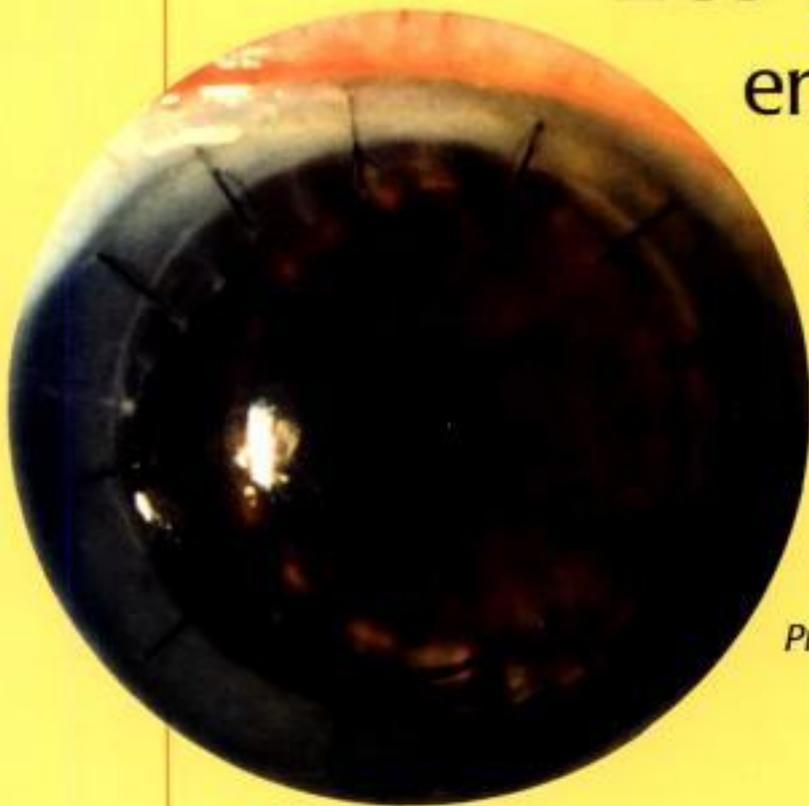


Vincent Borderie

avec la collaboration de Marie Baudrimont,
Tristan Bourcier, Laurent Laroche et Olivier Touzeau

Les greffes en ophtalmologie



Préface de Bernard Delbosc

Les greffes en ophtalmologie

This One



ZXXC-4FB-0HB1

Free Material

ATLAS

EN OPHTALMOLOGIE

Directeur de collection :

Professeur Gilles Chaine
Hôpital Avicenne, Bobigny

Dans la même collection :

Angiographie infrarouge au vert d'indocyanine

S.Y. Cohen, G. Quentel, I. Meunier
ISBN : 2-84299-289-X

Chirurgie des voies lacrymales

J. Olver (traduit de l'anglais par le Dr D. Schapiro)
ISBN : 2-84299-450-7

La cornée

G. Renard, P. Dighiero, P. Ellies, T. Than Trong
ISBN : 2-84299-288-1

Diagnostic angiographique des maladies rétinienne (2^e édition)

S.Y. Cohen, G. Quentel
ISBN : 2-84299-564-3

Existe également en langue anglaise :

Angiographic diagnosis of retinal diseases

S.Y. Cohen, G. Quentel
ISBN : 2-84299-040-4

Les greffes en ophtalmologie

V. Borderie
ISBN : 2-84299-583-X

Le Lasik : de la théorie à la pratique

D. Gatinel, T. Hoang-Xuan
ISBN : 2-84299-350-0

Neuro-ophtalmologie

C. Vignal, D. Miléa
ISBN : 2-84299-315-2

Rétinopathie diabétique

P. Massin, A. Erginay, A. Gaudric
ISBN : 2-84299-194-X

Strabologie : approches diagnostique et thérapeutique

Coordinateur : M.-A. Espinasse-Berrod
ISBN : 2-84299-563-5

Vincent Borderie

Avec la collaboration de

Marie Baudrimont, Tristan Bourcier, Laurent Laroche, Olivier Touzeau

Les greffes en ophtalmologie



ELSEVIER

Éditeur : Sylvie Vercken
Réalisation éditoriale : Muriel Chabert
Maquette de couverture : Véronique Lentaïne

© 2004 Elsevier SAS. Tous droits réservés

Elsevier SAS, 23, rue Linois, 75724 Paris cedex 15
<http://france.elsevier.com>

L'éditeur ne pourra être tenu pour responsable de tout incident ou accident, tant aux personnes qu'aux biens, qui pourrait résulter soit de sa négligence, soit de l'utilisation de tous produits, méthodes, instructions ou idées décrits dans la publication. En raison de l'évolution rapide de la science médicale, l'éditeur recommande qu'une vérification extérieure intervienne pour les diagnostics et la posologie.

Tous droits de traduction, d'adaptation et de reproduction par tous procédés réservés pour tous pays. En application de la loi du 1^{er} juillet 1992, il est interdit de reproduire, même partiellement, la présente publication sans l'autorisation de l'éditeur ou du Centre français d'exploitation du droit de copie (20, rue des Grands-Augustins, 75006 Paris).

All rights reserved. No part of this publication may be translated, reproduced, stored in a retrieval system or transmitted in any form or by any other electronic means, mechanical, photocopying, recording or otherwise, without prior permission of the publisher.

Photocomposition : MCP, 45774 Saran cedex, France
Imprimé en Espagne par Grafos, Barcelone
Dépôt légal : Avril 2004

ISBN : 2-84299-583-X
ISSN : 1762-0384

Préface

À l'aune du centenaire de la première allogreffe de cornée chez l'homme par E. Zirm le 5 décembre 1905, l'ouvrage du Pr Vincent Borderie et de ses collaborateurs comble un long – bien trop long – silence. En effet, depuis la parution, le 23 mai 1948, du rapport à la Société française d'ophtalmologie sur « les greffes de cornées » des Prs L. Paufique, G.-P. Sourdille et G. Offret, la littérature ophtalmologique française n'avait présenté de livre de synthèse sur ce sujet. Il est vrai que cette activité marginale de notre discipline pouvait légitimement laisser la place à des publications sur des thèmes plus préoccupants. Il est également vrai que, si un domaine a bénéficié des progrès des biotechnologies, de la recherche fondamentale et subi des bouleversements organisationnels, législatifs et éthiques majeurs, c'est bien celui du monde de la transplantation d'organes, de tissus et de cellules. Il importait donc de saisir le moment opportun pour envisager la synthèse de ce qui dépasse actuellement les greffes de cornées pour s'étendre aux thérapies tissulaires et cellulaires en pathologie de surface oculaire.

D'organes, de tissus ou de cellules, la greffe humaine est histoire de passion. Il faut en effet être passionné pour accepter de prendre en charge des situations cliniques en absence d'alternative thérapeutique, de dépendre d'un matériel rare, fragile et limité, de se confronter aux mystères immunologiques du soi et du non soi et, enfin, de se conforter au labyrinthe des règles législatives.

La greffe de cornée n'est pas qu'une simple affaire de techniques chirurgicales, mais nécessite l'intégration de données scientifiques complexes, variées et évolutives. Il fallait donc allier des compétences chirurgicales certaines à des connaissances scientifiques solides pour présenter la synthèse des données actuelles sur les greffes tissulaires et cellulaires en pathologie de surface oculaire. Vincent Borderie pouvait y prétendre. Il y est parvenu. Nul doute que cet ouvrage fera référence tant les auteurs ont apporté de soin à sa rédaction dense, minutieuse et complète, à son iconographie de qualité didactique et à sa bibliographie exhaustive. Cette reconnaissance, justifiée, recouvre le fruit de nombreuses années de travail qui démontrent, si besoin était, la complexité et l'aspect novateur du sujet. Tellement novateur que la thérapie génique est aux portes de l'utilisation clinique humaine et devra faire l'objet d'un ouvrage complémentaire. Gageons que nos auteurs y pensent déjà.

Pr Bernard Delbosc
CHU Jean-Minjoz, Besançon

Avant-propos

La greffe de cornée est une aventure humaine qui a débuté à l'aube du XX^e siècle et qui a permis à de très nombreux patients de retrouver la vue. Plus de 50 000 greffes sont réalisées chaque année dans le monde avec un taux de succès élevé, expliqué en grande partie par le privilège immunologique dont bénéficie la cornée. C'est un domaine dans lequel des Français se sont illustrés et l'une des rares expressions françaises médicales que connaissent nos collègues américains est la « maladie du greffon », terme par lequel le Pr Paufigue a décrit le rejet d'allogreffe de cornée il y a 50 ans. La greffe est également un domaine d'innovation médicale, la thérapie cellulaire représentant un des grands espoirs dans le traitement de certaines pathologies oculaires actuellement incurables.

Au cours des 20 dernières années, les travaux des fondateurs de l'Association européenne des banques d'yeux (EEBA), les Prs Ehlers et Armitage, les Drs Pels et Tullo, puis ceux de l'équipe du CHU de Besançon, les Prs Delbosc et Kantelip, ont largement contribué à conduire la greffe de cornée au niveau d'efficacité et de sécurité où elle se situe actuellement.

Ce livre est dédié au Pr Henry Saraux, professeur d'ophtalmologie à la faculté de médecine Saint-Antoine, et à la mémoire du Dr Louis Guillaumat, ophtalmologiste du centre hospitalier national d'ophtalmologie des Quinze-Vingts.

Table des matières

Préface	
Pr Bernard Delbosc	VII
Avant-propos	IX
Chapitre 1. – La greffe de cornée en France et en Europe	
<i>Législation</i>	2
<i>Les chiffres de la greffe</i>	8
Chapitre 2. – Kératoplastie transfixiante à but optique	
<i>Physiologie et physiopathologie de la cornée greffée</i>	14
<i>Les indications opératoires</i>	36
<i>Le greffon cornéen</i>	54
<i>Technique opératoire et soins postopératoires</i>	92
<i>Evolution normale d'une kératoplastie transfixiante</i>	124
<i>Complications peropératoires</i>	138
<i>Complications postopératoires</i>	140
<i>Résultats de la kératoplastie transfixiante</i>	186
<i>Deux situations particulières : l'autogreffe rotationnelle et la transposition cornéenne</i>	198
Chapitre 3. – Kératoplasties lamellaires à but optique : les alternatives à la kératoplastie transfixiante	
<i>Kératoplastie lamellaire profonde</i>	212
<i>Kératoplastie lamellaire automatisée</i>	224
<i>Kératoplastie lamellaire postérieure</i>	229
Chapitre 4. – Kératoplasties à but architectonique et thérapeutique	
<i>Indications</i>	234
<i>Techniques chirurgicales</i>	236
<i>Résultats</i>	238
Chapitre 5. – Greffes de limbe	
<i>Les cellules souches limbiques : physiologie et pathologie du renouvellement de l'épithélium cornéen</i>	242
<i>Indications</i>	246
<i>Technique opératoire</i>	248
<i>Résultats</i>	252
Chapitre 6. – Greffes de membrane amniotique	
<i>Propriétés</i>	260
<i>Indications</i>	262
<i>Technique opératoire</i>	264
<i>Résultats</i>	270
Chapitre 7. – Autogreffes de conjonctive	
<i>Indications</i>	280
<i>Technique opératoire</i>	280
<i>Résultats</i>	282
<i>Complications</i>	282
<i>Perspectives</i>	282

Chapitre 8. – Thérapie cellulaire	
<i>Thérapie cellulaire épithéliale</i>	286
<i>Perspectives</i>	289
Chapitre 9. – Synthèse des indications opératoires	291
Chapitre 10. – Soins infirmiers et greffes	
<i>Préparation du patient à l'intervention</i>	296
<i>Soins postopératoires</i>	297
Index alphabétique	299

Chapitre 1

La greffe de cornée en France et en Europe

Législation

Les chiffres de la greffe

1. Législation

1.1. Législation française et agences de régulation

Le Code de la santé publique reprend les textes qui régissent l'activité de prélèvement, de conservation et de greffe des tissus humains (Livre 2 : *Don et utilisation des éléments et produits du corps humain*). Pour obtenir la réglementation de manière exhaustive sur un domaine d'activité, il faut soit consulter une version actualisée du code de la santé publique, soit consulter les textes (lois, décrets, arrêtés, circulaires d'application) relatifs à cette activité. Rapporter l'ensemble des textes qui régissent le prélèvement, la conservation et la greffe des tissus humains demanderait un ouvrage complet ; aussi, seuls les principes et les références des textes sont présentés dans ce chapitre.

La législation française concernant les prélèvements de cornée, la conservation et la cession des greffons cornéens est très précise et rigoureuse. Elle impose aux différents acteurs de la greffe des règles parfois contraignantes auxquelles ils ne peuvent se déroger sous peine de sanctions pénales. Deux agences de régulation sont chargées d'organiser et de contrôler cette activité de greffe. Il s'agit de l'Établissement français des greffes et de l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé. Ces deux agences ainsi que les services déconcentrés de l'État réalisent des inspections. Les agences délivrent les autorisations d'activité au vu de dossiers d'autorisation et du résultat des inspections réalisées. Elles ont le pouvoir d'interdire une activité qui dépend de leur domaine de compétence.

Les principes de la législation française concernant les prélèvements de cornée sont ceux de respect de la volonté du donneur, de gratuité du don et d'anonymat entre donneur et receveur. La loi Bioéthique du 29 juillet 1994 stipule que le prélèvement sur une personne décédée ne peut être effectué que lorsque la personne concernée n'a pas fait connaître de son vivant son refus d'un tel prélèvement. Si le médecin n'a pas directement connaissance de la volonté du défunt, il doit s'efforcer de recueillir le témoignage de la famille. Le respect du corps humain est affirmé au chapitre 2 du titre 1^{er} du livre 1^{er} du Code civil. Le prélèvement sur personne décédée ne peut être réalisé qu'après signature du constat de la mort, vérification de l'absence d'inscription du donneur sur le Registre national des refus géré par l'Établissement français des greffes et recueil du témoignage de la famille si le médecin n'a pas connaissance directe de la volonté du défunt (article L. 1232 du Code la santé publique, décret n° 96-1041 du 2/12/1996, décret

n° 97-704 du 30/05/1997). Le prélèvement ne peut être réalisé que dans un établissement hospitalier préleveur autorisé (article L. 1233 du Code la santé publique). Ces établissements doivent disposer d'une salle de prélèvement, d'un local pour accueillir les familles et d'une coordination hospitalière des prélèvements. Le prélèvement est réalisé à la morgue dans une pièce réservée à cet effet, par excision in situ, dans le cas d'un prélèvement sur cadavre (arrêté du 24 mai 1994) ou bien au bloc opératoire, par excision in situ ou par énucléation, dans le cas des prélèvements à cœur battant (mort cérébrale). L'anonymat entre donneur et receveur doit être respecté, le principe de gratuité du don doit être garanti et une vigilance doit être exercée (article L. 1211 du Code la santé publique). La prise en charge des frais de prélèvement est régie par le décret n° 2000-409 du 11/05/2000. Les règles de bonnes pratiques relatives aux prélèvements des tissus à des fins thérapeutiques ont été publiées dans l'arrêté du 1/04/1997. La coordination hospitalière du prélèvement doit être effectuée par une infirmière ou un cadre infirmier. Un médecin coordinateur est chargé d'organiser l'activité de prélèvement. Le prélèvement est réalisé par un médecin préleveur. Le conditionnement et le transport du prélèvement répondent à des règles précises. Le prélèvement peut se faire pendant les 48 heures qui suivent le décès du donneur si le corps a été conservé en hypothermie. La recherche des contre-indications médicales à la greffe est sous la responsabilité du médecin préleveur. Celui-ci doit effectuer le prélèvement des cornées ou des globes oculaires, le prélèvement sanguin nécessaire à la réalisation des sérologies et la restitution tégumentaire. Il doit remplir une fiche opérationnelle de prélèvement et rédiger un compte-rendu opératoire du prélèvement. Le double de la fiche opérationnelle de prélèvement est adressé à l'Établissement français des greffes, qui recense ainsi l'ensemble des prélèvements de cornées réalisés sur le territoire français.

Toutes les cornées greffées en France doivent avoir été validées par une banque de tissus autorisée par l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (article L. 1243 du Code de la santé publique). Ces banques sont soumises à une réglementation très exigeante. Elles doivent disposer d'un personnel qualifié suffisant et de locaux classés, équipés d'un matériel permettant de respecter les normes de sécurité sanitaire. Les cornées sont conservées dans des systèmes clos (flacons contenant le milieu de conservation). L'ouverture de ces systèmes clos ne peut se faire que dans une salle répondant aux normes de la classe D (efficacité du filtre terminal : 95 % ; nom-

Législation française sur le prélèvement, la conservation et la greffe de cornée

Objet	Texte
Règles d'éthique du prélèvement, de la transformation, de la conservation, de la distribution et de la cession des tissus	Loi n° 94-654 du 29 juillet 1994 relative au don et à l'utilisation des éléments et produits du corps humain, à l'assistance médicale à la procréation et au diagnostic prénatal
Autorisation de prélèvement de la cornée, de la peau et de l'os cortical à la morgue	Arrêté du 24 mai 1994, fixant la liste des tissus et cellules pour lesquels le prélèvement sur cadavre est autorisé
Modalités cliniques et réglementaires du constat de la mort préalable au prélèvement	Décret n° 96-1041 du 2 décembre 1996, relatif au constat de la mort préalable au prélèvement d'organes, de tissus et de cellules à des fins thérapeutiques ou scientifiques et modifiant le Code de la santé publique (deuxième partie : décret en Conseil d'Etat)
Modèle de document à utiliser lors de la rédaction du constat de la mort	Arrêté du 2 décembre 1996, pris en application du décret n° 96-1041 du 2 décembre 1996 relatif au constat de la mort préalable au prélèvement d'organes, de tissus et de cellules à des fins thérapeutiques ou scientifiques
Conditions d'autorisation des établissements préleveurs	Décret n° 97-306 du 1 ^{er} avril 1997, relatif aux conditions d'autorisation des établissements de santé effectuant des prélèvements d'organes et de tissus à des fins thérapeutiques et modifiant le code de la santé publique (deuxième partie : décrets en Conseil d'Etat)
Modèle de demande d'autorisation des établissements préleveurs	Arrêté du 1 ^{er} avril 1997 fixant les modèles de dossier de demande d'autorisation d'effectuer des prélèvements d'organes et de tissus à des fins thérapeutiques
Rapport annuel des établissements préleveurs	Arrêté du 16 octobre 2000 fixant le modèle du rapport annuel d'activité des établissements de santé autorisés à effectuer des prélèvements d'organes et de tissus à des fins thérapeutiques
Bonnes pratiques de prélèvement de tissus	Arrêté du 1 ^{er} avril 1997, portant homologation des règles de bonnes pratiques relatives au prélèvement des tissus et au recueil des résidus opératoires issus du corps humain utilisés à des fins thérapeutiques
Fonctionnement et interrogation du Registre national des refus	Décret n° 97-704 du 30 mai 1997, relatif au registre national automatisé des refus de prélèvement sur une personne décédée d'organes, de tissus et de cellules et modifiant le Code de la santé publique (deuxième partie : décrets en Conseil d'Etat)
Frais de prélèvement	Décret n° 2000-409 du 11 mai 2000 relatif au remboursement des frais engagés à l'occasion du prélèvement d'éléments ou de la collecte de produits du corps humain à des fins thérapeutiques et complétant le code de la santé publique (deuxième partie : décrets en Conseil d'Etat)
Sélection clinique et sérologique des donneurs	Décret n° 97-928 du 9 octobre 1997 relatif aux règles de sécurité sanitaire applicables à tout prélèvement d'éléments ou toute collecte de produits du corps humain et à leur utilisation à des fins thérapeutiques, à l'exception des gamètes, du sang et de ses composants et de leurs dérivés, ainsi que des réactifs, pris en application des articles L. 665-10 et L. 665-15 du code de la santé publique et modifiant ce code (deuxième partie : décrets en Conseil d'Etat)
Modalités de recherche des virus VIH et VHC chez les donneurs	Arrêté du 24 juillet 1996, relatif à la nature des examens à réaliser pour la détection des marqueurs biologiques de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH 1 et VIH 2) et par le virus de l'hépatite C avant toute utilisation thérapeutique chez l'homme d'éléments et produits du corps humain à des fins de greffe, à l'exception des gamètes et du sang et des produits sanguins

bre de particules de taille $0,5 \mu\text{m} < 3\,500\,000/\text{m}^3$; nombre de particules de taille $5 \mu\text{m} < 20\,000/\text{m}^3$; nombre de microorganismes $< 500/\text{m}^3$) à l'intérieur d'un poste de sécurité microbiologique répondant aux normes de la classe A (efficacité du filtre terminal: 99,997 %; nombre de particules de taille $0,5 \mu\text{m} < 3500/\text{m}^3$; nombre de particules de taille $5 \mu\text{m} = 0/\text{m}^3$; nombre de microorganismes $< 1/\text{m}^3$). Les normes de la classe D imposent que l'accès à la zone se fasse par un sas, que la zone classée soit en surpression par rapport au sas qui est lui-même en surpression par rapport à l'extérieur et que la zone classée soit alimentée en air filtré avec un renouvellement permanent de l'air. Des contrôles de particules et de contaminants doivent être réalisés régulièrement à l'intérieur de la zone classée pour s'assurer que celle-ci répond bien aux critères de la classe D. Toutes les procédures de la banque de tissus doivent être écrites et régulièrement mises à jour. Les cornées ne peuvent être délivrées pour la greffe qu'après qualification, laquelle comporte un examen des informations médicales recueillies par le médecin préleveur, des contrôles sérologiques du donneur, un contrôle microbiologique du milieu de conservation et un contrôle de qualité du greffon. Les cornées qui ne répondent pas à ces critères de qualification sont détruites. Lorsqu'une sérologie est positive pour les virus VIH 1 ou 2, HTLV 1 ou 2, pour les hépatites B ou C, ou pour la syphilis, toute greffe est interdite. Les cornées délivrées pour la greffe doivent être conditionnées avec un double emballage (flacons contenant le milieu de transport et conditionnement externe) et un étiquetage précis. Elles doivent être accompagnées d'une fiche suiveuse. Le transport du greffon jusqu'au lieu de la greffe répond à une réglementation précise.

Les greffons cornéens ne peuvent être délivrés que sur la base d'une prescription médicale nominative, signée par le médecin greffeur, concernant un receveur régulièrement inscrit sur la liste nationale des patients en attente de greffe de cornée gérée et par l'Établissement français des greffes. Le médecin greffeur doit appartenir à une équipe de greffes recensée par l'Établissement français des greffes. Il doit être affilié à la banque de tissus à laquelle il fait la demande de greffons. Il doit inscrire ses patients en attente de greffe de cornée sur la liste nationale. Cette inscription est actuellement réalisée par Internet, via le logiciel GLAC. Après la greffe, il doit retourner un exemplaire de la fiche suiveuse du greffon, signée, à la banque de tissus. Cela permet de réaliser une traçabilité complète entre donneur et receveur. Cette traçabilité est réalisée par la banque de tissus. Le médecin greffeur doit également enregistrer la sortie de liste d'attente via GLAC. La liste d'attente permet donc de connaître les caractéristi-

ques démographiques et cliniques des patients en attente de greffe et des patients greffés en France au cours de l'année.

1.2. Directive européenne

Une directive européenne relative à l'établissement de normes de qualité et de sécurité pour le don, l'obtention, le contrôle, la transformation, le stockage et la distribution des tissus et cellules humains destinés à être utilisés chez l'homme est en cours d'élaboration depuis 2001. La Commission européenne a présenté une proposition de directive en juin 2001. Le Parlement européen a adopté son rapport en 2002. La procédure suit actuellement le processus d'élaboration et de modification des textes propre à l'Union européenne. Lorsqu'elle sera définitivement adoptée, cette directive devra être transposée dans le droit de chacun des États membres de l'Union européenne sous forme de loi votée par le parlement national ou de décret. La directive européenne a pour but de garantir un niveau élevé de qualité et de sécurité des tissus et cellules humains dans l'ensemble des États membres. Le non-respect des dispositions énoncées par la directive devra faire l'objet de sanctions appliquées par les États membres. Ces sanctions doivent être effectives, proportionnées et dissuasives.

La directive européenne impose l'anonymat des donneurs et l'obtention des tissus sans but lucratif. La dignité du donneur décédé doit être respectée. Le principe de solidarité entre donneur et receveur est affirmé. L'obtention de tissus ou de cellules humains n'est autorisée que si toutes les exigences relatives au consentement obligatoire, en vigueur dans l'État membre concerné, sont satisfaites. Les informations doivent être fournies à la famille du donneur. Les résultats confirmés de l'évaluation du donneur doivent être communiqués et expliqués clairement à la famille du donneur s'ils présentent un intérêt pour leur propre santé. Les États membres sont invités à prendre des initiatives pour encourager le secteur public et les bénévoles à contribuer fortement au prélèvement. Les États membres veillent à ce que l'obtention de tissus et de cellules soit réalisée par des personnes ayant la formation et l'expérience adéquates. L'établissement chargé de l'obtention des tissus et des cellules doit être en relation avec une équipe médicale et chirurgicale spécialisée. Il doit avoir conclu un accord de coopération avec les équipes responsables des dons. Il doit disposer de modes opératoires normalisés, d'un système de contrôle de la qualité, des installations et des ressources matérielles nécessaires et du personnel et des services nécessaires à la restauration du corps. Il doit veiller à ce que des recherches appropriées soient

Objet	Texte
Évaluation des réactifs de dépistage des hépatites B et C	Arrêté du 27 septembre 1996 fixant les conditions particulières d'évaluation et d'utilisation des réactifs de dépistage des anticorps anti-VHC et de l'antigène HBs
Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé	Loi n° 98-535 du 1 ^{er} juillet 1998, relative au renforcement de la veille sanitaire et du contrôle de la sécurité sanitaire des produits destinés à l'homme
Bonnes pratiques de conservation et de transport des tissus	Arrêté du 29 décembre 1998 portant homologation des règles de bonnes pratiques relatives à la conservation, à la transformation et au transport des tissus d'origine humaine utilisés à des fins thérapeutiques
Conditions d'autorisation des établissements à exercer des activités de conservation des tissus	Décret n° 99-741 du 30 août 1999 relatif aux conditions d'autorisation des établissements publics de santé et organismes exerçant les activités régies par l'article L. 672-10 du Code de la santé publique et aux modalités d'exercice de ces activités et modifiant le Code de la santé publique (deuxième partie : décrets en Conseil d'État)
Modèle de demande d'autorisation des établissements à exercer des activités de conservation des tissus	Arrêté du 30 août 1999 fixant le modèle de dossier accompagnant les demandes d'autorisation d'exercer les activités de transformation, de conservation, de distribution et de cession de tissus du corps humain et de leurs dérivés à des fins thérapeutiques
Conditions d'autorisation des procédés tissus	Décret n° 2002-1125 du 2 septembre 2002 relatif aux conditions d'autorisation des procédés de préparation, de conservation et de transformation de tissus du corps humain et de leurs dérivés mis en œuvre en vue d'un usage thérapeutique et modifiant le code de la santé publique
Règles d'attribution et de distribution des greffons tissulaires	Arrêté du 30 août 1999 portant homologation des règles de répartition et d'attribution des greffons tissulaires prélevés sur une personne décédée ou recueillis au cours d'une intervention médicale en vue de greffe
Liste nationale des patients en attente de greffe de cornée	Arrêté du 7 décembre 1999 portant homologation des règles d'attribution des cornées à des fins de greffe
Tarif interministériel des greffons cornéens	Arrêté du 31 mai 2000 modifiant le titre III du tarif interministériel des prestations sanitaires relatifs aux greffons cornéens d'origine humaine

menées afin d'empêcher la présence de toute maladie transmissible connue. Il doit tenir un registre afin de garantir une traçabilité pertinente des cellules et tissus obtenus. La directive décrit avec précision la documentation relative au donneur, les données à enregistrer, le conditionnement des tissus et cellules après obtention, ainsi que leur étiquetage et l'étiquetage du conteneur de transport.

La directive précise les critères d'exclusion des donneurs décédés. Il s'agit des décès de cause inconnue, des rétinoblastomes, des mélanomes du segment antérieur, des hémopathies malignes, des cancers susceptibles d'affecter le segment antérieur de l'œil, des situations à risque de transmission des prions (maladie de Creutzfeldt-Jakob, antécédents familiaux de maladie de Creutzfeldt-Jakob non iatrogène, démence progressive d'évolution rapide, maladies neurologiques dégénératives d'origine inconnue, receveurs d'hormo-

nes issues de l'hypophyse humaine, receveurs de dure-mère), des infections non contrôlées au moment du don, des infections par les virus VIH, VHB et VHC et de l'hémodialyse chronique. En cas de transfusion de sang, de composés du sang ou de colloïdes au cours des 48 heures précédant le décès, si le volume transfusé représente plus de 50 % du volume plasmatique, un échantillon sanguin prélevé avant la transfusion doit être disponible. Les examens sérologiques réalisés chez le donneur doivent comporter les sérologies VIH, VHC et syphilitique, la recherche de l'antigène HBs et la sérologie HTLV-I et II chez les donneurs vivant dans des zones de forte incidence ou en provenant, ainsi que chez leurs partenaires sexuels et leurs enfants. Un résultat positif contre-indique la greffe. En cas de présence d'anticorps anti-HBc, il convient de réaliser des examens complémentaires.

La directive s'applique aux centres de tissus, qu'il s'agisse de banques de tissus traditionnelles ou d'établissements exerçant des activités liées à l'utilisation chez l'homme de tissus et cellules humains. Les centres de tissus sont par vocation des établissements publics, mais les établissements commerciaux peuvent, eux aussi, être agréés en tant que centres de cellules et de tissus s'ils respectent les normes. Le centre de tissus assure la transformation des tissus et des cellules. Ce terme désigne toute activité liée à la préparation, à la manipulation, à la préservation et au conditionnement de tissus ou de cellules destinés à être utilisés chez l'homme. Le centre de tissus peut également être chargé de l'obtention et du contrôle de tissus et de cellules. La personne responsable d'un centre de tissus doit être diplômée dans le domaine des sciences médicales ou biologiques. Elle doit posséder une expérience pratique d'au moins trois ans. Le personnel des centres de tissus doit posséder les qualifications nécessaires et doit recevoir une formation adéquate. La formation initiale et continue du personnel doit être dispensée dans les deux mois qui suivent l'arrivée au centre de tissus et ensuite tous les deux ans au minimum. Pour pouvoir être agréé, un centre de tissus doit disposer d'une structure organisationnelle et de modes opératoires appropriés. Il doit opérer conformément aux modes opératoires normalisés. Il doit avoir accès à une banque de sérum avec une durée minimale de conservation de deux ans. Si les tissus et cellules sont exposés à l'environnement au cours de leur transformation, sans qu'il y ait de procédure d'inactivation microbienne ultérieure, la qualité d'air doit être de grade A (hotte à flux laminaire) avec un environnement de grade B (salle blanche). La documentation des centres de tissus doit comprendre au minimum les modes opératoires normalisés, les lignes directrices, les manuels de formation et de référence, les formulaires de compte-rendu, les données relatives au donneur, les informations sur la destination finale des tissus et cellules. Le centre de tissus doit conclure des accords écrits chaque fois que se déroule une activité externe ayant une incidence sur la qualité et la sécurité de tissus et cellules transformés en coopération avec un tiers. Les centres de tissus devront présenter un rapport annuel à

l'autorité ou aux autorités compétentes. Ce rapport sera accessible au public. En matière de traçabilité, les centres de tissus doivent conserver les données pendant au moins 30 ans.

Des structures nationales dédiées à l'agrément des centres de tissus et au suivi devront être mises en place dans chacun des États membres. Ces structures devront gérer un système de notification des incidents et réactions indésirables. Un registre des établissements agréés devra être établi au niveau européen. Les États membres devront organiser des inspections. Le délai entre deux inspections ne doit pas dépasser deux ans. Des règles d'assurance qualité devront être établies à l'échelon européen, ainsi que des dispositions communes pour la formation du personnel, des règles de traçabilité des tissus et un système régissant l'importation du tissu. Les États membres conservent le droit de légiférer sur l'interdiction du don, de l'usage expérimental, de la transformation, du stockage, de la distribution et de l'utilisation ou de la non-utilisation de n'importe quel type de cellules ou de tissus humains ou de cellules ayant une origine ou un type particulier. Les États membres qui reçoivent des importations de pays tiers doivent veiller à ce qu'elles satisfassent à des normes de qualité et de sécurité équivalentes à celles établies par la directive. Ils doivent prendre toutes les mesures nécessaires pour que toutes les exportations de tissus et cellules vers des pays tiers soient effectuées par des centres de tissus agréés.

Globalement, la législation française actuelle est en accord avec la plupart des points énoncés par la directive européenne au stade actuel d'élaboration de celle-ci. Cela ne préjuge pas de la version finale de cette directive, qui sera votée par les instances européennes et qui devra être transposée dans le droit français. La difficulté actuelle est la nécessité de disposer de salles blanches répondant aux normes de la classe B, alors que la réglementation française impose la classe D. Il semble sage d'attendre la version finale de cette directive, et sa transposition, pour entreprendre les changements de pratique visant à se conformer aux exigences européennes.



La législation française exige que la manipulation des tissus soit faite dans des salles répondant aux normes de la classe D (salle blanche).



Les cornées doivent subir un contrôle de qualité. L'endothélium cornéen est contrôlé au microscope optique et analysé avec un système informatique d'analyse d'image.



L'entrée dans la salle blanche doit se faire par un sas en dépression par rapport à la zone classée et en surpression par rapport à l'extérieur.



Des systèmes de sas matériel permettent l'entrée et la sortie des produits et tissus par des voies séparées.



L'ouverture des systèmes clos exposant les tissus à l'air ambiant ne peut être réalisée que sous un poste de sécurité microbiologique répondant aux normes de la classe A.



Les cornées sont conservées dans des étuves dont la température est contrôlée en permanence avec des alarmes rapportées.

2. Les chiffres de la greffe en France et en Europe

2.1. Les chiffres français

Les chiffres publiés par l'Établissement français des greffes montrent une augmentation progressive du nombre de cornées prélevées en France chaque année depuis dix ans, passant de 2383 en 1993 à 6844 en 2002, ce qui représente un taux annuel de prélèvement de 112 cornées par million d'habitants en 2002. Plus de 98 % des prélèvements sont faits dans des hôpitaux publics. Environ 45 % des cornées prélevées sont éliminées avant la greffe pour diverses causes (sérologie positive, endothélium non conforme, contamination...). Le nombre de cornées importées chaque année diminue depuis 2001, passant d'environ 1000 cornées par an entre 1998 et 2000 à moins de 500 en 2002. Les besoins français en greffons cornéens estimés par le nombre de patients inscrits sur la liste nationale d'attente sont de l'ordre de 5500 par an (soit 80 greffes par an et par million d'habitants). Le nombre de greffons disponibles, obtenu en additionnant le nombre de greffons issus des prélèvements faits en France (55 % de 6800) et le nombre de cornées importées, est compris entre 4000 et 4500 par an. Il existe donc toujours une situation de pénurie en greffons cornéens en France, même si celle-ci tend à s'améliorer depuis quelques années. En 2002, 1323 greffons amniotiques ont été préparés en France et 664 ont été cédés pour greffe.

Les greffons sont conservés, qualifiés et délivrés par 23 banques de tissus autorisées qui appartiennent pour 14 d'entre elles à l'Établissement français du sang et pour huit à un établissement public de santé. Une seule banque de tissus délivrant des greffons cornéens a un statut associatif et aucune banque n'a un statut privé. Le nombre de cornées conservées par banque reste modéré, le plus souvent compris entre 100 et 1000 cornées par an. Quatre banques ont une activité de conservation de cornées (\pm membranes amniotiques) exclusive, les autres banques ayant une activité multi-tissus.

Le nombre de greffes de cornées recensées est passé de 2607 en 1993 à 4107 en 2002, ce qui représente un taux annuel de greffes de 67 par million d'habitants en 2002. La plupart des cornées importées sont greffées dans des établissements de santé privés. Pour 2002, 230 équipes greffeuses sont recensées par l'Établissement français des greffes, 148 d'entre elles ayant une activité de greffe effective ; seules 35 équipes ont greffé 50 cornées ou plus dans l'année 2002. Environ la moitié des patients inscrits sur la liste nationale d'attente sont greffés dans l'année de leur inscription,

l'autre moitié étant greffée pendant l'année suivante. La première indication opératoire recensée est la kératopathie bulleuse de l'aphaque et du pseudophaque, qui représente environ 32 % des indications. La deuxième est le kératocône, qui représente environ 25 % des indications opératoires. Vient ensuite la pathologie infectieuse, puis la dystrophie de Fuchs.

L'annuaire des centres français de conservation de cornées édité sous l'égide de la Fédération des banques de tissus oculaires et de la Société française de bio-ingénierie cellulaire et tissulaire montre également une progression régulière du nombre de cornées reçues par les banques recensées par cet annuaire : 1219 cornées en 1993 à 6772 en 2002. Parallèlement, le nombre de cornées délivrées pour la greffe par ces banques est passé de 802 en 1993 à 3744 en 2002. Le pourcentage de cornées reçues qui sont éliminées avant cession a augmenté avec le temps : 34 % en 1993 à 44 % en 2002. Cela reflète l'augmentation de l'exigence qualité et sécurité. Ainsi, le pourcentage de cornées ne satisfaisant pas aux critères de qualité endothéliale est passé de 11 % en 1993 à 17 % en 2002. Les banques sont donc plus exigeantes en matière de contrôle de qualité (seuil de densité endothéliale acceptable, anomalies morphologiques endothélio-descemetiques...). Le pourcentage de cornées éliminées pour une sérologie (hépatites B et C, infections VIH et HTLV, syphilis) positive est passé de 9 % en 1993 à 13 % en 2002. Cela est expliqué par l'abaissement des seuils de positivité des tests sérologiques, qui permet de diminuer le nombre de résultats faussement négatifs mais augmente parallèlement le nombre de faux positifs. Enfin, le pourcentage de cornées éliminées pour une contamination a également augmenté, passant de 4 % en 1993 à 9 % en 2002. Les banques sont probablement plus efficaces pour détecter une contamination résiduelle après prélèvement, mais le mode prélèvement a changé, passant de l'énucléation à l'excision in situ. L'énucléation permettait une décontamination rigoureuse du globe à la banque, alors qu'avec l'excision in situ seule une décontamination de la surface oculaire à la morgue reste possible. L'annuaire des centres français de conservation rapporte l'activité 2002 de 21 banques.

2.2. Les chiffres européens

L'Association européenne des banques d'yeux (EEBA) a été fondée en 1989. Elle regroupe 67 banques de cornées réparties dans 21 pays.

Standards minimaux consensuels de l'Association européenne des banques d'yeux (EEBA)

Informations nécessaires à l'évaluation du donneur	<p>Identité et âge du donneur Cause, heure et circonstances du décès Historique médical récent et ancien Comportement augmentant le risque de maladies transmissibles</p>
Source des informations	<p>Dossier médical Staff médical et infirmier Membres de la famille et autres personnes proches du donneur Médecin de famille Examen clinique du donneur Compte rendu d'autopsie (si une autopsie a été réalisée)</p>
Évaluation sérologique des donneurs	<p>Les tests suivants doivent être négatifs : anticorps anti VIH 1 et 2, antigène HBs, anticorps anti VHC. Les tests doivent être réalisés sur un échantillon sanguin prélevé aussi rapidement que possible après le décès. L'hémolyse doit être évaluée. Si le donneur a reçu des transfusions pendant les quarante-huit dernières heures, les volumes transfusés doivent être connus et un algorithme doit être utilisé pour évaluer le degré d'hémodilution. Alternativement, un échantillon de sang pré mortem, prélevé avant toute transfusion pendant les sept jours qui précèdent le décès, peut être utilisé pour réaliser les sérologies. L'immunosuppression chronique peut interférer avec les sérologies.</p>
Âge du donneur et délai post mortem	<p>Si les cornées sont évaluées afin d'exclure celles qui présentent un endothélium non conforme, aucune limite d'âge supérieure n'est nécessaire, mais les autres anomalies cornéennes liées à l'âge doivent être prises en compte. La notion d'âge minimal est moins certaine et dépend de la demande du chirurgien. Il est recommandé de débiter la conservation aussi tôt que possible après le décès. Tous les délais (entre le décès et l'énucléation, entre le décès et la conservation) doivent être notés pour chaque donneur.</p>
Utilisation de tissu scléral conservé	<p>L'évaluation médicale du donneur est la même que pour les cornées.</p>

Les greffes en ophtalmologie

Chaque année, l'EEBA édite un ouvrage (*Directory*) rapportant ses règles, les standards minimaux qui doivent être respectés dans chaque banque, l'analyse de l'activité globale de l'ensemble des banques sur les cinq années précédentes et les chiffres individuels de chaque banque pour la dernière année (EEBA 2003). Les chiffres sont publiés un peu plus d'un an après la fin de l'année civile d'exercice. Ainsi, le *Directory* 2003 rapporte l'activité de 2001.

En 2001, ces 67 banques ont reçu 36 567 cornées ; 52 % des cornées reçues ont été délivrées pour la greffe. En outre, elles ont délivré 67 greffons limbi-ques, 1238 sclères et 1965 membranes amniotiques. Le nombre de cornées délivrées chaque année par banque est compris entre 100 et 500 pour 37 banques, supérieur à 500 pour neuf banques et inférieur à 100 pour 21 banques. La technique de conservation utilisée par ces 67 banques de cornée est l'organo-culture pour les deux tiers des cornées reçues et la conservation hypothermique à 4 °C pour le tiers restant. Moins de 2 % des globes oculaires reçus sont conservés en chambre humide et délivrés sans préparation.

L'âge moyen des donneurs est de 63 ans pour les cornées conservées en organo-culture et 59 ans pour les cornées conservées à 4 °C. Le délai entre le décès du donneur et le prélèvement est plus court en cas de conservation hypothermique qu'en cas d'organo-culture. De même, le délai entre le décès du donneur et le début de la conservation est beaucoup plus court en cas de conservation hypothermique. La durée maximale de conservation rapportée par ces banques est de 14 jours pour la conservation hypothermique, de 63 pour la phase d'organo-culture et de 14 jours pour la phase de déturgescence qui suit l'organo-culture. Néanmoins, les chiffres moyens sont beaucoup moins importants : 2 à 8 jours pour la conservation hypothermique, 6 à 26 jours pour la phase d'organo-culture et 1 à 12 jours pour la phase de déturgescence.

Le pourcentage de cornées délivrées est de 55 % après conservation en organo-culture et 63 % après conservation hypothermique. Quarante et une banques font un contrôle de l'endothélium et un examen

de la cornée à la lampe à fente avant de délivrer le greffon, alors que 24 banques ne font qu'un contrôle endothélial.

Globalement, sur quatre cornées reçues, une est éliminée pour insuffisance de qualité (opacités cornéennes ou endothélium non conforme), une est éliminée pour d'autres raisons (sérologie positive, contamination, impossibilité de réaliser les sérologies, contre-indication générale chez le donneur, problèmes techniques ou logistiques) et deux cornées sont délivrées pour la greffe. Le taux de contamination dépend de la technique de prélèvement. Pour les cornées conservées en organo-culture, il est de 7,4 % pour l'excision in situ et de 2,6 % pour l'énucléation. De même pour la conservation à 4 °C, il est de 2,9 % pour l'excision in situ et de 0,3 % pour l'énucléation. Toutes les banques surveillent régulièrement l'aspect du milieu de conservation afin de détecter les contaminations. Pratiquement toutes les banques font des contrôles microbiologiques du milieu de conservation de manière systématique et en cas de modifications de la couleur ou de la clarté du milieu de conservation. Globalement, le pourcentage de cornées typées pour les antigènes HLA est d'environ 9 %.

La traçabilité du greffon est assurée pour 100 % des greffons cornéens et plus de 99 % des sclères. Parmi les 67 banques de l'association, 54 ont un système de recueil des complications de la greffe liées au greffon (tissu-vigilance). Les procédures sont écrites dans 61 banques et un manuel d'assurance qualité existe dans 54 banques. Après la signature du traité d'Amsterdam, un système d'accréditation des banques de tissus est devenu obligatoire pour les pays de l'Union européenne. Dans 14 des 19 pays représentés dans l'association européenne, un système d'inspection et d'accréditation existe.

Le *Directory* 2004 rapporte, pour 2002, des chiffres proches de ceux de 2001, en dehors du nombre de banques qui a augmenté (passant de 67 à 82) et du nombre de cornées reçues qui a également augmenté (39 051 cornées reçues en 2002).

**Standards minimaux consensuels de l'Association européenne des banques d'yeux (EEBA) :
contre-indications à la greffe de cornée**

Infections	<p>Syndrome d'immunodéficience acquise (infection VIH). Hépatites virales actives (A, B, C). Séropositivité : VIH, antigène HBs, VHC. Comportements à haut risque pour les virus VIH et les hépatites incluant l'homosexualité ou la bisexualité connues ou suspectées, la prostitution, l'hémophilie, les enfants de mères infectées par le virus VIH, l'utilisation récente ou ancienne de drogues intraveineuses et les rapports sexuels avec des individus appartenant à des groupes à haut risque. Encéphalites virales ou encéphalites d'origine inconnue. Rage. Rubéole congénitale. Syndrome de Reye. Tuberculose active ou pendant les six premiers mois de traitement. Leucoencéphalite multifocale progressive. Septicémie (sauf si les cornées sont conservées en organo-culture avec des contrôles microbiologiques). Ictères d'origine inconnue. Infection HTLV 1 et 2.</p>
Pathologie du système nerveux central d'origine inconnue	<p>Maladie de Creutzfeldt-Jakob et groupes à risques : antécédents familiaux de maladie de Creutzfeldt-Jakob, receveur de greffe de dure-mère, receveur d'hormones pituitaires d'origine humaine. Maladie du système nerveux central de cause inconnue (sclérose en plaques, maladie d'Alzheimer, etc.). Pan encéphalite sclérosante subaiguë.</p>
Cancers	<p>Leucémies. Lymphomes. Myélome.</p>
Pathologies oculaires et chirurgie ophtalmologique	<p>Inflammation oculaire. Anomalies congénitales ou acquises de l'œil ou antécédent de chirurgie oculaire (incluant la chirurgie cornéenne au laser) susceptibles de retentir sur l'évolution de la greffe. Rétinoblastome. Tumeurs malignes du segment antérieur de l'œil.</p>

Chapitre 2

Kératoplastie transfixiante à but optique

Physiologie et physiopathologie de la cornée greffée

Les indications opératoires

Le greffon cornéen

Technique opératoire et soins postopératoires

Évolution normale d'une kératoplastie transfixiante

Complications peropératoires

Complications postopératoires

Résultats de la kératoplastie transfixiante

*Deux situations particulières : l'autogreffe rotationnelle
et la transposition cornéenne*

1. Physiologie et physiopathologie de la cornée greffée

1.1. Physiologie

La cornée est un tissu transparent, avasculaire qui assure les deux tiers du pouvoir réfractif de l'œil. Elle est un des rares sites de l'organisme qui bénéficient d'un privilège immunologique qui explique en grande part le taux de succès des greffes. Elle est constituée d'un stroma composé de lamelles de collagène et de kératocytes, limité en avant par la membrane de Bowman. L'épaisseur du stroma représente 90 % de l'épaisseur cornéenne. L'épithélium malpighien non kératinisé repose sur la membrane de Bowman par l'intermédiaire d'une membrane basale épithéliale. L'endothélium cornéen repose sur la membrane de Descemet qui correspond à une membrane basale et se situe à la face postérieure de la cornée.

1.1.1. La transparence du greffon

La conservation de la transparence du greffon cornéen est conditionnée par le bon fonctionnement de la pompe cellulaire endothéliale, l'intégrité des barrières endothéliale et épithéliale, la synthèse d'une matrice extracellulaire par les kératocytes, le maintien d'une pression intraoculaire normale et l'absence de cellules inflammatoires dans la cornée.

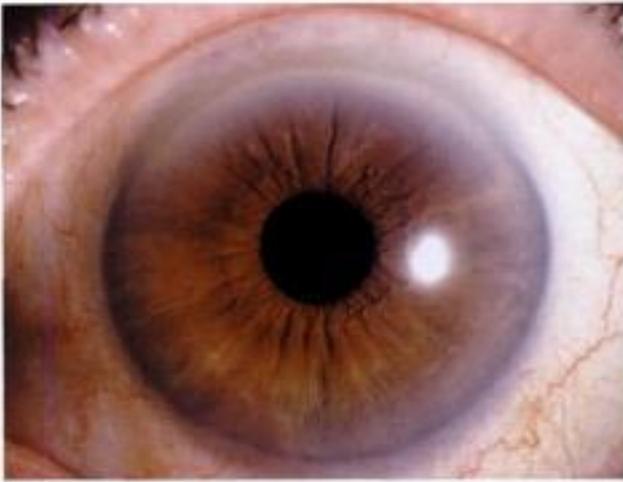
1.1.2. Régulation de l'hydratation du greffon

Le taux d'hydratation du stroma du greffon est un des facteurs clés de sa transparence. La valeur H représente le rapport entre le poids d'eau et le poids sec du stroma (en mg d'eau par mg de poids sec). Elle est linéairement liée à l'épaisseur cornéenne (e , en mm) selon la formule $H = 8e - 0,7$. Sa valeur normale est de 3,04 mg d'eau/mg de poids sec dans le stroma antérieur et 3,85 mg d'eau/mg de poids sec dans le stroma postérieur. À l'état normal la cornée contient 78 % d'eau et a une épaisseur de 0,52 mm. Les charges négatives des protéoglycanes qui entourent les fibrilles de collagène du stroma tendent à éloigner les molécules les unes des autres et donc à augmenter l'épaisseur cornéenne et l'hydratation du stroma. Elles sont à l'origine de la pression de gonflement du stroma cornéen (PG). Cette pression de gonflement est de l'ordre de 55 mm Hg. Elle diminue exponentiellement lorsque l'hydratation cornéenne augmente car les charges électriques sont alors plus espacées et les forces de répulsion diminuent. La pression d'imbibition du stroma (PI) correspond à la pression négative qu'il faut maintenir dans des microcanules remplies de sérum salé et implantées dans le stroma cornéen in vivo pour éviter tout mouvement liquidien dans les

canules. Cela montre que le stroma est maintenu in vivo dans un état de déshydratation relative. En valeur absolue, la pression d'imbibition augmente avec la pression de gonflement (qui tend à créer un appel d'eau dans le stroma) et diminue avec la pression intraoculaire (PIO, qui tend à créer une sortie d'eau hors du stroma) selon la formule : $PI = PIO - PG$. Pour une pression intraoculaire de 15 mmHg et une pression de gonflement du stroma de 55 mmHg, la valeur de la pression d'imbibition est de -40 mmHg. Quand la pression intraoculaire dépasse la pression de gonflement, la pression d'imbibition devient positive (ce qui signifie un flux liquidien hors du stroma) et un œdème sous-épithélial apparaît car le liquide extracellulaire est arrêté par la barrière épithéliale. Cette situation est réalisée pour des valeurs élevées de la pression intraoculaire (glaucome aigu) ou pour des valeurs basses de la pression de gonflement (œdème cornéen).

L'endothélium cornéen doit en permanence assurer une fonction de pompe cellulaire afin de contrebalancer la pression d'imbibition du stroma. Le fonctionnement de la pompe endothéliale nécessite la présence de glucose, d'oxygène et de certains ions (bicarbonates). Il est inhibé de manière réversible par le froid, et chimiquement par l'iodoacétate (inhibiteur de la glycolyse), le cyanite, l'ouabaïne et les inhibiteurs de l'anhydrase carbonique. Cette fonction endothéliale ne peut être assurée que si le nombre de sites ATPase sodium potassium de l'endothélium est suffisant. Cela suppose la présence d'un nombre minimal de cellules endothéliales ayant une fonction normale. En pratique, lorsque la densité endothéliale devient inférieure à 250-500 cellules par millimètre carré, un œdème du greffon apparaît (Bigar et Mishima, 1982 ; Yee, 1985). Il faut remarquer que les réserves cellulaires endothéliales sont très importantes. Ainsi un modèle théorique fondé sur le taux de perte cellulaire endothéliale annuel permet de prévoir une longévité fonctionnelle de l'endothélium (temps au bout duquel surviendrait la décompensation) de 200 ans pour une perte de 0,5%/an (taux physiologique chez l'adulte), de 100 ans pour une perte de 1,0%/an, de 50 ans pour une perte de 2,0%/an et de 33 ans pour une perte de 3,0%/an (Chandler, 1994).

Les parois latérales des cellules endothéliales présentent des inter-digitations qui augmentent la surface de contact entre cellules adjacentes. À ce niveau, il existe des *gap junctions* permettant une communication entre cellules adjacentes et des *tight junctions* (au pôle apical de la cellule) qui réalisent



Cornée normale. Acuité visuelle : 10/10.



Cornée d'un patient opérée de cataracte avec implant de chambre antérieure. Endothélium cornéen altéré (< 1000 cellules/mm²) mais conservant des capacités de déturgescence du stroma. Petite diminution de la transparence cornéenne, acuité visuelle 7/10 P2.



Kératoplastie transfixiante pour kératocône. Acuité visuelle : 10/10. Le greffon est parfaitement transparent, pourtant une analyse fine de la vision (sensibilité au contraste, à l'éblouissement...) montrerait des imperfections.



Même patient, aspect en fente.



Kératoplastie transfixiante pour dystrophie de Fuchs, aspect à 1 an.



Kératoplastie transfixiante réalisée il y a 30 ans. La transparence cornéenne est diminuée.

un réseau de jonctions focales et forment la barrière endothéliale. L'endothélium est dépourvu de desmosomes et d'hémidesmosomes. La barrière endothéliale s'oppose au flux liquidien de la chambre antérieure vers le stroma cornéen.

La fonction de barrière épithéliale est assurée par les jonctions étanches entre les cellules épithéliales et la présence de glycocalix à la surface des cellules superficielles. Elle s'oppose au flux liquidien des larmes vers le stroma cornéen.

1.1.3. Évolution de l'hydratation du greffon

Pendant la phase de conservation en organo-culture qui sépare le décès du donneur de la greffe, la fonction de pompe cellulaire endothéliale est altérée. Pour la greffe, l'épaisseur du greffon est artificiellement diminuée par un agent osmotique présent dans le milieu de conservation. Cela permet au chirurgien de disposer d'un tissu ayant une épaisseur proche de la normale, donc suturable. Au cours de la greffe ainsi que pendant les 48 premières heures qui suivent l'intervention, l'effet de l'agent osmotique disparaît et l'épaisseur du greffon augmente (œdème du greffon). Dans les jours et semaines qui suivent la greffe, la pompe cellulaire endothéliale reprend progressivement sa fonction. L'épaisseur du greffon va donc se normaliser au cours du premier mois postopératoire.

Au cours de la première année postopératoire, on observe un amincissement temporaire du greffon, avec une épaisseur cornéenne inférieure à la normale. Au cours de la deuxième année, l'épaisseur cornéenne redevient normale. Les causes exactes de cet amincissement temporaire ne sont pas connues avec précision. Néanmoins, on peut supposer que la pression d'imbibition du stroma diminue pendant cette période. Cela peut être dû à des modifications de la substance fondamentale ou des fibrilles de collagène du stroma du greffon. Les kératocytes qui renouvellent en permanence la substance fondamentale du stroma et synthétisent les fibrilles de collagène sont en effet lésés par la conservation (Borderie, 1997c ; Salla, 1995).

L'évolution de l'épaisseur cornéenne après conservation hypothermique du greffon est moins bien connue. Une étude (Lass, 1994) ne rapporte pas de modification d'épaisseur entre le troisième et le douzième mois postopératoires.

La pression intraoculaire à des effets importants sur l'hydratation du greffon. En période postopératoire immédiate, une hypertonie entraîne une diminution de l'œdème du greffon (effet compressif, barrière épithéliale non rétablie). On constate, dans ce cas, que le greffon est anormalement transparent le

lendemain de l'intervention. Par la suite, l'hypertonie oculaire est source de dysfonctionnement de la pompe endothéliale ou de mort cellulaire endothéliale et donc d'œdème du greffon. Lorsque la fonction endothéliale devient limitée (capital cellulaire endothélial faible), une augmentation de la pression intraoculaire même minime entraîne l'apparition d'un œdème du greffon.

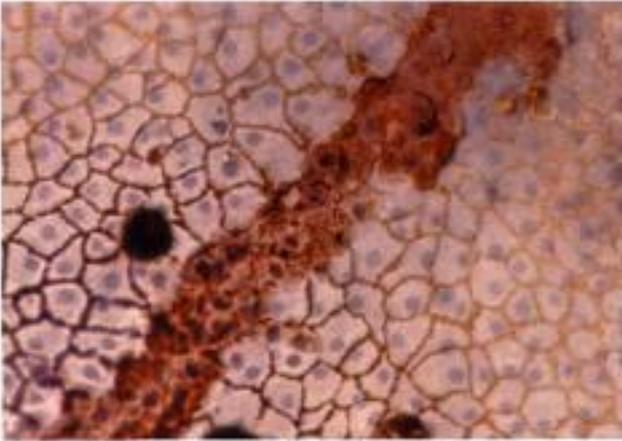
1.1.4. Cicatrisation

Après kératoplastie transfixiante, des phénomènes cellulaires complexes vont survenir qui ne sont pas tous connus avec précision.

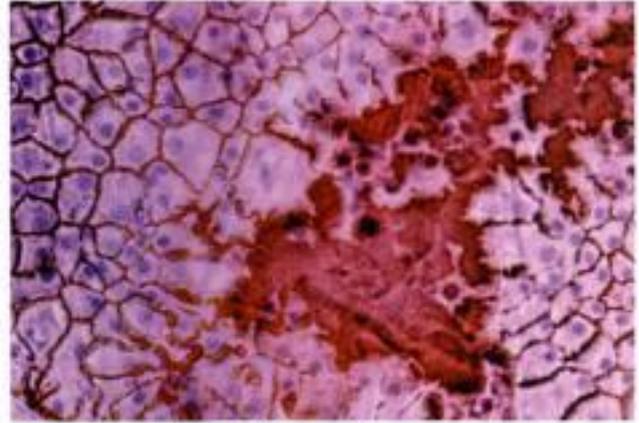
Au niveau épithélial, l'épithélium du donneur est rapidement remplacé par celui du receveur. Cela correspond à la phase de réépithélialisation du greffon qui est habituellement courte, de l'ordre de quelques jours. Néanmoins, il persiste un chimérisme cellulaire épithélial (persistance de cellules du donneur au sein de l'épithélium) pendant quelques semaines à six mois (Tsubota, 1995). Cela explique la possibilité de réactions de rejet épithélial pendant la première année postopératoire. La membrane basale épithéliale du donneur permet la repousse épithéliale rapide des cellules du receveur. Néanmoins, il est probable que les cellules épithéliales du receveur vont progressivement renouveler cette membrane basale. Le renouvellement d'une membrane basale épithéliale cornéenne est un phénomène lent qui demande environ six mois.

Après kératoplastie transfixiante, le greffon est totalement dénervé. Cela entraîne des troubles trophiques pour l'épithélium qui expliquent la pathologie épithéliale postopératoire et peut diminuer le réflexe de clignement, donc affecter l'étalement du film lacrymal à la surface du greffon.

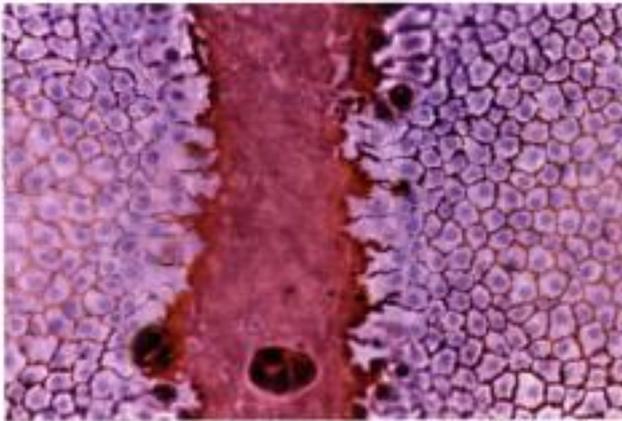
Les mécanismes de cicatrisation de l'endothélium cornéen sont particuliers. L'endothélium humain est quasiment incapable de se multiplier par mitose après la naissance. Ainsi, après destruction de cellules endothéliales, le recouvrement indispensable de la membrane de Descemet ne pourra se faire que par extension des cellules voisines. Les cellules lésées desquament dans la chambre antérieure. Les cellules voisines intactes émettent des pseudopodes (dès la 30^e minute chez le lapin), rompent leurs jonctions intercellulaires (vers la 60^e heure chez le lapin) et migrent vers la zone pathologique (vitesse de migration : 0,5 à 1 mm par jour). Les mouvements cellulaires sont facilités par la polymérisation de l'actine cytoplasmique. La morphologie cellulaire est modifiée avec un allongement des cellules et une perte de leur forme hexagonale. Lorsque les cellules se rencontrent au niveau de la zone dépourvue d'endothélium,



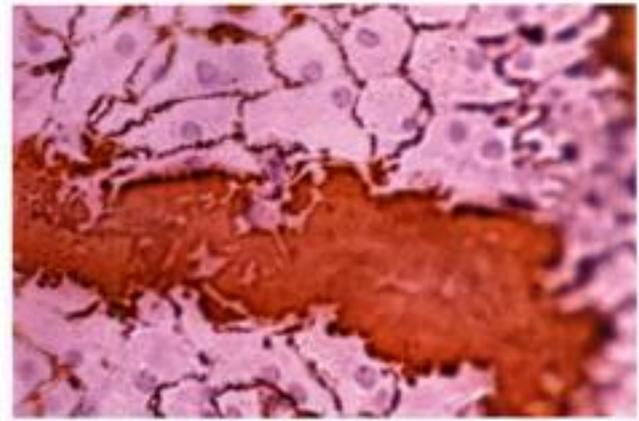
Endothélium humain conservé en organo-culture : pli de la membrane de Descemet ayant entraîné une perte d'adhérence des cellules endothéliales sur la membrane de Descemet comme en témoigne le passage du colorant (rouge alizarine) sous les cellules endothéliales.



