



<http://portaildoc.univ-lyon1.fr>

CAMPUS VÉTÉRINAIRE DE LYON

Année 2025 - Thèse n° 110

ÉTUDE DE LA CORRÉLATION ENTRE LE GÉNOTYPE POUR LA MUTATION
SILVER ET LES LÉSIONS OCULAIRES HISTOLOGIQUES CHEZ LES CHEVAUX
COMTOIS DANS LE CADRE DU SYNDROME D'ANOMALIES CONGÉNITALES
OCULAIRES MULTIPLES.

THESE

Présentée à l'Université Claude Bernard Lyon 1
(Médecine – Pharmacie)

Et soutenue publiquement le 31 octobre 2025
Pour obtenir le titre de Docteur Vétérinaire

Par

MATHY Laurianne

CAMPUS VÉTÉRINAIRE DE LYON

Année 2025 - Thèse n° 110

ÉTUDE DE LA CORRÉLATION ENTRE LE GÉNOTYPE POUR LA MUTATION
SILVER ET LES LÉSIONS OCULAIRES HISTOLOGIQUES CHEZ LES CHEVAUX
COMTOIS DANS LE CADRE DU SYNDROME D'ANOMALIES CONGÉNITALES
OCULAIRES MULTIPLES.

THESE

Présentée à l'Université Claude Bernard Lyon 1
(Médecine – Pharmacie)

Et soutenue publiquement le 31 octobre 2025
Pour obtenir le titre de Docteur Vétérinaire

Par

MATHY Laurianne

Liste des enseignants

Liste des Enseignants-Chercheurs du campus vétérinaire de VETAGRO SUP au 27-10-2025

NOM	Prénom	Statut
ABITBOL	Marie	Professeur
ALVES DE OLIVEIRA	Laurent	Maître de conférences
ARCANGIOLI	Marie-Anne	Professeur
AYRAL	Florence	Maître de conférences
BECKER	Claire	Professeur
BELLUCO	Sara	Professeur
BENAMOU - SMITH	Agnès	Maître de conférences
BERNY	Philippe	Professeur
BLONDEL	Margaux	Maître de conférences
BONNET	Jeanne-Marie	Professeur Émérite
BOURGOIN	Gilles	Maître de conférences
BRASSARD	Colline	Maître de conférences
BRUTO	Maxime	Maître de conférences
BRUYERE	Pierre	Professeur
BUFF	Samuel	Professeur
BURONFOSSE	Thierry	Professeur
CACHON	Thibaut	Maître de conférences
CADORE	Jean-Luc	Professeur Émérite
CALLAIT-CARDINAL	Marie-Pierre	Professeur
CANNON	Leah	Maître de conférences
CHABANNE	Luc	Professeur
CHALVET-MONFRAY	Karine	Professeur
CHANOIT	Guillaume	Professeur
CHETOT	Thomas	Maître de conférences
DE BOYER DES ROCHES	Alice	Professeur
DELIGNETTE-MULLER	Marie-Laure	Professeur
DJELOUADJI	Zorée	Professeur
ESCRIOU	Catherine	Maître de conférences
GALIA	Wessam	Maître de conférences
GILLET	Benoit	Maître de conférences
GILOT	Emmanuelle	Professeur
GONTHIER	Alain	Maître de conférences
HUGONNARD	Marine	Maître de conférences
HUMBERT	Alexandre	Maître de conférences Stagiaire

JUNOT	Stéphane	Professeur
KIM	Mark	Maître de conférences Stagiaire
KODJO	Angeli	Professeur
KRAFFT	Émilie	Maître de conférences
LAABERKI	Maria-Halima	Professeur
LE GRAND	Dominique	Professeur
LEBLOND	Agnès	Professeur
LEDoux	Dorothée	Maître de conférences
LEFEBVRE	Sébastien	Maître de conférences
LEGROS	Vincent	Maître de conférences
LEPAGE	Olivier	Professeur
LOUZIER	Vanessa	Professeur
LURIER	Thibaut	Maître de conférences
MAGNIN	Mathieu	Maître de conférences
MARCHAL	Thierry	Professeur
MOSCA	Marion	Maître de conférences
MOUNIER	Luc	Professeur
PEROZ	Carole	Maître de conférences
PIN	Didier	Professeur
PONCE	Frédérique	Professeur
PORPHYRE	Thibaud	Professeur Stagiaire
PORSMOQUER	Charles	Maître de conférences Stagiaire
PORTIER	Karine	Professeur
POUZOT-NEVORET	Céline	Professeur
PROUILLAC	Caroline	Professeur
RACHED	Antoine	Maître de conférences
REMY	Denise	Professeur
RENE MARTELLET	Magalie	Maître de conférences
ROGER	Thierry	Professeur
SAWAYA	Serge	Maître de conférences
SCHRAMME	Michaël	Professeur
SERGEANTET	Delphine	Professeur
STORCK	Fanny	Professeur
TORTEREAU	Antonin	Maître de conférences
VICTONI	Tatiana	Maître de conférences
ZENNER	Lionel	Professeur

Remerciements au jury

**À Monsieur le Professeur Jean-Luc CADORÉ De VetagroSup – Campus
vétérinaire de Lyon,**

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury de thèse, pour
l'initiative de ce projet sur le cheval Comtois.

Recevez toute ma gratitude et ma profonde considération.

À Madame le Professeur Sara BELLUCO

De VetagroSup – Campus vétérinaire de Lyon,

Pour m'avoir fait l'honneur de me proposer et d'avoir dirigé ce travail de thèse, pour
votre disponibilité, votre enthousiasme et vos nombreux et précieux conseils tout au
long de ces années d'abord en enseignante référente puis en maître de thèse.

Recevez ma profonde reconnaissance.

À Madame le Professeur Marie ABITBOL

De VetagroSup – Campus vétérinaire de Lyon,

Pour m'avoir fait l'honneur de participer à ce jury de thèse, pour votre intérêt pour ce
travail.

Recevez mes très sincères remerciements

Remerciements

À l'Association Nationale du Cheval de Trait Comtois

Pour l'intérêt que vous avez porté à ce projet et pour l'énergie, la dévotion que vous entretenez afin de perpétuer cette race qui nous est chère.

Recevez mes très sincères remerciements.

Table des matières

Liste des annexes	13
Liste des figures	15
Liste des tableaux	19
Liste des abréviations.....	21
Introduction.....	23
Étude bibliographique.....	25
I. La race comtoise	25
1. L'histoire du cheval comtois.....	25
a. Les prémices de la race : des origines au XIXe siècle	25
b. Le XXe siècle : renouveau et naissance de la race.....	28
2. Le Comtois aujourd'hui : état des lieux actuel	30
3. La consanguinité chez le trait Comtois.....	32
II. Le Comtois : une robe silver	34
1. Généralités sur les robes équinées	34
a. Le pigment noir : locus Extension et gène MC1R (Melanocortin-1 Receptor)	35
b. Robe unie ou dégradée : locus Agouti et gène ASIP (Agouti Signaling Protein)	36
2. Modification des robes de base	37
a. Flaxen et pangaré	38
b. La robe silver	38
i. Le noir silver	40
ii. Le bai silver	41
3. Les robes autorisées par le stud-book comtois	42
a. L'alezan comtois	42
b. Le bai	44
c. Les couleurs minoritaires : le noir et l'alezan.....	45
d. Synthèse des études Caillier (2001) et Depecker (2013)	46
e. État des lieux actuel chez le Comtois.....	46
III. Anatomie de l'œil, fonction et aspect histologique.....	47
1. Anatomie générale et orientation.....	48
2. La tunica fibrosa bulbi	50
a. La cornée	51
i. L'épithélium antérieur	53
ii. Le stroma	54
iii. La lame limitante postérieure.....	54
iv. L'épithélium postérieur	54
b. La sclère	55
c. Le limbe	55
3. La tunica vasculosa bulbi ou « uvée »	56
a. L'iris	56
b. Le corps ciliaire	59
c. La choroïde	60
4. La tunica interna bulbi	61
a. La rétine : partie visuelle.....	61
b. La rétine aveugle	64
5. Le cristallin	64

IV.	Le syndrome d'Anomalies Congénitales Oculaires Multiples : ACOM	66
1.	Gene silver : Mutation et conséquences	67
a.	Physiologie de la pigmentation et rôle de PMEL 17	67
b.	La mutation de PMEL 17	70
i.	Caractérisation de la mutation Arg618Cys	70
ii.	De la mutation au phénotype	72
2.	Caractérisation du syndrome ACOM : état des lieux des connaissances.....	75
a.	Étude chez le Rocky Mountain.....	76
b.	Étude chez le Rocky Mountain et les chevaux des montagnes du Kentucky.....	79
c.	Étude chez des chevaux miniatures.....	80
d.	Étude chez des poneys	81
e.	Étude chez des chevaux islandais	84
f.	Étude chez le Comtois	86
3.	Synthèse.....	92
V.	Ce qu'il faut retenir	93
	Étude expérimentale.....	95
VI.	Objectifs	95
VII.	Matériels et Méthodes.....	95
1.	Matériel	95
2.	Méthodes : Histologie	96
3.	Méthodes : Génétique	98
a.	Extraction d'ADN	98
b.	Dosage du matériel génétique extrait	99
c.	Réalisation des PCR.....	100
d.	Migration sur gel d'agarose	101
e.	Séquençage	102
4.	Méthodes : Statistiques	102
VIII.	Résultats.....	103
1.	Génétique	103
a.	Extraction d'ADN	103
b.	Réalisation des PCR et visualisation des amplicons sur gels d'agarose	103
c.	Séquençage	104
d.	Distribution génotypique	106
2.	Histologie	106
a.	Les lésions kystiques	107
i.	Description des kystes	107
ii.	A l'échelle de la population	107
iii.	A l'échelle de l'individu : latéralité.....	109
iv.	A l'échelle de l'organe	110
	Zone de l'œil : iris ou corps ciliaire ?	110
	Côté de l'œil : nasal ou temporal ?	110
b.	Les lésions d'hyperplasie	112
i.	Description de l'hyperplasie de l'ENP	112
ii.	A l'échelle de la population	113
iii.	A l'échelle de l'individu : latéralité.....	114
iv.	A l'échelle de l'organe	115
	Zone de l'œil : iris ou corps ciliaire ?	115

<i>Côté de l'œil : nasal ou temporal ?</i>	116
3. Synthèse.....	118
IX. Discussion	119
1. Discussion	119
2. Limites.....	124
<i>Conclusion</i>	127
<i>Bibliographie</i>	129
<i>Annexes</i>	135

Liste des annexes

Annexe 1 : Tableaux des résultats bruts de dosage de quantité d'ADN post-PCR.....	135
Annexe 2 : Tableaux des résultats bruts d'histologie.....	135
Annexe 3 : Poster : Caractérisation histologique du syndrome ACOM chez le cheval comtois.....	137

Liste des figures

Figure 1 : Le chariot comtois tracté par le cheval du pays, vers 1850	27
Figure 2 : Illustrations du cheval Comtois en 1870 : modèle de laideur	28
Figure 3 : Étalons Comtois : Jongleur (à gauche) et Questeur (son fils, à droite)	29
Figure 4 : Utilisation actuelle du Comtois : Attelage touristique à Strasbourg (à gauche) et travaux agricoles : viticulture (à droite)	30
Figure 5 : Graphiques représentant l'évolution du nombre d'élevage et de naissances chez le Comtois entre 2016 et 2023	31
Figure 6 : Répartition des immatriculations en 2023 chez le Comtois par département	32
Figure 7 : Graphique de l'évolution du coefficient de consanguinité des étalons actifs. Étude réalisée entre 1995 et 2005 chez 743 étalons Comtois.....	33
Figure 8 : Résumé du déterminisme des robes de base : génotypes et phénotypes associés à ASIP et MC1R	37
Figure 9 : Cheval présentant un « ventre de biche »	38
Figure 10 : Photographies de la boîte cornée d'un poulain silver : sabot strié (à gauche) et d'un poulain croisé Comtois (à droite) : la peau est bien grise avec des cils argentés.	39
Figure 11 : Modification Flaxen chez un cheval Haflinger.....	40
Figure 12 : Photographies de Comtois noir silver	41
Figure 13 : Photographies de Comtois bai silver	42
Figure 14 : Photographies de deux Comtois bails homozygotes pour la mutation Silver.....	43
Figure 15 : A gauche un Comtois Silver, une robe bai et des crins dilués, à droite un Comtois homozygote sauvage, non Silver, avec une robe bai et des crins noirs.....	45
Figure 16 : Angle de vision du cheval	48
Figure 17 : Schéma d'une coupe longitudinale d'un œil de cheval.....	49
Figure 18 : Orientation de l'œil (J. Lafitte, 2023) Position des pôles dorsal, ventral, nasal, temporal et de la membrane nictitante sur un cheval Comtois et sur un œil énuclée.	50
Figure 19 : Schéma de la structure histologique de la cornée	52
Figure 20 : Coupe histologique de cornée.....	52
Figure 21 : Schéma histologique des couches superficielles de la cornée chez le cheval	53
Figure 22 : Pupille ovoïde de cheval après section équatoriale du globe (partie antérieure)	57
Figure 23 : Coupe histologique d'iris	58
Figure 24 : Grains iriens.....	58
Figure 25 : Schématisation des corps ciliaires.....	60
Figure 26 : Coupe histologique des corps ciliaires	60
Figure 27 : Fond d'œil de cheval après section équatoriale du globe (partie antérieure).....	62
Figure 28 : Schéma histologique de la rétine	64
Figure 29 : Coupe histologique de la rétine	64
Figure 30 : Schéma de cristallin chez le cheval	66
Figure 31 : schéma de l'unité mélano-épidermique	68
Figure 32 : Structure en feuillets de la substance amyloïde formée par PMEL dans des mélanosomes murins.....	69
Figure 33 : schéma clivage protéine PMEL17.....	70
Figure 34 : Alignement des acides aminés de la fin de la région transmembranaire et du début de la région cytoplasmique de PMEL17 chez différentes espèces par rapport au cheval sauvage.....	71
Figure 35 : Schéma de la place des différentes mutations sur le gène PMEL17	72
Figure 36 : Microscopie électronique de mélanosomes sphériques.....	73
Figure 37 : Exemple de mélanosomes modifiés observés par microscopie électronique	74

Figure 38 : Exemples de lésions macroscopiques observées chez le Rocky Mountain.....	77
Figure 39 : Microphotographie de lésions histologiques observées sur des Rocky Mountain.....	78
Figure 40 : Phénotypes observés chez les Chevaux Miniatures.....	80
Figure 41: Anomalies oculaires observées chez des poneys.....	83
Figure 42: Phénotype des anomalies observées chez les poneys.....	83
Figure 43 : Le phénotype du cheval islandais.....	85
Figure 44 : Différentes robes du Comtois et hypoplasie irienne.....	87
Figure 45 : Aspect macroscopique et échographique de kystes chez un Comtois	88
Figure 46 : Comparaison d'un oeil normal et d'une cornea globosa en observation direct et échographique, chez un Comtois	89
Figure 47 : <i>Image IRM et coupes histologiques des yeux d'une jument Comtoise atteinte d'ACOM....</i>	90
Figure 48 : Photographies de kystes du corps ciliaire de tailles différentes	91
Figure 49 : Hémisphère antérieur après la première coupe d'après des photos personnelle	96
Figure 50 : Schéma explicatif du protocole de découpe	97
Figure 51 : Profil spectral typique des acides nucléiques, d'après la fiche technique du Spectrophotomètre NanoDrop®	100
Figure 52 : séquence d'ADN d'intérêt pour la mutation de PMEL17 avec les primer de la littérature	100
Figure 53 : Exemple de résultat de gel obtenu après la PCR, ainsi 4/11 des échantillons ont dû être amplifiés de nouveau pour continuer le séquençage ; d'après photo personnelle de N. MILHAU....	104
Figure 54 : Exemples de chromatogrammes reçus	105
Figure 55 : Graphique de répartition des chevaux de l'étude en fonction du génotype.....	106
Figure 56 : Kystes des corps ciliaires observés dans notre étude (x2,5).	107
Figure 57 : Diagramme en bâton des grades de sévérité des kystes ciliaires en fonction du génotype	108
Figure 58 : Diagramme en bâton des grades de sévérité des kystes iriens en fonction du génotype	108
Figure 59 : Diagramme en bâton des grades de sévérité des kystes en fonction de la latéralité (droite/gauche)	109
Figure 60 : Diagramme en bâton des effectifs des coupes histologiques avec ou sans lésions kystiques en fonction de la localisation (corps ciliaires / iris)	110
Figure 61 : Diagramme en bâton des effectifs des globes oculaires avec ou sans lésion de kyste ciliaire en fonction de la topographie (nasal/temporal).....	111
Figure 62 : Diagramme en bâton des effectifs des globes oculaires avec ou sans lésion de kystes iriens en fonction de la topographie (nasal/temporal).....	111
Figure 63 : Hyperplasie de l'ENP (x10).....	112
Figure 64 : Diagramme en bâton des grades de sévérité de l'hyperplasie des corps ciliaires en fonction du génotype	113
Figure 65 : Diagramme en bâton des grades de sévérité de l'hyperplasie de l'iris en fonction du génotype.....	114
Figure 66 : Diagramme en bâton des grades de sévérité de l'hyperplasie en fonction de la latéralité (droite/gauche)	115
Figure 67 : Diagramme en bâton des effectifs des coupes histologiques avec ou sans lésion d'hyperplasie en fonction de la localisation (corps ciliaires / iris)	116
Figure 68 : Diagramme en bâton des effectifs des globes oculaires avec ou sans lésion d'hyperplasie de l'ENP des corps ciliaires en fonction de la topographie (nasal/temporal)	117
Figure 69 : Diagramme en bâton des effectifs des globes oculaires avec ou sans lésion d'hyperplasie de l'ENP de l'iris en fonction de la topographie (nasal/temporal).....	117

Figure 70 : Lésions kystiques chez un cheval Comtois homozygote mutant et un hétérozygote (photos personnelles). Dans les deux cas, plusieurs lésions kystiques (C), bordées par un épithélium non pigmenté hyperplasique (H), sont présentes au niveau du corps ciliaire et de l'iris. Aucune différence de sévérité n'a été observée.	119
Figure 71 : Hyperplasie de l'épithélium non pigmenté chez un cheval Comtois homozygote mutant et un hétérozygote (photos personnelles). Respectivement, une hyperplasie minime chez l'homozygote mutant et une hyperplasie sévère chez l'hétérozygote (×10).	119

Liste des tableaux

Tableau I : Coefficients de consanguinité de 245 étalons Comtois, d'après (POUX, 2006). Étude faite entre 1995 et 2005 chez 743 étalons Comtois dont 33% (n=245) étaient consanguins.....	33
Tableau II : Comparaison des fréquences des robes chez le Comtois, tirés des études de Caillier et Depecker (CAILLIER, 2001; Depecker et al., 2013).....	46
Tableau III : Résultat du dépistage annuel de l'ANCTC chez les étalons Comtois pour la mutation Silver entre 2018 et 2022, d'après (LAFITTE, 2023).....	47
Tableau IV : Synthèse des résultats d'après (Ramsey et al., 1999), résumé des principales lésions rencontrées chez le Rocky Mountain Horse.....	76
Tableau V : Synthèse des anomalies ophtalmiques rencontrées chez cinq poneys d'après (Komáromy et al., 2011).....	82
Tableau VI : Synthèse des lésions observées chez 77 Comtois d'après (Depecker et al., 2013)	87
Tableau VII : comparatif du syndrome ACOM chez les chevaux aux travers de plusieurs études (Andersson et al., 2011; Depecker et al., 2013; Grahn et al., 2008; Komáromy et al., 2011; Plummer & Ramsey, 2011; Premont et al., 2013; Oosterlinck, 2015; Ségard et al., 2013).....	92
Tableau VIII : Grade des lésions kystiques et d'hyperplasie de l'épithélium non-pigmenté (ENP).	98
Tableau IX : Résultats du génotypage.	105
Annexe 1 : Tableaux des résultats bruts de dosage de quantité d'ADN post-PCR.....	135
Annexe 2 : Tableaux des résultats bruts d'histologie.....	135
Annexe 3 : Poster : Caractérisation histologique du syndrome ACOM chez le cheval comtois.....	137

Liste des abréviations

ACOM : Anomalies Congénitales Oculaires Multiples
ANCTC : Association Nationale du Cheval de Trait Comtois
ASIP : Agouti Signaling Protein
ENP : Epithélium non pigmenté
EP : Épithélium Pigmenté
FLAIR : Fluid Attenuated Inversion Recovery (Type de séquence IRM)
Fdv : fading vision
IFCE : Institut Français du Cheval et de l'Équitation
IRM : Imagerie par Résonance Magnétique
MC1R : récepteur à la melanocortin 1
MSH : Hormone de Stimulation du Mélanocyte
PMEL17 : Protéine (pré)mélanocytaire 17
RE : Réticulum Endoplasmique
RPE ou **EPR** : Épithélium Pigmentaire de la Rétine
SINE : Short Interpersed Element
TYRP : Tyrosinase related protein
T1W : T1 Weigheted Image (Type de séquence IRM)
T2W : T2 Weighted Image (Type de séquence IRM)

INTRODUCTION

Le Comtois, cheval de trait le plus répandu en France en termes d'effectif, doit en partie sa popularité à sa polyvalence : production bouchère mais aussi loisirs, travaux attelés et spectacle. Son tempérament calme, son physique reconnaissable et sa rusticité participent à son succès. Ce cheval de race lourde, présente une morphologie puissante, caractérisée par une grande taille, une ossature robuste et une croupe bien développée. Mais c'est sa couleur emblématique qui fait sa particularité, souvent appelée « Bai Comtois » : une robe rousse à dorée avec des crins blond argenté.

En réalité cette couleur est caractéristique des chevaux bai silver. Cette robe est le résultat d'une dilution de la couleur de base, attribuée à la mutation silver, qui altère la pigmentation des crins, leur donnant un aspect « lavé ».

La mutation responsable de cette dilution, qui est pléiotrope, affecte le gène *PMEL17* (protéine (pré)mélanocytaire 17). En plus de son effet sur la robe, cette mutation est à l'origine d'un syndrome ophtalmique connu sous le nom d'ACOM (Anomalies Congénitales Oculaires Multiples), qui impacte la santé oculaire d'une partie de la race.

Les chevaux atteints se répartissent en deux groupes selon leur génotype : les hétérozygotes présentent des kystes de l'uvée tandis que les individus homozygotes manifestent ces mêmes kystes, associés à un ensemble plus vaste et varié d'anomalies oculaires.

Ce syndrome a été décrit histologiquement chez d'autres races porteuses de la mutation silver mais reste peu documenté pour le Comtois. Le but de ce travail est de caractériser les lésions histologiques et de relier le statut génétique des sujets comtois pour la mutation silver aux lésions histologiques et aux images échographiques compatibles dans le cadre du syndrome des anomalies congénitales oculaires multiples.

Dans une première partie bibliographique, nous examinerons les origines du Trait Comtois pour mieux comprendre la prévalence de ce syndrome dans la race. Puis nous aborderons la robe spécifique du Comtois ainsi que son déterminisme génétique. Après nous être intéressé à l'anatomie de l'œil, nous réaliserons un état des lieux des connaissances autour du syndrome ACOM.

Dans une seconde partie nous nous attacherons à présenter les résultats de notre étude expérimentale ayant porté sur les analyses génétiques et histologiques de 25 chevaux Comtois, soit 46 globes oculaires.

ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. La race comtoise

Le cheval comtois, race de trait emblématique de la Franche-Comté, a connu des périodes contrastées de gloire et de déclin. Très prisé depuis ses origines antiques jusqu'au XVIIIe siècle, il fut utilisé pour des tâches agricoles et militaires. Cependant, les guerres révolutionnaires et impériales ainsi que les politiques d'élevage du XIXe siècle affaiblissent la race. Ce n'est qu'au XXe siècle, avec un regain d'intérêt pour les chevaux de trait, que le Comtois regagne en popularité. Il est aujourd'hui l'une des principales races de trait en France, reconnue pour sa robustesse et sa polyvalence (Histoire | Association Nationale du Cheval de Trait Comtois, s. d.; POUX, 2006).

1. L'histoire du cheval comtois

a. Les prémices de la race : des origines au XIXe siècle

Le Comtois, encore appelé Franc-Comtois ou Trait Comtois, tire ses origines de la région historique de la Séquanie, correspondant aujourd'hui à la Franche-Comté. Les premières traces de ce cheval montagnard remontent à l'Antiquité où Publius Végèce, auteur romain du IVe siècle, le décrit dans *Digesta artis mulomedicæ* (Traité sur l'art vétérinaire), comme un cheval « bon et de longue durée au travail », soulignant déjà sa rusticité et son endurance. Importé par les Burgondes, vers 410, ce petit cheval rustique devient un compagnon incontournable dans les conflits militaires (Histoire | Association Nationale du Cheval de Trait Comtois, s. d.; POUX, 2006).

Utilisé durant des siècles comme cheval de guerre, depuis les croisades du Moyen-Âge où il gagne une réputation de fiabilité et de robustesse dans des contextes de combats éprouvants, jusqu'aux armées de Charles Quint au XVIe siècle. (CAILLIER, 2001) Il se distingue également comme monture de choix pour les seigneurs locaux qui l'utilisent pour les tournois. En 1590, l'historien Gollut en fait l'éloge en le décrivant comme un cheval rapide, courageux et infatigable, idéal pour le service militaire et résistant aux épreuves prolongées (CAILLIER, 2001; POUX, 2006).

A cette époque, il est également employé pour améliorer les races chevalines de la Bourgogne, confirmant son rôle polyvalent et son endurance, tout en consolidant son rôle dans l'élevage chevalin. Le Comtois plait aussi à l'étranger et quitte les pâturages du Haut Doubs pour l'Italie au XVII^e siècle pour ses qualités guerrières et utilitaires. Cheval guerrier, il est également utilisé lors de la guerre de Dix Ans (1635-1645), puis réquisitionné lors de la Révolution. Louis XIV puis Napoléon I^{er} l'adoptent aussi bien pour leur cavalerie que pour tirer artillerie et carrosses.

Le comte de Montendre écrira plus tard à propos des guerres napoléoniennes, qu'« elles n'ont eu que l'avantage de mettre en valeur à côté du cheval ardennais, la rusticité et le courage des chevaux comtois ». Au cours du XVII^e et XVIII^e siècles, le Comtois se répand dans les territoires français limitrophes à la Franche-Comté et Damalix l'aîné, artiste vétérinaire à Besançon, fait la première description du Comtois comme : « des chevaux de forte taille et d'une structure solide et régulière, la tête assez belle et bien placée, l'œil vif, l'encolure bien rouée et ornée d'une crinière longue et touffue, le garrot relevé, le poitrail bien ouvert, la côte arrondie, le rein double, les jambes non trop garnies de poils, un bon aplomb, une démarche fière et assurée » (LAFITTE, 2023).

L'élevage du Comtois devient florissant, soutenu par les haras royaux. Le Comtois s'impose comme un trait distinctif de la Franche-Comté, à la fois symbole de force et de tradition équestre. Il joue un rôle central dans les activités agricoles de la région, travaillant les champs, les vignobles et transportant les charges sur les routes (Figure 1). C'est aussi un cheval très utilisé dans les transports, tirant les diligences, les voitures de courrier et les chariots de commerçants jusqu'à l'arrivée des chemins de fer dans les années 1820. L'animal incarne l'endurance, la polyvalence et la fiabilité, restant un pilier du travail, malgré les turbulences liées aux guerres et aux crises sanitaires (CAILLIER, 2001; *Histoire | Association Nationale du Cheval de Trait Comtois*, s. d.; POUX, 2006).



Figure 1 : Le chariot comtois tracté par le cheval du pays, vers 1850

Cependant, la fin du XVIII^e siècle marque un déclin de l'effectif à la suite d'une épizootie et la disparition des haras (POUX, 2006). Au début du XIX^e siècle, la race comtoise subit un déclin marqué par les tentatives d'amélioration via des croisements de chevaux de selle, conformément aux directives des haras nouvellement rétablis.

Entre 1790 et 1805, alors que la race est presque éteinte, les éleveurs expérimentent avec des étalons suisses ou allemands pour régénérer la population locale. En 1829, des primes sont introduites pour encourager les éleveurs à produire des juments et pouliches fines. L'accent mis sur le croisement avec des races de selle : Pur-sang anglais et anglo-normand, compromet la rusticité et la force du Comtois. Les éleveurs mécontents ont écrit une lettre au Conseil Général de l'Isère pour défendre leur race : « Les anciennes races locales aux formes assurément imparfaites mais dont la résistance ne souffrait aucune comparaison ont presque disparu... Les haras ont voulu faire des chevaux de guerre, surtout des chevaux de cavalerie légère et ont introduit l'Anglo-normand. Ils ont délaissé le cheval de trait léger de taille moyenne à débouché assuré pour l'artillerie, l'industrie, l'agriculture et même l'exportation ». Le standard baisse et les résultats restent insatisfaisants, avec des chevaux de qualité stationnaire au XIX^e siècle.

En 1860, les haras royaux retirent tous les étalons de trait de leurs établissements, laissant seulement 17 reproducteurs approuvés dans le Doubs. Face à ce constat, les éleveurs francs-comtois décident, dès 1870, d'utiliser des races de trait comme le

Percheron et le Trait Breton, mais ces croisements produisent des chevaux décrits comme un modèle de laideur, lent, mou, et défectueux dans sa conformation (Figure 2) (BLANCHARD, 2015; CAILLIER, 2001; Magne & Cornell University, 1896; POUX, 2006).

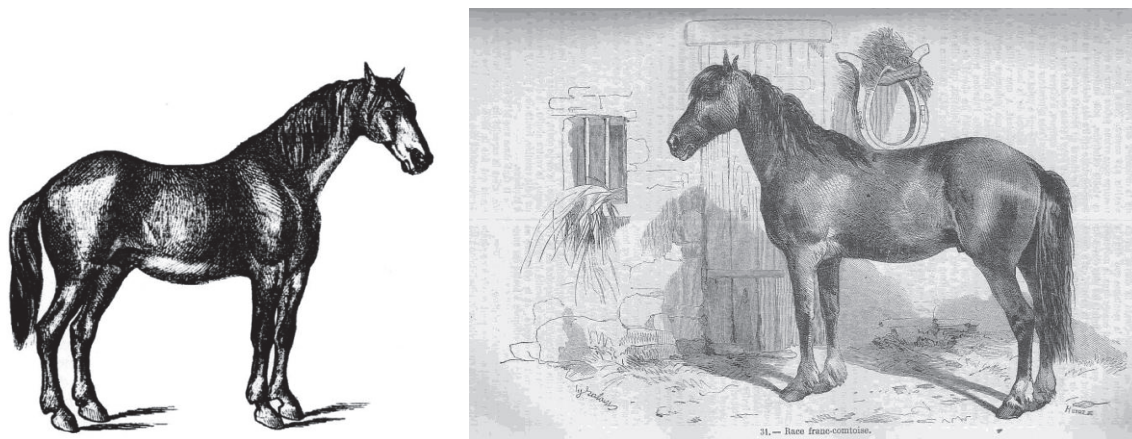


Figure 2 : Illustrations du cheval Comtois en 1870 : modèle de laideur (Magne & Cornell University, 1896)

b. Le XXe siècle : renouveau et naissance de la race

A la fin du XIXe siècle, malgré des concours d'étalons, les efforts pour revigorer la race comtoise peinent à produire des chevaux répondant aux attentes en termes de robustesse et d'efficacité. La race comtoise traverse une crise menaçant sa pérennité. Cependant, le soutien des éleveurs, des conseillers généraux, alliés aux haras nationaux, permet de relancer l'élevage au début du XXe siècle. On note aussi une crise du cheval demi-sang avec l'arrivée de l'automobile, les chevaux de trait léger sont alors obsolètes.

En 1905, l'importation de l'étalon ardennais belge BEUZET marque un tournant. Ce cheval de grande taille (1,58 m au garrot) et de robe rouanne, améliore la morphologie du Comtois en lui apportant un poitrail profond, des membres robustes et une stature impressionnante. Avec ce succès, d'autres étalons ardennais sont rapidement introduits, donnant une nouvelle impulsion à la race (CAILLIER, 2001; POUX, 2006).

La Première Guerre mondiale est néanmoins un coup dur car beaucoup de Comtois sont réquisitionnés pour l'artillerie, entraînant des pertes d'effectifs significatives.

Après-guerre, l'organisation s'institutionnalise : en 1919, des éleveurs créent le « Syndicat d'élevage du cheval Comtois ». Le stud-book de la race est créé par la même occasion. On note qu'en plus des éleveurs, des élus locaux et des vétérinaires ont depuis le début pris part à cette cause. En 1921, le premier concours officiel d'étalon est organisé, établissant les standards de la race. En 1922, le premier étalon de robe bai silver est intégré. On note, à cette époque, que 90% des mâles reproducteurs sont bais, avec quelques rares noirs ou alezans.

Durant la Seconde Guerre mondiale, l'élevage se stabilise avec le relais pris par l'automobile. En 1945, les descendants de l'étalon ardennais DONCK : JONGLEUR et QUESTEUR consolident les qualités typiques du Comtois : endurance, rusticité et allures harmonieuses. Avec l'influence de QUESTEUR, il donna 40 descendants bai silver, la robe « alezane à crinière argentée » devient prédominante, définissant l'apparence contemporaine de la race (Figure 3) (BLANCHARD, 2015; CAILLIER, 2001; POUX, 2006).

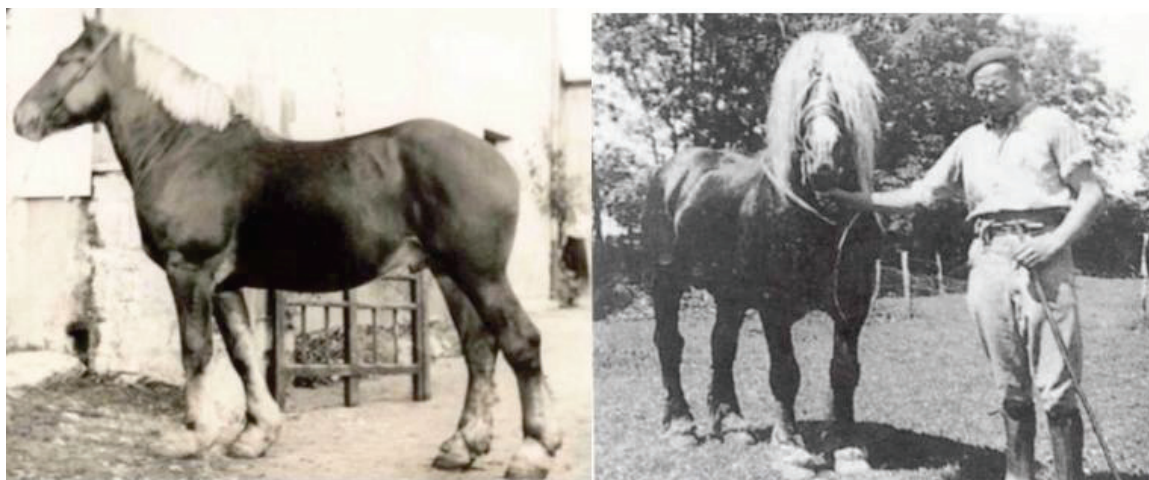


Figure 3 : Étalons Comtois : Jongleur (à gauche) et Questeur (son fils, à droite) , d'après (CAILLIER, 2001)

A partir des années 1960, le Comtois évolue vers un modèle plus lourd, répondant à une demande bouchère. Les spécimens mesurent entre 1,55 et 1,65 m au garrot et pèsent entre 650 et 800 kg. Ce développement marque l'adaptation de la race aux changements économiques tout en conservant sa robustesse et sa polyvalence qui font sa renommée dans les travaux agricoles et le patrimoine équestre français (BLANCHARD, 2015).

2. Le Comtois aujourd'hui : état des lieux actuel

Depuis janvier 2003, le syndicat de la race comtoise s'est transformé en *Association Nationale du Cheval de Trait Comtois* (ANCTC). L'association vise à défendre les intérêts des éleveurs et à promouvoir la race dans de nouveaux marchés. L'ANCTC explore et développe divers débouchés pour le Comtois, allant de la viande à l'attelage de loisir avec une labellisation Comtois, en passant par l'utilisation dans la viticulture et le débardage (Figure 4). Dans le contexte écologique actuel, cela répond au regain d'intérêt pour la traction animale (*Histoire | Association Nationale du Cheval de Trait Comtois*, s. d.; POUX, 2006).



Figure 4 : Utilisation actuelle du Comtois : Attelage touristique à Strasbourg (à gauche) et travaux agricoles : viticulture (à droite), d'après (*Histoire | Association Nationale du Cheval de Trait Comtois*, s. d.)

Au même moment, la race comtoise est la deuxième en France pour le nombre de saillies, derrière le trotteur français. Elle occupe la quatrième place en nombre d'élevages après le Selle Français, le Trotteur et le Pur-Sang anglais (LAFITTE, 2023).

Le stud-book actuel fixe des standards précis, valorisant un cheval compact et puissant de taille moyenne (1,50 à 1,65 m au garrot pour 650 à 800 kg). Il est décrit ainsi : « Sa tête est expressive avec un œil vif et des petites oreilles très mobiles et bien plantées. Son avant-main est puissante avec une encolure droite et musclée, une épaule longue,

inclinée et large, un garrot bien sorti, un poitrail large et une poitrine profonde. Son corps est compact avec une côte arrondie mais sans excès, un dos droit et des reins courts et bien attachés, une croupe large avec une cuisse bien descendue. Ses membres sont secs et bien trempés avec des articulations fortes, des tendons et des jarrets nets et sans tare, et de bons aplombs. Enfin sa robe caractéristique est le plus souvent alezan foncé ou cuivrée avec des crins lavés. La robe baie est rare mais acceptée. Les balzanes et listes en tête sont à éviter, par contre un frison clair couvrant les tendons est apprécié » (LAFITTE, 2023 ; *sire-reglement-stud-book-comtois.pdf*, s. d.).

