary aspergillosis associated with high-dose inhaled fluticasone." N Engl J Med **343**(8): 586.
- Lecoq, L., P. Vincent, et al. (2008). "Genomic and non-genomic effects of dexamethasone on equine peripheral blood neutrophils." Vet Immunol Immunopathol.
- Leguillette, R. (2003). "Recurrent airway obstruction--heaves." Vet Clin North Am Equine Pract **19**(1): 63-86, vi.
- Leone, F. T., J. E. Fish, et al. (2003). "Systematic review of the evidence regarding potential complications of inhaled corticosteroid use in asthma: collaboration of American College of Chest Physicians, American Academy of Allergy, Asthma, and Immunology, and American College of Allergy, Asthma, and Immunology." Chest **124**(6): 2329-40.
- Ley, S. J., A. Livingston, et al. (1991). "Effects of chronic lameness on the concentrations of cortisol, prolactin and vasopressin in the plasma of sheep." Vet Rec **129**(3): 45-7.

- Lipworth, B. J. (1999). "Systemic adverse effects of inhaled corticosteroid therapy: A systematic review and meta-analysis." Arch Intern Med **159**(9): 941-55.
- Lipworth, B. J., D. J. Clark, et al. (1997). "Adrenocortical activity with repeated twice daily dosing of fluticasone propionate and budesonide given via a large volume spacer to asthmatic school children." Thorax **52**(8): 686-9.
- Lipworth, B. J. and J. R. Seckl (1997). "Measures for detecting systemic bioactivity with inhaled and intranasal corticosteroids." Thorax **52**(5): 476-82.
- Little, D., S. L. Jones, et al. (2007). "Cyclooxygenase (COX) inhibitors and the intestine." J Vet Intern Med **21**(3): 367-77.
- Livesey, J. H., A. Carne, et al. (1991). "Structure of equine corticotropin releasing factor." Peptides **12**(6): 1437-40.
- Lonnebo, A., A. Grahnen, et al. (1996). "An assessment of the systemic effects of single and repeated doses of inhaled fluticasone propionate and inhaled budesonide in healthy volunteers." Eur J Clin Pharmacol **49**(6): 459-63.
- Lorenzo-Figueras, M., G. Jones, et al. (2002). "Effects of various diets on gastric tone in the proximal portion of the stomach of horses." Am J Vet Res **63**(9): 1275-8.
- Lorenzo-Figueras, M., T. Preston, et al. (2005). "Meal-induced gastric relaxation and emptying in horses after ingestion of high-fat versus high-carbohydrate diets." Am J Vet Res **66**(5): 897-906.
- Lukacs, N. W. and K. K. Tekkanat (2000). "Role of chemokines in asthmatic airway inflammation." Immunol Rev **177**: 21-30.
- Luo, J. C., C. W. Chi, et al. (2007). "Dexamethasone inhibits epidermal growth factor-stimulated gastric epithelial cell proliferation." J Pharmacol Exp Ther **320**(2): 687-94.
- Luo, J. C., V. Y. Shin, et al. (2004). "Dexamethasone delays ulcer healing by inhibition of angiogenesis in rat stomachs." Eur J Pharmacol **485**(1-3): 275-81.
- MacAllister, C. G., F. M. Andrews, et al. (1997). "A scoring system for gastric ulcers in the horse." Equine Vet J **29**(6): 430-3.
- MacAllister, C. G., S. J. Morgan, et al. (1993). "Comparison of adverse effects of phenylbutazone, flunixin meglumine, and ketoprofen in horses." J Am Vet Med Assoc **202**(1): 71-7.
- MacHarg, M. A., G. D. Bottoms, et al. (1985). "Effects of multiple intramuscular injections and doses of dexamethasone on plasma cortisol concentrations and adrenal responses to ACTH in horses." Am J Vet Res **46**(11): 2285-7.
- Mair, T. S. (1996). "Bacterial pneumonia associated with corticosteroid therapy in three horses." Vet Rec **138**(9): 205-7.
- Mak, V. H., R. Melchor, et al. (1992). "Easy bruising as a side-effect of inhaled corticosteroids." Eur Respir J **5**(9): 1068-74.