Cicatrisation de l'endothélium cornéen. Les cellules bordant la zone de membrane de Descemet mise à nu prennent une morphologie fibroblastique et migrent pour recouvrir la zone lésée.



Au stade suivant, le pli de la membrane de Descemet a entraîné l'apoptose et l'expulsion des cellules endothéliales recouvrant le pli. Les cellules bordant le pli commencent à migrer.



Cellules endothéliales en cours de migration.

l'inhibition de contact induit un arrêt de leur migration. Les jonctions intercellulaires se reforment et la barrière endothéliale se reconstitue. La récupération de la fonction de pompe est plus longue et demande plusieurs jours à plusieurs mois suivant l'importance du traumatisme initial. Les cellules recouvrent leur morphologie hexagonale en deux à trois mois (Krachmer, 1997).

Lorsque la cornée réceptrice est dépourvue de cellules endothéliales (kératopathie bulleuse par exemple), les cellules endothéliales du greffon vont migrer sur la cornée réceptrice. Cela rend compte de la disparition de l'œdème cornéen que l'on observe au niveau de la cornée réceptrice dans les mois qui suivent la greffe.

Après un stress, les cellules endothéliales peuvent subir une métaplasie fibroblastique qui a pour conséquences la perte de la fonction de pompe et la production de collagène essentiellement de type IV. En cas de rupture de la membrane de Descemet (ce qui est le cas au niveau d'une cicatrice de kératoplastie), les cellules endothéliales sécrètent une nouvelle membrane basale sans résorber la membrane de Descemet lésée. Elle peuvent subir une métaplasie fibroblastique transitoire pendant cette phase de réparation puis reprendre secondairement une morphologie endothéliale. La cicatrisation d'une membrane de Descemet est un phénomène lent qui demande environ six mois.

La qualité de la cicatrisation de la membrane de Descemet dépend de l'affrontement des deux membranes (celle du greffon et celle de la cornée réceptrice). En cas de décalage important entre ces deux membranes, une double membrane peut se former, ce qui se traduit cliniquement par la formation d'une membrane rétro-cornéenne.

La cicatrisation stromale est un phénomène moins bien connu. Au niveau de la cicatrice de la kératoplastie, les kératocytes meurent probablement par apoptose. Autour de cette zone, les autres kératocytes se différencient en myofibroblastes et migrent vers la zone lésée. Cela permet la formation d'un réseau cellulaire contractile permettant la coaptation de la plaie et la sécrétion d'un collagène cicatriciel opaque. La solidité de la cicatrice ne s'acquiert qu'après un délai long, de l'ordre de trois ans. Néanmoins, même plusieurs décennies après la greffe, la résistance de la cicatrice aux chocs appuyés reste inférieure à celle d'une cornée normale.

Le devenir des kératocytes du greffon est mal connu. Sont-ils remplacés par ceux du receveur ? Il est bien établi que certains kératocytes du greffon meurent pendant la conservation ou après la greffe (Borderic, 1997c, 1998d). L'hypoxie post mortem entraîne

une mort kératocytaire que l'on constate en comparant des cornées juste après prélèvement et après incubation en milieu d'organo-culture. La densité kératocytaire diminue d'autant plus que le délai post mortem de prélèvement (donc la durée d'hypoxie) est long (Müller, 1998). La conservation diminue la viabilité cellulaire et la synthèse d'ARN par les kératocytes (Moller-Pedersen, 1996 ; Salla, 1995). Le remplacement des kératocytes morts après la greffe peut théoriquement se faire par mitose des kératocytes viables du greffon ou par remplacement par ceux du receveur.

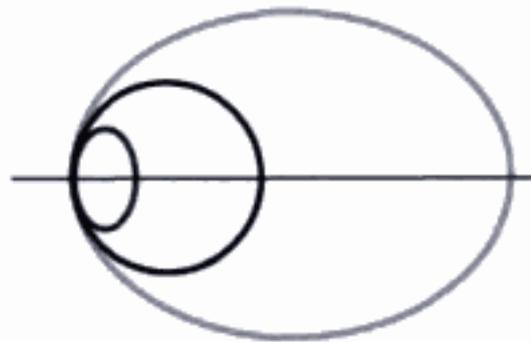
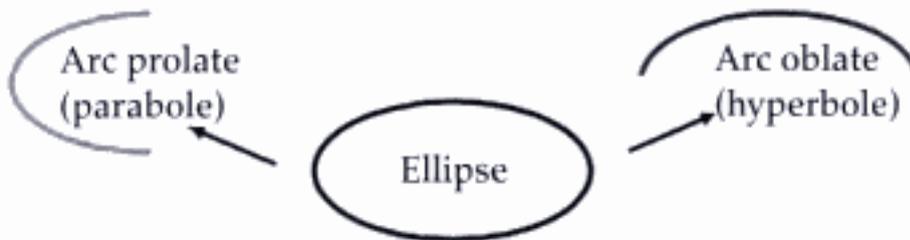
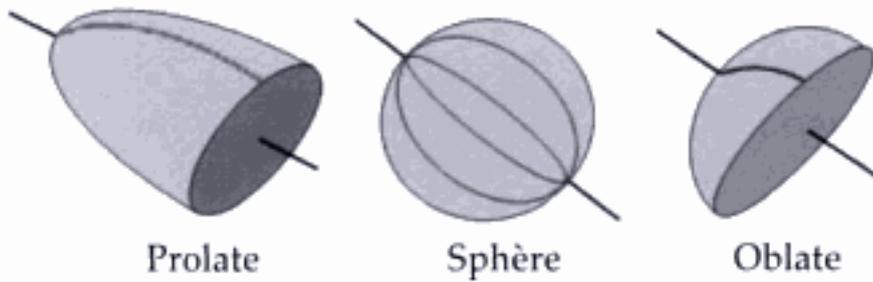
1.1.5. Surface de la cornée greffée, réfraction

La biomécanique et les propriétés optiques de la cornée sont des phénomènes complexes que nous ne connaissons que très partiellement. Ils sont profondément modifiés par l'incision perforante circulaire d'une kératoplastie transfixiante. Les seuls phénomènes que nous sachions évaluer avec une certaine exactitude, grâce aux progrès de la topographie cornéenne, sont ceux qui concernent la surface cornéenne.

L'interface air-film lacrymal représente le principal dioptré oculaire du fait de la différence importante d'indice de réfraction entre les deux milieux. La surface de la cornée greffée est donc un élément capital de réfraction et de la qualité de la vision du patient greffé. De même, les anomalies du film lacrymal (étalement, défaut qualitatif ou quantitatif des larmes) qui sont fréquentes et parfois sévères après greffe ont un retentissement visuel important.

Les sutures des kératoplasties transfixiantes induisent un bombement de la partie centrale du greffon secondaire à un aplatissement de la zone para-centrale et périphérique de la cornée (compression tissulaire de la périphérie du greffon liée aux sutures). Il existe donc un aplatissement relatif de la périphérie cornéenne (cornée réceptrice) par rapport à la cornée centrale (Touzeau, 2001c).

La géométrie de la cornée est sphérique, ce qui signifie que son rayon de courbure (et donc son pouvoir réfractif) varie de l'apex vers la périphérie (Waring, 1989). Dans la notion d'asphéricité, le rayon de courbure varie régulièrement entre l'apex et la périphérie et non pas d'un méridien à l'autre (ce qui correspond à la toricité ou astigmatisme régulier). Une surface sphérique est qualitativement prolate ou oblate selon qu'elle bombe ou qu'elle s'aplatit dans la dimension axiale. L'asphéricité prolate correspond à un bombement relatif de la partie centrale de la cornée par rapport à la périphérie (arc hyperbolique d'une ellipse). Le rayon de courbure des surfaces prolates augmente du centre vers la périphérie.



La cornée est asphérique, c'est-à-dire que son rayon de courbure n'est pas constant mais varie entre l'apex et la périphérie. Par simplification, la cornée est schématisée par une surface conique (un axe de révolution) qui est qualitativement prolate ou oblate selon le bombement ou l'aplatissement apical. Différents indices quantifient l'asphéricité, c'est-à-dire l'éloignement de la sphère.

Une ellipse (section d'une surface conique) comporte un arc prolate et un arc oblate.

Elle est définie par le rayon du cercle osculateur et un facteur d'asphéricité (excentricité). Avec une asphéricité nulle, la sphère se situe entre les surfaces asphériques prolates et oblates.

L'asphéricité oblate (arc hyperbolique d'une ellipse) est caractérisée par un aplatissement central relatif. Le rayon de courbure des surfaces oblate diminue du centre vers la périphérie. Avec un rayon de courbure constant, la sphère se positionne entre les surfaces prolates et oblates. Les indices d'asphéricité (coefficient d'asphéricité « Q », « shape factor » « $1 + Q$ », indice d'excentricité « e »...) ont pour objectif de quantifier l'asphéricité de la cornée, c'est-à-dire son éloignement de la forme sphérique. Il existe des relations mathématiques entre ces différents indices. Dans l'astigmatisme irrégulier, le rayon de courbure varie de façon irrégulière le long d'un méridien mais également d'un méridien à l'autre. L'asphéricité ne représente qu'une fraction de l'astigmatisme irrégulier.

L'asphéricité d'une cornée normale est prolates, avec une valeur moyenne du coefficient d'asphéricité de $-0,26$ (Holladay Diagnostic Summary du topographe EyeSys) (Holladay, 1997). Ce profil prolates est présent dans 90 % des cas chez les patients ayant une cornée normale non opérée (Touzeau, 2001b). L'asphéricité cornéenne prolates compense partiellement les aberrations de sphéricité. Le diaphragme pupillaire permet également de diminuer l'influence des aberrations de sphéricité.

La surface d'une cornée greffée est différente de celle d'une cornée normale : elle est le plus souvent oblate (Touzeau, 1999c, 2001c). En topographie cornéenne, la courbure de la partie centrale du greffon est inférieure à celle de la partie périphérique de celui-ci. Ce profil d'asphéricité oblate est retrouvé dans trois quarts des cas après kératoplastie transfixiante. Le coefficient d'asphéricité moyen (Q) des cornées greffées est de $+1,04$ (Holladay, Diagnostic Summary du topographe EyeSys) (Touzeau, 2001c). Cela entraîne des aberrations de sphéricité et contribue à l'imperfection de la qualité de l'image rétinienne. L'ablation des sutures augmente l'asphéricité cornéenne en entraînant un aplatissement relatif de la partie centrale du greffon.

Bien que le profil d'asphéricité de la cornée greffée soit le plus souvent oblate (aplatissement central relatif), celle-ci est plus bombée qu'une cornée normale. Ainsi la puissance réfractive centrale moyenne après kératoplastie transfixiante est de $45,5$ D alors qu'elle est comprise entre 43 et 44 D dans une cornée normale. Cela explique la tendance à la myopisation observée après la greffe.

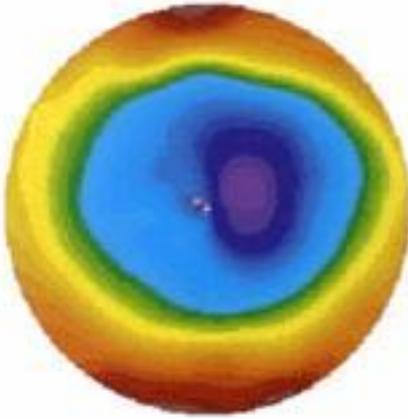
La représentation de la face antérieure de la cornée sous forme de cartes colorimétriques topographiques permet de classifier sa forme. Ces formes topographiques sont des concepts virtuels qui ne reflètent pas la forme réelle de la cornée mais l'interprétation qui en est donnée par l'algorithme du topographe. La cornée normale non astigmatique a une forme

ovale ou ronde. Les cornées astigmatiques ont souvent une forme en sablier symétrique (associée à un astigmatisme important) ou asymétrique (associée à un astigmatisme plus faible). Après greffe, la topographie cornéenne a souvent une forme plate-bombée assez spécifique de la greffe ou irrégulière. Les greffes ayant un fort astigmatisme ont une forme en sablier, volontiers symétrique.

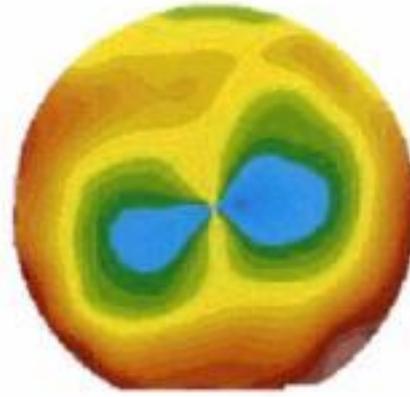
Bien que la surface cornéenne soit irrégulière après kératoplastie transfixiante, l'importance de l'astigmatisme (valeur du cylindre) a plus d'influence sur le résultat visuel (acuité visuelle corrigée en lunette) que sa régularité (Borderie, 1999g ; Touzeau, 2001c). Les variations de l'acuité visuelle corrigée sont bien corrélées aux variations du cylindre subjectif, mal corrélées aux variations des indices de régularité de la cornée et elles ne sont pas corrélées aux variations de l'équivalent sphérique. Néanmoins, l'analyse quantitative et qualitative de l'irrégularité cornéenne demeure difficile malgré les techniques dont nous disposons. De plus, la mesure de la réfraction subjective réduit les défauts optiques à un système torique (sphéro-cylindrique). Il est donc logique que l'acuité visuelle soit corrélée au cylindre. Pour analyser l'influence des irrégularités et de l'asphéricité, une analyse de type aberrométrie serait nécessaire.

L'existence d'un lien entre le kératocône et la myopie axiale peut contribuer à expliquer certains résultats réfractifs de la kératoplastie transfixiante. La myopie observée après greffe de cornée est plus importante chez les patients greffés pour un kératocône que chez les autres patients phakes greffés (dystrophie de Fuchs par exemple). La différence d'amétropie sphérique post-greffe entre kératocône et œil phake non kératocône a été attribuée à la myopie axiale préopératoire des kératocônes. Ainsi, Wilson (1989) en utilisant la même technique opératoire (et en particulier les mêmes diamètres de trépanation) retrouve une myopie plus importante dans le groupe des kératocônes que dans celui des dystrophies de Fuchs ($-3,5$ vs $-1,4$ D). Comme il n'existe pas de différence de puissance du greffon entre les deux groupes, la myopie peut être attribuée à la longueur axiale préopératoire. Chez les patients greffés pour un kératocône, Brooks (1984) a retrouvé une corrélation entre l'amétropie sphérique post-greffe et la longueur axiale. Pour les kératocônes, Tuft (1992) estime que la proportion de la myopie axiale dans l'amétropie sphérique post-greffe de l'ordre de 60 % ($-2,8$ D pour un total de $-4,8$ D). Une greffe de cornée peut corriger l'excès de puissance cornéenne et l'augmentation de la profondeur de la chambre antérieure induits par le kératocône. Cependant si le kératocône est associé à une myopie axiale, la greffe de cornée ne corrigera pas

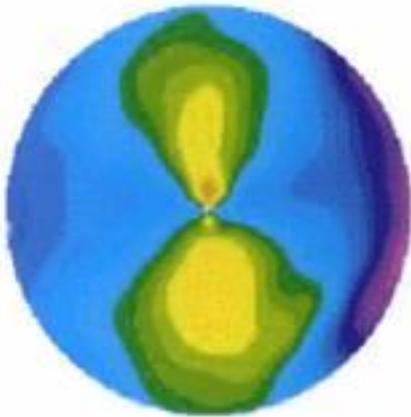
Asphérité oblate



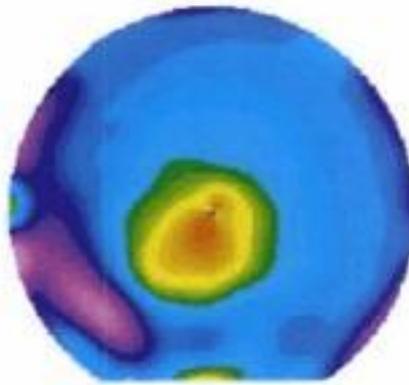
Lasik myopique



Astigmatisme post kératoplastie



Astigmatisme idiopathique



Kératocône

Asphérité prolate

Classification de l'asphérité en topographie cornéenne : les cornées oblate ont une courbure plus importante en périphérie qu'au centre (le rayon de courbure diminue donc en périphérie), les cornées prolate ont une courbure plus importante au centre qu'en périphérie (le rayon de courbure augmente en périphérie). Le profil oblate est habituellement retrouvé après chirurgie réfractive ou greffe de cornée. Le profil prolate est habituellement celui des cornées normales et des kératocônes.

l'excès de longueur du segment postérieur. Les diamètres choisis pour trépaner le greffon et la cornée réceptrice sont en général proches de 8 mm. Dès les premières kératoplasties transfixiantes, un surdimensionnement du greffon par rapport au lit récepteur a été préconisé pour ouvrir l'angle iridocornéen afin de diminuer le risque de glaucome post-greffe. Les diamètres choisis respectivement pour la cornée réceptrice et le greffon sont souvent de 8,00 et 8,25 mm. Si la trépanation du greffon est pratiquée par voie postérieure, le diamètre du greffon n'est pas réellement de 8,25 mm mais est un peu inférieur.

La différence de diamètre entre le greffon et le lit récepteur est pour de nombreux auteurs le principal facteur dans la genèse de l'amétropie sphérique post-greffe. Un surdimensionnement du greffon provoque un bombement du greffon qui se traduit par une myopie postopératoire. Après ablation des sutures, Wilson trouve un bombement du greffon et une myopie plus importante en cas de surdimensionnement du greffon de 0,25 mm par rapport à des diamètres identiques.

Les kératocônes présentent une très grande variabilité de longueur axiale (ou de longueur du segment postérieur). Ainsi, certains yeux ont un segment postérieur très long semblable aux myopes forts alors que d'autres ont un segment postérieur de petite taille comme les hypermétropes. Pour plusieurs auteurs, la mesure de la longueur axiale ou du segment postérieur des kératocônes est intéressante à connaître en préopératoire. La différence de taille entre les deux diamètres de trépanation peut être choisie de façon à limiter l'amétropie sphérique postopératoire et en particulier la myopie. Quand la longueur du segment postérieur est faible, le surdimensionnement du greffon est bénéfique et peut même être majoré (8,00 et 8,50 par exemple) de façon

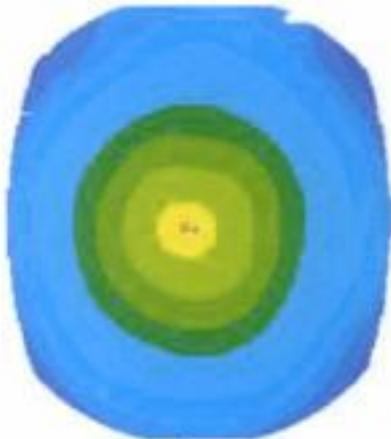
à augmenter le bombement du greffon et donc sa puissance. Au contraire, si le segment postérieur est très long il est souhaitable d'obtenir en postopératoire une puissance assez faible. Sur le plan réfractif, le surdimensionnement du greffon est néfaste. Afin de limiter la myopie postopératoire, le greffon doit avoir le même diamètre ou mieux un diamètre inférieur à celui du lit récepteur. Plusieurs auteurs ont réalisé des kératoplasties transfixiantes en sous-dimensionnant le greffon de 0,25 mm par rapport au lit receveur (Girard, 1988, 1992 ; Wilson, 1989). Wilson ne rapporte pas de cas de glaucome en cas de sous dimensionnement du greffon. Toutefois, la suture du greffon est plus difficile quand celui-ci est plus petit que le lit récepteur. De plus, la gestion des amétropies postopératoires est plus difficile si le greffon a une faible puissance. L'adaptation d'une lentille est beaucoup plus difficile si le greffon est plat. Les greffons plats « répondent » moins bien aux incisions relaxantes (arciformes ou T-cuts) que les greffons bombés. Le sous-dimensionnement d'un greffon est donc à éviter en pratique clinique.

1.1.6. Distribution de l'épaisseur cornéenne

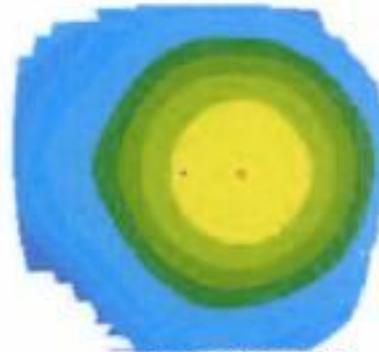
Celle-ci peut être étudiée à l'aide de l'Orbscan. Dans une cornée normale, l'épaisseur cornéenne est répartie régulièrement avec une augmentation de l'épaisseur du centre vers la périphérie, la zone la plus fine étant proche de l'apex de la cornée, en temporal inférieur dans deux tiers des cas. Les cartes de l'épaisseur cornéenne ont une forme ronde centrée ou ovale centrée, ce qui représente environ 75 % des cornées normales. Après greffe, ces répartitions centrées sont beaucoup moins fréquentes (25 % des cas). Dans 70 % des cas, les cartes d'épaisseur ont une forme décentrée ovale ou irrégulière (Touzeau, 2001c).

Physiologie de la cornée greffée

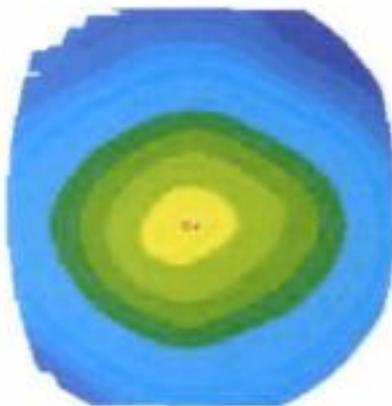
- La conservation de la transparence du greffon cornéen est conditionnée par le bon fonctionnement de la pompe cellulaire endothéliale, l'intégrité des barrières endothéliale et épithéliale, la synthèse d'une matrice extracellulaire par les kératocytes, le maintien d'une pression intraoculaire normale et l'absence de cellules inflammatoires dans la cornée.
- Après kératoplastie transfixiante, l'épithélium du donneur est rapidement remplacé par celui du receveur, le greffon est totalement dénervé. L'endothélium humain étant incapable de se multiplier par mitose après la naissance, lorsque la cornée réceptrice est dépourvue de cellules endothéliales, les cellules endothéliales du greffon vont migrer sur la cornée réceptrice. Les cellules endothéliales sécrètent une nouvelle membrane basale au niveau de la cicatrice.
- Les sutures des kératoplasties transfixiantes induisent un bombement de la partie centrale du greffon. La surface d'une cornée greffée est différente de celle d'une cornée normale, elle est le plus souvent oblate. Bien que la surface cornéenne soit irrégulière, l'importance de l'astigmatisme a plus d'influence sur le résultat visuel que sa régularité.



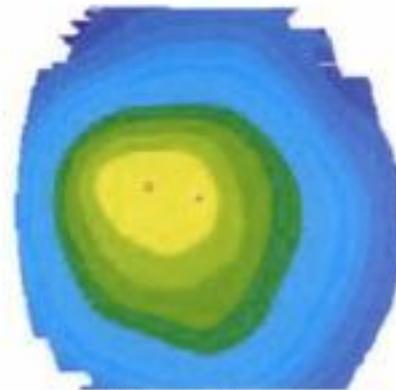
Rond centré



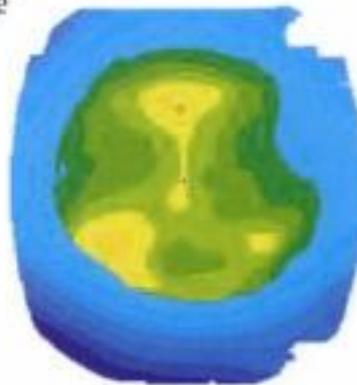
Rond décentré



Ovale centré



Ovale décentré



Irrégulier

1.2. Mécanisme du rejet d'allogreffe de cornée

1.2.1. Histologie des greffons cornéens humains rejetés

L'infiltrat inflammatoire présent dans les greffons rejetés est polymorphe (Van der Want, 1981). Des cellules de Langerhans sont présentes au niveau de l'épithélium et du stroma de la cornée centrale. L'infiltrat retrouvé dans le stroma du greffon est composé de lymphocytes T4 (CD4+) mais aussi T8 (CD8+), de macrophages, de cellules *Killer* et *Natural Killer*. Les lymphocytes sont également présents au niveau des lignes de rejet endothéliale et épithéliale. Pepose (1985) trouve un rapport lymphocytes helpers/lymphocytes suppresseurs égal à 3,9 au sein de l'infiltrat et un rapport macrophages/lymphocytes égal à 2,5. Cree (1995) a décrit la présence de cellules mononucléées au contact des kératocytes dans le stroma de cornées rejetées, témoignant de la cytotoxicité dirigée contre les kératocytes du greffon. Polack (1972) et Renard (1987) ont étudié en microscopie électronique à balayage des greffons rejetés. Ils décrivent la présence de lymphocytes isolés ou en amas au contact de l'endothélium avec des prolongements pénétrant dans les cellules endothéliales ou entre elles, entraînant la destruction des cellules endothéliales (cytotoxicité dirigée contre l'endothélium du greffon).

Au cours du rejet, les antigènes HLA de classe II sont exprimés par les cellules épithéliales, endothéliales et par les kératocytes du greffon. Cela est dû à la présence d'interféron γ (IFN- γ). En effet l'expression HLA-DR au niveau de la cornée est inductible *in vitro* en présence d'IFN- γ , alors que l'interleukine 1 (IL-1) et l'interleukine 6 (IL-6) n'ont aucun effet. On retrouve également une expression d'ICAM-1 (CD54) par les kératocytes et les cellules endothéliales ainsi que quelques cellules épithéliales. La molécule LFA1 est exprimée par des cellules présentes dans les zones exprimant ICAM-1 (Whitcup 1993). Les molécules VCAM-1, NCAM, CD44 et LFA3 sont exprimées au niveau de l'endothélium. On retrouve également une expression d'ELAM-1. Ainsi, les cellules endothéliales cornéennes expriment, au cours du rejet, les molécules d'adhésion qui sont les marqueurs fonctionnels des cellules présentatrices des antigènes (APC) — HLA-DR, ICAM1, LFA3 — et facilitent l'adhésion des lymphocytes.

Pepose (1985) a décrit les lésions tissulaires du greffon créées par le rejet : amincissements irréguliers de l'épithélium, destructions localisées de la membrane de Bowman, fibrose du stroma, néovascularisation du stroma, membrane de Descemet amincie et laminée,

endothélium absent ou pauci-cellulaire, formation de membranes rétro-cornéennes. Des capillaires lymphatiques identifiés par l'expression du récepteur de type 3 au VEGF (VEGF-R3) et de la podoplanine ainsi que par l'aspect ultrastructural (cellules endothéliales plates sans *tight junctions*, ni membrane basale, ni péricytes) ont été mis en évidence dans des greffons humains rejetés (Cursiefen, 2001).

1.2.2. Cultures lymphocytaires à partir de greffons humains rejetés

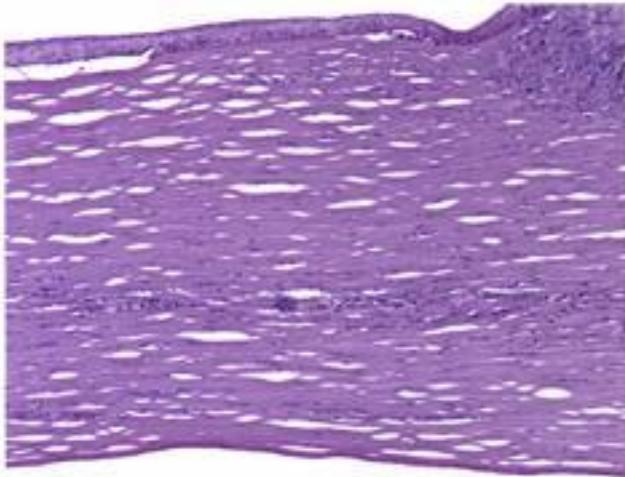
Les cultures lymphocytaires réalisées à partir de greffons humains rejetés permettent d'obtenir une prolifération de lymphocytes T8 et de lymphocytes T4. La répartition entre ces deux sous-populations semble équilibrée ; alors que les cultures de lymphocytes isolés de cornées de cadavres aboutissent le plus souvent à une prolifération de lymphocytes T8 (Wackenheim-Urlacher, 1995).

1.2.3. Immunité humorale

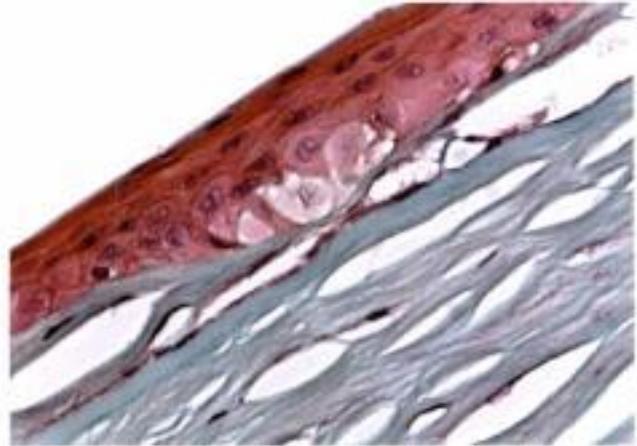
Ehlers (1981) a décrit un rejet de kératoplastie transfixiante avec présence d'une cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (ADCC), sans intervention des lymphocytes T cytotoxiques (CTL), ni cytotoxicité dépendante du complément (CDC). Mohan (1987) rapporte une augmentation du taux d'IgG dans les larmes au cours du rejet, transitoire en cas de rejet réversible et persistante en cas de rejet irréversible.

1.2.4. Modèle expérimental murin de rejet d'allogreffe de cornée

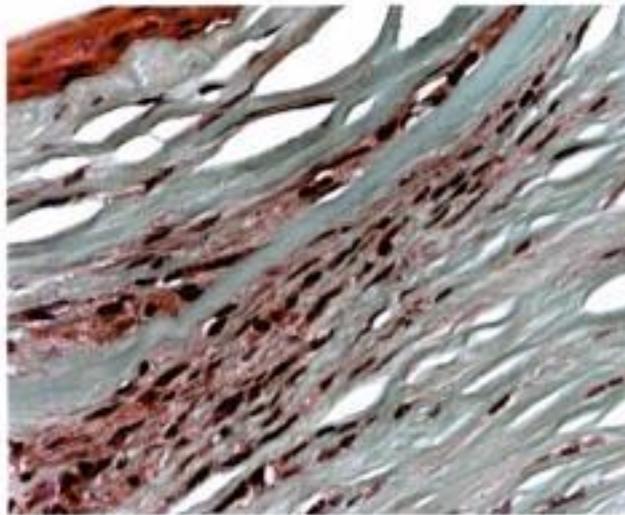
Rubsamen (1984) utilise un modèle d'allogreffe de cornée hétérotopique (cornée greffée en position sous-cutanée) avec une combinaison donneur-receveur identique pour les antigènes de classe I du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH classe I) et incompatible pour les antigènes de classe II du CMH (1^{re} greffe sensibilisante), suivie d'une greffe cutanée provenant de la même lignée de souris (2^e greffe). La migration des cellules de Langerhans dans la cornée centrale est induite par le dinitrofluorobenzène (DNFB). L'auteur étudie la survie du greffon cutané (2^e greffe). Une allogreffe de cornée non prétraitée ne diminue pas la durée de survie du greffon cutané alors qu'une allogreffe de cornée prétraitée par le DNFB la diminue. La présence de cellules de Langerhans dans l'épithélium du greffon cornéen augmente donc l'immunogénicité du greffon. Matoba (1986) utilise un modèle d'allogreffe de cornée orthotopique incompatible pour les antigènes de classe II du CMH chez des souris ATXBM déficientes en lymphocytes T (thymectomie, irradiation, puis greffe de moelle



Histologie du rejet d'allogreffe de cornée : infiltrat inflammatoire diffus dans le greffon.



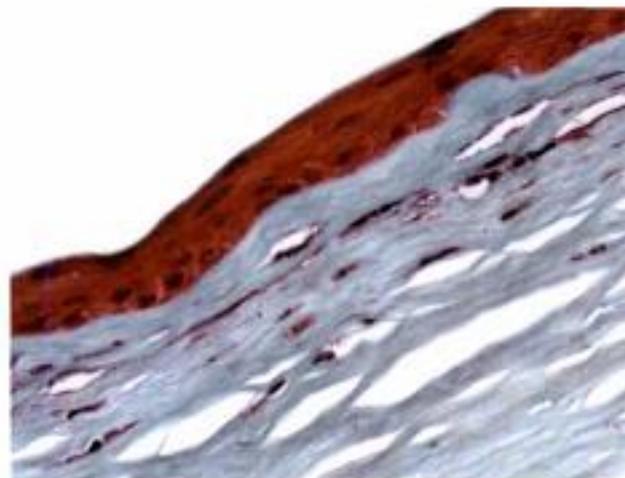
Histologie du rejet d'allogreffe de cornée : œdème des cellules basales de l'épithélium du greffon, destruction de la membrane de Bowman.



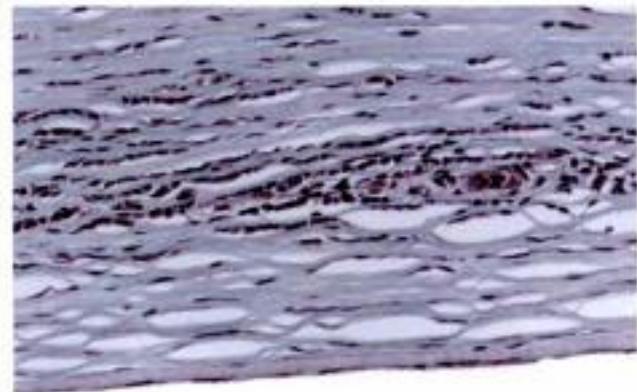
Histologie du rejet d'allogreffe de cornée : infiltrat inflammatoire dans le stroma antérieur du greffon, destruction de la membrane de Bowman.



Histologie du rejet d'allogreffe de cornée : infiltrat inflammatoire dans le stroma antérieur du greffon avec un décollement de l'épithélium.



Histologie du rejet d'allogreffe de cornée : néovaisseaux dans le stroma antérieur du greffon.



Histologie du rejet d'allogreffe de cornée : infiltrat inflammatoire dans le stroma postérieur du greffon avec une nécrose de l'endothélium.

déplétée en lymphocytes T). Il démontre que le rejet peut avoir lieu en l'absence de lymphocytes T helper et donc de réaction d'hypersensibilité retardée. Une déplétion en lymphocytes T suppresseurs prolonge la survie du greffon. Sonoda (1995) utilise un modèle d'allogreffe de cornée orthotopique avec différentes combinaisons pour les antigènes majeurs (CMH) et mineurs (mH), compatibles ou incompatibles. Il démontre que les allo-antigènes mineurs d'histocompatibilité induisent plus d'hypersensibilité retardée et de rejet que les allo-antigènes majeurs. La réaction d'hypersensibilité retardée présente quatre semaines après la greffe disparaît spontanément, que le greffon soit rejeté ou non. He (1996) utilise un modèle d'allogreffe de cornée orthotopique incompatible pour les antigènes mineurs d'histocompatibilité avec différentes combinaisons compatible ou incompatible pour les antigènes majeurs. Il démontre que la sensibilisation du receveur aux antigènes du donneur par voie orale a un effet préventif sur le rejet (induction d'un état de tolérance partiel). Cet effet est retrouvé dans un modèle allogénique complet (antigènes d'histocompatibilité majeurs et mineurs) et dans un modèle pré-immunisé, incompatible pour les antigènes mineurs et compatible pour les antigènes majeurs. Joo (1995) utilise un modèle d'allogreffe de cornée orthotopique incompatible pour les antigènes mineurs et majeurs. Il retrouve une hypersensibilité retardée dirigée contre des antigènes mineurs, plus importante chez les receveurs ayant rejeté leur greffon que lorsque le greffon reste clair. En revanche, l'activité des lymphocytes T cytotoxiques est identique dans les deux groupes de receveurs. Sa conclusion est que le rejet est médié par une réaction d'hypersensibilité retardée dirigée contre des allo-antigènes mineurs du donneur. Sano (1996) rapporte des résultats similaires. Nicholls (1991) retrouve également une influence importante des antigènes mineurs. Le phénotype des lymphocytes T engagés dans la réaction de rejet est essentiellement Th1 avec une production d'interleukine 2 (IL-2) et d'interféron γ (IFN- γ), sans production concomitante d'IL-4, ni IL-10. Au cours du rejet une production de cytokines Th1 (IFN- γ , IL-2) est retrouvée dans l'humeur aqueuse et prédomine sur la production des cytokines Th2 (IL-4, IL-10) (Yamagami, 1998). Une activation de lymphocytes Th2 spécifiques des antigènes majeurs du donneur peut être détectée dans les ganglions lymphatiques cervicaux, mais elle existe quel que soit l'état du greffon (rejeté ou clair) (Haskova, 1997). Lors du rejet, les cellules mononucléées qui infiltrent le greffon expriment essentiellement les antigènes de classe II du receveur, ce qui plaide pour une allorecognition indirecte (reconnaissance par les lymphocytes T du receveur des allo-antigènes du donneur présentés par les cellules présentatrices du

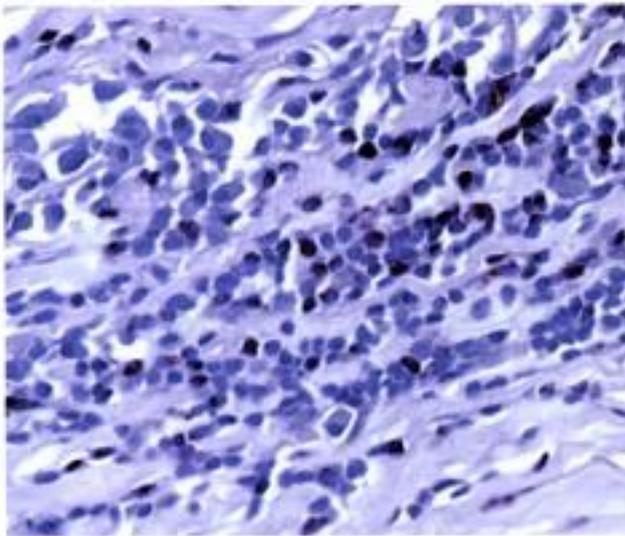
receveur) dans le modèle murin (Hori, 1997). Hargrave (1997) montre que le rejet chez la souris n'est pas corrélé à la production d'anticorps. De plus le transfert passif d'anticorps anti-donneur ne diminue pas la survie du greffon. Les cellules épithéliales sont protégées de la réaction de cytotoxicité dépendant du complément (CDC) par leur expression constitutive de la protéine DAF. Les cellules endothéliales n'expriment pas DAF, mais cette molécule contenue dans l'humeur aqueuse les protège de la réaction CDC.

Au total, il semble donc, dans les modèles murins :

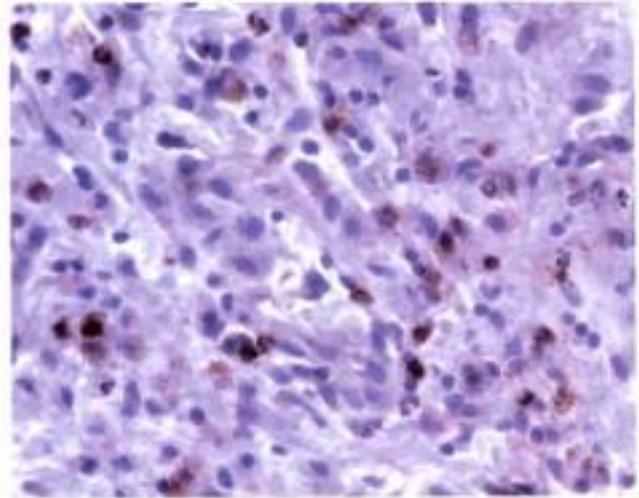
- que les allo-antigènes mineurs d'histocompatibilité soient plus immunogènes et soient plus sources de rejet que les allo-antigènes majeurs ;
- que le rejet soit médié par des lymphocytes Th1 après allorecognition indirecte ;
- que l'immunité humorale ne joue pas de rôle prépondérant.

1.2.5. Modèle expérimental de rejet d'allogreffe de cornée chez le rat

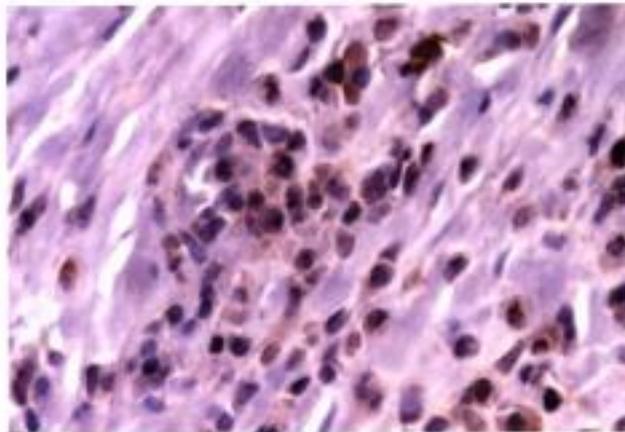
Nicholls (1991) utilise un modèle d'allogreffe de cornée orthotopique incompatible pour les antigènes mineurs avec différentes combinaisons compatible ou incompatible pour les antigènes majeurs. L'identité CMH ne permet pas de prévenir le rejet en cas d'incompatibilité mH. L'identité CMH augmente la survie du greffon en cas de pré-sensibilisation aux allo-antigènes du donneur, mais pas en l'absence de pré sensibilisation. La pré-sensibilisation du receveur raccourcit le délai de survenue du rejet. Les incompatibilités pour les antigènes mineurs semblent jouer un rôle dans le rejet. Ross (1991) utilise des combinaisons variées en fonction des allo-antigènes mineurs, majeurs de classe I et majeurs de classe II. Il enrichit certains greffons en cellules de Langerhans par migration induite par le latex. Il démontre que l'identité des antigènes majeurs de classe I et mineurs permet de prévenir le rejet malgré une incompatibilité des antigènes majeurs de classe II. Cet effet est retrouvé également chez les receveurs pré-sensibilisés, mais il ne s'agit alors que d'un allongement de la survie du greffon. Cet effet est retrouvé pleinement lorsque le greffon est enrichi en cellules de Langerhans allogéniques. Treseler (1985) utilise un modèle allogénique complet (incompatible pour les antigènes majeurs et mineurs). Une première greffe cutanée sensibilisante est suivie d'une greffe de cornée orthotopique (même donneur). L'étude de la cytotoxicité cellulaire médiée par les anticorps (ADCC) permet de retrouver une cytotoxicité dirigée contre les antigènes majeurs mais pas contre les antigènes mineurs.



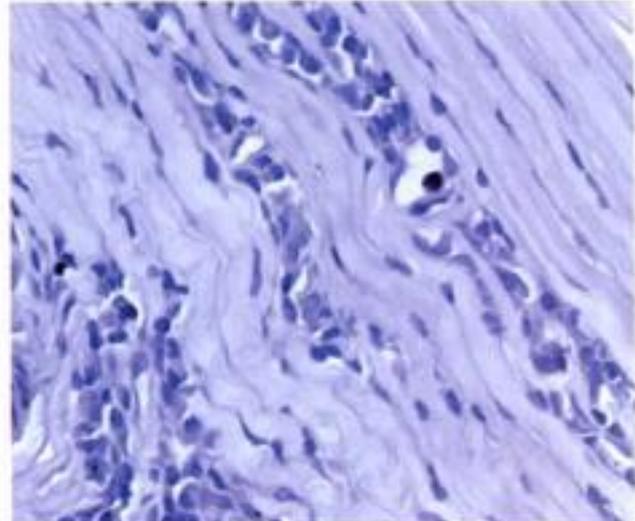
Rejet d'allogreffe de cornée : infiltrat inflammatoire, immunomarquage pan T (lymphocytes T).



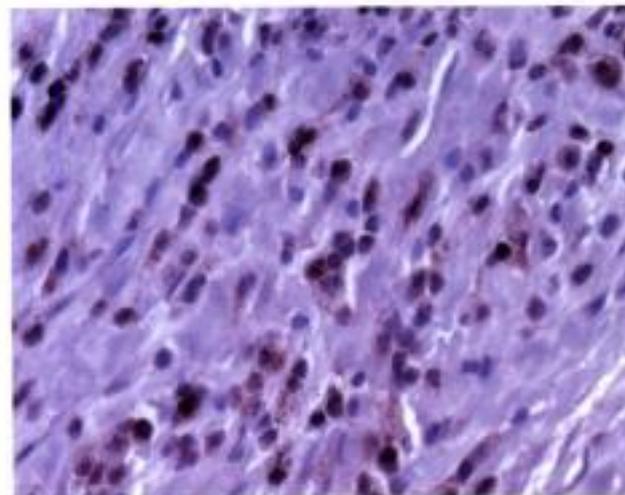
Rejet d'allogreffe de cornée : infiltrat inflammatoire, immunomarquage CD8 (lymphocytes T8).



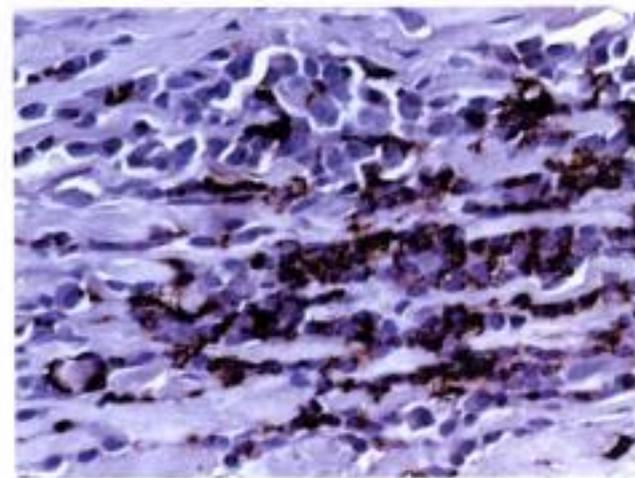
Rejet d'allogreffe de cornée : infiltrat inflammatoire, immunomarquage CD4 (lymphocytes T4).



Rejet d'allogreffe de cornée : infiltrat inflammatoire, immunomarquage CD68 (macrophages).



Rejet d'allogreffe de cornée : infiltrat inflammatoire, immunomarquage CD4 (lymphocytes T4).



Rejet d'allogreffe de cornée : infiltrat inflammatoire, immunomarquage pan B (lymphocytes B).

Treseler (1985) a mis en évidence une immunité humorale dirigée contre les allo-antigènes du donneur au cours de greffes hétérotopiques chez le rat. Il s'agit d'une cytotoxicité médiée par les anticorps dépendante du complément (CDC). Elle ne semble pas déclenchée par les antigènes mineurs.

1.2.6. Modèle humain théorique du rejet d'allogreffe de cornée

On décrit classiquement, dans les modèles du rejet d'allogreffe de cornée, un arc afférent (alloreconnaissance, activation des cellules T du receveur) et un arc efférent (migration des cellules effectrices du receveur et destruction des cellules du donneur) (Hill 1996).

1.2.6.1. Alloreconnaissance

Lorsque les cellules T du receveur rentrent en contact avec les allo-antigènes HLA du donneur, l'absence de self tolérance pour le trimère peptide-molécule HLA entraîne une stimulation de ces cellules T. L'alloreconnaissance peut être directe (sur des cellules présentatrices de l'antigène du donneur) ou indirecte (peptides du donneur présentés par des cellules du receveur). Les cellules de l'organisme capables de jouer le rôle de présentation de l'antigène aux lymphocytes T en dehors de la présence d'interféron γ sont les cellules de Langerhans, les monocytes-macrophages et les lymphocytes B.

L'alloreconnaissance directe. Elle est la reconnaissance de différences au niveau des peptides présentés dans la poche des molécules HLA allogéniques. Les lymphocytes T du receveur sont activés par les antigènes de classe II du donneur exprimés par les cellules dendritiques du greffon sans restriction aux antigènes majeurs du receveur (le lymphocyte T du receveur et la cellule du donneur lui présentant ses allo-antigènes peuvent ne pas avoir les mêmes molécules HLA de classe II). Les produits du complexe majeur d'histocompatibilité ont un grand polymorphisme qui intéresse les molécules HLA, mais aussi des enzymes protéolytiques et des molécules chaperonnes (TAP1, TAP2) (Halloran, 1993). Les cellules du greffon susceptibles de jouer le rôle de cellules présentatrices de l'antigène (APC) au cours de cette alloreconnaissance directe sont les cellules de Langerhans de l'épithélium et les cellules histiocytaires du stroma (cellules « passagères »), à l'état basal. En présence d'IFN- γ , toutes les cellules du greffon pourraient potentiellement jouer ce rôle. Néanmoins, il a été montré que, si les cellules cornéennes épithéliales (Iwata, 1994) et endothéliales (Donnelly, 1985) exprimant les antigènes HLA de classe II après stimulation par l'interféron γ peuvent stimuler des lym-

phocytes allogéniques non pré-sensibilisés, les kératocytes dans des conditions similaires ne le peuvent pas (Young, 1985). Le lieu de l'alloreconnaissance n'est actuellement pas connu avec certitude. Il pourrait s'agir du greffon, du limbe du receveur, du territoire lymphatique de drainage de la cornée, voire éventuellement de la rate. Les trois dernières hypothèses impliqueraient une migration des APC du donneur.

Alloreconnaissance indirecte. Les cellules du receveur susceptibles de jouer le rôle d'APC au cours de cette alloreconnaissance indirecte sont les cellules de Langerhans qui sont présentes en grand nombre au niveau du limbe. Elles peuvent internaliser les allo-antigènes HLA des cellules du donneur au niveau du greffon. Elles migrent ensuite dans les ganglions lymphatiques de drainage de la cornée. La présentation des allo-antigènes aux lymphocytes T du receveur se faisant dans ces ganglions lymphatiques : les peptides issus de la dégradation des molécules HLA du donneur sont présentés par les molécules HLA classe II du receveur exprimées à la surface des cellules de Langerhans du receveur. L'alloreconnaissance indirecte est restreinte aux antigènes HLA du receveur (l'APC et le lymphocyte T expriment tous deux les mêmes antigènes HLA). Les cellules endothéliales vasculaires de la région limbique du receveur, si elles sont activées par une réaction inflammatoire au niveau du segment antérieur, pourraient aussi jouer le rôle d'APC.

Chez les receveurs non sensibilisés, 5 à 10 % des lymphocytes circulants expriment un récepteur à l'antigène dont la spécificité permet une activation directe. Par comparaison, seuls 0,01 à 0,1 % des lymphocytes circulants peuvent être activés par la voie indirecte. Au début de l'alloreconnaissance chez un receveur non sensibilisé, la voie directe devrait donc prédominer. Celle-ci est dépendante de la présence de cellules dendritiques du donneur dans le greffon. En revanche, lorsque ces cellules ont migré hors du greffon, le mécanisme prédominant deviendrait l'alloreconnaissance indirecte (Hill, 1996). En l'absence de cellules dendritiques, l'alloreconnaissance directe serait inductrice d'anergie (tolérance), par absence de second signal d'activation lymphocytaire.

Allo-activation des lymphocytes T helper du receveur : modèle de Cohn-Bretschner. L'antigène est présenté au lymphocyte T4 par une APC, après *processing*, dans la poche d'une molécule de classe II. La captation de l'antigène par l'APC entraîne une libération d'interleukines 1 et 6 (IL-1, IL-6). Le contact APC-lymphocyte T helper entraîne une activation du complexe CD3-récepteur à l'antigène (TCR) de la cellule T, qui transmet un signal au lymphocyte T. Ce

signal est régulé par la sécrétion d'interleukine 1 (IL-1) par l'APC activée (deuxième signal). Il s'en suit une expression du récepteur à l'IL-2, une sécrétion autocrine (par le même lymphocyte T) ou paracrine (par d'autres lymphocytes T) d'IL-2. Les lymphocytes T4 peuvent sécréter de l'IL2 de façon autonome, alors que les lymphocytes T8 ne le peuvent pas. La présence du premier signal sans deuxième signal aboutit à l'anergie et à la tolérance. Les molécules CD4 et LFA1 (CD18-CD11a), présentes sur le lymphocyte T, stabilisent l'interaction entre le récepteur du lymphocyte T (TCR) et le peptide antigénique en se fixant respectivement sur les molécules HLA de classe II et ICAM-1 de l'APC. Les molécules ICAM sont présentes sur la cellule de Langerhans (ICAM-1 ou CD54), sur les cellules endothéliales (ICAM-1, ICAM-2 ou CD102) et sur les monocytes (ICAM-3 ou CD50). La molécule CD2 du lymphocyte T se fixe sur la molécule LFA3 (CD58) de l'APC. L'activation de cellules T helper médiée par le TCR et le récepteur à l'IL-2 entraîne une libération d'IFN- γ qui elle-même active l'APC. La libération d'interleukines (IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6) par le lymphocyte T helper entraîne une activation des lymphocytes T8 cytotoxiques, une activation des cellules NK, une activation des lymphocytes B spécifiques de l'antigène et une différenciation de cellules B en plasmocytes sécrétant d'anticorps. L'expression des molécules HLA de classe II et de classe I ainsi que l'expression de la molécule ICAM-1 sont augmentées sous l'influence de l'IFN- γ , de l'IFN- α et du TNF- α .

Diverses lignées cellulaires immunocompétentes vont se différencier et proliférer. Les lymphocytes T, restreints par le complexe majeur d'histocompatibilité et spécifiques de l'antigène, peuvent médier directement le rejet. Après sensibilisation à l'antigène (interaction entre APC et lymphocyte T4 helper), l'activation ultérieure des lymphocytes T8 peut se faire en l'absence de coopération des lymphocytes T4. Les lymphocytes T4 sont restreints à la classe II, les lymphocytes T8 à la classe I. Les deux mécanismes, hypersensibilité retardée (DTH) et lymphocytes T cytotoxiques (CTL), jouent a priori un rôle important dans le rejet et peuvent se potentialiser réciproquement. Classiquement, l'activation des lymphocytes T8 requiert une activation préalable des lymphocytes T4 et donc une allorecognition des antigènes HLA classe II du donneur. Les autres lignées en cause sont les macrophages activés notamment par l'IFN- γ , les lymphocytes Killer (ADCC, cytotoxicité cellulaire médiée par les anticorps), les lymphocytes Natural Killer expandus par l'IL2 (LAK : lymphocyte activated killer), les lymphocytes B qui mûrent en plasmocytes (IL-4, IL-5, IL-6) sécrétant d'immunoglobulines anti-HLA.

La migration des cellules effectrices est favorisée par l'expression de molécules d'adhésion au niveau du greffon. Les cellules effectrices peuvent être des lymphocytes T8 cytotoxiques (CTL) dirigés contre les cellules du greffon exprimant les molécules HLA de classe I, des lymphocytes T4 helper sécrétant de l'IFN- γ qui induit l'expression des molécules de classe II par les cellules du greffon et active les macrophages (hypersensibilité retardée), certains lymphocytes T4 pouvant être dirigés contre les cellules du greffon exprimant les molécules HLA de classe II (lymphocytes T4 cytotoxiques), des monocytes et macrophages produisant de l'IL-1 (ils constituent une fraction des cellules Killer), des lymphocytes B, des cellules Killer (phénomène ADCC) et des lymphocytes *Natural Killer*.

Plusieurs modalités de destruction des cellules cibles sont possibles :

- apoptose : induction d'un suicide de la cellule cible par la cellule effectrice ;
- cytotoxicité : adhésion de la cellule effectrice sur la cellule cible, injection de perforines au niveau de la membrane plasmique de la cellule cible (perforation de la membrane), ce qui induit une lyse osmotique ;
- destruction des cellules cibles par les macrophages activés par les cytokines libérées par les cellules T ;
- cytotoxicité médiée par le complément.

1.2.7. Le privilège immunologique de la greffe de cornée

Le faible taux de rejet des greffes de cornée, comparé à celui des transplantations d'organes ou greffes de peau, peut s'expliquer par plusieurs faits (Katami, 1991). L'absence de vaisseaux sanguins et lymphatiques au niveau de la cornée est une première explication. Cela inhibe à la fois l'arc afférent et l'arc efférent du rejet. L'inhibition de l'arc afférent est démontrée par les travaux expérimentaux de Rubsamen (1984) dans lesquels une première greffe de cornée ne sensibilise pas le receveur alors qu'une greffe de peau le sensibilise. Cliniquement, un receveur peut être sensibilisé aux allo-antigènes HLA du donneur (lymphocytes T cytotoxiques dirigés contre les allo-antigènes HLA classe I du donneur) sans rejeter son greffon (inhibition de l'arc efférent) (Roelen, 1995).

La deuxième explication réside dans le phénomène ACAID (Anterior Chamber Associated Immune Deviation) (Streilen, 1996). Il s'agit d'une réaction de tolérance induite par la présence d'allo-antigènes dans la chambre antérieure de l'œil, avec suppression de la réaction d'hypersensibilité retardée. Tous les

antigènes peuvent virtuellement induire l'ACAID. Les antigènes peu immunogènes induisent une réaction prolongée, les antigènes très immunogènes une réaction transitoire. Il s'agit d'un processus actif comme en témoignent la présence de lymphocytes T cytotoxiques alloréactifs et la production d'allo-anticorps circulants. C'est un phénomène T-dépendant et dominant : l'ACAID peut être induit par injection dans la chambre antérieure d'un antigène auquel l'individu est déjà immunisé. Le TGF- β présent dans l'humeur aqueuse semble être le *primum movens* (Kaplan, 1977). Il inhibe l'expression des peptides antigéniques sur les molécules de classe II, inhibe l'activation des lymphocytes T4 et fait sécréter du TGF- β par les cellules présentatrices des antigènes (APC). Il agirait sur les APC présentes dans le segment antérieur, en grand nombre dans l'iris et le corps ciliaire. Celles-ci captent les allo-antigènes, quittent la chambre antérieure par le canal de Schlemm, migrent par voie veineuse vers la rate où elles présentent les allo-antigènes aux lymphocytes T dans un contexte préférentiel de classe I, sécrètent du TGF- β et induisent une différenciation préférentielle en lymphocytes Th2 suppresseurs (CD8+). La présence de l'antigène dans la chambre antérieure est nécessaire au maintien de l'ACAID. Chez des souris receveuses ayant une cornée néovascularisée, l'induction de l'ACAID par transfusion de lymphocytes du donneur traités par le TGF- β prolonge la survie de greffes de cornées orthotopiques faites ultérieurement (Sano, 1997). D'autres cytokines telles que l'IL-4 et l'IL-10 participent également au mécanisme de l'ACAID (Streilen, 1996).

La troisième explication réside dans l'expression constitutionnelle de la molécule Fas ligand par les cellules épithéliales et endothéliales cornéennes (Griffith, 1995 ; Stuart, 1997 ; Wilson, 1996). La liaison entre la molécule Fas (exprimée par le lymphocyte) et Fas ligand (exprimé par la cellule cible) protège ces cellules de l'action des lymphocytes cytotoxiques alloréactifs en induisant une apoptose lymphocytaire

lors du contact lymphocyte-cellule cible. Ainsi le taux de rejet des greffes de cornée est plus élevé chez des souris déficientes en Fas ligand que chez celles exprimant Fas ligand. Le test TUNEL montre des cellules en apoptose au contact de l'endothélium chez les souris exprimant Fas ligand (Yamagami, 1997). L'apoptose liée à Fas jouerait également un rôle dans l'ACAID. En effet, l'ACAID vis-à-vis de splénocytes murins allogéniques n'est présent que si ces splénocytes expriment Fas et que les cellules de l'œil de la souris expriment Fas ligand (Kawasima, 1997). Le TNF- α joue un rôle régulateur sur l'apoptose. En se liant à son récepteur de type 2, il augmente la sensibilité des lymphocytes à l'apoptose induite par la liaison Fas-Fas ligand (Gao, 1997). Cliniquement, il existe une diminution de l'ARNm de Fas dans le sang périphérique au cours du rejet d'allogreffe de cornée chez l'homme (Dixon, 2001).