D'après l'IFCE, la race fait face à un déclin progressif : le nombre d'éleveurs (Figure 5 à gauche) a diminué de 2337 à 2015 entre 2020 et 2025. Le nombre d'étalons a également baissé de 803 à 714 entre 2015 et 2021. On note toutefois une tendance globale à la reprise de l'élevage depuis 2021 : 763 étalons et 3562 naissances en 2023, soit une hausse de naissance (Figure 5 à droite) de 17% depuis 2018. La Franche-Comté reste une région clé de l'élevage, avec 30% des chevaux comtois immatriculés sur son territoire en 2023 (Figure 6) (IFCE, 2023a, 2023b).

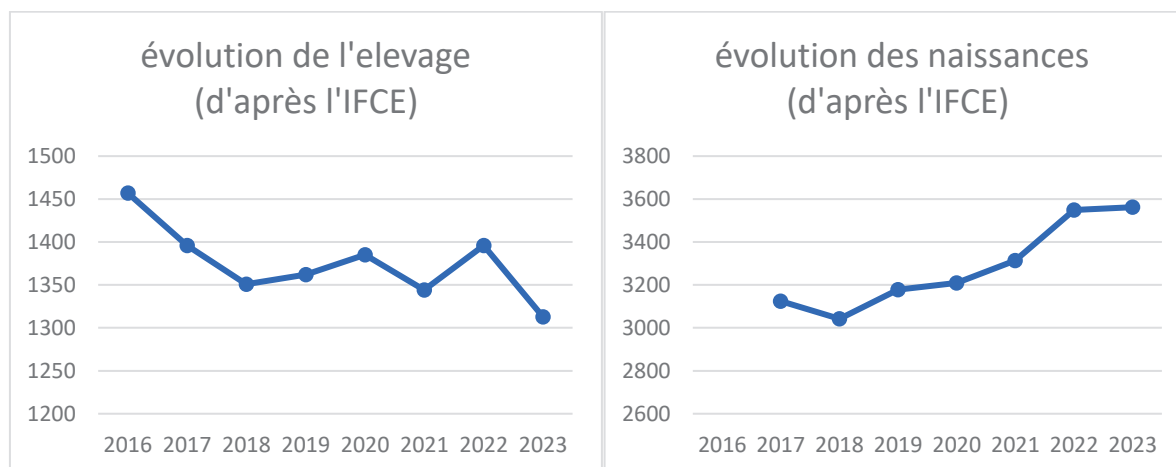


Figure 5 : Graphiques représentant l'évolution du nombre d'élevage et de naissances chez le Comtois entre 2016 et 2023

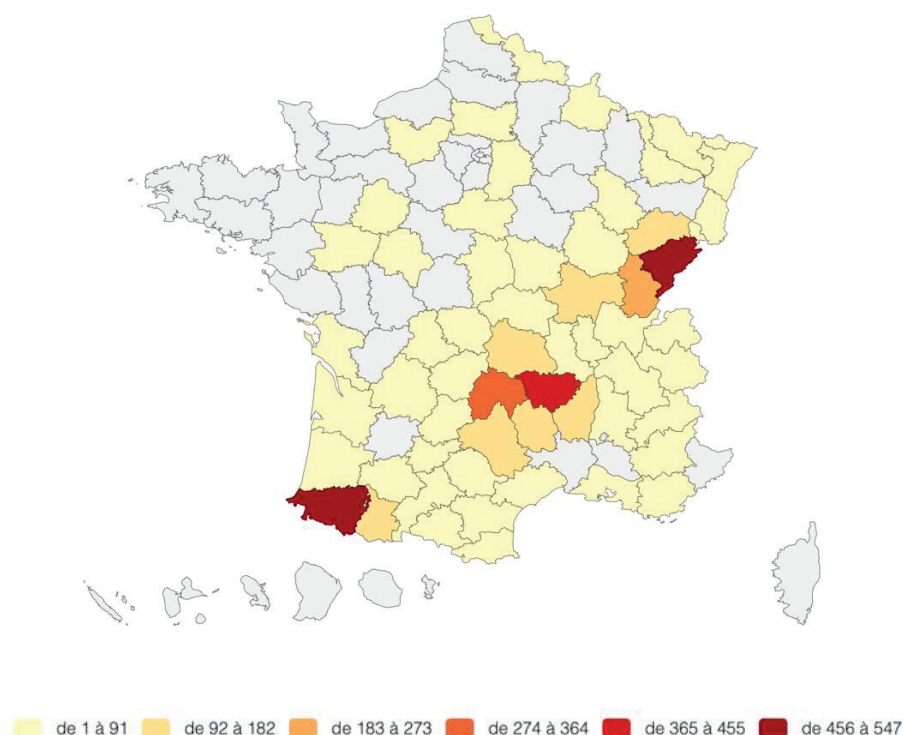


Figure 6 : Répartition des immatriculations en 2023 chez le Comtois par département, d'après (IFCE, 2023a)

3. La consanguinité chez le trait Comtois

Depuis le renouveau de la race comtoise au début du XXe siècle, la consanguinité est devenue une préoccupation majeure. Le sauvetage de la race a été permis par l'utilisation restreinte de quelques étalons ardennais, notamment *BEUZET* et *DONCK*. De plus la sélection a longtemps été seulement morphologique sans aucun regard sur la généalogie. *DONCK*, introduit en 1927, a profondément marqué la génétique de la race. Il est resté 16 ans en service donnant de nombreux fils, étalons à leur tour, tel que *JONGLEUR* qui donna à son tour *QUESTEUR*, deux étalons ayant eu un grand nombre de descendants. *QUESTEUR* engendra 21 étalons et 6 d'entre eux ont été utilisés par les haras (CAILLIER, 2001).

En 2006, L.P. POUX a réalisé une étude statistique sur les Comtois (POUX, 2006). Cette analyse sur 743 étalons comtois révèle que près de 33% de l'échantillon avaient au moins un ancêtre commun sur quatre générations. Les coefficients de consanguinité (Tableau I), indicateur de diversité génétique, montrent que même si une majorité reste sous des seuils critiques, certains étalons ont des taux élevés. Parmi l'échantillon, 2,8% présentent un coefficient supérieur à 5% (donc 3/21

supérieur à 10%) ; 6,3% ont un coefficient entre 3 et 5%, 10,9% entre 1 et 3% et enfin 12,9% des chevaux ont un coefficient de consanguinité inférieur à 1% (Figure 7).

Coefficient de consanguinité	Nombre	Pourcentage
Supérieur à 5%	21	2,8
3-5%	47	6,3
1-3%	81	10,9
Inférieur à 1%	96	12,9

Tableau I : Coefficients de consanguinité de 245 étalons Comtois, d'après (POUX, 2006). Étude faite entre 1995 et 2005 chez 743 étalons Comtois dont 33% (n=245) étaient consanguins.

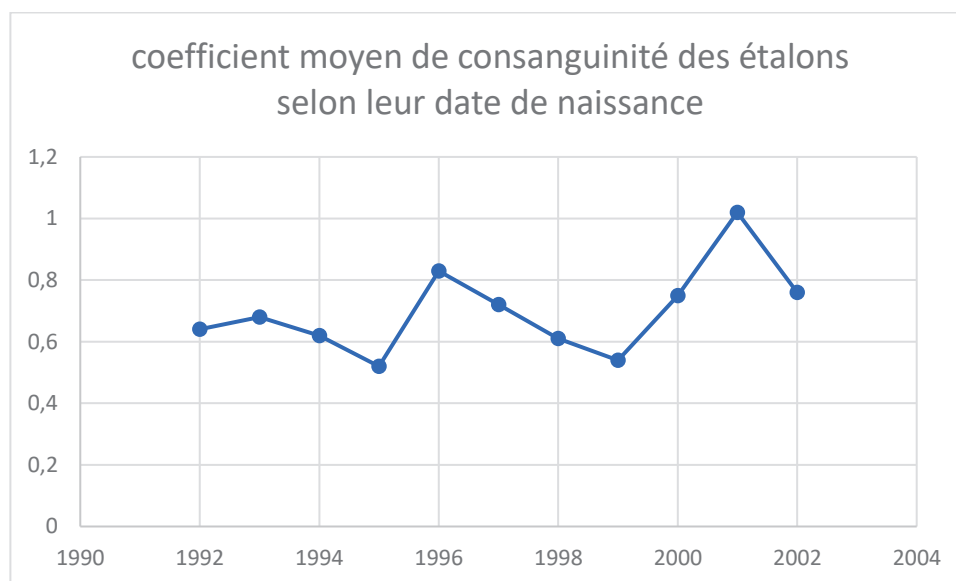


Figure 7 : Graphique de l'évolution du coefficient de consanguinité des étalons actifs. Étude réalisée entre 1995 et 2005 chez 743 étalons Comtois, d'après (POUX, 2006)

En 1962, 35 des 83 étalons reproducteurs actifs avaient du sang de *QUESTEUR*. Ce chiffre est monté à 100% en 2005 où tous les étalons reproducteurs étaient des descendants de *DONCK* principalement par *QUESTEUR*. La consanguinité dans la race comtoise n'est donc pas à négliger même si elle reste globalement modérée et

évolue à bas bruit. Cette observation souligne néanmoins l'importance de surveiller et de diversifier les lignées pour limiter l'impact de cette homogénéité génétique sur la santé et la robustesse des Comtois (LAFITTE, 2023; POUX, 2006).

II. Le Comtois : une robe silver

L'Alezan comtois, également désigné comme bai silver, est une robe emblématique et caractéristique de la race. Cette robe se distingue par une teinte de corps alezan clair toujours accompagnée de crins lumineux, blancs ou argentés.

Aujourd'hui, cette robe est non seulement typique, mais aussi largement majoritaire dans le standard de la race tel qu'il est défini par le stud-book. Les éleveurs privilégient cette caractéristique lors de la sélection, tant pour son esthétique que pour sa conformité au type recherché. L'Alezan comtois incarne ainsi une partie du patrimoine génétique et visuel de la race, participant à sa reconnaissance et à sa popularité.

1. Généralités sur les robes équines

Les robes de base des chevaux se divisent en trois catégories principales : alezan, bai et noir.

Ses robes sont caractérisées selon l'Institut Français du Cheval et de l'Équitation (IFCE) :

- La robe alezane présente un pelage uniquement fauve, avec des crins fauves ou plus clairs mais jamais noirs (IFCE, s. d.).
- La robe baie associe un pelage fauve de nuances variées avec des crins et des extrémités noirs.
- La robe noire se définit par une pigmentation uniforme et sombre (poils, crins et peau noirs, yeux foncés).

Elles sont chacune issue de la répartition et de l'expression de deux pigments fondamentaux. Ces pigments, l'eumélanine pour les teintes brun-noir, et la phéomélanine pour le jaune-rouge ; définissent la couleur de la robe selon leur

proportion et leur localisation. Ces couleurs, influencées par les loci *Extension* et *Agouti*, constituent les fondements génétiques sur lesquels peuvent s'ajouter d'autres variations génétiques (L'équitation, 2020).

Dans le cadre de ce travail, nous nous concentrerons sur les locus et les gènes spécifiques jouant un rôle dans la détermination des robes caractéristiques du cheval Comtois.

*a. Le pigment noir : locus *Extension* et gène *MC1R* (Melanocortin-1 Receptor)*

Le locus *Extension*, découvert par L.Marklund en 1996, est situé sur le chromosome 3 chez le cheval. Il est responsable de la présence ou de l'absence du pigment noir (eumélanine) dans la robe. Ce locus code pour le récepteur MC1R situé à la surface des mélanocytes. Ce récepteur, activé par l'hormone de stimulation des mélanocytes (MSH), déclenche une cascade de réactions biochimiques conduisant à la production d'eumélanine, essentielle pour obtenir une robe noire ou baie.

Deux allèles principaux sont associés à ce gène. L'allèle *E*, dominant, permet la production d'eumélanine et, donc, de poils noirs, tandis que l'allèle *e*, récessif, ne permet pas cette production, aboutissant à une robe rouge (alezan).

Un cheval homozygote *e/e* possède un récepteur MC1R inactif, rendant impossible la transmission du signal de la MSH et la production de pigment noir. En revanche, un cheval portant au moins un allèle *E* pourra produire des poils noirs (L'équitation, 2020; NEPOUX, 2019; Sponenberg & Bellone, 2017).

b. Robe unie ou dégradée : locus Agouti et gène ASIP (Agouti Signaling Protein)

Le locus *Agouti*, situé sur le chromosome équin 22, code la protéine ASIP, responsable de la restriction des pigments noirs (eumélanine) aux extrémités du corps du cheval, telles que les crins et les membres.

Cette protéine agit en bloquant le récepteur MC1R sur les mélanocytes, empêchant ainsi le stimulus pour la production d'eumélanine. Lorsque ce blocage est effectif, seule la phéomélanine (pigment jaune-rouge) est synthétisée.

L'allèle *A*, dominant, permet cette restriction du noir aux extrémités, donnant une robe baie. En revanche, l'allèle *a*, récessif, résulte de la délétion de 11 nucléotides et rend le peptide non fonctionnel ; la production d'eumélanine n'est pas réduite, ce qui conduit à une robe noire uniforme.

Chez les chevaux alezans, le locus *Agouti* n'a aucun effet car la mutation *e* du locus *Extension*, empêche la production d'eumélanine en rendant le récepteur MCR1 non fonctionnel. Cette interaction génétique, où l'allèle *e* masque l'effet du locus *Agouti*, est qualifiée d'épistasie (L'équitation, 2020; NEPOUX, 2019; Sponenberg & Bellone, 2017).

La Figure 8 présente un résumé de l'action de ASIP et MC1R sur la robe.

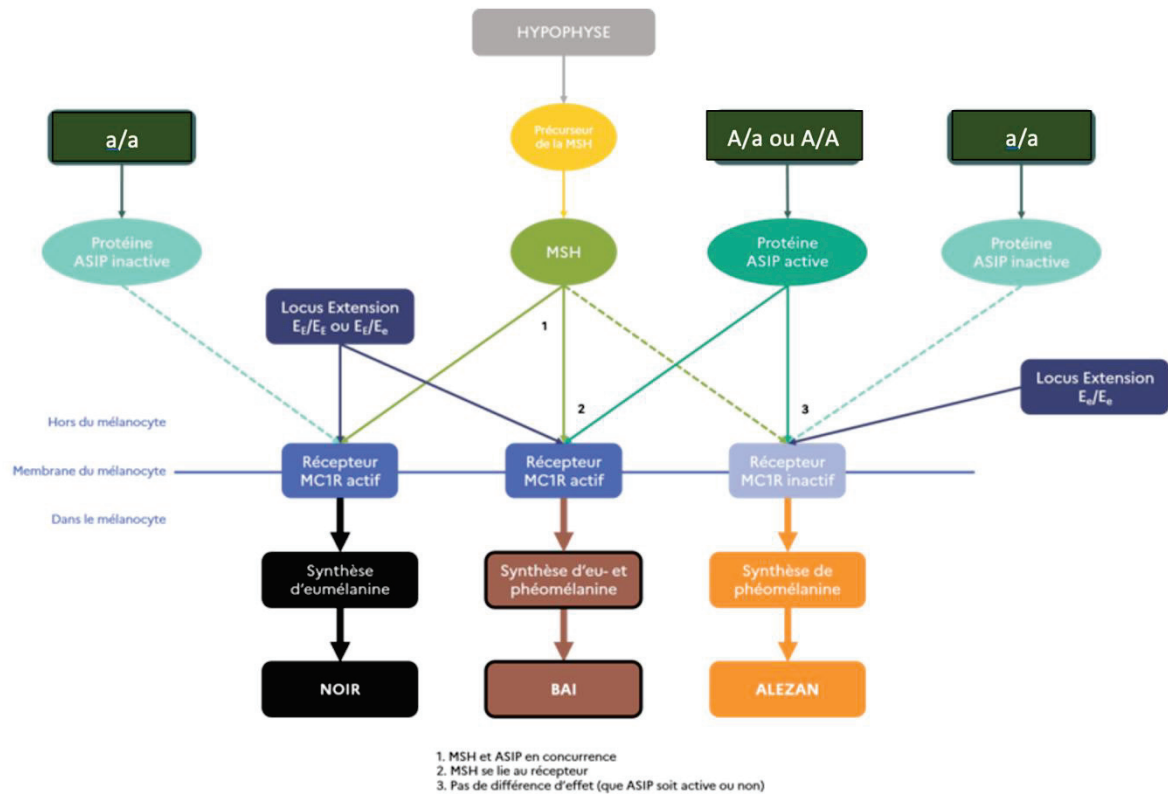


Figure 8 : Résumé du déterminisme des robes de base : génotypes et phénotypes associés à ASIP et MC1R, modifié d'après l'IFCE.

MSH : Hormone de stimulation du mélanocyte ; MC1R : Récepteur à la mélanocortine-1 ; ASIP : Protéine signal d'Agouti.

La liaison entre MSH et MC1R conduit à la production d'eumélanine. ASIP est antagoniste de MSH : lorsque que ASIP se lie à MC1R, MSH ne peut se fixer et la production d'eumélanine est inhibée. Dans ce cas, c'est de la phéomélanine qui est produite.

Dans le cas où l'allèle dominant (E) de MC1R est présent, le récepteur est capable de se lier à ASIP et à MSH et donc de produire les deux types de pigments. La nature du pigment produit dépend ensuite du génotype pour le locus ASIP. Si, au contraire, le cheval possède les 2 allèles récessifs (e/e) de MC1R, le récepteur n'est pas fonctionnel et seule la phéomélanine est produite, quel que soit le génotype au locus Agouti.

2. Modification des robes de base

La teinte de la robe des chevaux peut varier selon des facteurs génétiques et environnementaux, bien que les mécanismes exacts restent souvent mal compris.

a. Flaxen et pangaré

Le flaxen (ou "crins lavés") désigne une modification des crins, rendant la crinière, la queue et les extrémités des membres plus claires, allant du blond au blanc. Cependant, elle ne modifie pas la couleur fauve du reste du corps (L'équitation, 2020; Sponenberg & Bellone, 2017).

Le « ventre de biche » ou pangaré se manifeste par des zones claires au bas du ventre et autour des membres (Figure 9). Il est à éviter selon le standard du Trait Comtois. En effet, cette caractéristique est considérée comme indésirable du point de vue esthétique et génétique de la race, et cherche donc à être évitée par les éleveurs (CAILLIER, 2001).



Figure 9 : Cheval présentant un « ventre de biche » d'après (Sponenberg & Bellone, 2017)
Zones de poils plus clairs que la robe de base, situé au bas ventre, les flancs, à l'intérieur des membres et sur la face : contour des yeux et de la bouche.

b. La robe silver

La robe silver se distingue par une dilution spécifique de l'eumélanine qui modifie l'aspect des poils et des crins. Cette dilution est particulièrement marquée sur la crinière et la queue, où les crins deviennent blancs, ivoire, gris ou argentés, donnant ainsi son nom à cette couleur caractéristique. Cette modification du pelage peut aussi

produire des pommelures sur les robes foncées. En revanche, la phéomélanine n'est pas ou peu affectée, ce qui explique que cette robe n'impacte pas les alezans (L'équitation, 2020; Sponenberg & Bellone, 2017).

On note que les poulains silver présentant souvent des cils blancs et des sabots striés, un indice distinctif permettant une identification précoce de la robe (Figure 11) (WEIGEL, 2019).



Figure 10 : Photographies de la boîte cornée d'un poulain silver : sabot strié (à gauche) (Marandet L, Ségard T. Les robes des chevaux : approche génétique et scientifique des couleurs des chevaux. Paris : Vigot; 2018. 224 p.) et d'un poulain croisé Comtois (à droite) : la peau est bien grise avec des cils argentés.

Sur une base baie ou noire, la différenciation avec des robes comme l'alezan crins lavés ou le palomino peut s'appuyer sur la teinte argentée des crins et les extrémités foncées caractéristiques de la robe silver (Figure 11) (L'équitation, 2020).



Figure 11 : Modification flaxen chez un cheval Haflinger
Les crins et les extrémités des membres sont dilués blond à blanc.

La mutation responsable de cette robe a été identifiée sur le chromosome 6. Elle affecte le gène *PMEL17* par une mutation faux-sens dans l'exon 11, altérant la production de la protéine PMEL17 (Melanocyte Protein 17), un composant clé des mélanocytes impliqué dans le développement des pigments mélaniques. Le remplacement d'une arginine par une cystéine provoque ainsi un dérèglement dans le dépôt des pigments mélaniques ainsi que l'altération de la structure même des mélanosomes. Cette mutation suit un mode de transmission dominant : une seule copie de l'allèle muté « Z » suffit à faire apparaître la robe. De cette façon, les chevaux homozygotes (ZZ) et hétérozygotes (Zz) expriment la dilution, alors que les individus homozygotes sauvage (zz) conservent leur robe de base sans modification silver (BAILEY, 2020; l'équitation, 2020; Sponenberg & Bellone, 2017).

i. Le noir silver

Lorsque la modification silver s'applique aux robes noires, elle produit une robe chocolat profond avec des crins blanc argenté, appelée noir silver selon l'IFCE, ou encore « chocolat crins lavés » (Figure 12). Cette dilution est souvent accompagnée de pommelures visibles, ce qui a valu à cette robe l'appellation historique de *Silver Dapple* (« argent pommelé »). Toutefois, cette dénomination est inexacte, car les

pommelures ne sont pas systématiquement présentes. Elles apparaissent uniquement sur les bases noires tandis que d'autres bases génétiques ne les expriment souvent pas. (L'équitation, 2020)

Un cheval noir porteur d'au moins une copie de la mutation *Silver*, avec un génotype : $E/_$, a/a , $Z/_$, présentera une robe dite *Black Silver Dapple*. Ce phénotype est visible dans plusieurs races, notamment le Comtois, même s'il reste très rare, le Shetland, et le Rocky Mountain, où il est emblématique (BAILEY, 2020; l'équitation, 2020; Sponenberg & Bellone, 2017).



Figure 12 : Photographies de comtois noir silver

ii. Le bai silver

Lorsqu'un cheval bai porte la mutation *Silver*, il présente une robe dite bai silver. Contrairement à la robe « Black Silver Dapple », le bai silver ne montre généralement pas de pommelures (Figure 13). Il existe un large panel de dilution : certains ont la couleur du corps proche du bai classique, tandis que d'autres présentent une dilution intense. L'une des distinctions les plus notables est la modification des extrémités des membres, qui passent du noir au gris foncé. Les crins noirs subissent également une dilution, se transformant en un mélange de crins gris et blancs (Sponenberg & Bellone, 2017).

Ce phénotype peut être confondu avec la robe « alezan crins lavés » et il est parfois difficile de distinguer les deux robes sans l'aide d'un test ADN.



Figure 13 : Photographies de Comtois bai silver

3. Les robes autorisées par le stud-book comtois

Il est largement reconnu que la majorité des Comtois sont de couleur bai silver, et une proportion plus réduite est noir silver. Les robes baies standard, non diluées par le gène *PMEL17* restent rares bien qu'acceptées par le standard. Les autres robes telles que le noir pur ou l'alezan, sont généralement évitées lors de la sélection car elles ne correspondent pas aux critères esthétiques décrits par le standard de la race. L'identification visuelle des robes chez le Comtois permet souvent de supposer la présence de l'allèle mutant *Z* du gène *PMEL17*. Cette analyse repose sur des éléments phénotypiques tels que la couleur des crins, de la robe et des extrémités des membres bien souvent de couleur diluée (CAILLIER, 2001).

Cependant certains cas sont difficiles à évaluer visuellement. Les chevaux comtois véritablement alezans, qui ne produisent pas d'eumélanine, et les chevaux bai Silver très pâles aux membres dépigmentés, ne suivent pas une identification simple. Dans ces cas-là, seule une analyse génétique permettra de confirmer le génotype du cheval et la présence, ou non, de l'allèle *Z*.

a. L'alezan comtois

Nous savons aujourd'hui que l'ensemble des chevaux comtois à la robe blonde et aux crins argentés portent une robe bai silver. Pourtant, cette évidence n'allait pas de soi avant l'avènement des tests ADN. Les travaux plus anciens distinguaient en effet deux types de robes : le bai silver et l'alezan crins lavés. Cependant, le génotypage du locus

Z a depuis démontré que tous les individus décrits comme alezan crins lavés étaient en réalité des bai silver.

Les chevaux bai silver présentent une très grande variabilité de nuances, due peut-être partiellement à l'intervention des gènes *Agouti* et *Extension* sur le gène *PMEL17*. On note tout de même une très grande variation interindividuelle de l'expression du gène *PMEL17* peu importe le génotype, ainsi le fait qu'un cheval homozygote muté (ZZ) est plus clair qu'un hétérozygote n'est pas systématique. Ces variations illustrent donc la complexité génétique de ce cas et expliquent pourquoi certaines robes sont difficiles à classer correctement et peuvent nécessiter un test génétique (Figure 14) (CAILLIER, 2001; Depecker et al., 2013).



Figure 14 : Photographies de deux Comtois bais homozygotes pour la mutation *Silver*, d'après (Depecker et al., 2013; WEIGEL, 2019)

Leur dilution n'est pas équivalente, le cheval de droite paraît bien plus clair, surtout au niveau des membres d'où la confusion avec un alezan flaxen

Les études menées sur les robes des comtois révèlent des résultats statistiques intéressants mais parfois contradictoires. L'étude de Caillier (2001) a montré que 90% des chevaux comtois étaient classés comme « alezan comtois », mais cette catégorie regroupait les chevaux bai silver et alezans flaxen. Cela suggère une confusion entre les bai silver et les véritables alezans. Dans cette étude, 16% des comtois auraient été véritablement alezans avec la modification flaxen, tandis que 74% étaient bai silver.

Une étude plus récente de Depecker et al. (2013) a proposé une analyse différente : 78% des comtois analysés étaient bai silver et seulement 1% était alezan génétiquement et porteurs de l'allèle *Silver*.

Ces résultats montrent des divergences dans la classification des robes comtoises. L'étude de Caillier semble surestimer la proportion d'alezans en raison d'une confusion entre bais Silver et alezans. En revanche, l'étude de Depecker est plus précise, par l'ajout de données génétiques pour confirmer la domination des bai silver. Cette étude met en évidence la nécessité de combiner observations phénotypiques et test génétiques, pour éviter des erreurs de classifications (CAILLIER, 2001; Depecker et al., 2013).

Ainsi bien que les bai silver soient la forme dominante de l'alezan comtois, la complexité génétique des robes et la difficulté de distinguer les différentes variations phénotypiques, rendent indispensables l'usage de l'outil génétique pour une identification fiable et une gestion précise des reproducteurs de la race.

b. Le bai

Les études de Caillier (2001) et Depecker (2013) offrent des perspectives complémentaires sur la proportion des chevaux bai sans dilution, c'est-à-dire homozygote sauvage pour le gène Silver. Selon Caillier seulement 3% des chevaux étudiés sont bai. D'un autre côté, l'étude plus récente de Depecker indique une proportion significativement plus élevée, avec 14% des chevaux bai non-silver avec des crins noirs. Cette différence pourrait s'expliquer par l'échantillonnage ou bien encore par des évolutions dans les pratiques d'élevages entre les deux périodes d'études (CAILLIER, 2001; Depecker et al., 2013).

La persistance de ces chevaux bai non-silver malgré la sélection et bien qu'ils soient minoritaires, s'explique par la génétique mendélienne (Figure15). Lorsque deux Comtois bai silver hétérozygotes (Zz) se croisent, ils peuvent produire un poulain bai sans dilution silver dans 25% des cas.

Ces résultats illustrent comme la gestion génétique contribue à maintenir une certaine diversité dans les robes de la race, bien que la sélection privilégie généralement les robes diluées « alezan comtois ». Cela souligne également l'importance des stratégies d'élevage pour éviter une homogénéisation excessive des caractéristiques génétiques raciales.



Figure 15 : A gauche un comtois silver, une robe bai et des crins dilués, à droite un comtois homozygote sauvage, non silver, avec une robe bai et des crins noirs ; d'après (Depecker et al., 2013)

c. Les couleurs minoritaires : le noir et l'alezan

La robe noir silver est rare et non désirée dans le standard de la race comtoise. Selon l'étude de Caillier (2001), cette robe représentait environ 3% des chevaux étudiés, dont certains montraient des pommelures caractéristiques. Ces chevaux étaient porteurs d'au moins un allèle *Silver* muté, donnant aux crins leur couleur argentée caractéristique et une robe couleur chocolat.

Dans l'étude de Depecker (2013), 7% des chevaux sont génétiquement noirs avec la dilution silver. Les chevaux noirs non dilués, quant à eux, restent extrêmement rares.

Malgré une prévalence légèrement différente dans les deux études, les chevaux noirs, dilués ou non, restent marginaux dans la population comtoise. Cela s'explique par leur faible valorisation par les standards esthétiques de la race (CAILLIER, 2001; Depecker et al., 2013).

Les robes alezanes véritables sont extrêmement rares chez le Comtois et leur identification est souvent délicate. Selon l'étude de Caillier (2001), parmi les Comtois observés, seulement 4% étaient de véritables alezans, tandis que 16% étaient des chevaux alezans flaxens avec les crins blonds. On sait désormais que cette diagnose reposant sur le phénotype est incorrecte, les alezan flaxen étant en fait des bais silver. L'analyse plus récente de Depecker (2013) a révélé que seulement 1% des comtois étudiés était génétiquement alezans avec des crins fauves. Aucun cheval alezan flaxen n'a été décrit dans cette étude. On peut donc douter de leur existence réelle dans la race Comtois.

La génétique a donc permis de faire la différence dans le phénotype « alezan comtois », entre bai silver et véritable alezan flaxen. A ce jour, on considère donc que les chevaux alezans dilués ou non sont extrêmement minoritaires dans le cheptel comtois. Il convient aussi de mentionner que les chevaux alezans étaient souvent pénalisés lors des concours, de même s'ils présentaient un ventre de biche (pangaré), ce qui était perçu négativement selon le stud-book de la race (CAILLIER, 2001).

d. Synthèse des études Caillier (2001) et Depecker (2013)

Couleur de la robe	Couleur des crins	Étude phénotypique	Étude génétique
		% <u>Caillier</u> (2001)	% <u>Depecker</u> (2013)
ROBE NOIRE			
Noire pommelée	Décolorés (silver)	3	7
ROBE BAIE			
Jaune à rouge sombre	Décolorés (silver)	74	78
Rouge à rouge sombre	Noirs	3	14
ROBE ALEZANE			
Jaune à rouge	Décolorés (<u>flaxen</u>)	16	0
Rouge à rouge claire	De même couleur que la robe	4	1

Tableau II : Comparaison des fréquences des robes chez le Comtois, tirés des études de Caillier et Depecker (CAILLIER, 2001; Depecker et al., 2013)

e. État des lieux actuel chez le Comtois

Les premières descriptions des robes des Comtois remontent au XVII^e siècle, où les inspecteurs ont rapporté que 90% des étalons étaient de robe baie avec quelques rares noirs et alezans. Au début du XIX^e siècle, la robe rouanne prédominait. Les croisements avec le Trait Breton et le Percheron ont ensuite apporté de nouvelles robes telles que le rouan et le gris. Au XX^e siècle, le standard de robe souhaité comprenait le bai, le noir et le rouan. En 1919, le standard a été modifié pour sélectionner le bai, suivi de l'alezan, du rouan et de l'aubère. Le croisement avec l'Ardennais a continué de sélectionner le bai. En 1943, avec l'utilisation de l'étalon *QUESTER*, la robe bai silver est devenue populaire, évoluant pour devenir le standard actuel : alezane foncé à cuivré avec les crins lavés argentés. Le bai reste rare mais accepté par le stud-book (CAILLIER, 2001).

L'association Nationale du Cheval de Trait Comtois (ANCTC) réalise un dépistage annuel des étalons, notamment au concours de Maiche, pour détecter la présence du gène *PMEL17*. Selon cette enquête réalisée entre 2018 et 2022, tous les étalons autres que bai portaient au moins un allèle *Silver*. En 2018, 4% des étalons étaient bais sans dilution de la crinière et 70% des étalons testés étaient hétérozygotes pour le gène *PMEL17*. La prévalence de la mutation *Silver* reste élevée chez le Comtois, bien qu'une légère baisse des chevaux homozygotes soit notée. Cette prévalence est principalement explicable par la sélection de la robe caractéristique « alezan comtois » (LAFITTE, 2023).

Année	Nombre d'étalons	Homozygotes sauvage (bai)		Hétérozygotes		Homozygotes mutés (silver)	
2018	66	3	4%	46	70%	17	26%
2019	73	8	11%	42	57%	23	32%
2020	96	7	7%	50	52%	39	41%
2021	110	11	10%	65	59%	34	31%
2022	104	9	9%	67	64%	28	27%

Tableau III : Résultat du dépistage annuel de l'ANCTC chez les étalons Comtois pour la mutation Silver entre 2018 et 2022, d'après (LAFITTE, 2023)

III. Anatomie de l'œil, fonction et aspect histologique

La vision fait partie des 5 sens et est une part fondamentale de la survie d'une espèce. Le cheval, en tant que proie, ne fait pas exception. Cette vision est aussi nécessaire pour une bonne utilisation du cheval par l'homme, aussi bien pour le travail d'attelage et les travaux utilitaires, que pour la performance sportive.

Chez le cheval, les yeux sont positionnés latéralement, ce qui leur offre un angle de vision panoramique d'environ 350°. Chaque œil couvrant un angle de 146°, la vision biloculaire, en face du cheval couvre de 65 à 80° (Figure 16). La vision horizontale est estimée à 180° et permet au cheval d'analyser son environnement tout en mangeant la tête au sol. On notera que la forme des pupilles, larges et plates, offre une entrée facilitée de la lumière, ce qui permet une meilleure vision en faible luminosité (Murphy, 2010).

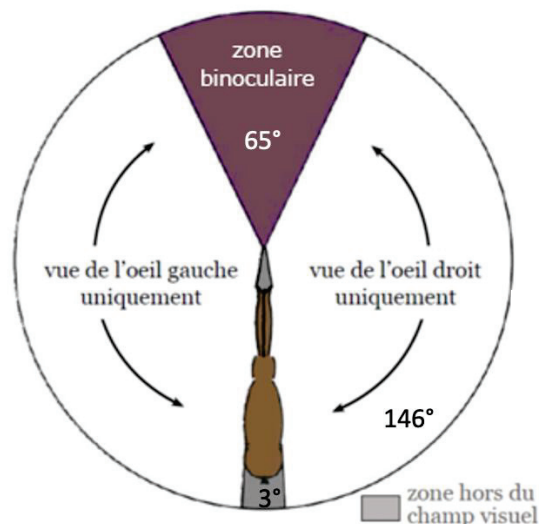


Figure 16 : Angle de vision du cheval modifié d'après l'IFCE

1. Anatomie générale et orientation

Le globe oculaire est un organe cavitaire. Protégé par des annexes, il est composé de trois tuniques concentriques.

De l'extérieur vers l'intérieur, on trouve :

- La *tunica fibrosa bulbi* : couche externe fibreuse composée de la sclère, segment postérieur opaque, et de la cornée, portion antérieure transparente. Rôle de protection et de maintien du globe oculaire.

- La *tunica vasculosa bulbi* ou « uvée » : composée de la choroïde, des corps ciliaires et de l'iris. Rôle nutritif et évacuation des déchets grâce à la vascularisation. Rôle dans la modification de l'intensité lumineuse.
- La *tunica interna bulbi* : couche nerveuse composée de la rétine, partie visuelle, et du nerf optique, partie aveugle. Rôle de transmission de l'information visuelle au cerveau.

Ces différentes couches concentriques enferment les différents milieux internes de l'œil, transparents et réfringents. Ils permettent le passage de la lumière jusqu'à la rétine et gardent une pression oculaire nécessaire à l'intégrité de l'œil :

- L'humeur aqueuse du segment antérieur ; divisée en chambres antérieure et postérieure de part et d'autre de l'iris et communiquant par la pupille.
- Le corps vitré du segment postérieur
- Le cristallin, entre ces deux segments, est une lentille biconvexe (BANKS, 1993; BARONE, 2010; Liebich, 2019).

L'ensemble de ces structures est synthétisé dans la figure 17 suivante :

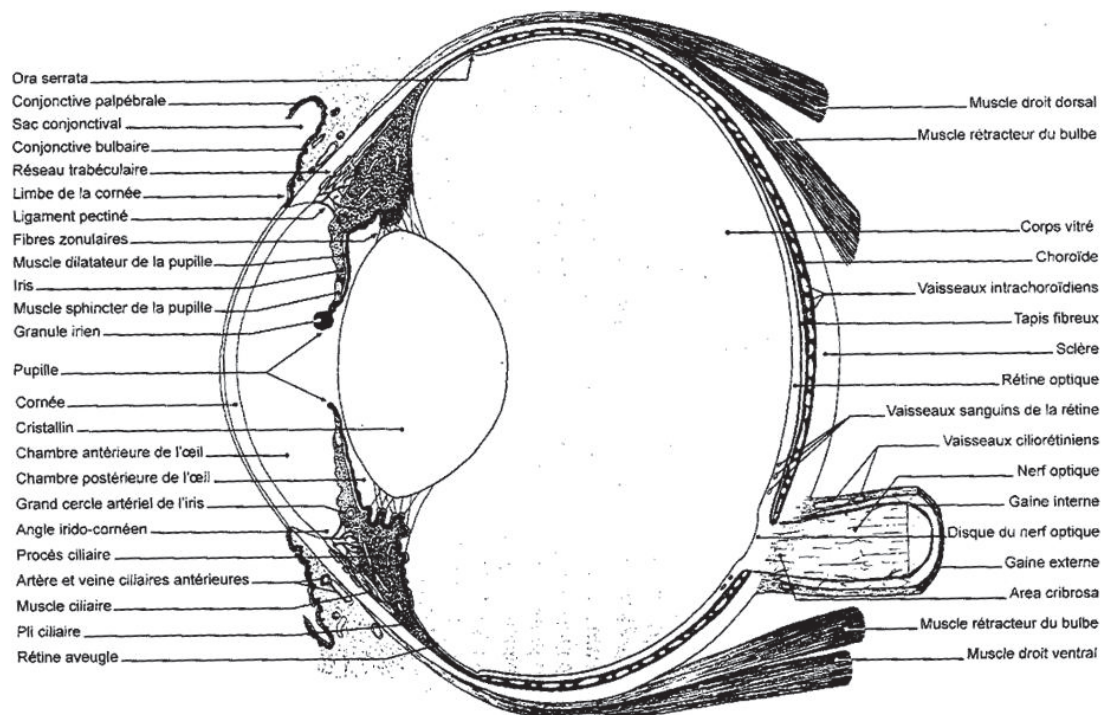


Figure 17 : Schéma d'une coupe longitudinale d'un œil de cheval, d'après (BARONE, 2010)

Pour la suite du projet, il est nécessaire de définir une orientation claire du globe oculaire.