- Marti, E., H. Gerber, et al. (1991). "The genetic basis of equine allergic diseases. 1. Chronic hypersensitivity bronchitis." Equine Vet J **23**(6): 457-60.

- Martin, G. R. and J. L. Wallace (2006). "Gastrointestinal inflammation: a central component of mucosal defense and repair." Exp Biol Med (Maywood) **231**(2): 130-7.
- Martin, R. J., S. J. Szefer, et al. (2002). "Systemic effect comparisons of six inhaled corticosteroid preparations." Am J Respir Crit Care Med **165**(10): 1377-83.
- Martinez, R., A. Godoy, et al. (1988). "Neuroendocrine changes produced by competition stress on the Thoroughbred race horse." Comp Biochem Physiol A **91**(3): 599-602.
- Masoli, M., S. Holt, et al. (2004). "Dose-response relationship of inhaled budesonide in adult asthma: a meta-analysis." Eur Respir J **23**(4): 552-8.
- Masoli, M., S. Holt, et al. (2004). "The dose-response relationship of inhaled corticosteroids in asthma." Curr Allergy Asthma Rep **4**(2): 144-8.
- McClure, S. R., D. S. Carithers, et al. (2005). "Gastric ulcer development in horses in a simulated show or training environment." J Am Vet Med Assoc **227**(5): 775-7.
- McClure, S. R., L. T. Glickman, et al. (1999). "Prevalence of gastric ulcers in show horses." J Am Vet Med Assoc **215**(8): 1130-3.
- McGorum, B. C., P. M. Dixon, et al. (1993). "Responses of horses affected with chronic obstructive pulmonary disease to inhalation challenges with mould antigens." Equine Vet J **25**(4): 261-7.
- McGorum, B. C., J. Ellison, et al. (1998). "Total and respirable airborne dust endotoxin concentrations in three equine management systems." Equine Vet J **30**(5): 430-4.
- McNamara, P., S. P. Seo, et al. (2001). "Regulation of CLOCK and MOP4 by nuclear hormone receptors in the vasculature: a humoral mechanism to reset a peripheral clock." Cell **105**(7): 877-89.
- McPherson, E. A., G. H. Lawson, et al. (1978). "Chronic obstructive pulmonary disease (COPD): identification of affected horses." Equine Vet J **10**(1): 47-53.
- Meddings, J. B., D. Kirk, et al. (1995). "Noninvasive detection of nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced gastropathy in dogs." Am J Vet Res **56**(8): 977-81.
- Meddings, J. B., L. R. Sutherland, et al. (1993). "Sucrose: a novel permeability marker for gastroduodenal disease." Gastroenterology **104**(6): 1619-26.
- Merritt, A. M. (1999). "Normal equine gastroduodenal secretion and motility." Equine Vet J Suppl(29): 7-13.
- Merritt, A. M. (2003). The Equine Stomach: A Personal Perspective (1963-2003). 49th Annual Convention AAEP (www.ivis.org), Ithaca, New York, USA.
- Meschter, C. L., M. Gilbert, et al. (1990). "The effects of phenylbutazone on the intestinal mucosa of the horse: a morphological, ultrastructural and biochemical study." Equine Vet J **22**(4): 255-63.
- Messer, J., D. Reitman, et al. (1983). "Association of adrenocorticosteroid therapy and peptic-ulcer disease." N Engl J Med **309**(1): 21-4.

- Meyer-Bernstein, E. L., A. E. Jetton, et al. (1999). "Effects of suprachiasmatic transplants on circadian rhythms of neuroendocrine function in golden hamsters." Endocrinology **140**(1): 207-18.
- Miller, C. B., D. A. Wilson, et al. (2000). "Growth characteristics of fibroblasts isolated from the trunk and distal aspect of the limb of horses and ponies." Vet Surg **29**(1): 1-7.
- Miller, T. A. (1983). "Protective effects of prostaglandins against gastric mucosal damage: current knowledge and proposed mechanisms." Am J Physiol **245**(5 Pt 1): G601-23.
- Mills, P. C., J. C. Ng, et al. (1997). "Stress response to chronic inflammation in the horse." Equine Vet J **29**(6): 483-6.