Les cellules épithéliales du corps ciliaire et de l'iris jouent probablement un rôle dans le privilège immunologique de la greffe de cornée. En effet elles ont une action suppressive sur la sécrétion d'IL-2, IFN- γ et IL-10 par les lymphocytes T. Cette action se fait par contact cellulaire ou par le biais de médiateurs solubles (Yoshida, 1997). D'autres explications sont discutées parmi lesquelles l'expression d'inhibiteurs du complément dans le segment antérieur, la production de VIP et d' α -melanocyte stimulating hormone (Streilen, 1996).

Compte tenu de l'importance physiologique du privilège immunitaire de l'œil dans le maintien de la transparence cornéenne, dans le contrôle de la réaction inflammatoire et dans la tolérance antigénique du segment antérieur de l'œil, le rejet d'allogreffe de cornée peut être défini comme une perte de ce privilège immunitaire entraînant une réaction d'hypersensibilité retardée vis-à-vis des allo-antigènes du donneur au niveau du segment antérieur, dont la conséquence est la destruction des cellules du donneur par les cellules effectrices du receveur.

Mécanisme du rejet d'allogreffe de cornée

- L'étude histologique des greffons cornéens humains rejetés montre un infiltrat inflammatoire polymorphe composé de lymphocytes T4 et T8, de macrophages, de cellules Killer et Natural Killer, une cytotoxicité dirigée contre l'endothélium du greffon, une hyper expression des antigènes HLA de classe II, d'ICAM1 et de LFA3.
- Les lésions tissulaires du greffon créées par le rejet sont variées : amincissement de l'épithélium, destruction localisée de la membrane de Bowman, fibrose du stroma, néovascularisation, membrane de Descemet amincie et laminée, endothélium absent ou paucicellulaire, membrane rétro-cornéenne.
- Dans les modèles murins de rejet d'allogreffe de cornée, les allo-antigènes mineurs d'histocompatibilité sont plus immunogènes et plus sources de rejet que les allo-antigènes majeurs, le rejet est médié par des lymphocytes Th1 après allorecognition indirecte et l'immunité humorale ne joue pas de rôle prépondérant.
- On décrit classiquement, dans les modèles du rejet d'allogreffe de cornée, un arc afférent (allorecognition, activation des cellules T du receveur) et un arc efférent (migration des cellules effectrices du receveur et destruction des cellules du donneur).
- L'allorecognition correspond à la présentation des antigènes du donneur aux lymphocytes T du receveur par des cellules présentatrices (Antigen Presenting Cell). Elle est directe si la cellule présentatrice appartient au donneur et indirecte si elle appartient au receveur. Elle entraîne l'allo-activation des lymphocytes T helper du receveur, puis une migration de cellules effectrices dans le greffon et la destruction des cellules cibles du greffon par apoptose, cytotoxicité directe des lymphocytes effecteurs, destruction par les macrophages activés par les cytokines libérées par les cellules T, ou cytotoxicité médiée par le complément.
- Le privilège immunologique de la greffe de cornée s'explique par l'absence de vaisseaux sanguins et lymphatiques au niveau de la cornée, par le phénomène ACAID (Anterior Chamber Associated Immune Deviation) qui induit un état de tolérance active aux antigènes présents dans la chambre antérieure de l'œil et par l'expression constitutionnelle de la molécule Fas ligand par les cellules épithéliales et endothéliales cornéennes qui induit une apoptose des lymphocytes à leur contact.

1.3. Apoptose des cellules endothéliales et greffe de cornée

L'apoptose est une mort cellulaire programmée. Elle correspond à un suicide de la cellule déclenché par certains gènes pro-apoptotiques. Elle est le mode habituel de la mort cellulaire physiologique. Au cours de l'apoptose, l'ADN est clivé par des endonucléases (DNases calcium-magnésium-dépendantes, DNases calcium-indépendantes, voie des caspases) en fragments d'environ 180 paires de bases, la chromatine se condense et la cellule se fragmente en corps apoptotiques. Le contenu de la cellule n'est pas libéré dans le milieu extracellulaire car les corps apoptotiques sont entourés d'une membrane. L'apoptose ne déclenche pas de réaction inflammatoire et n'entraîne pas la formation de cicatrices. Elle nécessite de l'énergie. Par opposition, la nécrose correspond à une mort cellulaire aléatoire, passive, avec une rupture de la membrane cytoplasmique et une libération du contenu de la cellule dans le milieu extracellulaire. La nécrose est secondaire à une agression extérieure (traumatisme) et entraîne habituellement une réaction inflammatoire permettant la détersion des débris cellulaires et produisant une cicatrice.

La régulation de l'apoptose dépend d'un grand nombre de gènes. L'activation de ces gènes va produire des protéines qui sont soit pro-apoptotiques, soit anti-apoptotiques. Les principales protéines pro-apoptotiques présentes dans la cellule sont les caspases, Apaf-1, Bcl-xs, Bax, ICE (interleukine 1 β converting enzyme), p53, c-myc, c-fos, c-jun et Fas ligand. À l'opposé, Bcl-2 et les HSP (*heat shock proteins*) inhibent l'apoptose. L'apoptose peut être déclenchée par des facteurs extérieurs à la cellule : certaines cytokines (TNF, IL-1, TGF- β), Fas ligand, la déprivation en facteurs de croissance, la perte de contact de la cellule avec la matrice extracellulaire, les glucocorticoïdes, les drogues antimitotiques, les toxines, les oxydants, les ultraviolets, les radiations ionisantes et les infections virales. Inversement, les facteurs de croissance, les hormones et la matrice extracellulaire sont des facteurs extérieurs à la cellule qui inhibent l'apoptose.

La cellule endothéliale cornéenne est naturellement très résistante à l'apoptose, ce qui explique l'extraordinaire longévité de l'endothélium cornéen. Cette résistance à l'apoptose s'explique par une expression constitutionnelle élevée de Bcl-2 et des HSP (Gain et Yamamoto, 2001 ; Joo, 1999). L'humeur aqueuse intervient également dans la résistance de la cellule endothéliale cornéenne à l'apoptose par le biais d'un facteur soluble, produit par les cellules de l'iris et du corps ciliaire, qui augmente l'expression de Bcl-2 par la cellule endothéliale (Liu, 1998). Expérimentalement, l'apoptose des cellules endothéliales

cornéennes peut être déclenchée par la staurosporine qui entraîne une activation de la caspase 3 et un clivage de l'ADN cellulaire (Joo, 1999 ; Thuret, 2003). Le cholestanol a été également utilisé pour déclencher l'apoptose des cellules endothéliales en situation expérimentale (Inoue, 2000).

En situation physiologique, l'apoptose est un phénomène néfaste en matière de kératoplastie transfixiante, source de perte cellulaire endothéliale et à terme d'échec de la greffe. Son rôle dans la perte cellulaire endothéliale que l'on observe pendant la phase de conservation du greffon, entre le prélèvement et la greffe, est bien déterminé. Au cours de la conservation en organo-culture, l'expression de Bcl-2 diminue dans l'endothélium cornéen. Au niveau des plis de la membrane de Descemet, on trouve des cellules présentant les caractéristiques des stades précoces de l'apoptose : marquage par le test TUNEL (*TdT-mediated dUTP nick-end labeling*), expression de la caspase 3 activée, condensation des noyaux, fragmentation des noyaux. Ces plis sont également caractérisés par une diminution de l'expression de Bcl-2 et des HSP. Cette apoptose endothéliale est indépendante du délai de prélèvement, du délai entre le prélèvement et la conservation, de l'âge du donneur, du sexe du donneur et de la cause du décès (Albon, 2000 ; Gain, 2001). Le FGF-2 permet de réduire de manière très importante l'apoptose des cellules endothéliales au cours de la conservation des greffons cornéens à 32 °C en milieu sans sérum de veau fœtal (Rieck, 2003). La conservation des greffons cornéens en milieu liquide à 4 °C induit également une apoptose des cellules endothéliales (Nelson, 2000). Cette apoptose semble le mode de mort cellulaire prédominant pendant la conservation de la cornée humaine en hypothermie (Komuro, 1999). L'origine de l'apoptose des cellules endothéliales cornéennes pendant la phase de conservation du greffon est probablement multiple. On peut retenir l'œdème stromal qui entraîne la formation de plis de la membrane de Descemet avec, au fond de ces plis, une perte de contact entre la cellule endothéliale et la membrane de Descemet source d'apoptose. L'absence d'humeur aqueuse intervient également probablement par déprivation de la cellule endothéliale en facteurs solubles inhibiteurs de l'apoptose.

Il est probable que le traumatisme chirurgical lors de la greffe induit une apoptose des cellules endothéliales du greffon comme les ultrasons au cours de la phacoémulsification entraînent une mort cellulaire endothéliale par apoptose (Lai, 2001).

L'apoptose intervient également au cours du rejet d'allogreffe de cornée. Il s'agit d'un mécanisme effecteur par lequel les cellules immunitaires peuvent



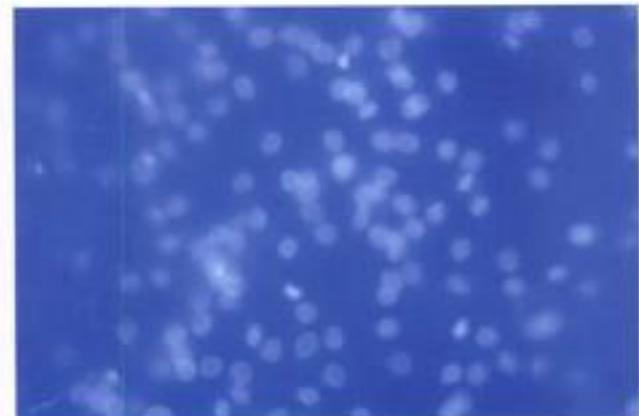
Coloration Hoechst de l'endothélium coréen monté à plat. Endothélium normal, pas de figure d'apoptose (grossissement $\times 40$).



Cornée conservée en organo-culture : présence de cellules en apoptose au sein d'un pli de la membrane de Descemet ($\times 40$).



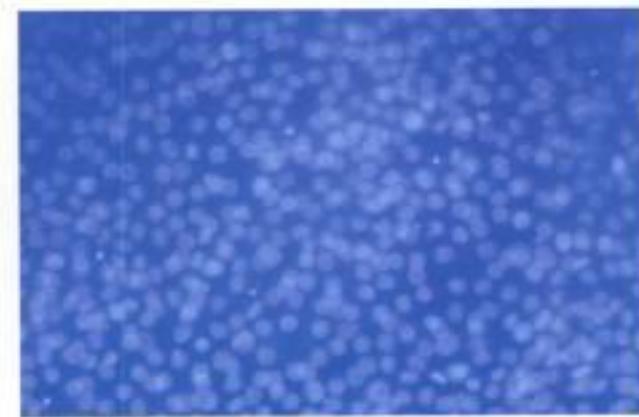
Cornée conservée en organo-culture : présence de cellules endothéliales en apoptose (noyaux condensés brillants ; $\times 40$).



Dystrophie de Fuchs : présence de cellules endothéliales en apoptose ($\times 40$).



Même cornée au faible grossissement ($\times 20$).



Cornée conservée en organo-culture : épithélium, présence de cellules apoptotiques ($\times 40$).

détruire l'endothélium du donneur. Une surexpression de la cytokine EMAP (*endothelial monocyte-activating polypeptide*) a été démontrée chez les patients à haut risque de rejet ainsi qu'au cours du rejet d'allogreffe de cornée (Liu, 1999). Cette cytokine peut induire l'apoptose des cellules endothéliales cornéennes. L'expression de Fas ligand par la cellule endothéliale cornéenne protège celle-ci de l'action cytotoxique des cellules immunitaires en induisant une apoptose des lymphocytes qui entrent en contact avec la cellule endothéliale (Yamagami, 1997). La protéine Fas ligand est également exprimée par les cellules épithéliales cornéennes mais pas par les kératocytes (Wilson, 1996).

Le rôle de l'apoptose dans la perte cellulaire endothéliale chronique qui survient après la greffe est suspecté mais reste à démontrer. Néanmoins, le rôle pro-

apoptotique des oxydants a été démontré expérimentalement dans un modèle de culture cellulaire (Cho, 1999). Ces molécules pourraient intervenir dans les phénomènes de vieillissement de l'endothélium cornéen et également dans la perte cellulaire endothéliale chronique post-greffe.

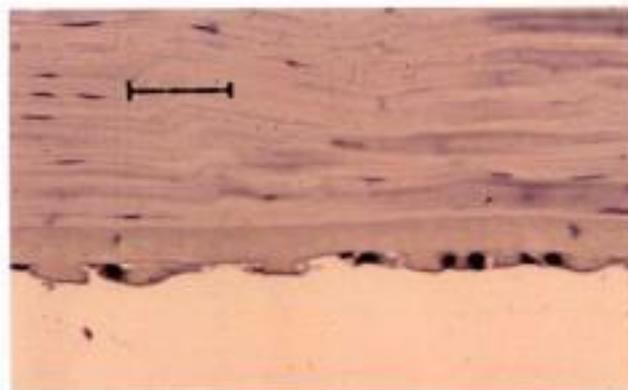
Les molécules anti-apoptotiques sont des voies de recherche intéressantes dans le domaine de la kératoplastie transfixiante. En dehors des situations de rejet où l'apoptose est à la fois bénéfique (apoptose lymphocytaire déclenchée par Fas ligand) et délétère (apoptose endothéliale déclenchée par les cellules effectrices), l'inhibition pharmacologique de l'apoptose endothéliale au cours de la conservation et après la greffe pourrait améliorer la survie des greffes de cornée en préservant le capital cellulaire endothélial du greffon.

Apoptose des cellules endothéliales et greffe de cornée

- L'apoptose est une mort cellulaire programmée. Elle correspond à un suicide de la cellule déclenché par certains gènes pro-apoptotiques. Elle est le mode habituel de la mort cellulaire physiologique.
- La cellule endothéliale cornéenne est naturellement très résistante à l'apoptose, ce qui explique l'extraordinaire longévité de l'endothélium cornéen.
- Le rôle de l'apoptose dans la perte cellulaire endothéliale que l'on observe pendant la phase de conservation du greffon, entre le prélèvement et la greffe, est bien déterminé.
- Il est probable que le traumatisme chirurgical lors de la greffe induit une apoptose des cellules endothéliales du greffon.
- L'apoptose intervient également au cours du rejet d'allogreffe de cornée : mécanisme effecteur par lequel les cellules immunitaires peuvent détruire l'endothélium du donneur mais aussi mécanisme de défense des cellules endothéliales cornéennes qui expriment la molécule Fas ligand (facteur protecteur vis-à-vis de l'action cytotoxique des cellules immunitaires).
- Le rôle de l'apoptose dans la perte cellulaire endothéliale chronique qui survient après la greffe est suspecté mais reste à démontrer.



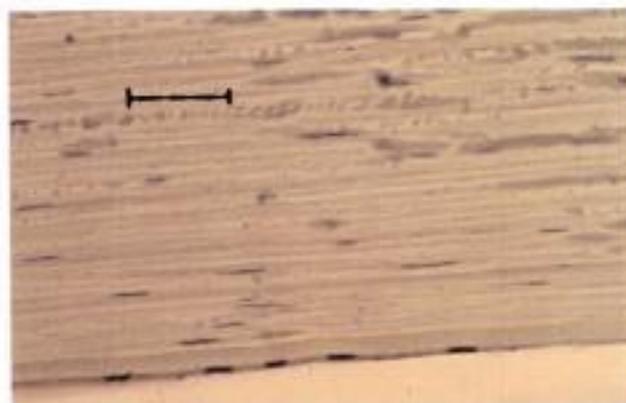
Dystrophie de Fuchs : présence de cellules endothéliales en apoptose (x 40).



Test TUNEL : dystrophie de Fuchs, présence de cellules endothéliales en apoptose (marquées en rouge).



Endothélium normal : les noyaux ne sont pas condensés, il n'y a pas de figure d'apoptose (grossissement x 40).



Test TUNEL : cornée témoin normal, les noyaux ne sont pas marqués.

2. Les indications opératoires

2.1. Fréquence des diverses indications

Les kératopathies bulleuses représentent 17 à 50 % des indications opératoires, les kératocônes 6 à 31 %, la pathologie infectieuse (séquelles de kératites interstitielles, kératites bactériennes, virales, fongiques et parasitaires) 11 à 26 %, les échecs de kératoplastie 5 à 23 %, la dystrophie de Fuchs 7 à 16 % (Borderie, 1998e ; Leibowitz, 1998 ; Price, 1993). Il

existe des différences importantes dans la répartition des indications opératoires en fonction des équipes ; différences qui s'expliquent par des différences de prévalence des pathologies en fonction des pays et par des différences dans les attitudes thérapeutiques vis-à-vis des diverses pathologies. Dans une même équipe de greffe, la répartition des indications opératoires évolue avec le temps.

Fréquence des indications opératoires de la kératoplastie transfixiante

Étude	Robin 1986	Anonymous 1993	Liu 1997	Lois 1997	Cursiefen 1998	Claesson 2002
Période	1979-1983	1985-1991	1986-1995	1989-1995	1992-1996	2000-2002
Pays	États-Unis	Australie	Canada	États-Unis	Allemagne	Suède
Effectif	497	3000	904	2442	1250	1957
Kératopathies bulleuses (%) :	28,4	25,0	34,6	33,8	17,0	21,0
- pseudophakes (%)	- 61,6		- 82,4	- 76,9		
* ICA (%)			* 58,9			
* ICP (%)			* 13,2			
* fixé à l'iris (%)			* 10,3			
- aphakes (%)	- 38,4		- 17,6	- 23,1		
Kératocônes (%)	6,0	31,0	10,0	13,2	20,9	29,0
Échec de greffe (%)	15,1	14,0	22,4	17,8	15,5	
Pathologie infectieuse et traumatique (%)	30,3	11,0	18,9	13,3	25,8	
Dystrophie de Fuchs (%)	9,1	7,0	7,6	15,7	14,9	15,0
Dystrophies stromales (%)	3,0			1,8	1,7	3,0
Divers (%)	8,1	12,0	6,5	4,4	4,2	32,0

Au cours de l'étude de Liu (1997), la fréquence des kératopathies bulleuses de l'aphake et du pseudophake diminue avec le temps, celle des échecs de greffe augmente. La sex-ratio est de trois femmes pour un homme dans les dystrophies de Fuchs, deux hommes pour une femme dans les kératocônes, trois hommes pour une femme dans les traumatismes. Globalement, on peut retenir que la fréquence relative des kératopathies bulleuses de l'aphake et du pseudophake a diminué avec le temps et que celle des échecs de la greffe a augmenté.

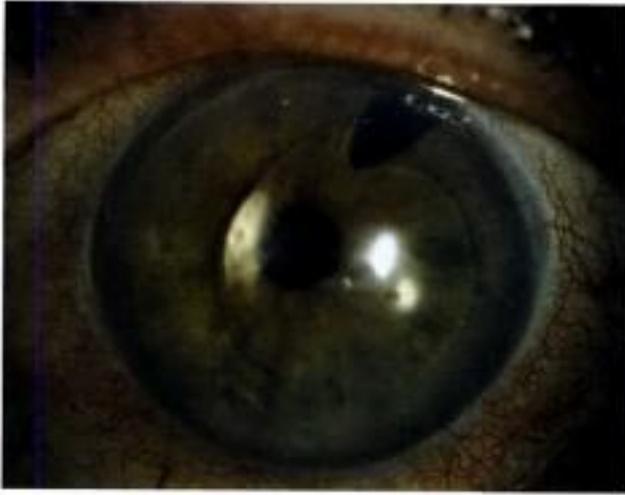
2.2. Pathologies cornéennes

2.2.1. Kératopathies bulleuses

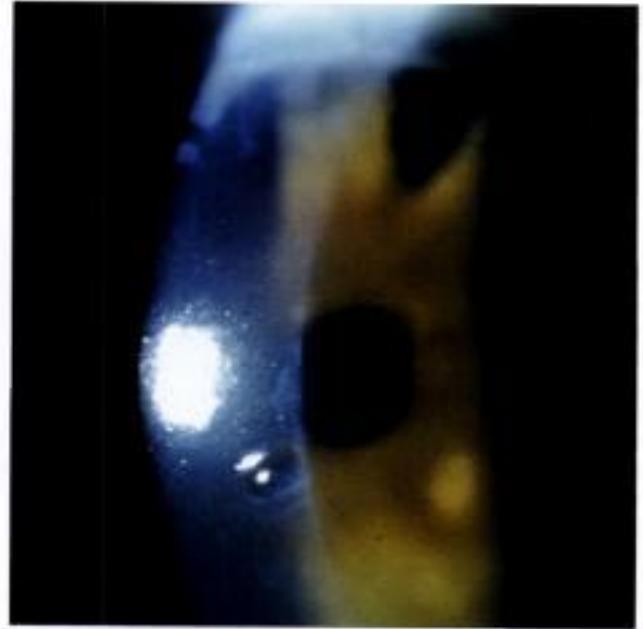
Elles représentent encore la première indication de la kératoplastie transfixiante. Le terme de *kératopathie bulleuse* regroupe tous les œdèmes cornéens secondaires à une défaillance endothéliale (Borderie, 1999b). Ces œdèmes cornéens s'accompagnent, après un temps d'évolu-

tion, de la formation de bulles sous-épithéliales puis secondairement d'une fibrose sous-épithéliale. D'une manière générale, ces défaillances endothéliales peuvent être *primitives* (dystrophies endothélio-descémétiques, syndromes endothéliaux iridocornéens) ou *secondaires* à une intervention chirurgicale, un traumatisme, une brûlure, un glaucome, une hypotonie ou une uvéite. Les défaillances secondaires peuvent être favorisées par l'existence d'une pathologie primitive endothélio-descémétique (dystrophie de Fuchs par exemple). L'usage a consacré le terme de *kératopathie bulleuse* pour les défaillances endothéliales secondaires ; les dystrophies endothélio-descémétiques et les syndromes endothéliaux iridocornéens étant classés à part. Il est néanmoins parfois difficile de classer certains cas car les pathologies peuvent être associées (dystrophie de Fuchs peu évoluée décompensant après chirurgie de la cataracte avec implant de chambre antérieure...).

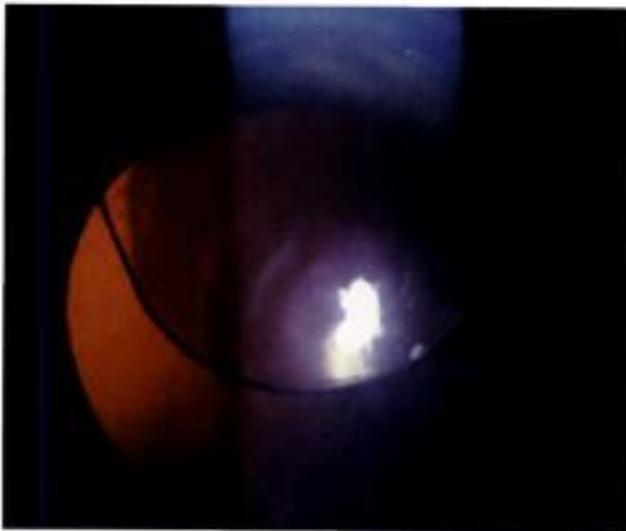
La cause la plus fréquente des kératopathies bulleuses est la *chirurgie de la cataracte*.



Kératopathie bulleuse du pseudophake sur implant de chambre antérieure. L'haptique supérieure de l'implant est luxée dans l'indectomie périphérique.



Même patient : bulle sous-épithéliale.



Kératopathie bulleuse du pseudophake sur implant de chambre antérieure. L'implant est décentré.



Kératopathie bulleuse du pseudophake sur implant de chambre postérieure.



Kératopathie bulleuse de l'aphake.



Glaucome congénital.

2.2.1.1. Les causes préopératoires

Les causes préopératoires des kératopathies bulleuses de l'aphake et du pseudophake correspondent aux pathologies préexistantes de l'endothélium cornéen. Il s'agit essentiellement d'endothéliums primitivement pauvres (densité endothéliale faible) ou présentant un polymorphisme anormalement important (coefficient de variation de la surface cellulaire endothéliale élevé, diminution du pourcentage de cellules hexagonales), ou de patients ayant une cornea guttata ou une dystrophie de Fuchs (Brooks et Insler, 1990 ; Rao, 1984). La perte cellulaire endothéliale postopératoire est grossièrement proportionnelle au pléomorphisme endothélial préopératoire. Les dystrophies endothélio-descémétiques sont beaucoup plus fréquentes chez les patients ayant une kératopathie bulleuse sur implant de chambre postérieure (plus de 50 %) que chez ceux ayant une kératopathie bulleuse sur implant de chambre antérieure (environ 10 %) (Koenig et Lugo, 1988).

2.2.1.2. Les causes peropératoires

La défaillance endothéliale peut être la conséquence du traumatisme chirurgical initial. Ces causes peropératoires d'œdème cornéen après chirurgie de la cataracte comportent la taille de l'incision (plus celle-ci est grande, plus la perte endothéliale est importante) et son site (les incisions supérieures sont plus nocives que les incisions temporales, les cornéennes plus nocives que les sclérales), les déformations de la cornée (aplatissement de la chambre antérieure), le contact de l'implant ou d'un instrument avec l'endothélium (les implants en PMMA ou en silicone peuvent adhérer aux cellules endothéliales et les détacher de l'endothélium lors de leur introduction dans l'œil), l'issue de vitré avec contact du vitré avec l'endothélium, le contact de l'iris, du noyau du cristallin ou de fragments de celui-ci avec l'endothélium, l'irrigation de la chambre antérieure avec une solution inadaptée (le sérum physiologique est plus toxique pour l'endothélium que le Ringer lactate qui est lui-même plus toxique que le BSS, lui-même plus toxique que le BSS Plus), l'injection de drogues dans la chambre antérieure (conservateurs contenus dans les solutions d'adrénaline, acétylcholine 1 %, mitomycine), l'injection d'air dans la chambre antérieure ou la formation de bulles d'air au cours de la phacoémulsification, les ultrasons à proximité de l'endothélium, les décollements traumatiques peropératoires de la membrane de Descemet, les brûlures cornéennes dues à l'augmentation de température de la sonde de phacoémulsification, la formation de radicaux libres secondaire aux oscillations de la sonde de phacoémulsification et les saignements en chambre antérieure. La stérilisation de tubulures d'irrigation par l'oxyde d'éthylène peut

entraîner un relargage de produits toxiques issus du plastique et être à l'origine d'un œdème cornéen postopératoire. D'une manière générale, toutes les complications peropératoires de la chirurgie de la cataracte sont autant de circonstances menaçant l'endothélium cornéen.

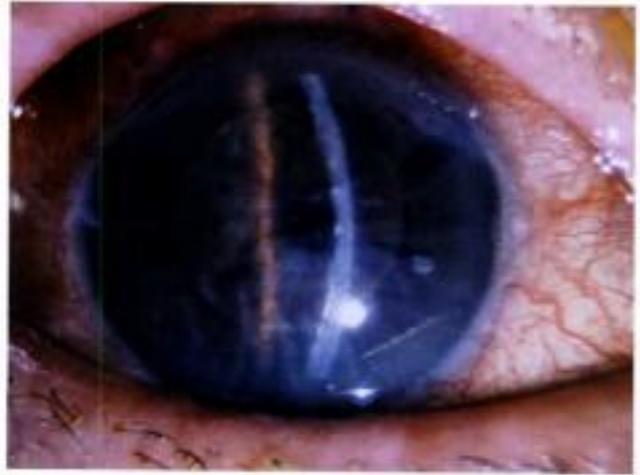
2.2.1.3. Les causes postopératoires

Les causes postopératoires de kératopathies bulleuses du pseudophake et de l'aphake comportent le contact intermittent de l'haptique ou de l'optique (en cas d'athalémie) d'un implant de chambre antérieure avec l'endothélium qui est favorisée par le déplacement de l'implant (luxation d'une haptique dans le vitré à travers une iridectomie périphérique, implant de diamètre insuffisant) ou sa dislocation, les implants pupillaires (sources d'uvéite chronique avec œdème maculaire cystoïde, hypertension et œdème cornéen), les implants à anses fermées, parfois les implants de chambre postérieure (Laroche, 1996), le contact du vitré avec l'endothélium (aphakie avec rupture de la hyaloïde antérieure), le port d'une lentille d'aphakie (l'œdème étant définitif ou réversible après arrêt du port de la lentille), les synéchies antérieures périphériques, les uvéites chroniques, le glaucome secondaire, l'endophtalmie, voire l'invasion épithéliale de la chambre antérieure. La constitution de l'œdème pouvant être très retardée par rapport à la chirurgie, le taux d'œdèmes cornéens postopératoires augmente avec le recul par rapport à l'intervention. Il a augmenté avec le temps pour atteindre un maximum à la fin des années 1980 où l'on a utilisé le terme d'épidémie de kératopathies bulleuses (Leibowitz, 1998). Ce taux a considérablement diminué avec les progrès de la chirurgie de la cataracte. Il était proche de 50 % avec les premiers implants de chambre antérieure puis inférieur à 10 % avec les modèles suivants, 4 à 9 % avec les implants clippés à l'iris, 1 % en cas d'extraction intra-capsulaire sans implantation ni issue de vitré (Berkowitz, 1979). Parmi les implants de chambre antérieure, les implants à anses fermées sont ceux qui ont donné le plus d'œdèmes cornéens. Sawada (1998) rapporte un taux d'œdèmes cornéens de 14 % après un suivi moyen de dix ans après implantation en chambre antérieure. L'extraction extra-capsulaire associée à une implantation en chambre postérieure a entraîné une diminution du taux d'œdème cornéen postopératoire à 0,1-0,3 % (Chitkara, 1997 ; Powe, 1994). Il est proche de 0,1 % en cas de phacoémulsification sans incident avec implantation dans le sac capsulaire.

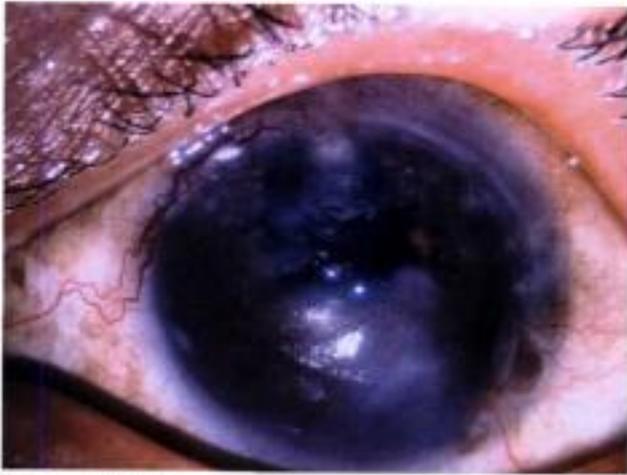
À côté de la chirurgie de la cataracte, d'autres interventions intraoculaires peuvent se compliquer d'une défaillance endothéliale. Une kératopathie bulleuse peut compliquer une vitrectomie notamment



Invasion épithéliale de la chambre antérieure après implant secondaire.



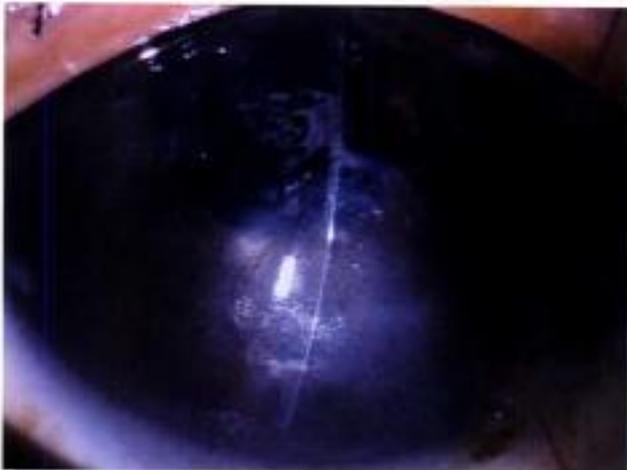
Kératopathie bulleuse du pseudophake sur implant de chambre antérieure et glaucome du pseudophake.



Kératopathie bulleuse secondaire à une chirurgie réfractive par implant de chambre antérieure sur œil phake (forte myopie).



Même patiente : une trabéculéctomie a été réalisée dans un premier temps. La greffe de cornée sera réalisée quelques mois plus tard.



Même patient : détail de la néovascularisation cornéenne.

associée à un tamponnement par une huile de silicone, une chirurgie du décollement de rétine, une chirurgie réfractive de la myopie utilisant des implants de chambre antérieure ou pré-cristalliniens, une chirurgie filtrante (rôle de l'athalémie), une greffe de cornée, une iridotomie au laser argon (surtout sur une cornée ayant une dystrophie endothélio-descémétique préexistante) (Wilhelmus, 1992). La fréquence de l'œdème cornéen après vitrectomie est proche de 3 %. En cas de kératopathie bulleuse après vitrectomie avec tamponnement par une huile de silicone, il semble que les chances de succès de la greffe n'existent que lorsque le silicone a pu être enlevé avant la kératoplastie (Karel, 1998).

Des anomalies de la pression intraoculaire peuvent être à l'origine d'une kératopathie bulleuse, par le biais de la pression d'imbibition du stroma ou par atteinte de l'endothélium. Le glaucome aigu est à l'origine d'une perte cellulaire endothéliale qui augmente avec la durée de la crise et d'un polymégathisme majeur régressant lentement après la crise. La diminution du flux d'humeur aqueuse pendant la crise entraîne une ischémie endothéliale source d'œdème cornéen aigu. Cet œdème peut régresser après résolution de la crise ou bien persister en fonction de l'importance des lésions endothéliales. Il peut régresser puis se reconstituer secondairement après un temps de latence variable fonction des lésions endothéliales initiales. Lorsque préexiste une atteinte endothéliale, une augmentation même faible de la pression intraoculaire peut entraîner la formation d'un œdème cornéen. Une hypertonie chronique non corrigée peut entraîner une perte cellulaire endothéliale qui va parfois jusqu'à la constitution d'un œdème cornéen. Le glaucome congénital s'accompagne d'un œdème cornéen avec une buphtalmie, des ruptures de la membrane de Descemet, une fibrose sous-épithéliale, une densité endothéliale habituellement abaissée, un pléomorphisme et un polymégathisme modérés. L'hypotonie franche et prolongée peut être à l'origine d'un œdème cornéen par deux mécanismes : les lésions traumatiques de l'endothélium dues à l'athalémie et le rôle lésionnel de l'hypotonie.

Deux raisons peuvent amener l'ophtalmologiste à proposer une kératoplastie à un patient souffrant d'une kératopathie bulleuse : la restauration d'une acuité visuelle utile et l'effet antalgique. La kératopathie bulleuse est volontiers très douloureuse et la greffe fait disparaître la symptomatologie douloureuse. Néanmoins, s'il n'existe pas d'espoir de récupération fonctionnelle visuelle après la greffe (atteinte maculaire ou neuropathie optique sévères), l'intervention à proposer est une greffe de membrane amniotique et non une greffe de cornée. La fonction

maculaire et le champ visuel doivent donc être évalués avec soin avant de poser l'indication opératoire. Il faut prendre en compte l'état de l'angle iridocornéen et le contrôle pressionnel avant de porter l'indication opératoire. Ces patients ont souvent des goniosynéchies extensives et évolutives, ainsi qu'une hypertonie. Le contrôle de la pression intraoculaire, si possible pré- ou peropératoire, est un élément capital du pronostic de la greffe. Le premier objectif de la kératoplastie transfixiante au cours d'une kératopathie bulleuse est l'apport de cellules endothéliales saines afin de restituer les fonctions de barrière et de pompe endothéliales. Cette kératoplastie doit apporter un capital de cellules endothéliales suffisant pour pouvoir restaurer la fonction de déturgescence du stroma cornéen. Il n'est donc pas souhaitable de réaliser une greffe de petit diamètre (≤ 7 mm). Le diamètre de 8 mm semble être un bon compromis entre le nombre de cellules greffées (qui augmente avec la taille du greffon) et la prévention du rejet (qui nécessite une greffe de petit diamètre). On greffe alors environ 125 000 cellules (pour un greffon de densité $2500/\text{mm}^2$), ce qui donne après greffe (répartition des cellules du donneur sur toute la surface cornéenne) une densité endothéliale centrale théorique de 950 cellules/ mm^2 .

2.2.2. Kératocône

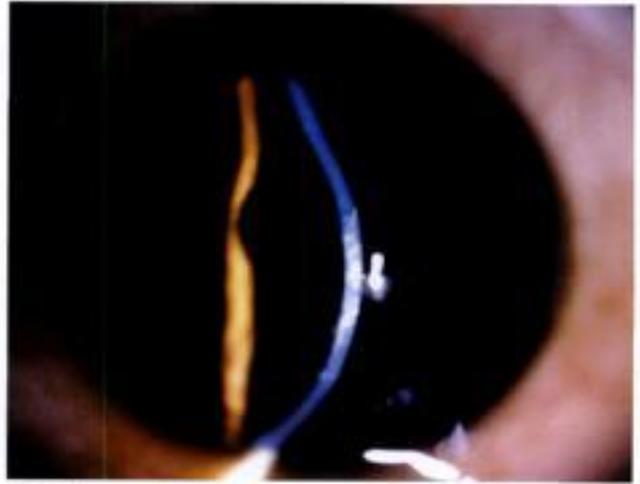
Le *kératocône* est la deuxième indication des kératoplasties transfixiantes. Cette affection, dont la prédisposition se transmet sur le mode autosomique dominant, mais dans laquelle les facteurs non génétiques sont essentiels, a une prévalence de 50 à 230 pour 100 000 habitants. Les formes familiales représentent un cas sur dix.

Au cours de l'évolution d'un *kératocône*, l'indication opératoire est fonction des possibilités de correction optique (lunettes puis lentilles de contact). Lorsque les lentilles ne permettent plus d'obtenir une acuité visuelle suffisante ou que l'adaptation ou le port devient impossible, la kératoplastie est indiquée. En règle ces patients ont un *kératocône* de stade IV. L'âge de la kératoplastie varie en fonction du potentiel évolutif du *kératocône*. Certains patients doivent être opérés pendant l'adolescence du fait de la survenue d'un hydrops. Habituellement la greffe est réalisée chez l'adulte jeune, mais il n'est pas exceptionnel d'opérer des patients de 50 ans ou plus dont le *kératocône* est resté longtemps stable. Enfin certains *kératocônes* n'évoluent jamais vers le stade de la greffe.

Lorsque le *kératocône* arrive au stade de la greffe de cornée, l'intervention de référence est toujours la kératoplastie transfixiante car cette intervention est bien codifiée, sûre et parfaitement reproductible et



Kératocône.



Kératocône stade IV.



Hydrops (poussée aiguë de kératocône).



Kératocône stade III.



Kératocône évolué.

parce qu'elle donne des résultats fonctionnels très satisfaisants. Néanmoins, le développement de la kératoplastie lamellaire profonde amènera probablement assez rapidement à reconsidérer le choix de la technique de greffe au cours du kératocône (cf. chapitre 3).

2.2.3. Dystrophies cornéennes (Waring, 1998)

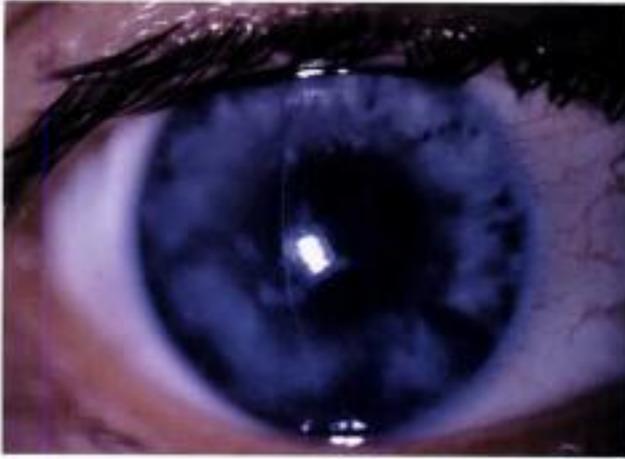
2.2.3.1. Les dystrophies endothélio-descémétiques

Parmi les dystrophies cornéennes, les dystrophies endothélio-descémétiques représentent les pathologies les plus pourvoyeuses de kératoplasties.

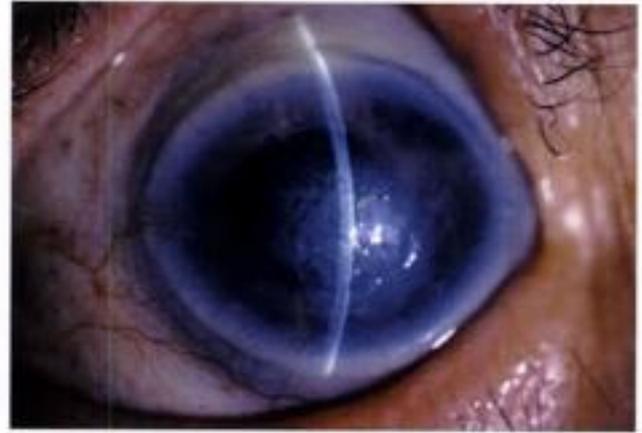
La dystrophie de Fuchs. Elle est de loin la plus fréquente. C'est une pathologie héréditaire à transmission autosomique dominante ayant un haut degré de pénétrance et une expressivité variable. Elle peut être familiale avec une évolution rapide vers la greffe (vers 40–50 ans) ou sporadique d'évolution souvent plus lente conduisant à la greffe vers 60–70 ans. Wilson (1988) classe la dystrophie de Fuchs en trois stades évolutifs. Au stade 1, il n'existe pas de symptomatologie fonctionnelle. Il s'agit d'une cornea guttata isolée. Très peu de patients (environ 4 %) évoluent vers le stade 2. Il faut noter que la plupart des cornea guttata rencontrées en pratique clinique n'évolueront jamais vers l'œdème cornéen. Le passage du stade 1 vers le stade 2 se fait habituellement vers 50–60 ans. Au stade 2, apparaît un œdème de cornée. La vision de près est atteinte de manière précoce et importante au cours de la dystrophie de Fuchs. Avec l'installation de l'œdème épithélial apparaît une symptomatologie douloureuse. Au stade 3, apparaît une fibrose sous-épithéliale qui entraîne une diminution de l'œdème épithélial. Une néovascularisation cornéenne périphérique peut se développer. L'indication de la kératoplastie transfixiante au cours de la dystrophie de Fuchs est posée lorsque l'œdème cornéen, d'abord matinal, devient permanent et entraîne une baisse importante de l'acuité visuelle notamment en vision de près, ce qui correspond au stade 2. Le pronostic de la greffe, qui est excellent lorsque celle-ci est réalisée au stade 2, diminue lorsque les patients sont opérés au stade 3. La relation exacte entre dystrophie de Fuchs, cataracte, glaucome à angle ouvert, hypermétropie et fermeture de l'angle n'est pas encore déterminée avec précision. Pour Pitts (1990), la longueur axiale de l'œil et la profondeur de la chambre antérieure sont significativement plus petites chez des patients ayant une dystrophie de Fuchs que chez des patients témoins. La réfraction montre une tendance nette à l'hypermétropie. Dans cette étude 12 % des patients ayant une dystrophie de Fuchs (3/24) avaient un glaucome à angle fermé et 38 % avaient une presbytie précoce

avant l'âge de 30 ans. De même Loewenstein (1994) rapporte que les patients ayant une dystrophie de Fuchs ont une longueur axiale plus courte, une chambre antérieure plus étroite et sont plus souvent hypermétropes que des patients témoins normaux. Néanmoins, Brooks (1994) a démontré que la chambre antérieure est significativement plus étroite chez des patients ayant un glaucome à angle fermé que chez ceux ayant une cornea guttata ou une dystrophie de Fuchs. La cornea guttata et la dystrophie de Fuchs sont relativement rares chez les patients ayant un glaucome à angle étroit (2/88) dans cette étude. La cataracte est souvent présente associée à la dystrophie de Fuchs. Il est difficile de savoir si cette association est directe ou si elle est due à un facteur confondant, l'âge. En effet ces deux pathologies progressent significativement et leur fréquence augmente avec l'âge des patients. Enfin, la dystrophie de Fuchs peut être associée au kératocône. Dans notre expérience, il n'est pas rare qu'elle soit associée à une dégénérescence maculaire liée à l'âge.

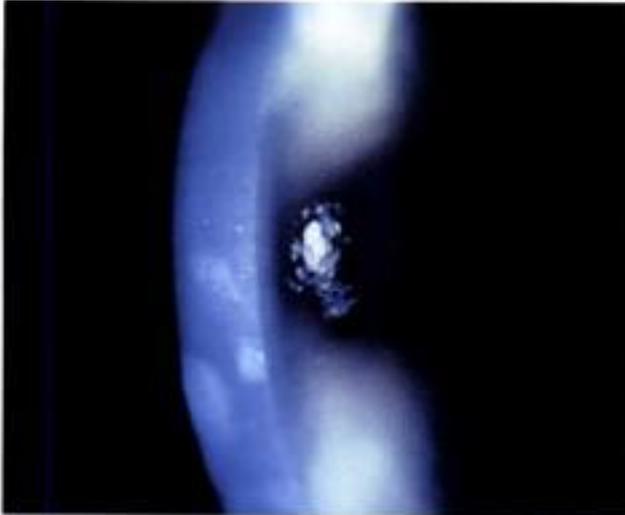
Le problème de la chirurgie de la cataracte associée à la kératoplastie se pose souvent. De plus, le taux de progression des opacités cristalliniennes après une kératoplastie simple est important dans la dystrophie de Fuchs. Globalement, deux situations doivent être distinguées. Devant une cornea guttata même dense, sans œdème cornéen, avec une cataracte entraînant une baisse de la vision, il semble prudent de se contenter de n'opérer que la cataracte dans un premier temps (Leibowitz, 1998). Les risques opératoires et postopératoires d'une chirurgie simple de la cataracte sont en effet beaucoup moins importants que ceux d'une triple procédure. Le patient doit être informé du risque de décompensation endothéliale postopératoire. La kératoplastie sera réalisée dans un deuxième temps lorsque l'œdème cornéen sera installé. Il est toujours difficile de pouvoir affirmer qu'une cornea guttata sans œdème cornéen évoluera obligatoirement vers l'œdème cornéen et impossible de préciser le délai exact de cette évolution. La deuxième situation est celle d'une dystrophie de Fuchs avec œdème cornéen entraînant une baisse de la vision et associée à une cataracte même modérée. Dans ce cas, il faut réaliser d'emblée une triple procédure (kératoplastie transfixiante, extraction du cristallin, mise en place d'un implant de chambre postérieure) (Alldredge, 1997) ou bien une greffe de cornée suivie d'une chirurgie de la cataracte. Cette deuxième approche permet un calcul d'implant plus précis car on peut alors mesurer la kératométrie et la longueur axiale post-greffe. La perte cellulaire endothéliale ne semble pas plus importante dans cette approche séquentielle qu'après triple procédure (Shimmura, 2003). Le choix entre les deux approches



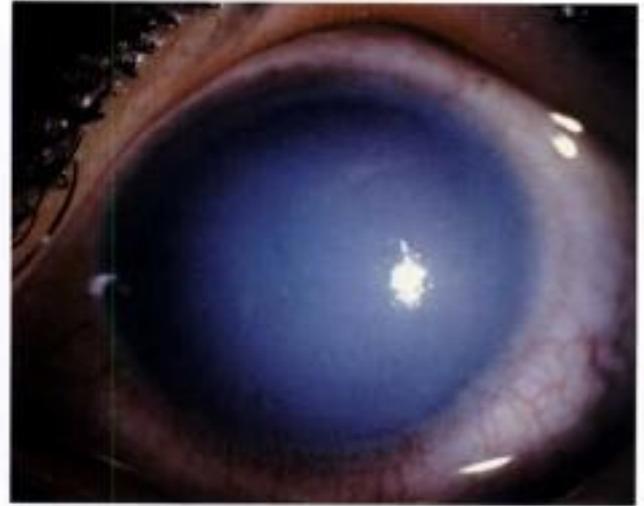
Dystrophie de Fuchs.



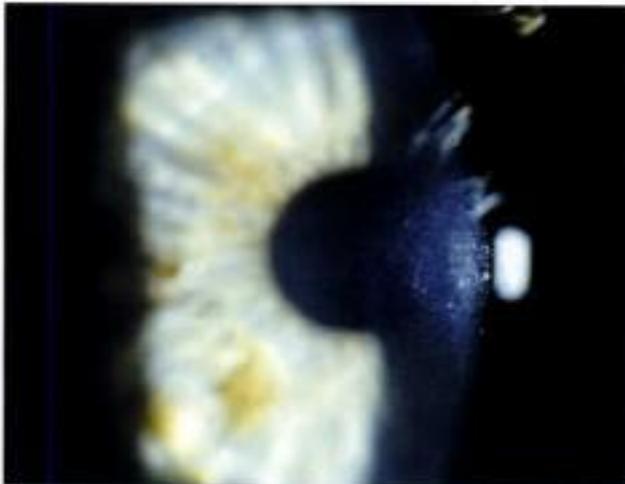
Dystrophie postérieure polymorphe diffuse chez une patiente pseudophaque.



Même patient : plaques de fibrose sous-épithéliale (stade 3 de la dystrophie).



Dystrophie endothéliale congénitale héréditaire (CHED).



Dystrophie de Fuchs stade 2.



Syndrôme de Chandler.

ne semble pas modifier la survie du greffon, ni le résultat visuel (Pineros, 1996). Plusieurs techniques opératoires ont été proposées pour réaliser les triples procédures. On peut faire une chirurgie de la cataracte par phacoémulsification classique avec une incision sclérale tunellisée suturée et un implant souple suivie de la kératoplastie transfixiante ou bien une chirurgie de la cataracte à ciel ouvert après trépanation de la cornée réceptrice. La première technique est utilisée lorsque la transparence cornéenne est suffisante pour réaliser la phacoémulsification. Dans le cas contraire, la chirurgie à ciel ouvert est obligatoire.

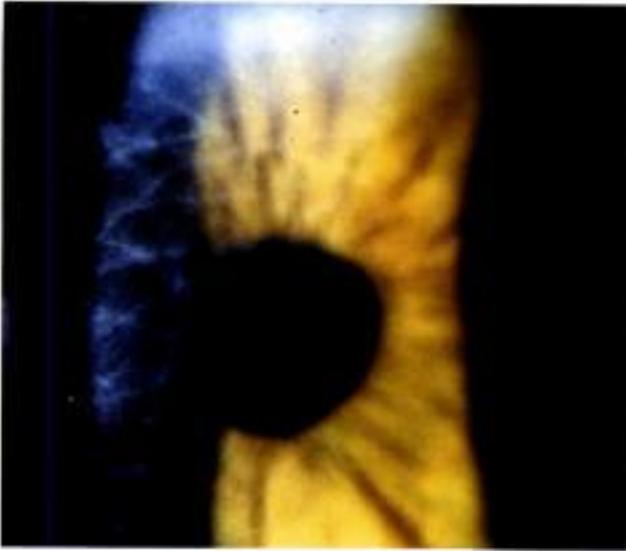
D'autres dystrophies endothélio-descemetiques peuvent nécessiter une kératoplastie.

La dystrophie postérieure polymorphe dans sa forme diffuse et la dystrophie cornéenne endothéliale héréditaire (CHED). Ces deux pathologies sont rares comparées à la dystrophie de Fuchs. La dystrophie postérieure polymorphe est habituellement autosomique dominante. Les gènes candidats sont localisés sur les chromosomes 1 et 20. Cette dystrophie peut être associée au kératocône et à une augmentation de la puissance réfractive de la cornée (John, 1998). Elle se rencontre au cours du syndrome d'Alport. La transmission est alors liée à l'X et d'autres signes sont présents : lenticonie antérieure, rétinopathie, insuffisance rénale et surdité. La dystrophie postérieure polymorphe s'accompagne volontiers de synéchies antérieures périphériques et parfois d'un glaucome, de zones d'atrophie irienne, d'une membrane recouvrant la face antérieure de l'iris et de corectopie (Cibis, 1977). Une dégénérescence calcaire ou lipidique de la cornée peut émailler l'évolution de la dystrophie (Krachmer, 1985). La dystrophie cornéenne endothéliale héréditaire est une pathologie très rare, autosomique dominante ou récessive, bilatérale et symétrique. Le gène de la dystrophie semble localisé sur le chromosome 20, dans la région du gène de la dystrophie postérieure polymorphe. La pathologie est habituellement congénitale, mais elle peut se révéler plus tardivement au cours des premiers mois ou des dix premières années de la vie. Elle se manifeste par un œdème cornéen congénital sans hypertension, ni buphtalmie, ni néovaisseau, allant du petit haze stromal à la cornée blanche laiteuse. L'évolution est lente. Dans la forme récessive, l'opacification cornéenne est présente dès la naissance, non évolutive et s'accompagne fréquemment d'une amblyopie et d'un nystagmus sans photophobie. Dans la forme dominante, le début est plus tardif, le retentissement visuel moins sévère, mais la pathologie est plus évolutive et s'accompagne d'une photophobie et d'un épiphora (Judisch, 1978). Cette différence d'expression clinique des deux formes génétiques n'est pas reconnue par tous les auteurs (Collum, 1985). On peut observer également un stra-

bisme, une dégénérescence lipidique ou calcaire. La dystrophie peut être associée à un glaucome congénital (Mullaney, 1985).

Syndrome endothélial iridocornéen (ICE syndrome). Ce syndrome, qui n'est pas une dystrophie endothélio-descemetique, mais une pathologie de l'endothélium cornéen d'étiologie encore inconnue, le plus souvent sporadique et unilatérale avec une forte prédominance féminine, entraîne souvent un œdème cornéen nécessitant une greffe. Il regroupe le syndrome de Chandler, l'atrophie essentielle de l'iris et le syndrome de Cogan-Reese. Ces syndromes associent des synéchies antérieures périphériques, un aspect en argent battu de la membrane de Descemet puis un œdème cornéen, un glaucome secondaire à une fermeture progressive de l'angle, volontiers précoce, et des anomalies iriennes (corectopie, ectropion uvéal, nodules iriens, atrophie irienne). L'atrophie essentielle de l'iris se caractérise par une pupille étirée, décentrée dans la région opposée à celle où prédomine l'atrophie irienne, des perforations iriennes par atrophie secondaire à une ischémie irienne (pseudopolycorie), un ectropion de l'uvée, des goniosynéchies et une hypertension. Dans le syndrome de Chandler (forme la plus fréquente des ICE syndromes) l'œdème cornéen précoce prédomine avec une atrophie irienne peu évoluée et une hypertension. Le syndrome de Cogan-Reese (ou iris naevus syndrome) se caractérise par une atteinte du stroma irien prédominante, une hétérochromie irienne et des nodules pigmentés de l'iris.

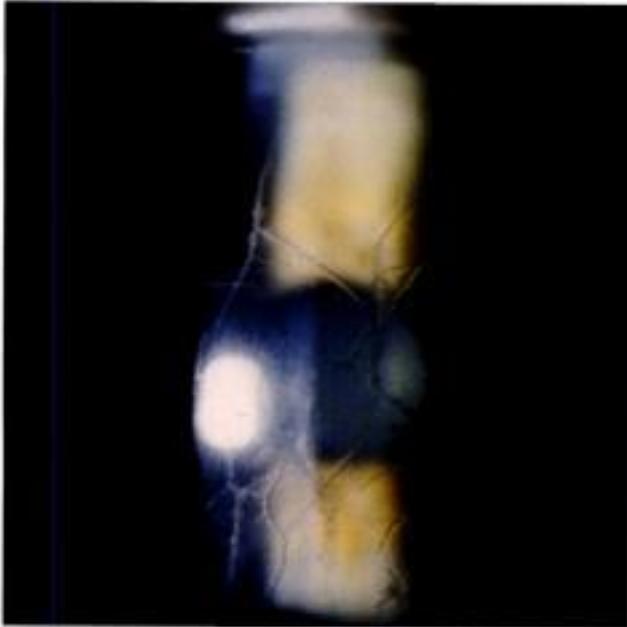
Les dystrophies stromales. Ce sont des pathologies relativement rares comparées au kératocône ou à la dystrophie de Fuchs. Il s'agit d'affections familiales, bilatérales et avasculaires : *dystrophie granulaire* (Groenouw I), *dystrophie maculaire* (Groenouw II), *dystrophie grillagée*, *dystrophie d'Avellino*, *dystrophie de Turpin*, *dystrophie cristalline...* Leur transmission génétique est maintenant bien connue. Les dystrophies granulaire, grillagée (type I et III), d'Avellino et de Reis-Bücklers sont liées à des mutations du gène de la kérato-épinéline (gène big-h3 localisé sur le chromosome 5q31). La dystrophie maculaire est liée à des mutations du gène de la glucosamine N-acétyl-6-sulfotransférase (gène CHST6 localisé sur le chromosome 16q22). La dystrophie grillagée de type II est liée à des mutations du gène de la gelsoline localisé sur le chromosome 9q34. L'indication de la kératoplastie au cours de ces dystrophies est portée sur la baisse de l'acuité visuelle. Il faut prendre en compte le caractère récidivant chez le patient greffé des dystrophies liées à des mutations du gène de la kérato-épinéline. Lorsque ces dystrophies stromales restent superficielles, la photokératectomie thé-



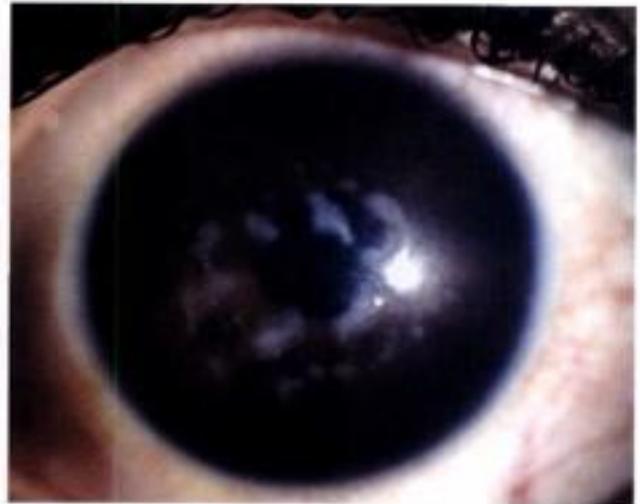
Dystrophie grillagée.



Dystrophie granulaire (Groenouw I).



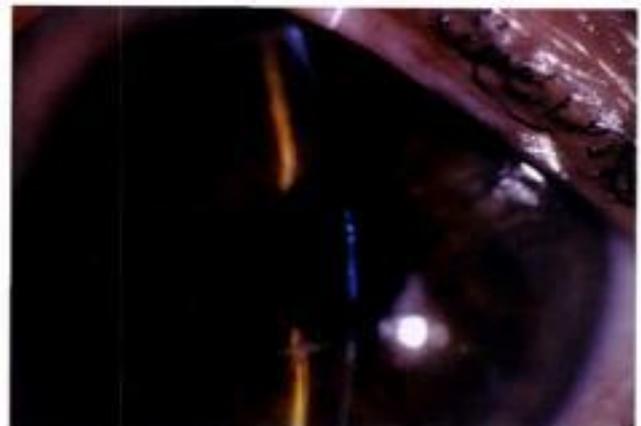
Dystrophie grillagée.



Dystrophie maculaire (Groenouw II).



Dystrophie d'Avellino.



Dystrophie d'Avellino.

rapeutique ou les techniques de kératoplastie lamellaire peuvent permettre une amélioration importante de la vision ; la kératoplastie transfixiante n'est donc pas indiquée. Elle est proposée lorsque les dépôts atteignent le stroma postérieur. Dans ce cas, en l'absence de pathologies endothélio-descemetique associée (ce qui est fréquent dans la dystrophie maculaire sous forme d'une cornea guttata), une kératoplastie lamellaire profonde peut être également discutée.

À l'opposé de ces dystrophies stromales et endothélio-descemetiques, les dystrophies épithéliales ne sont pas des indications à la kératoplastie transfixiante.

2.2.4. Kératites infectieuses

2.2.4.1. Kératite interstitielle

Les séquelles de kératite interstitielle congénitale ou de l'enfance (kératite syphilitique, rougeole...) sont une indication à la kératoplastie qui doit être évaluée avec soin. En effet la taie laissée par ces kératites est souvent compatible avec une acuité visuelle encore correcte de l'ordre de 5/10. Ces séquelles cornéennes peuvent compromettre la vision par l'opacification du stroma cornéen qu'elles entraînent ou par la déformation parfois pseudo-kératocônique de la cornée secondaire à l'amincissement du stroma cornéen. Il n'est pas rare que la question de l'indication d'une kératoplastie se pose après l'âge de 50 ans alors qu'une cataracte s'est développée. Le problème est alors celui du rôle respectif de la cornée et de la cataracte dans la baisse de la vision. Il peut être alors prudent d'opérer dans un premier temps la cataracte et de ne réaliser la kératoplastie que secondairement si la récupération fonctionnelle s'avère insuffisante. Un deuxième problème courant est celui de l'amblyopie. En effet un certain nombre de kératites interstitielles sont franchement asymétriques. Comme cette pathologie survient habituellement chez le petit enfant, il peut en résulter une amblyopie parfois profonde de l'œil le plus atteint. Une kératoplastie sur un tel œil est vouée à un échec fonctionnel. Il est donc important, en cas de pathologie ayant débuté dans la petite enfance, d'évaluer l'acuité visuelle potentielle de l'œil à greffer avant de poser l'indication opératoire. Le SLO apporte une aide précieuse dans cette situation.