La forme de l'œil est sphérique, de cette façon on identifie trois axes de coupes : antéro-postérieur, horizontal et vertical. Chacun forme des quartiers de dimensions semblables. On note toutefois, un léger aplatissement antéro-postérieur ; le nerf optique se situe en position médio-ventrale. La membrane nictitante se trouve en position médiale (BARONE, 2010).

On délimite de cette façon les pôles dorsal, ventral, nasal (médial) et temporal (latéral) (Figure 18).

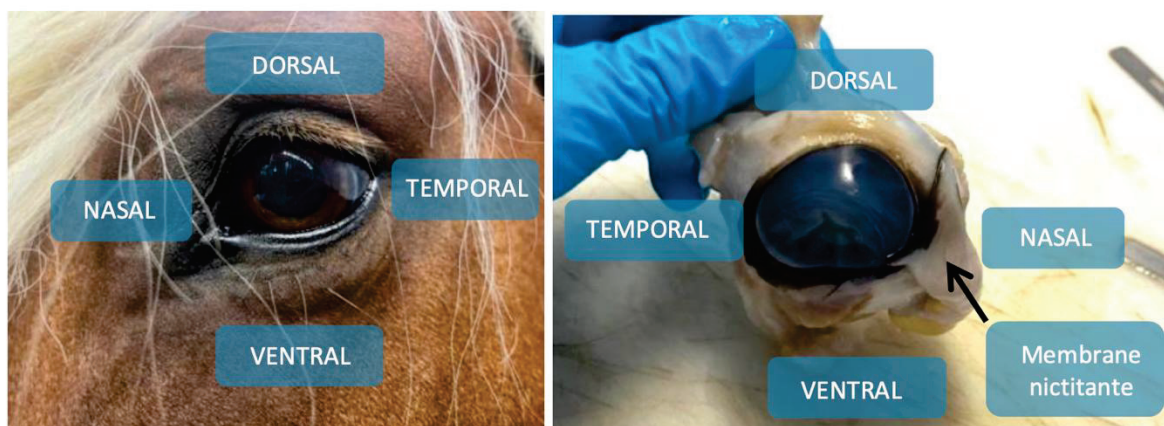


Figure 18 : Orientation de l'œil (J. Lafitte, 2023)

Position des pôles dorsal, ventral, nasal, temporal et de la membrane nictitante sur un cheval Comtois et sur un œil énuclée.

2. La tunica fibrosa bulbi

Le maintien de la forme sphéroïde de l'œil est assuré par la couche sclérocornéenne qui forme une capsule fibrinoélastique résistante autour du globe oculaire. Principalement composée de collagène, la couche externe protège et résiste aux forces internes et externes. La tunica fibrosa bulbi comprend la sclère, opaque, qui couvre les 5/6 postérieurs de l'œil, et la cornée, portion antérieure transparente. Ces deux éléments, aux propriétés optiques très différentes, se rejoignent à la jonction cornéo-sclérale : le limbe (BARONE, 2010).

a. La cornée

La cornée représente la partie antérieure, avasculaire et transparente de la tunique fibreuse de l'œil. Elle est incluse dans la sclère au niveau du limbe de la cornée : zone annulaire de transition. Résistante et transparente, la cornée protège l'œil des agressions extérieures et transmet aussi la lumière grâce à la face antérieure, convexe, et la face postérieure, concave. Cette conformation permet la réfraction de la lumière : 2/3 du pouvoir réfractif de l'œil proviennent de la cornée (LAUNOIS, 2019).

La nutrition et le nettoyage de cette couche sont naturellement permis par le film lacrymal précornéen, sur la face antérieure, et l'humeur aqueuse dans la chambre antérieure. La cornée étant avasculaire, le transport de nutriments par les deux faces, se fait par imbibition et par les capillaires limbiques.

La cornée est très sensible grâce à une riche innervation et notamment des nocicepteurs.

On délimite 5 couches dans la cornée : l'épithélium antérieur, la lame limitante antérieure (absente chez le cheval), le stroma, la lame limitante postérieure et l'épithélium postérieur (Figure 19,20) (BARONE, 2010; Liebich, 2019).

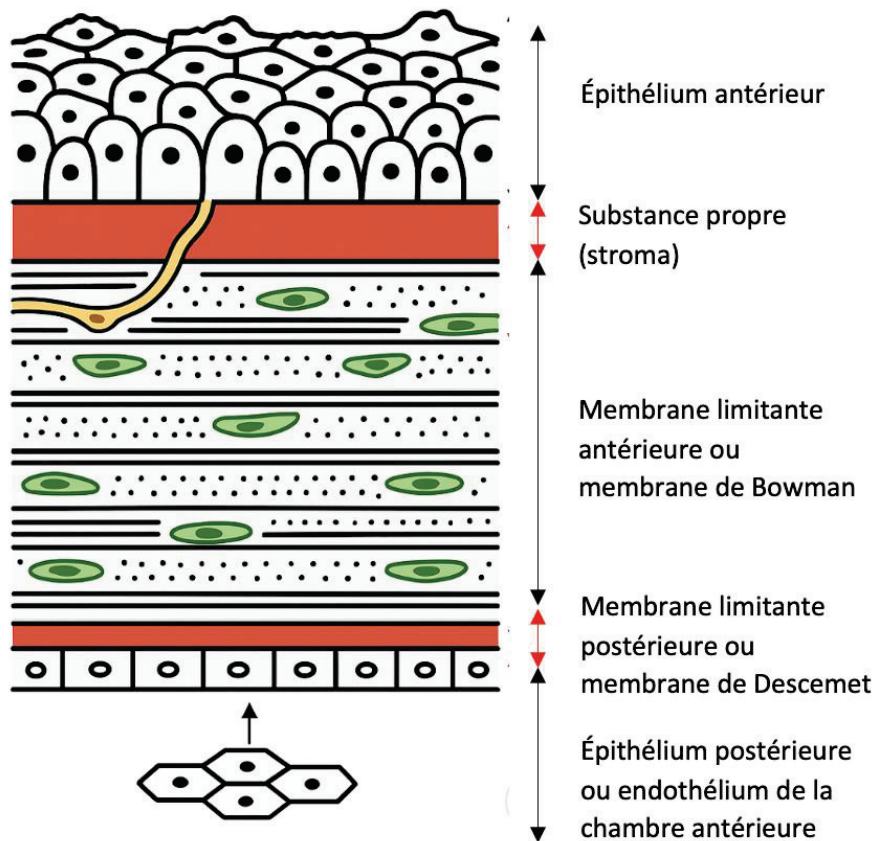


Figure 19 : Schéma de la structure histologique de la cornée, redessiné d'après (LAUNOIS, 2019)

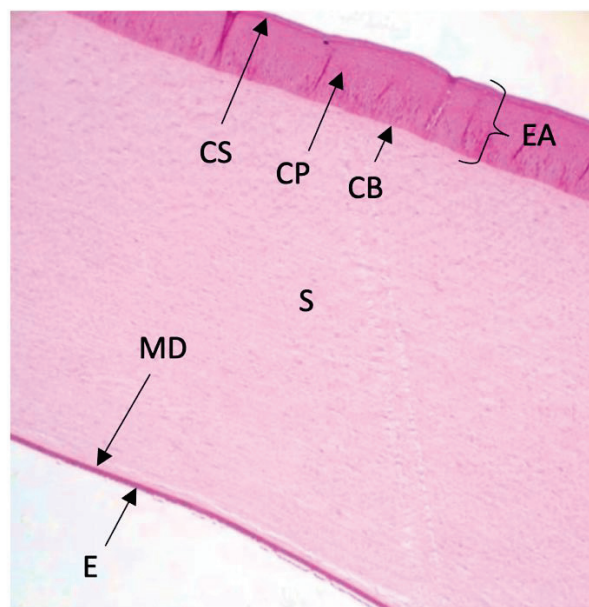


Figure 20 : Coupe histologique de cornée d'après (LAFITTE, 2023)

EA : Épithélium antérieur, S : stroma, MD : Membrane de Descemet, E : endothélium, CB : cellules basales, CP : cellules pavimenteuses et CS : cellules squameuses

i. L'épithélium antérieur

L'épithélium cornéen est non kératinisé et pluristratifié (Figure 21). Il est composé de 8 à 12 couches de cellules chez le cheval ; soit 117 à 141µm d'épaisseur et proportionnellement 10% de l'épaisseur de la cornée. La surface est irrégulière et présente de microplis, ils permettent de retenir le film lacrymal sur la cornée.

Les cellules de l'épithélium sont organisées en 3 épaisseurs pour renouveler les cellules les plus superficielles qui desquament.

L'assise superficielle, cellules aplaties qui sont éliminées par desquamation avec le film lacrymal.

L'assise intermédiaire : « wing cells », ce sont des cellules de transition.

L'assise basale, cellules monostratifiées, reposant sur la lame limitante antérieure. Seules ces cellules ont une activité mitotique qui permet le renouvellement et la cicatrisation.

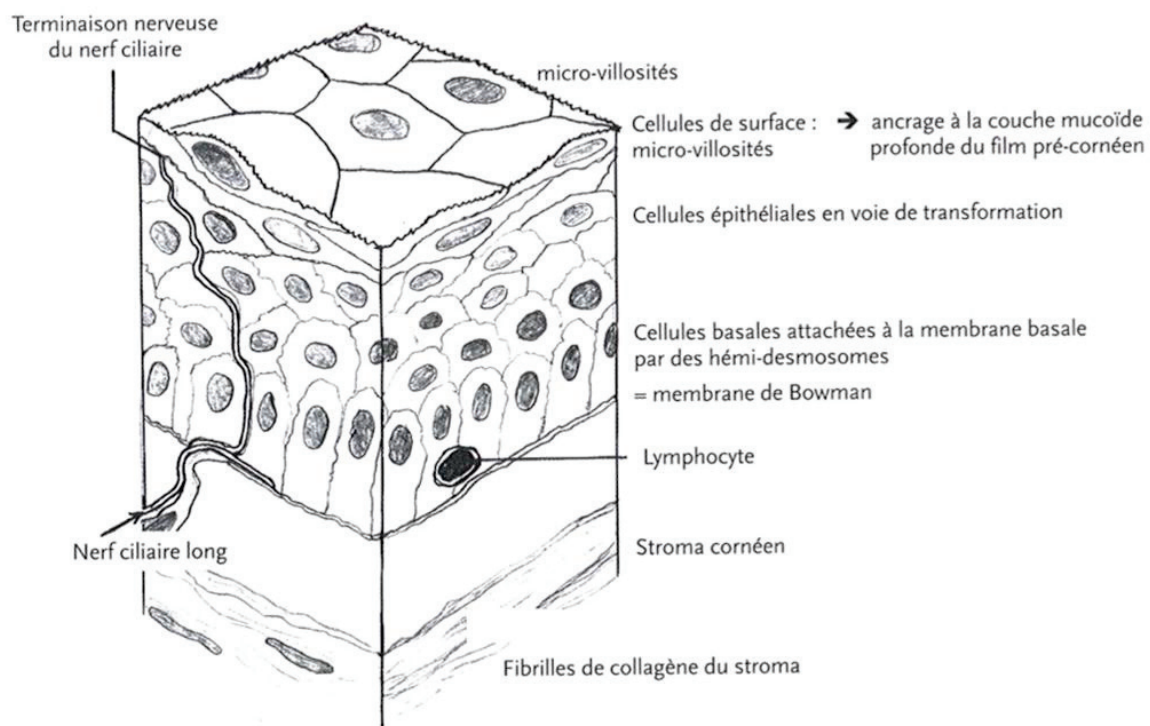


Figure 21 : Schéma histologique des couches superficielles de la cornée chez le cheval, d'après (LAUNOIS, 2019)

L'épithélium antérieur joue donc un rôle majeur dans la barrière de l'œil. Il est aussi nécessaire à la régulation de l'hydratation et la transparence de la cornée (BANKS, 1993; LAUNOIS, 2019).

ii. Le stroma

La substance propre ou stroma représente 90% de l'épaisseur totale de la cornée. Elle est composée de faisceaux de fibres de collagène enchevêtrées et immergées dans une substance riche en mucopolysaccharides qui assure la cohésion de la cornée, toutes deux formées par quelques rares kératocytes.

Les fibrilles de collagène sont disposées parallèlement entre elles, elles sont organisées en différentes lamelles dont l'orientation varie beaucoup mais dont l'organisation très précise permet la transparence de la cornée.

La transparence de la cornée dépend aussi de la bonne hydratation du stroma. L'eau circule grâce aux épithéliums antérieur et postérieur et est piégée dans les fibres de collagène. L'hydratation de la cornée doit être comprise entre 75 et 85% (BARONE, 2010; LAUNOIS, 2019).

iii. La lame limitante postérieure

C'est la membrane basale de l'épithélium postérieur. Également appelée membrane de Descemet, acellulaire, elle est composée de microfilaments de collagène condensés en réseau hexagonal. Cette membrane contient du collagène de type VIII, ce qui est inhabituel pour une membrane basale. Ces fibres sont néanmoins capables d'étirement, ce qui donne une grande élasticité à la structure (BARONE, 2010; LAUNOIS, 2019; Liebich, 2019).

iv. L'épithélium postérieur

L'endothélium est une simple couche de cellules hexagonales squameuses. Ces cellules assurent la régulation de l'hydratation du stroma et permettent la déturgescence grâce à un métabolisme intense. L'eau du stroma est évacuée par l'intermédiaire de pompes Na⁺/K⁺ ATPase dépendante, permettant de maintenir l'hydratation physiologique du stroma à 78%. Leur dysfonctionnement provoque une désorganisation des lamelles stromales et donc une perte de transparence (œdème de cornée). Cette couche produit également les protéines nécessaires à la formation de la lame limitante postérieure (LAUNOIS, 2019; Liebich, 2019).

b. La sclère

La sclère est une enveloppe fibreuse qui est en continuité avec la gaine externe du nerf optique et la dure-mère. Elle représente le blanc de l'œil. La sclère est composée de trois couches distinctes (BANKS, 1993) : de l'extérieur vers l'intérieur :

- L'épiscière, constituée de tissu conjonctif lâche et richement vascularisé, elle permet un contact spongieux avec l'orbite ce qui permet la mobilité du globe.
- La substance propre, tissu fibreux très dense, elle donne sa couleur blanche à la sclère. Très solide, elle permet de résister à la pression et la traction musculaire (Liebich, 2019).
- La lamina fusca, riche en fibres élastiques, cette couche est adhérente à la choroïde.

Chez le cheval, la sclère est dépourvue de tout mélanocyte (BARONE, 2010).

Par sa composition riche en fibres de collagène, la sclère, très résistante, permet de protéger le globe contre les chocs et maintient sa forme et sa taille. Cela peut être délétère en cas d'augmentation du volume intraorbitaire, des lésions apparaissent alors secondairement à l'augmentation de pression intraorbitaire (BARONE, 2010; LAUNOIS, 2019).

c. Le limbe

Le limbe représente la jonction entre la cornée et la sclère : zone annulaire de transition entre la sclère opaque et la cornée transparente. La sclère passe au-dessus de la cornée et l'épithélium cornéen se modifie en épithélium conjonctival bulbaire. Les vaisseaux scléraux se terminent ici, le limbe contient les seuls vaisseaux sanguins qui alimentent la cornée. On trouve aussi l'angle de drainage de l'humeur aqueuse permettant son retour à la circulation générale (BANKS, 1993; Liebich, 2019).

3. La tunica vasculosa bulbi ou « uvée »

L'uvée est la tunique pigmentée et vascularisée de l'œil (rôle nutritif), elle constitue le prolongement de la gaine interne du nerf optique avec la pie-mère. Située entre la sclère et la rétine, on l'appelle aussi tunique moyenne.

La *tunica vasculosa bulbi* est divisée en deux parties, soit trois éléments (BARONE, 2010; LAUNOIS, 2019) :

- La partie antérieure qui comprend l'iris et les corps ciliaires
- La partie postérieure ou choroïde

a. L'iris

L'iris est la partie la plus rostrale de l'uvée ; il divise l'œil en chambres antérieure et postérieure communiquant par la pupille. Il provient des corps ciliaires et forme un diaphragme devant le cristallin.

Largement visible à travers la cornée, il correspond macroscopiquement à la partie colorée de l'œil. Réglé comme un obturateur, l'iris module la taille de sa pupille, ovoïde chez le cheval, et maintient la bonne quantité de lumière arrivant sur la rétine (Figure 22) (BARONE, 2010; LAUNOIS, 2019).

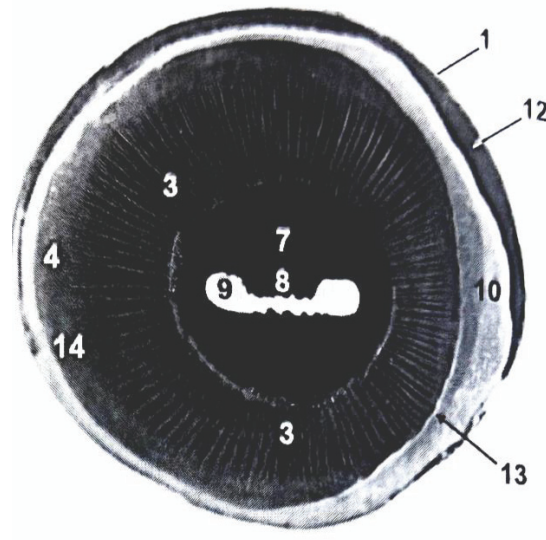


Figure 22 : Pupille ovoïde de cheval après section équatoriale du globe (partie antérieure), d'après (BARONE, 2010)

1 : Sclère ; 3 : Couronne et procès ciliaires ; 4 : Anneau ciliaire ; 7 : Face postérieure de l'iris ; 8 : Granules iriens ; 9 : Pupille ; 10 : Rétine optique ; 12 : Épithélium pigmentaire de la rétine ; 13 : Ora serrata ; 14 : Rétine aveugle

L'iris est divisé en deux bords et deux faces (Figure 23) (BANKS, 1993; BARONE, 2010; LAUNOIS, 2019; Liebich, 2019) :

- Le bord ciliaire en périphérie, s'insère sur la base des corps ciliaires et est attaché par le ligament pectiné
- Le bord pupillaire qui circonscrit la pupille
- La face antérieure de l'iris, finement plissée, elle est composée de tissu conjonctif, fibroblastes et mélanocytes. En dessous on trouve le stroma de l'iris, très vascularisé, il contient le muscle sphincter de l'iris, d'innervation parasympathique, orienté de façon circulaire.
- La face postérieure de l'iris est composée de deux assises : la partie antérieure ou externe, provient de l'épithélium pigmenté des corps ciliaires et l'assise postérieure ou interne, pigmentée en continuité avec l'épithélium ciliaire postérieur non-pigmenté. Elles constituent le muscle dilatateur de l'iris, d'innervation sympathique et forment la *pars iridica retinae* : prolongement de la rétine aveugle sur l'iris.

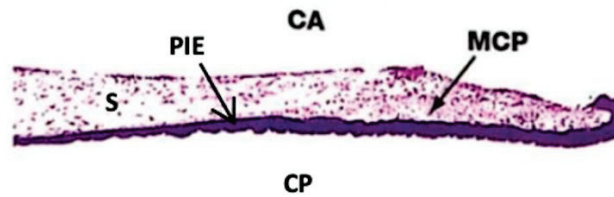


Figure 23 : Coupe histologique d'iris d'après (Wheater, 2015)

CA : Chambre Antérieure, CP : Chambre Postérieure, MCP : Muscle Constrictor ou Sphincter de la pupille, PIE : Épithélium Postérieure de l'Iris, S : Stroma

La couleur des yeux dépend, chez le cheval, de la concentration en mélanocytes dans le stroma irien. Ainsi un iris bleu correspond à la rare présence de mélanine, laissant ainsi apparaître la couleur de la face postérieure : la *pars iridica retinae*.

On note que le cheval présente des grains iriens, c'est une particularité spécifique des ongulés (Figure 24). Les *granula iridica* sont de petites masses noires et visibles macroscopiquement sur les bords de la pupille. Ce sont des extensions kystiques de l'épithélium postérieur richement vascularisées. Leur taille et le nombre sont variables mais pourraient permettre une identification individuelle propre. On note que ceux présents sur le bord supérieur sont généralement plus grands que ceux du bord inférieur.

Les fonctions plausibles des grains iriens sont une production d'humeur aqueuse accessoire et une protection contre l'éblouissement comme un « pare-soleil », limitant l'arrivée d'une lumière trop vive sur la rétine (BANKS, 1993; BARONE, 2010).

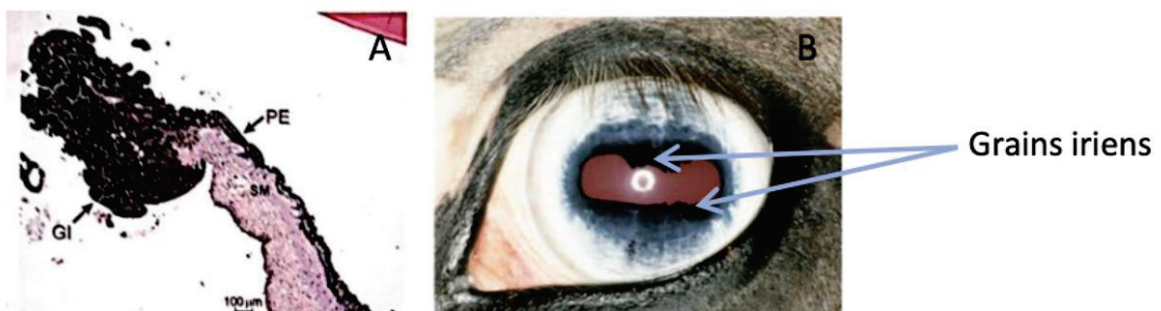


Figure 24 : Grains iriens d'après ((A) Dellmann, 1998 ; (B) Murphy, 2010)

A : Microphotographie

B : Photographie d'un œil avec des grains irien, GI : Grain Irien, PE : Épithélium Postérieur, SM : Muscle Sphincter

b. Le corps ciliaire

Le corps ciliaire, du fait de sa musculature, est le moteur de l'accommodation (restreinte chez le cheval) et est l'organe sécréteur de l'humeur aqueuse grâce à son épithélium richement vascularisé. Le corps ciliaire produit l'humeur aqueuse par sécrétion active et ultrafiltration du plasma circulant dans cet organe (Figure 25, 26) (LAUNOIS, 2019).

C'est la partie de l'uvée, annulaire, située entre l'iris avec l'angle irido-cornéen et l'*ora ciliaris-retinae* : transition entre la rétine optique et non photosensible, sous le limbe. Le corps ciliaire est donc composé d'un côté de la choroïde et de l'autre de la rétine.

Il est divisé en deux portions (BARONE, 2010) :

- La portion antérieure : *pars plicata*, partie plissée qui forme les procès ciliaires.
- La portion postérieure : *pars plana*.

La face interne du corps ciliaire est composée d'une double couche d'épithélium cubique : une couche interne non pigmentée et une couche externe pigmentée. La couche la plus profonde, très riche en mélanine, est un prolongement de l'épithélium rétinien et de la couche la plus superficielle de l'iris postérieur. La couche non pigmentée, superficielle, est le prolongement de la rétine non photosensible (LAUNOIS, 2019; Liebich, 2019).

Chez le cheval, le corps ciliaire est plus étroit en région nasale que temporale car l'anneau ciliaire est très mince voire absent dans cette région.

On trouve sur les procès ciliaires, les fibres zonulaires qui forment le ligament suspenseur du cristallin et modulent la forme de celui-ci (BARONE, 2010).

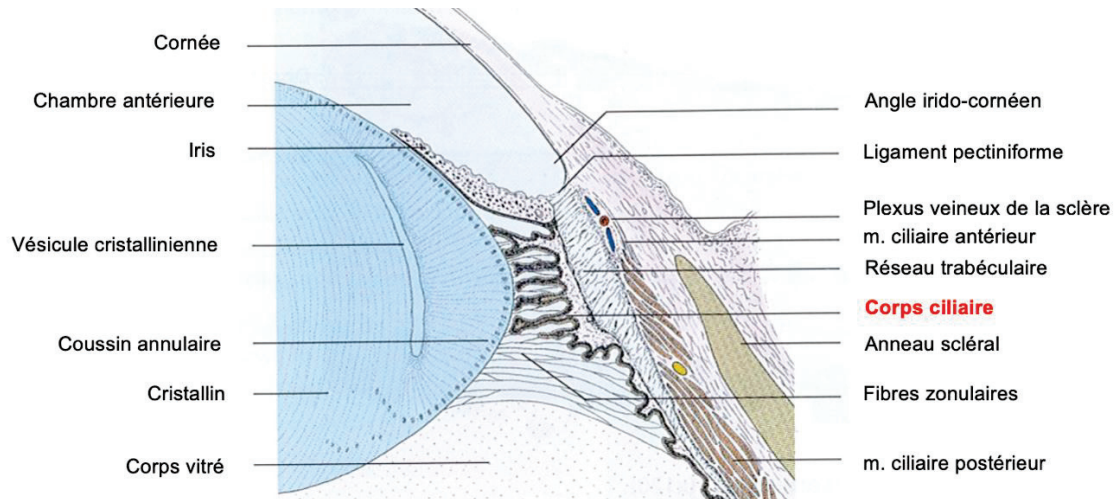


Figure 25 : Schématisation des corps ciliaires modifié d'après (Liebich, 2019)

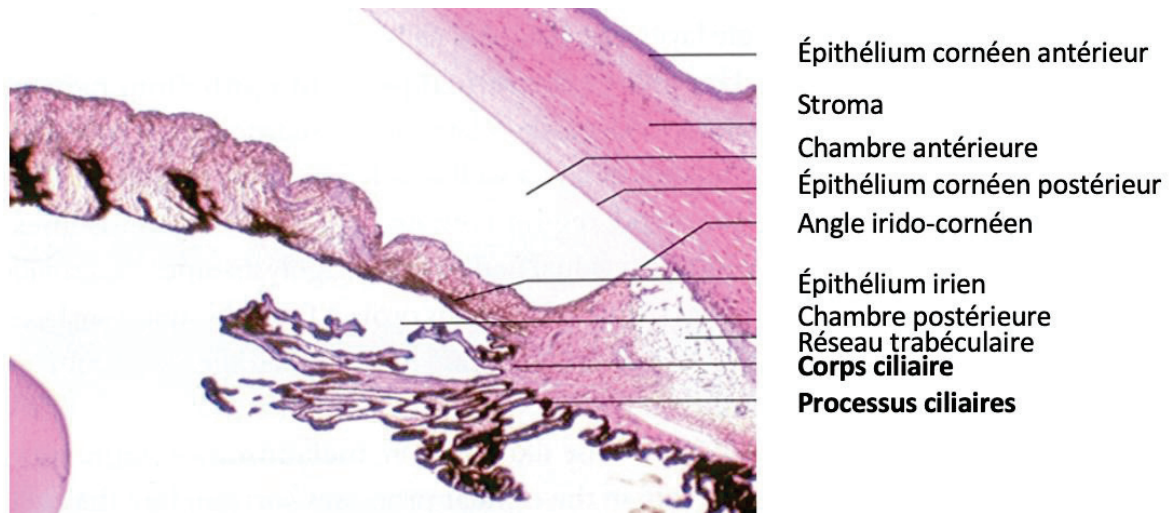


Figure 26 : Coupe histologique des corps ciliaires modifié d'après (Liebich, 2019)

L'humeur aqueuse produite par le corps ciliaire remplit donc les chambres antérieure et postérieure en circulant au travers de la pupille. C'est un milieu nutritif pour la cornée et le cristallin, non-vascularisés. Elle permet aussi la bonne diffusion de la lumière tout en maintenant la forme de la cornée par la pression qu'elle exerce sur sa surface (BARONE, 2010; Liebich, 2019).

c. La choroïde

La choroïde se situe en face postérieure de l'œil, entre la sclère et la rétine. Elle s'étend du corps ciliaire, avec l'*ora ciliaris-retinae*, jusqu'au nerf optique.(BARONE, 2010)

La choroïde, riche en mélanocytes et donc en pigment brun sombre, est un écran contre la lumière. Elle contient de plus de nombreux nerfs et vaisseaux, lui conférant sa propriété nourricière pour la rétine (LAUNOIS, 2019).

Elle est constituée de 5 couches distinctes, de l'extérieur vers l'intérieur (BARONE, 2010; LAUNOIS, 2019; Liebich, 2019) :

- La lame suprachoroïdienne, tissu conjonctif lâche lié à la sclère. Elle est riche en cellules pigmentaires.
- La lame vasculaire, couche la plus épaisse, est composée de tissu conjonctif semblable à la lame suprachoroïdienne et traversée de nombreux gros vaisseaux, particulièrement des veines chez le cheval.
- Le *tapetum lucidum*, couche réfléchissante de la lumière. C'est un tissu fibreux à l'arrangement particulier qui décompose la lumière et donne un aspect brillant, bleu-vert. La rétine étant non-pigmentée, la propriété miroir du *tapetum lucidum* permet de passer deux fois les photorécepteurs. Ceci permet de recevoir une plus forte stimulation lumineuse : vision scotopique (BANKS, 1993).
- La lame chorio-capillaire assure la nutrition des assises rétinienne externes grâce à son riche réseau de capillaires fenêtrés.
- Le complexe basal, tissu fibro-élastique, il unit la lame chorio-capillaire à l'épithélium pigmentaire de la rétine (EPR).

4. La tunica interna bulbi

La rétine est la partie sensorielle de l'œil : elle capte les images optiques. Elle tapisse le fond du globe oculaire et baigne dans le corps vitré. Elle se poursuit par les fibres du nerf optique jusqu'à dans l'encéphale.

La rétine comprend deux parties : l'antérieure, *pars caeca retinae*, et la postérieure, *pars optica retinae* (BARONE, 2010).

a. La rétine : partie visuelle

La rétine photosensible est la couche la plus interne du fond de l'œil (Figure 27).

On distingue dans le fond d'œil une zone en elliptique (chez le cheval), blanchâtre et en légère dépression, c'est le disque du nerf optique d'où partent les vaisseaux rétinien. Cette zone est aussi appelée « tâche aveugle ». La macula correspond à la zone d'acuité maximale grâce à une forte concentration en cônes et cellules ganglionnaires (BARONE, 2010; LAUNOIS, 2019).

Cette couche nerveuse demande une forte activité métabolique et donc une forte demande de nutriments apportés par le réseau vasculaire des différentes annexes (LAUNOIS, 2019).

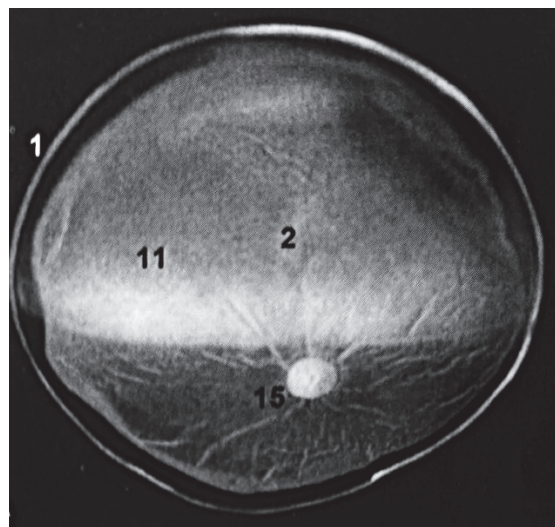


Figure 27 : Fond d'œil de cheval après section équatoriale du globe (partie antérieure), d'après (BARONE, 2010)

1 : sclère ; 2 : Tapis clair (visible à travers l'épithélium pigmentaire de la rétine) ; 11 : Couche nerveuse de la rétine optique ; 15 : nerf optique

La rétine optique est composée de deux couches qui adhèrent uniquement au niveau du disque optique et de l'*ora serrata*. La couche externe est plus mince et richement pigmentée. Avec la rétine aveugle et les autres mélanocytes, elle forme la chambre noire de l'œil. Elle empêche la réflexion de la lumière incidente en absorbant les rayons. Cela augmente la netteté en évitant la restimulation des photorécepteurs. La couche interne est très épaisse et parfaitement transparente. C'est la couche nerveuse qui contient 3 types de cellules nerveuses : les photorécepteurs (cônes et bâtonnets), les cellules bipolaires et ganglionnaires. Les neurones transmettent ensuite

l'information des photorécepteurs jusqu'au cortex cérébral en passant par le nerf optique (BARONE, 2010; LAUNOIS, 2019; Liebich, 2019).

La structure histologique de la rétine visuelle s'organise en 10 couches, de la plus externe la plus interne en contact avec l'humeur vitrée (Figure 28, 29) (BARONE, 2010) :

- L'épithélium pigmentaire, simple, il est uni au complexe basal de la choroïde
- La couche des cônes et bâtonnets. Les bâtonnets sont plus nombreux que les cônes qui sont sensibles à la couleur.
- La couche limitante externe, jonction formée par le prolongement des photorécepteurs par des cellules de Müller. C'est une structure très mince parfois qualifiée à tort de membrane.
- La couche granulaire externe, formée des corps cellulaires des photorécepteurs.
- La couche plexiforme externe, couche complexe constituée d'axones des photorécepteurs formant des synapses avec les cellules bipolaires et horizontales.
- La couche granulaire interne contient les différents corps cellulaires de cellules de Müller, d'association (amacrines), bipolaires et horizontales.
- La couche plexiforme interne, couche dense de ramifications des axones, elle contient les connexions synaptiques entre cellules ganglionnaires et bipolaires.
- La couche ganglionnaire contient les corps cellulaires des neurones multipolaires. Leurs axones forment ensuite le nerf optique.
- La couche des fibres optiques formée des axones des cellules ganglionnaires, dépourvus de myéline. Ils convergent jusqu'au disque optique.
- La couche limitante interne, fine membrane basale en contact avec le corps vitré. Elle contient les extrémités des cellules de Müller.

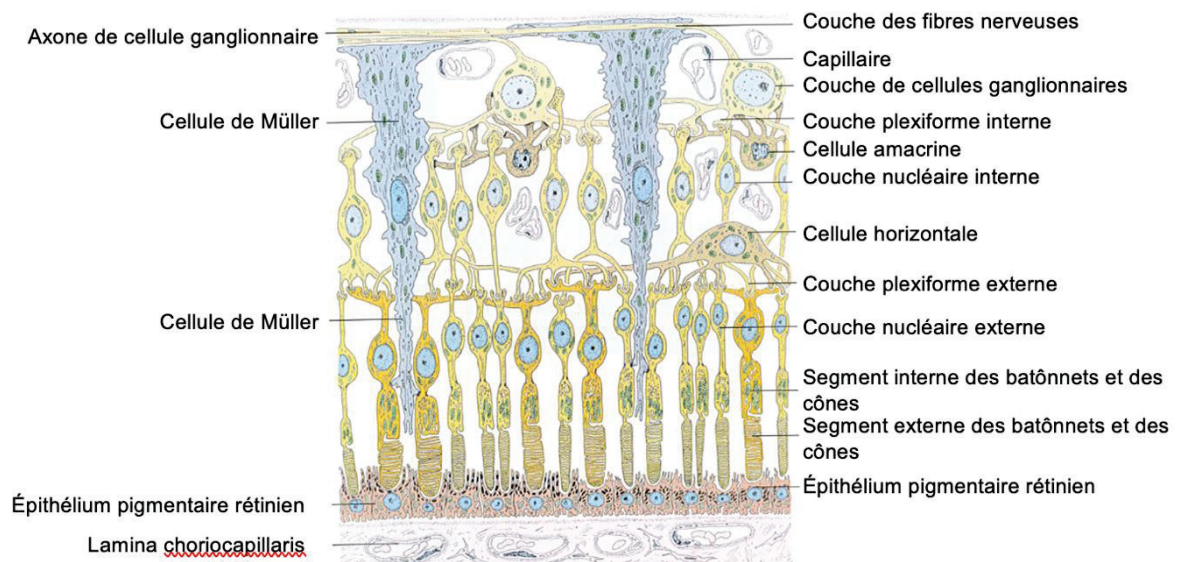


Figure 28 : Schéma histologique de la rétine modifié d'après (Liebich, 2019)

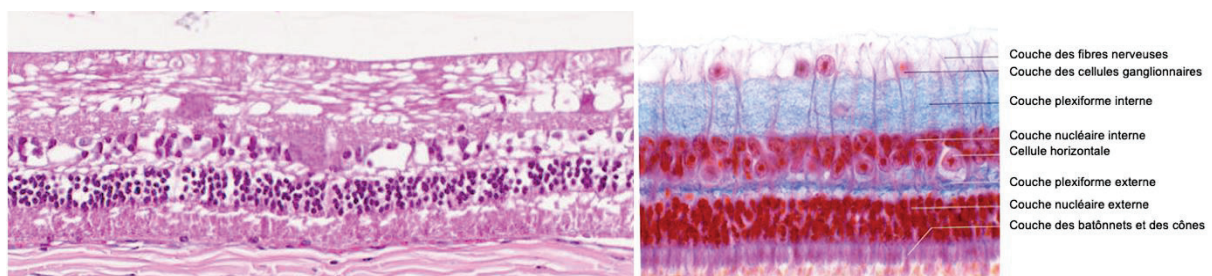


Figure 29 : Coupe histologique de la rétine modifiée d'après (Liebich, 2019)

b. La rétine aveugle

La rétine aveugle est la partie antérieure de la rétine. Elle tapisse les surfaces postérieures de l'iris et du corps ciliaire. La rétine antérieure est qualifiée d'aveugle car elle ne contient pas de photorécepteurs. C'est une couche fine d'épithélium pigmenté (BARONE, 2010; Liebich, 2019).

5. Le cristallin

Le cristallin est une lentille biconvexe transparente et élastique connectée aux corps ciliaires par les fibres zonulaires. Situé au niveau de l'équateur, il sépare la chambre antérieure de la chambre postérieure. Le cristallin est aussi avasculaire et dépourvu d'innervation, il est nourri par l'humeur aqueuse (Liebich, 2019). Au court de la vie du cheval, son cristallin ne cesse de croître passant de 1/17 du volume de l'œil d'un poulain à 1/15 de celui d'un cheval adulte (BARONE, 2010).