- Mollmann, H., M. Wagner, et al. (2001). "Single-dose and steady-state pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation of therapeutically clinically equivalent doses of inhaled fluticasone propionate and budesonide, given as Diskus or Turbohaler dry-powder inhalers to healthy subjects." J Clin Pharmacol **41**(12): 1329-38.
- Morris, E. A. and H. J. Seeherman (1991). "Clinical evaluation of poor performance in the racehorse: the results of 275 evaluations." Equine Vet J **23**(3): 169-74.
- Murphy, M. S. (1998). "Growth factors and the gastrointestinal tract." Nutrition **14**(10): 771-4.
- Murray, M. J. (1992). "Gastric ulceration in horses: 91 cases (1987-1990)." J Am Vet Med Assoc **201**(1): 117-20.
- Murray, M. J. (1999). "Pathophysiology of peptic disorders in foals and horses: a review." Equine Vet J Suppl(29): 14-8.
- Murray, M. J. (2003). Endoscopy of the Gastrointestinal Tract: Current Approach 8th Congress on Equine Medicine and Surgery, Geneva, Switzerland, IVIS.
- Murray, M. J. and E. S. Eichorn (1996). "Effects of intermittent feed deprivation, intermittent feed deprivation with ranitidine administration, and stall confinement with ad libitum access to hay on gastric ulceration in horses." Am J Vet Res **57**(11): 1599-603.
- Murray, M. J., E. S. Eichorn, et al. (2001). "Histological characteristics of induced acute peptic injury in equine gastric squamous epithelium." Equine Vet J **33**(6): 554-60.
- Murray, M. J. and C. Grodinsky (1989). "Regional gastric pH measurement in horses and foals." Equine Vet J Suppl(7): 73-6.
- Murray, M. J., C. Grodinsky, et al. (1989). "Gastric ulcers in horses: a comparison of endoscopic findings in horses with and without clinical signs." Equine Vet J Suppl(7): 68-72.
- Murray, M. J., Y. S. Nout, et al. (2001). "Endoscopic findings of the gastric antrum and pylorus in horses: 162 cases (1996-2000)." J Vet Intern Med **15**(4): 401-6.
- Murray, M. J. and G. F. Schusser (1993). "Measurement of 24-h gastric pH using an indwelling pH electrode in horses unfed, fed and treated with ranitidine." Equine Vet J **25**(5): 417-21.
- Murray, M. J., G. F. Schusser, et al. (1996). "Factors associated with gastric lesions in thoroughbred racehorses." Equine Vet J **28**(5): 368-74.

- Nadeau, J. A., F. M. Andrews, et al. (2000). "Evaluation of diet as a cause of gastric ulcers in horses." Am J Vet Res **61**(7): 784-90.
- Nadeau, J. A., F. M. Andrews, et al. (2003). "Effects of hydrochloric, acetic, butyric, and propionic acids on pathogenesis of ulcers in the nonglandular portion of the stomach of horses." Am J Vet Res **64**(4): 404-12.
- Newton, R., L. M. Kuitert, et al. (1997). "Cytokine induction of cytosolic phospholipase A2 and cyclooxygenase-2 mRNA is suppressed by glucocorticoids in human epithelial cells." Life Sci **60**(1): 67-78.
- Nicol, C. J., H. P. Davidson, et al. (2002). "Study of crib-biting and gastric inflammation and ulceration in young horses." Vet Rec **151**(22): 658-62.
- O'Conner, M. S., J. M. Steiner, et al. (2004). "Evaluation of urine sucrose concentration for detection of gastric ulcers in horses." Am J Vet Res **65**(1): 31-9.
- Olson, T. S. and K. Ley (2002). "Chemokines and chemokine receptors in leukocyte trafficking." Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol **283**(1): R7-28.
- Pell, S. M. and P. D. McGreevy (1999). "Prevalence of stereotypic and other problem behaviours in thoroughbred horses." Aust Vet J **77**(10): 678-9.
- Peroni, D. L., S. Stanley, et al. (2002). "Prednisone per os is likely to have limited efficacy in horses." Equine Vet J **34**(3): 283-7.