2.2.4.2. Kératite herpétique

Les séquelles de kératite herpétique peuvent conduire à la kératoplastie du fait de l'opacification du stroma cornéen ou de la destruction de l'endothélium cornéen entraînant une baisse importante de la vision. Ainsi, les kératites disciforme et méta-herpé-

tique peuvent conduire à la greffe. Celle-ci ne peut s'envisager que lorsque le virus herpétique est parfaitement contrôlé et quiescent depuis au moins six à 12 mois. Le risque de récurrence de l'herpès sur le greffon est important et impose une prévention postopératoire par un traitement anti-herpétique oral poursuivi au moins pendant la durée de la corticothérapie locale et logiquement à vie. De plus la cornée est souvent vascularisée avec un risque majoré de rejet.

2.2.4.3. Abscès de cornée

Les abcès de cornée bactériens ou fongiques secondaires au port de lentille de contact ou d'autre origine peuvent amener à envisager la greffe. La kératite amibienne du porteur de lentilles nécessite souvent une greffe pour restaurer la vision. Il faut éviter dans la mesure du possible de greffer ces patients à chaud et attendre environ un an par rapport à l'épisode infectieux pour faire la kératoplastie. Néanmoins, le contrôle de l'infection nécessite parfois de réaliser une greffe à chaud à but thérapeutique pour diminuer la charge infectieuse et permettre au traitement médical anti-infectieux de stériliser la cornée.

2.2.4.4. Trachome

Les séquelles cornéennes du trachome posent des problèmes de surface oculaire difficiles (sécheresse oculaire notamment, mais aussi mauvaise qualité de l'épithélium cornéen) qui peuvent compromettre le résultat d'une éventuelle kératoplastie. L'indication de la greffe doit donc être portée avec prudence sur ce terrain, après une évaluation précise de l'état de la surface oculaire (fonction limbique, fonction lacrymale, statique palpébrale).

2.2.5. Traumatismes et brûlures

Ils peuvent léser la cornée par plusieurs mécanismes éventuellement associés : une opacification séquel- laire du stroma cornéen (taie cornéenne), un œdème cornéen par défaillance endothéliale et un astigmatisme irrégulier.

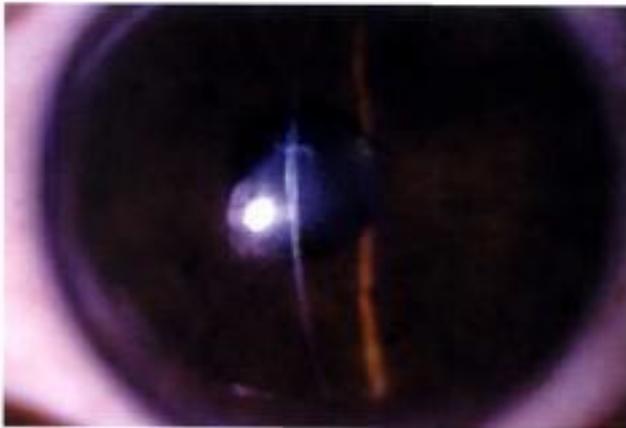
Les ruptures traumatiques de l'endothélio-Descemet peuvent être dues aux forceps (avec des lignes de rupture de la membrane de Descemet à la lampe à fente et des lignes de vergetures de la membrane de Descemet en microscopie spéculaire) ou à une contusion appuyée. Les lésions dues aux forceps peuvent entraîner un œdème cornéen chez le nouveau-né, habituellement résolutif après quelques semaines ou quelques mois, laissant comme séquelles des plis parallèles de la membrane de Descemet, typiquement verticaux. Le processus de cicatrisation après rupture de l'endothélio-Descemet s'accompa-



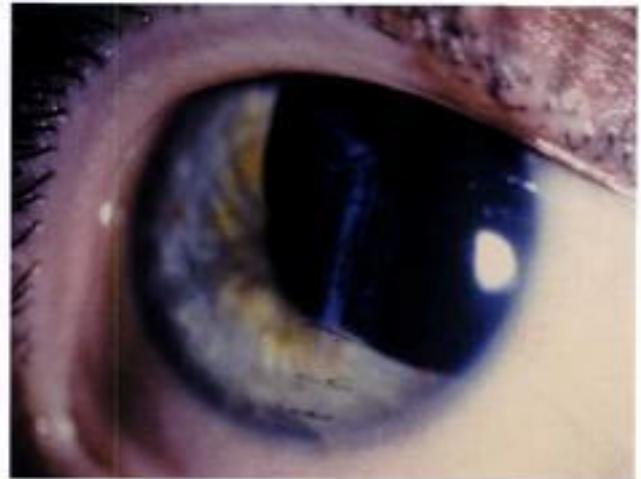
Séquelles de kératite interstitielle de l'enfance.



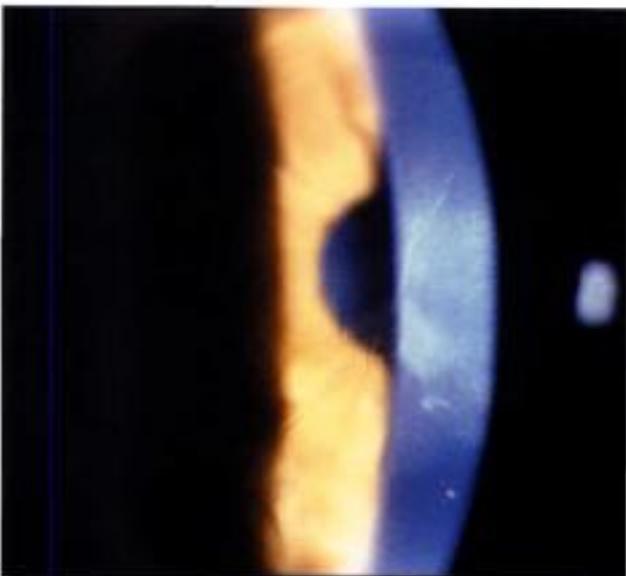
Œdème cornéen traumatique secondaire à un accouchement avec utilisation des forceps.



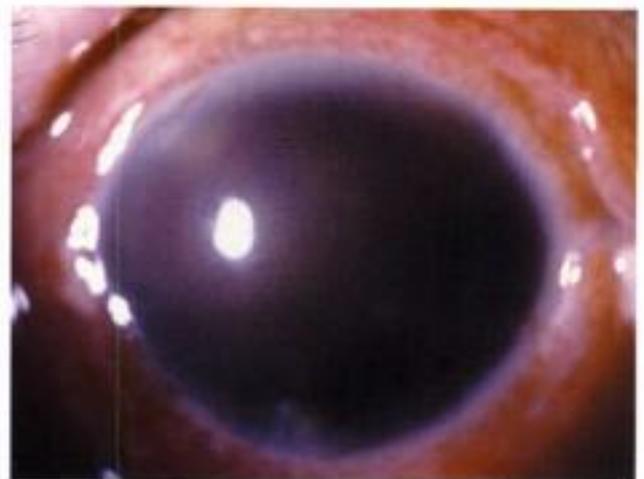
Rupture de la membrane de Descemet après endothélite herpétique.



Pièce de cornée transfixiante suturée.



Même patient.



Hématocornée.

gne habituellement d'une résorption de l'œdème. Néanmoins, l'œdème peut être définitif ou peut se reconstituer par la suite et devenir secondairement définitif.

Les contusions oculaires et plaies du globe peuvent entraîner un œdème cornéen, des taies avec un astigmatisme irrégulier (en cas de plaie). Les lésions dues aux airbags comportent un œdème cornéen avec des plis descemétiques marqués. L'œdème peut s'accompagner d'un recul de l'angle et d'un hyphéma. Le mécanisme lésionnel dans les plaies du globe peut être direct (lésions mécaniques endothéliales) ou indirect par l'intermédiaire de l'inflammation, d'un glaucome secondaire, d'un hyphéma ou de synéchies antérieures.

Les corps étrangers de l'angle sont sources d'œdème cornéen chronique progressif, débutant souvent à la partie inférieure de la cornée.

Les brûlures caustiques, thermiques, ou électriques de la cornée peuvent entraîner un œdème cornéen par nécrose cellulaire endothéliale toxique, une opacification du stroma cornéen (taie cornéenne) et un amincissement stromal source d'astigmatisme irrégulier.

2.2.6. Autres indications

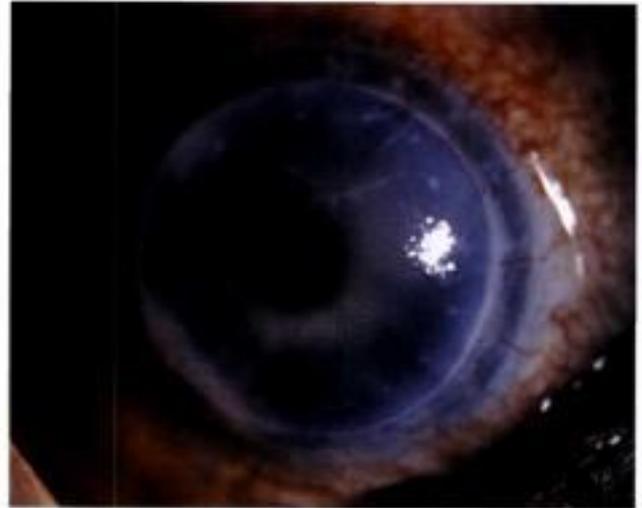
Certaines dysgénésies cornéennes peuvent nécessiter une kératoplastie : *anomalie de Peters*, *sclérocornée*. Le problème est alors celui du jeune âge du receveur qui s'accompagne d'un risque important de rejet.

Les pathologies sévères de la surface oculaire (*syndrome de Stevens-Johnson*, *syndrome de Lyell*, *pemphigoïde oculaire cicatricielle*, *brûlures caustiques*) peuvent entraîner une opacification de la cornée. Néanmoins une kératoplastie ne pourra être réalisée qu'après restauration d'un épithélium cornéen normal. Cela fait actuellement appel à la greffe de limbe mais les résultats sont souvent décevants.

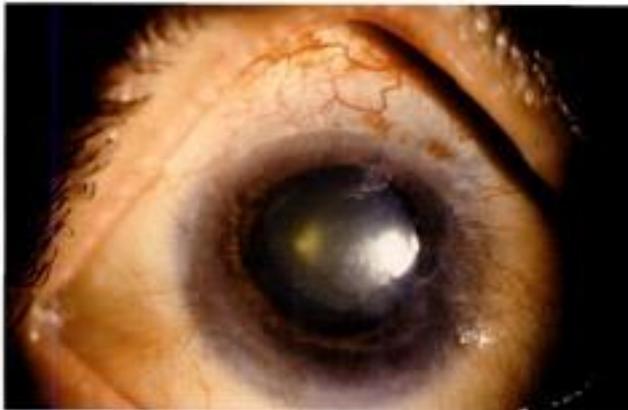
L'échec d'une précédente kératoplastie représente actuellement une indication non négligeable de kératoplasties transfixiantes. Il faut déterminer la cause de cet échec (rejet, hypertonie, implant laissé en place, déficit épithélial) et les possibilités de corriger ces désordres (traitement immunosuppresseur, traitement ou chirurgie hypotonisants, changement d'implant, greffe de limbe) avant de poser l'indication d'une nouvelle greffe. En effet si les désordres persistent le pronostic de la greffe ultérieure est d'emblée défavorable.



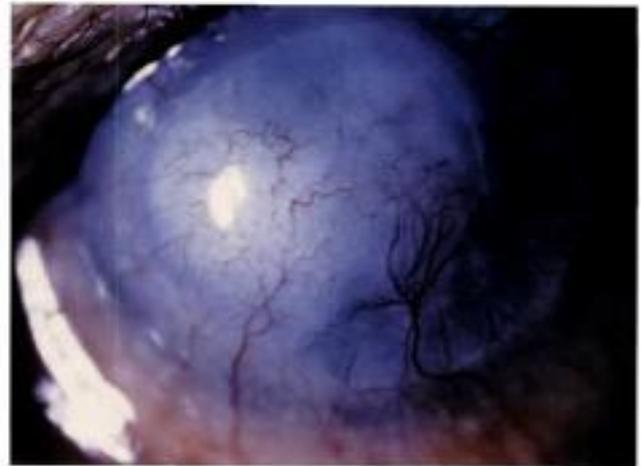
Séquelles de brûlures thermiques sans insuffisance limbique.



Rejet de greffe irréversible.



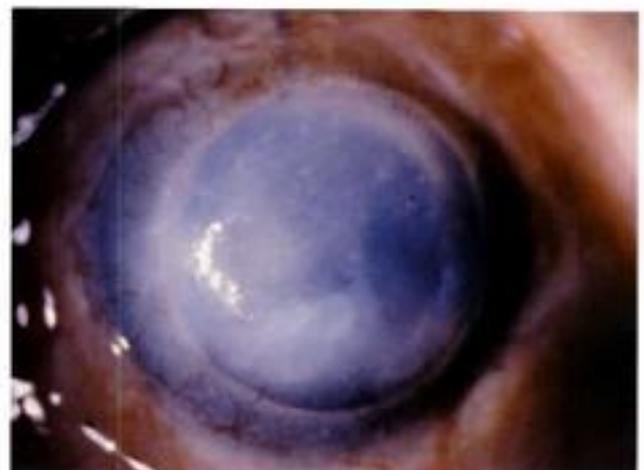
Séquelles de brûlure caustique (acide) avec une insuffisance limbique partielle.



Échec de kératoplastie transfixiante d'origine mixte, infectieuse et immunitaire.



Échec de kératoplastie transfixiante.



Échec de kératoplastie transfixiante d'origine infectieuse.

2.3. Indications des interventions combinées

2.3.1. Chirurgie de la cataracte

Une chirurgie de la cataracte associée à une kératoplastie est indiquée à chaque fois qu'une pathologie cornéenne nécessitant une kératoplastie s'accompagne d'une opacification du cristallin entraînant par elle-même une baisse de la vision. La pathologie cornéenne la plus fréquente dans cette indication est la dystrophie de Fuchs, suivie par les séquelles de kératite interstitielle. La chirurgie de la cataracte peut être réalisée dans le même temps que la kératoplastie (triple procédure), ce qui a l'avantage de ne faire subir au patient qu'une seule intervention et préserverait mieux les chances de survie du greffon qu'une procédure séquentielle avec kératoplastie transfixiante puis chirurgie de la cataracte dans un deuxième temps (Pamel, 1993). Néanmoins il faut noter que la chirurgie du cristallin à ciel ouvert s'accompagne d'un risque de rupture capsulaire postérieur plus important qu'une intervention standard de cataracte et l'intérêt en termes de survie du greffon n'est pas retrouvé par tous les auteurs (Pineros, 1996 ; Shimmura, 2003). Dans certaines pathologies cornéennes pouvant laisser assez longtemps une certaine visibilité du segment antérieur (dystrophie de Fuchs notamment), l'intervention de la cataracte (phacoémulsification avec implantation dans le sac capsulaire en première intention) peut être réalisée en premier suivie par la kératoplastie (soit dans le même temps opératoire, soit après quelques mois). Cette alternative présente l'avantage d'opérer la cataracte sur globe fermé avec donc moins de risque de rupture capsulaire. Enfin la troisième alternative consiste à opérer la cataracte dans un deuxième temps. Cette situation se rencontre lorsque l'on avait sous-estimé l'opacification du cristallin en préopératoire et que, sous l'influence de l'inflammation intraoculaire postopératoire et des corticoïdes, la cataracte progresse après la greffe. Parfois le cristallin est parfaitement clair avant la greffe et la cataracte ne se développe qu'après celle-ci. Dans ces conditions, l'intervention de la cataracte (phacoémulsification avec implantation dans le sac capsulaire en première intention) est réalisée après un délai suffisant pour que la cicatrice ait acquis un minimum de solidité et si possible avant l'ablation des fils. Un délai de trois mois semble nécessaire pour obtenir une relative stabilité de la puissance cornéenne moyenne (Isager, 2000). La chirurgie doit être la moins traumatique possible pour l'endothélium cornéen en privilégiant la voie sclérale, en utilisant un produit viscoélastique à haute viscosité et en évitant d'approcher la sonde de phacoémulsification de l'endothélium cornéen. Cette

troisième alternative présente l'inconvénient théorique d'altérer le capital cellulaire endothélial du greffon mais ne semble pas compromettre la survie du greffon (Ohguro, 1997). Une étude récente ne trouve pas de différence en termes de densité endothéliale à un an post-greffe entre une triple procédure et une approche séquentielle (greffe puis chirurgie de la cataracte dans un deuxième temps) (Shimmura, 2003).

2.3.2. Kératopathies bulleuses sur implant de chambre antérieure

Au cours des kératopathies bulleuses sur implant de chambre antérieure, il est le plus souvent nécessaire d'enlever l'implant ou de le remplacer par un autre implant de chambre antérieure ou par un implant de chambre postérieure suturé à la sclère ou à l'iris. Cela est nécessaire à chaque fois que l'on pense que l'implant est à l'origine de la décompensation endothéliale : implant d'un modèle ancien, implant à anses fermées, implant d'un diamètre insuffisant pour la taille de la chambre antérieure, implant mobile ou dont une haptique est passée dans l'iridectomie. Cette situation est la plus fréquente. En revanche, un implant à anses ouvertes d'un modèle récent, non mobile, dont les haptiques sont correctement positionnées dans l'angle iridocornéen et ne s'accompagnant pas d'une tendance aux goniosynéchies extensives ni d'une hypertonie, pourra être laissé en place. Ce cas de figure est néanmoins peu fréquent. Le choix de laisser le patient aphake peut s'envisager lorsque l'œil est unique ou que l'autre œil est aphake, lorsque la chambre antérieure est très étroite et qu'il existe des goniosynéchies et un glaucome associés. Il permet une meilleure survie du greffon à moyen et long terme. La comparaison de la réimplantation en chambre antérieure avec la suture à la sclère d'un implant de chambre postérieure ne fait pour l'instant pas apparaître d'argument majeur pour l'une ou l'autre des techniques (Brunette, 1994 ; Djalilian, 1998 ; Lois, 1997). La survie du greffon et l'évolution postopératoire de la densité endothéliale du greffon ne sont pas meilleures avec un implant suturé à la sclère. Les implants suturés à la sclère se compliquent volontiers d'hypertonie (Montard, 1996). Ils sont également sources de décollement de rétine sévères. Dans une étude rétrospective non randomisée, Brunette (1994) a comparé 32 kératoplasties transfixiantes avec implant de chambre postérieure suturé à l'iris ou à la sclère à 90 kératoplasties transfixiantes avec implant de chambre antérieure. La survie du greffon à deux ans est de 75 % dans le premier groupe et 79 % dans le deuxième (différence non significative). Une acuité visuelle corrigée de 5/10 ou plus est obtenue dans 21 % des cas dans le premier groupe et

36 % dans le deuxième. Dans le premier groupe la pression intraoculaire à un an augmente de 2,5 mmHg en moyenne, alors qu'elle diminue de 1,5 mmHg dans le deuxième groupe (différence significative). Une étude prospective randomisée incluant 176 patients a comparé trois techniques de réimplantation (implant de chambre antérieure, implant de chambre postérieure suturé à la sclère et implant de chambre postérieure suturé à l'iris) (Schein, 1993). Le risque d'œdème maculaire était significativement plus faible dans le groupe des implants suturés à l'iris que dans les deux autres groupes. Le risque global de complications (glaucome, œdème maculaire, dislocation de l'implant et échec de la greffe) était plus faible avec un implant suturé à l'iris qu'avec un implant suturé à la sclère, les implants de chambre antérieure ayant un risque intermédiaire.

2.3.3. Vitrectomie

La vitrectomie au cours de la kératoplastie transfixiante est indiquée à chaque fois qu'une mèche de vitré est présente en chambre antérieure quelle que soit son abondance. En effet, lorsqu'une mèche de vitré, même minime, est laissée en chambre antérieure, elle vient invariablement s'insérer dans la cicatrice de kératoplastie, entraînant une inflammation chronique, une perte cellulaire endothéliale accrue et des tractions vitéo-rétiniennes.

2.3.4. Chirurgie filtrante

Elle doit être associée à la kératoplastie à chaque fois qu'il existe une hypertonie non contrôlée médicalement. Dans la mesure du possible il est souhaitable de résoudre le problème pressonnier avant de réaliser la greffe. Ainsi, en cas d'hypertonie sévère, il est souhaitable de faire précéder la kératoplastie par la chirurgie filtrante. Néanmoins les deux interventions peuvent être réalisées dans le même temps.

2.4. Classification pronostique en fonction de l'indication opératoire

Si l'on considère les chances de succès de la greffe, on peut classer les indications opératoires en quatre groupes pronostiques (Brightbill, 1993 ; Dana, 1997) :

- pronostic excellent (plus de 90 % de succès) : kératocône, taie centrale avasculaire, dystrophie de Fuchs au stade II ;
- pronostic bon (80 à 90 % de succès) : dystrophie de Fuchs au stade III, kératopathie bulleuse à moyen terme (5 premières années), pathologie infectieuse inactive, ICE syndrome ;

- pronostic moyen (50 à 80 % de succès) : kératopathie bulleuse à long terme (au-delà de 5 ans), pathologie infectieuse active, dystrophies stromales, brûlure modérée, CHED, glaucome congénital, premier échec de greffe ;
- pronostic réservé (moins de 50 % de succès) : brûlure sévère, maladie de Lortat-Jacob, syndrome de Stevens-Johnson, kératite neuroparalytique, syndromes de clivage du segment antérieur, échecs multiples de greffe.

2.5. Bilan préopératoire

Il doit évaluer l'état anatomique et rechercher les facteurs pronostiques. Il comporte les antécédents de greffe et de rejet, l'acuité visuelle actuelle et avant l'apparition de la pathologie cornéenne, l'état de la surface oculaire (recherche d'un syndrome sec, d'une insuffisance en cellules souches limbiqes) et des paupières, la topographie et le siège d'éventuels néovaisseaux cornéens, la microscopie spéculaire en cas d'œdème cornéen débutant ou de cornea guttata, la pression intraoculaire, la recherche de goniosynéchies, l'état de la macula, l'échographie en mode B lorsque le fond d'œil n'est pas analysable, la biométrie en cas d'implantation et l'évaluation de l'état général (Leibowitz, 1998).

En cas de doute sur la fonction maculaire ou l'existence d'une amblyopie, une mesure de l'acuité visuelle potentielle de l'œil peut être effectuée à l'aide du SLO. En cas de glaucome, le champ visuel au Goldman permet de s'assurer qu'il n'existe pas d'atteinte glaucomateuse majeure qui contre-indiquerait alors la greffe.

En cas de triple procédure, le calcul de l'implant peut être réalisé à l'aide la formule SRK II ou SRK-T. La longueur axiale de l'œil étant déterminée par échographie en mode A et B. La kératométrie moyenne utilisée est celle de la cornée à greffer lorsque la kératométrie est réalisable sur celle-ci, ou celle de la cornée adelphe dans le cas contraire. Lorsque l'examen n'est réalisable sur aucune des deux cornées, une kératométrie moyenne standard de 44 ou 45 D peut être utilisée. Lorsque les conditions opératoires obligent à poser l'implant dans le sulcus alors qu'il avait été calculé pour être posé dans le sac, la puissance de l'implant n'est pas modifiée.

Le bilan préopératoire doit également rechercher des allergies, un diabète, une hypertension artérielle, une cardiopathie, une insuffisance respiratoire, un traitement anticoagulant ou antiagrégant plaquettaire, des facteurs de risque de maladie de Creutzfeldt-Jakob et un alcoolisme. Il faut évaluer les

possibilités de suivi du patient après l'intervention et apprécier la compliance du patient aux traitements.

2.6. Information du patient avant la greffe

Les pathologies cornéennes pour lesquelles la kératoplastie transfixiante est proposée n'ayant qu'un pronostic fonctionnel, il est logique que la décision opératoire soit prise par le patient après une information loyale faite par le chirurgien.

Le bénéfice attendu de la greffe peut être exposé au patient en précisant les chances de succès de la greffe à moyen et long terme ainsi que le niveau d'acuité visuelle habituellement obtenu dans sa pathologie. Cela suppose de connaître le pourcentage de survie du greffon à moyen et long terme en fonction de l'indication opératoire ainsi que l'acuité visuelle moyenne obtenue avec son intervalle de confiance (cf. chapitre 8).

Le patient doit être conscient du risque opératoire qui peut aller, dans le cas notamment d'une hémorragie expulsive, jusqu'à la perte complète anatomique et fonctionnelle de l'œil. Le rejet est présenté comme la complication la plus fréquente qui peut survenir quel

que soit le délai postopératoire, même si elle est plus fréquente au cours de la première année. Le patient doit être informé des signes fonctionnels du rejet, de la nécessité d'un traitement préventif du rejet, de l'obligation de consulter en urgence en cas de signes fonctionnels et de l'importance du suivi régulier et attentif indispensable pour diagnostiquer et traiter précocement des complications telles que le rejet.

Les modalités de l'anesthésie, de l'hospitalisation, du traitement postopératoire et du suivi postopératoire sont envisagées avec le patient. Il ne semble pas raisonnable de réaliser une greffe si l'on sait que le suivi postopératoire ne sera pas réalisé correctement. De même, si l'instillation des collyres par le patient lui-même ou par une tierce personne est impossible, il vaut mieux ne pas greffer.

Les fiches d'information de la Société française d'ophtalmologie sont un excellent support de cette information. Leur lecture attentive par le patient complétée par des informations précises données par le chirurgien en fonction de l'indication opératoire permet une information loyale et appropriée du patient. Un délai de réflexion doit être donné au patient avant de recueillir son consentement à l'intervention.

Les indications opératoires de la kératoplastie transfixiante

- Les indications les plus fréquentes sont la kératopathie bulleuse du pseudophake et de l'aphake (avec une vision centrale conservée et sans déficit glaucomateux sévère du champ visuel) et le kératocône (après échec des lentilles de contact). Dans la kératopathie bulleuse du pseudophake, un changement ou une ablation d'implant ainsi qu'une vitrectomie sont souvent associés à la kératoplastie.
- La dystrophie de Fuchs nécessite une kératoplastie transfixiante au stade II et souvent une chirurgie de la cataracte qui peut être réalisée avant, pendant ou après la greffe.
- Dans la dystrophie postérieure polymorphe diffuse et les syndromes endothéliaux iridocornéens, la greffe permet de corriger l'œdème cornéen, mais un glaucome est souvent associé qui peut nécessiter un traitement chirurgical avant, pendant ou après la greffe.
- La dystrophie cornéenne endothéliale héréditaire nécessite une greffe chez l'enfant et pose donc le problème de la prévention du rejet.
- Les dystrophies avec atteinte stromale (grillagée, maculaire, granulaire, Avellino...) requièrent une kératoplastie transfixiante lorsque les dépôts atteignent le stroma postérieur. Elles récidivent sur le greffon.
- Dans la pathologie infectieuse cornéenne (kératites interstitielles, kératites herpétiques, abcès cornéens), la greffe est envisagée au stade de séquelles, à distance du dernier épisode inflammatoire.
- La pathologie cornéenne traumatique (plaies, contusions, ruptures de la membrane de Descemet, brûlures) peut nécessiter une greffe au stade de séquelle.
- En cas d'échec d'une première kératoplastie transfixiante, une nouvelle greffe peut être envisagée si la cause de l'échec de la première greffe (rejet, hypertension, implant de chambre antérieure, déficit épithélial) est connue et peut être corrigée.
- Le bilan préopératoire doit rechercher une atteinte épithéliale, un glaucome, une néovascularisation cornéenne, des synéchies antérieures périphériques, une amblyopie et une atteinte maculaire.
- Globalement, le pronostic de la kératoplastie est excellent (plus de 90 % de succès) dans le kératocône, la dystrophie de Fuchs au stade II et les lésions centrales avasculaires.
- Il est bon (environ 80 % de succès) dans la dystrophie de Fuchs au stade III, les kératopathies bulleuses à moyen terme (5 première années), la pathologie infectieuse inactive et les ICE syndromes.
- Il est moyen (50 à 80 % de succès) dans les kératopathies bulleuses à long terme (au-delà de 5 ans), la pathologie infectieuse active, les dystrophies stromales, les brûlures modérées, le CHED, le glaucome congénital et en cas de premier échec de greffe.
- Une information loyale et précise est fournie au patient avant de recueillir son consentement à l'intervention. Les fiches d'information de la Société française d'ophtalmologie sont un excellent support de cette information.

3. Le greffon cornéen

3.1. Le prélèvement

Le prélèvement de cornée est effectué sur une personne décédée, qu'il s'agisse d'une mort encéphalique chez une personne sous assistance respiratoire avec conservation de la fonction hémodynamique ou d'un arrêt cardiaque et respiratoire persistant.

3.1.1. Sélection des donneurs

En France, la sélection clinique du donneur est légalement sous la responsabilité du médecin préleveur. Lorsque le cadavre est conservé en chambre réfrigérée, le prélèvement peut être réalisé dans les 48 heures suivant le décès du donneur.

Les associations européenne (EEBA) et américaine (EBAA) des banques d'yeux ainsi que l'Établissement français des greffes ont proposé des critères de sélection des donneurs. Les contre-indications générales au prélèvement à but thérapeutique comportent les affections neurologiques potentiellement transmissibles ou pour lesquelles la physiopathologie (et donc le risque de transmission) n'est pas encore clairement déterminée : rage et contagio rabique suspectés ou avérés, encéphalopathies spongiformes avérées ou suspectées (maladie de Creutzfeldt-Jakob sporadique, familiale, iatrogène ou nouvelle variante, syndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker, insomnie fatale familiale, kuru), antécédents familiaux d'encéphalopathie spongiforme, traitement par des hormones hypophysaires extractives (notamment de croissance) avant 1987, intervention chirurgicale comportant l'utilisation de dure-mère d'origine humaine ou intervention neurochirurgicale non documentée sur ce point, sclérose en plaques, sclérose latérale amyotrophique, maladie d'Alzheimer et autres démences, maladie de Parkinson et syndromes parkinsoniens, encéphalite sclérosante subaiguë, rubéole congénitale, syndrome de Reye, paraparesie spastique tropicale et encéphalite virale aiguë ou d'origine inconnue. La transmission du virus de la rage et du prion par la greffe de cornée est démontrée et fatale pour le receveur. Il est donc logique d'écarter toute la pathologie neurologique qui pourrait être éventuellement confondue avec une maladie à prion ou une rage. Sont également des contre-indications l'infection à VIH et les donneurs à haut risque de contamination par le VIH, les infections herpétiques actives, les infections chroniques par le virus de l'hépatite B ou celui de l'hépatite C, les septicémies fongiques, les hépatites virales et les ictères d'origine inconnue, la syphilis, la tuberculose active, la lèpre, les maladies parasitaires actives exposant à un risque

potentiel de transmission par les tissus (notamment le paludisme, la leishmaniose, la trypanosomiase et l'échinococcose), les hémopathies malignes actives, les tumeurs malignes oculaires primitives ou secondaires, les immuno-suppressions chroniques, les décès de cause inconnue. Certaines pathologies locales sont des contre-indications à la greffe : infections oculaires herpétiques actives ou latentes, inflammations oculaires aiguës, opacités cornéennes, kératites, dystrophie cornéenne, chirurgie réfractive cornéenne, implant de chambre antérieure, chirurgie fistulisante, greffe de cornée. En revanche, la présence d'un implant de chambre postérieure n'est pas une contre-indication au prélèvement car l'endothélium de ces cornées a une qualité proche de celle des yeux phakes (Meier, 2002). Lorsque le greffon est conservé en organo-culture, les septicémies bactériennes ne représentent pas une contre-indication ; la contamination de l'humeur aqueuse étant un événement rare au cours de celles-ci (Clark, 1982 ; Keates, 1977).

En termes de pronostic de la greffe, il n'y a aucune raison pour mettre une limite supérieure à l'âge des donneurs. De nombreuses études ont montré que l'âge du donneur n'influence pas la survie du greffon (Boisjoly, 1993 ; Chang, 1996 ; Forster, 1971 ; Gain, 2002 ; Price, 1993 et 1996 ; Volker-Dieben, 1982 ; Williams, 1992). Nous avons retrouvé une meilleure survie du greffon avec des donneurs âgés et une conservation du greffon en organo-culture (Borderie, 1998e). L'endothélium cornéen des donneurs âgés est plus stable en organo-culture que celui des donneurs jeunes (Armitage, 1997). Cela pourrait impliquer une meilleure résistance au stress opératoire et par conséquent une meilleure survie du greffon. De même, il est possible que l'immunogénicité des greffons de donneurs âgés soit plus faible, ce qui pourrait diminuer la fréquence du rejet. En revanche, l'âge du donneur influence le taux d'acceptabilité du greffon pour la greffe. Plus le donneur est âgé et plus le risque de devoir refuser le greffon pour une kératoplastie transfixiante est grand. L'étude de plus de 2000 greffons conservés en organo-culture nous a montré qu'au-delà de 87 ans plus de 50 % des cornées prélevées ne satisfont pas aux critères de qualité exigés pour la kératoplastie transfixiante.

3.1.2. Technique du prélèvement

Le prélèvement est réalisé par énucléation ou par excision *in situ* (Brightbill, 1993). Il s'accompagne d'une ponction de sang faite par voie sous-clavière ou intracardiaque pour les sérologies et la sérothèque



Prélèvement sanguin par voie sous-clavière.



Premier rinçage des culs-de-sac au sérum physiologique stérile.



Huit tubes de sang ont été prélevés pour obtenir un échantillon de sérum de qualité suffisante pour la réalisation des sérologies.



Deuxième décontamination des culs-de-sac conjonctivaux à la Bétadine.



Première décontamination des culs-de-sac conjonctivaux à la Bétadine.



Deuxième rinçage des culs-de-sac au sérum physiologique stérile.

(prélèvement sur tubes secs). Si un typage HLA du donneur doit être réalisé, un prélèvement supplémentaire de sang sur tubes citratés est réalisé.

3.1.2.1. Prélèvement par excision *in situ*

Les règles d'asepsie habituelle doivent être respectées (utilisation de gants stériles, champ opératoire et instruments stériles). Des instruments de prélèvement stériles à usage unique sont commercialisés par certains laboratoires. Ils sont d'un grand intérêt en termes de sécurité microbiologique et de traçabilité. Il est important de réaliser une décontamination de la peau et de la surface oculaire et conjonctivale à la polyvidone iodée (Bétadine® 5 %) suivi d'un rinçage abondant au sérum physiologique. Après désinsertion conjonctivale au limbe, la cornée est prélevée avec une collerette sclérale de 2 à 3 mm par trépanation ou dissection au couteau et aux ciseaux de microchirurgie. Il est souhaitable de ne pas effondrer la chambre antérieure lors de la dissection afin de ne pas léser l'endothélium cornéen. La restitution tégumentaire est réalisée à l'aide d'une prothèse de la couleur des yeux du donneur ou d'une coque transparente placées dans la fente palpébrale. Si l'on utilise une coque transparente, les paupières doivent être collées à l'aide d'une colle cyano-acrylique insérée entre la coque et la face postérieure des paupières en ayant soin de ne pas mettre de colle au niveau de la fente palpébrale.

3.1.2.2. Prélèvement par énucléation

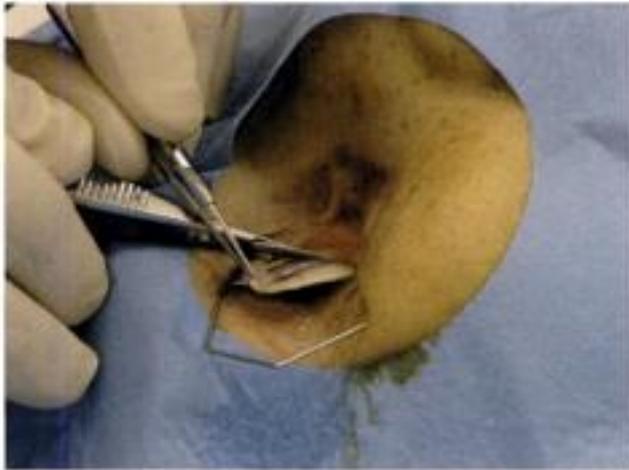
Le prélèvement par énucléation répond aux mêmes règles d'asepsie, de décontamination et de restauration tégumentaire que le prélèvement par excision *in situ*. Les différentes étapes du prélèvement par énucléation sont celles d'une énucléation classique. La conjonctive est désinsérée au limbe à l'aide de ciseaux. Les quatre muscles droits sont saisis à l'aide d'un crochet et sectionnés au ras de leur insertion sclérale sauf le droit externe sur lequel est placée une pince à clamper et qui est sectionné à 5–10 mm de l'insertion tendineuse. Le tendon restant permettra la manipulation ultérieure du globe. Le nerf optique et les muscles obliques sont ensuite sectionnés aux ciseaux. Il faut faire attention de ne pas ouvrir la sclère, ce qui aurait pour conséquence d'affaiblir le globe oculaire et de léser l'endothélium cornéen. Le globe est rincé à l'aide de 500 ml de sérum physiologique stérile après énucléation. La restitution tégumentaire est réalisée après quelques minutes afin de ne pas méconnaître un éventuel suintement séro-hémorragique orbitaire source d'hématome orbitaire. Si un tel suintement survient, il faut surélever la tête, mettre une colle hémostatique dans la cavité orbitaire et comprimer celle-ci à l'aide d'une boule de coton. La restauration des téguments (boule de coton dans la cavité orbitaire, prothèse oculaire de la couleur des yeux du donneur, fermeture des paupières) doit être réalisée avec soin.



Mise en place d'un champ opératoire et d'un blépharostat.



Un conformateur est mis en place.



Après désinsertion de la conjonctive aux ciseaux, la cornée est prélevée avec une collerette sclérale de 2-3 mm.



Les paupières sont collés en instillant la colle cyano-acrylique sous la paupière en respectant la fente palpébrale.



Les cornées sont placées dans leur milieu de transport.



Aspect en fin de prélèvement.

3.2. Conservation des greffons cornéens

La conservation des greffons cornéens est réalisée par des banques de cornées autorisées. Celles-ci prennent en charge la conservation, le contrôle de qualité et le contrôle de stérilité du greffon et gèrent la réalisation des contrôles sérologiques du donneur. Le tissu délivré au chirurgien après conservation en France est la cornée avec une collerette sclérale. Les prélèvements par énucléation subissent une étape de décontamination rigoureuse à la banque. Cette décontamination ne peut être réalisée en cas d'excision in situ.

3.2.1. Transport du prélèvement vers la banque de cornées

En cas d'excision in situ, le tissu prélevé est placé dans un flacon de milieu de transport juste après dissection. Le milieu est un milieu de conservation à +4 °C (le flacon est alors transporté dans un emballage réfrigéré à +4 °C) ou un milieu d'organo-culture (le flacon est alors transporté à température ambiante). En cas de prélèvement par énucléation, le globe oculaire est transporté dans une chambre humide réfrigérée à +4 °C, cornée dirigée vers le haut. Les flacons ainsi que les tubes de sang doivent être étiquetés (identification précise du donneur) et accompagnés d'une fiche opérationnelle de prélèvement remplie par le médecin préleveur après lecture du dossier médical du donneur.

3.2.2. Préparation du greffon prélevé par excision in situ pour la conservation

Le greffon est préparé pour la conservation dans une zone classée (salle blanche), sous hotte à flux laminaire. La manipulation est réalisée avec les précautions d'asepsie habituelles d'un travail en salle blanche (casaque, charlotte, masque, gants stériles). L'utilisation de matériel stérile à usage unique permet une meilleure traçabilité et évite la transmission d'agents infectieux par les instruments. Après préparation du matériel (champ opératoire, cupule, pince, porte-aiguille, fil de suture, ciseaux, compresses) et des produits thérapeutiques annexes (milieux de conservation), le greffon avec son milieu de transport est versé dans une cupule stérile placée sur un champ opératoire stérile. Un fil de suture est passé dans l'anneau scléral du greffon et dans le bouchon du flacon de milieu de conservation, puis le greffon est introduit dans ce flacon qui est rebouché. Le greffon est ainsi suspendu par le fil, en position verticale, dans le milieu de conservation sans toucher le fond du flacon. Cela permet que les cellules épithéliales qui desquament pendant la conservation tombent au fond du flacon sans s'accumuler à la surface du greffon.

Le flacon hermétiquement clos est ensuite placé dans la zone de conservation (étuve à 31 °C pour la conservation en organo-culture, réfrigérateur à 4 °C pour la conservation en hypothermie).

3.2.3. Décontamination des globes oculaires prélevés par énucléation et dissection de la cornée

La décontamination des globes oculaires est une étape capitale de la conservation. En effet, le globe oculaire après décès du donneur est un prélèvement hautement contaminé. Polack (1967) a retrouvé, sur 240 yeux prélevés par énucléation quatre à 14 heures après le décès, une contamination dans 100 % des cas. Les germes les plus fréquents sont *Staphylococcus epidermidis* et *aureus*, *Diphtheroides*, *Klebsiella pneumoniae*, *Flavobacterium* et *Escherichia coli*. Il faut noter que le simple fait d'irriguer la cornée et les culs-de-sac conjonctivaux avec du sérum physiologique stérile avant énucléation diminue la fréquence de la contamination des globes à 12,4 % (Pardos, 1982).

La technique de décontamination la plus utilisée en Europe repose sur un bain dans de la polyvidone iodée (Pels, 1999 ; Sperling, 1981). Les globes oculaires subissent un rinçage à l'eau courante filtrée permettant une détersion mécanique (30 secondes) puis un bain dans de la polyvidone iodée 1 % (2 minutes) suivi d'une neutralisation par le thiosulfate de sodium 1 % (30 secondes) et d'un rinçage par du sérum physiologique. La cornée est ensuite disséquée au couteau à 45° avec une collerette sclérale de 2-3 mm. Les différents bains et la dissection sont réalisés sous hotte à flux laminaire. Un fil de suture est ensuite passé dans l'anneau scléral du greffon et dans le bouchon du flacon de milieu de conservation, puis le greffon est introduit dans ce flacon qui est rebouché. Le flacon hermétiquement clos est ensuite placé dans la zone de conservation (étuve à 31 °C pour la conservation en organo-culture, réfrigérateur à 4 °C pour la conservation en hypothermie).

La détersion mécanique du globe (rinçage à l'eau courante) diminue le taux de contamination de 86 et 98 % lorsqu'elle est associée à une immersion dans la polyvidone iodée 0,5 % pendant deux minutes. La polyvidone iodée est active sur les staphylocoques, colibacille, VHS, VIH et candida. Elle ne crée pas d'opacités épithéliales et ne pénètre pas dans le tissu cornéen avec une concentration de 0,5 % et un temps d'immersion de deux minutes. Celles-ci sont minimales avec une concentration de 1 % et deux minutes d'immersion. Le stroma apprécié à l'examen biomicroscopique est normal avec une concentration $\leq 2,5$ % et un temps d'immersion < 4 minutes.



Avant d'être introduits dans la salle blanche les produits thérapeutiques annexes sont nettoyés.



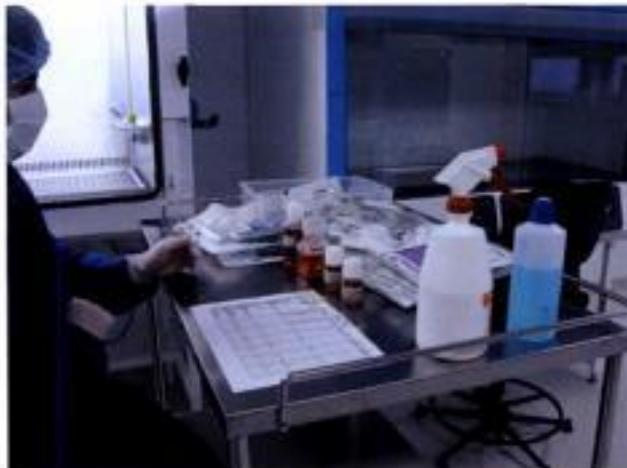
Un champ stérile est placé dans le poste de sécurité microbologique (hotte à flux laminaire). Le matériel stérile à usage unique est déposé sur le champ.



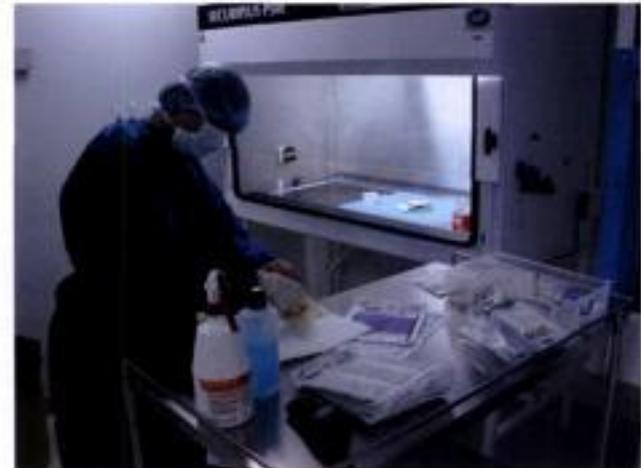
Ils sont introduits dans la salle blanche par un sas matériel. La technicienne entre dans la salle par le sas personnel.



Le collet des flacons contenant le milieu de transport et le milieu de conservation est décontaminé avec de la Bétadine.



Le matériel, les greffons et les milieux de conservation sont préparés sur une table.



La technicienne met une paire de gants stériles pour préparer le greffon.

3.2.4. Conservation du globe entier en chambre humide à +4 °C

Le globe oculaire est conservé au réfrigérateur à +4 °C dans un flacon de verre posé cornée vers le haut sur une compresse humide, avec quelques gouttes d'un antibiotique. Le greffon est trépané au bloc opératoire. La durée de conservation autorisée est de 24 à 48 heures. Les conséquences de cette technique de conservation sont une libération de phosphatase acide et de lactate déshydrogénase dans l'humeur aqueuse à l'origine d'une perte cellulaire endothéliale (Basu, 1980 ; Pena-Carillo, 1964). Le taux de glucose dans l'humeur aqueuse diminue rapidement et devient proche de 0 quatre heures après le décès. La fonction de barrière de l'endothélium est altérée dès J3 (Hull, 1979). L'ultrastructure de l'endothélium cornéen est altérée dès la 24^e heure de conservation. Les lésions endothéliales s'aggravent avec la durée de la conservation : turgescence mitochondriale, condensation de la chromatine, altération de la membrane nucléaire et enfin vacuolisation sévère précédant la mort cellulaire vers la 72^e ou 96^e heure (Friedland, 1976 ; Geeraedts, 1977 ; Schaeffer, 1963).

La courte durée de la conservation n'autorisant aucun contrôle de stérilité du greffon en fait une technique désuète. De plus le contrôle de qualité endothéliale avant greffe ne peut être réalisé que par microscopie spéculaire par voie transépithéliale. Celle-ci est rendue difficile par l'œdème cornéen post mortem. En France, cette méthode n'est actuellement plus utilisable du fait des contraintes légales qui régissent la conservation des greffons.

La perte cellulaire postopératoire du greffon cornéen a été rapportée à 18 % à trois mois et 34 % à un an (Culbertson, 1982 ; Yabe, 1990). Les études cliniques comparatives ne montrent pas de différence significative entre des greffons cornéens conservés en chambre humide et ceux conservés en milieu liquidien à +4 °C (Bourne, 1976 ; Sayegh, 1982) ou bien montrent des différences modérées en faveur de la conservation en milieu liquide (Ruusuvaara, 1980 ; Shimazaki, 1993).

3.2.5. Conservation de la cornée à court terme en milieu liquide à +4 °C

Ces milieux maintiennent une activité métabolique minimale permettant la survie des cellules. La cornée avec sa collerette sclérale est conservée au réfrigérateur à +4 °C dans un flacon contenant 20 ml de milieu, face endothéliale vers le haut. Un réchauffement à température ambiante avant utilisation est nécessaire pour rendre les antibiotiques actifs (Brightbill, 1993). Les contrôles de la qualité endothéliale du greffon

(biomicroscopie, microscopie spéculaire) et de la stérilité du milieu (prélèvement bactériologique, virage de l'indicateur coloré, transparence du milieu) sont possibles pendant la durée de conservation. Certains flacons de conservation ont leur forme adaptée au contrôle endothélial du greffon conservé, à l'aide d'un microscope spéculaire.

Ces milieux comportent un milieu nutritif (TC 199, MEM, Dulbecco, RPMI), des acides aminés non essentiels, une substance colloïdo-osmotique (chondroïtine sulfate, Dextran T-40) permettant de lutter contre l'œdème cornéen, un tampon (Hepes, bicarbonate), des antioxydants, des antibiotiques et un indicateur coloré de virage du pH (rouge phénol). Ils sont pour la plupart des modifications du milieu décrit par McCarey et Kaufman (1974). Ils peuvent être classés en plusieurs catégories, en fonction de l'agent osmotique :

- milieux avec Dextran T-40, sans chondroïtine sulfate : M-K[®] (Chiron), CSS[®] (Dispersa) ;
- milieux avec chondroïtine sulfate, sans Dextran T-40 : CSM[®] (Chiron), MCC-BFY[®] (Eurobio), Likorol[®] (Bausch et Lomb), K-SOL[®] (Cilco), Domisol[®] (Biodomi) ;
- milieux avec chondroïtine sulfate et Dextran T-40 : Dexsol[®] (Chiron), Likorol-DX[®] (Bausch et Lomb), Optisol-GS[®] (Bausch et Lomb), Optisol[®] (Chiron), Procell[®] (supplémenté en insuline et EGF, Chiron) ;
- milieu avec β -hydroxybutyrate, sans chondroïtine sulfate ni bicarbonate de sodium : milieu de Chen.

Les trois milieux commercialisés et utilisés en France actuellement sont l'Optisol-GS[®], le Likorol[®] et le Likorol-DX[®]. Les milieux avec chondroïtine sulfate et Dextran permettraient d'atteindre 12 à 14 jours de conservation. En fait, au-delà de 6-7 jours aucun milieu n'est parfaitement fiable et le contrôle endothélial post-conservation devient obligatoire. Les études cliniques font état d'une durée de conservation ne dépassant pas une semaine (Lass, 1989, 1990, 1992, 1994).

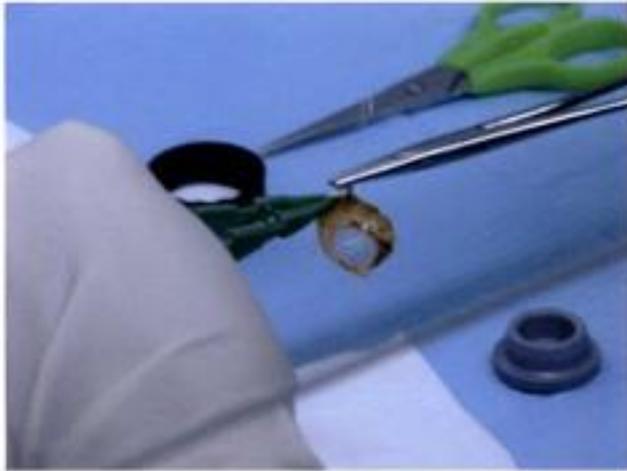
Les conséquences de la conservation à 4 °C sont une perte cellulaire endothéliale qui augmente avec la durée de conservation, des modifications des structures cellulaires, un œdème cornéen, un pléomorphisme et un polymégathisme endothélial. Means (1995) retrouve en moyenne 9 à 16 % de lésions cellulaires endothéliales pour une durée de conservation dans l'Optisol-GS[®] allant de quatre à 21 jours (étude sur la cornée humaine). L'étude de l'endothélium en microscopie électronique met en évidence des lésions de conservation (McCarey, 1974) : turgescence mitochondriale, condensation de la chromatine en mottes,



Le greffon est dans une cupule avec son milieu de transport.



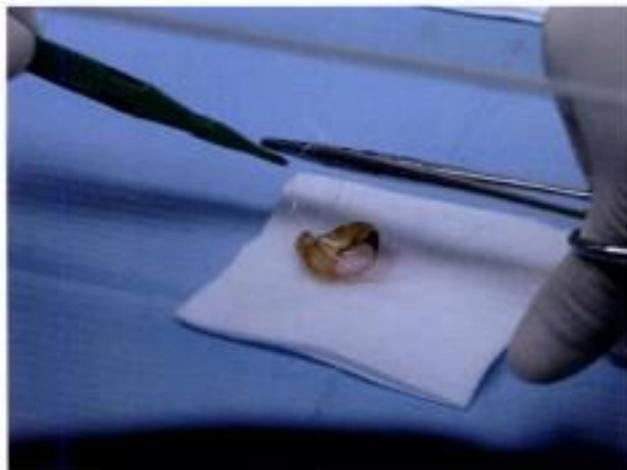
L'aiguille est passée dans le bouchon du flacon de conservation.



Un fil de suture est passé dans la collerette sclérale.



La longueur du fil est ajustée.



Un nœud est réalisé avec la pince et le porte-aiguille.



Le fil est coupé au ras du bouchon.

vacuolisation, élargissement des espaces intercellulaires, aspect sinueux de la membrane cellulaire apicale, cytolysse. Modérées après une semaine, ces lésions deviennent sévères après deux semaines de conservation (Ellis et Lindstrom, 1992 ; Kaufman, 1991 ; McCarey, 1974 ; Means, 1995 ; Stein, 1986). La conservation en hypothermie induit une apoptose de cellules endothéliales et épithéliales et de kératocytes du greffon (Nelson, 2000).

On ne retrouve pas de variation biochimique du milieu (pH, lactates, glucose) jusqu'à J7 mais des modifications apparaissent entre J7 et J14. Il existe une libération d'enzymes lysosomiaux dans le milieu qui augmente avec la durée de conservation (Lass, 1989).

Les différences entre les divers milieux sont essentiellement retrouvées *in vitro*. Ainsi la morphologie cellulaire endothéliale est meilleure, l'œdème cornéen induit plus faible et l'ultrastructure de l'endothélium mieux respectée après conservation dans l'Optisol[®] que dans le Dexsol[®] (Kaufman, 1991). L'épaisseur cornéenne pendant la conservation est plus importante avec le milieu de Chen qu'avec l'Optisol-GS[®] (Nelson, 2000). *In vivo*, les études prospectives ne mettent pas en évidence de différence statistiquement significative entre les différents milieux commercialisés, en termes de survie du greffon, de densité, de morphologie ou de perte cellulaire endothéliale postopératoire (Lass, 1989 ; Lass, 1994 ; Bourne, 2001a).

L'antibiotique utilisé dans la plupart des milieux est de la gentamicine. Baer (1989) a étudié la survie de *Streptococcus viridans*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* et *Pseudomonas aeruginosa* dans du milieu M-K avec de la gentamicine 100 µg/ml. Le nombre de germes est pratiquement stable pendant la conservation à +4 °C car les antibiotiques sont peu actifs à cette température (Baer, 1989). Après 80 minutes de réchauffement à température ambiante, on obtient une diminution du nombre de germes d'au moins 2 log pour *Staphylococcus* et *Pseudomonas*, alors que *Streptococcus* reste stable. La concentration en gentamicine dans le milieu reste stable après 90 jours de conservation à +4 °C. Cependant la concentration en gentamicine dans le tissu cornéen diminue après trois jours de conservation à +4 °C (Lindquist, 1993). Des germes tels que *Streptococcus viridans* et *Pseudomonas* peuvent survivre dans des milieux contenant de la gentamicine (Baer, 1989 ; Poole, 1984). Des associations d'antibiotiques ont été étudiées. Ainsi les associations vancomycine + gentamicine (Garcia-Ferrer, 1991 ; Lindquist, 1993 et 1996 ; Steinemann, 1992), teicoplanine + gentamicine (Lindquist, 1990) ou pénicilline G + streptomycine + gen-

tamicine (Hwang, 1993) permettent d'améliorer les capacités bactéricides des milieux de conservation. Des défensines ont été également proposées comme agents bactéricides dans les milieux de conservation mais elles n'ont pas eu d'application clinique (Cullor, 1990 ; Schwab, 1992). La stérilité des greffons ne peut être obtenue après conservation à +4 °C pour une durée d'environ cinq jours malgré une décontamination rigoureuse du globe oculaire. Le taux de contamination des collerettes cornéo-sclérales après conservation à +4 °C est compris entre 12 et 39 % selon les études publiées (Antonios, 1991 ; Brightbill et Kloess, 1993 ; Fong, 1985 ; Leveille, 1983 ; Mascarella, 1979 ; Mathers, 1987 ; Poole, 1984). La présence de ces contaminations à +4 °C peut être expliquée par l'absence de modification de l'indicateur de pH du milieu de conservation (les germes présents à +4 °C ne proliférant pas) et par la très faible activité des antibiotiques à cette température. De plus la courte durée de conservation ne permet pas de réaliser un contrôle microbiologique dans des conditions optimales. La fréquence des endophtalmies après conservation à 4 °C varie selon les séries entre 0,35 et 0,77 %. Les greffons contaminés sont souvent la cause des endophtalmies postopératoires après kératoplastie transfixiante (Antonios, 1991 ; Baer, 1989 ; Kloess, 1993). Dans l'étude de Kloess (1993), l'incidence des endophtalmies est de 2,3 % (3/125) lorsque la collerette cornéo-sclérale est contaminée et seulement 0,1 % (1/804) lorsqu'elle est stérile. Leveille (1983) a montré que la contamination de la collerette cornéo-sclérale multiplie par 22 le risque d'endophtalmie postopératoire.

Les résultats cliniques sont bons : le taux de survie du greffon va de 92 à 100 % à un an. La densité cellulaire endothéliale moyenne à M12 est comprise entre 2000 et 2400 cellules/mm² (Lass, 1989 et 1994). Néanmoins plusieurs décompensations endothéliales primaires du greffon ont été publiées avec une fréquence allant jusqu'à 4 % des greffes réalisées en fonction des séries publiées (Bourne, 1983a, 1983b et 1986 ; Brightbill, 1993 ; Lass, 1989 et 1990). Ces taux traduisent plus l'insuffisance de qualité endothéliale du greffon (par absence de contrôle pré-conservation) que la responsabilité du milieu de conservation lui-même (Harbour, 1983 ; Mascarella, 1979 ; Lass, 1992 et 1994). Ces résultats sont comparables à ceux de la conservation en chambre humide à +4 °C en termes de greffons clairs, de densité cellulaire endothéliale ou d'acuité visuelle (Shimazaki, 1979). En termes de densité endothéliale, d'épaisseur cornéenne et de préservation de l'épithélium du greffon, aucune différence n'a été retrouvée entre le milieu de Chen et l'Optisol-GS pendant la première année postopératoire (Bourne, 2001a).



Le greffon est introduit dans le flacon de milieu d'organo-culture.



Décontamination du globe oculaire dans la Bétadine 1 %.



Le greffon est placé dans une étuve à 37 °C.



Neutralisation de la Bétadine par du thiosulfate.



Cette étuve est réservée aux tissus non validés.



Dissection de la cornée.

3.2.6. Conservation de la cornée à moyen terme en organo-culture à +31 °C

Elle a été proposée par Doughman et Lindstrom aux États-Unis vers 1975, puis modifiée par Sperling, Pels et Ehlers en Europe du Nord (Brightbill, 1993) et introduite en France par Delbosc et Hervé. Elle constitue actuellement la méthode de conservation standard de la plupart des banques de cornées européennes. Elle permet de stimuler l'activité métabolique des cellules. La cornée est conservée à l'étuve (air 100 %) à une température proche de la température physiologique de la cornée *in vivo*, dans un flacon contenant de 50 à 100 ml de milieu. La cornée est suspendue dans le milieu à l'aide d'un fil passé dans le bouchon et noué au niveau de la collerette sclérale. Le milieu de conservation et la cornée sont observés quotidiennement et un ou plusieurs contrôles de stérilité du milieu de conservation sont effectués durant la conservation. Si le milieu devient trouble ou jaune ou que les contrôles reviennent positifs, la cornée est éliminée. La durée de conservation en organo-culture est habituellement limitée à cinq semaines, mais une conservation de sept semaines donne des résultats cliniques équivalents (Ehlers, 1999).