Le cristallin comprend trois couches distinctes (Figure 30) :

- *Capsula lentis* : membrane basale épaissie, c'est une capsule qui recouvre tout le cristallin, élastique, transparente et semi-perméable. Elle est responsable de la capacité d'accommodation du cristallin.
- *Epithelium lentis* : qui tapisse la face antérieure, c'est une simple couche de cellules cubiques. Seules cellules capables de se diviser, elles sont à l'origine des fibres du cristallin
- *Fibrae lentis* : cellules épithéliales allongées et régulièrement assemblées en lamelles concentriques telles des écailles d'oignons (BARONE, 2010). Elles sont composées à 70% d'eau (Liebich, 2019) et leur organisation en couche concentrique est aussi nécessaire à une bonne accommodation. Cliniquement on distingue deux zones (LAUNOIS, 2019) :
 - *Le noyau* : partie centrale, compact et peu déformable, elle est la zone la plus ancienne du cristallin. Le noyau embryonnaire, constitué des premières fibres du développement embryonnaire est entouré du noyau fœtal correspondant aux premières fibres secondaires. Un noyau juvénile est ensuite formé autour après la naissance.
 - *Le cortex* qui continue de se développer tout au long de la vie de l'animal. Constitué de cellules plus jeunes continuellement repoussées vers l'intérieur. Plus l'âge avance, plus le noyau est distinguable du cortex car comprimé durant des années par les fibres perpétuellement ajoutées. Le noyau commence alors à réfléchir la lumière, c'est la sclérose nucléaire : évolution naturelle de l'œil.

Chez le cheval, comme le muscle ciliaire est peu développé et la vision binoculaire limitée, l'accommodation se fait plus par des mouvements de tête que par mobilisation du cristallin. Les mouvements et les déplacements de l'œil dans l'orbite permettent de projeter l'image sur la rétine photosensible (BARONE, 2010).

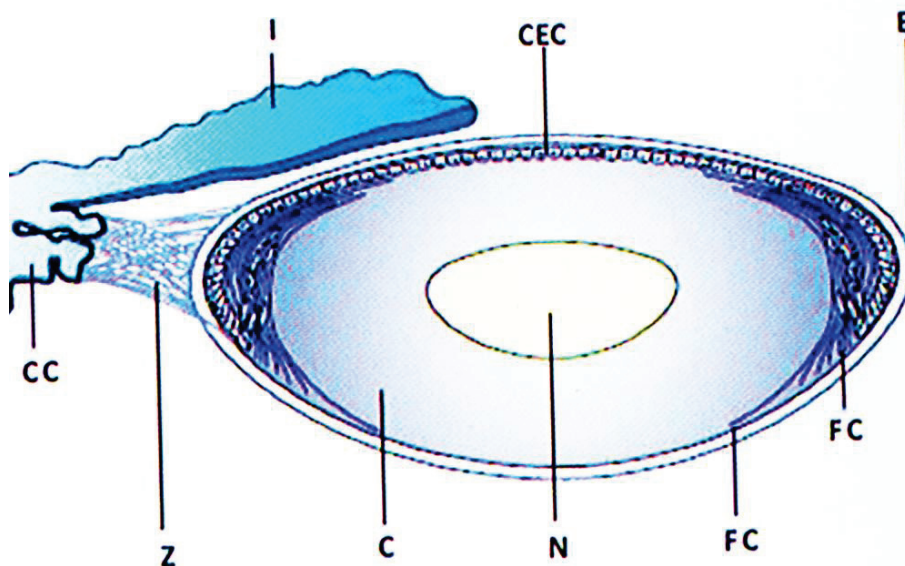


Figure 30 : Schéma de cristallin chez le cheval, d'après (LAUNOIS, 2019)

CC : Corps Ciliaire ; Z : Fibres zonulaires ; I : iris ; C : Cortex ; N : Noyau ; CEC : Cellules épithéliales du cristallin ; FC : Fibres cristalliniennes ; E : Équateur.

IV. Le syndrome d'Anomalies Congénitales Oculaires Multiples : ACOM

Le syndrome d'anomalies congénitales oculaires multiples (ACOM) est une dysgénésie du segment antérieur d'abord identifié chez le Rocky Mountain puis chez le cheval de Trait Comtois. Il s'agit d'une affection héréditaire, dont l'atteinte oculaire est bilatérale et symétrique (Andersson et al., 2013). Cette affection génétique est à transmission co-dominante et est causée par une mutation du gène *PMEL17*, localisée sur l'exon 11 du chromosome 6 équin. Cette même mutation est à l'origine de la couleur Silver chez le cheval.

Les chevaux homozygotes présentent souvent une forme sévère de l'anomalie, alors que les chevaux hétérozygotes présentent plutôt des kystes ciliaires mais sans anomalie fonctionnelle majeure. Ainsi les homozygotes peuvent présenter un large panel de lésions (Depecker et al., 2013; Ramsey et al., 1999; Ségard et al., 2013) :

- *Cornea Globosa* avec une profondeur accrue de la chambre antérieure,
- Myosis et dyscorie associés à une atrophie des grains iriens,
- Cataracte et kyste iridociliaires,
- Dysplasie rétinienne,
- Éventuelle subluxation du cristallin.

1. Gene silver : Mutation et conséquences

a. Physiologie de la pigmentation et rôle de PMEL 17

Comme développé précédemment, deux pigments sont responsables d'un grand nuancier de couleur chez le cheval : l'eumélanine et la phéomélanine. Ces pigments sont synthétisés par des mélanocytes qui se trouvent dans la peau, les poils ou encore les crins.

Situés à la base des poils ou dans l'épiderme, les mélanocytes produisent des mélanosomes, organites intracellulaires dérivés des lysosomes et responsables de la synthèse et du stockage des pigments. Ils vont ensuite migrer dans les cellules des crins des poils ou à la surface de la peau, ils pigmentent ainsi ces cellules et les protègent des rayons ultra-violets (Figure 31).

La quantité et la nature de la mélanine fabriquée par les mélanosomes vont donc produire un nuancier de couleurs que l'on connaît chez le cheval.

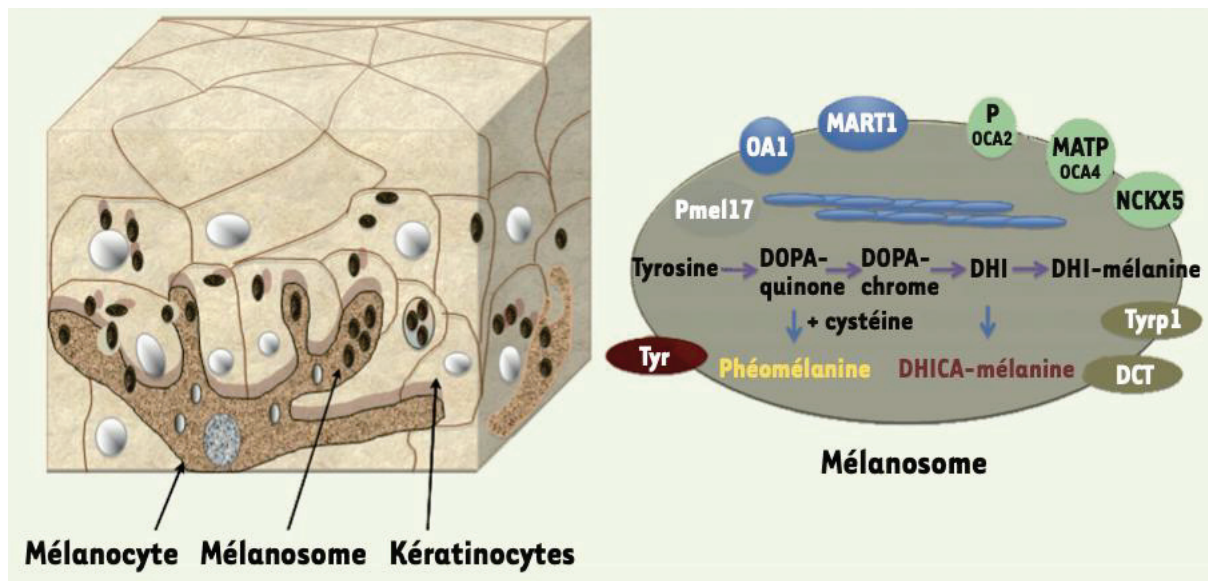


Figure 31 : schéma de l'unité mélano-épidermique d'après (Delevoye et al., 2011)

L'unité mélano-épidermique, les protéines mélanosomales et la synthèse de mélanine. Les mélanocytes se localisent à la base de l'épiderme et produisent les mélanosomes. Un mélanocyte peut contacter jusqu'à 40 kératinocytes vers lesquels sont transférés les mélanosomes (gauche).

À droite, représentation schématique d'un mélanosome et des protéines mélanosomales ainsi que de la chaîne de biosynthèse de la mélanine (phéo- mélanine et eumélanine ou DHICA-mélanine). Pmel17 (aussi appelé GP100) est le constituant majoritaire des fibres (bleues) présentes dans la lumière du mélanosome.

Les enzymes, tyrosinase (Tyr), tyrosinase-related protein 1 (Tyrp1) et DCT (dopachrome tautomérase ou Tyrp2) synthétisent la mélanine à partir de la tyrosine importée dans la lumière du mélanosome.

OA1 (ocular albinism type 1) est un récepteur à 7 domaines transmembranaires impliqué dans la biogenèse des mélanosomes. MART1 (aussi appelé MelanA) a été identifié comme un antigène tumoral mais sa fonction est encore mal comprise. P, dont la mutation cause des albinismes oculocutanés (OCA2), MATP (OCA4), NCKX5 (ou SLC24A5) sont des transporteurs d'anions et de cations et pourraient réguler le pH de la lumière du mélanosome.

Le gène *PMEL17* code pour la protéine prémélanosomale Pmel17, une glycoprotéine transmembranaire impliquée dans la biogénèse des mélanosomes et la rétention de la mélanine dans ces mélanosomes. Les pré-mélanosomes, premiers stades de ces organites adoptent une structure ellipsoïdale grâce à un réseau de fibrilles amyloïdes non pathogène formé par Pmel17 (Graham et al., 2019).

On appelle substance amyloïde toutes structures protéiques formées de feuillets β entrecroisés et constitués de multiples copies d'une même protéine agglutinées (Fowler et al., 2006; Graham et al., 2019). Cet assemblage de fibrilles devient alors une matrice sur laquelle se dépose la mélanine (Figure 32). Il a été montré que les fibrilles de PMEL ont la capacité de modeler et accélérer la polymérisation de

précurseur de l'eumélanine. Ainsi, il semble que PMEL joue un rôle dans la production et/ou la stabilisation de l'eumélanine mais aucune conclusion n'a été formulée concernant la phéomélanine. (Chakraborty et al., 1996) Cette observation explique l'impact de PMEL sur la couleur Silver chez le Comtois, seule l'eumélanine est affectée (chevaux bais ou noirs) et non la phéomélanine (alezan), d'où les phénotypes noir et bai silver.

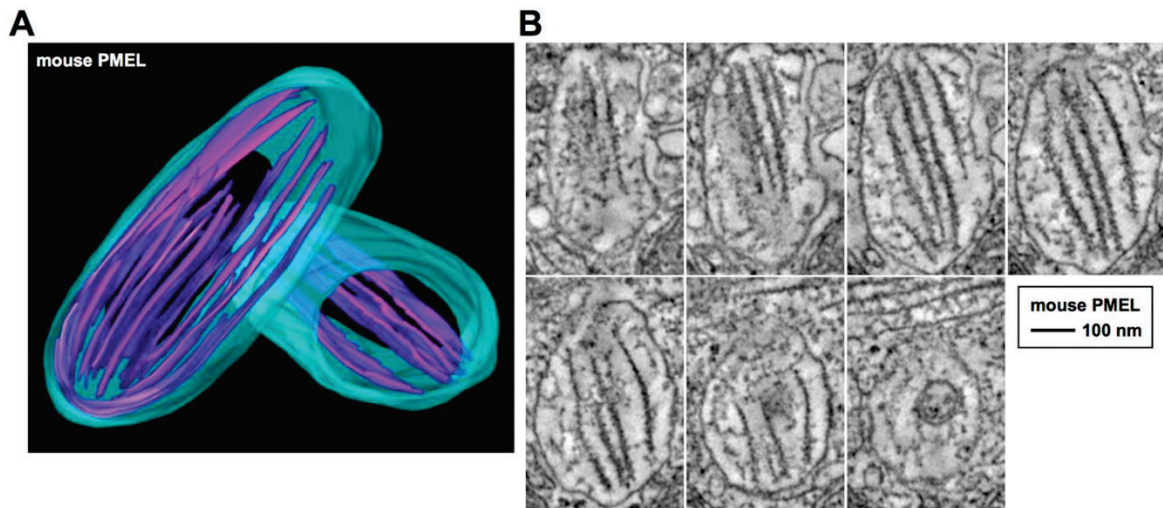


Figure 32 : Structure en feuillets de la substance amyloïde formée par PMEL dans des mélanosomes murins, d'après (Graham et al., 2019)

(A) Représentation tridimensionnelle par tomographie électronique. La membrane du mélanosome représentée en turquoise est régulièrement ovale. La substance amyloïde représentée en violet forme des feuillets bien discernables.

(B) Vue au microscope électronique.

Dans cette même étude (Graham et al., 2019), il a été mis en évidence que Pmel17 était une protéine transmembranaire qui subit plusieurs modifications post-traductionnelles avant de remplir sa fonction (Figure 33):

- Synthèse sous forme immature : P1, dans le réticulum endoplasmique
- Suivie d'une O-Glycosylation au niveau de son domaine répété (RPT) formant P2
- Clivage protéolytique par la furine lors de sa migration vers la membrane plasmique, donnant deux fragments :
 - M β , fragment C-terminal ancré à la membrane,
 - M α , fragment N-terminal luminal, initialement liés ensemble par un pont disulfure

- Maturation progressive des domaines luminaux (mécanismes peu compris) avec libération de $M\alpha$, polymérisation et formation de fibrilles amyloïdes organisées en feuillet dans la lumière du mélanosome.

Cette organisation en feuillet amyloïde optimise donc la surface disponible pour le dépôt et sa séquestration de la mélanine, permettant alors une pigmentation efficace.

- Clivage final de $M\beta$ par une métalloprotéinase puis encore par la γ -sécrétase, facilitant la dégradation des fragments excédentaires via les lysosomes et/ou protéasomes.

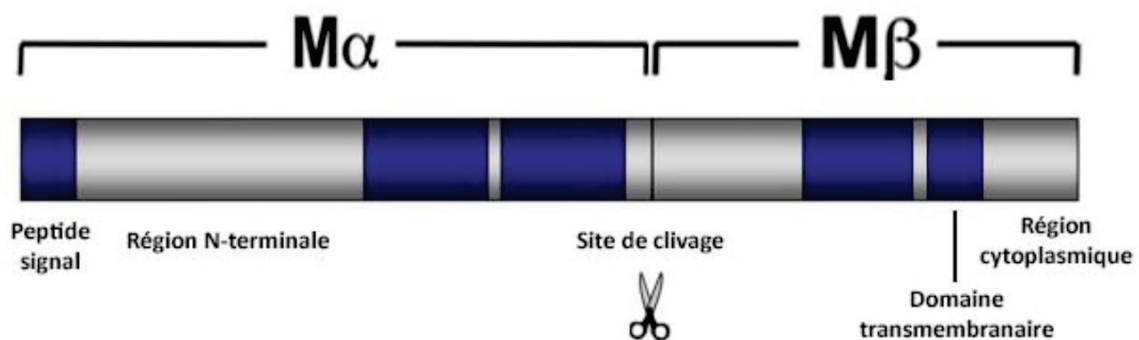


Figure 33 : schéma clivage protéine PMEL17 (WEIGEL, 2019)

b. La mutation de PMEL 17

i. Caractérisation de la mutation Arg618Cys

Le phénotype silver est dû à une mutation du gène *PMEL17* chez le cheval, ce gène est porté par le chromosome 6. Il s'agit d'une mutation faux-sens de l'exon 11 qui place une thymine à la place d'une cytosine. Ce changement va entraîner le remplacement du deuxième acide aminé arginine, d'un triplet de trois arginines, par une cystéine (Arg618Cys) au niveau de la région cytoplasmique. Cette même mutation a été retrouvée chez plusieurs races de chevaux différentes (Figure 34). (Brunberg et al., 2006)

	Région transmembranaire										Région cytoplasmique												
Cheval (sauvage)	A	M	V	L	A	S	L	I	Y	R	R	.	.	.	.	R	L	M	K	Q	G		
Cheval (<i>silver</i>)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Humain	-	V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	D	
Souris	-	V	-	-	-	-	-	-	H	-	H	-	-	-	-	-	-	K	-	-	-	-	
Chien	-	-	-	-	V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	L	-	-	-	-	-	
Rat	-	V	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	K	-	-	-	D	
Bovin	-	L	L	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Poulet (sauvage)	-	L	G	T	-	A	Y	T	-	-	-	V	K	Y	S	P	-	L	P	T	A		
Poulet (<i>dun</i>)	-	.	.	.	.	.	Y	T	-	-	C	V	K	Y	S	P	-	L	P	T	A		

Figure 34 : Alignement des acides aminés de la fin de la région transmembranaire et du début de la région cytoplasmique de PMEL17 chez différentes espèces par rapport au cheval sauvage, modifié d'après (Brunberg et al., 2006)

Les lettres renvoient à la nomenclature des acides aminés. Le site de la mutation équine silver est mis en évidence en rouge.

Les séquences identiques sont indiquées par des tirets et les insertions et délétions par des points.

Cette mutation ponctuelle du gène *PMEL17* : Arg618Cys, entraîne une modification de la structure interne des mélanosomes et perturbe la synthèse et l'organisation de l'eumélanine.

Il a été montré dans diverses études (Brunberg et al., 2006; Clark et al., 2006; Kerje et al., 2004; Schonthaler et al., 2005; WEIGEL, 2019) que des mutations de *PMEL17* étaient responsables des phénotypes d'hypopigmentation chez plusieurs espèces (Figure 35).

Chez la souris, l'insertion d'une base dans la région codant le domaine cytoplasmique de *PMEL17* est à l'origine de modification de couleur du pelage (silver locus). (Kwon et al., 1995)

Une étude récente chez le canard (Wang et al., 2025), indique que la couleur blanche spécifique du canard de Liancheng est liée à une mutation du gène *PMEL*.

Chez le poulet, des polymorphismes dans le gène *PMEL17* associés à des insertions ou délétions sont à l'origine de différentes couleurs : *dominant white*, *smoky* et *dun*. (Kerje et al., 2004) L'insertion de trois acides aminés chez le phénotype *dominant white* est responsable de l'inhibition complète de la synthèse d'eumélanine dans le plumage, ainsi que les mélanocytes cutanés et uvéaux. (Schonthaler et al., 2005)

Chez le poisson-zèbre, une mutation du gène *PMEL* cause le phénotype *fading vision* (fdv). L'introduction d'un codon stop est responsable d'un défaut de vision accompagné d'une hypopigmentation de l'épithélium pigmenté de la rétine (EPR) et des autres mélanocytes (Schonthaler et al., 2005).

Chez le chien, l'insertion d'un élément SINE (Short INterspersed Element) à la jonction entre l'intron 10 et l'exon 11 du gène *PMEL17* est à l'origine du motif merle. Cette mutation est à l'origine d'une dilution de la couleur du pelage mais elle est aussi associée à des anomalies visuelles et/ou des pertes auditives totales ou partielles (Clark et al., 2006).

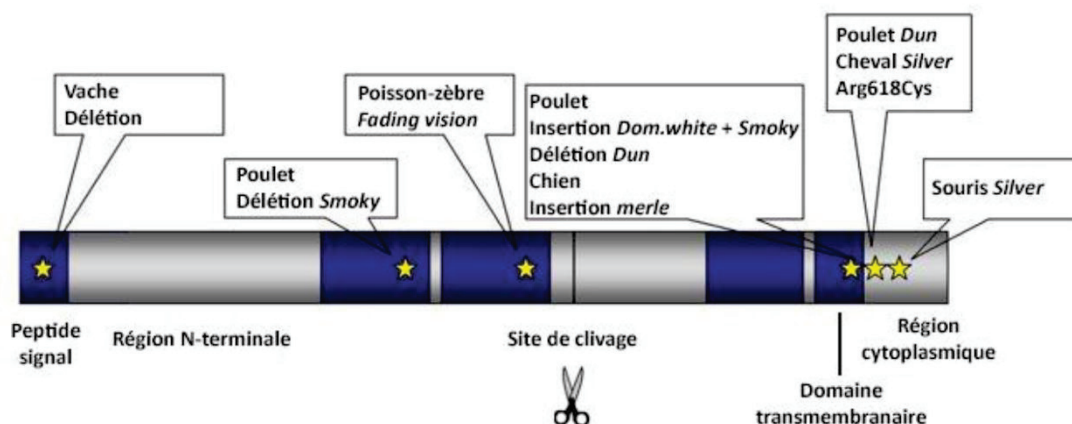


Figure 35 : Schéma de la place des différentes mutations sur le gène *PMEL17* d'après (Brunberg et al., 2006)

ii. De la mutation au phénotype

L'altération de *PMEL17* dans le domaine transmembranaire perturbe l'association de la protéine avec les membranes et conduit à la formation de paquets de fibrilles aberrants. La modification des mélanosomes conduit à une organisation anormale, altère la rétention et la stabilisation de l'eumélanine sur les fibrilles, ce qui conduit à une perte de la pigmentation.

Une étude confirme cette théorie et associe le phénotype dominant white du poulet à des mélanosomes anormaux en termes de forme et d'assemblage (Brumbaugh, 1971).

Plus récemment, une étude (Hellström et al., 2011) a utilisé des souris knock-out pour PMEL17 et met en évidence des modifications sur les mélanosomes : moins allongés, sphériques et avec des agrégats de mélanine irréguliers (Figure 36). Néanmoins ces anomalies n'ont pas entraîné de déficits visuels malgré la présence in vivo de mélanocytes modifiés dans la peau, les mélanocytes uvéaux et le EPR. Ici, on note une diminution significative de la quantité d'eumélanine dans les poils mutants.

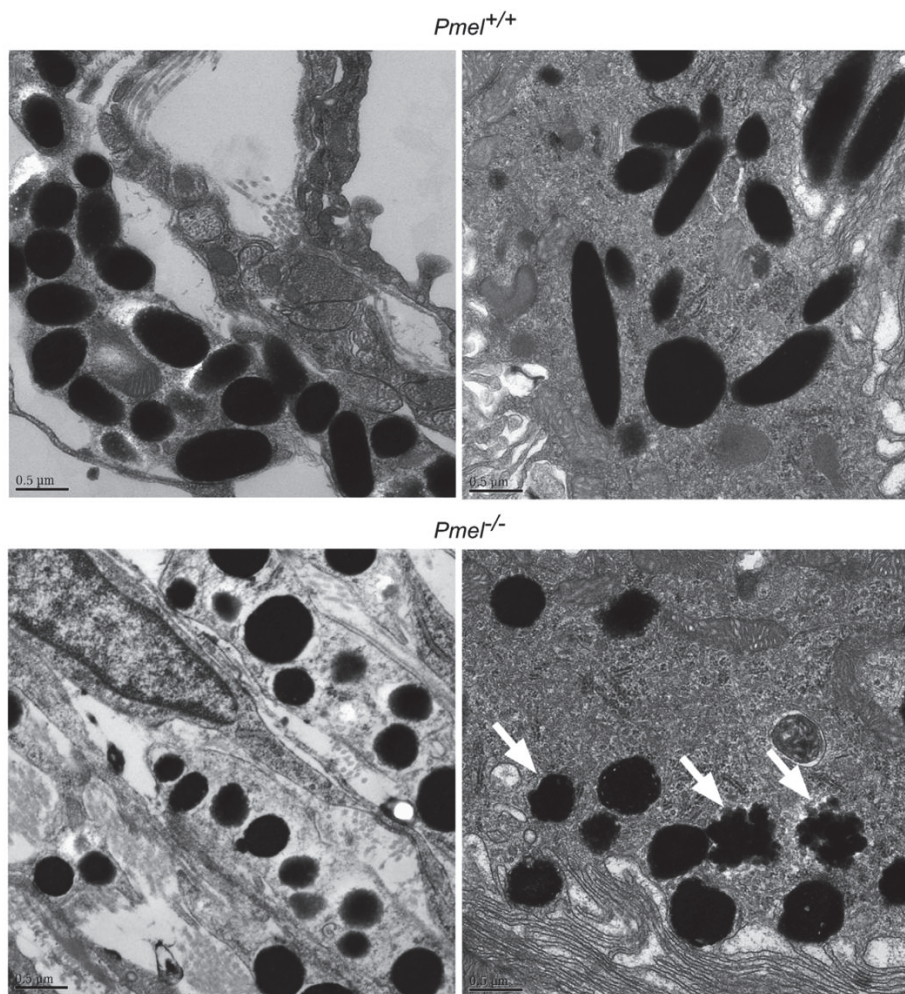


Figure 36 : Microscopie électronique de mélanosomes sphériques (Hellström et al., 2011)

Cellules choroïdiennes (en haut et en bas à gauche) et cellules de l'EPR (épithélium pigmentaire de la rétine) (en haut et en bas à droite), contenant des mélanosomes de souris C57BL/6 de type sauvage (deux photos supérieures : PMEL +/+) et de souris invalidées pour le gène PMEL17 (deux photos inférieures : PMEL-/-), respectivement.

Les mélanosomes des cellules choroïdiennes et du RPE des souris mutées invalidées PMEL17 apparaissent sphériques avec des bordures irrégulières, ces dernières étant plus évidentes dans les cellules de RPE (en bas à droite, indiquées par des flèches blanches). De plus, aucun mélanosome en forme de cigare n'a été trouvé dans les cellules choroïdiennes ou du RPE chez les souris invalidées PMEL17.

Dans la continuité, une autre étude (Graham et al., 2019) révèle que les protéines PMEL17 mutantes sont dépourvues de la partie répétée du fragment M α ce qui entraîne la formation de structures amyloïdes désorganisées et une altération des mélanosomes (Figure 37).

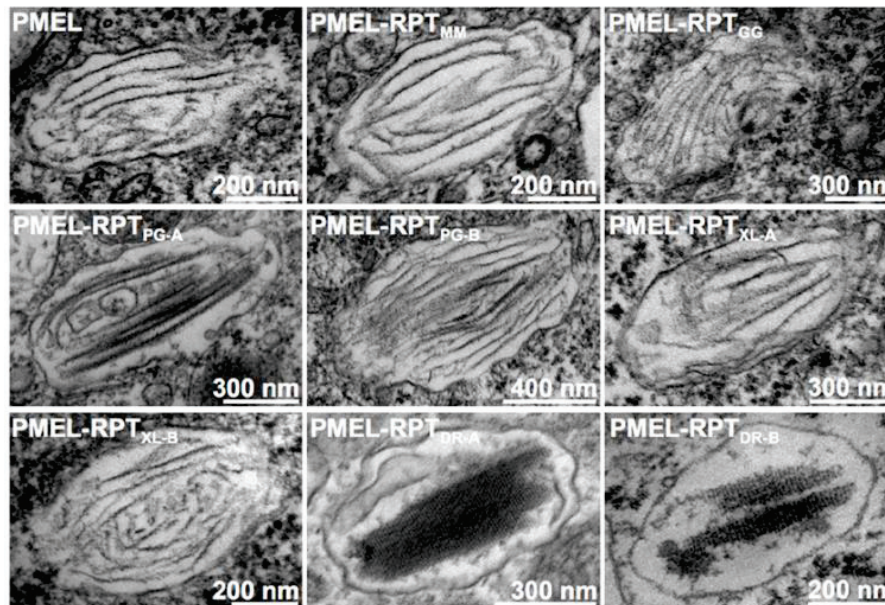


Figure 37 : Exemple de mélanosomes modifiés observés par microscopie électronique d'après (Graham et al., 2019)

La protéine PMEL17 joue donc un rôle clé dans le stockage de la mélanine par l'intermédiaire de la substance amyloïde en servant de support aux pigments dans les mélanosomes.

Chez plusieurs espèces (cheval, poulet, poisson-zèbre, chien et souris), divers phénotypes d'hypopigmentation sont associés à des anomalies structurelles du mélanosomes.

Néanmoins, à l'heure actuelle, on ignore toujours pourquoi cette mutation est à l'origine d'anomalies oculaires et/ou troubles visuels chez le cheval, le chien et le poisson-zèbre (Clark et al., 2006; Schonthal et al., 2005), mais pas chez le poulet ou la souris (Karlsson et al., 2009; Kwon et al., 1995).

La mutation du gène *PMEL17* est responsable de la robe Silver chez le cheval et donc de la dilution de l'eumélanine. Cependant on ignore encore comment les altérations des cellules pigmentées entraînent des modifications pathologiques de la morphologie de l'œil dans le cas du syndrome d'ACOM (Andersson et al., 2008).

2. Caractérisation du syndrome ACOM : état des lieux des connaissances

Décrit pour la première fois en 1999 chez le Rocky Mountain, le syndrome d'ACOM est une affection congénitale initialement connue sous le nom de dysgénésie du segment antérieur (Ramsey et al., 1999). Depuis, ce syndrome a été identifié chez d'autres races équines (Andersson et al., 2008; Grahn et al., 2008; Karlsson et al., 2009; Komáromy et al., 2011; Ségard et al., 2013). Il a été clairement établi que la mutation *silver* du gène *PMEL17* possède un effet pléiotrope : elle est responsable de la dilution de la robe (*silver*) et du syndrome ACOM (Andersson et al., 2013).

Deux formes cliniques ont été distinguées :

- Les chevaux hétérozygotes présentent un phénotype « kyste », caractérisé par des kystes translucides iridociliaires en région temporale mesurant jusqu'à 1cm
- Les chevaux homozygotes présentent un phénotype ACOM, plus sévère avec diverses anomalies en plus des kystes : hypoplasie de l'iris, dysplasie des grains iriens, myosis persistant, dysplasie rétinienne, kystes rétiens périphériques, cataracte, mégalocornée, profondeur anormale de la chambre antérieure et anomalies de l'angle irido-cornéen. Ces anomalies peuvent entraîner des troubles de la vision (Komáromy et al., 2011), néanmoins l'évaluation de la vue chez le cheval est à nuancer, la cécité étant difficile à objectiver.

a. Étude chez le Rocky Mountain

La première étude de référence sur le syndrome ACOM a été publiée en 1999. (Ramsey et al., 1999) 514 chevaux Rocky Mountain ont été soumis à un examen ophtalmologique approfondi (lampe à fente, lentille, ophtalmoscope indirect) et 6 d'entre eux ont eu une analyse histologique.

Cette étude fait suite à l'observation fréquente d'anomalies oculaires principalement chez les chevaux de robe diluée aux crins argentés.

L'objectif est d'identifier les anomalies présentes et de déterminer une prévalence associée.

Lésion	Nombres de chevaux affectés	% de chevaux affectés	% de bilatéralité	Notes
Kystes des corps ciliaires ou du RPE	249	48	91	Temporale
Traces courbes du RPE	189	37		De 1 à 13 par œil
Dysplasie rétinienne	125	24	63	Temporale
Décollement rétinien	84	16	17	
ACOM	71	14	100	
Hypoplasie irienne	71	14		
Anomalie de l'angle irido-cornée	65	13	100	Excès de tissu mésenchymateux
Mégalocornée	43	8	100	
Fissure macropapébrale	43	8		
Microphthalmie	14	3	92	
Hypoplasie du ligament pectiné	11	2		
Goniosynéchie	6	1		

Tableau IV : Synthèse des résultats d'après (Ramsey et al., 1999), résumé des principales lésions rencontrées chez le Rocky Mountain Horse

L'anomalie la plus fréquente, 48%, est la présence de kystes de grande taille situés sur la face postérieure de l'iris, au niveau des corps ciliaires ou de la rétine périphérique. On observe une atteinte bilatérale dans 91% des cas. On note que 14% des chevaux présentent le phénotype complet ACOM.

D'autres anomalies ont été fréquemment décrites :

- Des bandes pigmentées curvilignes dans 37 % des cas, situées dans la rétine périphérique temporale, s'étendant jusqu'à la papille optique (Figure 39);
- Une dysplasie rétinienne dans 24 % des cas, sous forme de plis ou de traces vermiformes, associée à la présence de kystes et bilatérale dans 63 % des cas ;

- Des décollements de rétine en région temporale dans 16 % des cas, souvent considérés comme l'extension de kystes ciliaires, avec une prolifération de l'épithélium pigmentaire aux bords des zones décollées.

Par ailleurs, 60 % des chevaux présentaient une mégalocornée bilatérale, associée à une chambre antérieure plus profonde (Figure 38). Parmi eux, onze présentaient également un iridodonesis et un phacodonesis ; signes de subluxation du cristallin.

Des anomalies de l'angle irido-cornéen ont été identifiées dans 13 % des cas : excès ou absence de tissu mésenchymateux, ligament pectiné sous-développé (2 %) ou absent, et goniosynéchies dans 1 % des cas.

Enfin, tous les chevaux ACOM présentaient des cataractes, souvent accompagnées d'un lenticône antérieur.



Figure 38 : Exemples de lésions macroscopiques observées chez le Rocky Mountain (Ramsey et al., 1999)

À gauche : Stries curvilignes, sombres et bien délimitées de l'épithélium pigmentaire rétinien (RPE) dans le fond tapetal périphérique d'un cheval Rocky Mountain ; elles s'étendent de l'ora ciliaris retinae vers la papille optique et correspondent à des lignes de démarcation de décollements rétiniens antérieurs.

Au centre : Mégalocornée, myosis et chambre antérieure excessivement profonde avec un plan cristallino-irien préservé.

À droite : Œil d'un cheval Rocky Mountain présentant un myosis congénital et une mégalocornée : pupille contractée, hypoplasie stromale avec granula iridica aplati et circonférentiel au bord pupillaire, sphincter pupillae visible, absence de collerette et présence de faisceaux stromaux profonds radiaux s'étendant du bord pupillaire vers la zone ciliaire.

L'étude histologique des six paires d'yeux a confirmé (Figure 39):

- Des anomalies irido-ciliaires : hypoplasie du stroma irien, présence anormale de l'épithélium ciliaire sur l'iris, kystes ciliaires issus de la pars plicata et pars plana ;
- Des anomalies rétinienne : dysplasie, hypoplasie, structures en rosette, désorganisation de la rétine neurosensorielle associée à des zones pigmentées correspondant aux bandes curvilignes ;
- Des anomalies cristalliniennes : cataracte à la jonction nucléo-corticale.

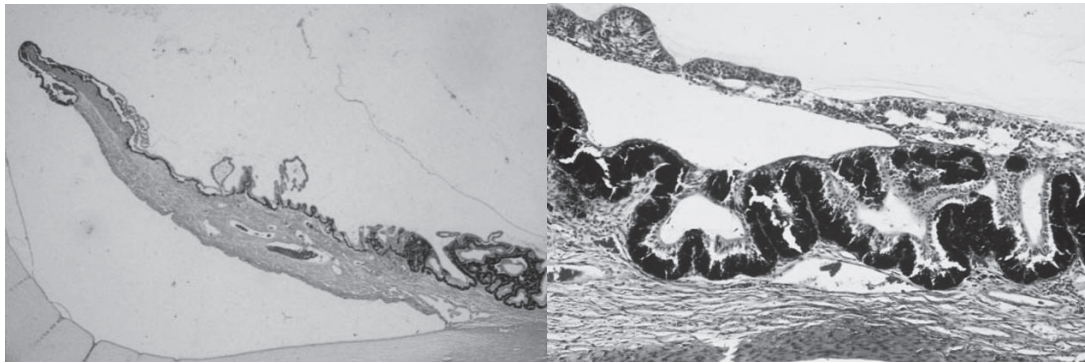


Figure 39 : Microphotographie de lésions histologiques observées sur des Rocky Mountain, d'après (Ramsey et al., 1999)

À gauche : Iris d'un cheval avec des anomalies multiples : hypoplasie, grains iriens aplatis, dysplasie de l'épithélium du corps ciliaire associé à une immaturité du tissu rétinien primitif.

À droite : Large kyste provenant de l'épithélium non pigmenté du corps ciliaire

En croisant ces résultats avec les caractéristiques de robe, les chercheurs ont constaté que les chevaux aux crins blancs ou délavés étaient significativement plus touchés par le syndrome. Ils ont aussi suggéré que les lésions n'étaient pas évolutives, les signes cliniques et histologiques étant similaires quel que soit l'âge. Ils ont proposé deux phénotypes distincts : l'un dominé par des kystes, l'autre par des anomalies multiples du segment antérieur.

Une étude génétique complémentaire (Ewart et al., 2000), publiée en 2000, a examiné les pedigrees de 748 chevaux sur 13 générations. Elle a montré une

probable transmission génétique semi-dominante du syndrome, avec un lien fort suspecté avec la mutation *silver* (PMEL17). Les auteurs ont proposé que les hétérozygotes présentent surtout des kystes (phénotype kystique), tandis que les homozygotes manifestent des anomalies oculaires multiples (phénotype ACOM). La pénétrance était estimée à 99,86 % pour le phénotype ACOM, et de 60,35 % pour le phénotype kystique. L'incomplétude de cette pénétrance pourrait s'expliquer par des interactions avec d'autres gènes, ou, moins probablement, par l'environnement.

Ces deux publications constituent les premières grandes études détaillées sur le syndrome ACOM, à la fois sur les plans clinique, histologique et génétique.

b. Étude chez le Rocky Mountain et les chevaux des montagnes du Kentucky

Une étude publiée en 2008 (Grahn et al., 2008), portant sur 134 chevaux de race Rocky Mountain et Kentucky Mountain Horse, vise à identifier les anomalies oculaires spécifiques à ces deux races présentes au Canada.

L'objectif était également de déterminer le mode de transmission de ces anomalies ainsi que la relation entre les phénotypes observés et la couleur de la robe.