- Peter, E., F. Bakri, et al. (2002). "Invasive pulmonary filamentous fungal infection in a patient receiving inhaled corticosteroid therapy." Clin Infect Dis **35**(5): e54-6.
- Picandet, V., R. Leguilette, et al. (2003). "Comparison of efficacy and tolerability of isoflupredone and dexamethasone in the treatment of horses affected with recurrent airway obstruction ('heaves')." Equine Vet J **35**(4): 419-24.
- Pirie, R. S., P. M. Dixon, et al. (2001). "Pulmonary and systemic effects of inhaled endotoxin in control and heaves horses." Equine Vet J **33**(3): 311-8.
- Plotsky, P. M. (1988). "Hypophysiotropic regulation of stress-induced ACTH secretion." Adv Exp Med Biol **245**: 65-81.
- Rabuffo, T. S., J. A. Orsini, et al. (2002). "Associations between age or sex and prevalence of gastric ulceration in Standardbred racehorses in training." J Am Vet Med Assoc **221**(8): 1156-9.
- Ramseyer, A., C. Gaillard, et al. (2007). "Effects of genetic and environmental factors on chronic lower airway disease in horses." J Vet Intern Med **21**(1): 149-56.
- Reichstein, T. (1951). "[Chemistry of adrenal cortex hormones]." Bull Schweiz Akad Med Wiss **7**(5-6): 359-70.
- Reichstein, T. (1954). "[The most important hormones of adrenal cortex.]" Acta Endocrinol (Copenh) **17**(1-4): 375-84.
- Rhen, T. and J. A. Cidlowski (2005). "Antiinflammatory action of glucocorticoids--new mechanisms for old drugs." N Engl J Med **353**(16): 1711-23.

- Richardson, C. T. (1985). "Pathogenetic factors in peptic ulcer disease." Am J Med **79**(2C): 1-7.
- Robinson, N. E. (2001). "International Workshop on Equine Chronic Airway Disease. Michigan State University 16-18 June 2000." Equine Vet J **33**(1): 5-19.
- Robinson, N. E., F. J. Derksen, et al. (1996). "The pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease of horses." Br Vet J **152**(3): 283-306.
- Robinson, N. E., C. Jackson, et al. (2002). "Efficacy of three corticosteroids for the treatment of heaves." Equine Vet J **34**(1): 17-22.
- Robinson, N. E., M. A. Olszewski, et al. (2000). "Relationship between clinical signs and lung function in horses with recurrent airway obstruction (heaves) during a bronchodilator trial." Equine Vet J **32**(5): 393-400.
- Ross, I. N., H. M. Bahari, et al. (1981). "The pH gradient across mucus adherent to rat fundic mucosa in vivo and the effect of potential damaging agents." Gastroenterology **81**(4): 713-8.
- Rossi, G. A., F. Cerasoli, et al. (2007). "Safety of inhaled corticosteroids: room for improvement." Pulm Pharmacol Ther **20**(1): 23-35.
- Roy, A., C. Leblanc, et al. (1996). "Skin bruising in asthmatic subjects treated with high doses of inhaled steroids: frequency and association with adrenal function." Eur Respir J **9**(2): 226-31.
- Roy, M. A., A. Vrins, et al. (2005). "Prevalence of ulcers of the squamous gastric mucosa in standardbred horses." J Vet Intern Med **19**(5): 744-50.
- Rush, B. R., M. J. Flaminio, et al. (1998). "Cytologic evaluation of bronchoalveolar lavage fluid from horses with recurrent airway obstruction after aerosol and parenteral administration of beclomethasone dipropionate and dexamethasone, respectively." Am J Vet Res **59**(8): 1033-8.
- Rush, B. R., E. S. Raub, et al. (1998). "Pulmonary function in horses with recurrent airway obstruction after aerosol and parenteral administration of beclomethasone dipropionate and dexamethasone, respectively." Am J Vet Res **59**(8): 1039-43.
- Rush, B. R., E. S. Raub, et al. (2000). "Pulmonary function and adrenal gland suppression with incremental doses of aerosolized beclomethasone dipropionate in horses with recurrent airway obstruction." J Am Vet Med Assoc **217**(3): 359-64.