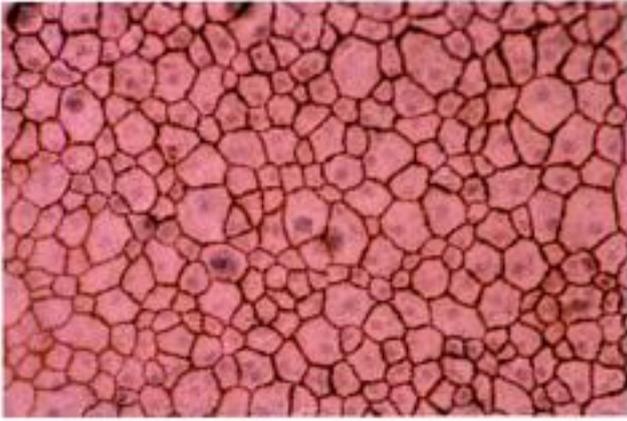
Les milieux d'organo-culture comportent un milieu nutritif (MEM, Dulbecco), du sérum de veau fœtal 2 %, des tampons (Hepes, bicarbonate), des antioxydants, des antibiotiques et antifongiques (pénicilline + streptomycine + amphotéricine B, ou bien carbénicilline + amikacine + nystatine, ou bien ticarcilline + amikacine + nystatine) et un indicateur coloré de virage du pH (rouge phénol). La durée de conservation autorisée est de cinq semaines. Néanmoins, il est souhaitable d'utiliser le greffon le plus tôt possible après la fin de la période de quarantaine microbiologique car la densité endothéliale postopératoire du greffon est d'autant plus élevée que la durée d'organo-culture est courte et cette meilleure densité endothéliale est retrouvée en postopératoire (Borderie, 1998e ; Thuret, 2003a). Si la durée de la période de quarantaine microbiologique est fixée à deux semaines, les greffons seront idéalement greffés pendant la troisième semaine qui suit le prélèvement. Le milieu est renouvelé toutes les deux semaines. En France les milieux utilisés sont l'Inosol[®] (Bausch et Lomb), le CorneaPrep[®] (milieu de transport, Eurobio) et le CorneaMax[®] (milieu de conservation, Eurobio) qui sont composés de milieu Dulbecco modifié Iscove, de sérum de veau fœtal 2 %, de mercaptoéthanol et thioglycérol, de pénicilline, streptomycine et amphotéricine B. La plupart des banques de cornées européennes en-dehors de la France ont leur propre milieu d'organo-culture (non manufacturé). Ils sont préparés à partir d'un milieu de culture cellulaire

manufacturé avec une supplémentation en sérum de veau fœtal (2 %) et en antibiotiques et anti-fongiques. La comparaison de plusieurs milieux de culture commercialisés (MEM, MEM + L-glutamine, M199, DIF-1000, SFM, F99, F99 + acide ascorbique + insuline + bFGF + transferrine + lipides), tous additionnés de 2 % de sérum de veau fœtal, a montré que le milieu SFM induisait la plus faible perte cellulaire endothéliale (14 % à J21), la plus forte consommation de glucose et production de lactate, la plus faible perte de kératan sulfate et permettait la plus grande synthèse d'ARN par les cellules endothéliales et les kératocytes (Moller-Pedersen, 2001).

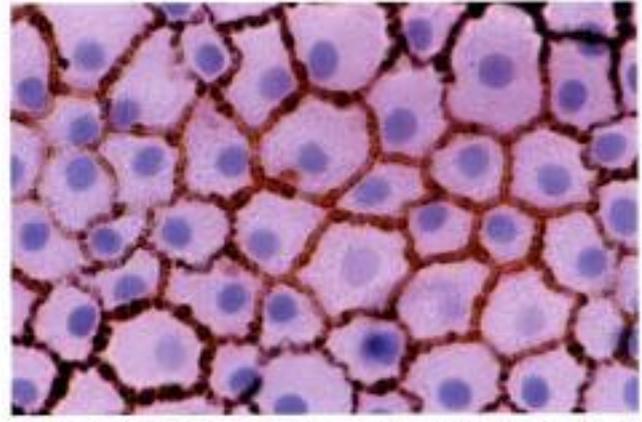
Il est nécessaire de réaliser avant la greffe une phase de déturgescence d'un à quatre jours dans le même milieu additionné de Dextran T-500 afin de réduire l'œdème stromal induit par la conservation (Pels, 1993 ; Swinger, 1986). Le Dextran n'est pas utilisé pendant la phase d'organo-culture car il présente une toxicité pour les cellules endothéliales cornéennes (Lin, 1992). Une durée de déturgescence de deux ou trois jours est préférable à une durée de 24 heures car on obtient alors une densité endothéliale postopératoire du greffon plus élevée (Borderie, 1998e). En France les deux milieux de déturgescence utilisés sont l'Exosol[®] (Bausch et Lomb) et le CorneaJet[®] (Eurobio).

La température de conservation peut être de +31, +34 ou +37 °C. Sperling a montré que le nombre de figures de reformations observées au niveau de la mosaïque cellulaire endothéliale après 24 heures de conservation en organo-culture est le plus faible lorsque l'on utilise une température de +31 °C (Sperling, 1979).

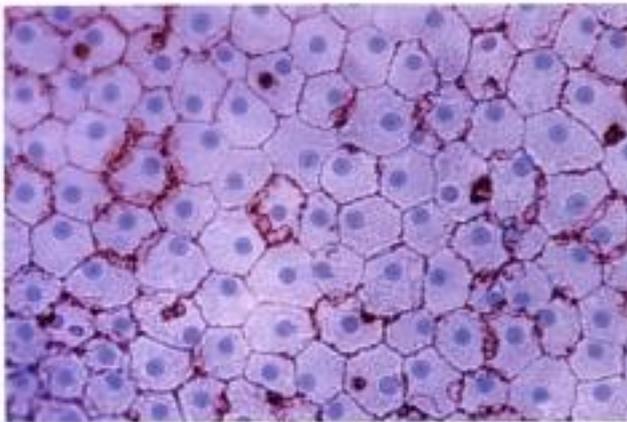
Les conséquences de la conservation en organo-culture sont une perte cellulaire endothéliale par apoptose qui augmente avec la durée de conservation et avec le pourcentage de cellules non viables avant conservation, des modifications des structures cellulaires, un œdème cornéen, un pléomorphisme et un polymégathisme endothélial (Albon, 2000 ; Borderie, 1993 et 1995b ; Crewe, 2001 ; Gain, 2002). La perte cellulaire endothéliale moyenne induite par la conservation est comprise entre 11 et 20 % pour une durée moyenne de conservation d'une à trois semaines (Brightbill, 1993 ; Pels, 1985 ; Piquot, 1989 ; Sperling, 1978 et 1986). Elle augmente avec la durée de conservation (7,5 % après 10 jours et 18 % après 30 jours) et avec la densité endothéliale avant conservation (Laroche, 1994 ; Pels, 1993). Elle peut atteindre 36 à 43 % pour des conservations de neuf à 17 semaines. La valeur de densité cellulaire endothéliale alors obtenue est incompatible avec la survie *in vivo* du greffon (Pels, 1985). Schématiquement, on peut rete-



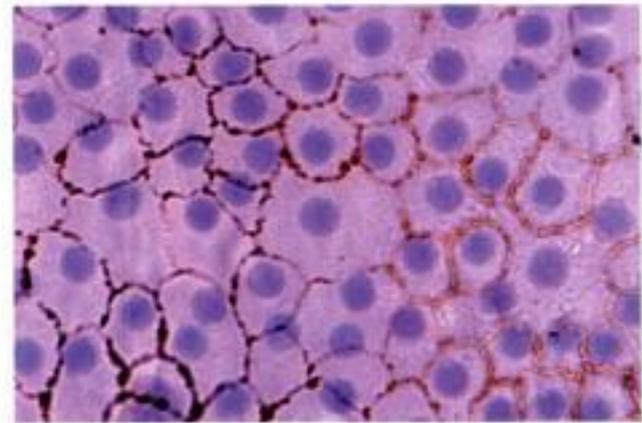
Morphologie de l'endothélium cornéen humain en organo-culture. Double coloration par le bleu trypan et le rouge alizarine. On observe un pléomorphisme (diminution du pourcentage de cellules hexagonales), un polymégatisme (anisocytose), une excentration des noyaux et de phénomènes de rosettes et de figures de reformation. Le polymorphisme est trop important ici pour pouvoir délivrer le greffon pour une kératoplastie transfixiante.



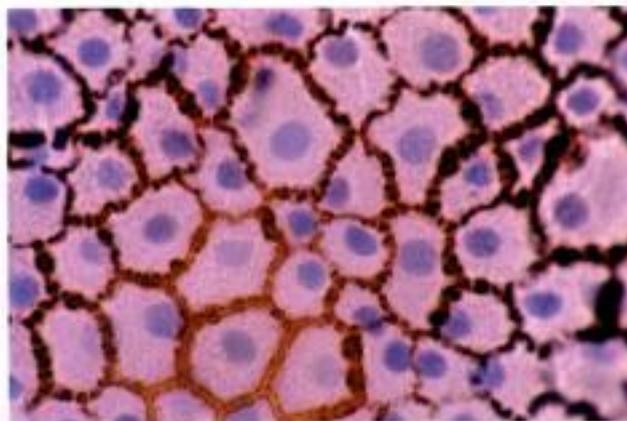
Endothélium humain conservé en organo-culture : figure de reformation (point de jonction de 4 cellules adjacentes).



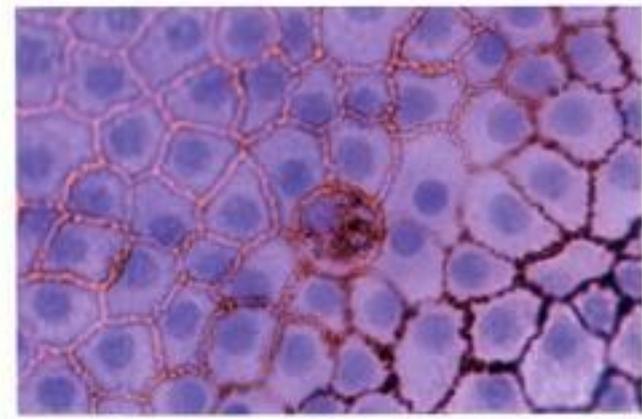
Endothélium cornéen humain non conservé. Notez le caractère hexagonal des cellules et la relative homogénéité de la surface cellulaire.



Endothélium humain conservé en organo-culture : cellules multinucléées (ici deux cellules ont 2 noyaux).



Endothélium humain conservé en organo-culture : figure de rosette formée par une petite cellule entourée de 6 grandes cellules.



Endothélium humain conservé en organo-culture : cellule en cours d'expulsion de la mosaïque endothéliale comme en témoigne le passage du rouge alizarine sous le pôle basal de la cellule colorant ainsi la membrane de Descemet sous-jacente.

nir que la conservation en organo-culture induit une perte cellulaire endothéliale proche de 1 % par jour de conservation. Cette perte cellulaire n'est pas significativement influencée par l'âge du donneur, ni par le délai post mortem (Laroche, 1994 ; Sperling, 1978). La mosaïque cellulaire endothéliale reste continue pendant toute la durée de la conservation (Delbosc, 1987 ; Doughman, 1974 ; Lindstrom, 1976 ; Pels, 1983 ; Sperling, 1986). Une nécrose endothéliale complète pendant la conservation doit faire suspecter la présence du virus herpétique (Cleator, 1994 ; Tullo, 1990).

La morphologie cellulaire endothéliale est modifiée par l'organo-culture (Borderie, 1995b et 1997c ; Delbosc, 1987 ; Doughman, 1974 ; Pels, 1985 ; Sperling, 1978). Polymégathisme (anisocytose), pléomorphisme (modification de forme avec une diminution du pourcentage de cellules hexagonales), figures de rosettes et de reformation et excentration des noyaux témoignent des processus de cicatrisation endothéliale qui permettent de maintenir la continuité de la mosaïque cellulaire pendant toute la durée de la conservation malgré l'expulsion des cellules mortes (Doughman, 1976). Les figures de rosettes et de reformation témoignent de l'expulsion d'une cellule morte (Sperling, 1978). Le polymégathisme induit par la phase d'organo-culture est significativement accentué par la phase de déturgescence de même que la perte cellulaire endothéliale (Borderie, 1997c). Des cellules multinucléées sont également induites par la conservation, résultant probablement de la fusion de plusieurs cellules (syncytium). Les lésions ultrastructurales des cellules endothéliales mises en évidence au sein des cornées conservées (vacuoles, turgescence mitochondriale modérée, dilatation des espaces intercellulaires sans ouverture des complexes jonctionnels) sont modérées et témoignent d'un certain degré de métabolisme anaérobie (Borderie, 1995b). Après la phase de déturgescence, les cellules endothéliales sont plus fines, la turgescence mitochondriale disparaît et des vacuoles de Dextran sont observées dans les cellules endothéliales (Borderie, 1997c ; Pels, 1985 ; Van der Want, 1983). Ces lésions de conservation sont réversibles. Les *tight junctions* et le cytosquelette d'actine des cellules endothéliales ne sont pas lésés par l'organo-culture (Crewe, 2001). Les cellules endothéliales sont riches en glycogène. L'épaisseur cornéenne augmente progressivement pendant les huit à dix premiers jours de conservation jusqu'à deux ou trois fois l'épaisseur cornéenne normale (environ 1000 à 1500 μm) (Nilius, 1995 ; Pels, 1983 et 1993). Cet œdème stromal est entièrement réversible après perfusion en chambre antérieure artificielle (Doughman, 1976). La vitesse de déturgescence diminue avec la durée de conservation. De même le temps de déturgescence postkératoplastie transfixiante est

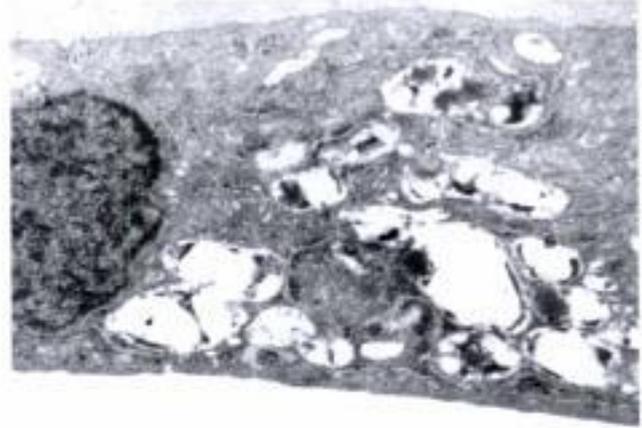
d'autant plus long que la durée de conservation est grande. Piquot (1989) a montré que l'épaisseur cornéenne moyenne à un mois post-greffe est plus importante lorsque les greffons sont conservés 18 à 24 jours que lorsqu'ils le sont trois à 17 jours. À trois mois tous les greffons ont une épaisseur normale.

Les deux membranes limitantes acellulaires ne sont pas lésées par la conservation, et l'architecture du stroma cornéen est respectée. La conservation induit un œdème stromal plus important dans le stroma postérieur que dans le stroma antérieur. Les kératocytes augmentent de volume, par formation de nombreuses vacuoles, sans lésion des membranes cytoplasmiques, ni des organites intracellulaires. L'empilement et l'orientation des lamelles de collagène demeurent normaux et les fibrilles de collagène ont un diamètre homogène, sans disparité de la distance inter fibrilles (Borderie, 1993, 1995b et 1997c ; Van der Want, 1983 ; Van Horn, 1975). L'influence de la conservation en organo-culture sur la densité kératocytaire du stroma fait l'objet de controverses. Moller-Pedersen (1994) a étudié la densité kératocytaire de la cornée humaine avec une technique de mesure biochimique du contenu en ADN du stroma. Il n'a pas trouvé de modification significative de la quantité d'ADN stromal sur une période de 28 jours d'organo-culture. Ce contenu stromal en ADN n'était pas influencé par l'âge, ni le sexe et ni le délai post mortem de prélèvement. Il faut noter que les densités kératocytaire et endothéliale de la cornée humaine ne sont pas corrélées (Moller-Pedersen, 1995). Salla (1995) a rapporté que la viabilité kératocytaire diminue après 14 jours d'organo-culture et que la densité kératocytaire semble diminuer pendant la conservation en organo-culture. La phase de déturgescence, si elle est prolongée au-delà de 48 heures, peut induire une lyse de certains kératocytes dans le stroma postérieur (Borderie, 1997c).

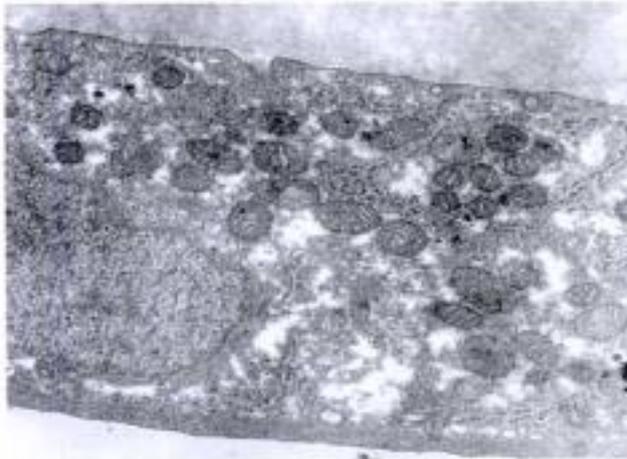
Les lésions épithéliales sont plus sévères et, dès le 7^e jour de conservation, seule persiste la couche basale de l'épithélium cornéen central. Néanmoins la membrane basale épithéliale et les hémidesmosomes des cellules basales sont respectés (Borderie, 1995b et 1997c ; Van Horn, 1975). Après la phase de déturgescence, les cellules basales ont une morphologie aplatie et contiennent des vacuoles de Dextran ; certaines cellules basales présentent des lésions sévères lorsqu'on prolonge cette phase de déturgescence (Borderie, 1997c). Les *tight junctions* et le cytosquelette d'actine des cellules épithéliales ne sont pas lésés par l'organo-culture (Crewe, 2001). Pour certains auteurs la diminution du nombre de cellules de Langerhans contenues dans le greffon, induite par la desquamation épithéliale, aurait un rôle immuno



Ultrastructure de l'endothélium cornéen humain en organo-culture. Le noyau, les membranes cellulaires et le réticulum endoplasmique sont parfaitement respectés. On observe des vacuoles dans la cellule endothéliale.



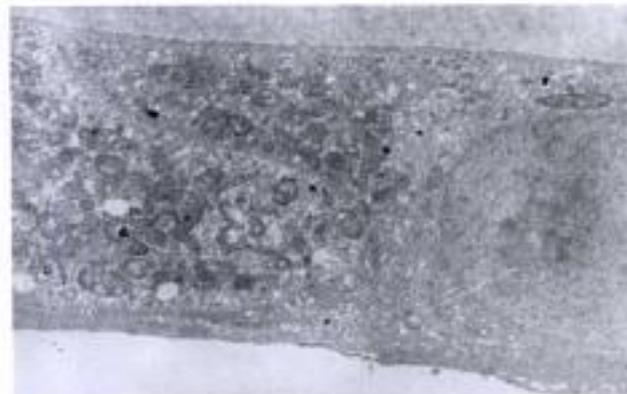
Ultrastructure de l'endothélium cornéen humain après la phase de déturgescence en milieu d'organo-culture supplémenté avec du Dextran. On observe des vacuoles contenant du Dextran dans la cellule endothéliale. Le noyau est normal.



Ultrastructure de l'endothélium cornéen humain en organo-culture. Le réticulum endoplasmique est normal. On observe des vacuoles dans la cellule endothéliale ainsi qu'une très discrète turgescence (oedème) mitochondriale.



Ultrastructure de l'endothélium cornéen humain après la phase de déturgescence. L'épaisseur cellulaire est normale (2,6 μm) et l'ultrastructure des mitochondries est parfaitement respectée. Les interdigitations entre les cellules endothéliales sont présentes.



Les espaces intercellulaires sont normaux.

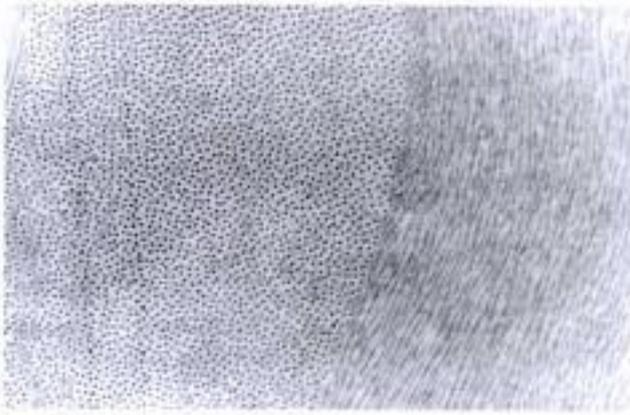
modulateur qui pourrait diminuer la fréquence du rejet (Holland, 1987 ; Pels, 1984). Néanmoins, la désépithélialisation du greffon ne semblerait pas diminuer la fréquence du rejet d'allogreffe de cornée et aucune étude n'a pu démontrer que la conservation en organo-culture permettait de diminuer la fréquence du rejet.

Dans le milieu de conservation, le pH et le taux de glucose diminuent au cours de la conservation avec consommation d'oxygène et production de lactate (Delbosc, 1987 ; Hjordtal, 1989 ; Lindstrom, 1976). Le rapport lactate/glucose est supérieur à 1. Le métabolisme de la cornée en organo-culture est donc mixte aérobie et anaérobie. Lass (1988) a montré que la diminution du pH du milieu de conservation se fait de manière régulière (diminution d'environ 0,15 unité par semaine) sur quatre semaines alors que le pH intra-cornéen reste stable pendant la même période.

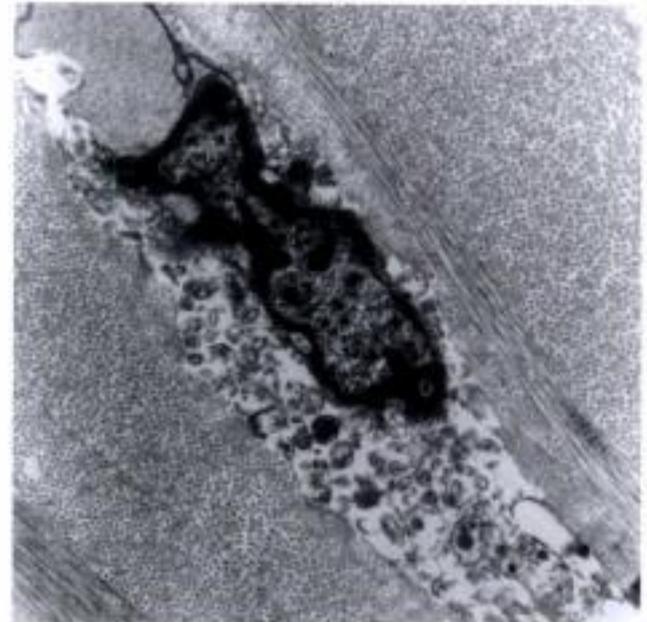
La conservation en organo-culture à +31 °C permet d'assurer la stérilité des greffons cornéens avec une fiabilité presque parfaite. Dans une étude portant sur 409 cornées conservées en organo-culture et greffées, tous les liquides de conservation étaient stériles au moment de la greffe et le taux de contamination des collerettes cornéo-sclérales était minime (0,7 %) (Borderie, 1998c). Cette contamination était de faible importance et pouvait correspondre à une souillure. Ce taux de contamination des greffons lors de la greffe (0,7 %) est significativement moins élevé que celui obtenu après conservation des greffons à +4 °C (12 à 39 %). En cours d'organo-culture, 11 % des cornées prélevées ont été éliminées pour une contamination qui était d'origine bactérienne (65 %) ou fongique (35 %). Le risque de contamination pendant la conservation augmente avec le délai post mortem de prélèvement et il est plus important en cas de prélèvement par excision *in situ* qu'en cas de prélèvement par énucléation. Les études précédentes (Erbezci, 1995 ; Laroche, 1994) faisaient état d'un taux de contamination de 4 et 7 %. Néanmoins, si l'on utilise un système d'extraction mécanique des germes, le taux de contamination résiduelle est plus élevé (29 %) (Albon, 2001). On peut s'interroger sur la pertinence clinique de détecter une contamination ayant une charge infectieuse très faible car il est probable que la notion de stérilité soit un concept relatif et que le risque d'infection clinique dépende de la charge infectieuse. La sécurité microbiologique obtenue avec l'organo-culture est le fruit d'une décontamination rigoureuse, d'une conservation à +31 °C pendant au minimum deux semaines avec observation quotidienne du milieu de conservation (période de quarantaine permettant aux germes

ayant résisté à la décontamination de se développer et par là même de faire virer l'indicateur de pH du milieu) et du contrôle microbiologique fait au cours de la conservation. Sa contrepartie est une perte de greffons par infection au cours de la conservation. Les germes les plus souvent isolés pendant l'organo-culture sont *Staphylococcus*, *Pseudomonas* et *Escherichia coli* ; ils sont souvent multirésistants aux antibiotiques (Borderie, 1998c ; Pels, 1993). Le taux de contamination des greffons pendant l'organo-culture est proche de celui des collerettes cornéo-sclérales après conservation à +4 °C (Borderie, 1998c ; Fong, 1988 ; Kloess, 1993 ; Mascarella, 1979 ; Leveille, 1983 ; Poole, 1984). La sécurité microbiologique de l'organo-culture n'est donc pas due à une diminution de la contamination des greffons mais à l'identification et l'élimination des greffons contaminés avant la greffe ce que ne permet pas la conservation à +4 °C. La fréquence des infections lors de la conservation diminue avec l'expérience des techniciens de la banque. Elle augmente avec le délai post mortem de prélèvement (Armitage, 1997). Elle varie également en fonction de la cause de décès des donneurs ; les cornées provenant des donneurs décédés d'accidents sont moins souvent contaminées que celles provenant de donneurs décédés de pathologies chroniques (Hagenah, 1995). Un taux de contamination proche de 10 % semble acceptable pour une banque ayant une activité modérée de l'ordre de 100 cornées conservées par an. Ce taux diminue si l'activité croît : il est inférieur ou égal à 5 % pour une activité de plus de 1000 cornées par an (Armitage, 1997) ; la banque de cornées des Pays-Bas a un taux d'infections inférieur à 3 % en conservant plus de 2000 cornées par an avec un prélèvement des globes oculaires par énucléation qui autorise une décontamination des globes oculaires à la banque de cornée plus efficace que ce qui peut être réalisé à la morgue lors d'un prélèvement par excision *in situ*. Enfin, aucune endophtalmie post-opératoire, après utilisation de greffons conservés en organo-culture, n'a été rapportée dans la littérature par l'ensemble des banques de cornées européennes, utilisant ce type de conservation. Cela démontre bien le haut niveau de sécurité microbiologique obtenu avec cette méthode de conservation.

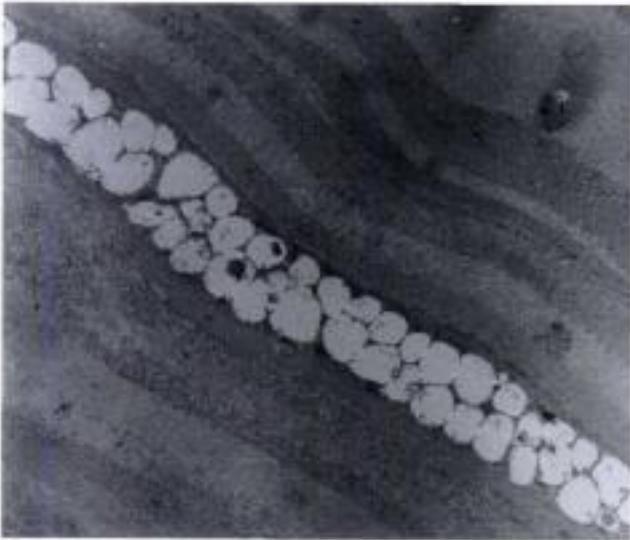
Un des buts recherchés par les promoteurs de l'organo-culture était de supprimer les échecs primaires des kératoplasties transfixiantes dus à une insuffisance de qualité endothéliale du greffon. Cet objectif est atteint pour ce qui est des échecs primaires par insuffisance endothéliale mais il persiste des échecs primaires dus à la transmission du virus VHS par le greffon.



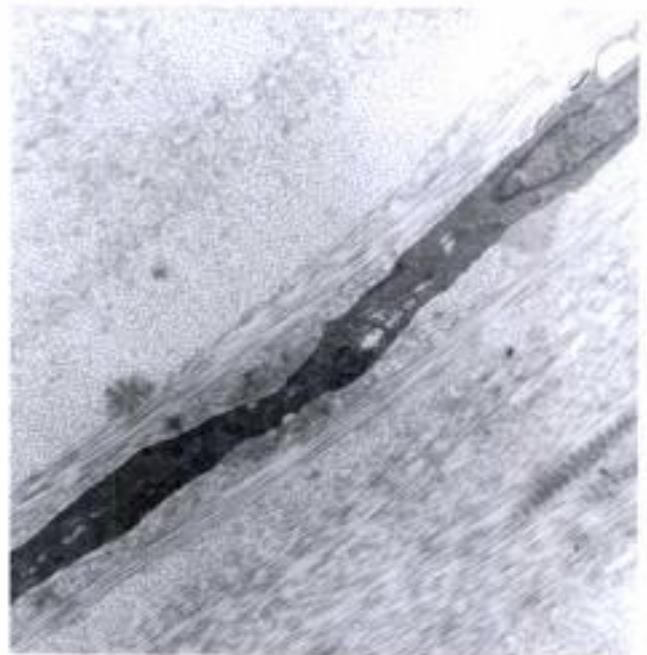
Ultrastructure des fibrilles de collagène du stroma cornéen humain en organo-culture.



La conservation entraîne la mort de certains kératocytes du stroma postérieur.



Ultrastructure du stroma cornéen humain après la phase de débridement. Les kératocytes du stroma postérieur sont fortement vacuolisés, ce qui retentit probablement sur l'évolution de l'épaisseur cornéenne pendant la première année postopératoire.



Par comparaison, dans les mêmes conditions, l'ultrastructure des kératocytes du stroma antérieur est respectée.

En termes de transparence du greffon, les résultats de la littérature au-delà d'un an sont bons (Borrierie, 1999d ; Moll, 1991 ; Rijneveld, 1992 ; Sperling, 1981a). Le pourcentage de greffons clairs varie entre 80 et 100 % suivant les études après un suivi d'un à cinq ans. L'étude de Moll (1991) ne retrouve pas de différence statistique entre le pourcentage de greffons clairs à deux ans après conservation à 31 °C dans un milieu à base de MEM et le pourcentage de greffons clairs à deux ans après conservation à 4 °C dans du milieu M-K. Rijneveld (1992) rapporte les mêmes constatations après un suivi de deux ans. L'étude de Sperling (1981) ne trouve pas de différence significative entre la conservation à 31 °C dans un milieu à base de MEM et la conservation à court terme en chambre humide à 4 °C, en termes de pourcentage de greffons clairs à un an. Néanmoins il faut noter que les effectifs de ces études comparatives sont assez faibles, compris entre 18 et 136 dans les divers groupes. L'étude de Volker-Dieben (Brightbill, 1993) porte sur des effectifs de 238 greffes dans le groupe 31 °C et 239 dans le groupe 4 °C. Après ajustement sur le degré de néovascularisation de la cornée du receveur, la survie sans opacification du greffon est statistiquement meilleure dans le groupe 31 °C que dans le groupe 4 °C.

L'épaisseur cornéenne centrale deux à 60 mois après kératoplastie est normale dans les diverses études (Moll, 1991 ; Piquot, 1989 ; Rijneveld, 1992 ; Sperling, 1981). Les valeurs moyennes sont comprises entre 480 et 565 μm . À J1 l'épaisseur cornéenne centrale est plus importante après conservation à 34 °C

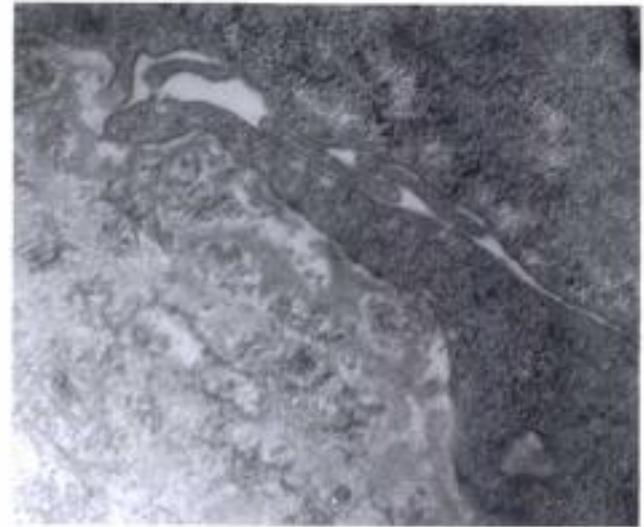
qu'après conservation à 4 °C. À partir de J21 cette différence disparaît. Les observations de Sperling (1981a) et Rijneveld (1992) sont identiques. La période de déturgescence postopératoire du greffon est donc plus longue après conservation à 31 °C qu'après conservation à 4 °C.

Les données concernant la perte cellulaire endothéliale après kératoplastie sont peu nombreuses. Sperling (1981a) trouve une perte cellulaire endothéliale moyenne, un an après la greffe, de 40 % après conservation à 31 °C et 47 % après conservation en chambre humide à 4 °C (différence non significative). Dans une étude prospective randomisée incluant 24 patients, Frueh (2000) ne trouve pas de différence significative entre le groupe des patients greffés avec un greffon conservé en milieu Optisol® à +4 °C et celui des patients greffés avec un greffon conservé en organo-culture à +36 °C en termes de densité endothéliale à 12 mois de la greffe. Bourne (1994) rapporte qu'il n'existe pas de différence statistique entre la conservation à +4 °C et l'organo-culture en termes de perte cellulaire endothéliale cinq ans après kératoplastie.

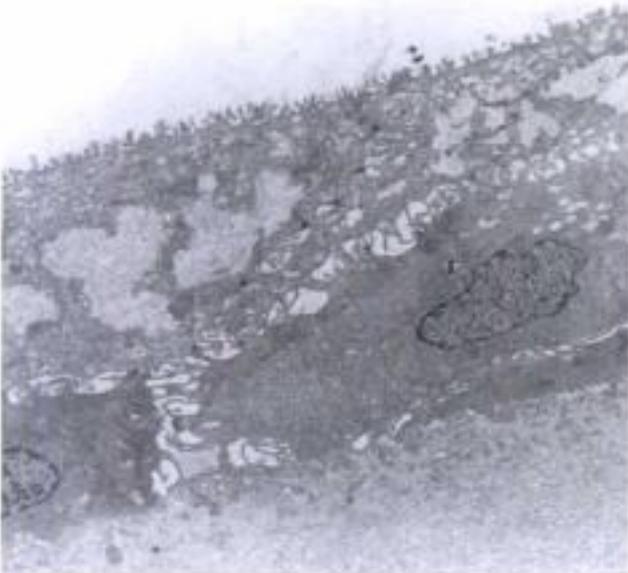
En termes d'acuité visuelle, les résultats deux ans après kératoplastie sont bons. Les études comparant la conservation à 31 °C et celle à 4 °C (Moll, 1991 ; Rijneveld, 1992) retrouvent des résultats très proches dans les deux groupes. Dans l'étude de Moll (1991), l'acuité visuelle moyenne corrigée est de 0,49 dans le groupe 31 °C et 0,47 dans le groupe 4 °C. Elle est de 1,00 dans le groupe 31 °C et 0,98 dans le groupe 4 °C, dans l'étude de Rijneveld (1992).



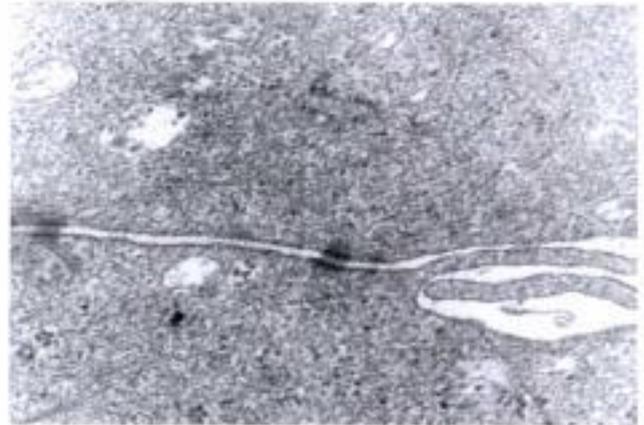
Ultrastructure de l'épithélium cornéen humain en organo-culture. Les couches intermédiaire et superficielle de l'épithélium ont desquamé. La membrane basale et les hémidesmosomes des cellules basales sont respectés. La membrane de Bowman sous-jacente est normale.



Détail de la jonction entre la membrane de Bowman (en bas et à gauche) et les cellules basales épithéliales (en haut et à droite) montrant l'intégrité de la membrane basale épithéliale (lamina lucida et lamina densa) et la présence des hémidesmosomes au pôle basal des cellules basales.



Ultrastructure de l'épithélium après la phase de déturgescence. La couche basale épithéliale est présente, les desmosomes qui unissent les cellules épithéliales sont respectés.



Détail de la jonction entre les cellules épithéliales montrant la présence des desmosomes.

3.2.7. Conservation de la cornée à long terme par congélation (cryoconservation et vitrification)

La conservation par congélation autorise une durée de conservation très longue, illimitée si l'on utilise la phase liquide de l'azote liquide ($-196\text{ }^{\circ}\text{C}$).

La cryoconservation est actuellement réalisée dans de rares centres à l'aide de la technique de Capella et Kaufman (1965) ou de protocoles issus de celle-ci (Mueller, 1964; Sperling, 1974; 1981c et 1981d). Celle-ci consiste à conserver la cornée dans une solution contenant un cryoprotecteur, le diméthyl sulfoxyde (DMSO), dans une cuve d'azote liquide ($-196\text{ }^{\circ}\text{C}$). La congélation commence par la cryoprotection qui est réalisée par des bains de concentration croissante en diméthyl sulfoxyde (2, 4, 6 puis 7,5 %) et sucrose (2,5, 5, 7,5, puis 10 %) à $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$. La cornée immergée dans un tube contenant la dernière solution cryoprotectrice subit un programme de descente en température progressif ($2\text{ }^{\circ}\text{C}$ par minute jusqu'à $-14\text{ }^{\circ}\text{C}$, suivi d'un transfert de chaleur entraînant une remontée en température à $-9\text{ }^{\circ}\text{C}$, puis $3\text{ }^{\circ}\text{C}$ par minute jusqu'à $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$). Elle est ensuite transférée dans une cuve d'azote liquide. La décongélation est réalisée à l'aide d'un bain-marie et suivie d'une dilution du cryoprotecteur. Des modifications ont été proposées par la suite qui intéressent essentiellement la solution cryoprotectrice utilisée : polyvinyl pyrrolidone, sérum de veau fœtal à 50 %, solution CPTES qui contient des concentrations de potassium, de sodium et de chlore identiques aux niveaux intracellulaires normaux de ces ions et un tampon ionique imperméable (N-triméthyl-2-amino-étane-sulfonate) (Johnstone, 1992; Maden, 1982; Taylor, 1986).

Les conséquences de la cryoconservation sur l'endothélium cornéen sont assez sévères : perte cellulaire, cellules multinucléées, clivage entre endothélium et membrane de Descemet, dilatation des espaces intercellulaires, perte de la fonction de barrière endothéliale, polymorphisme et pléomorphisme sévères, cytolysse (Delbosc et Neubauer, 1984; Ehlers, 1983b; Fong et Taylor, 1986; Madden, 1982; Van Horn, 1970 et 1974).

Les résultats cliniques sont moins bons que ceux des autres méthodes mais la durée de conservation est théoriquement illimitée (Matthieu, 1970). La plu-

part des densités endothéliales postopératoires sont inférieures ou égales à $1000\text{ cellules/mm}^2$: 817 cellules/mm^2 dans la série de Neubauer (1984) ($n = 16$), $1028\text{ cellules/mm}^2$ dans la série d'Ehlers (1982) ($n = 12$) et 678 cellules/mm^2 dans la série de Schultz (1985) ($n = 5$). Erdmann (1993) a rapporté les résultats à 13 ans de la greffe dans une série incluant 17 patients qui correspond à la série d'Ehlers de 1982 élargie. Le taux de survie du greffon est de 58 %, la densité endothéliale moyenne est de 988 cellules/mm^2 et l'acuité visuelle est de 4/10 ou plus. Des cellules multinucléées sont toujours présentes 13 ans après la kératoplastie.

Une voie de recherche est celle de la vitrification qui permettrait, en augmentant la viscosité, d'inhiber la production de cristaux sources des lésions cellulaires. À l'état vitreux, les molécules demeurent organisées, comme un liquide (Fahy, 1984). Néanmoins, la vitrification nécessite l'utilisation de très fortes concentrations de cryoprotecteurs qui sont eux-mêmes toxiques pour la cellule (Armitage, 1990; Fahy, 1984; Madden, 1989; Piquot, 1991; Rich, 1991 et 1992; Taylor, 1989) ou bien des vitesses de congélation excessivement élevée irréalisables en pratique (descente à $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ instantanée). La vitrification demeure actuellement un concept scientifique et non une méthode de conservation utilisable en pratique clinique.

La cryoconservation permet également de conserver l'architecture du tissu cornéen (lamelles de collagène) sans conservation de la viabilité cellulaire. Cette cryoconservation permet d'avoir à disposition en permanence des greffons cornéens destinés à des greffes architectonique utilisables éventuellement en urgence. Elle remplace la silico-déssiccation utilisée auparavant dans la même indication. Comme on ne cherche pas à conserver les cellules de la cornée vivantes, aucun cryoprotecteur n'est utilisé et le greffon est placé directement à basse température dans un tube à congélation sans programme de descente en température progressif. La température de conservation peut être -40 ou $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ pour une durée d'un an et $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ (phase liquide de l'azote liquide) pour une durée illimitée dans le temps. Avant utilisation, le greffon est incubé à température ambiante dans un flacon de milieu de déturgescence qui permet d'avoir un tissu suturable lors de l'intervention.



Les cornées sont conservées au congélateur à -40°C ou -80°C .



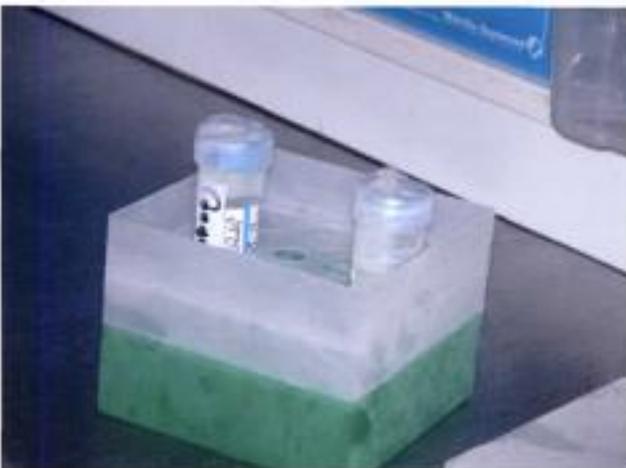
La cornée est conservée dans le tube à congélation sans solution cryoprotectrice car on ne cherche pas à conserver la viabilité cellulaire, mais seulement l'architecture tissulaire.



Une zone du congélateur est réservée aux tissus validés utilisables pour un usage thérapeutique.



Avant cession, le greffon doit être réchauffé au bain-marie puis placé dans un milieu de déturgescence habituel.



Les tubes de congélation contenant les cornées sont rangés dans des boîtes à congélation.



Greffon en cours de décongélation.

3.2.8. Contrôle de qualité du greffon destiné à la kératoplastie transfixiante

La transparence du tissu cornéen est vérifiée à la lampe à fente avant la conservation en cas de prélèvement par énucléation. Cela n'est malheureusement pas possible en cas de prélèvement par excision in situ. Le greffon doit donc être examiné macroscopiquement avec la plus grande attention à toutes les étapes de la conservation pour rechercher une éventuelle taie cornéenne dont la visualisation est rendue difficile par l'œdème cornéen.

Le contrôle de qualité endothélial doit être réalisé obligatoirement à la fin de la période de conservation. Si l'on utilise une conservation en organo-culture, ce contrôle sera réalisé juste avant la phase de déturgescence. Des contrôles supplémentaires peuvent être réalisés avant conservation ou en cours de conservation. Néanmoins leurs résultats n'influencent pas le résultat de la greffe. Seuls les résultats du contrôle fait en fin de conservation sont corrélés à l'évolution postopératoire de la greffe (Borderie, 1998e).

Le contrôle de qualité endothélial est réalisé sur la cornée disséquée à l'aide d'une coloration vitale par le bleu trypan 0,3 % pendant une minute suivie d'une dilatation des espaces intercellulaires par un bain dans du sérum physiologique pendant deux à quatre minutes (Sperling, 1986). Il est utile d'utiliser des flacons bleu trypan stérile à usage unique pour éviter la transmission de germes par le biais du flacon de bleu trypan. La cornée est examinée au microscope optique dans une boîte de Petri stérile. Le bleu trypan colore en bleu le noyau des cellules mortes. La densité cellulaire endothéliale est calculée à l'aide d'une grille calibrée placée dans un des objectifs du microscope ou d'un appareil d'analyse d'image. D'autres techniques peuvent être utilisées pour le contrôle endothélial : microscopie spéculaire, dilatation des espaces intercellulaires par une solution de sucrose 1,8 % (Brightbill, 1993). Lorsque l'on utilise un comptage manuel à l'aide d'une grille calibrée intégrée au microscope optique ou au microscope spéculaire, la précision de la densité calculée par un technicien chevronné à partir d'un échantillon de 100 cellules ou plus est de $\pm 10\%$ (Hirst, 1989). L'utilisation d'un système d'analyse d'image améliore cette précision à $\pm 1\%$ (Doughty, 1993).

Les critères de qualité utilisés pour accepter une cornée pour la greffe sont ceux décrits par Pels (1993) :

- densité > 2000 cellules/mm² ;
- mosaïque cellulaire continue ;
- absence de cellules mortes après conservation ;
- perte cellulaire au cours de la conservation < 20 %, polymorphisme modéré ;
- il faut y ajouter l'absence de gouttes groupées ou nombreuses et un coefficient de variation de la surface cellulaire endothéliale normal ou modérément augmenté.

La densité endothéliale (Musch, 1993) et le coefficient de variation de la surface cellulaire endothéliale en fin de conservation ont une influence sur l'évolution de la greffe. Plus la densité du greffon est basse, plus le coefficient de variation est élevé et plus la densité endothéliale postopératoire mesurée lors de la deuxième année postopératoire sera basse, ce qui pourrait diminuer la survie du greffon à long terme (Borderie, 1998e). Il faut noter que le coefficient de variation de la surface cellulaire endothéliale correspond à une évaluation quantitative du polymorphisme cellulaire endothélial. Il est calculé en divisant l'écart type de la surface cellulaire par la moyenne de la surface cellulaire. Plus ce rapport est élevé, et plus la variabilité de la surface cellulaire est grande. Dans notre expérience, un coefficient de variation supérieur à 26 % correspond à un polymorphisme sévère et doit faire refuser le greffon pour une kératoplastie transfixiante. Néanmoins la valeur seuil à utiliser doit être déterminée par chaque banque en fonction du matériel utilisé et du système de visualisation de la mosaïque cellulaire (Matsuda, 1986).

La présence de gouttes groupées diminue la survie du greffon et augmente le risque d'avoir une cornée guttata évolutive sur le greffon dans les années qui suivent la greffe (Borderie, 2001). Les gouttes apparaissent lors du contrôle de qualité endothélial au microscope optique comme des images arrondies et plus brillantes que les cellules endothéliales, dans le plan de la mosaïque cellulaire endothéliale. En microscopie spéculaire, elles apparaissent comme des éléments noirs sans cellule endothéliale visible à leur niveau. Le diagnostic de cornée guttata est plus facile en microscopie spéculaire car les gouttes apparaissent en noir alors que les cellules endothéliales sont claires et parce qu'aucune cellule endothéliale n'est visible dans l'aire des gouttes (la microscopie spéculaire donnant une image en coupe dans le plan de l'endothélium). Inversement, en microscopie optique l'image d'une goutte et celle d'une cellule endothéliale la recouvrant peuvent se superposer. Les gouttes doivent être différenciées des cellules mortes expulsées de la mosaïque cellulaire endothéliale en imprimant un léger mouvement à la boîte de Petri qui permet de mobiliser la cellule morte par rapport à la mosaïque endothéliale alors qu'une goutte reste fixe par rapport à cette mosaïque, si l'on utilise la microscopie optique. En microscopie spéculaire, ces cellules mortes ont été décrites comme des éléments brillants, de grande taille et d'aspect granulaire



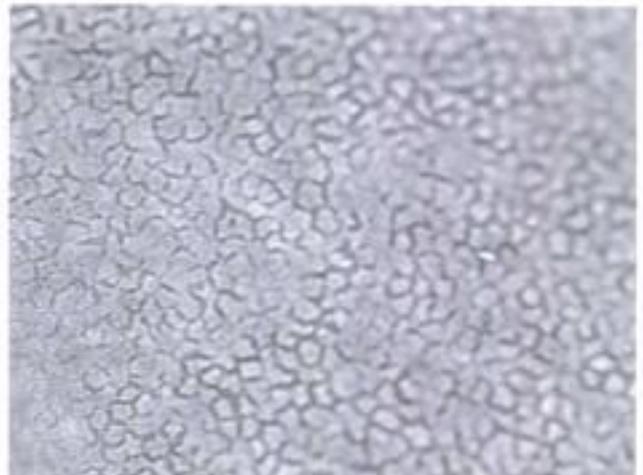
Pour le contrôle endothélial, la viabilité cellulaire est étudiée après coloration des cellules mortes par le bleu trypan.



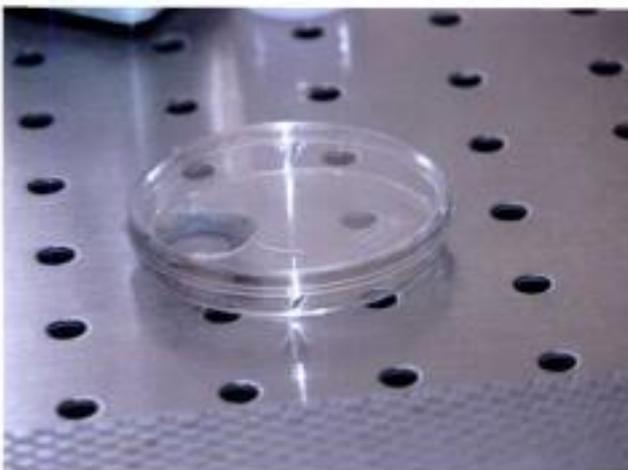
L'endothélium cornéen est examiné au microscope optique à l'aide d'un système d'analyse d'image.



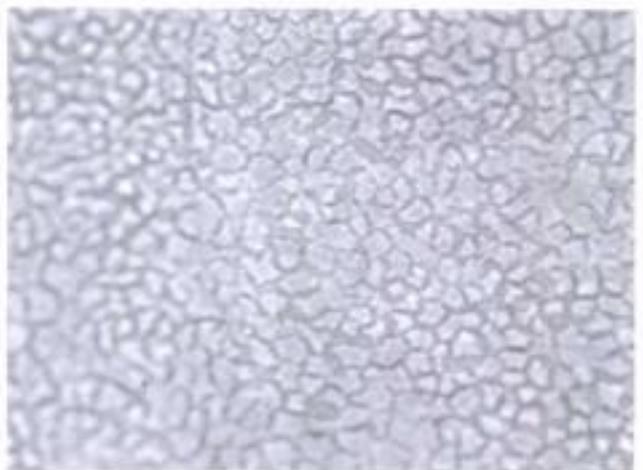
Le bleu trypan est rincé puis la dilatation des espaces intercellulaires est provoquée par un bain dans du sérum physiologique.



La dilatation des espaces intercellulaires par du sérum physiologique permet de visualiser les contours des cellules et ainsi de calculer la densité cellulaire endothéliale. Ici, 2 700 cellules/mm², coefficient de variation de la surface cellulaire 15 % (endothélium conforme aux critères de qualité exigés pour la kératoplastie transfixiante).



Le greffon est placé dans une boîte de Petri stérile fermée hermétiquement.



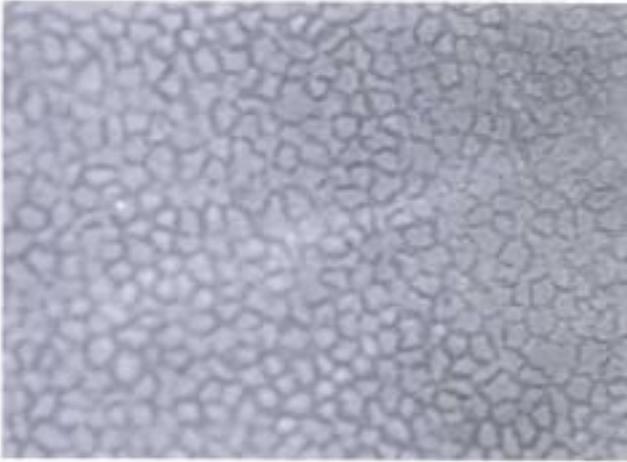
Densité endothéliale : 2 400 cellules/mm², coefficient de variation de la surface cellulaire 19 % (endothélium conforme aux critères de qualité exigés pour la kératoplastie transfixiante).

Les greffes en ophtalmologie

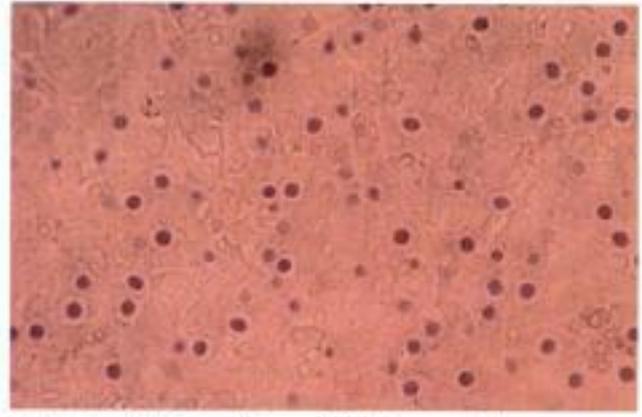
(Sherrard, 1978). Il est plus difficile de distinguer les gouttes de bulles sous-endothéliales qui ont été décrites dans plusieurs greffons cornéens humains (Nartey, 1998). Les gouttes sont souvent associées à une plus faible densité cellulaire endothéliale et à un polymorphisme cellulaire plus marqué. La présence de gouttes isolées est une constatation fréquente (1 greffon sur 4 dans notre expérience) qui ne doit pas faire récuser le greffon pour la kératoplastie transfixiante. Une large étude a montré que la fréquence des gouttes visibles lors d'un examen attentif à la lampe à fente est de 70 % dans la population générale après l'âge de 40 ans, sans influence du sexe sur la prévalence de la cornea guttata (Lorenzetti, 1967). Seul le caractère groupé des gouttes doit faire refuser la cornée pour la greffe, de même que la présence de gouttes confluentes (avec peu ou pas de

cellules endothéliales visibles à ce niveau) ou nombreuses qui correspond alors très probablement à une dystrophie de Fuchs chez le donneur.

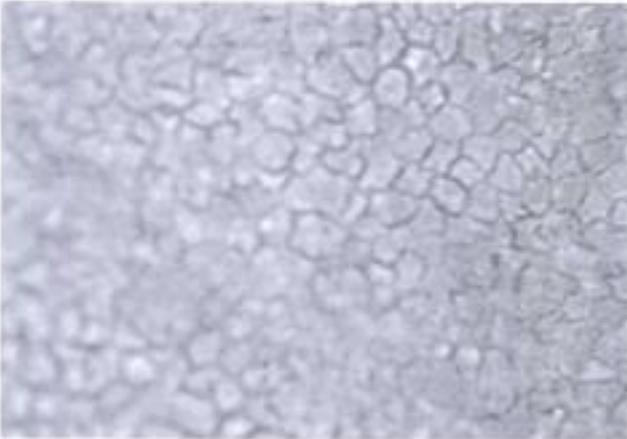
Des anomalies stromales peuvent être observées en microscopie optique dans le stroma au cours du contrôle endothélial (Borderie Acta, 1998). Elles sont plus fréquentes et plus nombreuses dans le stroma postérieur que dans le stroma antérieur. Il s'agit de structures brillantes ayant la forme de cellules. Elles correspondent, en microscopie électronique à transmission, à des kératocytes lésés (œdème cellulaire, vacuoles claires ou sombres, rupture des membranes cellulaires, cytolysse). Ces anomalies du stroma n'ont pas d'influence sur l'évolution de la greffe à court terme et nous ne connaissons pas leur influence à long terme. Elles ne sont donc pas un critère de rejet du greffon.



Densité endothéliale : 2 100 cellules/mm², coefficient de variation de la surface cellulaire 22 % (endothélium conforme aux critères de qualité exigés pour la kératoplastie transfixiante).



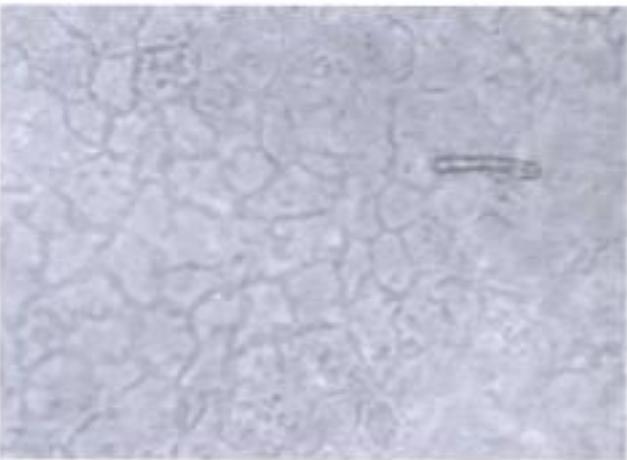
Coloration vitale des cellules endothéliales par le bleu trypan. Le noyau des cellules mortes est coloré en bleu.



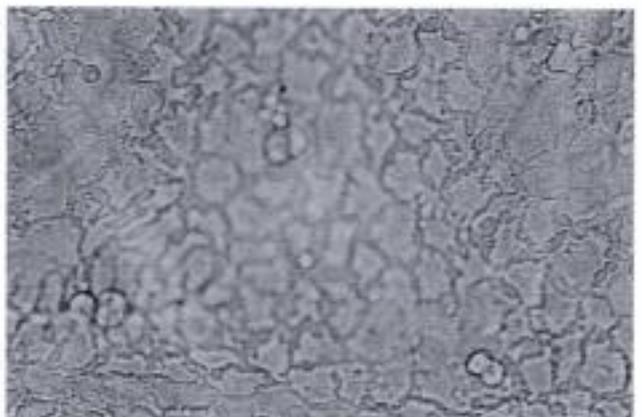
Densité endothéliale : 1 400 cellules/mm², coefficient de variation de la surface cellulaire 20 % (cornée non utilisable pour une kératoplastie transfixiante).



Cornée guttata dense contre-indiquant l'utilisation du greffon pour une kératoplastie transfixiante.



Densité endothéliale : 700 cellules/mm², coefficient de variation de la surface cellulaire 26 % (cornée non utilisable pour une kératoplastie transfixiante).



Cornée guttata associée à une densité endothéliale inférieure à 1 000 cellules/mm² (cornée non utilisable pour une kératoplastie transfixiante).

3.2.9. Contrôle de stérilité du greffon

Plusieurs méthodes sont utilisées : écouvillonnage du limbe après décontamination et avant dissection de la cornée, culture du milieu d'organo-culture (trypticase soja, thioglycolate, cœur-cerveille, Sabouraud, milieux d'hémoculture Bact Alert[®]), observation quotidienne du milieu d'organo-culture. Le système utilisant des milieux d'hémoculture (Bactec Plus aérobie et Bactec Lytic 10 anaérobie) placés dans un incubateur spécial (Bactec 9240) permet d'isoler les germes avant la modification de couleur du milieu (Gain, 2001). À +4 °C, la durée de conservation est trop brève pour qu'un contrôle de stérilité du milieu puisse être réalisé dans des conditions satisfaisantes.

3.2.10. Cession du greffon

Seule une banque de tissus autorisée peut délivrer un greffon cornéen. Dans tous les cas, un greffon ne peut être délivré pour la greffe que s'il n'y a pas de contre-

indication générale chez le donneur, avec des résultats sérologiques négatifs pour le VIH, les hépatites B et C, l'HTLV et la syphilis et une négativité des contrôles de stérilité réalisés. En cas de kératoplastie lamellaire, aucun contrôle endothélial n'est réalisé. En cas de kératoplastie transfixiante, l'endothélium cornéen doit satisfaire aux critères de qualité exigés. Le greffon est conditionné pour le transport dans un flacon hermétiquement clos contenant le liquide de transport. Ce flacon doit être conditionné dans un emballage externe. Les deux emballages sont régulièrement étiquetés. Le greffon est accompagné de sa fiche suiveuse et de la fiche de transport. Le transport est réalisé selon une procédure écrite. Au bloc opératoire, le chirurgien doit prendre connaissance de la fiche suiveuse sur laquelle figurent les résultats des contrôles qualité et de stérilité du greffon, les antécédents du donneur et les résultats des sérologies. Sa responsabilité reste pleine et entière. Un exemplaire signé de la fiche suiveuse est retourné à la banque de tissus afin d'assurer la traçabilité.