Les 134 chevaux inclus dans cette étude ont subi un examen ophtalmologique détaillé, réalisé par un vétérinaire ophtalmologue spécialisé, à l'aide d'un transilluminateur, d'un biomicroscope et d'un ophtalmoscope indirect.

À l'issue de cette analyse, les auteurs ont rapporté une prévalence de 50 % d'ACOM au sein de ces races, un taux qui correspondait à ceux observés dans des études antérieures menées aux États-Unis. De plus, les chercheurs ont remis en question le mode de transmission des anomalies oculaires qui avait été proposé dans des travaux précédents, et ont suggéré que celui-ci suivait un modèle dominant à pénétrance incomplète. Cependant, cette hypothèse a été contestée en 2009 par Swan et ses collaborateurs (Swan, 2009), qui ont mis en évidence des lacunes importantes dans la méthodologie et l'exécution de l'étude initiale.

Malgré ces critiques, certaines anomalies oculaires ont été clairement identifiées au cours de l'étude. Parmi les plus courantes figuraient les kystes uvéaux temporaux, suivis par des traces curvilignes, une hypoplasie irienne et un mégaloblepharon (Karlsson et al., 2009).

c. Étude chez des chevaux miniatures

Une étude menée en 2011 (Plummer & Ramsey, 2011) a cherché à évaluer la prévalence des anomalies oculaires en fonction de la couleur de la robe chez 53 chevaux miniatures, tous vivant dans l'État du Michigan aux États-Unis. Les anomalies oculaires ont été diagnostiquées à l'aide d'une lampe à fente, d'un ophtalmoscope binoculaire indirect et d'une lentille convergente.

Les résultats ont montré que 100 % des chevaux de couleur « chocolat » présentaient des kystes, tandis que 33 % des chevaux alezans « crins lavés » en étaient également affectés. De plus, une dysplasie rétinienne ou des traces curvilignes sur l'Épithélium Pigmentaire de la Rétine (RPE) ont été observées chez 44 % des chevaux chocolat (Figure 40) .

Un cas particulier a été observé chez un cheval aubère avec crins lavés, qui présentait de multiples anomalies oculaires bilatérales, dont des kystes des corps ciliaires (notamment en région temporale, avec des tailles variant de 0,5 à 1,5 cm), une cornéa globosa, une hypoplasie irienne, un myosis, une dysplasie rétinienne, une prolifération du RPE, une cataracte de la jonction nucléo-corticale, un lenticône antérieur, des goniosynéchies et une absence de réflexes photomoteurs.



Figure 40 : Phénotypes observés chez les Chevaux Miniatures, d'après (Plummer & Ramsey, 2011)

À gauche : cheval de robe chocolat aux crins dilués chez qui les lésions oculaires ont le plus fréquemment été observés.

À droite : Kyste ciliaire macroscopiquement observable lors de l'examen ophtalmique.

Les auteurs de l'étude n'ont pas observé de relation entre les anomalies oculaires et l'âge des chevaux. Cependant, ils ont établi une corrélation entre la présence de lésions oculaires multiples et la modification génétique « *silver* ». Ils ont suggéré que ces lésions étaient très similaires à celles décrites dans le cadre du syndrome ACOM chez les chevaux Rocky Mountain. Toutefois, il convient de noter qu'aucune analyse génétique n'a été réalisée dans cette étude.

d. Étude chez des poneys

Le syndrome ACOM a également été observé chez les poneys. Une étude réalisée en 2011 (Komáromy et al., 2011) s'est intéressée à décrire à la fois le phénotype clinique et le génotype des poneys atteints de ce syndrome (Figure 41). L'étude a porté sur cinq poneys apparemment sans lien de parenté, vivant aux États-Unis. Un examen ophtalmologique complet a été effectué indépendamment sur chaque poney, dans leur lieu de vie, en utilisant une lampe à fente, un ophtalmoscope binoculaire indirect, des tests de Schimmer et un stylo à pression Tonopen.

Des échantillons sanguins ont aussi été prélevés pour réaliser un génotypage, spécifiquement pour la mutation silver. Les résultats obtenus ont été résumés dans un tableau (Tableau V).

Cas	Anamèse	Anomalies ophtalmiques	Génotype
1	Shetland de 23 ans avec acuité visuelle diminuée en faible luminosité	Diminution du réflexe photomoteur, cornea globosa bilatérale, absence de réponse aux mydriatiques, hypoplasie irienne, cataracte nucléaire, grain irien entourant les pupilles, strabisme ventral unilatéral avec parésie musculaire.	Homozygote silver
2	Poney de 4 ans	Kystes provenant du corps ciliaire latéral	Hétérozygote silver
3	Shetland de 35 ans avec cécité, opacification et épiphora intermittent de l'œil droit, syndrome de Cushing	Absence des réflexes photomoteurs et de réponse à la menace, buphthalmie, œdème cornéen, néovascularisation cornéenne superficielle, goniosynéchies diffuses, cataracte de l'œil droit, strabisme ventral sans parésie musculaire, cataracte immature diffuse, mydriase de l'œil gauche.	Homozygote silver
4	Poney de 7 ans avec abcès cornéen traité par kératectomie	Cornea globosa, cataracte immature corticale et hypoplasie irienne bilatérales, myosis avec réflexe photomoteur diminué et absence de réponse aux mydriatiques, grains iriens aplatis et entourant les pupilles, subluxation du cristallin droit.	Homozygote silver
5	Shetland de 25 ans avec blépharospasme et épiphora de l'œil gauche, capacité visuelle diminuée à distance, syndrome de Cushing	Ulcères cornéens superficiels, œdème cornéen modéré et bullae à gauche, myosis avec absence de réflexe photomoteur et de réponse aux mydriatiques, cataractes corticales et nucléaires bilatérales, hypoplasie irienne, grains irien aplatis et orientés de manière circulaire autour de la pupille.	Homozygote silver

Tableau V : Synthèse des anomalies ophtalmiques rencontrées chez cinq poneys d'après (Komáromy et al., 2011)

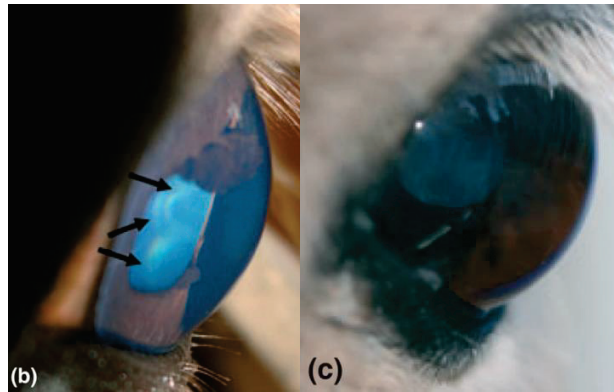


Figure 41: Anomalies oculaires observées chez des poneys, d'après (Komáromy et al., 2011)

À gauche : Anomalies oculaires comprenant des kystes uvéaux temporaux multifocaux (flèches), visibles après mydriase.

À droite : Cornea globosa

Une étude complémentaire menée en 2013 (Premont et al., 2013), qui a porté sur des examens ophtalmologiques complets avec échographie transpalpébrale et génotypage de quatre poneys Shetland apparentés, a confirmé ces observations.

Un étalon noir silver hétérozygote a présenté un phénotype kystique, avec des kystes irido-ciliaires temporaux associés à un épaissement de l'iris, ainsi que des kystes périphériques rétiens, accompagnés de zones d'atrophie rétinienne (Figure 42).

Quant aux femelles, toutes homozygotes pour la mutation, elles ont montré un phénotype ACOM, caractérisé par la présence, en plus des kystes irido-ciliaires ou périphériques rétiens, de diverses anomalies : une diminution du réflexe à la menace, un œdème et une vascularisation cornéenne, une uvéite antérieure, des grains iriens hypoplasiques autour de la pupille, une hypoplasie stromale de l'iris, un colobome, une cataracte, une subluxation du cristallin, et des zones d'atrophies rétiniennes.

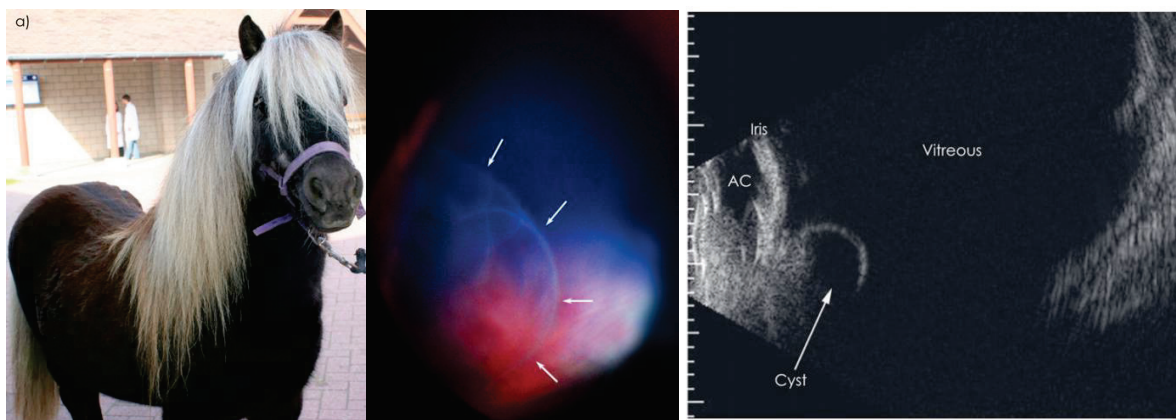


Figure 42: Phénotype des anomalies observées chez les poneys, d'après (Premont et al., 2013)

À gauche : Étalon Silver Black âgé de 20 ans.

Au centre : Kyste iridociliaire temporal (flèches).

à droite : Aspect échographique d'un kyste uvéal situé en arrière de l'iris temporal, dans la région du corps ciliaire (AC : chambre antérieure).

e. Étude chez des chevaux islandais

Une étude menée en 2011 (Andersson et al., 2011) s'est intéressée à l'existence du syndrome ACOM chez les chevaux islandais chez lesquels le phénotype *silver* est présent (Figure 43). Cette démarche était pertinente car les premières études sur le syndrome ACOM, réalisées chez les Rocky Mountain, laissaient penser que seules les races apparentées à cette dernière étaient concernées. Les chevaux islandais constituaient un modèle idéal pour explorer cette hypothèse car ils ont évolué de manière isolée pendant plus de mille ans (l'importation équine ayant été interdite en Islande depuis l'an 982).

L'étude a porté sur 24 chevaux islandais, tous génotypés pour la mutation *silver* et examinés à l'aide d'une lampe à fente et d'un ophtalmoscope indirect, avant et après induction de mydriase. L'œil d'un jeune étalon de 18 mois, euthanasié à la demande de son propriétaire en raison de troubles visuels sévères, a également fait l'objet d'un examen histologique.

Parmi les chevaux étudiés, quatre homozygotes pour la mutation *silver* présentaient un phénotype ACOM. Ces individus montraient de multiples kystes iridociliaires transparents en région temporale. Deux d'entre eux présentaient des anomalies supplémentaires : mégalocornée bilatérale, contours cornéens anormaux, absence de réponse au mydriatique et zone péri-limbale temporale élargie et blanchâtre. Une hypoplasie rétinienne périphérique, ainsi que des kystes atteignant l'*ora serrata* ou des lignes de démarcation courbes, ont été observés chez ces homozygotes, mais également chez certains hétérozygotes.

L'analyse histologique de l'œil du jeune étalon a révélé un dédoublement de l'épithélium pigmentaire du corps ciliaire, parfois formant des kystes saillants dans la chambre postérieure, des zones d'atrophie rétinienne périphérique, et une perte de photorécepteurs.

Par ailleurs, quatorze chevaux ont été classés comme présentant un phénotype kystique, tous étant hétérozygotes pour la mutation *silver*. Ces chevaux montraient des kystes transparents de taille et de nombre variables, parfois accompagnés de marques curvilignes en zone temporale de la rétine, mais conservaient des réflexes normaux. Des replis pigmentés dans le tapis dorsal, indiquant une dysplasie rétinienne multifocale, ont été fréquemment observés chez les chevaux présentant un phénotype ACOM ou kystique (Figure 43).

Enfin, trois chevaux hétérozygotes ne présentaient aucun signe clinique, suggérant une pénétrance incomplète de la mutation.

Ces résultats ont confirmé la présence du syndrome ACOM associé à la mutation *silver* dans la population islandaise, et ont soutenu l'hypothèse selon laquelle cette mutation est ancienne dans l'évolution de la race.

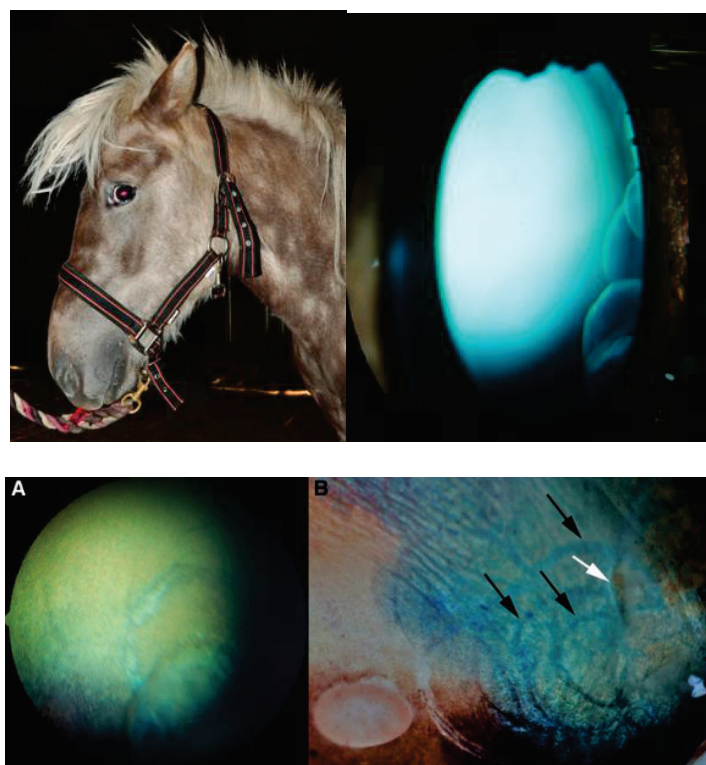


Figure 43 : Le phénotype du cheval islandais, d'après (Andersson et al., 2011)

En haut à gauche : Cheval islandais présentant la robe Silver, on note une faible dilatation pupillaire malgré le mydriatique appliqué.

En haut à droite : Multiples kystes iridociliaires chez un cheval islandais porteur de la mutation de l'exon 11 du gène PMEL17.

Des kystes iridociliaires multiples dans le quadrant temporal ont été observés chez tous les homozygotes et la majorité des hétérozygotes. Leur taille variait de quelques millimètres de diamètre à plus d'un centimètre.

En bas : Lésions kystiques s'étendant dans la rétine. A. Kystes impliquant la rétine périphérique du quadrant temporal, ou présence de lignes de démarcation curvilignes et de zones focales d'atrophie rétinienne, observées occasionnellement chez les hétérozygotes et homozygotes pour la mutation PMEL17.

B. Pièce post-mortem montrant de multiples lignes de démarcation (flèches noires) convergeant vers la tête du nerf optique, et une zone où la rétine reste décollée (flèche blanche).

f. Étude chez le Comtois

Les premières investigations consacrées au syndrome ACOM chez le cheval comtois remontent à 2013. Une première étude (Depecker et al., 2013) a porté sur 77 chevaux comtois de pure race et un croisé, avec pour objectif de décrire la prévalence, la nature et la sévérité des anomalies congénitales oculaires multiples. Chaque animal a bénéficié d'un examen ophtalmologique complet ainsi que d'une échographie transpalébrale. Trente-quatre chevaux ont également été génotypés à partir d'un prélèvement de poils pour les loci *Extension (E)*, *Agouti (A)* et *Silver (Z)*.

Cette étude a révélé que 87 % des chevaux présentaient des kystes ou un épaissement du corps ciliaire, principalement en région temporale (90 %), bien que des localisations nasales aient aussi été observées. Les kystes étaient bilatéraux dans 97 % des cas. Par ailleurs, 58 % des chevaux présentaient une hypoplasie irienne, les classant dans la forme la plus sévère du syndrome, le phénotype ACOM. À l'examen de la rétine, un cheval présentait des kystes, cinq présentaient des décollements.

Anomalies			%
Phénotype kystes			87
ACOM			35
	Dont	Diminution de la réponse à la lumière	100
		Cataracte	85
		Cornea globosa	56
		Angle irido- cornéen anormal	21
		Décollement rétinien	13
		Luxation du cristallin	8

Tableau VI : Synthèse des lésions observées chez 77 Comtois d'après (Depecker et al., 2013)

Un lien clair entre génotype et phénotype a pu être établi : tous les chevaux homozygotes pour la mutation *silver* montraient un phénotype ACOM, et tous les hétérozygotes sauf un (un poulain âgé d'un mois) présentaient un phénotype kystique. En revanche, les trois chevaux exempts de la mutation *silver* ne présentaient aucune anomalie. Il convient toutefois de noter que les individus de cette étude avaient été sélectionnés pour leur diversité génotypique, incluant des robes atypiques pour la race (bai), ce qui limite l'évaluation de la prévalence dans la population générale (Figure 44).



Figure 44 : Différentes robes du Comtois et hypoplasie irienne (Depecker et al., 2013)

À gauche : Cheval hétérozygote bai silver avec crins blancs (gauche), cheval homozygote sauvage, bai avec crins noirs (droite)

À droite : Hypoplasie irienne (Grade 2) et cornée globuleuse chez un cheval adulte homozygote porteur, présentant un phénotype d'ACOM

Une seconde étude (Ségard et al., 2013) a évalué les performances de l'échographie transpalpébrale dans la détection des anomalies oculaires associées au syndrome ACOM, chez 67 chevaux comtois et 18 Rocky Mountain. Après détermination du statut *silver* (examen du phénotype de robe et de crins ou génotypage en cas de difficulté), chaque cheval a subi un examen ophtalmologique, puis échographié par un imageur aveugle des résultats précédents.

Les résultats ont montré que tous les chevaux porteurs de la mutation *silver* présentaient au moins une anomalie détectable. Parmi eux, 45 % présentaient une anomalie, 11 % deux, et 44 % trois ou plus. L'échographie s'est révélée significativement plus sensible que l'examen direct à l'ophtalmoscope pour la détection des kystes (Figure 45), tout en permettant d'en préciser la taille, la localisation et le nombre.

En revanche, l'hypoplasie iridienne était mieux évaluée à l'ophtalmoscope. L'étude a également mis en évidence une profondeur accrue de la chambre antérieure chez les hétérozygotes par rapport aux non-porteurs, et plus encore chez les homozygotes. La même tendance a été observée pour l'épaisseur de l'uvée (Figure 46).

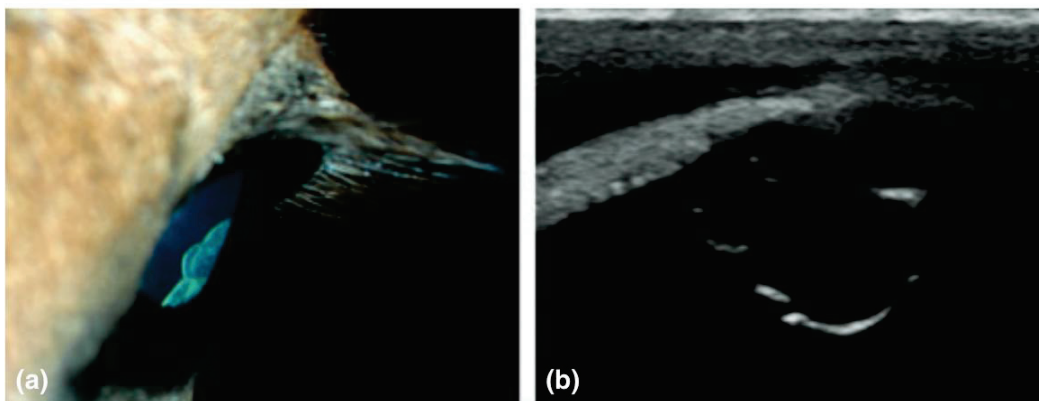


Figure 45 : Aspect macroscopique et échographique de kystes chez un Comtois, d'après (Ségard et al., 2013)

À gauche : Photographie de l'œil d'un cheval Comtois montrant de multiples et volumineux kystes translucides provenant de la portion temporale du corps ciliaire.

À droite : Coupe horizontale de la région temporale de l'œil, illustrant chez un autre cheval l'aspect échographique de la même lésion : multiples structures arrondies, anéchogènes, limitées par de fines parois, situées à la face postérieure du corps ciliaire.

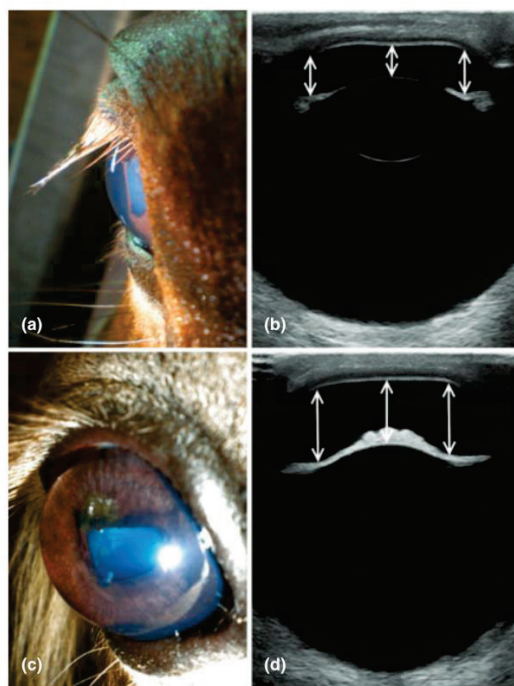


Figure 46 : Comparaison d'un oeil normal et d'une cornea globosa en observation direct et échographique, chez un Comtois d'après (Ségard et al., 2013)

- (a) Photographie de l'œil droit d'un cheval Comtois adulte, présentant un rayon de courbure cornéen normal.
- (b) Image échographique correspondante : la chambre antérieure est de taille normale.
- (c) Photographie de profil de l'œil droit d'un cheval Comtois adulte montrant une protrusion excessive marquée du globe, caractéristique d'une cornea globosa.
- (d) Image échographique correspondante : augmentation de la profondeur de la chambre antérieure, sans modification de la taille du vitré, avec amincissement de l'uvée antérieure.

Une dernière étude de cas (Oosterlinck, 2015) a rapporté pour la première fois des images IRM d'un œil atteint de syndrome ACOM chez une jument comtoise bai *silver* de quatre ans, admise pour une kératite bilatérale persistante. L'examen clinique montrait une *cornea globosa* bilatérale, un blépharospasme, une diminution des réflexes à la menace et photomoteurs, et une faible réponse aux mydriatiques, suggérant une baisse d'acuité visuelle. L'examen échographique avait révélé des kystes ciliaires temporaux.

L'IRM réalisée post-euthanasie a montré :

- En séquence T1W, un signal hyperintense irrégulier du corps ciliaire qui apparaît irrégulier et dilaté, et une cornée irrégulière et aplatie,
- En séquence FLAIR, un corps ciliaire dilaté avec un centre hypointense, compatible avec une lésion kystique,

- En séquence T2W, une poche hyperintense à la surface cornéenne a été visualisée (Figure 47 A).

L'analyse histologique a confirmé la présence de kystes ciliaires, entourés d'un épithélium non pigmenté, lui-même cerné d'un épithélium pigmenté et de stroma (Figure 47 B). Elle a également révélé une atrophie rétinienne diffuse, une absence multifocale des photorécepteurs, des vacuoles dans les cellules ganglionnaires, des zones de décollement rétinien, ainsi que des lésions cornéennes (ulcérations, œdème, infiltration neutrophilique) (Figure 47 C).

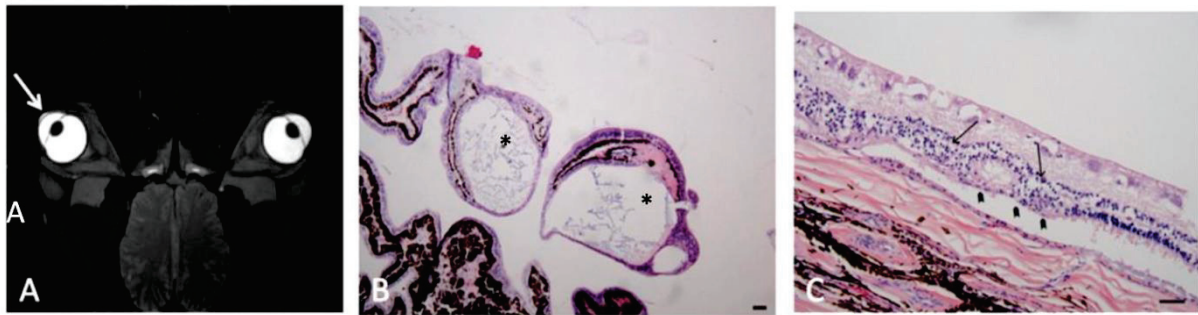


Figure 47 : Image IRM et coupes histologiques des yeux d'une jument Comtoise atteinte d'ACOM, d'après (Oosterlinck, 2015)

(A) Séquence T2 révélant une poche hyperintense à la surface de la cornée droite

(B) Kystes ciliaires (*) délimités par de l'épithélium non pigmenté

(C) Rétine de l'œil gauche avec désorganisation des couches : mélange multifocal, atrophie des couches interne et externe des noyaux (flèche) et perte de la couche des cônes et bâtonnets (flèches grasses).

Une thèse de 2019 (WEIGEL, 2019) a approfondi les caractéristiques histopathologiques du syndrome à partir de 10 yeux de huit Comtois, majoritairement énucléés à visée thérapeutique. Outre des kératopathies, cataractes, hypopions, myosis persistants, mégaloconées et détachements de rétine, notés à l'examen ophtalmologique, les anomalies histologiques les plus fréquentes concernaient la pars plicata des corps ciliaires. Les kystes observés variaient en nombre (1 à 15) et en taille (< 200 μm à > 1 cm), et contenaient un liquide basophile amorphe. Ils étaient systématiquement associés à une prolifération épithéliale, limitée ou diffuse. Une prolifération de l'épithélium pigmentaire de l'iris et la formation de structures papillaires provenant de l'iris et ressemblant aux procès ciliaires, pouvant engendrer des kystes,

ont aussi été décrites (Figure 48). Des décollements rétiniens pathologiques ont été objectivés dans deux cas.

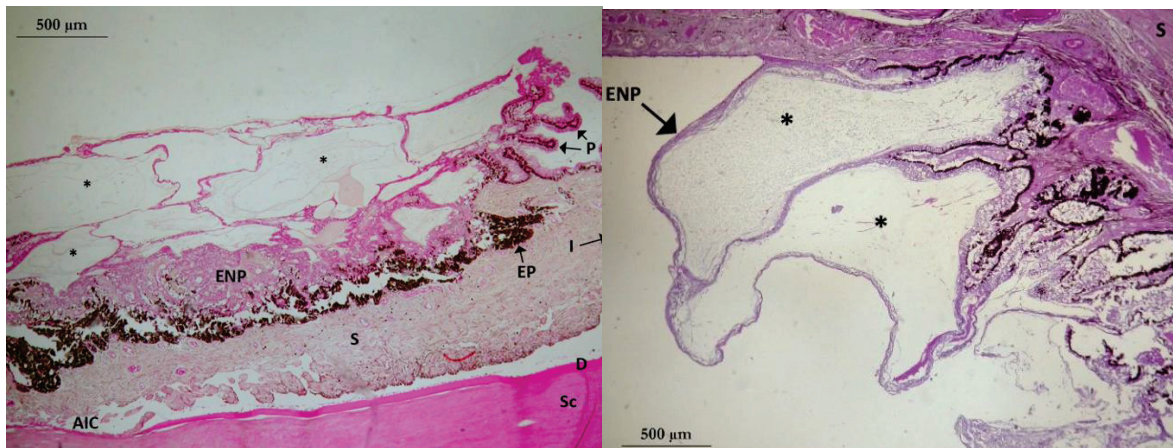


Figure 48 : Photographies de kystes du corps ciliaire de tailles différentes, d'après (WEIGEL, 2019)

*Légende : * : kyste, I : iris, AIC : angle irido-cornéen, P : procès ciliaires, EP : épithélium pigmenté, ENP : épithélium non pigmenté, S : stroma, D : membrane de Descemet, Sc : sclère*

Enfin, L'étude de J. Laffitte a permis de caractériser précisément les lésions histologiques associées au syndrome ACOM chez le cheval Comtois. Elle met en évidence une dysplasie des corps ciliaires, touchant surtout l'épithélium non pigmenté, à l'origine de la formation de kystes et d'hyperplasies. Ces kystes, toujours tapissés par un épithélium non pigmenté, semblent résulter d'une hyperplasie dégénérative plutôt que d'un décollement entre les deux couches épithéliales.

Les lésions s'étendent également à l'iris, avec des kystes, des inversions des couches épithéliales, des hyperplasies et parfois des zones d'hypoplasie. L'ensemble suggère une migration des anomalies épithéliales des corps ciliaires vers l'iris, confirmée par la présence de proliférations ressemblant à des procès ciliaires.

Concernant la rétine, si plusieurs types d'anomalies ont été décrits dans la littérature (dysplasies, décollements, atrophie, vacuoles ganglionnaires), l'étude de J. Laffitte n'a pas permis de les mettre en évidence, probablement en raison d'artéfacts liés à la préparation histologique.

Un point marquant est la distribution préférentielle des lésions en quadrant temporal, où elles apparaissent plus fréquentes et plus sévères.

En conclusion, le travail de J. Laffitte démontre que le phénotype Silver est à l'origine d'une anomalie congénitale, se traduisant par une dysplasie des corps ciliaires et de l'iris, principalement dans leur épithélium non pigmenté, et responsable de kystes et d'hyperplasies caractéristiques du syndrome ACOM chez le Comtois.

3. Synthèse

Race	Etude(s)	Méthode d'examen	Signes cliniques majeures	Lien génétique (mutation silver)	Notes
Rocky Mountain / Kentucky Mountain	(Grahn et al., 2008)	Transillumination, biomicroscope, ophtalmoscope indirect	Kystes uvéaux temporaux, traces curvilignes, hypoplasie irienne, mégaloépharion	Transmission dominante à pénétrance incomplète suggérée	50 % atteints ; critique méthodologique en 2009
Miniature	(Plummer & Ramsey, 2011)	Lampe à fente, ophtalmoscope binoculaire, lentille convergente	100 % des "chocolat" avec kystes, ACOM sévère chez un aubère silver	Corrélation couleur robe / mutation silver, pas de test génétique fait	Forte prévalence liée à robe silver suspectée
Poney	(Komáromy et al., 2011), (Premont et al., 2013)	Lampe à fente, ophtalmoscope binoculaire indirect, tests de Schirmer, Tonopen, échographie, génotypage	Kystes, anomalies de cornée, cataractes, subluxation cristallin, uvéite	Tous les homozygotes mutés : phénotype ACOM	Phénotypes sévères chez homozygotes ; hétérozygotes modérés
Islandais	(Andersson et al., 2011)	Lampe à fente, ophtalmoscope binoculaire, histologie, génotypage	Kystes irido-ciliaires, mégalocornée, atrophie rétinienne	100 % ACOM chez homozygotes, hétérozygotes kystiques	Preuve d'ancienneté de la mutation dans la race
Comtois	(Depecker et al., 2013), (Ségard et al., 2013), (Oosterlinck, 2015)	Ophtalmoscopie, échographie transpalpebrale, IRM, histopathologie	Kystes ciliaires bilatéraux (87 %), hypoplasie irienne, mégalocornée, décollements rétiens	100 % des homozygotes ACOM, hétérozygotes kystiques	IRM et histologie : données précises sur l'anatomie pathologique

Tableau VII : comparatif du syndrome ACOM chez les chevaux aux travers de plusieurs études (Andersson et al., 2011; Depecker et al., 2013; Grahn et al., 2008; Komáromy et al., 2011; Plummer & Ramsey, 2011; Premont et al., 2013; Oosterlinck, 2015; Ségard et al., 2013)

Points communs entre les races :

- Forte association entre la mutation *silver* et les anomalies oculaires.
- Les homozygotes sont systématiquement plus sévèrement atteints.
- La forme la plus sévère, le syndrome ACOM, s'accompagne souvent de mégalocornée, de kystes ciliaires multiples et d'hypoplasie irienne.
- Les kystes sont typiquement situés en région temporale de l'œil.
- Une pénétrance variable, en particulier chez les hétérozygotes.
- La mutation a probablement une origine ancienne, partagée entre les races.

Apports spécifiques par race :

- Rocky Mountain : race fondatrice dans la description du syndrome, très étudiée en lien avec la génétique du phénotype silver.
- Islandais : études pionnières montrant que le syndrome ACOM n'est pas limité aux races américaines.
- Comtois : race ayant fait l'objet des examens les plus poussés (IRM, échographie, histologie) ; données riches sur la morphologie kystique, les caractéristiques histopathologiques et les différences de profondeur de la chambre antérieure.

V. Ce qu'il faut retenir

Les différentes études réalisées à ce jour sur le syndrome ACOM ont permis de mettre en évidence deux phénotypes distincts chez les chevaux porteurs de la mutation dominante *silver* du gène *PMEL17*. Les chevaux hétérozygotes (*Z/z*) présentent généralement un phénotype kystique, caractérisé par la présence de kystes au niveau des corps ciliaires ou de l'iris, le plus souvent en région temporale. Les chevaux homozygotes mutés (*Z/Z*) présentent quant à eux un phénotype ACOM (Anomalies Congénitales Oculaires Multiples), associant ces kystes à une combinaison variable d'autres anomalies telles que l'hypoplasie irienne, la mégalocornée, le myosis, des anomalies rétinienne, ou encore des décollements de rétine. La transmission de ces anomalies est de nature semi-dominante : la pénétrance semble complète chez les homozygotes mutés, mais incomplète chez les hétérozygotes, certains d'entre eux ne présentant aucun signe clinique détectable. Il reste possible que cette pénétrance apparente soit biaisée par les limites des méthodes diagnostiques employées, notamment dans la détection des kystes les plus discrets.

Au fil des années, les études ont permis de mieux caractériser cette affection, depuis son origine génétique jusqu'à ses manifestations histologiques et cliniques. Il est désormais établi que la mutation silver, initialement identifiée chez les chevaux Rocky Mountain, est présente dans de nombreuses races équine, y compris le Comtois, les

Islandais et les Shetlands. Chez le Comtois en particulier, plusieurs travaux ont permis de relier de façon étroite les résultats des examens ophtalmologiques, échographiques, voire IRM, au statut génotypique des individus. Néanmoins, aucune étude n'a encore caractérisé de manière histologique les lésions observées chez des Comtois dont le génotype est précisément connu, ce qui représente une piste importante pour les recherches futures.

L'intérêt pour ce syndrome est renforcé par sa large distribution au sein de l'espèce équine et par les conséquences cliniques potentielles qu'il pourrait ou non entraîner, notamment une diminution de l'acuité visuelle, voire la cécité. On notera tout de même que l'évaluation de la vision chez le cheval est très difficile à mettre en place.

Enfin, la pathogénie de ces anomalies oculaires reste encore à élucider.

ÉTUDE EXPERIMENTALE

VI. Objectifs

L'objectif de cette étude est de caractériser les lésions histologiques oculaires chez des chevaux Comtois homozygotes ou hétérozygote pour la mutation *Silver* dans le cadre du syndrome ACOM.

VII. Matériels et Méthodes

Cette étude a reçu l'approbation du comité d'éthique Jacques Bonnod de VetAgro Sup (Avis n° 2130, 2021).

1. Matériel

Le matériel de cette étude s'est composé de 46 yeux fixés au formol, issus de 25 chevaux différents, et de la peau et/ou les crins de 11 de ces animaux. Quarante-cinq globes oculaires ont été obtenus par énucléations post-mortem en abattoir (21 paires et 3 solitaires, soit 21 globes droits et 24 gauches), et un œil droit a été récupéré après énucléation thérapeutique réalisée par un vétérinaire praticien. La récolte s'est étalée de 2019 à 2024 et a formé deux cohortes. La première cohorte a réuni 26 globes oculaires appartenant à 13 chevaux (matériel utilisé pour la thèse de J. LAFITTE (LAFITTE, 2023)) ; la deuxième cohorte, plus récente, s'est constituée de 20 globes oculaires issus de 12 chevaux, ainsi que de la peau et/ou des crins de 11 d'entre eux. Pour la peau/crins, le matériel est arrivé frais et il a été congelé. L'objectif de l'utilisation de ce matériel frais était de valider les résultats de l'analyse génétique.

2. Méthodes : Histologie

Après l'ablation éventuelle des paupières, la latéralité de l'œil a été précisée ou confirmée. L'orientation s'est déterminée grâce à la membrane nictitante en position ventro-nasale et au nerf optique en position ventrale ; en son absence, le nerf optique a suffi, celui-ci émergeant ventralement et se poursuivant sur un trajet médio-nasal. La seconde étape a consisté en la découpe. Une première section dorso-ventrale dans le plan frontal, réalisée un centimètre en arrière de la jonction scléro-cornéenne, a permis d'obtenir une partie antérieure (cornée, iris, corps ciliaires) et une partie postérieure (rétine, nerf optique) (Figure 49).

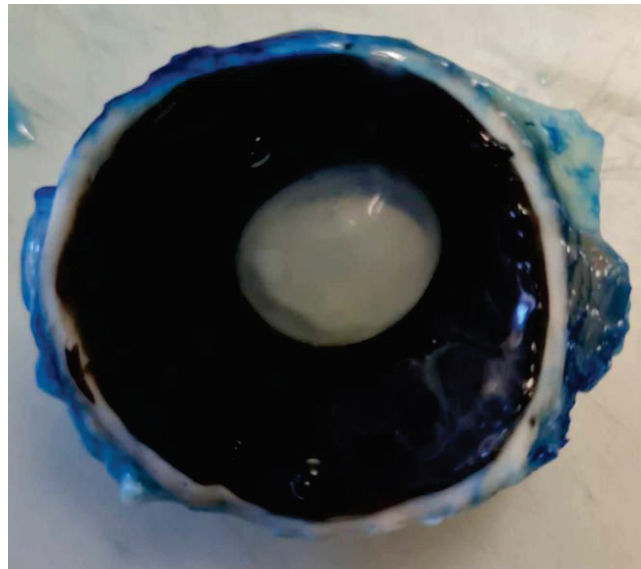


Figure 49 : Hémisphère antérieur après la première coupe d'après des photos personnelles (L. MATHY)

À partir de l'hémisphère rostral, deux coupes transversales, centrées sur l'axe longitudinal, ont permis d'obtenir un échantillon de 3 millimètres d'épaisseur. Celui-ci a ensuite été divisé par une coupe sagittale, isolant la portion temporale (cassette A) et la portion nasale (cassette B).