- Rush, B. R., I. C. Trevino, et al. (1999). "Serum cortisol concentrations in response to incremental doses of inhaled beclomethasone dipropionate." Equine Vet J **31**(3): 258-61.
- Rush, B. R., A. A. Worster, et al. (1998). "Alteration in adrenocortical function in horses with recurrent airway obstruction after aerosol and parenteral administration of beclomethasone dipropionate and dexamethasone, respectively." Am J Vet Res **59**(8): 1044-7.
- Rushen, J. (1986). "Some problems with the physiological concept of "stress"." Aust Vet J **63**(11): 359-61.
- Sandin, A., K. Girma, et al. (1998). "Effects of differently composed feeds and physical stress on plasma gastrin concentration in horses." Acta Vet Scand **39**(2): 265-72.

- Schacke, H., W. D. Docke, et al. (2002). "Mechanisms involved in the side effects of glucocorticoids." Pharmacol Ther **96**(1): 23-43.
- Schmallenbach, K. H., I. Rahman, et al. (1998). "Studies on pulmonary and systemic *Aspergillus fumigatus*-specific IgE and IgG antibodies in horses affected with chronic obstructive pulmonary disease (COPD)." Vet Immunol Immunopathol **66**(3-4): 245-56.
- Schmassmann, A., B. M. Peskar, et al. (1998). "Effects of inhibition of prostaglandin endoperoxide synthase-2 in chronic gastro-intestinal ulcer models in rats." Br J Pharmacol **123**(5): 795-804.
- Seahorn, T. L. and R. E. Beadle (1993). "Summer pasture-associated obstructive pulmonary disease in horses: 21 cases (1983-1991)." J Am Vet Med Assoc **202**(5): 779-82.
- Seahorn, T. L., M. G. Groves, et al. (1996). "Chronic obstructive pulmonary disease in horses in Louisiana." J Am Vet Med Assoc **208**(2): 248-51.
- Singh, A. K., Y. Jiang, et al. (1997). "Validation of nonradioactive chemiluminescent immunoassay methods for the analysis of thyroxine and cortisol in blood samples obtained from dogs, cats, and horses." J Vet Diagn Invest **9**(3): 261-8.
- Sisson, S. (1975). Equine digestive system. The anatomy of the domestic animals. R. Getty. Philadelphia, Saunders. **1**: 454-496.
- Smeeth, L., M. Boullis, et al. (2003). "A population based case-control study of cataract and inhaled corticosteroids." Br J Ophthalmol **87**(10): 1247-51.
- Smyth, G. B., D. W. Young, et al. (1989). "Effects of diet and feeding on postprandial serum gastrin and insulin concentration in adult horses." Equine Vet J Suppl(7): 56-9.
- Snapper, J. R. (1986). "Large animal models of asthma." Am Rev Respir Dis **133**(3): 351-2.
- Sojka, J. E., M. A. Johnson, et al. (1993). "The effect of starting time on dexamethasone suppression test results in horses." Domest Anim Endocrinol **10**(1): 1-5.
- Soma, L. R., C. E. Uboh, et al. (2005). "Pharmacokinetics of dexamethasone with pharmacokinetic/pharmacodynamic model of the effect of dexamethasone on endogenous hydrocortisone and cortisone in the horse." J Vet Pharmacol Ther **28**(1): 71-80.
- Soma, L. R., C. E. Uboh, et al. (2006). "Pharmacokinetics of methylprednisolone acetate after intra-articular administration and its effect on endogenous hydrocortisone and cortisone secretion in horses." Am J Vet Res **67**(4): 654-62.
- Stahn, C., M. Lowenberg, et al. (2007). "Molecular mechanisms of glucocorticoid action and selective glucocorticoid receptor agonists." Mol Cell Endocrinol **275**(1-2): 71-8.
- Storer, W. A., D. L. Thompson, Jr., et al. (2007). "Hormonal patterns in normal and hyperleptinemic mares in response to three common feeding-housing regimens." J Anim Sci **85**(11): 2873-81.
- Stuck, A. E., C. E. Minder, et al. (1989). "Risk of infectious complications in patients taking glucocorticosteroids." Rev Infect Dis **11**(6): 954-63.