Le greffon cornéen

- Le prélèvement de cornée à la morgue est réalisé en France par excision in situ après sélection du donneur selon les critères recommandés par les associations de banques de cornées.
- Parmi les contre-indications au prélèvement, les pathologies les plus dangereuses pour le receveur sont la rage, les maladies à prions, l'hépatite B et l'infection herpétique. L'âge du donneur n'est pas une contre-indication au prélèvement.
- La conservation du greffon est assurée par des banques de tissus autorisées qui prennent également en charge le contrôle de qualité et de stérilité du greffon, la gestion des contrôles sérologiques du donneur, la traçabilité entre donneur et receveur et la distribution des greffons aux équipes de greffes.
- La conservation de la cornée peut être faite à court terme (1 semaine) en milieu liquide à +4 °C ou bien à moyen terme (2 à 5 semaines) en organo-culture à +31 °C. Les lésions de conservation induites par ces deux techniques sont modérées et les résultats cliniques des kératoplasties transfixiantes sont bons.
- La stérilité du greffon est obtenue dans plus de 95 % des cas en organo-culture alors qu'elle ne l'est que dans moins de 85 % des cas à +4 °C.
- Un contrôle de qualité de l'endothélium du greffon est réalisé en fin de conservation qui permet d'évaluer la densité cellulaire, la viabilité et la morphologie cellulaire. Une cornea guttata est également recherchée lors de ce contrôle.
- Ces techniques de conservation doivent permettre de minimiser les risques d'échec primaire de la greffe par insuffisance de qualité du greffon et de transmission de maladie du donneur au receveur.
- L'ophtalmologiste est partie prenante des structures de conservation en tant que préleveur et greffeur. Les équipes de prélèvement et de greffes sont en effet membres de droit du comité médico-technique de la banque de tissus à laquelle elles sont affiliées.



Greffon dans son milieu de conservation et milieux pour le contrôle microbiologique.



Un échantillon du milieu de conservation est prélevé de manière stérile à l'aide d'une seringue.



Le contrôle de stérilité est effectué en même temps que le contrôle de qualité de l'endothélium.



Cet échantillon est injecté dans les tubes de milieux de contrôle microbiologique.



Le greffon est placé sur une compresse.



Greffon conditionné pour la cession.

3.3. Appariement tissulaire entre donneur et receveur

3.3.1. Expression antigénique HLA et CD1a de la cornée humaine

L'expression des antigènes HLA au sein de la cornée humaine fraîche a fait l'objet de plusieurs études, dont les résultats ne sont pas toujours concordants. Ces études diffèrent par la technique (immunofluorescence directe ou indirecte, immuno-peroxydase), le matériel (coupes en congélation, étalement d'endothélium ou d'épithélium) et les anticorps monoclonaux utilisés. Certaines notions retrouvées dans ces études s'imposent car unanimement constatées, d'autres, inconstamment retrouvées, demandent d'autres investigations pour être reconnues. Les principaux résultats de la littérature sont les suivants : les cellules épithéliales cornéennes n'expriment pas les antigènes HLA DR ni le CD1a (marqueur des cellules de Langerhans). Huit études retrouvent la présence de cellules « dendritiques » exprimant les antigènes HLA DR au sein de l'épithélium cornéen périphérique ; trois des cellules dendritiques exprimant le CD1a. Les kératocytes du stroma cornéen n'expriment pas les antigènes HLA DR, ni le CD1a. Cinq études retrouvent la présence de cellules « dendritiques » exprimant les antigènes HLA DR au sein du stroma cornéen et une étude montre de rares cellules dendritiques exprimant le CD1a. Les cellules endothéliales cornéennes n'expriment pas les antigènes HLA DR. Les cellules épithéliales et les kératocytes expriment les antigènes HLA classe I. Les résultats concernant les cellules endothéliales sont

moins concordants. Seules deux études sur sept trouvent une expression des antigènes HLA classe I au niveau des cellules endothéliales.

Ainsi qu'à l'état frais, les cornées humaines conservées en organo-culture expriment les antigènes HLA-DR de façon constitutionnelle (Borderie, 1995c ; Delbosc, 1990). Cette expression HLA-DR est due, pour une faible part, à la présence de cellules de Langerhans au niveau de l'épithélium cornéen essentiellement périphérique mais aussi parfois central, et à la présence de cellules CD1a-, qui ne sont donc pas a priori des cellules de Langerhans, au niveau de l'épithélium et du stroma. La nature des cellules HLA-DR+ du stroma ne peut être affirmée. Deux hypothèses peuvent être retenues. Il pourrait s'agir de kératocytes, ou bien de cellules de la lignée macrophagique-histiocytaire dans une forme tissulaire quiescente. La présence de telles cellules a été démontrée dans le stroma et l'épithélium de cornées humaines fœtales (Diaz-Araya, 1995).

La conservation en organo-culture diminue le nombre de cellules de Langerhans présentes au sein de l'épithélium ainsi que l'expression HLA-DR épithéliale. Cet effet immuno-modulateur semble essentiellement dû à la desquamation épithéliale.

Certaines cellules du stroma du greffon ont peut-être un rôle dans le rejet d'allogreffe de cornée lors de la sensibilisation des lymphocytes du receveur aux antigènes HLA du donneur. Cela permettrait d'expliquer l'absence d'influence de la désépithélialisation préopératoire du greffon sur la survenue du rejet.

Expression HLA classe I et II, et CD1a de la cornée humaine

Étude	Épithélium		Stroma		Endothélium		CD1a
	Classe I	Classe II	Classe I	Classe II	Classe I	Classe II	
Borderie, 1995c	+	- (sauf quelques cellules)	+	- (sauf quelques cellules)	+	-	+ (dans l'épithélium périphérique)
Catry, 1991		- (sauf cellules dendritiques)		- (sauf cellules dendritiques)			+ (dans l'épithélium périphérique)
Chandler, 1985		- (sauf quelques cellules)					+ (quelques cellules)
Delbosc, 1990b	+	- (sauf cellules dendritiques)	+	- (sauf cellules dendritiques)			
Fujikawa, 1982	+	- (sauf cellules dendritiques)	-	-	-	-	
Mayer, 1983	+	-	+	- (sauf quelques cellules)	-	-	
Pels, 1984	+	- (sauf cellules dendritiques)	+	- (sauf cellules dendritiques)	-	-	
Pepose, 1985	+	- (sauf cellules dendritiques)	+	-	-	-	-
Seto, 1987		-					
Treseler, 1984	+	- (sauf cellules dendritiques)	+	- (sauf quelques cellules)	+	-	
Vantrappen, 1985	+	- (sauf cellules dendritiques)					+ (dans l'épithélium et le stroma)
Whitsett, 1984	+	- (sauf cellules dendritiques)	+	-	-	-	

3.3.2. Principe de l'appariement HLA entre donneur et receveur

Le but de l'appariement tissulaire est de greffer une cornée exprimant les mêmes antigènes que ceux du receveur. Idéalement, un appariement parfait prenant en compte tous les antigènes majeurs et mineurs d'histocompatibilité devrait réaliser les conditions d'une autogreffe ou d'une greffe entre jumeaux homozygotes. Ainsi, aucun rejet ne devrait être possible. Il s'agit d'un mécanisme passif (absence de réaction immunitaire) et non actif comme l'est l'induction d'un état de tolérance (réaction négative du système immunitaire). Le typage HLA du donneur et du receveur est fait couramment en sérologie en utilisant une technique de microlymphocytotoxicité dépendante du complément après séparation des lymphocytes par centrifugation du sang total en gradient de densité. Cette technique ancienne est actuellement remplacée par le typage HLA en biologie moléculaire.

3.3.3. Principales études cliniques (appariement HLA en sérologie)

La littérature compte un grand nombre d'études sur l'effet de l'appariement HLA entre donneur et receveur après typage sérologique. Les antigènes étudiés sont au nombre de six pour le donneur et pour le receveur lorsque le typage HLA intéresse les antigènes HLA-A, B et DR, et de quatre lorsque la seule classe I est étudiée (HLA-A et B). Cela permet de déterminer un nombre d'identités variant de 0 à 6 ou de 0 à 4. Il faut noter que le nombre d'antigènes reconnus en sérologie pour chaque locus A, B ou DR a augmenté avec le temps. Ainsi, une identité définie sur un typage HLA sérologique réalisé en 1982 pourrait éventuellement correspondre à une incompatibilité 20 ans plus tard. Toutes les études se sont intéressées aux antigènes de classe I (HLA-A et B), alors qu'environ une étude sur deux analyse la classe II (HLA-DR). Avant de s'intéresser aux résultats de ces études, il faut en analyser la méthodologie. En effet, de nombreux biais sont présents qui rendent les résultats d'un grand nombre d'études difficilement interprétables, et la comparaison des études entre elles aléatoire. Ainsi, certaines études comportent un effectif faible inférieur à 50 patients, une analyse statistique peu puissante étudiant la fréquence du rejet sans le facteur temps (test du χ^2 , test de Fisher), ou un groupe témoin rétrospectif difficilement comparable au groupe HLA compatible. Certaines études ne font pas mention du pourcentage de receveurs à haut risque de rejet. Enfin une seule étude, celle du CCTS, introduit

une randomisation entre les patients, comporte une étude de puissance préalable (le nombre de patients à inclure a été calculé a priori pour mettre en évidence une différence de survie de 15 % entre greffes compatibles et non compatibles avec une probabilité de 80 %) et a été réalisée en double insu sur un grand nombre de centres. Pour ces raisons, les résultats publiés par le CCTS doivent être regardés avec beaucoup d'attention. Si un grand nombre d'études mettent en évidence une amélioration de la survie sans rejet ou de la survie globale du greffon chez les receveurs à haut risque de rejet ou dans une population comprenant à la fois des receveurs à haut risque et des receveurs standard, l'étude du CCTS ne retrouve aucune influence de l'appariement HLA-A, B et DR chez les receveurs à haut risque. Les conclusions de l'étude du CCTS sont encore plus troublantes. Dans cette étude, l'appariement dans la classe I n'a aucun effet sur le rejet, et le risque de rejet augmente en cas d'appariement HLA-DR avec un risque relatif d'épisodes de rejet de 0,6 par mismatch HLA-DR entre donneur et receveur. Pour un nombre donné d'identités HLA-A et B, le risque de rejet augmente avec le nombre d'identités HLA-DR. Une explication pour cet effet paradoxal serait que l'identité des molécules de classe II pourrait faciliter la présentation des antigènes de classe I aux lymphocytes T du receveur par les cellules présentatrices du donneur (alloreconnaissance directe). De plus, il a été démontré que des erreurs de typages HLA peuvent abroger l'effet bénéfique de l'appariement HLA-DR (Volker-Dieben, 2000). Néanmoins, la méthodologie et la puissance statistique de l'étude du CCTS ne sont pas aussi bonnes que celles de l'étude du CCTS. Un des résultats étonnants de l'étude du CCTS est le faible taux d'échec (33 % à 3 ans) et de rejet irréversible dans une population composée à 100 % par des receveurs à haut risque de rejet, et ce quelle que soit la compatibilité HLA. L'explication paraît résider dans l'utilisation intensive et prolongée des collyres corticoïdes et le suivi rapproché des patients associé à une information détaillée et une excellente compliance thérapeutique. Tout ceci amène à traiter le rejet à un stade où il n'a pas encore détruit irréversiblement l'endothélium cornéen et ainsi améliore la survie du greffon. Il faut noter que la technique de typage HLA de l'étude du CCTS n'était peut-être pas parfaite comme en témoigne le taux anormalement élevé d'homozygotes. En conclusion de ces travaux, il paraît raisonnable de considérer que l'appariement HLA-A, B et DR après typage sérologique ne permet pas significativement de prévenir le rejet. Comme ce typage est par ailleurs coûteux, il ne semble pas utile même chez les receveurs à haut risque de rejet.

Appariement sérologique HLA entre donneur et receveur

Auteur	Effectif	Randomisation	Analyse statistique	Type HLA	Nombre d'identités	Haut Risque (%)	Groupe témoin
Batchelor, 1976	100	Non	Survie	A, B	0-2	100	Non
Beekhuis, 1991	107	Non	Survie	A, B	3-4	100	Non
Beekhuis, 2003	303	Non	Survie	A, B		100	Non
Boisjoly, 1986	185	Non	Survie	A, B, DR	0-6	16	199 (rétrospectif)
Boisjoly, 1990	438	Non	Survie	A, B, DR	0-6	26	Non
Boisjoly, 1993	439	Non	Survie	A, B	0-4	22	Non
CCTS, 1992	417	Oui	Survie	A, B, DR	0-6	100	Non
Foulks, 1982	47	Non	Survie	A, B (ABO compatible)	1-4	100	71 (rétrospectif)
Hill, 1997	115	Non		A, B, DR			Non
Hoffmann, 1989	137	Non	χ^2 -2	B, DR			Non
Hoffmann, 1994	248	Non	χ^2 -2	A, B, DR	0-6		Non
Kok van Alphen, 1987	497	Non	Survie	A, B			721 (prospectif)
Mayer, 1987	450	Non	Survie	A, B	0-3	34	Non
Ozdemir, 1986	20	Non	Test exact de Fisher	A, B	2-3	100	20 (prospectif) 0 à 1 identité
Reinhard, 2003	398	Non	Survie	A, B, DR	0-6	0	Non
Sanfilippo, 1986	97	Non	Survie	A, B (ABO compatible)	0-4	100	Non
Vail, 1994 (CTFS)	542	Non	Survie	A, B, DR	0-6		1769 (prospectif)
Vail, 1997 (CTFS)	1645 à 12 mois	Non	Survie	A, B, DR	0-6		
Volker-Dieben, 1982	159	Non	Survie	A, B	2-4	86	380 (prospectif)
Volker-Dieben, 2003	1681	Non	Survie	A, B, DR	0-6		421 (prospectif)

3.3.4. Appariement HLA en biologie moléculaire

L'étude de Baggesen (1996) rapporte 74 cas de kératoplasties transfixiantes chez des receveurs à haut risque de rejet (cornées néovascularisées ou antécédent de greffe de cornée) appariées avec deux identités HLA-DRB1 en PCR-RFLP. La survie du greffon à trois ans est de 72 %. Elle est significativement meilleure que celle d'un groupe témoin historique (45 %). Après typage en PCR-oligosondes des donneurs et des receveurs, il s'avère que, parmi les 74 cas appariés en RFLP, 38 ont deux identités en PCR-oligosondes, et 36 n'ont qu'une identité voire aucune en PCR-oligosondes. Donc 50 % des cas considérés comme pleinement compatibles pour le locus DRB1 en RFLP sont en fait faiblement ou non compatibles en PCR-oligosondes. La survie du greffon à trois ans est meilleure (79 %) dans le premier groupe que dans le deuxième (59 %).

Munkhbat (1996) rapporte 60 cas de greffes appariées en PCR-RFLP pour la classe II. L'étude de la fréquence du rejet (λ -2) en fonction du nombre de mismatch ne montre pas d'influence de la compatibilité DRB1 et DQB1. Les rejets sont moins fréquents chez les receveurs à haut risque ayant deux identités DPB1 que chez ceux ayant zéro ou une identité. En revanche, la compatibilité DPB1 n'a pas d'influence sur la fréquence du rejet chez les receveurs standard. Dans la même série de patient, avec un effectif élargi à 80, Munkhbat (1999) étudie l'appariement A et B en PCR-SSOP. La survie sans rejet est significativement meilleure en cas d'appariement (1 à 4 identités) qu'en l'absence d'appariement (0 identité). Chez les receveurs à haut risque de rejet, la survie sans rejet est significativement meilleure en cas d'appariement HLA-A mais pas en cas d'appariement HLA-B.

Le problème pratique majeur que pose l'appariement HLA en biologie moléculaire est celui de la probabilité d'apparier parfaitement un donneur avec un receveur. En effet, le polymorphisme génétique du système HLA est majeur, rendant le nombre de combinaisons possibles incompatible avec la possibilité pratique de trouver un donneur pour un receveur donné. Des coopérations internationales semblent indispensables pour pouvoir développer un programme d'appariement entre donneur et receveur fondé sur un grand nombre d'identités HLA au niveau de plusieurs loci. Une autre possibilité serait de se limiter à un ou deux loci (en dehors des pseudogènes) parmi ceux actuellement connus (A, B, C, DRB1, DRB3, DRB4, DRB5, DQA1, DQB1, DPA1, DPB1). Cela suppose que l'on ait préalablement démontré que les antigènes correspondant jouent un rôle prépondérant dans le rejet. C'est cette voie qu'a

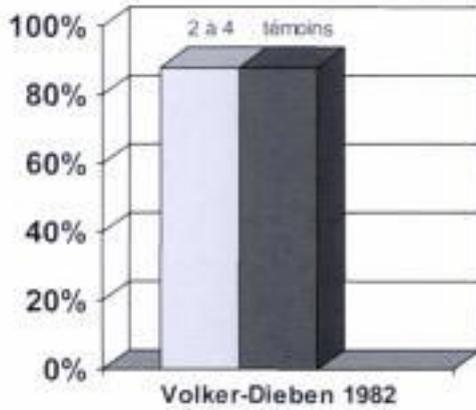
exploré Baggesen en étudiant l'appariement DRB1. Malheureusement, même avec deux identités DRB1 en PCR-oligosondes, il reste 21 % de rejets. De plus, l'étude de Munkhbat ne confirme pas les résultats.

3.3.5. Cross-match avant greffe

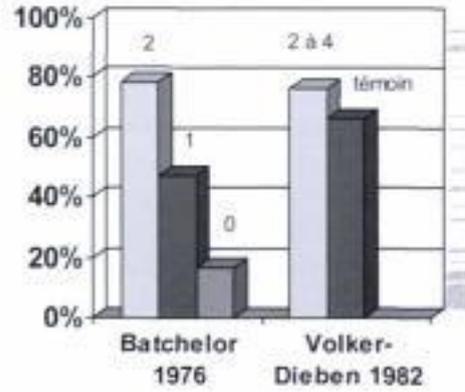
Le cross-match consiste à rechercher des anticorps antilymphocytes chez le receveur avant greffe par microlymphocytotoxicité sur un panel de lymphocytes. Le sérum du receveur est mis en présence de lymphocytes. La présence d'anticorps antilymphocytaires est révélée par adjonction de complément (lyse cellulaire). D'autres techniques utilisent la cytométrie de flux. L'immunisation anti-HLA détectée peut être due à une greffe antérieure, une transfusion sanguine ou une grossesse. Lorsque le cross-match est positif vis-à-vis de lymphocytes du panel, on teste le sérum du receveur avec des lymphocytes du donneur. Un cross-match positif est un facteur de risque de rejet en transplantation d'organes, et plus particulièrement de rejet suraigu de greffe de rein par formation de complexes immuns sources d'ischémie du greffon. Néanmoins, l'interprétation du cross-match prend en compte la nature de l'anticorps (IgG ou IgM), sa spécificité (anti-classe I, anti-classe II, non anti-HLA) et son ancienneté.

Dans une série de 142 greffes, Boisjoly (1990) a retrouvé un cross-match prégreffe positif dans 5,8 % des cas. La positivité du cross-match n'augmente pas le risque de réaction de rejet endothélial après greffe. Roy (1992) rapporte 533 cas de greffes précédées d'un cross-match par microlymphocytotoxicité. Le suivi médian est de 24 mois. La présence chez le receveur d'anticorps lymphocytotoxiques ou d'anticorps dirigés contre les lymphocytes du donneur n'influence pas le risque de rejet. En revanche, l'apparition d'anticorps lymphocytotoxiques néoformés après la greffe augmente significativement le risque d'échec de la greffe. La survie sans rejet est alors de 72 % à trois ans en présence d'anticorps néoformés, contre 86 % en l'absence d'anticorps néoformés ($p = 0,002$). Dans l'étude du CCTS chez les receveurs à haut risque de rejet, aucune influence du cross-match sur la survenue du rejet n'est retrouvée. Les résultats de Desmarchais (1998) sont les mêmes dans la population globale. Néanmoins, dans cette étude, le risque de rejet endothélial est augmenté chez les patients ayant des antécédents de greffe de cornée ou de rejet en cas de cross-match prégreffe positif. Cette étude inclut 759 greffes consécutives suivies 36 mois. Le cross-match est positif dans 8 % des cas. Plus récemment, Volker-Dieben (2000) a rapporté un effet prédictif du cross-match sur la survenue d'un rejet irréversible.

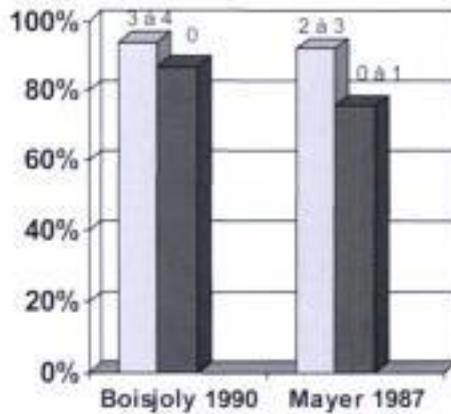
Survie du greffon à 1 an en fonction du nombre d'identités HLA-A/B



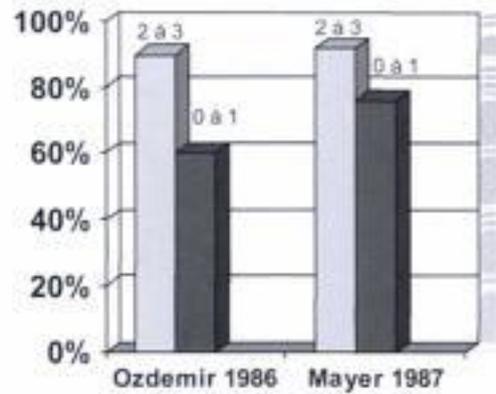
Survie du greffon à 1 an en fonction du nombre d'identités HLA-A/B (patients à haut risque)



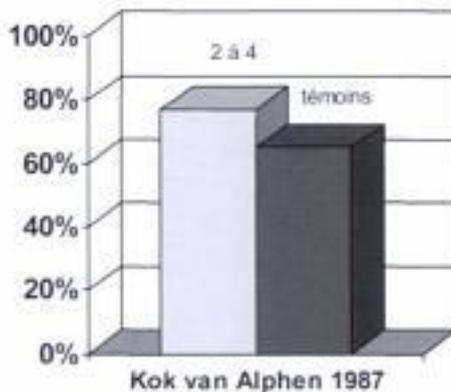
Survie du greffon à 2 ans en fonction du nombre d'identités HLA-A/B



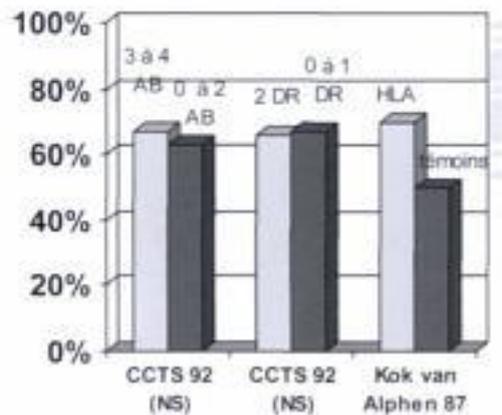
Survie du greffon à 2 ans en fonction du nombre d'identités HLA-A/B (patients à haut risque)



Survie du greffon à 3 ans en fonction du nombre d'identités HLA-A/B



Survie du greffon à 3 ans en fonction du nombre d'identités HLA-A/B/DR (patients à haut risque)



3.3.6. État actuel de la question

Un ouvrage récent relance le débat sur l'intérêt de la compatibilité HLA (Sundmacher, 2003). Il rapporte les résultats obtenus dans trois grands services européens (Rotterdam, Amsterdam, Düsseldorf). L'étude réalisée à Rotterdam inclut 303 greffes à haut risque de rejet avec un suivi médian de quatre ans. Elle montre une meilleure survie du greffon sans rejet dans le groupe des patients ayant zéro ou une incompatibilité HLA classe I que dans le groupe ayant au moins deux incompatibilités HLA classe I, si l'on utilise une technique de *split typing*. L'étude réalisée à Amsterdam inclut 849 greffes à haut risque appariées en classe I et 280 appariées en classe II. Elle montre un risque de rejet irréversible plus élevé dans le groupe ayant trois ou quatre incompatibilités HLA classe I que dans celui ayant au maximum deux incompatibilités de classe I. De même, le risque de rejet irréversible est plus important lorsqu'il existe une ou deux incompatibilités HLA classe II qu'en l'absence d'incompatibilités HLA classe II. L'étude réalisée à Düsseldorf inclut 398 greffes standard avec un suivi moyen inférieur à deux ans. La survie du greffon sans épisode de rejet est plus élevée dans le groupe ayant zéro à deux incompatibilités HLA-A, B et DR que dans celui qui présente trois à six incompatibilités HLA-A, B et DR. La critique que l'on peut faire à ces trois études est qu'elles ne présentent que des résultats en terme de survie du greffon sans rejet mais jamais en terme de survie globale du greffon. Cela peut paraître étonnant car il n'existe aucune raison pour que la diminution de la fréquence du rejet n'améliore pas la survie globale du greffon. L'équipe de Düsseldorf a étudié le temps d'attente d'un greffon pour les patients en fonction du niveau d'apparie-

ment HLA souhaité. Ce temps médian est d'un mois si l'on accepte deux incompatibilités HLA-A, B et DR, sept mois si l'on accepte une seule incompatibilité, et 17 mois si l'on n'accepte aucune incompatibilité. La stratégie d'appariement HLA entre donneur et receveur est susceptible d'évoluer dans le futur si l'on prend en compte la notion d'incompatibilités taboues. Ces incompatibilités entraînent, après greffe d'organe, un rejet avec une fréquence très élevée. D'autres incompatibilités dites permissives augmentent peu ou pas le risque de rejet. Ces notions auront probablement un intérêt réel pour les receveurs appartenant à un groupe HLA rare. Néanmoins, leur pertinence clinique en matière de greffe de cornée est actuellement inconnue.

Une étude (Roy, 2001) mérite une attention particulière. Elle reprend 1097 premières greffes réalisées au Québec avec un suivi à long terme et une étude de la compatibilité HLA-DRB1 en SSC-PCR, analysées avec un modèle de Cox. Dans cette étude, l'incompatibilité HLA-DRB1 est un facteur de risque significatif de rejet endothélial (risque relatif : 1,74) mais pas d'échec de la greffe. L'incompatibilité HLA classe I n'a pas d'effet sur le rejet ni sur l'échec de la greffe. L'incompatibilité ABO est un facteur de risque significatif de rejet endothélial (risque relatif : 1,67) mais pas d'échec de la greffe. Les anticorps antilymphocytaires formés après greffe sont associés à une augmentation du risque de rejet endothélial.

La conclusion sur l'intérêt de l'appariement HLA entre donneur et receveur ne peut donc être formulée avec certitude actuellement. Des études prospectives randomisées utilisant les techniques récentes de typage sont encore nécessaires pour pouvoir conclure définitivement.

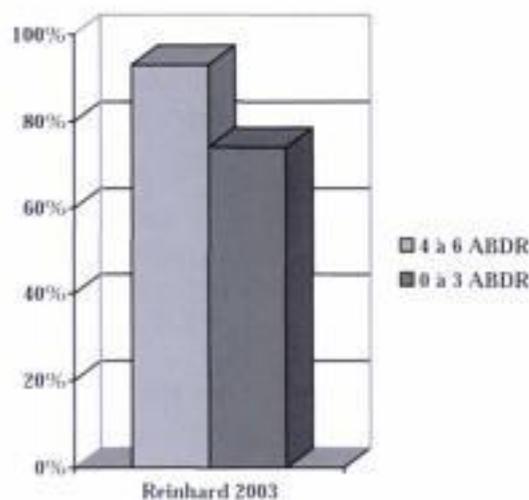
Risque relatif de rejet en fonction des incompatibilités HLA dans la population globale

Étude	Incompatibilités	Risque relatif
Boisjoly, 1986	2DR + 3-4 AB vs 0-1DR + 0-2AB	3,7
Boisjoly, 1990	2A vs 0-1A	1,7
Boisjoly, 1990	2AB vs 0-1 AB	2,2
Boisjoly, 1990	2B vs 0-1 B	1,7
Boisjoly, 1993	2AB vs 0-1 AB	2,2
Hoffmann, 1989	3BDR vs 0-2 BDR	2,6
Hoffmann, 1994	3-4BDR vs 0-2 BDR	5,3
Roy, 2001	AB	Non significatif
CTFS, 1997	par incompatibilité AB	Non significatif
CTFS, 1997	par incompatibilité DR	0,6

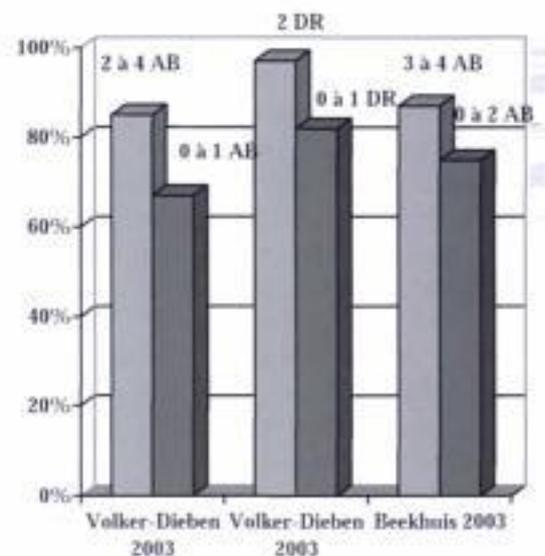
Risque relatif de rejet en fonction des incompatibilités HLA chez les receveurs à haut risque

Étude	Incompatibilités	Risque relatif
Sanfilippo, 1986	3-4AB vs 0-2 AB	11,2
CCTS, 1992	3-4 AB vs 0-1 AB 1-2 DR vs 0 DR	Non significatif Non significatif

Survie sans rejet à 2 ans du greffon en fonction du nombre d'identités HLA



Survie sans rejet à 5 ans du greffon en fonction du nombre d'identités HLA (patients à haut risque)



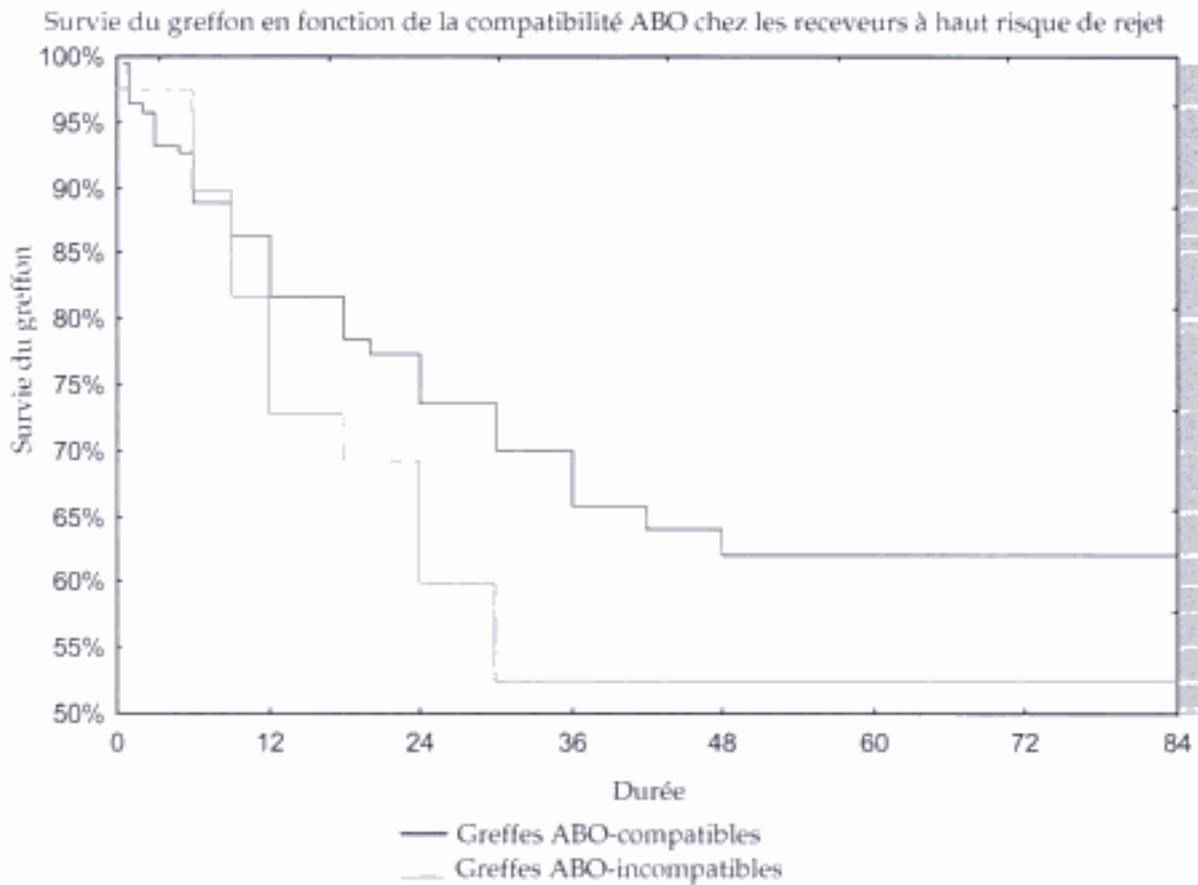
3.3.7. Appariement ABO entre donneur et receveur

L'influence de la compatibilité dans le système des groupes sanguins ABO entre donneur et receveur sur le rejet d'allogreffe de cornée n'est pas encore clairement définie. En 1958, Havener a étudié 80 kératoplasties transfixiantes. Il retrouve 14 greffons clairs parmi 17 greffes ABO compatibles et quatre greffons opaques parmi quatre greffes ABO incompatibles. Le taux d'échec global est de 45 %. L'auteur n'a pas étudié la survie du greffon et aucune analyse statistique n'est réalisée. Allansmith (1975) ne trouve pas de différence en terme de taux d'échec entre les greffes ABO compatibles et ABO incompatibles. Cependant, dans le groupe ABO incompatible, les donneurs A ou B ont un taux d'échec plus faible que les donneurs AB. Là aussi, aucune analyse de survie n'est faite et l'analyse statistique du sous-groupe à haut risque de rejet n'est pas réalisée. Batchelor (1976) a analysé 100 greffes à haut risque de rejet avec la méthode actuarielle sans retrouver d'effet de la compatibilité ABO. De même, Boisjoly (1993) ne trouve pas d'influence après avoir étudié 250 greffes. Cependant, aucune analyse spécifique des greffes à haut risque de rejet n'est faite et 69 % des receveurs ont une cornée avasculaire. L'étude de Volker-Dieben (1982) porte sur plus de 500 greffes avec des résultats surprenants. En effet, elle trouve un effet négatif de la compatibilité ABO sur le risque de rejet : les receveurs O greffés avec un donneur A ont un taux de survie du greffon meilleur que les receveurs A greffés avec un donneur A. Le taux d'échec à un an des receveurs O n'est pas plus élevé que celui des autres receveurs. Cependant, les différences constatées ne sont pas statistiquement significatives. De plus, aucune comparaison de l'ensemble des greffes ABO compatibles avec les ABO incompatibles n'est faite. Le CCTS (1992) a étudié plus de 400 greffes à haut risque et trouve un effet bénéfique de la compatibilité ABO sur le rejet. La probabilité ajustée d'échec à trois ans et la probabilité de rejet irréversible à trois ans sont plus élevées dans le groupe ABO incompatible que dans le groupe ABO compatible. Dans une étude rétrospective de 199 kératoplasties transfixiantes, nous avons retrouvé que la compatibilité ABO diminue la fréquence du rejet d'allogreffe de cornée chez les receveurs à haut risque de rejet (Borderie, 1997d). La survie du greffon et la survie sans rejet sont plus élevées dans le sous-groupe ABO compatible que dans le sous-groupe ABO incompatible. Ce résultat est en accord avec les constatations du CCTS. Une étude japonaise (Inoue, 1999) retrouve comme nous une meilleure survie sans rejet dans le groupe ABO compatible chez les patients à haut risque de rejet.

La transplantation d'organes ABO incompatibles est source de rejet hyper aigu ou chronique médié par les anticorps et d'une diminution de la survie des receveurs (Fressy, 1992 ; Sanchez, 1993 ; Toma, 1994). L'absence d'alloanticorps ABO au moment de la transplantation et après celle-ci peut protéger les greffes de foie ABO incompatibles du risque de rejet médié par les anticorps (Yandza, 1994). L'effet délétère de l'incompatibilité ABO chez les receveurs à haut risque pourrait être expliqué par l'expression des antigènes ABO par les cellules épithéliales et endothéliales de la cornée humaine ainsi que par les kératocytes dans certaines conditions pathologiques essentiellement inflammatoires (Foster et Singh Dua, 1979 ; Nelken, 1956 ; Sabnis, 1963 ; Salisbury, 1981 ; Treseler, 1986 ; Watanabe, 1994). Ainsi, les antigènes ABO du donneur pourraient être reconnus par les alloanticorps anti-ABO du receveur. Une autre hypothèse avancée par Hill (1996) serait que les groupes A, B ou AB ou les gènes qui leur sont liés pourraient avoir un effet néfaste sur la survie du greffon, notamment en cas de cornée néovascularisée avec un cross-match positif ou des mismatch HLA. Par ailleurs, il est probable que les enzymes cytoplasmiques qui participent à la synthèse des hydrates de carbone des antigènes ABO puissent être des antigènes cibles des lymphocytes T du receveur. Ces enzymes constituant des alloantigènes mineurs d'histocompatibilité. Le rôle de l'immunité T-indépendante et celui d'une activation indirecte non spécifique des lymphocytes T par le biais d'une réaction inflammatoire complètement dépendante peuvent être discutés.

Une étude mérite discussion (Roy, 1997). En effet, l'auteur ne retrouve pas d'influence de la compatibilité ABO sur la survie du greffon sans rejet endothélial aussi bien dans le groupe des cornées néovascularisées que dans celui des cornées avasculaires. Cette étude a été conduite sur un effectif important (697) et elle retrouve par ailleurs une influence bénéfique de la compatibilité HLA classe I et Lewis. Le fait troublant est que cet effet est présent dans le groupe des cornées avasculaires mais pas dans celui des receveurs à haut risque de rejet, ce qui va à l'encontre de beaucoup d'études qui ne retrouvent un effet bénéfique de l'appariement tissulaire (HLA ou ABO) que dans le groupe des receveurs à haut risque de rejet. Par ailleurs, la description de la méthodologie de cette étude n'est pas détaillée et les auteurs n'ont pas utilisé de modèle de Cox alors qu'ils ont isolé en analyse univariée deux paramètres statistiquement significatifs.

En conclusion, la compatibilité ABO semble efficace pour diminuer le risque de rejet irréversible d'allogreffe de cornée chez les receveurs à haut risque de rejet. À l'inverse, elle n'a pas d'effet chez les receveurs standard.



3.3.8. Appariement dans les systèmes mineurs d'histocompatibilité

L'antigène HY caractérise le sexe. Il est présent chez les hommes et absent chez les femmes. En fonction de la combinaison donneur-receveur, on définit des greffes HY compatibles (homme-homme, femme-homme, femme-femme) et des greffes HY incompatibles (homme-femme). L'étude d'Inoue (2000) ne trouve pas d'effet de la compatibilité HY sur la survie du greffon dans les groupes à haut risque de rejet et chez les receveurs standard. Cette étude rétrospective inclut 396 patients. D'autres études seront nécessaires pour conclure sur l'influence de l'antigène HY sur le rejet.

3.3.9. Immunomodulation des greffons cornéens humains par les ultraviolets B

L'exposition in vitro des greffons aux ultraviolets B (UVB) permet de diminuer la fréquence du rejet d'allogreffe de cornée hétérotopique chez la souris ou orthotopique chez le rat ou le lapin (Dana, 1990 ; Katami, 1991 ; Ray-Keil, 1986 ; Young, 1989). Non seulement les UVB permettent de diminuer l'immunogénicité des allogreffes de cornées hétérotopiques chez la souris, mais encore ils peuvent les rendre tolérogènes (Niederhorn, 1990). Les UVB peuvent convertir les cellules de Langerhans immunogènes en cellules présentatrices de l'antigène tolérogènes (Andreu, 1992 ; Simon, 1991). Ils permettent également d'augmenter la survie des greffes de peau hétérotopiques chez la souris (Claas, 1985). Enfin, ils permettent de prévenir le rejet d'allogreffe dans plu-

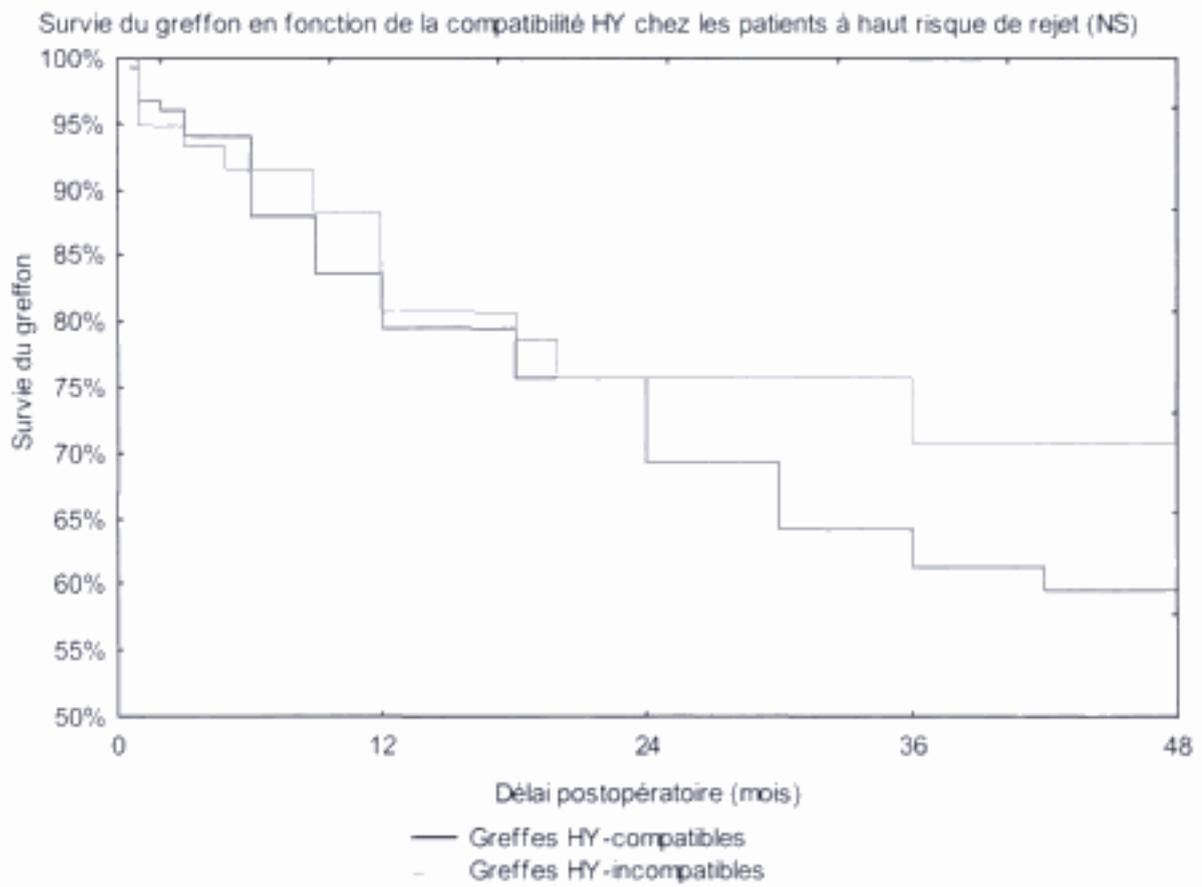
sieurs modèles de greffe de tissu ou de transplantation d'organes (Deeg, 1988). In vitro, l'exposition de greffons cornéens humains à une faible dose d'UVB (100 mJ/cm²) permet de diminuer leur expression HLA-DR et CD1a sans entraîner de lésion sévère du greffon (Borderie, 1996a). Elle pourrait être une technique utile de prévention du rejet d'allogreffe de cornée chez les receveurs à haut risque de rejet. Aucune évaluation clinique de ce procédé de prévention du rejet n'a été réalisée à ce jour.

3.3.10. Cross-match tissulaire

En incubant des coupes de tissu cornéen avec le sérum du receveur, nous avons mis en évidence des IgM dirigées contre le stroma cornéen du donneur chez les 28 % des receveurs, dans une série de 100 greffes consécutives. Le suivi moyen est de 61 mois. Cette préimmunisation du receveur est spécifique des antigènes du donneur mais ne constitue pas un facteur de risque de rejet (Borderie, 2003). La technique de cross-match tissulaire n'est pas spécifique des antigènes HLA. Elle peut révéler tout alloantigène stromal reconnu par les IgM receveur, notamment des antigènes mineurs d'histocompatibilité. La présence d'IgG dans la cornée normale rend impossible la détection des IgG du receveur dirigées contre des antigènes cornéens par cette technique ; le cross-match étant toujours positif avec un anticorps anti IgG. Une autre étude (Robert, 2000) a retrouvé des IgM et des IgG dirigées contre des antigènes cornéens bovins chez certains receveurs avant la greffe, sans influence sur la survenue ultérieure d'un rejet.

Appariement tissulaire entre donneur et receveur

- Les cellules de la cornée humaine expriment les antigènes HLA de classe I. De rares cellules cornéennes expriment les antigènes HLA de classe II. L'épithélium cornéen périphérique contient des cellules de Langerhans.
- L'appariement tissulaire entre donneur et receveur peut présenter un intérêt pour prévenir le rejet chez les receveurs à haut risque de rejet (cornée néovascularisée, antécédent de rejet).
- Les résultats des études sur l'appariement HLA entre donneur et receveur sont contradictoires. L'appariement après typage en sérologie ne semble pas permettre de prévenir le rejet d'allogreffe de cornée.
- La biologie moléculaire permet un typage HLA beaucoup plus précis que la sérologie, mais le polymorphisme génétique du système HLA est tel que la probabilité de pouvoir trouver un donneur HLA compatible pour un receveur donné est faible.
- La recherche d'anticorps antilymphocytes par microlymphocytotoxicité chez le receveur avant la greffe a également des résultats contradictoires en fonction des études. Elle est peut-être utilisée pour prévenir le rejet.
- La compatibilité ABO entre donneur et receveur semble efficace pour diminuer le risque de rejet chez les receveurs à haut risque.



4. Technique opératoire et soins postopératoires

4.1. Greffon et matériel chirurgical

Dans le respect de la législation, le greffon doit provenir d'une banque de tissus autorisée (Borderie, 1997a). Avant l'intervention, le chirurgien doit prendre connaissance de la fiche du greffon et vérifier l'identification de celui-ci sur le flacon. Il doit vérifier que les résultats des sérologies du donneur reportés sur la fiche du greffon sont conformes aux exigences légales et que la qualité du tissu (contrôle de qualité endothélial) est suffisante pour le succès de la kératoplastie (Delbosc, 1997). L'aspect macroscopique du greffon doit être contrôlé. Dans le cadre d'un programme d'assurance qualité, il convient d'envoyer le liquide de conservation et la collerette cornéosclérale du greffon au laboratoire de microbiologie pour un contrôle bactériologique et mycologique.

Le matériel chirurgical minimal nécessaire pour réaliser une kératoplastie transfixiante comporte un champ de table, un champ opératoire, des compresses, de la Bétadine® 5 %, un blépharostat de Kratz-Barraquer, du sérum physiologique, un trépan donneur, un trépan receveur, un porte-aiguille de microchirurgie de Barraquer, un fil de suture de nylon 10/0 monté sur une aiguille spatulée, une pince de Bonn, une pince de Troutman, des ciseaux de Vannas, un couteau de microchirurgie à 45°, un compas, une spatule porte-greffon de Paton, un crayon dermatographique, deux cupules, des micro-ponges, une substance viscoélastique (hyaluronate

de sodium), une aiguille de Rycroft montée sur une seringue et un flacon de BSS (*balanced salt solution*). Des marqueurs (marqueur rond de zone optique de 4 mm, marqueur à huit branches de type Thornton ou Neumann) sont utiles au repérage. La pince Colibri peut être utile pour attraper le greffon lors de la suture. Les ciseaux de Katzin sont utiles pour compléter la trépanation. Un fil de nylon 11/0 est utilisé en plus du 10/0 en cas de double surjet. Lorsque l'on met en place un anneau de Flieringa, un fil de Vicryl 8/0 est nécessaire. En cas de chirurgie de la cataracte, de vitrectomie ou de trabéculéctomie associées, le matériel supplémentaire est fonction de la technique utilisée.

4.2. Anesthésie

L'intervention peut être réalisée sous anesthésie locale péribulbaire ou bien générale. Si l'on a recours à l'anesthésie péribulbaire, il est important d'obtenir une bonne akinésie du globe oculaire et de faire une compression suffisante (20 à 30 min) afin d'avoir une hypotonie (Muraine, 1999). L'anesthésie générale avec curarisation peut être particulièrement utile chez les patients jeunes et émotifs, en cas de chirurgie de la cataracte à ciel ouvert et chez les patients ayant un kératocône (la cornée réceptrice, très fine et déformable, ne permet pas de maintenir la chambre antérieure tant que le greffon n'est pas suturé et il est important de n'avoir aucune poussée postérieure à ciel ouvert chez ces patients).



Trépan de Hanna (trépan mécanique stérilisable à lame à usage unique).



Trépan receveur.



Trépan donneur (trépanation par voie postérieure).



Un système mécanique permet d'imprimer à la lame un mouvement de rotation et de descente.



Vue supérieure du trépan donneur.



Lames jetables du trépan de Hanna.

4.3. Kératoplastie simple

L'antibioprophylaxie ainsi que la décontamination de la peau et de la surface oculaire sont réalisées comme au cours de la chirurgie de la cataracte (Bron, 1996 ; Laroche, 1996).

4.3.1. Trépanation du greffon

Le premier temps de l'intervention est la *trépanation du greffon*. Celle-ci peut être réalisée par voie endothéliale ou épithéliale, en utilisant alors une chambre antérieure artificielle. Pour obtenir un greffon de même diamètre que celui de la trépanation de la cornée réceptrice (cas le plus courant), il faut surdimensionner le greffon de 0,25 mm en cas de trépanation par voie endothéliale car la trépanation de la cornée réceptrice par voie épithéliale crée une ouverture antérieure plus grande que la trépanation du greffon par voie endothéliale (Doyle, 1996 ; Lam, 1995). La trépanation par voie épithéliale sera en revanche réalisée au même diamètre. Si l'on veut un greffon de diamètre supérieur à celui de la trépanation du receveur (essentiellement chez l'aphake et en cas de chambre antérieure étroite), on le surdimensionnera de 0,50 mm en cas de trépanation par voie postérieure et de 0,25 mm en cas de trépanation par voie antérieure. Le diamètre de trépanation est fonction du diamètre cornéen du receveur qu'il faut mesurer à l'aide d'un compas avant de trépaner le greffon et de l'étendue de la zone pathologique de la cornée réceptrice. Toutes indications confondues, le diamètre de trépanation du receveur le plus courant est de 8 mm avec un greffon trépané à 8,25 mm par voie postérieure ou 8 mm par voie antérieure. Ce diamètre correspond à un compromis. En effet, un grand diamètre de trépanation permet de greffer un grand nombre de cellules endothéliales, de diminuer le risque d'astigmatisme géant postopératoire mais s'accompagne d'un risque majoré de rejet immunologique. À l'inverse, une trépanation de petit diamètre permet de diminuer le risque de rejet mais diminue également le nombre de cellules endothéliales greffées et augmente le risque d'astigmatisme géant postopératoire. Cela est utile lorsque la cornée réceptrice est néovascularisée.

En cas de trépanation par voie postérieure, le greffon est centré sur un bloc de Téflon concave. Il est maintenu pendant la trépanation par un système d'aspiration automatique ou manuelle (seringue). La trépanation est réalisée à l'aide d'un système de guillotine (trépan de Hanna à lame à usage unique, trépan à usage unique de Heesburg-Barron) ou à main levée (trépan à usage unique). La trépanation est toujours légèrement excentrée (Brahma, 2000). En cas de trépanation par voie antérieure, le greffon est

monté dans une chambre antérieure artificielle et trépané avec le même dispositif que celui utilisé pour la trépanation de la cornée réceptrice. Le greffon est ensuite placé dans une cupule contenant du liquide de conservation jusqu'à utilisation.

4.3.2. Trépanation de la cornée réceptrice

Le deuxième temps opératoire est la *trépanation de la cornée réceptrice*. Il faut tout d'abord repérer le centre de la trépanation. Il est important pour cela que l'œil soit parfaitement positionné, le plan de l'iris devant être perpendiculaire à l'axe du microscope opératoire. Le centrage de la trépanation représente également un compromis entre le centre anatomique de la cornée, le centre de la pupille et l'étendue de la zone de tissu pathologique. Il est utile d'utiliser un compas pour déterminer le centre de la trépanation et de faire une marque à l'aide d'une pointe mousse. On peut également ensuite marquer une zone optique ronde de 4 mm à l'aide d'un marqueur, ce qui permet de mieux vérifier que l'on reste centré en cours de trépanation. Enfin, les huit héli-méridiens principaux peuvent aussi être marqués afin de mieux placer les points cardinaux.

Chez l'aphake ou le pseudophake, un anneau de *Flieringa* peut être suturé au globe dans la région de la pars plana par quatre ou huit points séparés de Vicryl® 8/0. Cela permet de maintenir la conformation du segment antérieur pendant la trépanation à main levée et d'éviter le collapsus du globe après trépanation, surtout en cas de vitrectomie préalable.

La trépanation est réalisée sous microscope opératoire en vérifiant que le centrage précédemment déterminé est bien respecté. Elle est réalisée soit à main levée à l'aide d'un trépan à usage unique, soit avec un dispositif à succion qui permet de maintenir fixe le trépan. Dans ce dernier cas, la trépanation est réalisée par un mouvement de rotation et de descente de la lame. Les deux principaux dispositifs à succion sont le trépan de Hanna (aspiration automatisée ou manuelle à l'aide d'une seringue, lame à usage unique) et celui de Heesburg-Barron (aspiration manuelle à l'aide d'une seringue, trépan à usage unique) (Wiffen, 1997). La trépanation est secondairement complétée, après avoir rempli la chambre antérieure avec une substance viscoélastique (hyaluronate de sodium), avec une lame ou des ciseaux de Vannas ou de Katzin. Il faut éviter un excès tissulaire chez le receveur et obtenir une berge bien perpendiculaire à la surface cornéenne. La cornée trépanée est conservée dans du liquide de conservation du greffon jusqu'à la suture de celui-ci.

Une comparaison du trépan de Hanna avec le trépan de Heesburg-Barron (Wilbanks, 1996) a été réa-



Trépan de Heesburg-Barron (usage unique) : trépan donneur permettant une trépanation du greffon par voie postérieure et trépan receveur ; tous deux disposent d'un système de succion par seringue à ressort.



Matériel pour le repérage de la trépanation (marqueur rond de 4 mm, marqueur à 8 branches) et palette permettant de déplacer le greffon sans toucher à l'endothélium.



Vue du trépan receveur côté lame.



Vue supérieure du trépan receveur. La lame est montée sur un système à pas de vis permettant un mouvement de descente concomitant au mouvement de rotation.



Préparation des instruments pour une kératoplastie transfixiante avec vitrectomie antérieure et changement d'implant : trépan de Hanna, instruments de microchirurgie, vitréotome, greffon dans son milieu de déturgescence.

lisée dans une étude comportant deux groupes de 62 kératoplasties transfixiantes. À 12 mois, 55 % des patients avaient une acuité visuelle $\geq 5/10$ dans le groupe utilisant le trépan de Hanna contre 33 % dans le groupe Hessburg-Barron ($p < 0,05$) ; en revanche, il n'existait pas de différence entre les deux groupes en termes d'astigmatismes subjectif et kératométrique.

Certains utilisent une technique de trépanation au laser excimer pour le greffon et la cornée réceptrice. Cette technique semble permettre un plus faible décentrement de la trépanation et une moindre rupture de la barrière hématoaqueuse en période postopératoire (Kuchle 1998, Langenbacher 1998). Comparée à une trépanation avec un trépan mécanique motorisé (Microkératron), la trépanation au laser excimer ne semble pas nuisible pour l'endothélium du greffon : l'évolution postopératoire de la densité endothéliale et de l'épaisseur du greffon étant similaire (Seitz, 2001). Elle n'induit pas plus de cataractes secondaires que la trépanation mécanique (Behrens, 2000). Après ablation des sutures, elle semble donner de meilleurs résultats en termes d'astigmatisme, de régularité de la surface cornéenne, d'acuité visuelle et de myopie induite par la greffe (Seitz, 1999). Néanmoins, cette technique de trépanation au laser n'a pas été comparée aux trépanations mécaniques de référence que sont le trépan de Hanna et celui de Hessburg-Barron.

4.3.3. Suture du greffon à la cornée réceptrice

Le troisième temps opératoire est la *suture du greffon à la cornée réceptrice*, l'endothélium étant protégé par une substance viscoélastique. Le greffon est délicatement déposé dans le lit de la greffe à l'aide d'une spatule. Le premier temps de la suture consiste à placer quatre points séparés cardinaux en monofilament de nylon 10/0 monté sur une aiguille spatulée. Les sutures devraient théoriquement permettre une simple apposition du greffon et de la cornée réceptrice. En fait, un vecteur de compression est toujours nécessaire pour assurer l'étanchéité. L'emplacement des points cardinaux est essentiel à la prévention de l'astigmatisme postopératoire. Ils doivent être profonds (75–90 %) et parfaitement perpendiculaires à l'incision. Ils doivent délimiter quatre quadrants de taille identique. Le greffon pourra ensuite être maintenu soit par des points séparés seuls, soit par un surjet seul, soit par une combinaison de points séparés et d'un surjet, soit enfin par un double surjet. Les points séparés ont l'avantage de la facilité de réalisation, celui la sécurité (la rupture ou l'ablation de quelques points n'entraînent pas d'ouverture de la cicatrice) et ils permettent une gestion facile et rapide de l'astig-

matisme postopératoire. Ils sont, en revanche, fastidieux à enlever lorsqu'ils sont nombreux. Le surjet est plus rapide à réaliser et à enlever, mais il est moins sûr (la rupture précoce du surjet entraînant le plus souvent une ouverture de la cicatrice) et de réalisation plus délicate. Enfin, la gestion postopératoire de l'astigmatisme lié au surjet (rotation du surjet) est plus difficile. La combinaison de points séparés et d'un surjet associe les avantages des deux techniques. Lorsque toutes les sutures sont enlevées, le résultat en termes d'astigmatisme et de vision est le même quelle que soit la modalité de suture (Touzeau, 2001c). Le fil utilisé est habituellement un monofilament 10/0. Lorsque l'on réalise un double surjet, on peut utiliser deux monofilaments, un 10/0 et un 11/0. Le surjet 10/0 sera alors enlevé après plusieurs mois et le surjet 11/0 sera laissé en place. Les points séparés et les surjets doivent permettre de bien affronter les membranes de Bowman du greffon et de la cornée réceptrice. En effet, l'œdème du greffon, qui se résorbera progressivement après l'intervention, entraîne une différence d'épaisseur importante entre le greffon et la cornée réceptrice. Cela rend impossible l'affrontement des membranes de Descemet en périopératoire. Les nœuds sont enfouis dans le stroma du greffon afin de minimiser la formation de néovaisseaux au contact des fils. Le nombre total de points séparés et de passages du surjet est habituellement compris entre 16 et 24. Lorsque l'on réalise un surjet, il faut répartir harmonieusement sa tension avant de faire le nœud auto-enfoui. La tension du surjet doit être suffisante pour qu'il ne se desserre pas après la période de déturgescence postopératoire du greffon. Si la tension initiale du surjet était insuffisante, on aboutit à un surjet desserré source de gêne, d'infection, de néovascularisation et de rejet.

La néovascularisation cornéenne après kératoplastie transfixiante (Dana, 1995) a été étudiée dans une série de 34 kératoplasties transfixiantes réalisées avec 16 points séparés enfouis alternativement dans le stroma donneur ou receveur. Des néovaisseaux sont retrouvés dans 41 % des cas après un suivi moyen de sept mois. Les facteurs de risque de néovascularisation sont les nœuds enfouis dans le stroma receveur (risque relatif : 2), un grand diamètre de trépanation du receveur et une blépharite active.

Chez les patients greffés pour un kératocône, un double surjet de nylon 10/0 se desserre moins souvent qu'un simple surjet (Jonas, 1999). En termes d'astigmatisme, la comparaison entre double surjet et simple surjet ne montre pas de différence après ablation de tous les fils. Néanmoins, l'astigmatisme semble moins important avec un double surjet qu'avec un



Trépanation du greffon par voie endothéliale : celui-ci est centré sur le punch du trépan de Hanna.



La succion est maintenue pendant le démontage du trépan.



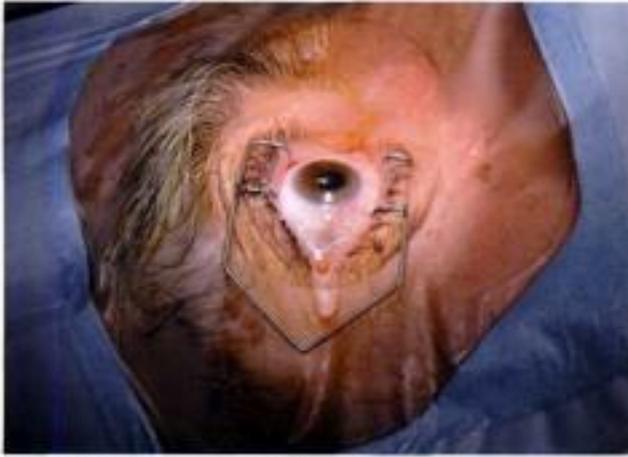
surjet simple pendant la période postopératoire précoce (Spaeda, 2002). Un double surjet de nylon 10/0 avec 16 passages par surjet donne moins d'irrégularités de la surface cornéenne à six mois de la greffe qu'un double surjet avec huit ou 12 passages par surjet et que 16 points séparés (Busin, 1998). Néanmoins, le cylindre n'est pas affecté par la technique de suture dans cette étude.