L'hémisphère caudal a fait l'objet de deux coupes sagittales, centrées latéro-médialement et passant par le nerf optique, afin d'obtenir un échantillon similaire. Une coupe transversale l'a ensuite séparé en portion dorsale (cassette C) et portion ventrale avec nerf optique (cassette D).

Enfin, si le cristallin ne s'était pas détaché lors de la première section, il a été retiré par simple traction et coupé selon un axe antéro-postérieur (cassette E) (Figure 50).

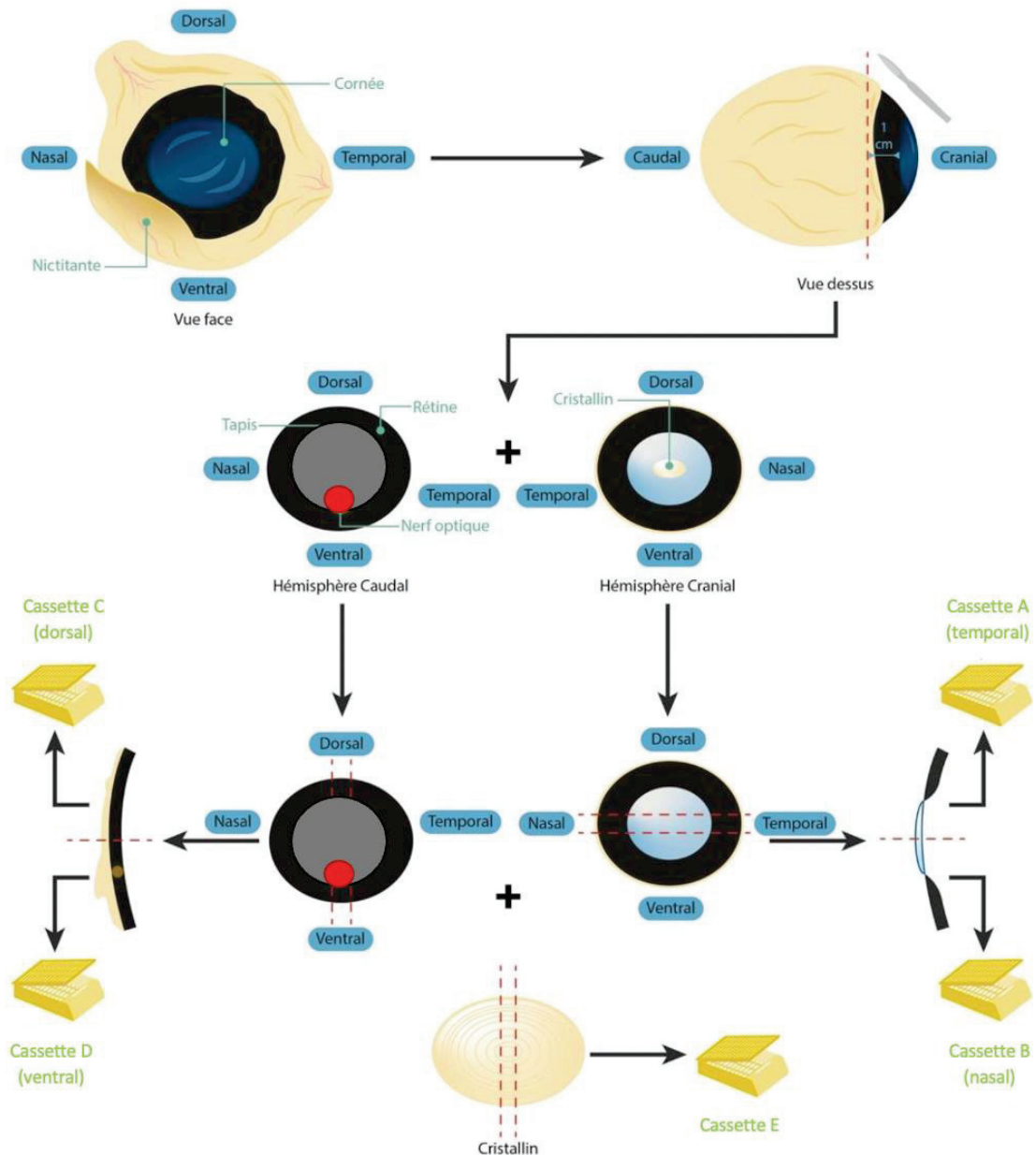


Figure 50 : Schéma explicatif du protocole de découpe -modifiée d'après l'illustration de Henrique S. Fernandes

Une première coupe dorso-ventrale dans le plan frontal est effectuée pour obtenir les hémisphères antérieurs et postérieurs.

Pour l'hémisphère rostral, un échantillon de 3 millimètres est obtenu grâce à deux coupes transversales, passant au centre de la cornée, avant d'être divisé en échantillons temporal (cassette A) et nasal (cassette B) par une coupe sagittale.

Pour l'hémisphère caudal, un échantillon de 3s millimètres est obtenu grâce à deux coupes sagittales, en passant par le nerf optique, avant d'être divisé en échantillons dorsal (casette C) et ventral (casette D) par une coupe transversale.

Un échantillon de 3 millimètres est enfin obtenu par deux coupes sagittales du cristallin (casette E).

Les sections mises en cassettes ont été déshydratées à l'aide du LOGOS ONE® (Milestone Srl, Italie), puis incluses en paraffine. A partir de chaque bloc, une coupe de 3 µm d'épaisseur a été réalisée avec un microtome HM-355S® (Epredia, Thermo Fisher Scientific, États-Unis) et colorée à l'hématoxyline-éosine à l'aide de l'automate de coloration MYREVA SS-30® (Especialidades Médicas MYR, Espagne).

La lecture a été réalisée à l'aveugle par rapport au statut génétique. Les lésions ont été décrites. Les lésions « kystes » et « hyperplasie de l'épithélium non-pigmenté » ont été évalués de manière semi-quantitative (Tableau VIII), localisées (iris ou corps ciliaires) et latéralisées (nasale ou temporale).

Type de lésion	Score 0 = Absence	Score 1 (Mineur)	Score 2 (Modérée)	Score 3 (Sévère)
Kystes	0	Peu et/ou petit	Modérés en nombre et/ou en taille	Nombreux et/ou très grand en taille
Hyperplasie épithélial (ENP)	0	2-3 couches de cellules	4-5 couches de cellules	>5 couches de cellules

Tableau VIII : Grade des lésions kystiques et d'hyperplasie de l'épithélium non-pigmenté (ENP).

3. Méthodes : Génétique

a. Extraction d'ADN

Afin de réaliser l'analyse génétique, pour chaque animal, le bloc contenant le plus de tissu a été sélectionné, et 10 coupes de 8 µm d'épaisseur ont été réalisées au microtome nettoyé préalablement au DNase Away (10 sections de 8 µm, après éliminations des premières). L'ADN a ensuite été isolé avec le kit NucleoSpin DNA FFPE XS (Macherey-Nagel®, Allemagne). Le déparaffinage a été réalisé avec le Paraffin Dissolver du kit (5 min, 60 °C), suivi de l'ajout du tampon de lyse FL du kit et d'une incubation sur la nuit à 56 °C avec de la protéinase K. Une étape de decrosslinking (30 min, 90 °C, tampon D-Link du même kit) a ensuite permis de casser

les ponts générés par le formol dans les molécules d'ADN. L'ADN a été récupéré par fixation sur colonne de silice, lavé deux fois au tampon B5, puis élué en deux étapes avec tampon BE. Une incubation finale à 90 °C (5 min) a éliminé les résidus d'éthanol. Les échantillons ont ensuite été conservés à 4°C pour le dosage à -20°C avant réalisation des PCR.

Pour les échantillons frais, nous avons sélectionné l'échantillon le plus riche (fragment de peau et/ou bulbes pileux). Les échantillons de peau ont préalablement été coupés en petits morceaux avant d'être transférés dans le tampon de lyse du kit NucleoSpin Tissue XS for DNA (Macherey-Nagel®, Allemagne). L'extraction d'ADN a ensuite suivi les mêmes étapes de lyse, de fixation sur colonne de silice et de lavages que pour les échantillons en paraffine, mais en utilisant le kit spécifique NucleoSpin Tissue XS for DNA (Macherey-Nagel®, Allemagne).

b. Dosage du matériel génétique extrait

Sur l'ensemble des 25 échantillons paraffinés et 11 frais, la concentration en ADN a été déterminée à l'aide d'un spectrophotomètre Biodrop® (Royaume-Uni), qui a mesuré également les ratios A260/A280 et A230/A260, indicateurs de la pureté de l'ADN (protéines et solvants résiduels, notamment l'éthanol). Un blanc à l'eau RNase-Free a été réalisé, puis chaque échantillon a été analysé individuellement.

Les valeurs obtenues ont figuré en annexe sous forme de tableur (Annexe 1). Pour chaque échantillon, l'automate a généré une courbe représentative du spectre d'absorbance (Figure 51), permettant d'évaluer simultanément la concentration et la qualité de l'ADN extrait.

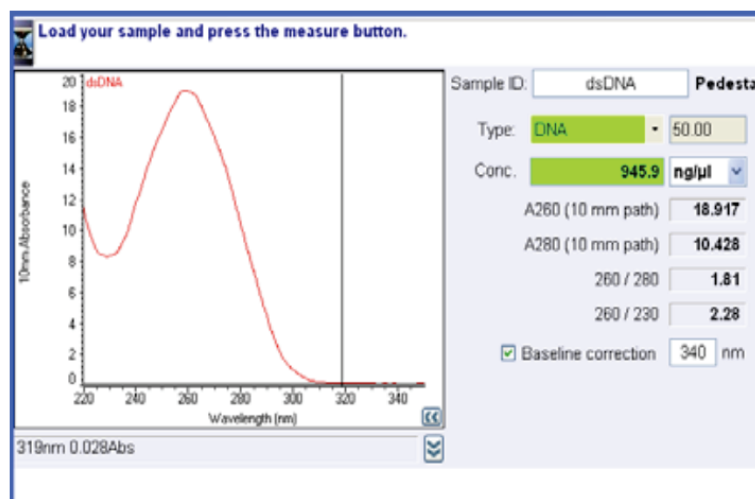


Figure 51 : Profil spectral typique des acides nucléiques, d'après la fiche technique du Spectrophotomètre NanoDrop®

c. Réalisation des PCR

L'exon 11 du gène PMEL, susceptible de présenter la mutation, a été amplifié par PCR à l'aide des amorces décrites dans la littérature (Brunberg et al., 2006; Komáromy et al., 2011) (Figure 52) :

- Forward : 5' GCA GGG AAG CTT GTA GAG TGA 3'
- Reverse : 5' TGC TCT CAC CAA AGG GGG AAG 3'

```

7501 actgcctcaa tctgtctttg gctgatgcca acagcctggc aatgggtcagc acccagcttg
7561 tcatgcctgg taggtacttg gacaagatct aggatgaagg ggagtgggca gaggctatct
7621 ggcagggagc agacactgac tgaagctgtg cctgggattc tgctcacagg tcaagaggca
7681 ggccttgggc aggcctccct gtctgtgggc atcttgctgg tcttgatggc tatgtgctt
7741 gcatctctga tatacagggt agggcccccac catccagcgt acacccctt atcccttatt
7801 accaccactc actcttcctc aaggggagaa ggaaccacca ctccctgtga ggaagcatgg
7861 tgtacaggaa ggagcccaga cttggaagtt aaacaggcct ggcttgaggt cttgctggtg
7921 agaccttggg ggaagtagcc taacctttct gagcctctga aaagtaggaa aattaatacc
7981 tgccctgtgg gggatgttgt caggattaga gacaatgtga gtaaagctgg ttctgaggca
8041 agagtgtaat aaaggatcat attgatgatt gttattaata agataaaaaa tggaggaggt
8101 tggctgaact gagttcttca cctgtaagag gggcagatcc ccaggcctgg aatgccaaag
8161 tcctcaaagc aggggaagctt gttagagtga aggggaatgg acagagggtt ccatataaac
8221 aagagaaatg aacctgtttt gtgaggagaa gaggaggcag ctaggatcaa ggccaagtaa
8281 acctgggatg tgggtgtgtc ctcttctttg gagaagcaca gacaggctgc cttgtccat
8341 tgcttaccag ttctcttctt cttctcccaa atcaggcgca gacttatgaa gcagggctca
8401 gctctccccc ttccccagct gccacacggt agaaccact ggctgcgtct gccctgggtc
8461 ttccgctctt ccccttttgg tgagagcagc cccctcctca gtgggcagca ggtctgagtg
8521 ctctcatgtg atgccatgat ttaccaggt gtggacagca atgcctctct tgtctccagt
8581 cttcccttgg agactacat tacctgaaat aaatcctcag aacctg

```

 Exons 10 et 11
 Primer forward
 Primer reverse
 Zone mutée

Figure 52 : séquence d'ADN d'intérêt pour la mutation de PMEL17 avec les primer de la littérature

Les amorces (Eurogentec®, Belgique) ont été fournies sous forme lyophilisée. La reconstitution dans le volume d'eau nuclease-free nécessaire (information fournie par le fabricant) permet d'obtenir une solution mère à 100 µM. Cette solution a ensuite été diluée au 1/10 pour obtenir une solution de travail à 10 µM. Les tubes ont été conservés à -20 °C jusqu'à leur utilisation.

Chaque réaction de PCR a été préparée dans un volume de 15 µL, comprenant 13 µL de mix Platinum® (tampon, Taq polymérase et dNTPs) (Thermo Fisher Scientific/Invitrogen®, États-Unis) et 1,5 µL de chaque amorce, pour une concentration finale de 1 µM.

Pour chaque réaction, 90 ng d'ADN ont été déposés dans les tubes de PCR et ajustés avec de l'eau nuclease-free à un volume de 10 µL. Les 15 µL de mélange réactionnel ont ensuite été ajoutés, portant le volume final à 25 µL.

Un témoin négatif a été inclus, contenant le mélange réactionnel et les amorces, sans ADN matrice.

Les cycles de PCR ont été réalisés selon les conditions décrites dans la littérature (Brunberg et al., 2006; Komáromy et al., 2011) : dénaturation initiale 10 min à 95 °C ; 35 cycles (30 s à 94 °C, 30 s à 56 °C, 1 min à 72 °C) ; élongation finale 10 min à 72 °C ; conservation à 4 °C.

d. Migration sur gel d'agarose

Pour chaque échantillon, 10µL d'ADN ont été mélangés à du bleu de charge et complété avec de l'eau nucléase-free. Un marqueur de taille (ladder) a également été préparé afin d'estimer la taille des fragments amplifiés. Les échantillons ont ensuite été déposés sur un gel d'agarose à 2 % préparé avec du tampon TBE 0,5× et placé dans une cuve d'électrophorèse contenant le même tampon.

La migration a été effectuée dans un appareil d'électrophorèse pendant 75 minutes à 100 V, et le suivi visuel des fragments assuré par le bleu de charge.

Après migration, le gel a été incubé 30 minutes à l'obscurité dans une cuve de révélation contenant du tampon TBE 0,5× et du SYBR Gold® (Thermo Fisher Scientific/Invitrogen®, États-Unis). Les produits d'amplification ont ensuite été

visualisés à l'aide du système UV Smart Viewer (Eurogentec®, Belgique). La taille de l'amplicon attendu a été de 318 pb.

e. Séquençage

Les produits de PCR issus des échantillons en paraffine et frais ont été envoyés pour séquençage chez Genoscreen® (Lille, France) avec les mêmes amorces que celles utilisées pour la PCR. Les chromatogrammes obtenus ont été fournis au format numérique et analysés avec le logiciel Chromas Pro, version 1.4.2.0 (Technelysium Pty Ltd, Australie).

Les chromatogrammes générés ont confirmé la qualité des séquences et permis l'identification des génotypes de l'ensemble des animaux étudiés. Les animaux ont été considérés homozygotes sauvages lorsque les chromatogrammes présentaient uniquement la base C (forward : C / reverse : G), hétérozygotes lorsque les deux allèles étaient visibles par la superposition des pics C et T (forward) / G et A (reverse), et homozygotes mutants lorsque la substitution C → T apparaissait seule (forward : T / reverse : A), correspondant à la mutation Arg618Cys de la protéine PMEL17.

La validation de l'extraction d'ADN, de l'amplification et du séquençage de la région mutée à partir des blocs de paraffine a été effectuée en comparant les résultats génotypiques obtenues à partir de tissus frais et de blocs de paraffine chez 11 chevaux.

4. Méthodes : Statistiques

Les comparaisons de proportions ont été réalisées par test du χ^2 ou test exact de Fisher lorsque les effectifs étaient limités. Le seuil de significativité a été fixé à $p < 0,05$.

Les critères de comparaison retenus pour les kystes et l'hyperplasie de l'ENP ont été le statut génétique (homozygote sauvage, mutant ou hétérozygote), la latéralité (œil droit/gauche), la localisation (iris/corps ciliaires) et la topographie (nasale/temporale).

VIII. Résultats

1. Génétique

a. Extraction d'ADN

A partir des coupes en paraffine, la quantité d'ADN extraite a été très faible, parfois inférieure à 5 ng en raison du faible nombre de cellules dans l'échantillon, l'œil étant une structure creuse. Pour certains échantillons, plusieurs essais ont été nécessaires afin d'obtenir du matériel génétique en quantité et de qualité suffisante pour la réalisation de la PCR. Les résultats de ces extractions sont présentés dans l'annexe 1.

A partir des tissus frais, l'extraction d'ADN a été plus facile la peau étant beaucoup plus riche en cellules et donc en matériel génétique. Dans le cas de bulbes pileux cependant, le matériel génétique était beaucoup plus limité et l'extraction d'ADN parfois non concluante (annexe 1).

b. Réalisation des PCR et visualisation des amplicons sur gels d'agarose

De façon surprenante, à l'issue de ces 2 PCR réalisées à partir des 2 ADN extraits de tissus différents, les images des gels PCR ont montré la présence de 2 bandes très proches de tailles attendues (figure 53). Pour chaque échantillon, lorsque ces 2 bandes étaient bien visibles sur le gel, le produit de PCR a été séquencé.

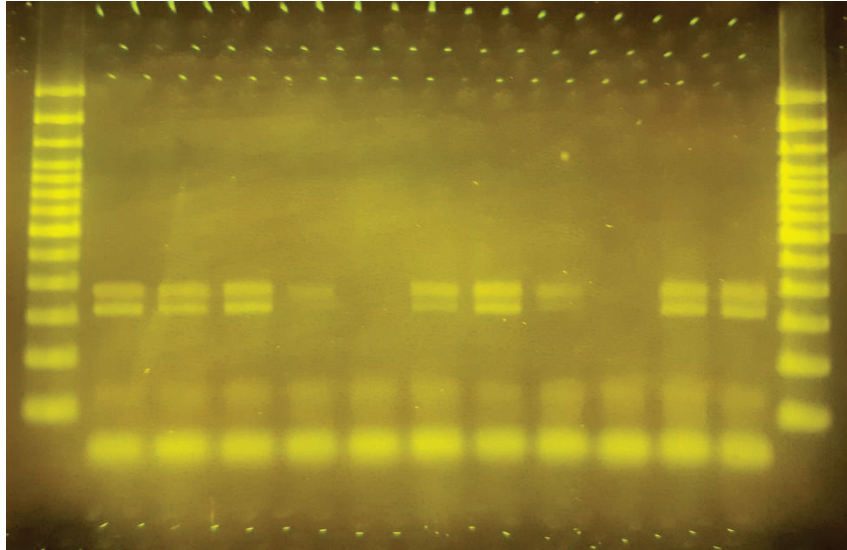
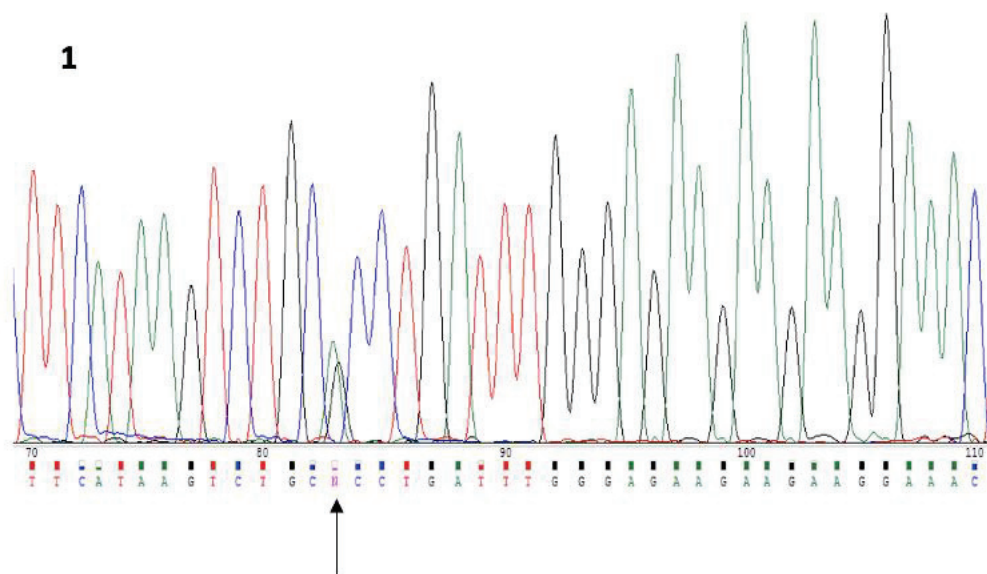


Figure 53 : Exemple de résultat de gel obtenu après la PCR, ainsi 4/11 des échantillons ont dû être amplifiés de nouveau pour continuer le séquençage ; d'après photo personnelle de N. MILHAU.

c. Séquençage

Dans le cas des échantillons provenant de blocs en paraffine, les PCR et le séquençage ont été réalisés en triplicat sur chaque globe oculaire, afin de s'assurer de la fiabilité de nos résultats. Pour 6 échantillons pour lesquels les résultats étaient douteux, une 4ème analyse a été effectuée. Dans le cas des échantillons frais, les analyses ont été réalisées en duplicat. Les résultats obtenus sont présentés tel que la figure 54 puis analysés pour obtenir les génotypes présents dans le tableau IX.



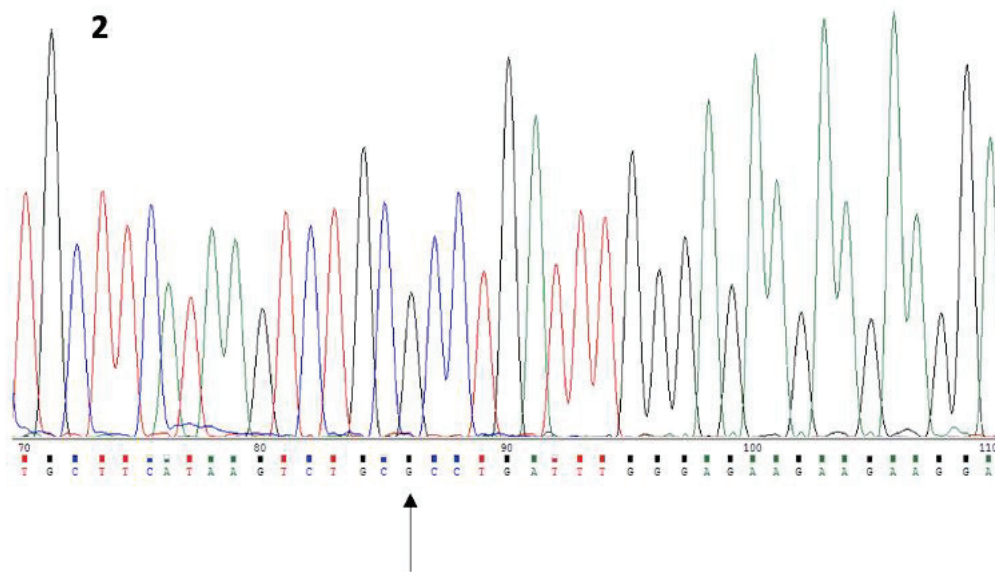


Figure 54 : Exemples de chromatogrammes reçus

Le graphique 1 : amplicon sens reverse, la flèche indique les deux pics : c'est un individu HETEROZYGOTE.

Le graphique 2 : amplicon sens reverse, la flèche indique un pic unique avec un base G : c'est un individu HOMOZYGOTE SAUVAGE.

1	hétérozygote
2	homozygote muté
3	hétérozygote
4	hétérozygote
5	hétérozygote
6	hétérozygote
7	hétérozygote
8	homozygote muté
9	homozygote muté
10	hétérozygote
11	hétérozygote
12	hétérozygote
13	hétérozygote
14	homozygote muté
15	homozygote muté
16	hétérozygote
17	homozygote sauvage
18	hétérozygote
19	hétérozygote
20	hétérozygote
21	homozygote sauvage
22	homozygote sauvage
23	hétérozygote
24	homozygote muté
25	homozygote muté

Tableau IX : Résultats du génotypage.

d. Distribution génotypique

L'analyse génétique a révélé 60 % (n=15 sur 25) d'animaux hétérozygotes pour la mutation PMEL17, 28 % d'homozygotes mutants (n=7 sur 25) et 12 % d'homozygotes sauvages (n=3 sur 25) (Figure 55).

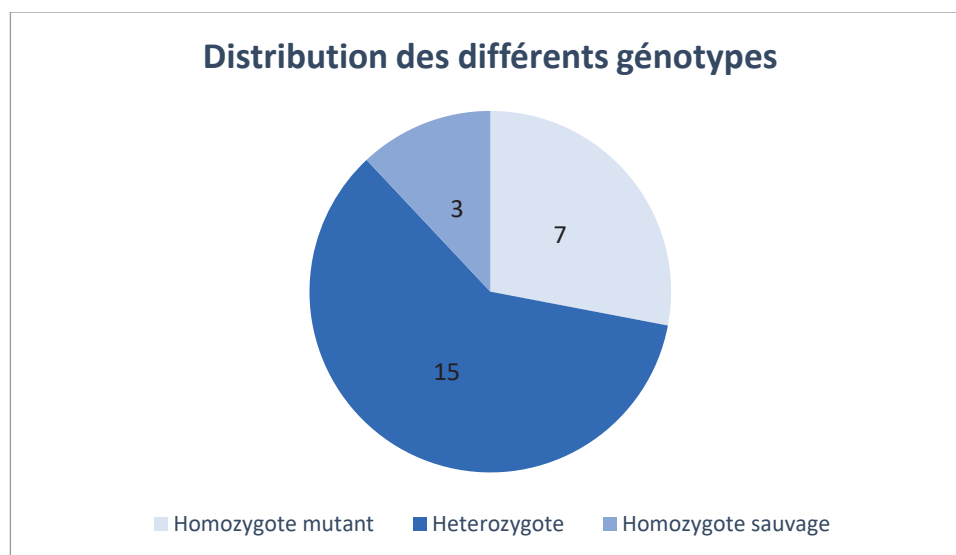


Figure 55 : Graphique de répartition des chevaux de l'étude en fonction du génotype.

2. Histologie

À l'analyse histologique du segment antérieur, les lésions plus fréquemment observées ont été des kystes et une hyperplasie de l'épithélium non pigmenté. Ces lésions sont décrites plus en détail dans les sous-chapitres suivant.

Des anomalies histologiques ont également été observées au niveau du segment postérieur et du cristallin. Ont été identifiées : une rosette rétinienne chez un hétérozygote (n=1), correspondant à des structures arrondies formées par un repliement de la rétine neurosensorielle, et des décollements rétiniens (n=5) chez trois individus homozygotes mutés et deux hétérozygotes, caractérisés par une séparation entre la rétine neurosensorielle et l'épithélium pigmentaire. Enfin, des lésions cristalliniennes de type cataracte (n=1) ont été mises en évidence chez un individu hétérozygote.

a. Les lésions kystiques

i. Description des kystes

Chez tous les chevaux présentant au moins un allèle muté (22/25), des kystes ont été observés au niveau de l'iris et des corps ciliaires. Aucun kyste n'a été observé sur l'iris ou les corps ciliaires des chevaux homozygotes sauvages (n=3).

Les kystes se sont présentés sous la forme de cavités bien délimitées, bordées par une paroi fine et régulière, composée d'un épithélium non-pigmenté (Figure 56).



Figure 56 : Kystes des corps ciliaires observés dans notre étude (x2,5).

K : Kyste ; ENP : Épithélium Non Pigmenté ; EP : Épithélium Pigmenté (Photographie personnelle)

Des kystes de taille variables et formés par de l'ENP sont visibles sur cette coupe.

ii. A l'échelle de la population

Parmi les homozygotes mutants (n = 7), 57,1 % d'animaux ont présenté des kystes des corps ciliaires de grade 3 (4/7) et 42,9 % de grade 2 (3/7), aucun kyste de grade 1 n'a été observés. Chez les hétérozygotes (n = 15), 73,3 % des animaux ont présenté des kystes de grade 3 (11/15), 13,3 % un grade 2 (2/15) et 13,3 % un grade 1 (2/15) (Figure 57).

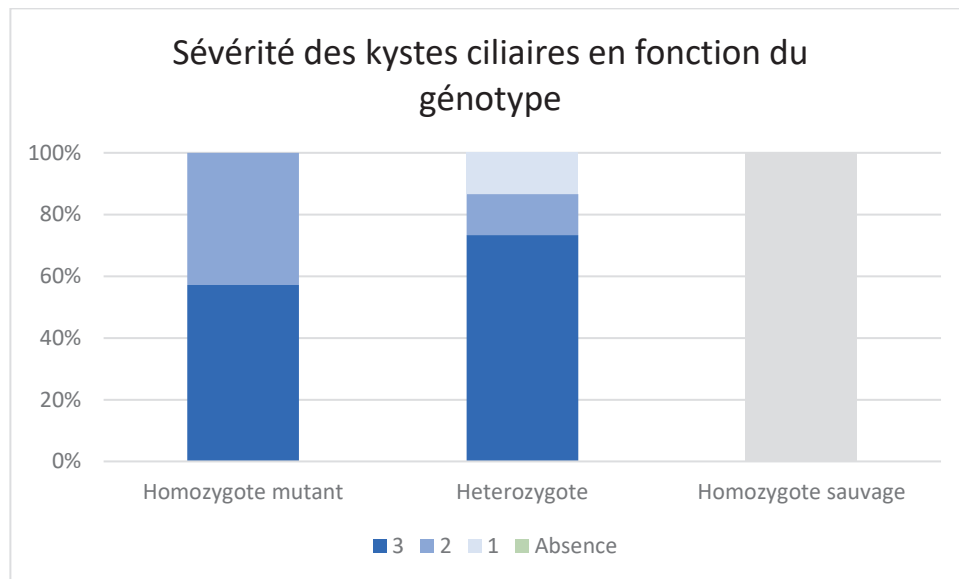


Figure 57 : Diagramme en bâton des grades de sévérité des kystes ciliaires en fonction du génotype

Sur l'iris, des kystes ont été observés sur 13 animaux parmi les 22 présentant un allèle muté. Chez les homozygotes mutants ($n = 7$), 42,9 % des animaux ont présenté des kystes de grade 3 (3/7), 14,3 % de grade 2 (1/7), 28,6 % de grade 1 (2/7) et 14,3 % ont été indemnes (1/7). Chez les hétérozygotes ($n = 15$), 26,7 % des animaux ont présenté des kystes de grade 3 (4/15), 20,0 % de grade 1 (3/15) et 53,3 % ont été indemnes (8/15) (Figure 58).

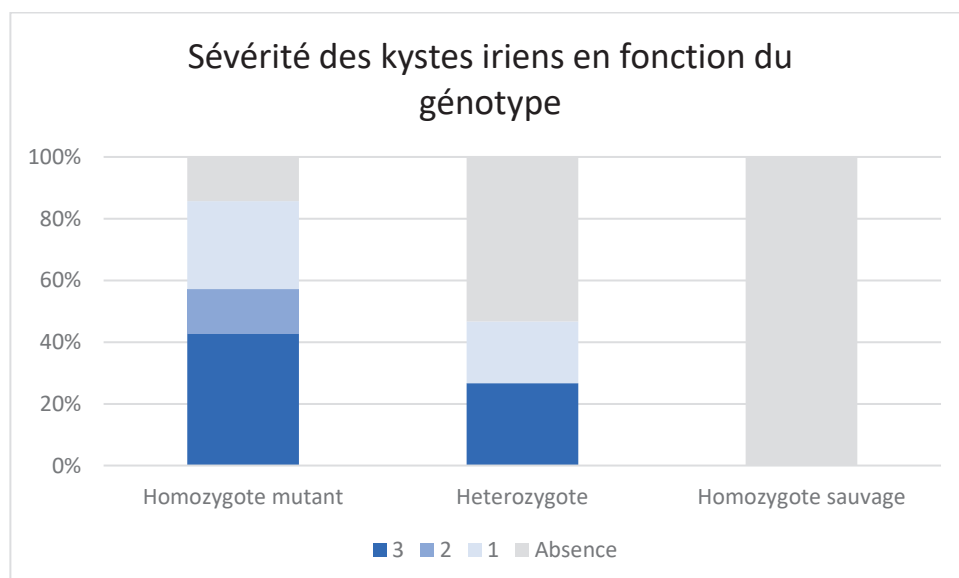


Figure 58 : Diagramme en bâton des grades de sévérité des kystes iriens en fonction du génotype

Au niveau des corps ciliaires, l'analyse statistique a montré une association hautement significative entre le génotype et la présence de kystes (test de χ^2 : $p = 8,07 \times 10^{-5}$), absents chez les homozygotes sauvages et présent chez tous les porteurs de l'allèle muté. Néanmoins, les tests statistiques n'ont pas montré de différences significatives pour la sévérité des kystes ciliaires entre les animaux hétérozygotes et homozygotes mutés.

Au niveau de l'iris, aucune association significative n'a été mise en évidence entre le génotype et la présence de kystes ($p=0,165$) ou leur sévérité (test de χ^2 : $p = 0,219$).

iii. A l'échelle de l'individu : latéralité

Pour l'œil droit ($n = 22$), 50 % des individus ont présenté un kyste irien et/ou ciliaire de grade 3 (11/22), 22,7 % de grade 2 (5/22), 9,1 % de grade 1 (2/22) et 18,2% ont été indemnes (4/22). Pour l'œil gauche ($n = 24$), 41,7 % des animaux ont présenté au moins un kyste de grade 3 (10/24), 16,7 % de grade 2 (4/24), 20,8 % de grade 1 (5/24) et 20,8 % ont été indemnes (5/24) (Figure 59). Aucune différence significative n'a été observé entre l'œil droit et l'œil gauche concernant la sévérité des lésions (test de χ^2 : $p = 0,689$).

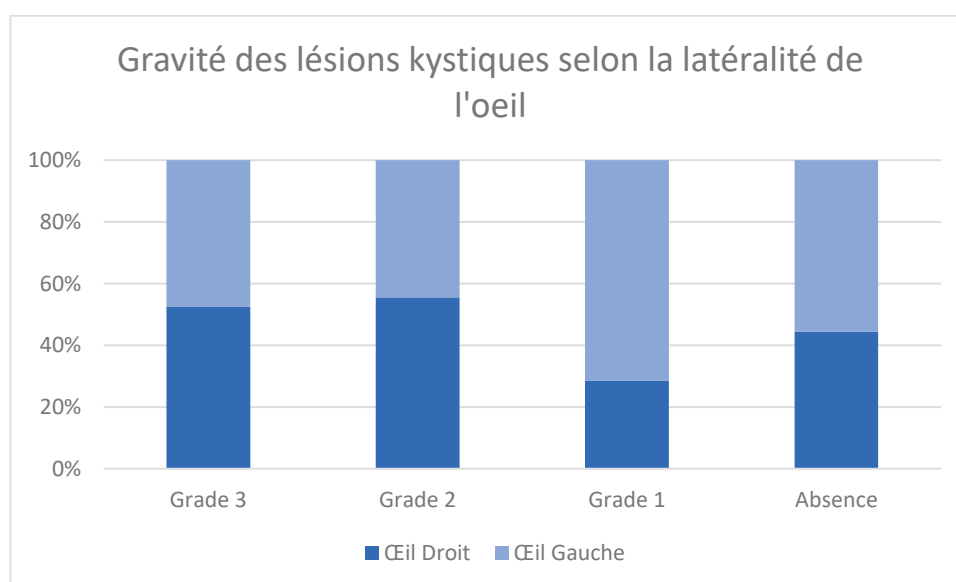


Figure 59 : Diagramme en bâton des grades de sévérité des kystes en fonction de la latéralité (droite/gauche)

iv. A l'échelle de l'organe

Zone de l'œil : iris ou corps ciliaire ?

51,1 % des coupes histologiques ont présenté des lésions kystiques sur les corps ciliaires (47/92), et 21,7% au niveau de l'iris (20/92) (Figure 60). On note que pour chacune des zones 17,4% des lames n'ont pas été analysables en raison de l'absence de la partie étudiée sur une lame ou de la présence d'artéfacts liés à la préparation (16/92).