- Sudlow, A. W., F. Carey, et al. (1996). "Lipocortin-1 inhibits CRH stimulation of plasma ACTH and IL-1 beta-stimulated hypothalamic CRH release in rats." Am J Physiol **270**(1 Pt 2): R54-60.
- Sutherland, L. R., M. Verhoef, et al. (1994). "A simple, non-invasive marker of gastric damage: sucrose permeability." Lancet **343**(8904): 998-1000.
- Taylor, A. D., A. M. Cowell, et al. (1993). "Lipocortin 1 mediates an early inhibitory action of glucocorticoids on the secretion of ACTH by the rat anterior pituitary gland in vitro." Neuroendocrinology **58**(4): 430-9.
- Tesarowski, D. B., L. Viel, et al. (1996). "Pulmonary function measurements during repeated environmental challenge of horses with recurrent airway obstruction (heaves)." Am J Vet Res **57**(8): 1214-9.
- Thomson, J. R. and E. A. McPherson (1984). "Effects of environmental control on pulmonary function of horses affected with chronic obstructive pulmonary disease." Equine Vet J **16**(1): 35-8.
- Toogood, J. H., A. E. Markov, et al. (1993). "Association of ocular cataracts with inhaled and oral steroid therapy during long-term treatment of asthma." J Allergy Clin Immunol **91**(2): 571-9.
- Toutain, P. L., M. Oukessou, et al. (1988). "Diurnal and episodic variations of plasma hydrocortisone concentrations in horses." Domest Anim Endocrinol **5**(1): 55-9.
- Trotter, G. (1996). Intra articular corticosteroids. Joint disease in the horse. G. T. Wayne McIlwraith. Philadelphia, Saunders: 237-56.
- Trune, D. R., J. B. Kempton, et al. (2007). "Glucocorticoid impact on cochlear function and systemic side effects in autoimmune C3.MRL-FasLpr and normal C3H/HeJ mice." Hear Res **226**(1-2): 209-17.
- Vatistas, N. J., J. E. Nieto, et al. (1999). "Clinical trial to determine the effect of omeprazole given once or twice daily on gastric ulceration." Equine Vet J Suppl(29): 87-90.
- Vatistas, N. J., R. L. Sifferman, et al. (1999). "Induction and maintenance of gastric ulceration in horses in simulated race training." Equine Vet J Suppl(29): 40-4.
- Vatistas, N. J., J. R. Snyder, et al. (1999). "Cross-sectional study of gastric ulcers of the squamous mucosa in thoroughbred racehorses." Equine Vet J Suppl(29): 34-9.
- Walfisch, A., M. Hallak, et al. (2001). "Multiple courses of antenatal steroids: risks and benefits." Obstet Gynecol **98**(3): 491-7.
- Wallace, J. L., W. McKnight, et al. (2000). "NSAID-induced gastric damage in rats: requirement for inhibition of both cyclooxygenase 1 and 2." Gastroenterology **119**(3): 706-14.
- Wilson, A. M., L. C. McFarlane, et al. (1998). "Effects of repeated once daily dosing of three intranasal corticosteroids on basal and dynamic measures of hypothalamic-pituitary-adrenal-axis activity." J Allergy Clin Immunol **101**(4 Pt 1): 470-4.
- Wong, C. W., S. E. Smith, et al. (1992). "Effects of exercise stress on various immune functions in horses." Am J Vet Res **53**(8): 1414-7.
- Woodhead, M. (2007). "Inhaled corticosteroids cause pneumonia ...or do they?" Am J Respir Crit Care Med **176**(2): 111-2.

- Woods, P. S., N. E. Robinson, et al. (1993). "Airborne dust and aeroallergen concentration in a horse stable under two different management systems." Equine Vet J **25**(3): 208-13.
- Yamamoto, Y. and R. B. Gaynor (2001). "Therapeutic potential of inhibition of the NF-kappaB pathway in the treatment of inflammation and cancer." J Clin Invest **107**(2): 135-42.
- Yokota, A., M. Taniguchi, et al. (2007). "Dexamethasone damages the rat stomach but not small intestine during inhibition of COX-1." Dig Dis Sci **52**(6): 1452-61.