En cas de greffe chez l'enfant, le greffon est suturé uniquement par des points séparés.

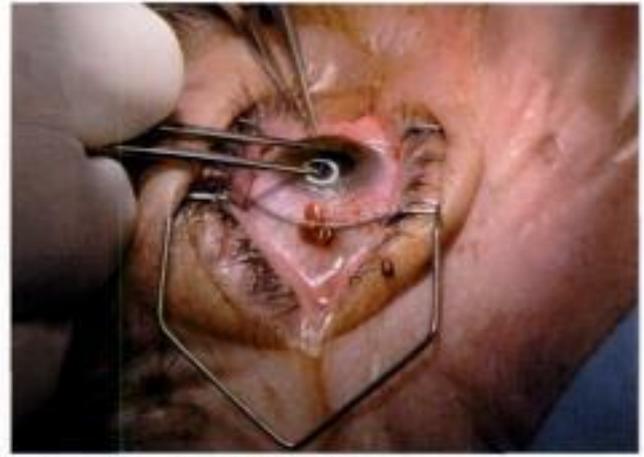
En fin d'intervention, l'étanchéité de la suture est vérifiée et une pommade ou un collyre antibiotique et corticoïde sont appliqués. Le greffon peut être recouvert de hyaluronate de sodium. Cela améliore l'état de l'épithélium le lendemain de la greffe (effet protecteur pour l'épithélium du donneur) et diminue l'intensité de la kératite ponctuée superficielle postopératoire (Brent, 1987 ; Scheer, 1999). Une lentille pansement peut être mise en place, notamment en cas de kératoplastie associée à une greffe de membrane amniotique. En cas de greffe à haut risque de rejet, une injection sous-conjonctivale de dexaméthasone peut être réalisée.

Il est souhaitable d'envoyer la cornée du receveur en anatomie pathologique pour un examen histologique qui permettra de confirmer le diagnostic clinique. Parfois, celui-ci est infirmé par l'histologie car certains tableaux cliniques peuvent être trompeurs. La cornée réceptrice doit être placée dans un fixateur pour le transport jusqu'au laboratoire. La collerette cornéo-sclérale et le liquide de transport du greffon sont adressés au laboratoire de microbiologie pour un examen bactériologique et mycologique. En cas d'infection clinique postopératoire transmise par le greffon, cet examen permet une identification précoce du germe et il guide le choix du traitement antibiotique ou antifongique.

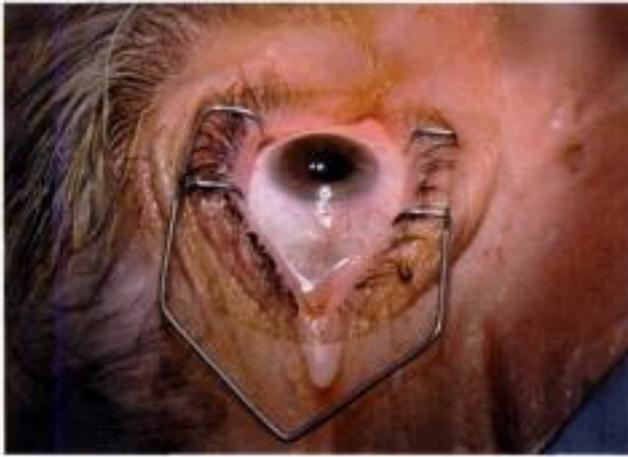
Dans le souci de respecter les tissus intraoculaires, certains ont proposé, en cas notamment de greffe sur un œil ayant une faible rigidité sclérale, de faire une trépanation incomplète de la cornée réceptrice, puis de fixer le greffon (dont l'endothélium est protégé par une substance viscoélastique) par trois points séparés et de compléter dans un troisième temps la trépanation de la cornée réceptrice (Faktorovich, 1999 ; Loden, 1998). Cette pratique reste confidentielle, mais elle peut être utile en cas de poussée vitréenne importante.



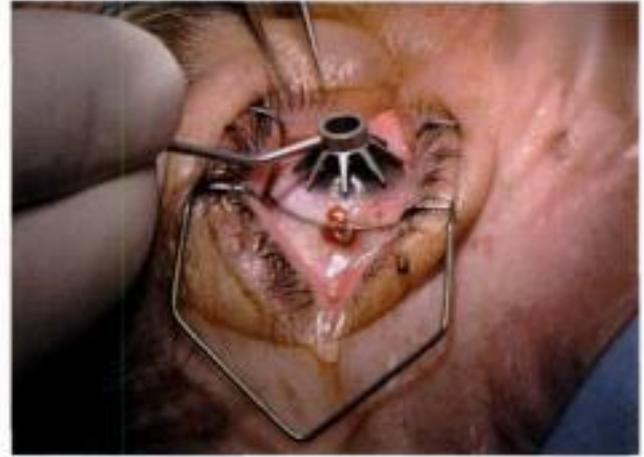
Vue globale du champ opératoire.



Repérage du centre de la trépanation.



Dystrophie de Fuchs.



Les 8 hème-méridiens principaux sont marqués.



Un anneau de Fieringa a été suturé car le patient est pseudophaque.

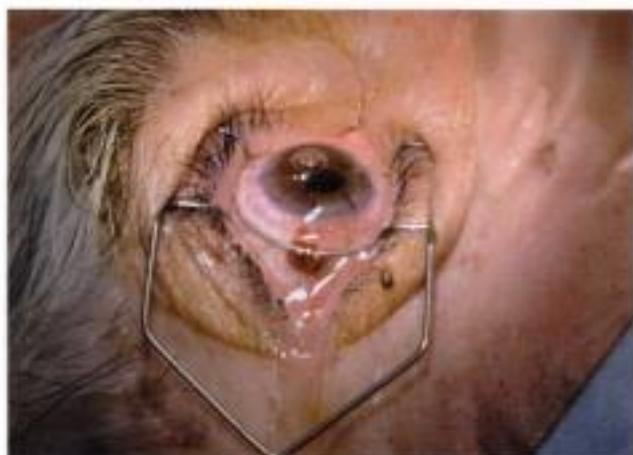


Trépanation de la cornée réceptrice avec le trépan de Hanna.

Les greffes en ophtalmologie



Injection de hyaluronate de sodium en chambre antérieure.



Aspect du greffon posé sur le matelas de substance viscoélastique qui remplit la chambre antérieure.



La trépanation est complétée au couteau à 45°.



Suture du greffon : premier point séparé cardinal.



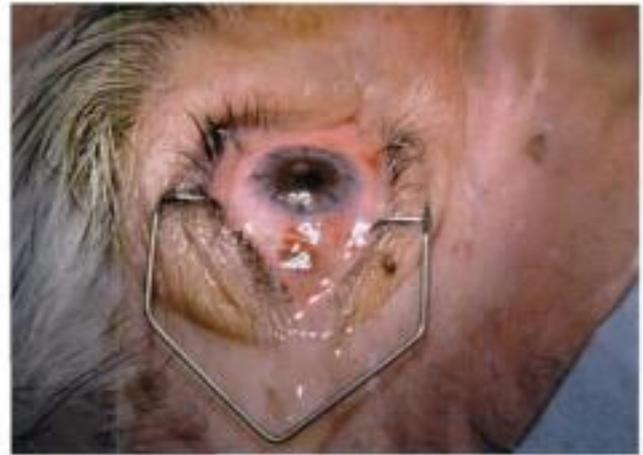
Mise en place du greffon à l'aide d'une spatule qui permet de ne pas toucher l'endothélium.



Suture du greffon : deuxième point séparé cardinal réalisé à 180° du premier.



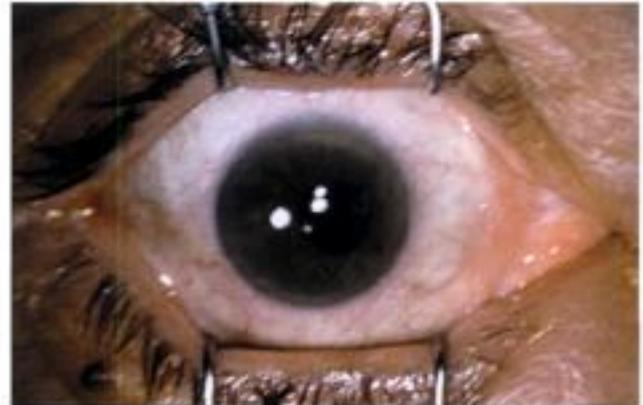
Les nœuds des points séparés sont enfouis à l'aide de la pince de Troutman.



Aspect en fin d'intervention après ablation de l'anneau de Flieringa.



Réalisation d'un surjet isocylé à nœud auto-enfoui.



Œdème cornéen chez un patient pseudophaque (implant de chambre postérieure).



Ajustement de la tension du surjet.

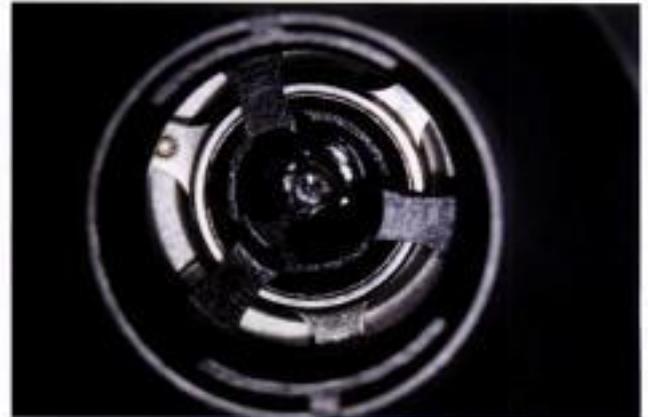


Un anneau de Flieringa a été suturé à l'épisclère à travers la conjonctive. Il permet de maintenir le segment antérieur après trépanation de la cornée réceptrice. Cela entraîne des hémorragies sous-conjonctivales sans conséquences.

Les greffes en ophtalmologie



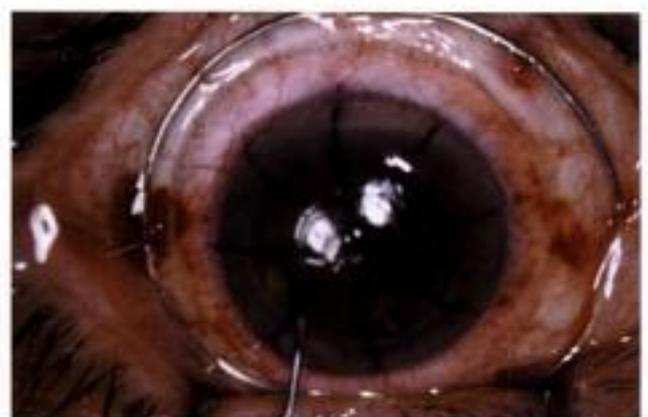
Repérage du centre de la trépanation.



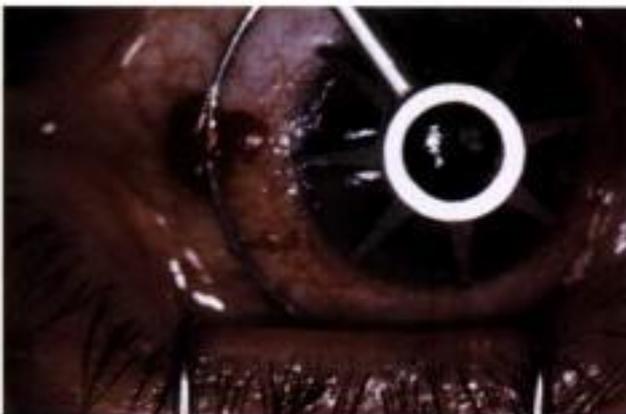
Trépanation de la cornée du receveur à l'aide du trépan de Hanna. Un système mécanique permet d'associer au mouvement circulaire de la lame un mouvement de descente verticale. La profondeur de la trépanation est réglable. La lame du trépan étant ajourée, le centrage est contrôlé visuellement pendant la trépanation.



Marquage de la zone optique centrale de 4 mm.



La trépanation n'est habituellement pas transfixiante sur toute la circonférence de l'incision. Il faut donc injecter une substance viscoélastique pour reformer la chambre antérieure et terminer la trépanation aux ciseaux ou à l'aide d'un couteau à 45°.



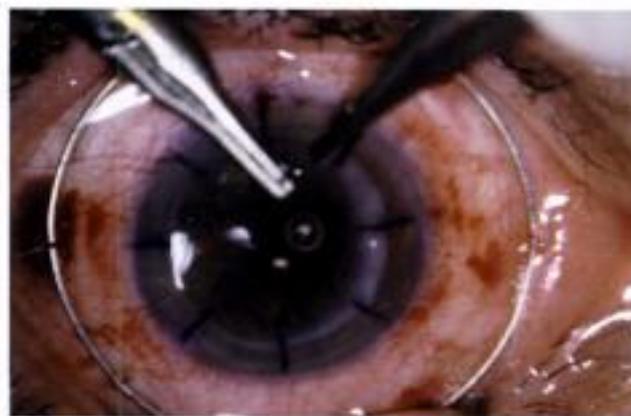
Marquage des 8 héli-méridiens principaux.



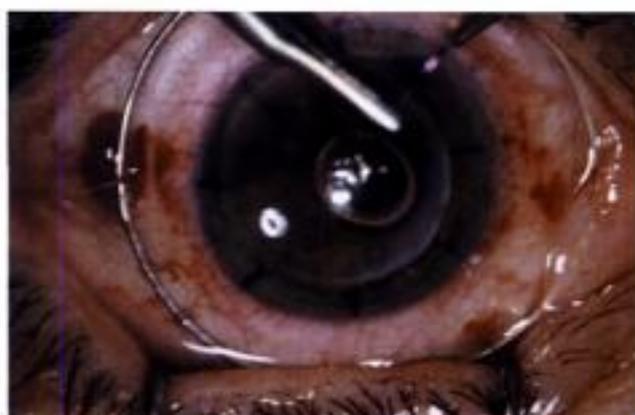
La trépanation est complétée au couteau à 45°.



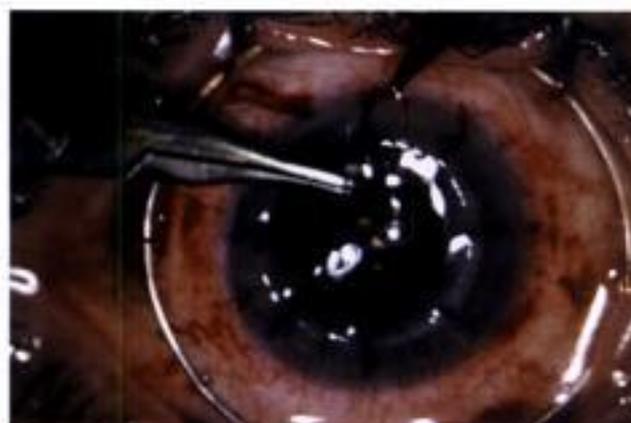
Mise en place du greffon.



Début du surjet.



Suture du greffon à la cornée réceptrice. Ici, le greffon est maintenu par une suture mixte associant 8 points séparés et un surjet de 16 passages.



Fin du surjet.



Les nœuds des points séparés sont enfouis.



Réglage de la tension du surjet.

4.4. Interventions combinées

Au cours des *triples procédures*, la chirurgie de la cataracte est réalisée à ciel ouvert après trépanation de la cornée réceptrice (Borderie, 1997b) si la transparence cornéenne est très altérée, ou bien par phacoémulsification classique suivie de la greffe de cornée si la transparence cornéenne l'autorise.

La technique de la triple procédure avec chirurgie première de la cataracte est réalisée avec une incision sclérale tunnalisée et un implant pliable. L'utilisation de bleu trypan peut faciliter la réalisation du capsulorhexis derrière une cornée peu transparente. Après implantation dans le sac capsulaire, l'incision sclérale est suturée en laissant la substance viscoélastique dans la chambre antérieure afin de maintenir celle-ci pendant la trépanation. La kératoplastie transfixiante est réalisée ensuite classiquement.

La chirurgie de la cataracte à ciel ouvert peut se faire par extraction extracapsulaire manuelle ou phacoémulsification du cristallin. Il faut avoir une hypotonie oculaire parfaite afin d'éviter les poussées vitréennes peropératoires qui ont des conséquences désastreuses (rupture capsulaire, issue de vitré, expulsion du cristallin avec sa capsule, etc.). Il est donc important d'avoir une anesthésie locale parfaite ou bien une anesthésie générale avec curarisation. L'anneau de Flieringa est également utile pour éviter la compression externe du globe par le blépharostat ou les paupières. Il faut s'efforcer de respecter le plan capsulaire postérieur et de mettre en place un implant dans le sac capsulaire (Pamel, 1993). L'ouverture de la capsule antérieure peut être réalisée par une technique de capsulorhexis proche de celle utilisée au cours de la phacoémulsification, par capsulotomie aux ciseaux ou par capsulotomie en timbre-poste à l'aiguille. Un capsulorhexis intact permet une implantation intrasaculaire sûre, diminue le risque de traits de refend dans la capsule antérieure périphérique et donc le risque de décentration secondaire de l'implant (Borderie, 1999e ; Lindquist, 1994). Néanmoins, la poussée postérieure à ciel ouvert le rend plus difficile à réaliser qu'au cours d'une phacoémulsification standard. Il a facilement tendance à filer vers la périphérie et doit donc ne pas être de trop grande taille (4 à 5 mm). La capsulotomie aux ciseaux permet également une implantation intrasaculaire, mais la présence inévitable de traits de refend peut entraîner le déplacement secondaire d'une haptique dans le sulcus ciliaire (Grodén, 1990 ; Malbran, 1993). Enfin, la capsulotomie en timbre-poste n'autorise qu'une implantation dans le sulcus. Après ouverture de la capsule antérieure, une hydrodissection permet dans un grand nombre de cas d'expulser le noyau. Lorsque le noyau est dur et

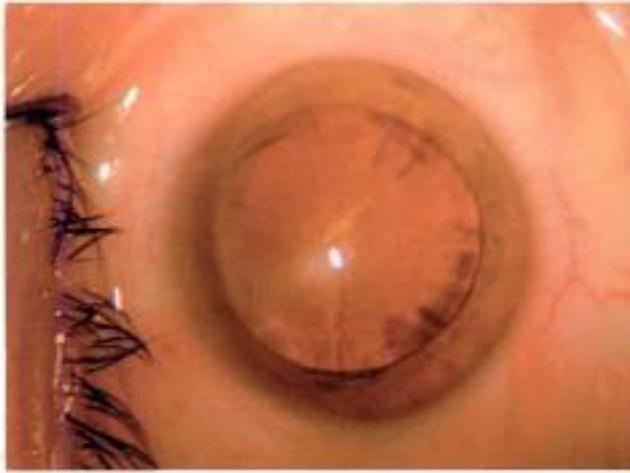
volumineux et que l'on a réalisé un capsulorhexis, il est utile d'utiliser la pièce à main de phacoémulsification pour fragmenter et extraire le noyau après avoir réalisé un ou deux sillons. Le lavage des masses doit être prudent pour ne pas léser la capsule postérieure qui, à ce temps opératoire, a tendance à bomber vers le haut. La pièce à main d'irrigation-aspiration automatisée est très utile au lavage des masses car elle permet de regonfler le sac capsulaire. Le sac capsulaire (ou le sulcus ciliaire) est ensuite rempli d'une substance viscoélastique et l'implant est inséré dans le sac (ou dans le sulcus). Les implants utilisés sont en général des implants rigides en polyméthyl métacrylate avec une optique d'un diamètre de 6 mm pour une implantation dans le sac capsulaire et de 7 mm pour une implantation dans le sulcus ciliaire. Les implants souples ont peu d'intérêt dans cette chirurgie car on dispose d'une ouverture de 7 à 8 mm (diamètre de la trépanation) pour implanter. En cas de rupture capsulaire postérieure peropératoire, il faut faire une vitrectomie et soit implanter dans le sulcus s'il reste un support capsulaire suffisant, ou en chambre antérieure (et réaliser alors une iridectomie périphérique), soit suturer un implant à la sclère. L'intervention se poursuit par la suture du greffon.

Une technique intermédiaire entre les deux précédentes consiste à faire une incision tunnalisée de petite taille pour réaliser le capsulorhexis à globe fermé, puis trépaner la cornée réceptrice et terminer la chirurgie de la cataracte à ciel ouvert (expulsion du noyau, lavage des masses et implantation dans le sac capsulaire). L'intervention s'achève avec la suture du greffon (Caporossi, 2001).

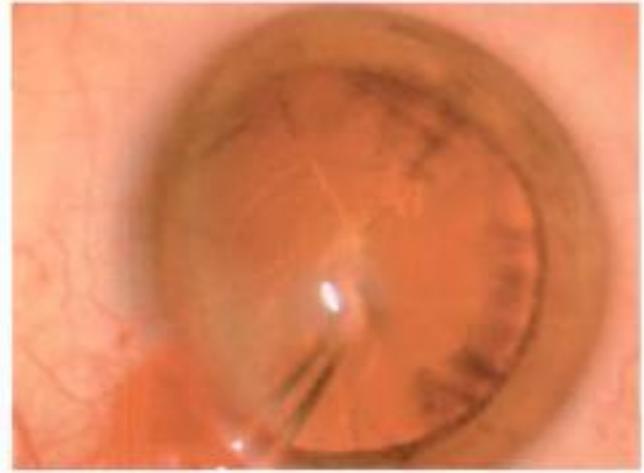
Quelle que soit la technique utilisée, il est utile de resserrer la pupille à l'aide d'un myotique après l'implantation.

L'ablation d'un implant de chambre antérieure est réalisée après trépanation de la cornée réceptrice. Il est fréquent de trouver une fibrose de l'angle qui bloque une haptique. Il faut alors sectionner l'anse bloquée, enlever l'implant ainsi libéré et essayer d'enlever l'anse sectionnée en la faisant coulisser dans le tunnel fibreux. Ces gestes doivent être faits avec prudence car les tractions exercées sur la racine de l'iris peuvent déclencher une hémorragie expulsive.

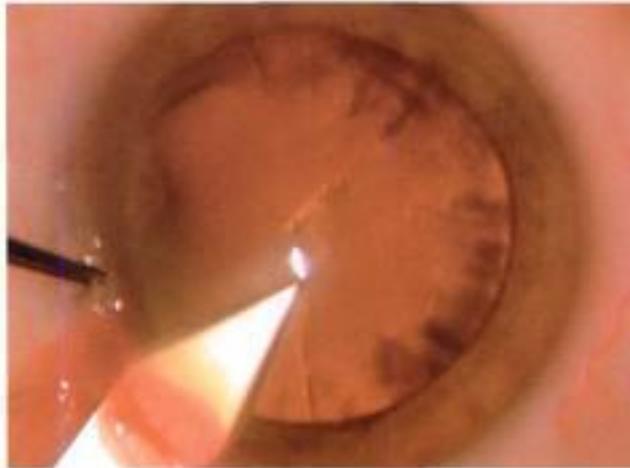
La mise en place d'un nouvel implant de chambre antérieure ne pose pas de problème particulier. Le modèle doit être récent à anses ouvertes en Z, permettant une bonne stabilité de l'implant dans la chambre antérieure. Il faut placer les haptiques à distance de l'iridectomie périphérique afin d'éviter une rotation secondaire de l'implant avec passage d'une haptique dans l'iridectomie. En présence d'une iridectomie



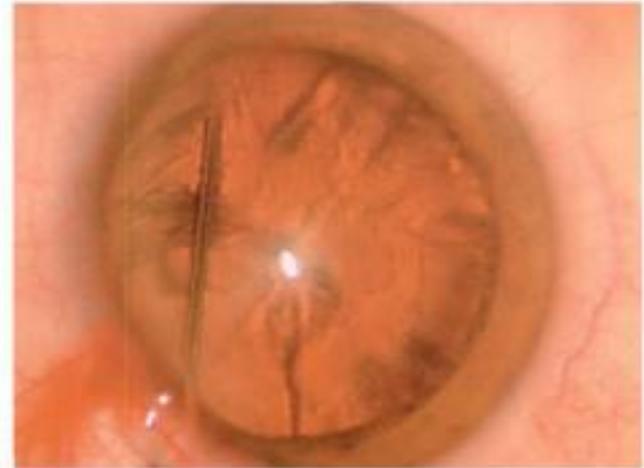
Triple procédure associant une phacoémulsification, une implantation dans le sac capsulaire et une kératoplastie transfixiante pour une dystrophie de Fuchs associée à une cataracte. La dystrophie gêne la visualisation du cristallin mais n'empêche pas la réalisation de la chirurgie de la cataracte à globe fermé.



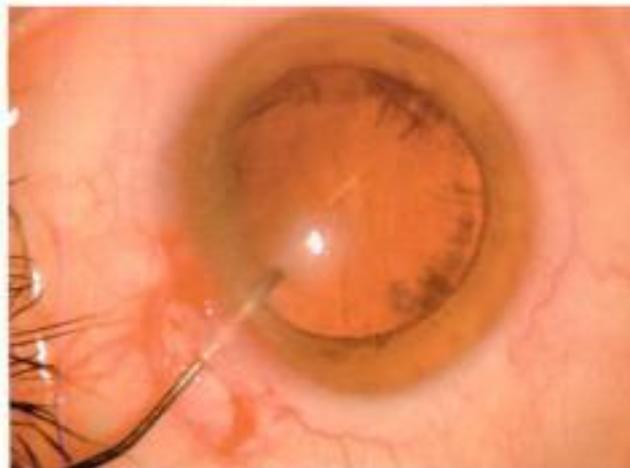
Capsulorhexis.



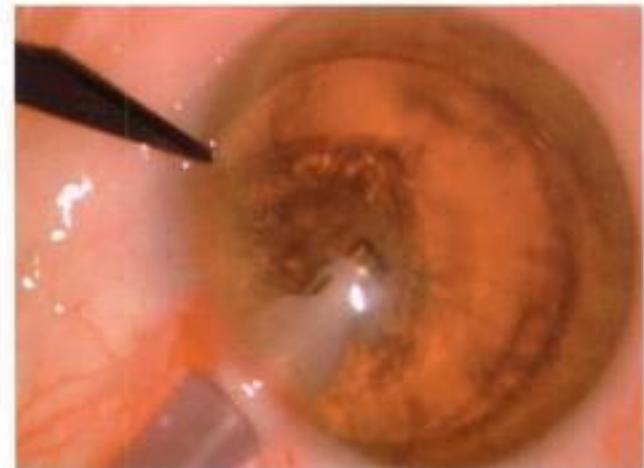
Incision sclérale tunnelisée au couteau de 2,75 mm.



Hydrodissection.

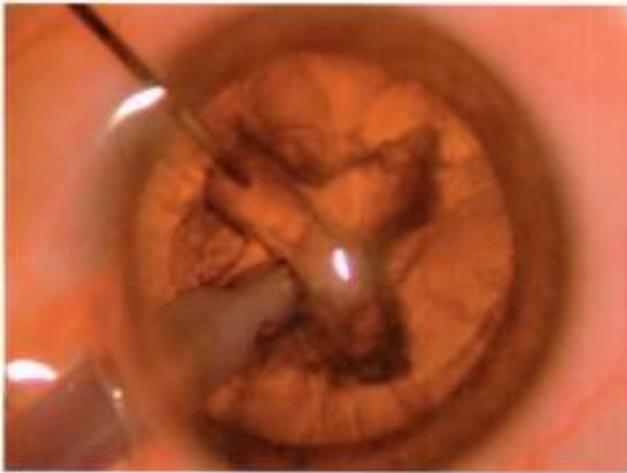


Injection de substance viscoélastique en chambre antérieure.



Contre-incision périphérique au couteau à 15°.

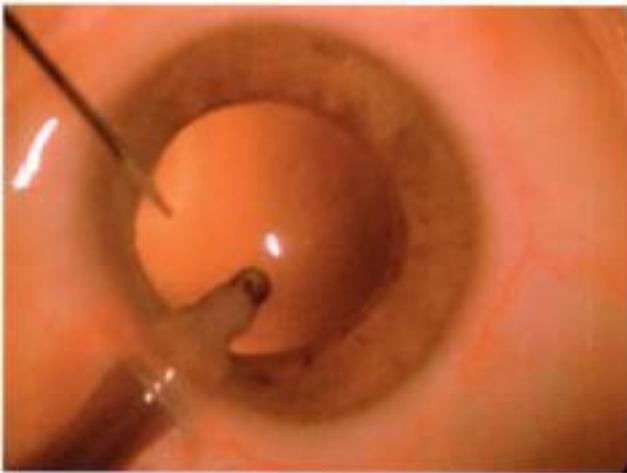
Les greffes en ophtalmologie



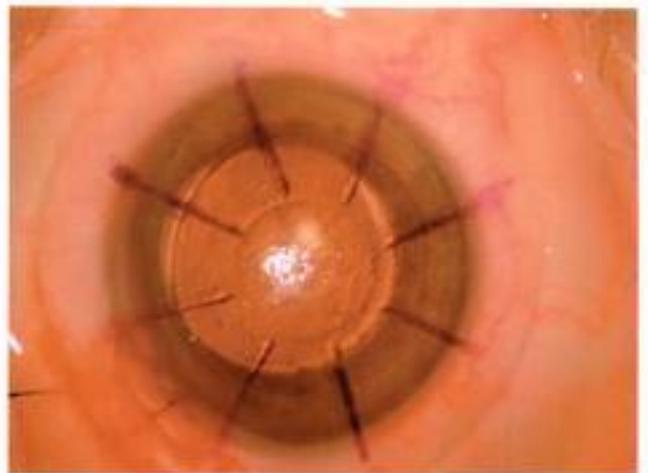
Phacoémulsification du noyau selon la technique du « divide and conquer ».



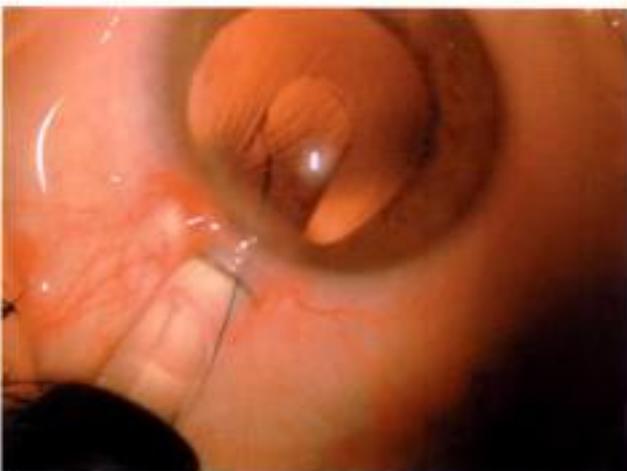
Aspect en fin d'implantation. La substance viscoélastique est laissée afin de maintenir la chambre antérieure pendant la trépanation. L'incision est fermée par un point séparé de nylon 10/0.



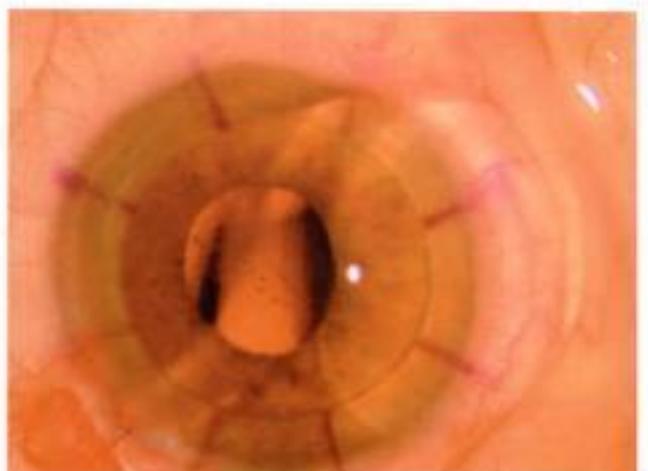
Aspect en fin de lavage des masses.



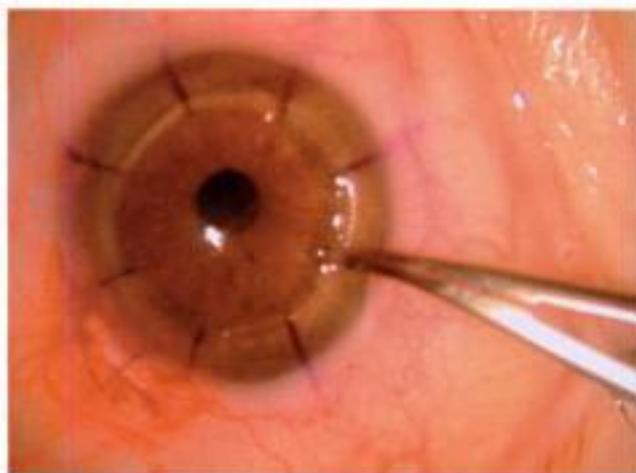
Repérage du centre de la trépanation et des 8 héli-méridiens principaux.



Implantation d'un ICP en acrylique hydrophobe à l'injecteur après élargissement de l'incision sclérale à 3,5 mm.



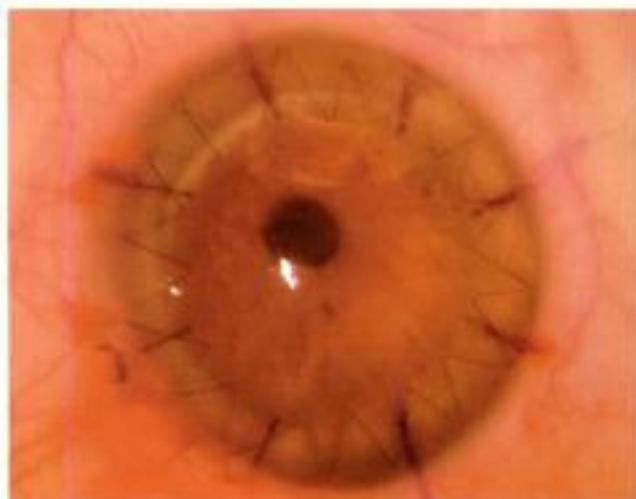
Aspect en fin de trépanation. Notez la poussée vitréenne qui fait basculer l'implant et tend à l'expulser. Dans ce cas, une chirurgie de la cataracte à ciel ouvert se serait compliquée obligatoirement d'issue de vitré.



Suture du greffon par 8 points séparés et un surjet de 16 passages de nylon 10/0.



Aspect en fin de capsulorhexis réalisé à ciel ouvert.



Aspect en fin d'intervention.



Hydrodissection du noyau.



Capsulorhexis à ciel ouvert. Cela n'est réalisable qu'en l'absence de toute poussée vitréenne.



Phacoémulsification du noyau.

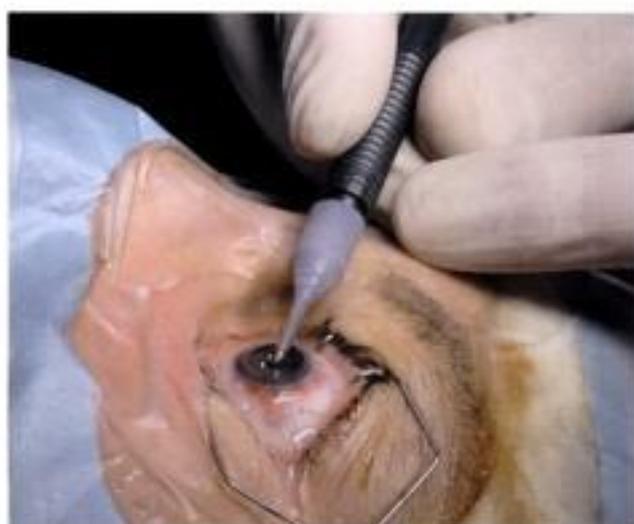
Les greffes en ophtalmologie



Aspect en fin d'extraction du noyau.



Aspect en fin d'implantation.



Lavage aspiration du cortex cristallinien.



Suture du greffon par 8 points séparés puis un surjet de 16 passages.



Implantation dans le sac capsulaire (implant rigide en polyméthyl métacrylate, optique 6 mm).



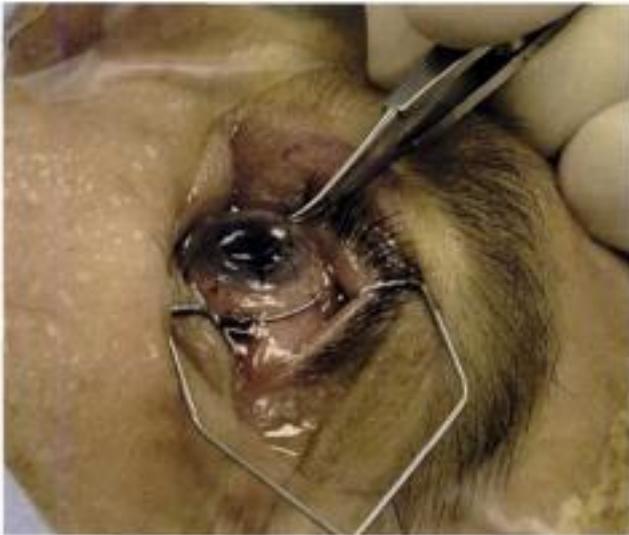
Aspect en fin d'intervention.



Un anneau de Flieringa de 16 mm a été suturé à l'épisclère.



Injection de substance viscoélastique en chambre antérieure.



Après trépanation incomplète de la cornée réceptrice, l'implant de chambre antérieure est enlevé.



Mise en place d'un nouvel implant de chambre antérieure.



Vitrectomie antérieure à l'éponge.



La trépanation de la cornée réceptrice est achevée lorsque l'implant est en place. Puis le greffon sera suturé à la cornée réceptrice.

sectorielle, il faut suturer celle-ci par un point de polypropylène 10/0 au niveau du sphincter irien avant de mettre l'implant.

La *vitrectomie* au cours d'une greffe est réalisée à ciel ouvert soit à l'éponge (microsponges) et aux ciseaux de Vannas, soit au vitréotome au travers de l'aire pupillaire et d'une éventuelle iridectomie. La vitrectomie à l'éponge et aux ciseaux est réalisée en présentant l'éponge devant la pupille et les éventuelles iridectomies. Le vitré est réséqué à l'aide des ciseaux de Vannas jusqu'à obtenir une chambre antérieure profonde et totalement dépourvue de brides vitréennes. Dans notre expérience, les brides résiduelles vitréennes en chambre antérieure sont moins fréquentes après vitrectomie à l'éponge qu'après vitrectomie antérieure au vitréotome de Kloti par voie pupillaire. Dans certaines situations peropératoires (poussée vitréenne importante avec risque d'hémorragie expulsive), la vitrectomie à ciel ouvert est impossible. On peut alors la réaliser en fin d'intervention après suture du greffon. On utilisera alors un vitréotome avec un abord par la pars plana.

La *mise en place d'un implant suturé à la sclère* nécessite la réalisation avant trépanation de deux volets scléaux sur le méridien horizontal de part et d'autre du limbe, après ouverture d'une boutonnière conjonctivale. Après trépanation de la cornée réceptrice, une vitrectomie antérieure est réalisée à travers l'aire pupillaire. L'implant est maintenu par quatre fils de polypropylène 10/0. Les fils, protégés par les volets scléaux, sont passés de dehors en dedans et noués aux haptiques. L'implant doit être placé juste en arrière de l'iris pour éviter un mouvement de bascule autour d'un axe horizontal. Les nœuds sont faits dans le lit des volets scléaux et ceux-ci sont suturés en fin d'intervention par un point séparé de nylon 10/0 ainsi que les boutonnières conjonctivales (qui sont refermées au Vicryl 8/0). La suture d'un implant à la sclère s'accompagne d'un risque d'exposition de la suture, de nécrose sclérale, d'endophtalmie, de décentrement et de bascule de l'implant.

Les implants de chambre postérieure peuvent être également suturés à la face postérieure de l'iris à l'aide de polypropylène 10/0. Ce geste peut se compliquer d'atrophie irienne et d'uvéïte.

En cas de kératoplastie combinée à une *chirurgie filtrante*, plusieurs techniques peuvent être utilisées. La plus courante consiste à réaliser une trabéculéctomie classique. Celle-ci sera réalisée en deux temps. Le premier temps est réalisé avant la trépanation : désinsertion conjonctivale au limbe dans une zone épargnée par la fibrose sous-conjonctivale et confection du volet scléral à charnière limbique. Une application d'antimitotique (mitomycine, 5-FU) peut être réalisée à cette étape entre la sclère et la conjonctive. La trabéculéctomie proprement dite sera réalisée après suture du greffon. Le volet scléral est suturé par un ou deux points séparés et la conjonctive est réinsérée au limbe. L'intervention peut être également réalisée en deux temps : trabéculéctomie dans un premier temps puis, à distance, kératoplastie transfixiante (Chowers, 1999). L'utilisation de mitomycine peropératoire peut entraîner des défauts épithéliaux postopératoires (Chowers, 1999). Certains glaucomes sévères et réfractaires peuvent nécessiter la pose d'une valve de drainage de l'humeur aqueuse type valve de Molteno. Nous ne connaissons pas encore précisément la place de la sclérectomie profonde au cours de la kératoplastie transfixiante, mais elle peut donner de bons résultats au moins à court et moyen terme.

La *chirurgie rétinovitréenne* au cours d'une kératoplastie transfixiante est rendue possible par l'utilisation d'une kéra-toprothèse transitoire de type Eckardt.

Au cours des interventions combinées à une vitrectomie ou un changement d'implant, il faut s'efforcer de minimiser le temps opératoire à ciel ouvert. En effet, ce temps opératoire peut se compliquer d'une hernie de l'iris, d'une issue de vitré ou d'une expulsion de l'implant, et enfin d'un décollement de rétine, d'un hématome choroïdien ou d'une hémorragie expulsive. Il est donc utile de laisser la cornée réceptrice en place maintenue par une ou plusieurs brides de stroma postérieur pendant la vitrectomie ou le changement d'implant.

Technique opératoire de la kératoplastie transfixiante

- La kératoplastie transfixiante est réalisée après anesthésie locale péribulbaire ou générale, sous microscope opératoire.
- Le premier temps opératoire consiste à trépaner le greffon à un diamètre habituellement proche de 8 mm.
- Les deux systèmes de trépanation de référence sont le trépan de Hanna et celui de Hessburg-Barron. Il s'agit de trépans mécaniques.
- Le deuxième temps opératoire est la trépanation de la cornée réceptrice au même diamètre ou à un diamètre légèrement inférieur à celui du greffon.
- Dans un troisième temps, le greffon est suturé à la cornée réceptrice par un monofilament de nylon 10/0, son endothélium étant protégé par une substance viscoélastique.
- Les modalités de sutures peuvent être variées : points séparés seuls, surjet simple, double surjet, ou suture mixte (points séparés + surjet).
- La kératoplastie transfixiante peut être combinée à une chirurgie de la cataracte (triple procédure).
- Plusieurs techniques peuvent être utilisées pour réaliser une triple procédure : phacoémulsification classique suivie de la greffe, chirurgie de la cataracte à ciel ouvert par extraction extracapsulaire manuelle du cristallin, chirurgie de la cataracte à ciel ouvert par phacoémulsification, capsulorhexis à globe fermé suivi de la trépanation et d'une chirurgie de la cataracte à ciel ouvert.
- L'ablation ou le changement d'un implant de chambre antérieure et la vitrectomie antérieure sont réalisés à ciel ouvert après trépanation de la cornée réceptrice.
- La suture d'un implant de chambre postérieure à la sclère nécessite la confection de volets scléaux et la réalisation d'une vitrectomie.
- Une chirurgie filtrante par trabéculéctomie avec application de mitomycine ou sclérectomie profonde peut être combinée à la kératoplastie transfixiante.

4.5. Traitement postopératoire

4.5.1. Traitement local

Comme dans toute allogreffe de tissu ou transplantation d'organe, le rejet doit être prévenu par un traitement visant à diminuer la réaction immunitaire du receveur vis-à-vis des antigènes du donneur. À la différence des transplantations d'organes, le traitement local est habituellement suffisant et aucune immunosuppression systémique n'est nécessaire en préventif au cours d'une première greffe chez un patient ayant une cornée avasculaire.

Dans tous les cas il est souhaitable de minimiser les facteurs locaux pro-inflammatoires. La chirurgie doit être aussi atraumatique que possible et les sutures desserrées sources d'appel vasculaire doivent être enlevées.

La prévention du rejet de greffe de cornée repose avant tout sur les corticoïdes qui inhibent la phospholipase A2 (effet anti-inflammatoire), inhibent la synthèse d'interleukines (IL-1 et IL-6) par les cellules présentatrices des antigènes et inhibent la synthèse d'IL-2 et d'IFN- γ par les lymphocytes T. Ils ont en outre des actions sur le chimiotactisme des leucocytes, la phagocytose des macrophages, la dégranulation des mastocytes et la perméabilité des capillaires. Ils diminuent le recrutement des lymphocytes T sur les sites inflammatoires et leur prolifération et inhibent les réactions de cytotoxicité cellulaire. À forte dose, ils entraînent une démargination des polynucléaires et une lymphopénie majeure CD4. Ils agissent donc de manière non spécifique sur la phase de sensibilisation des lymphocytes T du receveur et sur les cellules effectrices du rejet.

Le traitement postopératoire comporte habituellement un collyre corticoïde associé à un collyre antibiotique. Les corticoïdes utilisables sont la dexaméthasone (Chibro-Cadron[®], Frakidex[®], Maxidex[®], Maxidrol[®], Tobradex[®]), la fluorométholone (Flucon[®]), la rimexolone (Vexol[®]) et l'hydrocortisone (Bacicoline[®]). Certains collyres sont des associations corticoïde et antibiotique (Chibro-Cadron[®], Frakidex[®], Maxidrol[®], Tobradex[®], Bacicoline[®]), d'autres ne comportent qu'un corticoïde (Flucon[®], Maxidex[®], Vexol[®]). En période postopératoire, les deux molécules les plus utilisées sont la dexaméthasone, notamment en France, et la prednisolone dans les pays anglo-saxons. La corticothérapie est habituellement débutée dès la fin de l'intervention avec l'instillation d'un collyre corticoïde, l'application d'une pommade à la dexaméthasone (Cidermex[®], Frakidex[®], Maxidrol[®], Sterdex[®]) ou l'injection sous-conjonctivale d'un corticoïde. Elle est poursuivie en postopératoire avec une fréquence qui varie suivant le risque de rejet et les

habitudes du chirurgien. La fréquence des instillations est diminuée très progressivement en fonction de la disparition des signes inflammatoires.

Chez les patients à faible risque de rejet (cornée avasculaire, pas d'antécédent de rejet), on peut débuter le traitement par trois à quatre instillations quotidiennes et le terminer avec une instillation tous les deux jours, le collyre corticoïde étant habituellement arrêté après un délai de 6 à 24 mois. La corticothérapie locale peut être arrêtée lorsque tous les fils sont enlevés ou plus tôt si l'on n'envisage pas de les enlever. L'étude d'Érlangen (Cursiefen, 2001) a comparé de manière prospective et randomisée deux durées de corticothérapie locale (6 et 12 mois) chez des patients à faible risque de rejet. Aucune différence entre les deux durées de traitement n'a été retrouvée en termes de néovascularisation de la cornée réceptrice, de densité endothéliale, de flare et d'acuité visuelle à un an. Cela ne permet pas de préjuger de l'effet à long terme de la durée des corticoïdes. L'ablation de fils est un facteur déclenchant du rejet et doit être suivie d'une reprise ou d'une augmentation transitoires de la corticothérapie locale.

Chez les patients à haut risque de rejet (2 quadrants de néovascularisation stromale et/ou antécédent de rejet) et chez les patients aphakes ou pseudophakes, le rythme initial d'administration sera plus soutenu. Il est plus prudent de garder au long cours une corticothérapie locale minimale. Certains utilisent en plus une corticothérapie postopératoire par voie systémique, orale ou intraveineuse.

La prévention du second set syndrome (rejet de la greffe du premier œil après la greffe du deuxième œil) peut être faite en prescrivant un collyre corticoïde sur le premier œil lors de la greffe du deuxième œil.

Les deux principaux effets secondaires des collyres corticoïdes au cours des kératoplasties transfixiantes sont l'augmentation de la pression intraoculaire, elle-même nocive pour l'endothélium du greffon et l'effet cataractogène. Ces effets sont en règle d'autant plus importants que l'activité anti-inflammatoire de la molécule est importante. Ainsi, la dexaméthasone et la prednisolone peuvent être relayées par de la fluorométholone ou de la rimexolone lorsque l'inflammation postopératoire est parfaitement contrôlée ou qu'une hypertonie induite par les corticoïdes survient. Un autre effet secondaire possible est la diminution de la cicatrisation. Cet effet secondaire n'est habituellement pas gênant, mais il peut le devenir dans les situations de défaut épithélial persistant avec libération de collagénases entraînant une lyse du stroma sous-jacent. Enfin les collyres corticoïdes favorisent les infections (kératites bactérien-

Corticoïdes en collyres et pommades ophtalmologiques

Dénomination commune internationale	Nom commercial	Activité anti-inflammatoire
Hydrocortisone + bacitracine + colistine (collyre)	Bacicoline [®]	1
Rimexolone (collyre)	Vexof [®]	
Fluorométholone (collyre)	Flucon [®]	5
Triamcinolone + néomycine (pommade)	Cidermex [®]	5
Dexaméthasone (collyre)	Dexaméthasone [®] , Maxidex [®]	25-30
Dexaméthasone + framycétine (collyre, pommade)	Frakidex [®]	
Dexaméthasone + néomycine (collyre)	Chibro-Cadron [®] , Dexagrane [®]	
Dexaméthasone + néomycine + polymyxine B (collyre, pommade)	Maxidrol [®]	
Dexaméthasone + tobramycine (collyre)	Tobradex [®]	
Dexaméthasone + oxytétracycline (pommade unidose)	Sterdex [®]	
Bétaméthasone + gentamicine (collyre, pommade)	Gentason [®]	25-30

Schémas thérapeutiques indicatifs du traitement préventif et curatif du rejet

Situation clinique	Produit	Posologie
Traitement préventif :		
receveur standard	dexaméthasone collyre (France) ou prednisolone collyre (États-Unis)	4 fois/jour pendant 1 mois, puis 3 fois/jour (2 mois), puis 2 fois/jour (3 mois), 1 fois/jour (3 mois), 1 jour sur 2 (3 mois) et arrêt
receveur à haut risque de rejet	dexaméthasone collyre ou prednisolone collyre	toutes les heures ou toutes les deux heures à partir de l'intervention, puis diminution progressive, conservation au long cours d'une dose minimale efficace
Traitement curatif :		
rejet peu sévère (1)	dexaméthasone collyre ou prednisolone collyre dexaméthasone pommade	toutes les heures ou toutes les deux heures, puis diminution progressive, 1 application au coucher pendant la phase aiguë
rejet assez sévère (2)	idem (1) + dexaméthasone injectable	idem (1) 1 injection sous-conjonctivale de 2 mg/jour, progressivement espacée
rejet sévère (3)	idem (1) ou (2) + méthylprednisolone injectable relayée ou non par prednisone per os	idem (1) ou (2) 1 perfusion IV de 500 mg sur 4 heures/jour pendant 1 à 3 jours 1 mg/kg par jour, dose progressivement dégressive

nes ou fongiques). Les kératites microcristallines postgreffe surviennent presque toujours chez des patients sous corticothérapie topique. Il est donc prudent d'associer cette corticothérapie topique à un antibiotique ou un antiseptique en collyre pour prévenir ces infections.

La place de la *ciclosporine* topique dans le traitement préventif du rejet est encore discutée. Il s'agit d'un peptide cyclique d'origine fongique, liposoluble, qui agit par l'intermédiaire d'un récepteur cytoplasmique, la ciclophiline (Belin, 1990). Elle inhibe la transcription du gène de l'IL-2 et la transcription de la chaîne légère du récepteur de l'IL-2. La ciclosporine bloquerait la synthèse d'IL-3, IL-4 et IFN- γ . Elle agit exclusivement sur les lymphocytes activés (notamment les lymphocytes T CD4+), n'a donc pas d'effet rémanent et ne modifie pas les cellules mémoires. Elle n'a pas d'effet sur la réponse anticorps T-indépendante. Elle doit être utilisée dans la phase précoce de la réponse immunitaire cellulaire pour être efficace, ce qui en fait un traitement préventif et non curatif du rejet. La ciclosporine par voie topique inhibe la néovascularisation cornéenne (Benelli, 1997). L'efficacité de la ciclosporine orale a été démontrée dans certaines uvéites. La ciclosporine en collyre est efficace dans certaines pathologies inflammatoires de la cornée et de la surface oculaire (Holland, 1993). La ciclosporine en collyre semble efficace pour prévenir le rejet d'allogreffe de cornée (Belin, 1989 ; Gündüz, 1993 ; Maske et Zhao 1994). Son utilisation a été proposée chez les receveurs à haut risque de rejet (Belin, 1989 ; Goichot-Bonnat, 1987) sans que nous ayons à l'heure actuelle d'argument majeur pour préférer le collyre à la ciclosporine aux collyres corticoïdes. Néanmoins, une étude rétrospective a montré que le collyre à la ciclosporine 2 % donné en association à la corticothérapie locale pendant un an diminuait la fréquence du rejet chez les patients à haut risque (comparaison entre un groupe rétrospectif ayant une corticothérapie locale seule et un groupe prospectif ayant une corticothérapie locale associée à la ciclosporine topique) (Inoue, 2000). Le collyre à la ciclosporine est particulièrement intéressant en remplacement de la corticothérapie locale en cas d'hypertonie cortico-induite ou de kératite infectieuse, notamment fongique (Perry, 1997, 1998 et 2002 ; Touzeau, 1999b). Lorsque le collyre est préparé magistralement à partir de la forme injectable (Sandimmun[®] injectable 5 % dilué dans des larmes artificielles ou du chlorure de sodium à 0,9 %, conservé 1 mois au réfrigérateur), le collyre obtenu contient un taux non négligeable d'alcool qui rend les instillations douloureuses. Les collyres réalisés avec un véhicule huileux (huile d'olive) entraînent également une irritation conjonctivale importante et présentent une toxicité pour

l'épithélium cornéen. La toxicité épithéliale est actuellement le seul effet secondaire décrit de la ciclosporine en collyre. Néanmoins, cette toxicité oblige assez souvent à arrêter le collyre et elle peut être à l'origine d'un échec de la greffe. Le taux de ciclosporine dans la préparation magistrale hospitalière va de 0,05 à 2 % (0,05, 0,1, 0,5 et 2 %). Habituellement, on utilise le collyre à 2 % pour prévenir le rejet de greffe de cornée. Expérimentalement, la ciclosporine encapsulée a été utilisée chez l'animal pour améliorer sa biodisponibilité oculaire (Gebhardt, 1995 ; Juberias, 1998 ; Mahlerg, 1997 ; Milani, 1993). Après instillation d'une goutte de ciclosporine en collyre, la drogue est présente dans le tissu cornéen dès la première heure et pendant 24 heures avec un taux maximal obtenu trois heures après l'instillation (Belin, 1990 ; Diaz-Llopis, 1989 ; Minguez, 1992). Elle diffuse également dans la chambre antérieure, mais la drogue est plus concentrée dans le tissu cornéen que dans l'humeur aqueuse (Minguez, 1992 ; Perry, 1998). Le taux tissulaire de la drogue au niveau de la cornée est plus important après administration topique qu'après administration systémique (Diaz-Llopis, 1989). Après instillation de collyre à la ciclosporine, la drogue est le plus souvent indétectable dans le sang, ou bien elle l'est à un taux très faible (Belin, 1989 ; Diaz-Llopis, 1989 ; Inoue, 2000 ; Perry, 1998 ; Zhao, 1994). Aucun effet secondaire systémique n'est connu avec la ciclosporine collyre, mais les études prospectives avec un suivi prolongé des patients manquent. La ciclosporine topique n'a pas d'effet cataractogène et n'augmente pas la pression intraoculaire (Scheer, 2003).

Le *hyaluronate de sodium* en collyre (Vis-Med[®], Hylo-Comod[®]) peut être utilisé chez les patients ayant des troubles épithéliaux.

4.5.2. Traitement général

Les bolus intraveineux de *méthylprednisolone* (Solumédrol[®]) 500 mg/24 heures sur trois jours peuvent être utilisés à titre systématique ou en cas de greffe à haut risque de rejet en l'absence de contre-indication. Ils sont débutés en peropératoire ou la veille de l'intervention. Ce traitement implique de prendre en compte les contre-indications, notamment les antécédents de pathologie gastroduodénale, le diabète, l'hypertension artérielle, les antécédents de psychose grave, les anguilluloses, l'hypokaliémie. En cas de contre-indication, un avis spécialisé doit être demandé pour distinguer la contre-indication absolue qui interdira l'utilisation de la corticothérapie systémique de la contre-indication relative qui autorisera cette utilisation sous couvert d'une surveillance rapprochée et d'un traitement adjuvant de

la pathologie. Dans tous les cas, la corticothérapie systémique doit être accompagnée d'un régime désodé, d'une supplémentation en potassium et d'une protection gastrique. La kaliémie et la glycémie doivent être surveillées régulièrement, la pression artérielle doit être contrôlée de manière rapprochée pendant et au décours des perfusions ainsi que l'électrocardiogramme.

La corticothérapie orale n'a pas fait la preuve de son intérêt dans la prévention du rejet (Hills, 1991).

En cas de kératite herpétique, un traitement oral *antiherpétique* préventif est prescrit (aciclovir ou valaciclovir). L'aciclovir (Zovirax[®]) donné à la dose de 400 mg une ou deux fois par jour par voie orale pendant la première année qui suit la greffe permet de diminuer la fréquence des récurrences herpétiques sur la greffe et des échecs de la greffe (Akova, 1999 ; Tambasco, 1999 ; Van Rooij, 2003). Néanmoins, des récurrences peuvent survenir après l'arrêt de l'aciclovir. Il paraît donc logique de conserver une prévention antiherpétique au long cours. Le valaciclovir (Zélitrex[®]) peut être utilisé en préventif à la dose de 500 mg une à trois fois par jour.

L'utilisation systémique de la *ciclosporine*, par voie orale, est proposée par certains dans le cas des greffes à haut risque de rejet. La ciclosporine se lie dans le sang aux hématies et aux lipoprotéines plasmatiques ; la fraction libre efficace ne représentant que moins de 5 % du taux sanguin. La ciclosporine s'accumule dans les organes lipophiles (graisse, sein, foie, rein, organes lymphoïdes) qui constituent des réservoirs de la drogue. Elle est métabolisée par le cytochrome P450 dans le foie puis excrétée par voie biliaire. Il existe de grandes variations interindividuelles dans l'absorption et le métabolisme de la ciclosporine et de nombreux médicaments interagissent avec elle. La dose de ciclosporine utilisée par voie orale dans la greffe de cornée varie entre 5 et 10 mg/kg par jour. La posologie est ajustée de manière à obtenir un taux sanguin entre 100 et 150 ng/ml. La concentration de la molécule au niveau de l'œil représente 30 à 40 % du taux sanguin (Belin, 1990). Elle augmente en cas d'inflammation intraoculaire (BenEzra, 1990). L'efficacité de la ciclosporine par voie systémique sur la prévention du rejet a été démontrée dans des modèles animaux (Coster, 1979 ; Coupland, 1996 ; Vallelado, 2002). Les résultats des études cliniques utilisant la ciclosporine par voie systémique dans ces greffes ne sont pas tous concordants. Certaines études rétrospectives ne retrouvent pas d'effet bénéfique significatif de la ciclosporine (Poon, 2001 ; Robert, 1997), alors que d'autres études sont très favorables à son utilisation (Reinhard, 1996 et 1999 ; Sundmacher, 1992). Hill (1989) a rapporté

que la ciclosporine par voie orale associée à une corticothérapie topique et orale améliore significativement la survie du greffon chez des receveurs à haut risque de rejet par comparaison avec la corticothérapie topique seule ou topique et orale. Un traitement de 12 mois est plus efficace pour prévenir le rejet qu'un traitement de six mois (Hill, 1994). La durée optimale du traitement reste encore discutée (Robert, 1997). En outre, les effets secondaires du produit sont potentiellement graves : néphrotoxicité dose-dépendante, hypertension artérielle, hépatotoxicité, hirsutisme, tumeurs induites, sensibilité aux infections (virus, levures, germes opportunistes), hypertrophie gingivale, gynécomastie, dorsalgies, paresthésies des extrémités, crampes, candidoses orales, nausées. Le problème des tumeurs induites par la ciclosporine est préoccupant pour l'utilisation ophtalmologique. Il s'agit le plus souvent de lymphomes, mais des carcinomes sont possible y compris au niveau de la cornée (Touzeau, 1999d). Ils doivent inciter à une grande prudence dans son utilisation et obligent à informer le patient des risques potentiels. Certains des effets secondaires de la ciclosporine peuvent en effet engager le pronostic vital alors que l'affection pour laquelle la molécule est prescrite n'a qu'un pronostic fonctionnel. Néanmoins, les effets secondaires rapportés après utilisation de ciclosporine orale au cours d'une greffe de cornée semblent moins fréquents qu'après greffe d'organe. Il s'agit des effets secondaires suivants : néphrotoxicité, hypertension artérielle, hépatotoxicité, lymphome gastrique induit par le virus Epstein-Barr, abcès tuberculeux, candidose orale, paresthésies, tremblements (Algros, 2002 ; Belin, 1990 ; Hill, 1994 ; Reinhard, 1999 ; Robert, 1997). La prise en compte des contre-indications et des nombreuses interactions médicamenteuses, la surveillance régulière du taux sanguin du produit ainsi que des marqueurs de la fonction rénale et du bilan hépatique sont obligatoires en cas de traitement par voie systémique. La ciclosporine ne peut être utilisée chez la femme enceinte. Il semble logique de réserver son utilisation à des patients à haut risque de rejet, notamment s'ils sont monophthalmes. Les effets secondaires majeurs (hypertension artérielle, néphrotoxicité) peuvent imposer l'arrêt du traitement dans 10 % des cas (Poon, 2001).