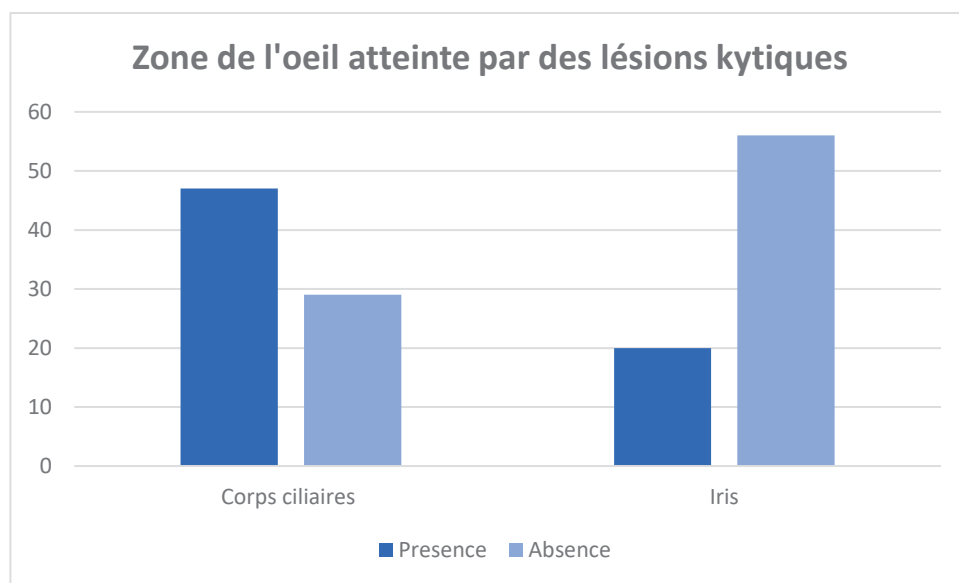


Figure 60 : Diagramme en bâton des effectifs des coupes histologiques avec ou sans lésions kystiques en fonction de la localisation (corps ciliaires / iris)

Les kystes ont été significativement plus fréquents dans les corps ciliaires que dans l'iris (Test exact de Fisher : $p = 1,77 \times 10^{-5}$; OR = 4,54).

Côté de l'œil : nasal ou temporal ?

Chez les globes oculaires analysés (n=46), la répartition des kystes ciliaires a varié selon la topographie : 32,6 % des globes oculaires (15/46) ont présenté un kyste en région nasale, et 69,6 % en région temporale (32/46) (Figure 61). Respectivement par rapport à la région, 21,7% (10/46) et 13% (6/46) des globes oculaires n'ont pas été analysables en raison de l'absence de la partie étudiée sur une lame ou de la présence d'artéfacts liés à la préparation.

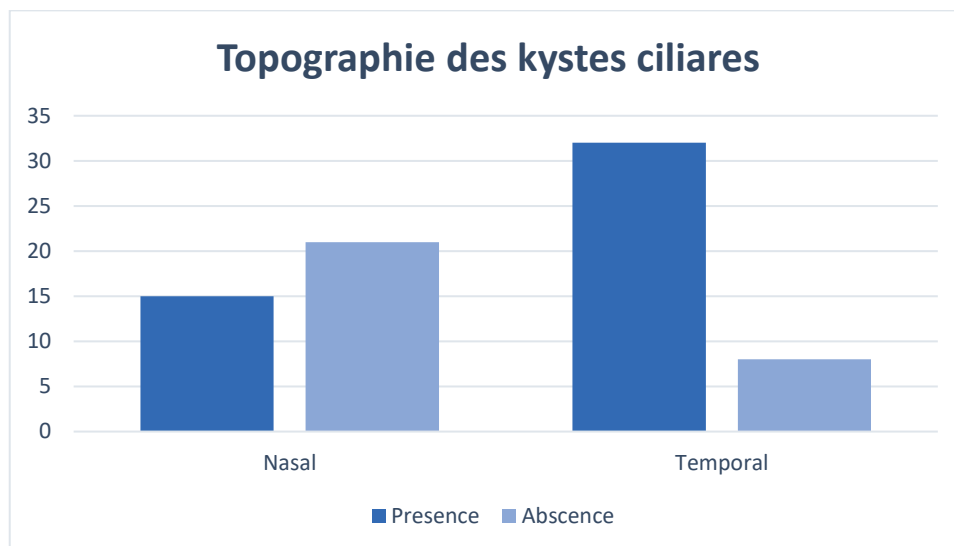


Figure 61 : Diagramme en bâton des effectifs des globes oculaires avec ou sans lésion de kyste ciliaire en fonction de la topographie (nasal/temporal)

La répartition des kystes iridiens a varié selon la topographie : 17,4 % des globes oculaires (8/46) ont présenté un kyste en région nasale, et 26,1 % en région temporale (12/46) (Figure 62). Respectivement par rapport à la région, 15,2% (7/46) et 19,6% (9/46) des globes oculaires n'ont pas été analysables en raison de l'absence de la partie étudiée sur les lames ou de la présence d'artéfacts liés à la préparation

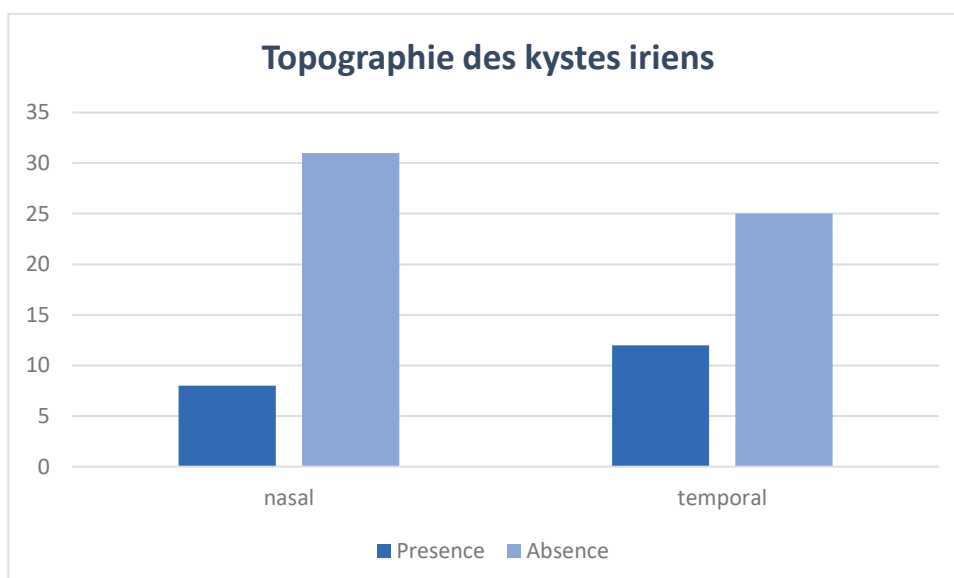


Figure 62 : Diagramme en bâton des effectifs des iglobes oculaires avec ou sans lésion de kystes iriens en fonction de la topographie (nasal/temporal)

Sur les corps ciliaires, les kystes ont été significativement plus fréquents en région temporale que nasale (Test exact de Fisher : $p = 8,6 \times 10^{-4}$; OR = 0,18).

Au niveau de l'iris, aucune différence significative n'a été observée pour la localisation (nasale ou temporale) des kystes (Test exact de Fisher : $p = 0,301$; OR = 0,538).

b. Les lésions d'hyperplasie

i. Description de l'hyperplasie de l'ENP

Chez tous les chevaux présentant au moins un allèle muté (22/25), une hyperplasie de l'ENP a été observée au niveau de l'iris et des corps ciliaires. Aucune hyperplasie de l'ENP n'a été observée sur l'iris ou les corps ciliaires des chevaux homozygotes sauvages (n=3).

L'hyperplasie de l'ENP a été caractérisée par la présence de plusieurs couches cellulaires de cellules épithéliales non pigmentées (Figure 63).

Plus précisément, 40 % (10/25) ont présenté au moins une hyperplasie de grade 3, 32 % (8/25) de grade 2, 16 % (4/25) de grade 1, tandis que 12 % (3/25) ont été indemnes.

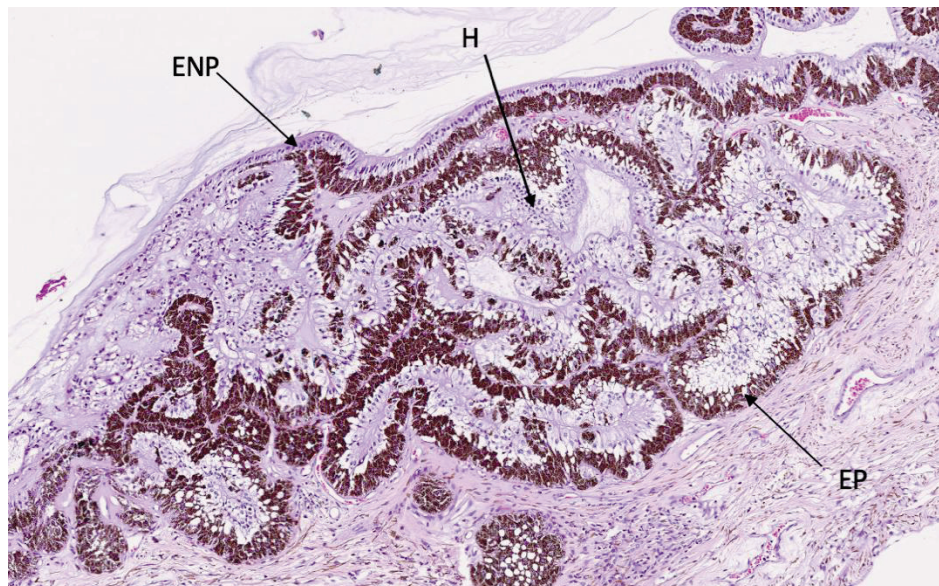


Figure 63 : Hyperplasie de l'ENP (x10).

ENP : Épithélium Non Pigmenté ; EP : Épithélium Pigmenté ; H : Zone d'hyperplasie (Photo personnelle)
Un nombre anormal de couches cellulaires compose l'ENP.

ii. A l'échelle de la population

Au niveau des corps ciliaires, chez les homozygotes mutants ($n = 7$), l'hyperplasie de l'ENP a été de grade 2 dans 71,4 % (5/7) des cas, et de grade 1 dans 28,6 % (2/7) des cas. Dans 14,3 % (1/7) des cas l'hyperplasie n'a pas été observée. Aucun cas de grade 3 n'a été observé. Les hétérozygotes ($n = 15$) ont présenté une hyperplasie de grade 3 dans 46,7 % (7/15) des cas, de grades 2 et 1 respectivement dans 26,7 % (4/15) des cas (Figure 64).

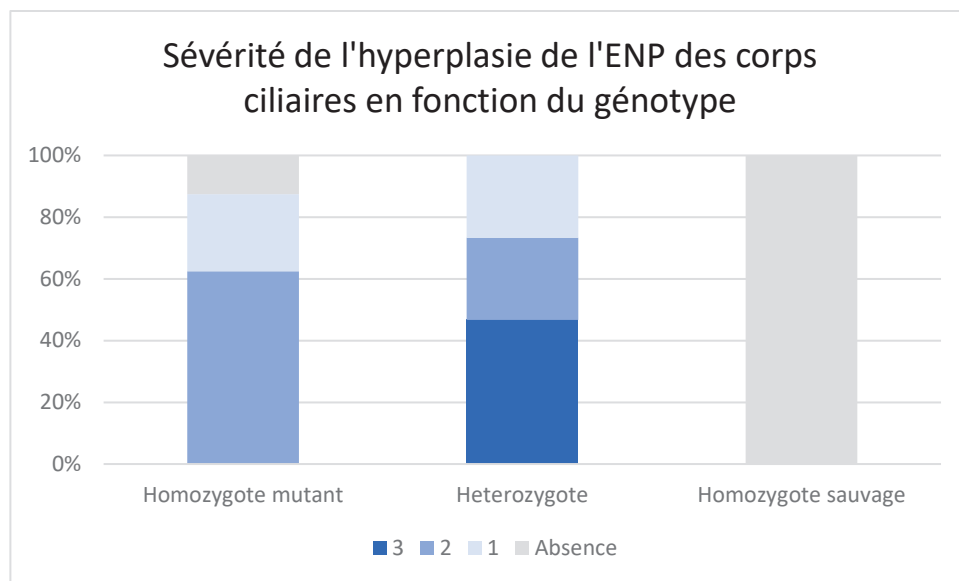


Figure 64 : Diagramme en bâton des grades de sévérité de l'hyperplasie des corps ciliaires en fonction du génotype

Au niveau de l'iris, chez les homozygotes mutants ($n = 7$), la sévérité de l'hyperplasie de l'ENP a été de grade 3 dans 14,3 % (1/7) des cas, de grade 2 dans 28,6 % (2/7), de grade 1 dans 42,9 % (3/7), et 14,3 % d'individus ont été indemnes (1/7).

Chez les hétérozygotes ($n = 15$), 20,0 % des individus ont présenté une hyperplasie de grade 3 (3/15), 13,3 % de grade 2 (2/15), 33,3 % de grade 1 (5/15) et 33,3 % ont été indemnes (5/15) (Figure 65).

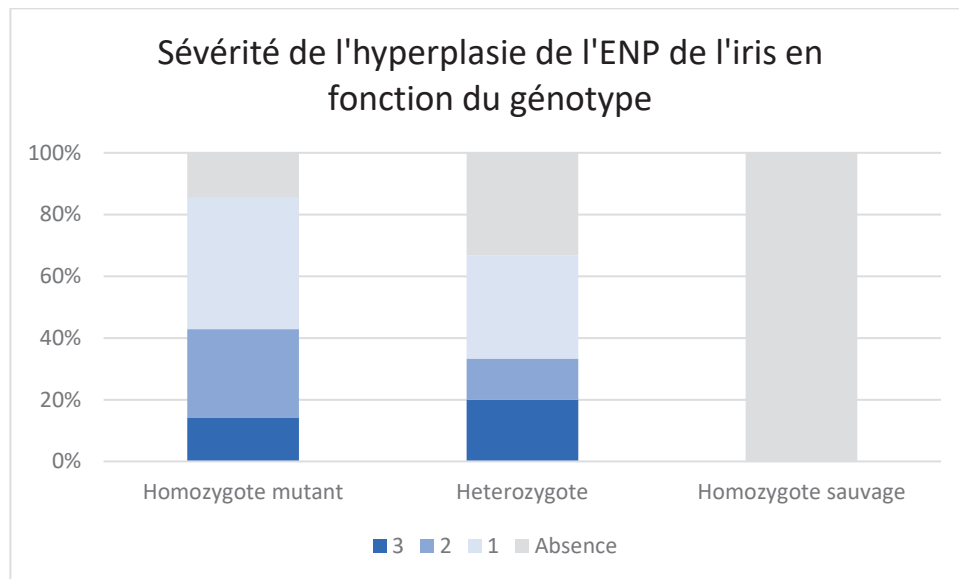


Figure 65 : Diagramme en bâton des grades de sévérité de l'hyperplasie de l'iris en fonction du génotype

Au niveau des corps ciliaires, l'analyse statistique a montré une association hautement significative entre le génotype et la présence d'hyperplasie de ENP (test de χ^2 : $p = 0,00029$), absente chez les homozygotes sauvages et quasi systématiquement présente chez les porteurs de l'allèle muté. Néanmoins, les tests statistiques n'ont pas montré de différences significatives pour la sévérité de l'hyperplasie de l'ENP des corps ciliaires pour les animaux hétérozygotes et homozygotes mutés (Test exact de Fisher : $p = 0,348$; OR = 0).

Au niveau de l'iris, aucune association significative n'a été mise en évidence entre le génotype et la présence d'hyperplasie de l'ENP (Test exact de Fisher : $p = 0,616$; OR = 3,0) ou sa sévérité (test de χ^2 : $p = 0,280$).

iii. A l'échelle de l'individu : latéralité

Pour l'œil droit ($n = 22$), 18,2 % des animaux ont présenté une hyperplasie de l'ENP irienne et/ou ciliaire de grade 3 (4/22), 36,4 % de grade 2 (8/22), 31,8 % de grade 1 (7/22) et 13,6 % ont été indemnes (3/22). Pour l'œil gauche ($n = 24$), 29,2 % des animaux ont présenté une hyperplasie de grade 3 (7/24), 29,2 % de grade 2 (7/24), 20,8 % de grade 1 (5/24) et 20,8 % ont été indemnes (5/24) (Figure 66). Aucune différence significative n'a été observée entre l'œil droit et l'œil gauche concernant la sévérité des lésions (test de χ^2 : $p = 0,544$).

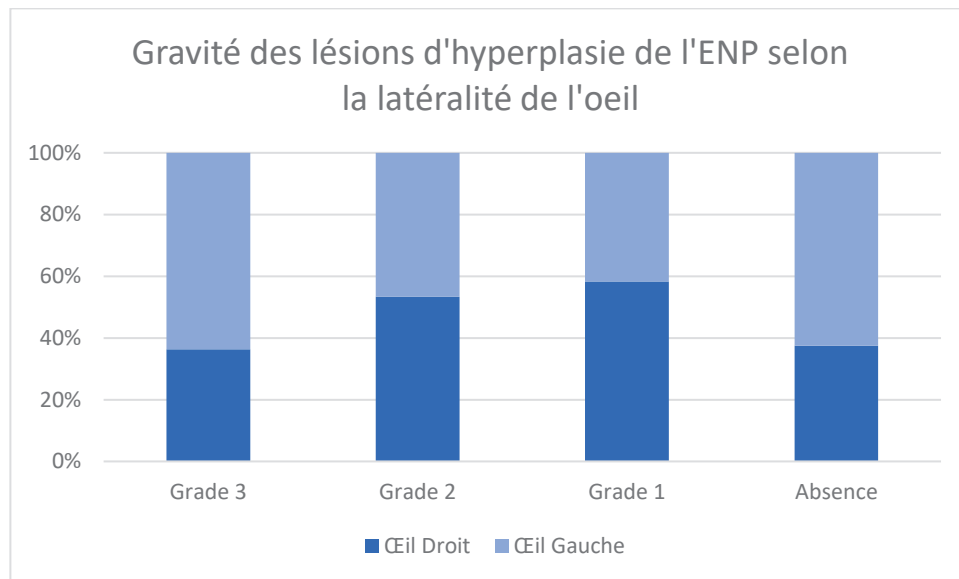


Figure 66 : Diagramme en bâton des grades de sévérité de l'hyperplasie en fonction de la latéralité (droite/gauche)

iv. A l'échelle de l'organe

Zone de l'œil : iris ou corps ciliaire ?

56,5 % des coupes histologiques analysés ont présenté une hyperplasie de l'ENP des corps ciliaires (52/92), et 34,8 % au niveau de l'iris (32/92) (Figure 67). Pour chacune des zones, 15,2% (14/92) et 17,4% (16/92) n'ont pu être respectivement analysées en raison de l'absence de la partie étudiée sur les lames ou de la présence d'artéfacts liés à la préparation.

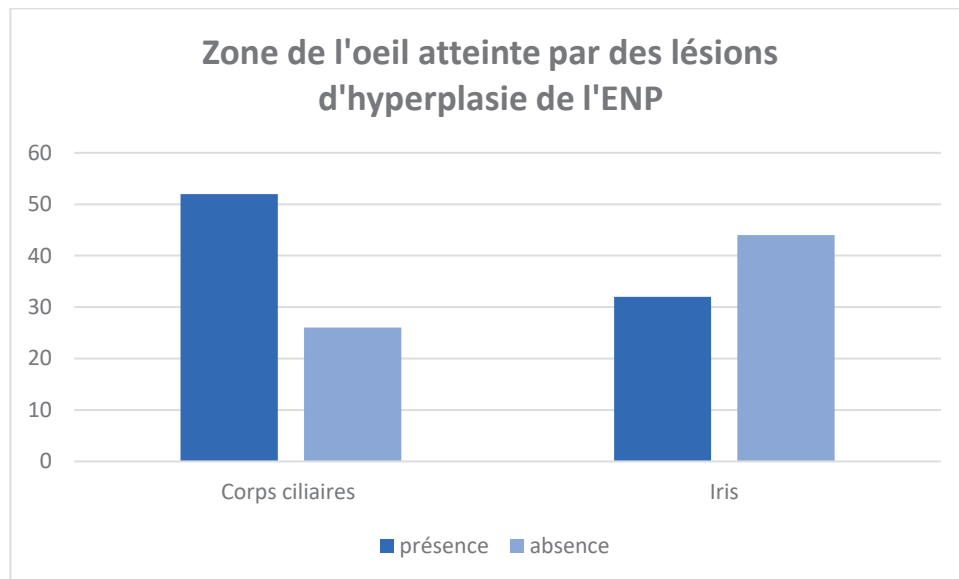


Figure 67 : Diagramme en bâton des effectifs des coupes histologiques avec ou sans lésion d'hyperplasie en fonction de la localisation (corps ciliaires / iris)

L'hyperplasie de l'ENP a été significativement plus fréquente, au niveau des corps ciliaires que de l'iris (Test exact de Fisher : $p = 0,0034$; OR = 2,75).

Côté de l'œil : nasal ou temporal ?

La répartition de l'hyperplasie de l'ENP des corps ciliaires a différé selon la topographie. Elle a été retrouvée dans 41,3 % des globes oculaires en localisation nasale (19/46), et dans 71,7 % des globes oculaires en région temporale (33/46) (Figure 68). Respectivement, 17,4% (8/46) et 13% (6/46) des globes oculaires n'ont pu être analysés en raison de l'absence de la partie étudiée sur les lames ou de la présence d'artéfacts liés à la préparation.

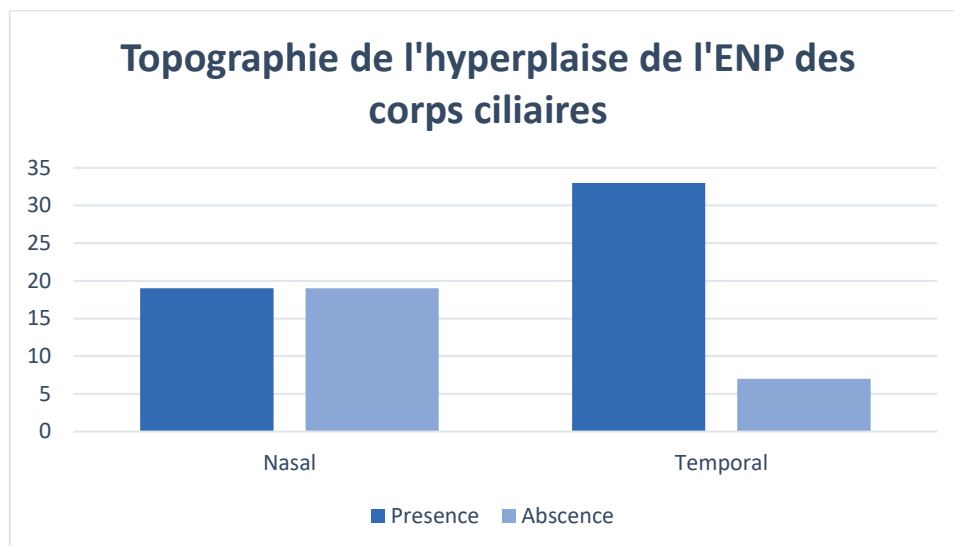


Figure 68 : Diagramme en bâton des effectifs des globes oculaires avec ou sans lésion d'hyperplasie de l'ENP des corps ciliaires en fonction de la topographie (nasal/temporal)

La répartition de l'hyperplasie de l'ENP de l'iris a varié selon la topographie : 34,8 % des globes oculaires (16/46) ont présenté une hyperplasie en région nasale, de même en localisation temporale (16/46) (Figure 69). Respectivement, 15,2% (7/46) et 19,6% (9/46) des globes oculaires n'ont pu être analysées en raison de l'absence de la partie étudiée sur les lames ou de la présence d'artéfacts liés à la préparation.

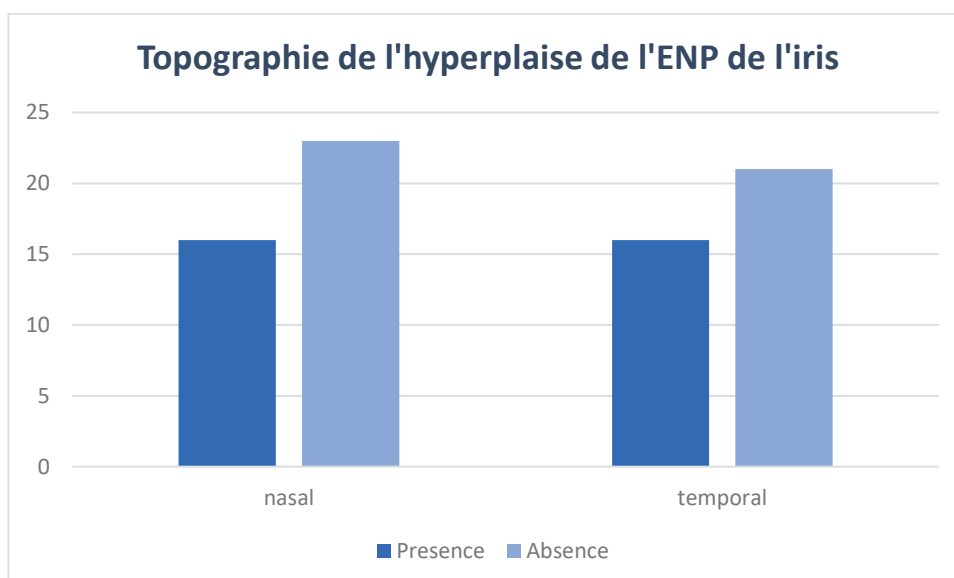


Figure 69 : Diagramme en bâton des effectifs des globes oculaires avec ou sans lésion d'hyperplasie de l'ENP de l'iris en fonction de la topographie (nasal/temporal)

Sur les corps ciliaires, l'hyperplasie de l'ENP a été significativement plus fréquente en région temporale que nasale (Test exact de Fisher : $p = 0,0036$; OR = 0,21).

Au niveau de l'iris, aucune association significative n'a été mise en évidence pour la localisation (nasale ou temporale) de l'hyperplasie de l'épithélium non pigmenté (Test exact de Fisher : $p = 1,0$; OR = 0,91).

3. Synthèse

Statistiquement, aucune différence significative n'a été observée entre l'œil droit et l'œil gauche concernant la sévérité des kystes et de l'hyperplasie.

Au niveau des corps ciliaires, l'analyse statistique a montré une association hautement significative entre le génotype et la présence de kystes (test de χ^2 : $p = 8,07 \times 10^{-5}$), absents chez les homozygotes sauvages et présents chez tous les porteurs de l'allèle muté. Néanmoins, les tests statistiques n'ont pas montré de différences significatives pour la sévérité des kystes ciliaires entre les animaux hétérozygotes et homozygotes mutés. Les kystes ont été significativement plus fréquents dans les corps ciliaires que dans l'iris (Test exact de Fisher : $p = 1,77 \times 10^{-5}$; OR = 4,54), et en localisation temporale que nasale (Test exact de Fisher : $p = 8,6 \times 10^{-4}$; OR = 0,18).

Au niveau des corps ciliaires, l'analyse statistique a montré une association hautement significative entre le génotype et la présence d'hyperplasie de l'épithélium non pigmenté (test de χ^2 : $p = 0,00029$), absente chez les homozygotes sauvages et quasi systématiquement présente chez les porteurs de l'allèle muté. Néanmoins, les tests statistiques n'ont pas montré de différences significatives pour la sévérité de l'hyperplasie de l'ENP des corps ciliaires pour les animaux hétérozygotes et homozygotes mutés. L'hyperplasie de l'épithélium non pigmenté a été significativement plus fréquente (Test exact de Fisher : $p = 0,0034$; OR = 2,75), au niveau des corps ciliaires que de l'iris, et en localisation temporale plutôt que nasale (Test exact de Fisher : $p = 0,0036$; OR = 0,21).

Au niveau de l'iris, aucune association significative n'a été mise en évidence entre le génotype et la présence de kystes ou d'hyperplasie de l'épithélium non pigmenté, malgré une tendance à une fréquence plus élevée chez les mutants homozygotes (respectivement OR=6,86 et OR=3,0). Aucune différence significative n'a été observée

pour la localisation (nasale ou temporale) des kystes et de l'hyperplasie de l'épithélium non pigmenté.

En conclusion, à l'histologie, les profils des hétérozygotes et des homozygotes mutés ont été indissociables sans génotypage (Figures 70,71).

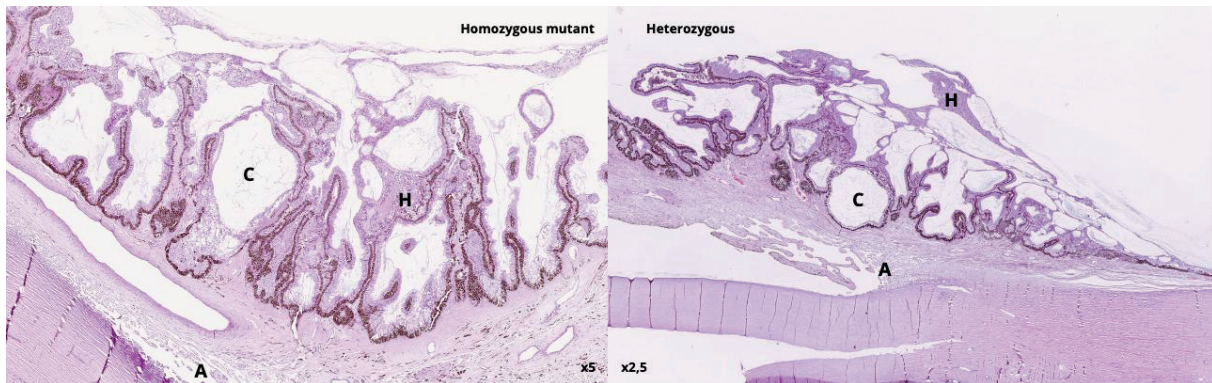


Figure 70 : Lésions kystiques chez un cheval Comtois homozygote mutant et un hétérozygote (photos personnelles). Dans les deux cas, plusieurs lésions kystiques (C), bordées par un épithélium non pigmenté hyperplasique (H), sont présentes au niveau du corps ciliaire et de l'iris. Aucune différence de sévérité n'a été observée.

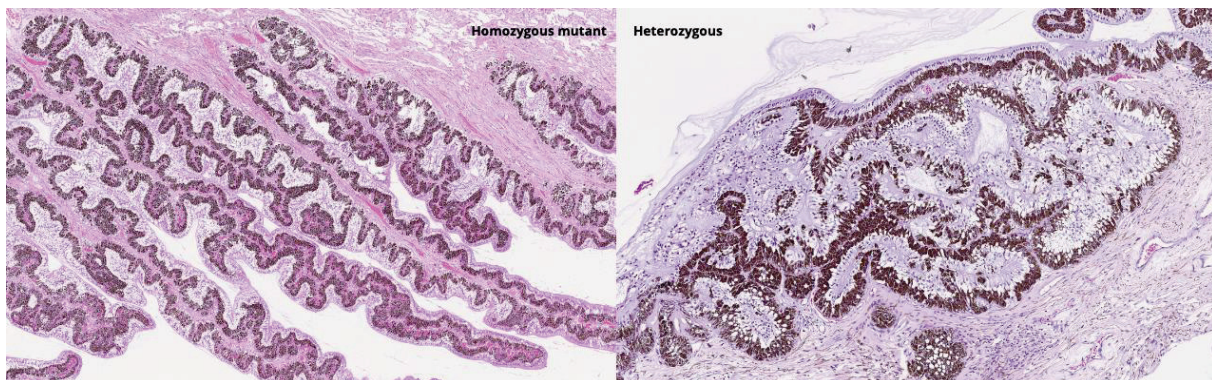


Figure 71 : Hyperplasie de l'épithélium non pigmenté chez un cheval Comtois homozygote mutant et un hétérozygote (photos personnelles). Respectivement, une hyperplasie minime chez l'homozygote mutant et une hyperplasie sévère chez l'hétérozygote (x10).

IX. Discussion

1. Discussion

L'histoire du cheval Comtois est intimement liée à celle des montagnes de Franche-Comté et a connu de profondes évolutions au fil des siècles. Premièrement sélectionné

pour ces qualités de rusticité et de force, il est devenu aujourd'hui la première race de trait française, reconnaissable entre toutes pour sa robe rousse à dorée et ses crins blond argentés.

Cette particularité esthétique, véritable emblème de la race, est en réalité la conséquence directe de la mutation *Silver* du gène *PMEL17* (Brunberg et al., 2006). Néanmoins cette mutation, en plus de son effet phénotypique sur la robe, est aussi responsable du Syndrome d'Anomalies Congénitales Oculaires Multiples (ACOM).

Les animaux porteurs présentent des signes cliniques variés, allant d'une simple baisse d'acuité visuelle à des troubles plus sévères pouvant évoluer vers la cécité (Andersson et al., 2011; Ramsey et al., 1999). Les lésions décrites chez d'autres races concernent surtout l'uvée antérieure et la rétine, avec notamment des kystes iridiens et ciliaires, des anomalies de l'iris et, dans les formes complètes, des décollements rétinien ou une cataracte.

Ces observations ont conduit à distinguer deux phénotypes principaux : le phénotype « kystique », caractérisé par des kystes de l'uvée antérieure et retrouvé chez les hétérozygotes, et le phénotype complet dit ACOM, observé chez les homozygotes, où les lésions sont plus nombreuses, plus variées et d'expression plus sévère.

Toutefois, si ces atteintes ont été rapportées cliniquement chez le Comtois, aucune étude histologique n'avait jusqu'à présent été réalisée dans cette race, et très peu chez d'autres race ; ce qui constitue l'objet du présent travail.

Chez le Comtois, des travaux préalables (Depecker et al., 2013; Ségard et al., 2013) avaient permis de poser l'hypothèse de l'existence clinique de ce syndrome (clinique et échographie), mais peu d'études avaient tenté de caractériser ces lésions histologiquement. C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail, en cherchant à relier de façon rigoureuse le génotype *Silver* et les lésions histologiques observées.

L'utilisation d'éléments frais (peau et crins) a permis de valider le génotypage sur matériel en paraffine, ce qui nous a permis d'étudier une cohorte de 25 animaux.

Dans notre étude, la répartition génotypique a montré une majorité d'animaux hétérozygotes pour la mutation PMEL17(60 %), suivis des homozygotes mutants (28 %) et des homozygotes sauvages (12 %), des résultats en adéquation avec les données de dépistage rapportées par l'Association Nationale du Cheval de Trait Comtois (ANCTC).

Dans notre étude, nous avons observé des kystes et une hyperplasie de l'épithélium non pigmenté exclusivement chez les chevaux porteurs de la mutation *Silver* : respectivement 88 et 84% des chevaux, confirmant ainsi l'association entre le génotype PMEL17 et les lésions oculaires caractéristiques du syndrome ACOM.

Nos résultats confirment aussi que la mutation PMEL17 est étroitement associée à l'apparition de kystes et d'hyperplasies de l'épithélium non pigmenté des corps ciliaires. Ces lésions, présentes dans la quasi-totalité des yeux porteurs de la mutation, rejoignent les observations histologiques décrites chez le Rocky Mountain (Ramsey et al., 1999) et l'Islandais (Andersson et al., 2011).

Nos résultats n'ont pas mis en évidence de différence significative entre les yeux droits et gauches, que ce soit pour la répartition des kystes ou des hyperplasies. Cette symétrie confirme le caractère bilatéral du syndrome, déjà décrit par Ramsey chez le Rocky Mountain, où les kystes et l'ACOM apparaissaient de façon systématiquement bilatérale. L'absence de latéralité dans notre étude suggère donc que la mutation *Silver* entraîne des anomalies diffuses, touchant les deux yeux de manière comparable.

Dans notre étude, les lésions kystiques étaient significativement plus fréquentes au niveau des corps ciliaires qu'au niveau de l'iris. En effet, près de la moitié des individus analysés présentaient une atteinte ciliaire (51,1 %) contre seulement un cinquième au niveau de l'iris (21,7 %). De même, les hyperplasies concernaient majoritairement les corps ciliaires (56,5%) contre un peu plus de 34 % pour l'iris, confirmant une différence significative en faveur de cette localisation. L'ensemble de ces observations conforte l'idée que l'atteinte des corps ciliaires représente la signature histopathologique du syndrome, tandis que les lésions iriennes apparaissent comme des manifestations secondaires, plus variables. Dans notre étude, des kystes iriens à épithélium non

pigmenté ont également été observés, associés à des inversions épithéliales et des hyperplasies, suggérant une extension possible de la dysplasie ciliaire vers l'iris. Des anomalies iriennes similaires avaient déjà été rapportées cliniquement chez d'autres races porteuses de la mutation Silver, notamment le Rocky Mountain Horse (Ramsey et al., 1999), le cheval miniature (Plummer & Ramsey, 2011) et l'Islandais (Andersson et al., 2011). L'association de l'hyperplasie et de la dégénérescence kystique suggère un trouble primaire de différenciation et de stabilité cellulaire, ce qui conforte l'idée que les corps ciliaires représentent le siège initial de la dysplasie. L'atteinte de l'iris pourrait ensuite résulter d'une extension secondaire du processus. Ainsi, nos résultats suggèrent que les lésions observées trouvent leur origine dans une dysplasie congénitale de l'épithélium non pigmenté des corps ciliaires, se traduisant par une hyperplasie et la formation de kystes par dégénérescence cellulaire, avec une possible extension secondaire vers l'iris.

Nos résultats montrent une prédominance nette des lésions en région temporale par rapport à la région nasale, particulièrement marquée pour les corps ciliaires. En effet, près de 70 % des individus présentaient un kyste ciliaire en région temporale contre seulement 32,6 % en région nasale, et plus de 71,7 % montraient une hyperplasie du côté temporal contre 41,3 % du côté nasal. En revanche, la répartition des kystes et des hyperplasies iriens ne différait pas significativement entre les deux localisations. Cette prévalence des lésions en quadrant temporal confirme les observations déjà rapportées par Depecker, et suggère que cette région constitue un site de vulnérabilité particulier dans le syndrome ACOM. Cette topographie préférentielle confirme la détection clinique plus fréquente d'anomalies en région temporal et renforce l'hypothèse d'une susceptibilité congénitale localisée de l'épithélium ciliaire. Elle pourrait s'expliquer par le développement embryologique : la région temporale, dépend davantage de la migration des cellules de la crête neurale pour la formation du corps ciliaire et de l'uvée antérieure, ce qui la rend plus vulnérable aux anomalies de différenciation.

L'analyse génétique a montré une association hautement significative entre la mutation *Silver* et les lésions des corps ciliaires, avec des kystes et une hyperplasie de l'ENP systématiquement présents chez les porteurs mutés et absents chez les

homozygotes sauvages. En revanche, les kystes et hyperplasies de l'iris, bien que retrouvés dans environ la moitié des cas, étaient plus variables et n'étaient pas corrélés au génotype.

Ces résultats soulignent donc que les kystes et l'hyperplasie de l'ENP ciliaires représentent une lésion histologique caractéristique et directement liée à la mutation *Silver*, tandis que les autres anomalies, telles que les proliférations iriennes, les remaniements rétiniens (rosettes, décollements) ou encore les cataractes semblent modulées par des facteurs additionnels.

La distinction entre hétérozygotes et homozygotes *Silver* reste une question clé de cette étude. Dans la littérature, les premiers sont généralement décrits comme présentant un phénotype « kystique » relativement limité, tandis que les seconds développent le phénotype complet ACOM, souvent sévère, associant de multiples anomalies (hypoplasies iriens, dysplasies rétinienne, cataractes, etc.) ((Andersson et al., 2011; Depecker et al., 2013; Ewart et al., 2000; Komáromy et al., 2011; Ségard et al., 2013). Pourtant, à l'échelle histologique, nos résultats montrent que cette distinction n'est pas aussi nette. Ces résultats pourraient être liés à des biais techniques, tels que l'échelle limitée de l'analyse en coupe histologique et les artéfacts inhérents à la préparation des lames. L'utilisation future d'outils plus précis, notamment basés sur l'analyse quantitative des lésions, permettrait sans doute d'affiner ces observations.

En conclusion, notre travail confirme que la mutation *Silver* chez le Comtois est à l'origine d'une dysplasie congénitale, se traduisant par une hyperplasie de l'épithélium non pigmenté et à la formation de kystes des corps ciliaires et de l'iris. Ces résultats, en complétant les données déjà disponibles, enrichissent la compréhension du syndrome ACOM chez le Comtois et ouvrent des perspectives de recherche sur les mécanismes précis reliant mutation génétique, la pigmentation des cellules et les anomalies histologiques.

2. Limites

Comme toute étude expérimentale, la nôtre comporte des limites qu'il convient de prendre en considération dans l'interprétation des résultats. La première tient à l'échelle de l'échantillon étudié. Les 46 yeux analysés permettent de proposer une première caractérisation histologique des lésions rencontrées chez le Comtois, mais leur nombre reste limité pour évaluer avec précision la variabilité interindividuelle et surtout intergénomique. Un effectif plus important serait nécessaire pour confirmer la fréquence et la répartition des lésions observées, et surtout pour établir une corrélation statistiquement robuste entre génotype et phénotype histologique, notamment liée au faible nombre d'individus homozygote sauvage (n=3).

Un deuxième point concerne la nature semi-quantitative de l'étude, reposant sur la lecture histologique par un observateur. Cette méthodologie introduit inévitablement une part de subjectivité. Certaines lésions, en particulier les hyperplasies de l'épithélium non pigmenté, soulèvent la question du décompte précis du nombre de couches cellulaires. La distinction entre une hyperplasie pathologique et une variation histologique normale peut être délicate, surtout lorsque les zones examinées sont fines ou altérées par la préparation. De plus, l'appréciation de la sévérité des lésions dépend en partie de l'œil de l'observateur, ce qui peut introduire un biais. Le recours à des méthodes plus objectives, comme l'analyse morphométrique assistée par analyse d'image, pourrait constituer un complément utile pour de futures études.

L'anatomie particulière de l'œil, structure creuse composée de différentes tuniques, du cristallin et de liquides, a représenté une contrainte technique pour l'extraction d'ADN. La faible densité cellulaire a nécessité de répéter plusieurs extractions afin d'obtenir une quantité suffisante de matériel génétique pour les PCR. Par ailleurs, l'utilisation d'échantillons fixés au formol puis inclus en paraffine a compliqué les analyses moléculaires. Le formol, bien qu'efficace pour la conservation histologique, induit des liaisons covalentes (crosslinks) entre les bases de l'ADN et certaines protéines, ce qui fragmente l'ADN en petits segments (100 à 500 pb) et en altère la qualité. Pour pallier ces limites, une comparaison systématique avec des échantillons frais (peau ou crins congelés) a été réalisée lorsque cela était possible. Cette approche a permis de valider

les résultats obtenus à partir des blocs de paraffine, soit en confirmant des séquences ambiguës, soit en remplaçant des résultats non interprétables. Idéalement, l'ensemble des analyses génétiques aurait été réalisé sur du matériel frais ; cependant, l'utilisation rétrospective de certains cas ne permettait pas toujours d'accéder à ce type d'échantillons.

Une autre limite réside dans l'absence de corrélation directe avec des examens échographiques réalisés sur les mêmes individus. L'échographie oculaire constitue en effet un outil d'imagerie non invasif particulièrement adapté pour visualiser *in vivo* les kystes des corps ciliaires ou de l'iris. Intégrer cette approche aurait permis d'établir un véritable fil conducteur reliant la génétique à la clinique, en passant par l'imagerie et l'histologie. Cela aurait renforcé la compréhension globale du syndrome ACOM et offert un outil supplémentaire de validation des observations histologiques.

En résumé, notre étude apporte des éléments nouveaux sur la description des lésions histologiques associées à la mutation *Silver* chez le Comtois, mais son interprétation reste limitée par la taille de l'échantillon, la subjectivité inhérente à l'évaluation semi-quantitative, et les contraintes liées à la qualité des tissus fixés. L'avenir de ces recherches repose sur des effectifs plus larges, des méthodes d'analyse plus standardisées et la mise en place de suivis intégrés associant génétique, imagerie échographique et histologie, afin d'offrir une vision plus complète et plus précise du syndrome ACOM.

CONCLUSION

Chez le cheval, la mutation Silver du gène *PMEL17* entraîne une dilution de l'eumélanine responsable de la robe caractéristique du Comtois. Cette mutation est également associée au syndrome d'Anomalies Congénitales Oculaires Multiples (ACOM). Les chevaux hétérozygotes présentent en général un phénotype kystique caractérisé par des kystes de l'uvée antérieure, tandis que les homozygotes mutants développent un phénotype ACOM plus sévère, associant à ces kystes de multiples anomalies oculaires.

Alors que de nombreuses études ont décrit le syndrome chez le Rocky Mountain, l'Islandais ou certaines autres races, aucune étude standardisée et prospective n'avait encore été menée spécifiquement chez le Comtois. Le travail présenté dans cette thèse a permis de caractériser, de localiser et de quantifier de manière rigoureuse les lésions histologiques associées à la mutation *Silver* dans cette race.

L'analyse génétique menée en parallèle a mis en évidence une répartition des génotypes en adéquation avec les données de dépistage de l'Association Nationale du Cheval de Trait Comtois (ANCTC), confirmant ainsi la représentativité de notre population étudiée.

L'originalité de ce travail réside dans l'intégration de l'analyse génétique, qui a permis de relier directement le statut génotypique à la présence de lésions histologiques chez le Comtois. Nos résultats confirment que les corps ciliaires constituent le siège principal de l'atteinte, les anomalies observées étant caractéristiques des porteurs de la mutation *Silver*, alors que les chevaux indemnes en sont exempts. Les atteintes iridiennes, bien que fréquentes, apparaissent plus variables et semblent traduire une extension secondaire de la dysplasie ciliaire. Ce travail apporte ainsi une contribution nouvelle en établissant, pour la première fois chez le Comtois, une corrélation entre génotype et phénotype histologique du syndrome ACOM, tout en confirmant la bilatéralité et la prévalence temporelle des lésions décrites dans la littérature.

En conclusion, nos résultats suggèrent fortement que les lésions observées pourraient résulter d'une dysplasie de l'épithélium non pigmenté des corps ciliaires, se traduisant par une hyperplasie et la formation de kystes par dégénérescence cellulaire, avec une

possible extension secondaire vers l'iris. Cette atteinte, localisée préférentiellement en temporal et affectant les deux yeux de manière comparable, représente la signature histologique du syndrome ACOM chez le Comtois. Des études complémentaires, intégrant des outils d'imagerie comme l'échographie et des approches quantitatives innovantes (analyse d'images assistée par intelligence artificielle), permettront de mieux différencier les phénotypes hétérozygote et homozygote, et d'élucider les mécanismes moléculaires encore méconnus qui relie la mutation *Silver* aux anomalies histologiques observées.

BIBLIOGRAPHIE

- Andersson, L. S., Axelsson, J., Dubielzig, R. R., Lindgren, G., & Ekesten, B. (2011). Multiple congenital ocular anomalies in Icelandic horses. *BMC Veterinary Research*, 7, 21. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-7-21>
- Andersson, L. S., Juras, R., Ramsey, D. T., Eason-Butler, J., Ewart, S., Cothran, G., & Lindgren, G. (2008). Equine multiple congenital ocular anomalies maps to a 4.9 megabase interval on horse chromosome 6. *BMC Genetics*, 9, 88. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-9-88>
- Andersson, L. S., Wilbe, M., Viluma, A., Cothran, G., Ekesten, B., Ewart, S., & Lindgren, G. (2013). Equine multiple congenital ocular anomalies and silver coat colour result from the pleiotropic effects of mutant PMEL. *PLoS ONE*, 8(9), e75639. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0075639>
- Bailey, E. (2020). Horse genetics (3rd ed.). CAB International.
- Banks, W. J. (1993). Applied veterinary histology (3rd ed.). Mosby Year Book.
- Barone, R. (2010). Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome 7 : Neurologie II. Système nerveux périphérique, glandes endocrines, esthésiologie. Vigot.
- Blanchard, C. (2015). Le Comtois et l'Auxois, exemples d'une race de trait développée et d'une race de trait en déclin : étude des différents aspects de leur élevage à partir d'une enquête de terrain [Thèse de doctorat vétérinaire, Université de Lyon]. VetAgro Sup.
- Brumbaugh, J. A. (1971). The ultrastructural effects of the I and S loci upon black-red melanin differentiation in the fowl. *Developmental Biology*, 24(3), 392-412. [https://doi.org/10.1016/0012-1606\(71\)90088-1](https://doi.org/10.1016/0012-1606(71)90088-1)
- Brunberg, E., Andersson, L., Cothran, G., Sandberg, K., Mikko, S., & Lindgren, G. (2006). A missense mutation in PMEL17 is associated with the silver coat color in the horse. *BMC Genetics*, 7, 46. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-7-46>

Caillier, V. (2001). Le trait Comtois, hier et aujourd'hui : Le déterminisme génétique de la robe [Thèse de doctorat vétérinaire, Université de Lyon]. VetAgro Sup

Chakraborty, A. K., Platt, J. T., Kim, K. K., Kwon, B. S., Bennett, D. C., & Pawelek, J. M. (1996). Polymerization of 5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid to melanin by the pmel 17/silver locus protein. *European Journal of Biochemistry*, 236(1), 180-188. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1996.t01-1-00180.x>

Clark, L. A., Wahl, J. M., Rees, C. A., & Murphy, K. E. (2006). Retrotransposon insertion in SILV is responsible for merle patterning of the domestic dog. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(5), 1376-1381. <https://doi.org/10.1073/pnas.0506940103>

Delevoye, C., Giordano, F., Van Niel, G., & Raposo, G. (2011). La biogenèse des mélanosomes : L'échiquier de la pigmentation. *médecine/sciences*, 27(2), 153-162. <https://doi.org/10.1051/medsci/2011272153>

Dellmann, H. D. (1998). Textbook of veterinary histology (5th ed.). Lippincott Williams & Wilkins.

Depecker, M., Ségard, E., & Cadoré, J.-L. (2013). Phenotypic description of multiple congenital ocular anomalies in Comtois horses. *Equine Veterinary Education*, 25(10), 511-516. <https://doi.org/10.1111/eve.12075>

Ewart, S. L., Ramsey, D. T., Xu, J., & Meyers, D. (2000). The horse homolog of congenital aniridia conforms to codominant inheritance. *The Journal of Heredity*, 91(2), 93-98. <https://doi.org/10.1093/jhered/91.2.93>

Fowler, D. M., Koulov, A. V., Alory-Jost, C., Marks, M. S., Balch, W. E., & Kelly, J. W. (2006). Functional amyloid formation within mammalian tissue. *PLoS Biology*, 4(1), e6. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0040006>

Graham, M., Tzika, A. C., Mitchell, S. M., Liu, X., & Leonhardt, R. M. (2019). Repeat domain-associated O-glycans govern PMEL fibrillar sheet architecture. *Scientific Reports*, 9, 6101. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42571-6>

Grahn, B. H., Pinard, C., Archer, S., Bellone, R., Forsyth, G., & Sandmeyer, L. S. (2008). Congenital ocular anomalies in purebred and crossbred Rocky and Kentucky Mountain horses in Canada. *The Canadian Veterinary Journal*, 49(7), 675-681.

Hellström, A. R., Watt, B., Fard, S. S., Tenza, D., Mannström, P., Narfström, K., Ekestén, B., Ito, S., Wakamatsu, K., Larsson, J., Ulfendahl, M., Kullander, K., Raposo, G., Kerje, S., Hallböök, F., Marks, M. S., & Andersson, L. (2011). Inactivation of Pmel alters melanosome shape but has only a subtle effect on visible pigmentation. *PLoS Genetics*, 7(9), e1002285. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002285>

Histoire | Association Nationale du Cheval de Trait Comtois. (s. d.). Consulté 14 novembre 2024, à l'adresse <https://chevalcomtois.fr/page/10-histoire>

IFCE. (s. d.). *Robes des chevaux*. Consulté 15 novembre 2024, à l'adresse <https://equipedia.ifce.fr/elevage-et-entretien/race-et-robe/robes-des-chevaux>

IFCE. (2023a, juin 9). *Immatriculations—Détail race*. Stats et cartes. Consulté 15 novembre 2024, à l'adresse <https://statscartes.ifce.fr/>

IFCE. (2023b, septembre 5). *Elevage-lieux d'élevage par race*. Stats et cartes. Consulté 15 novembre 2024, à l'adresse <https://statscartes.ifce.fr/>

Karlsson, A.-C., Kerje, S., Hallböök, F., & Jensen, P. (2009). The dominant white mutation in the PMEL17 gene does not cause visual impairment in chickens. *Veterinary Ophthalmology*, 12(5), 292-298. <https://doi.org/10.1111/j.1463-5224.2009.00714.x>

Kerje, S., Sharma, P., Gunnarsson, U., Kim, H., Bagchi, S., Fredriksson, R., Schütz, K., Jensen, P., von Heijne, G., Okimoto, R., & Andersson, L. (2004). The dominant white, dun and smoky color variants in chicken are associated with insertion/deletion polymorphisms in the PMEL17 gene. *Genetics*, 168(3), 1507-1518. <https://doi.org/10.1534/genetics.104.027995>

Komáromy, A. M., Rowland, J. S., La Croix, N. C., & Mangan, B. G. (2011). Equine multiple congenital ocular anomalies (MCOA) syndrome in PMEL17 (silver) mutant ponies: Five cases. *Veterinary Ophthalmology*, 14(5), 313-320. <https://doi.org/10.1111/j.1463-5224.2011.00878.x>

Kwon, B. S., Halaban, R., Ponnazhagan, S., Kim, K., Chintamaneni, C., Bennett, D., & Pickard, R. T. (1995). Mouse silver mutation is caused by a single base insertion in the putative cytoplasmic domain of Pmel 17. *Nucleic Acids Research*, 23(1), 154-158. <https://doi.org/10.1093/nar/23.1.154>

Lafitte, J. (2023). Caractérisation histopathologique du syndrome d'anomalies congénitales oculaires multiples du Comtois [Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude Bernard Lyon 1].

Launois, T. (2019). Guide pratique d'ophtalmologie équine. Éditions Méd'com.

Institut français du cheval et de l'équitation. (2020). Génétique des robes des équidés : Couleurs et transmission. L'état de la recherche scientifique. Institut français du cheval et de l'équitation.

Liebich, H.-G. (2019). Veterinary histology of domestic mammals and birds: Textbook and colour atlas. 5m Publishing.

Magne, J. H. (1896). Hygiène vétérinaire appliquée : Races chevalines, leur amélioration, entretien, multiplication, élevage, éducation du cheval, de l'âne et du mulet. Garnier frères.

Murphy, C. J., & Miller, P. E. (2010). Equine vision: Normal and abnormal. Dans B. C. Gilger (Éd.), *Equine ophthalmology* (pp. 396-434). Elsevier Saunders.

Nepoux, V. (2019). Beauté des chevaux : Le mystère de leurs robes. Campagne et Compagnie.

Oosterlinck, M., Grebert, A., Gielen, I., Bosseler, L., Ducatelle, R., & Gasthuys, F. (2015). Post mortem magnetic resonance imaging of multiple congenital ocular anomalies in a Comtois mare. *Equine Veterinary Education* mai 2015, 27(5), 255-258.

Pillon, M. (2020). Mise au point de la méthode d'extraction de l'ADN bactérien de biopsies cutanées canines fixées par le formol puis incluses en paraffine pour identification par qPCR [Thèse de doctorat vétérinaire, Université de Lyon]. VetAgro Sup.

Plummer, C. E., & Ramsey, D. T. (2011). A survey of ocular abnormalities in Miniature Horses. *Veterinary Ophthalmology*, 14(4), 239-243. <https://doi.org/10.1111/j.1463-5224.2010.00868.x>

Poux, L.-B. (2006). *Le cheval comtois : Variabilité phénotypique et génotypique (aperçu de l'élevage en 2006)* [Thèse de doctorat vétérinaire, Université de Nantes]. Oniris.

- Premont, J. E., Andersson, L., & Grauwels, M. (2013). Multiple congenital ocular anomalies syndrome in a family of Shetland and Deutsches Classic ponies in Belgium. *Equine Veterinary Education*, 25(11), 550-555. <https://doi.org/10.1111/eve.12009>
- Ramsey, D. T., Ewart, S., Render, J., Cook, C. S., & Latimer, C. A. (1999). Congenital ocular abnormalities of Rocky Mountain Horses. *Veterinary Ophthalmology*, 2(1), 47-59. <https://doi.org/10.1046/j.1463-5224.1999.00050.x>
- Rieder, S., Taourit, S., Mariat, D., Langlois, B., & Guérin, G. (2001). Mutations in the agouti (ASIP), the extension (MC1R), and the brown (TYRP1) loci and their association to coat color phenotypes in horses (*Equus caballus*). *Mammalian Genome*, 12(6), 450-455. <https://doi.org/10.1007/s003350020017>
- Schonthaler, H. B., Lampert, J. M., von Lintig, J., Schwarz, H., Geisler, R., & Neuhauss, S. C. F. (2005). A mutation in the silver gene leads to defects in melanosome biogenesis and alterations in the visual system in the zebrafish mutant fading vision. *Developmental Biology*, 284(2), 421-436. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2005.06.001>
- Ségard, E. M., Depecker, M. C., Lang, J., Gemperli, A., & Cadoré, J.-L. (2013). Ultrasonographic features of PMEL17 (Silver) mutant gene-associated multiple congenital ocular anomalies (MCOA) in Comtois and Rocky Mountain horses. *Veterinary Ophthalmology*, 16(6), 429-435. <https://doi.org/10.1111/vop.12021>
- Association nationale du cheval de trait Comtois. (s. d.). Règlement du stud-book Comtois [PDF]. Cheval Comtois. Consulté le 26 novembre 2024, à l'adresse https://www.chevalcomtois.fr/uploads/finder/finder-comtois/sire-reglement-stud-book-comtois.pdf?_t=1652444511
- Sponenberg, D. P., & Bellone, R. (2017). Equine color genetics (4th ed.). Wiley Blackwell.
- Swan, D. S. (2009). Congenital ocular anomalies in purebred and crossbred Rocky and Kentucky Mountain horses. *The Canadian Veterinary Journal*, 50(2), 121.
- Wang, Z., Guo, Z., Liu, H., Liu, T., Liu, D., Yu, S., Tang, H., Zhang, H., Mou, Q., Zhang, B., Cao, J., Schroyen, M., Hou, S., & Zhou, Z. (2025). A high-quality assembly

revealing the PMEL gene for the unique plumage phenotype in Liancheng ducks. *GigaScience*, 14, giae114.<https://doi.org/10.1093/gigascience/giae114>

Weigel, F. (2019). *Pathologie comparée des affections oculaires congénitales multiples du Comtois* [Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude Bernard Lyon 1] VETAGRO SUP.

Wheater, P. R., Young, B., O'Dowd, G., Woodford, P., Validire, P., & Validire-Charpy, P. (2015). *Atlas d'histologie fonctionnelle de Wheater* (3e éd.). De Boeck Supérieur.

ANNEXES

Annexe 1 : Tableaux des résultats bruts de dosage de quantité d'ADN post-PCR

				PCR 1 90ng ADN									
Bloc	ng/µl	A260/280	A260/230	volume ADN	Volume eau								
20-1020B	18	1,500	0,327	5,0	5,0								
21-1877A	33	1,375	0,337	2,7	7,3								
21-1915B	12	1,500	0,316	7,5	2,5								
21-1916B	41	1,640	0,719	2,2	7,8								
21-1917A	56	1,806	0,889	1,6	8,4								
22-218B	11	1,571	0,306	8,2	1,8								
22-220B	12	1,375	0,398	7,5	2,5								
22-221A	10	1,600	0,381	9,0	1,0								
22-222B	43	1,156	0,366	2,1	7,9								
22-391B	17	1,700	0,548	5,3	4,7								
20-959B	22	1,294	0,397	4,1	5,9								
19-295 (1)	24	1,714	0,429	3,8	6,3								
20-307 (1)	25	1,786	0,362	3,6	6,4								
20-928 (4)	14	1,556	0,156	6,4	3,6								
21-1301 (7)	19	1,800	0,316	4,7	5,3		frais	ng/µl	A260/280	A260/230	PCR 1 90ng ADN		
23-1076F	123	1,757	0,961	0,7	9,3		23-1076	27	1,421	0,22	3,3	6,7	
23-1077F	17	1,545	0,386	5,3	4,7		23-1077	32	1,455	0,302	2,8	7,2	
23-1094F	19	1,583	0,442	4,7	5,3		23-1094	48	1,455	0,255	1,9	8,1	
23-1095 (7)	69	1,750	0,92	1,3	8,7		23-1095	23	1,438	0,217	3,9	6,1	
23-1145 (11)	21	1,725	0,724	4,3	5,7		23-1145	5	1,429	0,625	18,0	-8,0	
23-1163G	31	1,632	0,456	2,9	7,1		23-1163	15	1,500	0,625	6,0	4,0	
24-082 (11)	420	1,972	1,675	0,2	9,8		24-082	14	1,750	0,292	6,4	3,6	
24-083 (11)	31	1,824	1,069	2,9	7,1		24-083	44	1,630	0,55	2,0	8,0	
24-444G	486	1,952	1,755	0,2	9,8		24-444	24	1,846	0,558	3,8	6,3	
24-445 (7)	109	1,787	0,669	0,8	9,2		24-445	26	1,733	0,502	3,5	6,5	
24-446G	93	1,722	0,694	1,0	9,0		24-446	134	1,523	0,334	0,7	9,3	

Annexe 2 : Tableaux des résultats bruts d'histologie

Œil droit :

INDIVIDUALS	genetic	CILIARY CYSTS NASAL	CILIARY CYSTS TEMPORAL	CILIARY NPE HYPERPLASIA NASAL	CILIARY NPE HYPERPLASIA TEMPORAL	CILIARY PAPILLAE NASAL	CILIARY PAPILLAE TEMPORAL	IRIDAL CYSTS NASAL (ciliary part)	IRIDAL CYSTS TEMPORAL (ciliary part)	IRIDAL NPE HYPERPLASIA NASAL (ciliary)	IRIDAL NPE HYPERPLASIA TEMPORAL	hyperplasia musculuse irienne nasale	hyperplasia musculuse irienne temporale		
		21-1301	homo	3	N/A	2	N/A	OUI	N/A	2	N/A	2	N/A	PARTIAL	N/A
		21-1917	hetero	2	1	1	1	OUI	OUI	0	0	0	0	PARTIEL	PARTIAL
		23-1145	hetero	3	1	2	1	OUI	OUI	1	0	1	0	PARTIAL	PARTIAL
		24-446	homo	N/A	2	N/A	2	N/A	OUI	0	3	0	2	PARTIAL	PARTIAL
		20-1020	hetero	0	3	0	2	OUI	OUI	0	N/A	0	N/A	PARTIAL	PARTIAL
		20-959	hetero	1	3	0	2	OUI	OUI	N/A	0	N/A	0	N/A	N/A
		22-220	hetero	0	0	0	0	OUI	OUI	0	0	0	0	PARTIAL	PARTIAL
		22-218	hetero	1	1	1	1	OUI	OUI	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		22-391	hetero	0	3	0	3	OUI	OUI	0	3	0	2	OUI	OUI
21-1916	hetero	N/A	3	N/A	2	N/A	OUI	0	1	0	1	PARTIAL	N/A		
21-1915	hetero	N/A	3	N/A	2	OUI	OUI	1	3	2	2	PARTIAL	OUI		
20-929	hetero	2	1	2	1	OUI	OUI	1	0	3	0	N/A	N/A		
20-928	hetero	2	3	3	2	sans papillae	OUI	0	0	0	0	N/A	N/A		
23-1077	hetero														
23-1095	hetero	0	0	0	1	OUI	OUI	0	0	0	1	PARTIAL	N/A		
24-444	hetero	0	3	1	3	OUI	OUI	0	3	1	3	PARTIAL	PARTIAL		
22-222	homo	1	2	1	1	N/A	OUI	1	2	1	1				
22-221	homo	0	2	0	1	OUI	OUI	0	0	0	0				
21-1877	homo	0	3	1	2	OUI	OUI	1	0	1	0	OUI	OUI		
23-1076	homo														
24-445	homo	0	2	0	1	N/A	OUI	0	0	0	0	N/A	N/A		
23-1163	hetero	N/A	1	N/A	1	N/A	N/A	N/A	0	N/A	1				
24-082	sain	0	0	0	0	OUI	OUI	0	0	0	0	NON	NON		
24-083	sain	0	0	0	0	OUI	OUI	0	0	0	0	NON	NON		
23-1094	sain														

Œil gauche :

INDIVIDUALS	genetic	CILIARY CYSTS NASAL	CILIARY CYSTS TEMPORAL	CILIARY NPE HYPERPLASIA NASAL	CILIARY NPE HYPERPLASIA TEMPORAL	CILIARY PAPILLAE NASAL	CILIARY PAPILLAE TEMPORAL	IRIDAL CYSTS NASAL (ciliary part)	IRIDAL CYSTS TEMPORAL (ciliary part)	IRIDAL NPE HYPERPLASIA NASAL (ciliary)	IRIDAL NPE HYPERPLASIA TEMPORAL	hyperplasia irienne nasale	hyperplasia irienne muscul
21-1301	homo	1	N/A	2	N/A	OUI	N/A	0	N/A	1	N/A	PARTIAL	N/A
21-1917	hetero	0	3	0	2	OUI	OUI	0	0	0	0	PARTIAL	PARTIAL
23-1145	hetero	N/A	2	N/A	3	N/A	OUI	N/A	1	N/A	1	N/A	PARTIAL
24-446	homo	1	N/A	2	N/A	OUI	N/A	0	N/A	2	N/A	OUI	N/A
20-1020	hetero	3	1	2	3	OUI	OUI	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
20-959	hetero	0	0	0	0	OUI	OUI	0	0	0	0	PARTIAL	PARTIAL
22-220	hetero	0	1	0	1	OUI (sans papilles)	OUI	0	0	0	0	PARTIAL	PARTIAL
22-218	hetero	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	3	N/A	2	N/A	OUI	N/A
22-391	hetero												
21-1916	hetero	0	3	1	3	OUI	OUI	0	0	1	0	PARTIAL	PARTIAL
21-1915	hetero	0	1	0	1	OUI	N/A	0	3	0	3	OUI	PARTIAL
20-929	hetero	0	2	0	2	OUI	OUI	0	0	0	2	OUI	OUI
20-928	hetero	1	2	1	1	OUI	OUI	0	0	1	1	N/A	N/A
23-1077	hetero	0	3	0	2	OUI	OUI	0	0	0	0	PARTIAL	PARTIAL
23-1095	hetero	1	3	0	3	OUI	OUI	0	0	0	0	N/A	PARTIAL
24-444	hetero	0	3	1	3	OUI	OUI	0	3	0	2	PARTIAL	PARTIAL
22-222	homo	?	3	1	2	NON	OUI	1	3	2	3		
22-221	homo	0	1	0	1	OUI	OUI	0	0	0	0		
21-1877	homo	1	2	1	1	OUI	OUI	0	0	1	0	OUI	OUI
23-1076	homo	1	3	1	1	OUI	oui	0	3	1	1	oui	oui
24-445	homo	N/A	0	2	0	OUI	NON	0	1	1	1	OUI	OUI
23-1163	hetero	0	N/A	0	N/A	OUI	N/A	0	N/A	0	N/A		
24-082	sain	0	0	0	0	OUI	NON	0	0	0	0	NON	NON
24-083	sain	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	NON	NON
23-1094	sain	N/A	0	N/A	0	N/A	OUI	N/A	0	N/A	0	N/A	PARTIAL

Histologic characterization of the multiple congenital ocular anomalies' syndrome in Comtois Horses



Laurianne Mathy, Nadège Milhau, Juliette Lafitte, Floriane Weigel, Giorgia Bellini, Fanny Vernay, Isabelle Raymond-Letron, Emilie Segard, Marie Abitbol, Jean-Luc Cadore and Sara Belluco

Introduction

- MCOA is a heritable syndrome affecting horses, particularly those with the silver coat color. The condition is caused by a missense mutation in the PMEL gene (c.1849C>T, resulting in Arg618Cys), which disrupts melanocyte function.
- The penetrance is incomplete, with variable clinical signs.
- In FRANCE, over 90% of Comtois horses carry the mutation.
- Ultrasonographic anomalies, consistently associated with the PMEL mutation, are:
 - Heterozygous horses: isolated ciliary cysts with mild iridal dysplasia.
 - Homozygous horses: multilobulated ciliary cysts, iridal dysplasia, cornea globosa, cataract, and occasional retinal detachment.
- The syndrome has been histologically described in few breeds, but not yet documented in the Comtois horse.

Materials & Methods

- Samples
 - 46 formalin-fixed, enucleated eyes were obtained from 25 Comtois horses.
- Histology
 - Eyes were trimmed to include both temporal and nasal regions of the anterior segment.
 - A 3 µm section from each paraffin block was H&E-stained and analyzed under light microscopy.
- Lesion Scoring

Lesion Type	Score 0 (Lesion absent)	Score 1 (Mild)	Score 2 (Moderate)	Score 3 (Severe)
Cysts	/	Few/Small + minimal NPE	Larger + moderate NPE	Numerous + prominent NPE
Epithelial hyperplasia	/	2-3 cell layers	3-5 layers	>5 layers
- Genetic Analysis
 - Additional paraffin sections were used for DNA extraction.
 - A region of PMEL exon 11 was amplified and Sanger-sequenced to identify the c.1849C>T mutation.
- Statistics: p-value < 0,05 (*)
 - ChiR / Fisher's test for categorical comparisons
 - Kruskal-Wallis test (genetic analysis)
- For both cysts and epithelial hyperplasia, comparison of:
 - Location (ciliary body vs. iris).
 - Topography (nasal vs. temporal).
 - Genotype (homozygous mutant, heterozygous, wild-type)



Goal
Histological characterization of anterior uveal lesions in PMEL-mutant Comtois horses

Results and Discussion

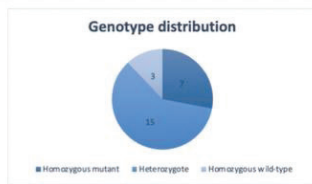


Fig.1.: Distribution of the 25 horses in the study among homozygous mutants, heterozygotes, and wild-type.

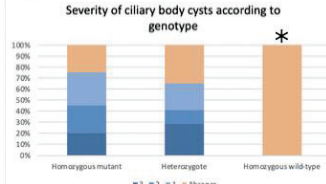


Fig.2.: PMEL Genotype Distribution According to Ciliary Cyst Severity Scores (0-3). No cystic lesions were observed in wild-type horses, in contrast to heterozygous and homozygous PMEL-mutant individuals, all of which exhibited varying degrees of cyst formation.

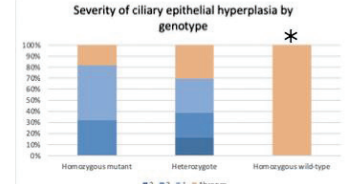


Fig.3.: PMEL Genotype Distribution According to Epithelial Hyperplasia Severity Scores (0-3). No lesions of hyperplasia were observed in wild-type horses, in contrast to heterozygous and homozygous PMEL-mutant individuals, all of which exhibited varying degrees of cyst formation.

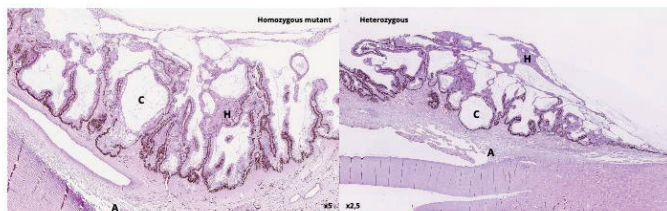


Fig.4.: Cystic lesions in homozygous mutant and heterozygous Comtois horse. In both animals several multiple cystic lesions (C), lined by hyperplastic non-pigmented epithelium (H) are present in ciliary body and iris. No difference in severity are observed.

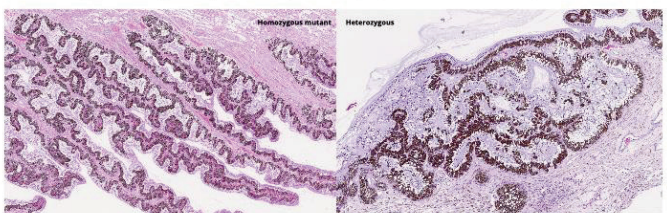


Fig.5.: Non-pigmented epithelial hyperplasia in homozygous mutant and heterozygous Comtois horse. Respectively mild and severe hyperplasia in homozygous mutant and heterozygous animals. (x10)

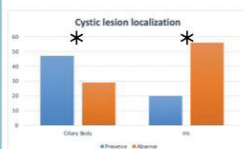


Fig.6.: Comparative localization of cystic lesions in the ciliary body versus the iris in genetically affected Comtois horses

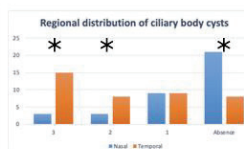


Fig.7.: Topographical severity of ciliary body cysts (score 0-3) in nasal vs temporal regions in genetically affected Comtois horses

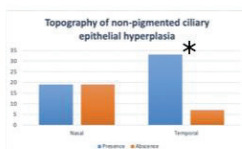


Fig.8.: Topographical severity ciliary body epithelial hyperplasia in nasal vs temporal regions in genetically affected Comtois horses

Key Point

- Cysts (Fig2-7):
 - Observed in all animals carrying the mutation
 - Higher occurrence in the ciliary body than iris
 - More severe cysts observed on the temporal side compared to the nasal side, no cysts in controls.

- Non-pigmented epithelial hyperplasia (Fig 5, 8):
 - Higher occurrence in the ciliary body than iris
 - More severe cysts observed on the temporal side compared to the nasal side, no hyperplasia in controls.

No significant differences: Between heterozygous vs homozygous and between scoring grades: 1, 2, and 3 (Fig 1 and 2)

Conclusion

These findings support a strong association between the PMEL mutation and cystic anterior uveal lesions in Comtois horses. Lesion severity correlates with genotype, while wild-type horses appear unaffected. No significant histological differences were observed between homozygous and heterozygous mutants, in contrast to ultrasonographic findings, probably due to the trimming technique.



This work was supported by the 2024 "Impulsion Santé Globale" and "Formation par la Recherche" grant programs from VetAgro Sup. We gratefully acknowledge their financial support.

ÉTUDE DE LA CORRÉLATION ENTRE LE GÉNOTYPE POUR LA MUTATION SILVER ET LES LÉSIONS OCULAIRES HISTOLOGIQUES CHEZ LES CHEVAUX COMTOIS DANS LE CADRE DU SYNDROME D'ANOMALIES CONGÉNITALES OCULAIRES MULTIPLES.

Auteur

MATHY Laurianne

Résumé

Le syndrome des anomalies congénitales oculaires multiples (ACOM), qui touche plus de 90 % des chevaux Comtois, est associé à une mutation faux-sens du gène *PMEL*, responsable de la robe silver. À ce jour, l'ACOM chez le Comtois n'avait été décrit que par des examens ophtalmiques et échographiques. Cette étude visait à fournir une caractérisation histologique des lésions du corps ciliaire et de l'iris chez des individus homozygotes ou hétérozygotes pour la mutation *Silver*.

Quarante-six yeux énucléés, fixés au formol ont été collectés chez 25 chevaux Comtois. Chaque globe a été recoupé pour inclure les régions nasale et temporale du segment antérieur. À partir des blocs de paraffine, des coupes de 3 µm colorées à l'HE ont été analysées histologiquement à l'aveugle vis-à-vis du statut génétique. De l'ADN a été extrait à partir de sections supplémentaires, et une partie de l'exon 11 de *PMEL* a été amplifiée et séquencée pour le génotypage.

Sept chevaux étaient homozygotes mutants, 15 hétérozygotes et 3 homozygotes sauvages pour la mutation *Silver*. Aucune lésion oculaire n'a été observée chez les animaux sauvages. Tous les chevaux mutants présentaient des lésions kystiques du corps ciliaire et de l'iris, plus marquées en région temporale, tapissées par un épithélium non pigmenté hyperplasique. Les lésions étaient plus fréquentes et sévères au niveau des corps ciliaires qu'au niveau de l'iris. Aucune différence de type ou de sévérité des lésions n'a été observée entre hétérozygotes et homozygotes mutants.

En conclusion, la mutation *Silver* est associée à des lésions kystiques de l'épithélium de l'uvée antérieure. L'analyse histologique permet de distinguer de manière fiable les animaux atteints des non atteints, mais ne différencie pas le statut hétérozygote de celui d'homozygote muté.

Mots-clés

Anomalies congénitales oculaires multiples (ACOM), Chevaux comtois, Mutation Silver, *PMEL17*, Génotype, Histologie

Jury

Président du jury : **Professeur CADORÉ Jean-Luc**

Directeur de thèse : **Docteur BELLUCO, Sara**

2ème assesseur : **Professeur ABITBOL Marie**