Le FK-506 ou *tacrolimus* (Prograf[®]) est un macrolide d'origine fongique appartenant à la même famille que la ciclosporine. Il se lie à un récepteur cytoplasmique, l'immunophiline, et inhibe la transcription du gène de l'IL-2. Il est efficace dans des modèles animaux par voie systémique et par voie topique (Hikita, 1997 ; Nishi, 1993 ; Reis, 1998). Les données concernant son efficacité et sa tolérance au cours des greffes de cornée chez l'homme sont encore

très peu nombreuses et il n'existe aucun argument scientifiquement démontré pour préférer le tacrolimus à la ciclosporine (Sloper, 2001).

Le *mycophénolate mofétil* (Cellcept[®]) est un inhibiteur de l'inosine monophosphate déshydrogénase. Il inhibe la prolifération lymphocytaire T et B. Il est efficace pour prévenir le rejet dans un modèle murin (Reis, 1998). Il a été utilisé chez des receveurs à haut risque de rejet. La dose utilisée est de 2 g par jour per os. Un traitement de six mois à cette dose donne des résultats proches de ceux de la ciclosporine A par voie systémique donnée pendant la même durée avec un taux sanguin de 120 à 150 ng/ml en termes de survie globale du greffon et de survie sans rejet à trois ans (Reis, 1999, 2001 ; Reinhard, 2001). Bien que le mycophénolate mofétil soit mieux toléré que la ciclosporine chez les patients transplantés rénaux, les effets secondaires rapportés après greffe de cornée sont suffisamment graves pour inciter à la plus grande prudence dans l'utilisation de cette drogue. Il s'agit d'un lymphome de Hodgkin, d'une récurrence de neurinome de l'acoustique et d'une hépatotoxicité. Les autres effets adverses possibles sont des tumeurs cutanées, des diarrhées, des vomissements, des leucopénies et des infections systémiques. Il est indispensable de prendre l'avis d'un médecin interniste avant de poser l'indication d'un traitement préventif par mycophénolate mofétil.

D'autres traitements immunosuppresseurs ont été utilisés, essentiellement en expérimentation animale, pour prévenir le rejet. Il s'agit des anticorps monoclonaux dirigés contre des molécules d'adhésion (CD4, ICAM-1, LFA-1, CD3, CD6, CD52). Leur utilisation chez l'homme reste à l'heure actuelle du domaine des essais thérapeutiques (Ippoliti, 1989).

4.5.3. Suivi du patient

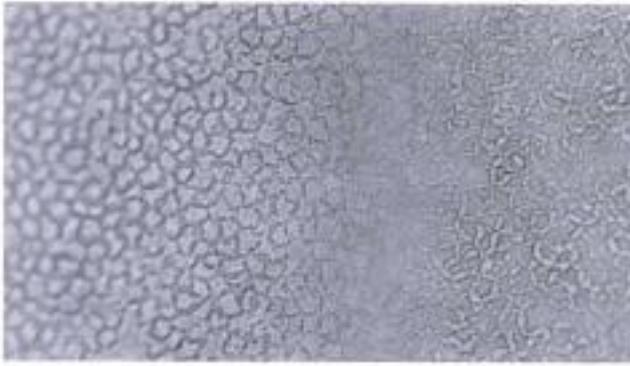
Le suivi des patients greffés est un élément majeur du pronostic de la greffe. Les complications postopératoires sont le plus souvent réversibles et corrigibles à condition qu'elles soient diagnostiquées et traitées précocement. Le rythme du suivi est d'abord quotidien dans la période postopératoire immédiate, puis hebdomadaire, puis mensuel, puis trimestriel, puis semestriel, et enfin annuel. Les éléments minimaux du suivi sont l'acuité visuelle corrigée, la réfraction subjective (sphère, cylindre et axe), l'examen à la lampe à fente, le fond d'œil (sans dilatation), la prise de pression intraoculaire à l'aplantation et la mesure de l'épaisseur centrale du greffon par pachymétrie ultrasonore.

Les pachymètres ultrasonores mesurent le temps de parcours des ultrasons entre l'interface film lacrymal-cornée et l'interface cornée-humeur aqueuse.

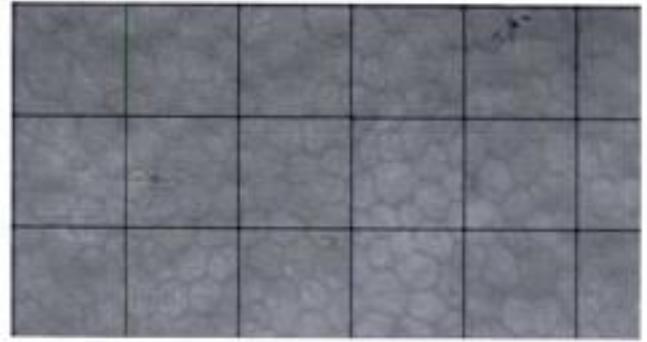
L'épaisseur cornéenne est déduite en prenant comme vitesse du son dans la cornée 1640 m/s. Pour que la mesure soit correcte, il est important que la sonde soit parfaitement perpendiculaire à la surface cornéenne et qu'elle soit placée au centre du greffon. Il faut répéter la mesure au moins trois fois pour s'assurer que la mesure est reproductible. Le même instrument doit être utilisé à chaque consultation pour un patient donné car il peut exister des différences de mesures d'un appareil à l'autre ; l'important étant de surveiller l'évolution de l'épaisseur cornéenne en fonction du temps plus que la valeur absolue de celle-ci (Salz, 1983).

L'évaluation morphologique fine de l'endothélium fait appel à la lampe à fente avec un grossissement de 40× et une fente à 30-50° permettant de se mettre en condition de réflexion spéculaire sur la membrane de Descemet, à l'utilisation du verre d'Eisner et à la microscopie spéculaire. L'observation de l'endothélium nécessite une cornée relativement claire. Le principe est celui de la réflexion sur une surface miroir, l'interface endothélio-Descemet-humeur aqueuse, du fait de la différence d'indice de réfraction. L'image spéculaire correspond à la réflexion de la lumière sur les différentes interfaces rencontrées (film lacrymal-épithélium, lames du stroma, endothélio-Descemet-humeur aqueuse). La faible différence d'indice réfractif entre la cornée (1,376) et l'humeur aqueuse (1,336) fait que seul 0,02 % de la lumière incidente est réfléchi par l'endothélio-Descemet. L'humeur aqueuse n'entraîne aucune réflexion donnant une image noire. Les structures ayant un indice de réfraction proche de l'humeur aqueuse donnent une image sombre (faible réflexion) : espaces intercellulaires, plis de la membrane de Descemet, vergetures de la membrane de Descemet. Les structures ayant un indice supérieur à celui de l'humeur aqueuse donnent une image claire (forte réflexion) : pigment, cytoplasme des cellules.

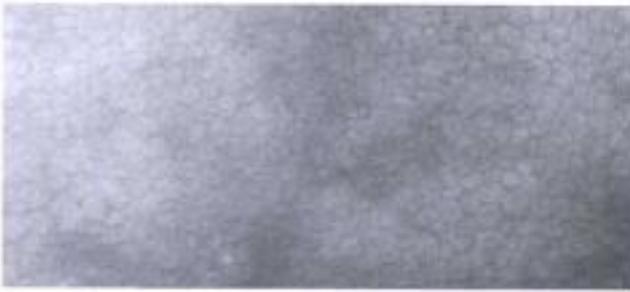
On distingue des techniques sans contact cornéen : lampe à fente et microscopes spéculaires non contact. Au biomicroscope, une cellule de 20 µm a un diamètre apparent de 0,8 mm à l'observation. Cela permet une évaluation très approximative de la densité cellulaire endothéliale. Avec les microscopes spéculaires non contact, le champ d'observation est étroit, seule la partie centrale de l'endothélium est explorable. Ils sont non invasifs mais l'observation est limitée par les anomalies de la transparence cornéenne. Les techniques avec contact cornéen sont la lampe à fente avec un verre de contact et les microscopes spéculaires contact. Le verre de contact permet un comptage cellulaire endothélial approximatif à



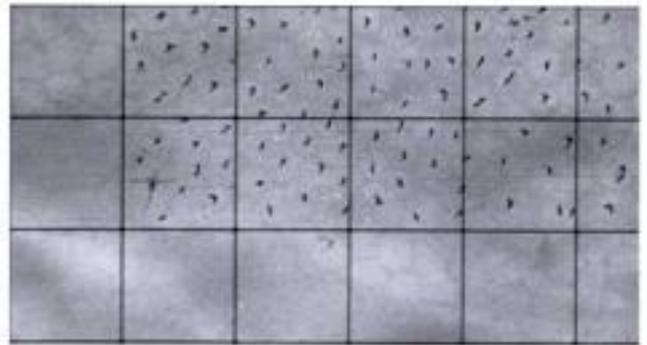
Contrôle endothélial prégreffe après 19 jours d'organo-culture : 3000 cellules/mm².



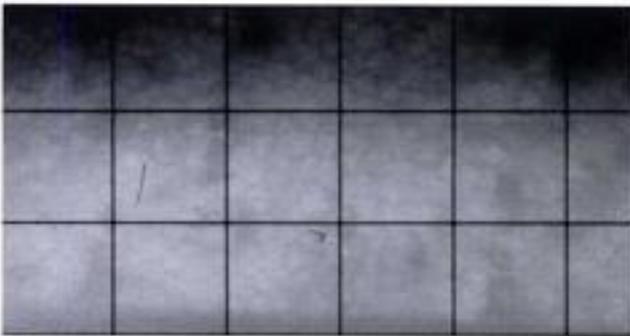
Microscopie spéculaire à M33 : 1500 cellules/mm².



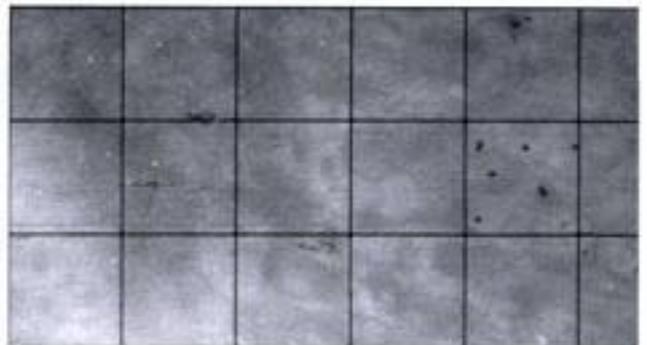
Kératoplastie transfixiante pour dystrophie de Fuchs. Microscopie spéculaire à M6 : 2500 cellules/mm².



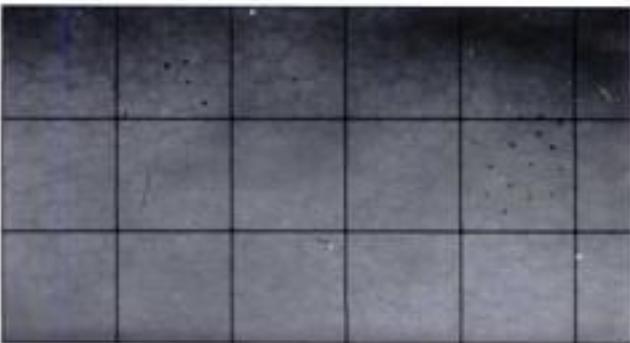
Microscopie spéculaire à M60 : 1100 cellules/mm².



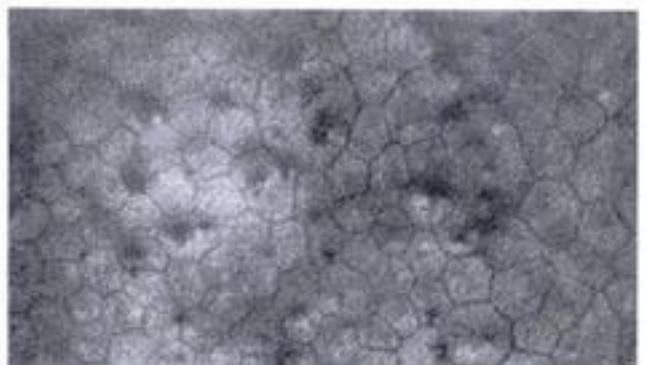
Microscopie spéculaire à M13 : 1800 cellules/mm². Épisode de rejet endothélial caractérisé par des précipités rétro-cornéens noirs en microscopie spéculaire.



Microscopie spéculaire à M84 : 800 cellules/mm². On note l'apparition d'une récidence de la cornea guttata débutante sous forme de plages noires au sein des cellules endothéliales.



Microscopie spéculaire à M15 : 1900 cellules/mm². Disparition des signes de rejet après traitement. Le rejet réversible n'a pas entraîné de perte cellulaire endothéliale.



Microscopie spéculaire à M123 : 650 cellules/mm². Cornea guttata modérée.

l'aide d'un oculaire réticulé. Les microscopes spéculaires contact ont un grand champ d'observation (environ $1 \times 0,5$ mm), avec un grossissement 100 à 130 \times (une cellule de 20 μ m a un diamètre apparent de 2 à 2,6 mm) permettant une analyse de forme de la cellule. La surface observable a un diamètre de 6 mm. L'observation reste possible en cas de pathologie cornéenne. Lorsque l'on utilise un système de grille pour le comptage cellulaire, la précision du comptage est de $\pm 10\%$. Lorsque l'on utilise un système d'analyse d'image, la précision est de 1% avec une détection manuelle des contours des cellules. L'analyse de la morphologie cellulaire endothéliale évalue l'anisocytose (polymégathisme) quantifiée par le coefficient de variation de la surface cellulaire endothéliale (valeur normale : $0,23 \pm 0,04$) et la forme des cellules (pléomorphisme : pourcentage de cellules hexagonales, valeur normale 60-80%). Le polymégathisme et le pléomorphisme traduisent une instabilité de la mosaïque cellulaire endothéliale (cicatrisation endothéliale).

En fonction du délai postopératoire, on aura recours à la topographie cornéenne classique (disque de Placido) ou d'élévation pour analyser de manière détaillée l'astigmatisme postgreffe.

La topographie cornéenne classique repose sur la projection de mires circulaires concentriques sur la cornée avec une étude du reflet cornéen de ces mires. Cela permet, à l'aide d'algorithmes de calcul géométrique, de reconstituer la carte des rayons de courbure de la face antérieure de la cornée (plus exactement, de l'interface air-film lacrymal). Les puissances cornéennes sont calculées secondairement à partir des rayons de courbure. En chaque point de la surface, les algorithmes axial et tangentiel mesurent chacun un rayon de courbure selon une direction radiaire dans un plan méridional contenant le point étudié et l'axe de référence de l'appareil. L'algorithme axial repose sur une modélisation sphérique de la cornée, ce qui implique que le centre du « rayon » de courbure se projette nécessairement sur l'axe de référence. L'algorithme tangentiel suppose une forme asphérique, permettant au centre du rayon de courbure tangentiel de ne pas se situer sur l'axe de référence. Le rayon tangentiel mesure donc le rayon de courbure « réel ». Les rayons de courbure axial et tangentiel sont identiques au niveau de l'axe de référence et dans le cas d'une surface parfaitement sphérique. L'algorithme axial a l'avantage d'être très reproductible et de donner une mesure fiable de l'astigmatisme. L'algorithme tangentiel est très sensible aux variations locales de courbure, d'où son intérêt pour le dépistage des kératocônes et en contactologie. Très sensible au bruit de fond, l'algorithme tangentiel est moins reproductible et moins fiable que l'algorithme axial pour la mesure de l'astigmatisme.

L'application de la formule des dioptries sphériques permet de convertir les rayons de courbure en puissances (D) à partir des indices de réfraction :

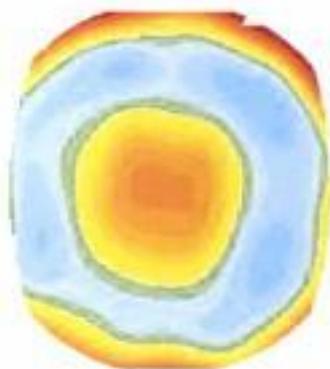
$$\text{Puissance} = (N - 1) / \text{rayon de courbure},$$

1 étant l'indice de l'air, N celui de la cornée (1,3375).

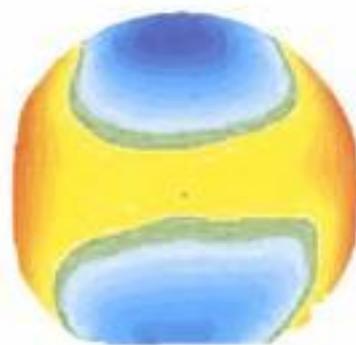
Cette relation est établie à partir des lois de la réfraction de Descartes ($n_1 \sin i_1 = n_2 \sin i_2$) et de l'approximation des petits angles qui permet de confondre les angles, leur sinus et leur tangente quand les rayons incidents et réfractés sont peu inclinés, c'est-à-dire proches de l'axe géométrique (hypothèse para-axiale). Les résultats des examens vidéo-kératoscopiques sont le plus souvent représentés par des cartes colorées de puissance (en dioptries) qui sont en réalité des cartes de courbure. En effet, la correspondance entre courbure et puissance n'est acceptable qu'au niveau central. La formule qui permet la conversion du rayon de courbure en puissance n'est plus valable quand on s'écarte trop de l'axe du dioptré.

La puissance réfractive est calculée par application des lois de la réfraction de Snellen. Contrairement aux puissances axiale et tangentielle, la puissance réfractive vise à traduire les propriétés réfractives de la face antérieure de la cornée. Elle tient compte, en particulier, de l'aberration de sphéricité. Cette aberration géométrique se traduit par une augmentation de la puissance réfractive en périphérie d'une sphère. À la différence de la puissance réfractive, la puissance axiale et plus encore la puissance tangentielle diminuent du centre vers la périphérie, du moins pour les asphéricités courantes. L'aspect des cartes en puissance réfractive est donc généralement différent des cartes en puissance axiale ou tangentielle avec souvent une direction orthogonale du « sablier ». Au centre cependant, les puissances réfractive, axiale et tangentielle sont identiques. La puissance réfractive est la seule puissance qui évalue la contribution de la cornée à la qualité de l'image. En pratique, les algorithmes axial et en pouvoir réfractif sont les plus intéressants pour décrire la topographie d'une cornée greffée, l'algorithme tangentiel donnant des résultats peu pertinents et mal corrélés à la réfraction subjective.

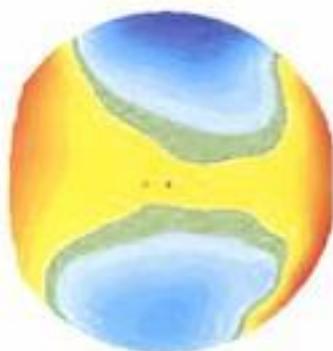
L'Orbscan utilise un système de balayage de la cornée par une fente lumineuse et reconstitue la carte d'élévation de la face antérieure et de la face postérieure de la cornée selon un principe de triangulation. Cet appareil possède également un système de topographie classique (disque de Placido). Il permet une mesure de la profondeur de la chambre antérieure reproductible et bien corrélée aux résultats de l'échographie, une évaluation de l'angle iridocornéen ainsi qu'une mesure de l'épaisseur cornéenne reproductible et bien corrélée à la mesure faite en pachymétrie ultra-



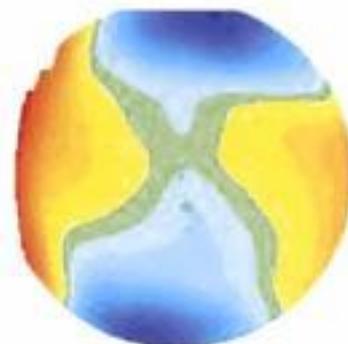
Ilôt



Coniche régulière



Corniche irrégulière



Selle



Irrégulière ou inclassable

sonore mais avec une surestimation de l'épaisseur du greffon par rapport à cette dernière technique (Allouch, 2001 ; Touzeau, 2001a). Ces mesures sont faites par soustraction des élévations mesurées selon l'axe perpendiculaire à la tangente à la cornée au point étudié. L'Orbscan peut fournir des cartes de courbure de la face antérieure de la cornée similaires à celles obtenues avec n'importe quel vidéokératoscope. Pour reconstruire la face antérieure de la cornée, l'algorithme peut fonctionner en mode « non-arc step », c'est-à-dire n'utiliser aucune des données de l'élévation comme pour la vidéokératoscopie. Seuls sont utilisés la pente et le rayon de courbure de la face antérieure de la cornée calculés par réflexion des mires du disque de Placido, comme pour la vidéokératoscopie classique. À partir de ces données, les algorithmes axial et tangentiel reconstruisent la face antérieure de la cornée suivant des hypothèses différentes sur la forme de la cornée.

Contrairement aux cartes de courbure du Placido qui nécessitent deux classifications (forme et profil d'asphéricité) pour décrire l'ensemble des situations, les cartes d'élévation antérieure peuvent être décrites par une classification unique (classification de Liu). La carte d'élévation intègre à la fois l'asphéricité et la toricité de la cornée et semble donc plus anatomique. Alors que la classification des cartes d'élévation n'est pas significativement corrélée au cylindre subjectif ou au coefficient d'asphéricité, elle est significativement corrélée au rapport du cylindre sur le coefficient d'asphéricité. L'aspect de la carte d'élévation antérieure est donc influencé par l'équilibre entre l'asphéricité et la toricité. Quand l'asphéricité prédomine par rapport à la toricité, on retrouve très fréquemment une forme en ilot (couleur chaude centrale, couleurs froides en périphérie). Au contraire, quand la toricité prédomine par rapport à l'asphéricité, la carte prend volontiers un aspect de selle. Aucune relation statistique n'a été retrouvée entre les différentes classifications des cartes issues du Placido et des cartes issues de la fente. Par ailleurs, les cartes d'élévation antérieure et postérieure ne sont pas superposables, ce qui n'est pas étonnant compte tenu de l'absence de parallélisme entre les deux surfaces cornéennes. Les cartes d'élévation ne sont pas établies à partir des valeurs absolues de l'élévation mais à partir de l'élévation relative par rapport à une surface de référence choisie. Ceci explique l'influence déterminante de la surface de référence sur l'aspect des cartes d'élévation. Ainsi, une même cornée peut changer d'aspect par simple changement de la surface de référence, que ce soit dans le choix de la géométrie (sphérique ou elliptique), des contraintes géométriques, ou du diamètre cornéen utilisés pour sa détermination. Le choix d'un petit diamètre cornéen central (0-5 mm) permet une meilleure analyse de la région centrale et visualise mieux le facteur toricité au

détriment du facteur asphéricité (augmentation de fréquence des formes en « corniche incomplète »). Les classifications ne sont pas stables et sont susceptibles de modification après une chirurgie cornéenne, qu'elle soit à visée réfractive ou non, ou même après ablation de suture. L'axe de l'astigmatisme est facilement visualisé avec les cartes de courbure issues du Placido (axiale ou tangentielle), avec le plus souvent une forme en sablier prolata dont le grand axe correspond à l'axe de l'astigmatisme (en cylindre positif). La visualisation de l'astigmatisme est beaucoup moins aisée avec les cartes d'élévation et surtout avec les cartes gaussiennes. Sur les cartes d'élévation, l'axe (positif) de l'astigmatisme relie souvent deux régions situées en dessous de la sphère de référence (couleurs froides). Les couleurs des cartes d'élévation sont souvent inversées par rapport aux couleurs des cartes de courbure axiales ou tangentielles.

D'autres techniques peuvent être utiles pour une analyse fine, mais elles ne sont habituellement pas utilisées en routine : sensibilité au contraste, aberrométrie, biomicroscopie ultrasonore avec des sondes à très haute fréquence (50-100 MHz), microscopie confocale, OCT, HRT.

4.5.4. Gestion des sutures

La gestion postopératoire des sutures doit permettre de guider la cicatrisation et diminuer l'astigmatisme postgreffe. Celui-ci est étudié en kératométrie, en réfraction subjective, en biomicroscopie après instillation de fluorescéine et en vidéokératoscopie. D'une manière générale, un fil desserré doit être enlevé car il est source d'irritation, d'infection, de néovascularisation et finalement de rejet. Lorsque le mode de suture choisi comporte des points séparés, la gestion de l'astigmatisme peut être réalisée par ablation sélective de points. Celle-ci peut être faite après quelques semaines, temps nécessaire à la déturgescence du greffon et à un début de cicatrisation. Il faut noter que la cornée ne cicatrise jamais *ad integrum* : la cicatrice n'acquiert jamais la solidité d'une cornée normale. La cicatrisation est particulièrement longue chez les patients ayant un kératocône. Lorsque le mode de suture fait appel à un surjet seul, le seul moyen pour gérer l'astigmatisme consiste à ajuster la tension du surjet à l'aide d'une pince de Troutman en détendant les zones bombées et en retendant les zones plates (Vajpayee, 2001). Le but de la gestion des sutures est de diminuer l'astigmatisme subjectif. Le choix des points à enlever ou celui des zones de surjet à détendre peut être fait à partir d'une topographie cornéenne ou d'un examen de la cornée greffée en lumière bleue après instillation de fluorescéine (les zones bombées par les points trop serrés sont alors



axial



tangentiél



réfractif



Mean power

Les différents algorithmes de reconstruction de l'Orbscan : Exemple d'un astigmatisme idiopathique direct. Les cartes de courbure (axiale et tangentielle) présentent un bombement central relatif physiologique (asphéricité prolate). Le sablier central a une couleur chaude par rapport à la périphérie. La puissance réfractive prend en compte des aberrations de sphéricité. Malgré l'aplatissement cornéen périphérique physiologique, la puissance réfractive est plus importante au périphérie qu'au centre. Le sablier central a une couleur froide par rapport à la périphérie.

bien visibles). Il faut noter que l'amplitude de la diminution de l'astigmatisme induite par l'ablation d'une suture n'est pas prédictible (Mader, 1993). Une étude prospective randomisée a comparé une technique de suture mixte avec 12 points séparés de nylon 10-0 et un surjet de nylon 11-0 à une technique de surjet simple (surjet de nylon 10-0 avec 24 passages) (Karabatsas 1998). L'ablation sélective des points séparés en cas de suture mixte et l'ajustement de la tension du surjet en cas de surjet simple donnent des résultats similaires en termes de réduction de l'astigmatisme postgreffe et d'astigmatisme résiduel à un an de la greffe.

La physiopathologie de l'astigmatisme post-kératoplastie est parfois complexe et peut nécessiter un traitement adapté. Ainsi, un décalage peut nécessiter une reprise de cicatrice, un excès tissulaire une résection.

Le choix de laisser en place à long terme ou d'enlever la totalité des sutures est parfois difficile à faire. En effet, il n'est pas rare de voir un astigmatisme postopératoire modéré devenir géant après ablation de toutes les sutures, même plusieurs années après la greffe. À l'inverse, lorsqu'il existe une néovascularisation traversant la cicatrice, celle-ci est en règle solide et l'astigmatisme est moins modifié par l'ablation des sutures. Les fils doivent alors impérativement être enlevés (quel que soit le délai postopératoire) pour éviter l'étape suivante (le rejet). Chez l'enfant, les fils doivent être enlevés beaucoup plus tôt que chez l'adulte. Enfin il n'y a pas d'inconvénient à laisser en place les fils d'un patient dont on aura fait diminuer l'astigmatisme postopératoire à une valeur raisonnable qui lui autorise une bonne acuité visuelle avec une correction en lunette bien supportée, si par ailleurs la cornée reste parfaitement avasculaire et que les fils ne se desserrent pas. Il faut avertir le patient qu'il doit consulter sans attendre en cas de gêne ou de douleur. À long terme, le monofilament finit par se désagréger et se rompre. Les sutures rompues doivent alors être enlevées. L'érosion des sutures survient en moyenne 33 mois après la greffe (extrêmes : 1 mois à 12 ans). Les facteurs de risque d'érosion des sutures sont le délai postopératoire, le siège supérieur des sutures, les collyres corticoïdes et l'inflammation (Dana, 1995). Les possibilités de surveillance du patient et son observance du traitement sont à prendre en compte dans le choix de laisser en place ou d'enlever des sutures. Il est préférable de ne pas laisser en place les fils lorsque l'observance du traitement est mauvaise ou que le suivi est irrégulier. Habituellement, il est souhaitable de laisser en place la plupart des sutures pendant au moins 12 à 18 mois. Une ablation plus précoce de

l'ensemble des sutures pouvant entraîner un décalage de la cicatrice voire son ouverture.

4.5.5. Correction optique

L'emmétropie est exceptionnelle après kératoplastie et une correction optique de l'erreur réfractive postopératoire est dans l'immense majorité des cas nécessaire. Cette erreur correspond à l'astigmatisme postgreffe combiné à l'erreur réfractive préopératoire (myopie, hypermétropie) et à celle induite par la greffe (il s'agit souvent d'une myopisation). Le plus souvent, cette correction peut être faite par un verre correcteur. Cela a l'avantage de ne pas avoir d'effet délétère sur le greffon. Parfois, l'astigmatisme étant trop irrégulier, le cylindre ou l'anisométrie trop importants, on adaptera le patient en lentille de contact. Néanmoins, le port de lentille diminue l'apport d'oxygène aux cellules endothéliales, ce qui n'est pas souhaitable après kératoplastie transfixiante compte tenu de la physiologie des cellules endothéliales greffées. Il semble donc préférable de prescrire un verre de lunette plutôt qu'une lentille de contact à chaque fois que cela est possible. Il faut noter que les patients greffés supportent souvent bien un cylindre élevé de l'ordre de 5 D. Habituellement, un premier verre correcteur provisoire peut être prescrit après quelques mois, temps nécessaire à la déturgescence du greffon et à une première gestion des sutures (ablation sélective de points séparés ou rotation du surjet).

La réfraction subjective d'un œil greffé est souvent un exercice difficile. Elle est facilitée par les données de la kératométrie automatique ou au Javal, de l'autoréfractométrie et de la topographie cornéenne. Pour déterminer la valeur du cylindre, le cylindre de la topographie en algorithme axial et celui fourni par le Holladay Diagnostic Summary du topographe EyeSys sont les plus utiles car ils présentent la meilleure corrélation avec le cylindre subjectif. Pour déterminer l'axe, la kératométrie est la méthode la plus précise (Touzeau, 1997). L'importance du cylindre est un des facteurs majeurs de limitation de l'acuité visuelle après kératoplastie transfixiante, dont l'effet de loin supérieur à celui de l'irrégularité de la surface cornéenne. Ainsi, on retrouve après greffe une corrélation entre l'acuité visuelle corrigée et le cylindre de l'astigmatisme total du topographe EyeSys (plus l'astigmatisme est élevé, plus l'acuité visuelle corrigée est basse), alors que les indices décrivant l'irrégularité de la surface cornéenne ne sont pas corrélés à l'acuité visuelle corrigée (Borderie, 1999g). Enfin, le film lacrymal doit être suffisant et régulier lorsque l'on réalise l'examen car un mauvais étalement modifie profondément la topographie cornéenne (Pavlopoulos, 1995).

Traitement postopératoire et suivi d'une kératoplastie transfixiante

- Le traitement postopératoire comporte un collyre corticoïde associé à un collyre antibiotique.
- Chez les patients à faible risque de rejet (cornée avasculaire, pas d'antécédent de rejet), on peut débiter le traitement par trois à quatre instillations quotidiennes et le terminer avec une instillation tous les deux jours, le collyre corticoïde étant habituellement arrêté après un délai de six à 24 mois. La corticothérapie locale peut être arrêtée lorsque tous les fils sont enlevés ou plus tôt si l'on n'envisage pas de les enlever.
- Chez les patients à haut risque de rejet (2 quadrants de néovascularisation stromale et/ou antécédent de rejet) et chez les patients aphakes ou pseudophakes, le rythme initial d'administration sera plus soutenu. Il est de plus prudent de garder au long cours une corticothérapie locale minimale.
- La prévention du second set syndrome (rejet de la greffe du premier œil après la greffe du deuxième œil) est faite en prescrivant un collyre corticoïde sur le premier œil lors de la greffe du deuxième œil.
- Les deux principaux effets secondaires des collyres corticoïdes au cours des kératoplasties transfixiantes sont l'augmentation de la pression intraoculaire, elle-même nocive pour l'endothélium du greffon, et l'effet cataractogène.
- La place de la ciclosporine topique dans le traitement préventif du rejet est encore discutée.
- Les bolus intraveineux de méthylprednisolone sur trois jours peuvent être utilisés à titre systématique ou en cas de greffe à haut risque de rejet en l'absence de contre-indication.
- En cas de kératite herpétique, un traitement oral antiherpétique préventif est prescrit.
- Le suivi des patients greffés est un élément majeur du pronostic de la greffe, les complications postopératoires étant le plus souvent réversibles à condition d'être diagnostiquées et traitées précocement.
- Le rythme du suivi est d'abord quotidien dans la période postopératoire immédiate, puis hebdomadaire, puis mensuel, puis trimestriel, puis semestriel, et enfin annuel.
- Les éléments minimaux du suivi sont l'acuité visuelle corrigée, la réfraction subjective (sphère, cylindre et axe), l'examen à la lampe à fente, le fond d'œil (sans dilatation), la prise de pression intraoculaire à l'aplanation et la mesure de l'épaisseur centrale du greffon par pachymétrie ultrasonore.
- En fonction du délai postopératoire, on aura recours à la topographie cornéenne classique (disque de Placido) ou d'élévation pour analyser de manière détaillée l'astigmatisme postgreffe.
- La gestion postopératoire des sutures doit permettre de guider la cicatrisation et diminuer l'astigmatisme postgreffe.
- Lorsque le mode de suture choisi comporte des points séparés, la gestion de l'astigmatisme peut être réalisée par ablation sélective de points. Celle-ci peut être faite après quelques semaines.
- Lorsque le mode de suture fait appel à un surjet seul, le seul moyen pour gérer l'astigmatisme consiste à ajuster la tension du surjet à l'aide d'une pince de Troutman en détendant les zones bombées et en retendant les zones plates.
- Habituellement, il est souhaitable de laisser en place la plupart des sutures pendant au moins 12 à 18 mois, une ablation plus précoce de l'ensemble des sutures pouvant entraîner un décalage de la cicatrice voire son ouverture.
- Un fil desserré doit être enlevé car il est source d'irritation, d'infection, de néovascularisation et finalement de rejet.
- Lorsqu'il existe une néovascularisation traversant la cicatrice, celle-ci est en règle solide et l'astigmatisme est moins modifié par l'ablation des sutures.
- Habituellement, un premier verre correcteur provisoire peut être prescrit après quelques mois, temps nécessaire à la déturgescence du greffon et à une première gestion des sutures.
- Parfois, l'astigmatisme étant trop irrégulier, le cylindre ou l'anisométrie trop importants, on adaptera le patient en lentille de contact.

5. Évolution normale d'une kératoplastie transfixiante

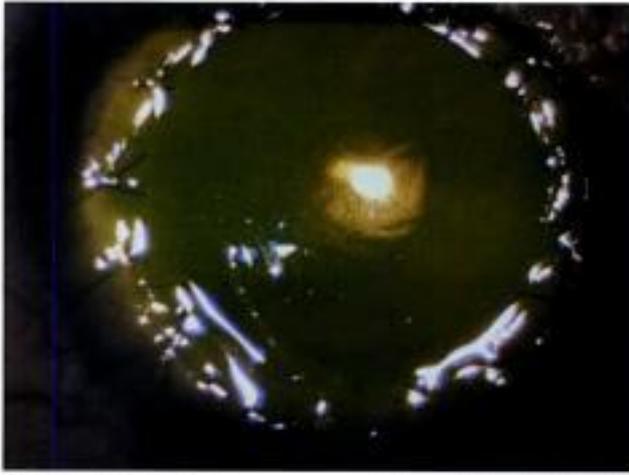
5.1. Réépithélialisation du greffon

Après kératoplastie, le greffon est habituellement fluo +. Il se réépithélialise de la périphérie vers le centre en un temps variable en fonction des patients, de l'ordre de quelques jours (4 à 5 jours en moyenne) (Borderie, 1999d). L'utilisation de hyaluronate de sodium en peropérateur pour protéger l'épithélium permet dans notre expérience d'obtenir un délai de réépithélialisation du greffon beaucoup plus court, souvent inférieur à 24 heures. L'utilisation d'épidermal growth factor (EGF) recombinant humain n'a pas permis d'accélérer le délai de réépithélialisation du greffon (Dellaert, 1997 ; Ho, 1975). L'utilisation des collyres corticoïdes, quelle que soit la fréquence d'instillation, ne modifie pas la durée de la réépithélialisation du greffon (Ho, 1975 ; Sugar, 1984).

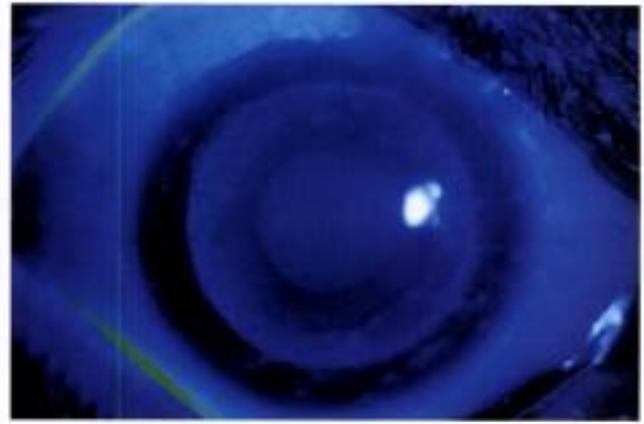
Dans les jours et les semaines qui suivent la greffe, la présence d'une kératite ponctuée superficielle et d'une irrégularité de l'épithélium cornéen est constante.

5.2. Rupture de la barrière hémato-aqueuse

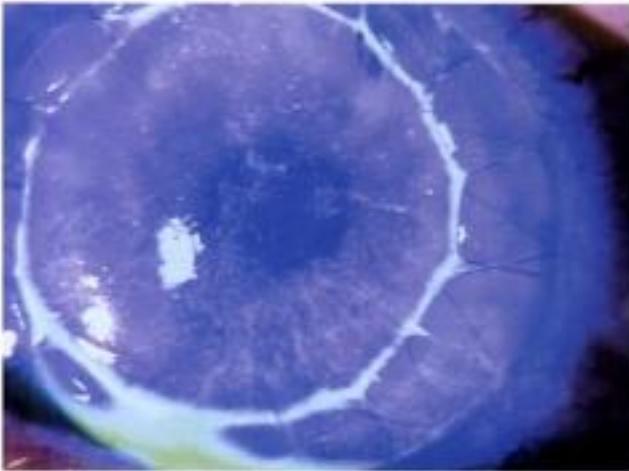
Après kératoplastie transfixiante, il existe une rupture de la barrière hémato-aqueuse objectivée par tyndallométrie laser. Celle-ci diminue entre six semaines et trois mois postopératoires. Cette rupture de la barrière hémato-aqueuse est plus importante en cas de chirurgie combinée à une chirurgie de la cataracte ou un changement d'implant qu'en cas de greffe simple. Elle est plus importante après greffe pour une kératopathie bulleuse ou pour un échec de greffe qu'après kératoplastie pour kératocône. Enfin, la persistance d'un flare élevé peut être associée à un rejet ultérieur (Ma, 2003).



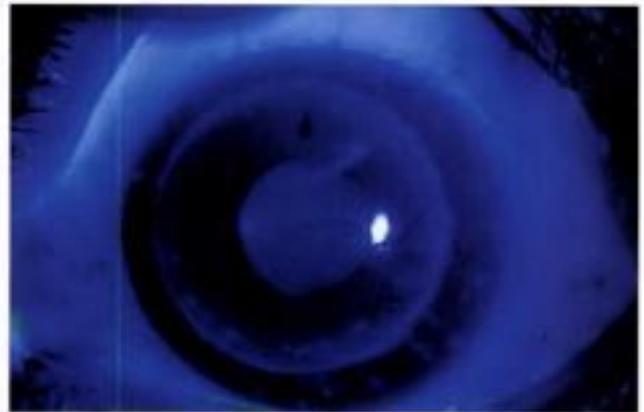
Aspect de l'épithélium cornéen à 11 après instillation de fluorescéine : greffon non réépithélialisé. L'épithélium du donneur a desquamé et n'est que partiellement remplacé par celui du receveur.



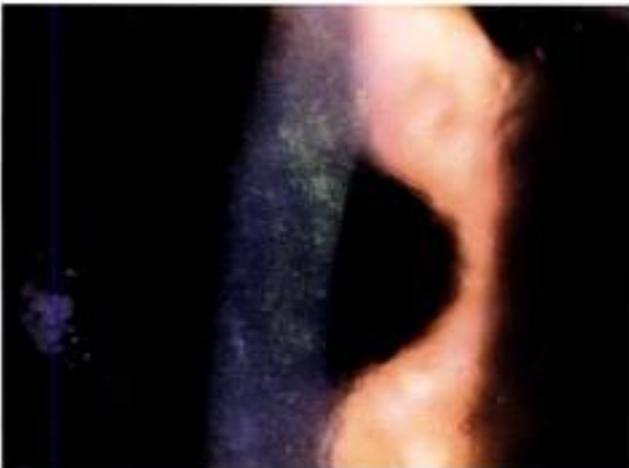
Kératoplastie transfixiante pour kératocône. Aspect à M10 après instillation de fluorescéine. Acuité visuelle 9/10.



Greffon totalement réépithélialisé dès le lendemain de l'intervention.



Kératoplastie transfixiante pour kératocône. Aspect à 4 ans après instillation de fluorescéine. Acuité visuelle 9/10.



Même patiente : l'épithélium est très irrégulier. Il prend ponctuellement la fluorescéine (kératite ponctuée superficielle).

5.3. Évolution de l'endothélium cornéen

Après kératoplastie, l'endothélium cornéen subit des modifications morphologiques et il s'appauvrit avec le temps. Au niveau de la cicatrice se forme une nouvelle membrane de Descemet qui va relier la Descemet du greffon à celle du receveur pendant le 1^{er} semestre. Si cette cicatrisation descemétique ne se fait pas, une membrane fibreuse issue du stroma peut se développer en arrière du greffon. La diminution de la population cellulaire endothéliale après greffe se fait en plusieurs phases avec une perte cellulaire endothéliale précoce fonction des lésions de conservation et du traumatisme chirurgical et maximal au voisinage de la cicatrice.

La perte cellulaire endothéliale peut être modélisée en fonction du temps. Les modèles les plus simples ne comportent qu'une seule phase. Le modèle linéaire a pour postulat que la perte cellulaire endothéliale annuelle reste constante avec le temps (chaque année le greffon perd le même nombre de cellules endothéliales). À court terme (2 à 3 ans), il permet de décrire 83 % de la variabilité de l'évolution de la densité endothéliale (Bohringer, 2001). Un modèle exponentiel peut être réalisé en choisissant une échelle logarithmique pour exprimer la densité cellulaire endothéliale. Ce modèle logarithmique permet de décrire 86 % de la variabilité de l'évolution de la densité endothéliale à court terme (Bohringer, 2001). Dans ce modèle, la perte cellulaire moyenne a été évaluée à 16,7 % par an pendant les trois premières années. Elle est d'autant plus importante que le délai post mortem est long et que le donneur est âgé (Bohringer, 2002).

Les modèles à une seule phase ne permettent pas de décrire séparément l'effet des divers événements qui agissent sur l'endothélium cornéen (anoxie post mortem, lésions de conservation, traumatisme chirurgical, lésions postopératoires, etc.). Ils sont probablement trop simplistes même s'ils peuvent être satisfaisants à court terme.

Le modèle classique de Bourne décrit une perte de 20 %/an pendant trois ans, puis une perte physiologique due au vieillissement (0,5 %/an) (Bourne, 1983a). Néanmoins, le même auteur décrit par la suite une perte cellulaire entre trois et cinq ans de 7,8 %/an, ce qui est plus important que la perte physiologique (Bourne, 1994). Ce taux de perte cellulaire annuel entre trois et cinq ans est indépendant de l'âge du donneur et de celui du receveur. Cela pose la question de l'existence d'un rejet chronique endothélial, de la migration des cellules du greffon vers la cornée du receveur (mais les kératocônes perdent autant de cellules que les dystrophies de Fuchs) et de l'existence d'un dérèglement du système de régulation de la survie cellulaire endothéliale avec augmentation de

l'apoptose ou de la nécrose cellulaire. Les facteurs influençant la perte cellulaire endothéliale sont controversés. Il s'agit de la densité endothéliale préopératoire (après conservation en organo-culture, plus le greffon est riche, plus la densité endothéliale postopératoire est grande [Borderie, 1998e] ; après conservation à +4 °C, plus le greffon est riche et plus la perte cellulaire postopératoire est importante [Musch, 1993]), de l'âge du receveur (après conservation à +4 °C, plus le receveur est âgé, plus la perte [%] à un an est grande [Musch, 1993]), de l'indication opératoire (les kératopathies bulleuses ont une perte cellulaire à un an plus grande que les kératocônes [Borderie, 1998e ; Musch, 1993]). La méthode de conservation (organo-culture vs conservation hypothermique) n'influence pas la perte cellulaire endothéliale après greffe (Rijnveld, 1992). En microscopie spéculaire, on observe un polymégathisme et un pléomorphisme, marqueurs d'instabilité endothéliale.

Armitage propose un modèle biphasique obtenu par modélisation mathématique de mesures successives de la densité endothéliale chez des patients greffés, chez des patients opérés de cataracte par extraction extracapsulaire et chez des patients témoins (Armitage, 2003) :

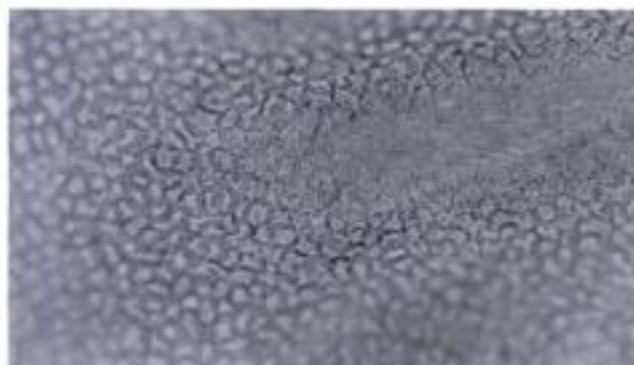
$$\text{densité} = [p \times (e^{-at})] + [q \times (e^{-bt})].$$

La somme des deux coefficients p et q est égale à la densité endothéliale au temps $t = 0$. Ce modèle est applicable à la perte cellulaire endothéliale après greffe de cornée, mais aussi à la perte cellulaire endothéliale liée au vieillissement ou à celle qui suit une chirurgie de la cataracte. Pendant la première phase, la densité endothéliale diminue rapidement tandis que le rythme de perte cellulaire est beaucoup plus lent pendant la phase tardive. La demi-vie de la phase tardive conditionne la longévité de l'endothélium.

À partir des travaux de Bourne (2001b) qui a suivi en microscopie spéculaire 355 patients greffés entre deux mois ($n = 355$) et 20 ans ($n = 27$), Armitage propose le modèle suivant de décroissance de la population cellulaire endothéliale après kératoplastie transfixiante :

$$\text{densité} = [1458 \times (e^{-0,0802t})] + [1397 \times (e^{-0,0027t})].$$

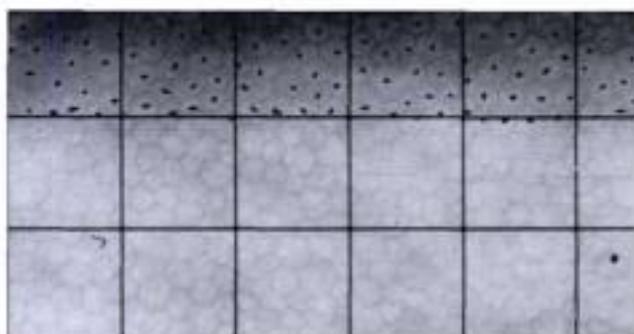
La demi-vie de la phase précoce liée au vieillissement a été évaluée à trois ans, alors qu'elle n'est que de quelques mois après greffe de cornée ou chirurgie de la cataracte. Cette perte cellulaire endothéliale liée à la première composante de l'équation devient négligeable après 15 ans pour le vieillissement, six mois pour la chirurgie de la cataracte et quatre ans pour la kératoplastie transfixiante. Ceci signifie que l'influence du traumatisme opératoire et des complications postopératoires (notamment le rejet) persiste pendant quatre ans après la greffe.



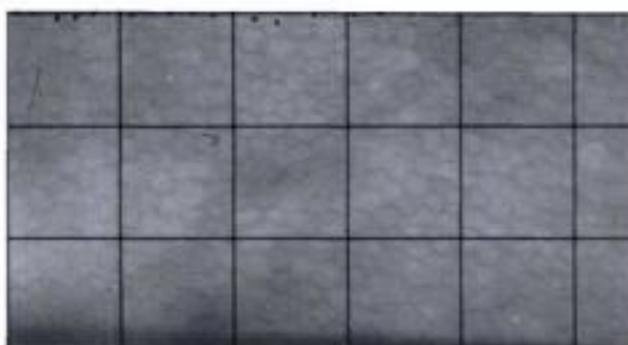
Contrôle endothélial prégreffe après 19 jours d'organo-culture : 3000 cellules/mm².



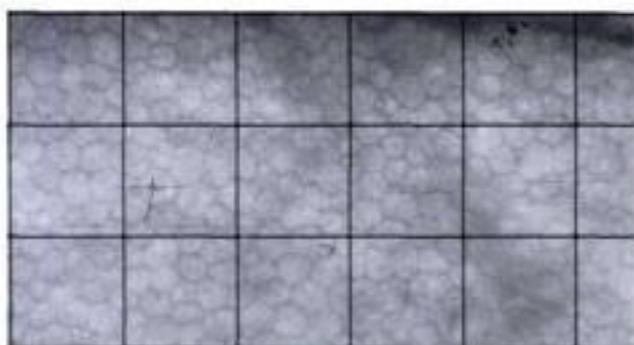
Contrôle endothélial prégreffe après 20 jours d'organo-culture : 2500 cellules/mm².



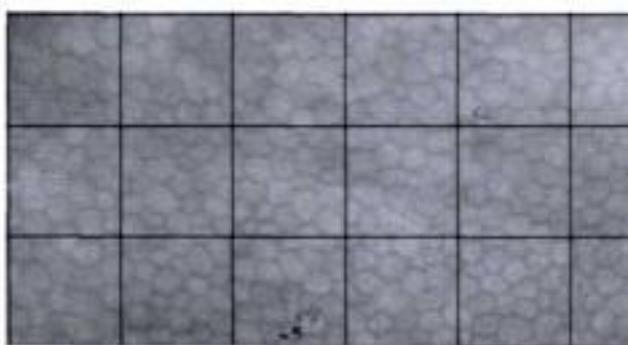
Kératoplastie transfixiante pour kératocône. Microscopie spéculaire à M23 : 1800 cellules/mm².



Kératoplastie transfixiante pour kératocône. Microscopie spéculaire à M17 : 2300 cellules/mm².



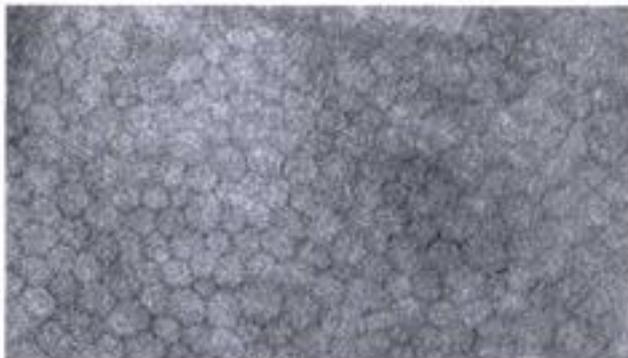
Microscopie spéculaire à M35 : 1600 cellules/mm².



Microscopie spéculaire à M39 : 2100 cellules/mm².



Microscopie spéculaire à M108 : 800 cellules/mm².



Microscopie spéculaire à M98 : 1600 cellules/mm².

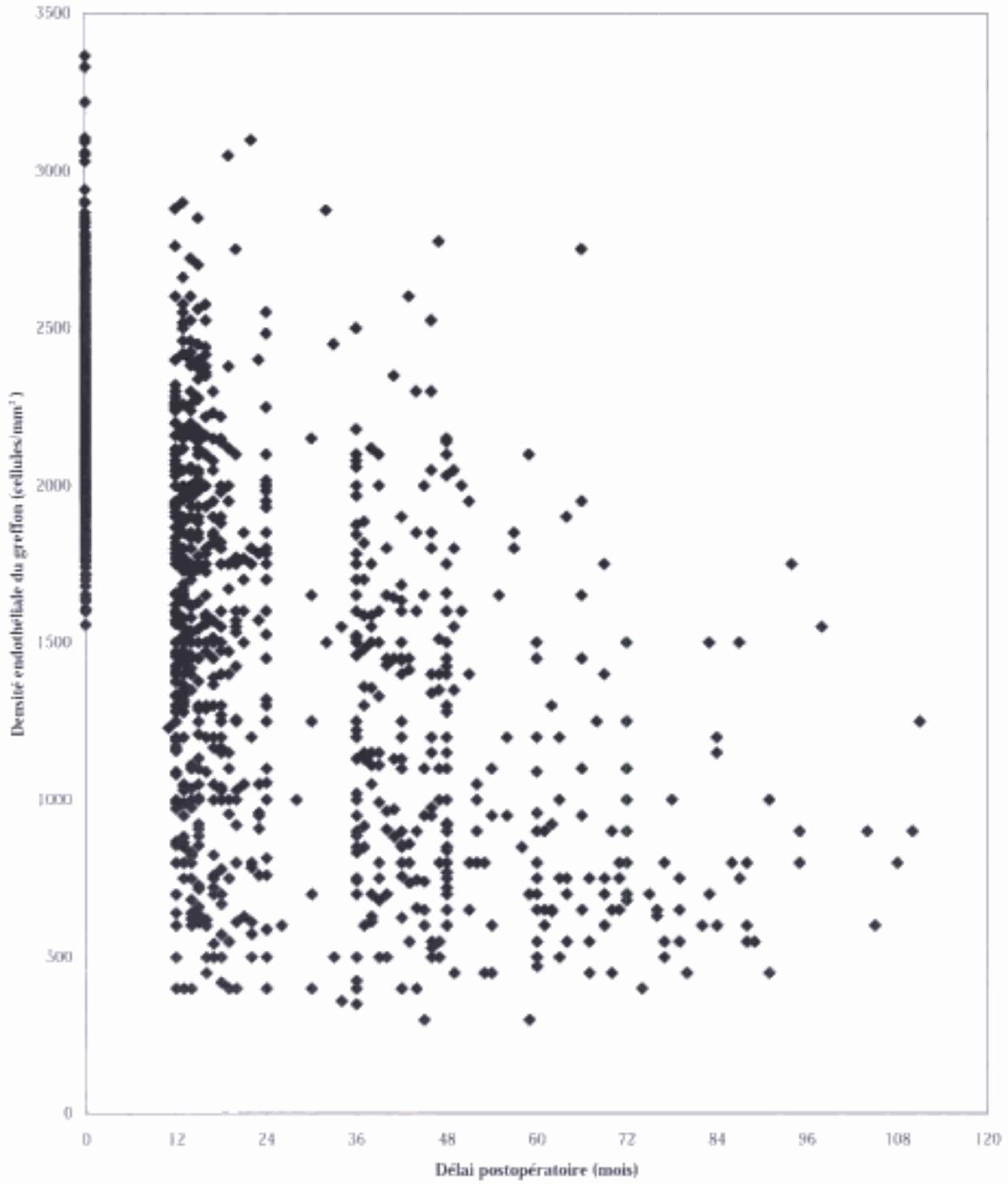
Les greffes en ophtalmologie

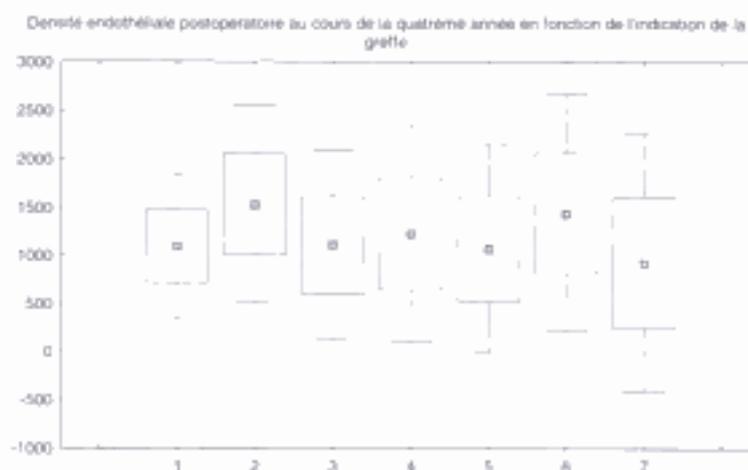
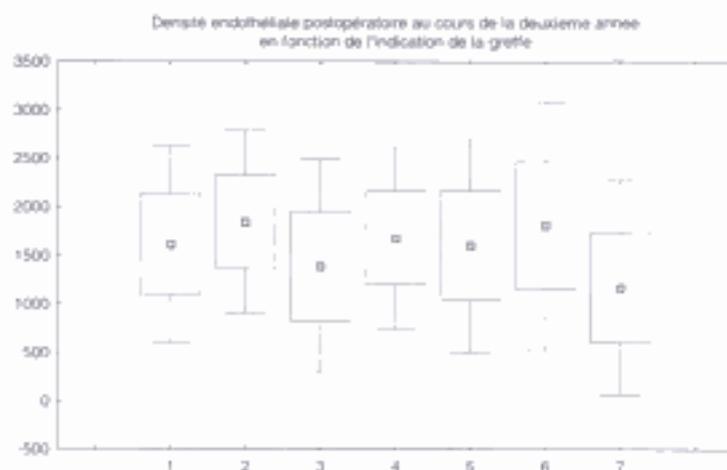
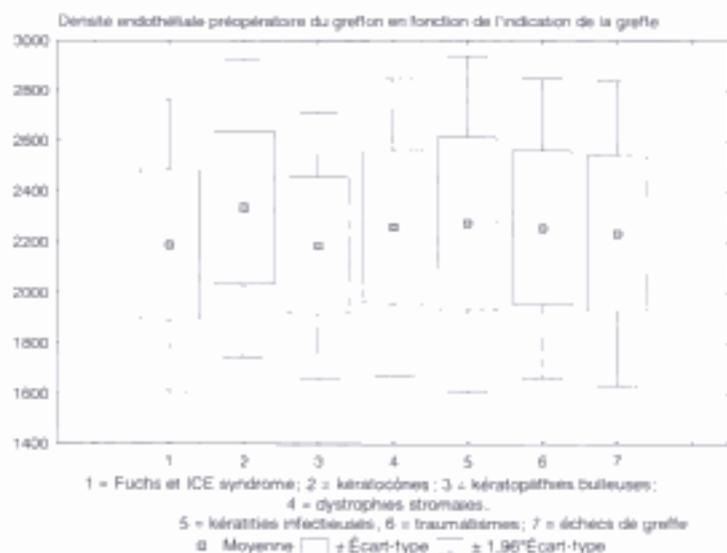
La demi-vie de la phase tardive liée au vieillissement a été évaluée à 224 ans. Celle de la chirurgie de la cataracte a été calculée à 26 ans et celle de la kératoplastie transfixiante a été mesurée à 21 ans (Armitage, 2003). Cela démontre que la physiologie cellulaire de l'endothélium cornéen est profondément modifiée après la greffe (accélération de la perte cellulaire), mais aussi après extraction extracapsulaire de la cataracte, et ce dans les mêmes proportions. Le mécanisme de cette perte cellulaire chronique à long terme serait donc non spécifique et pourrait être déclenché par la rupture de la barrière hématoaqueuse. À partir de ce modèle et en considérant que l'œdème du greffon survient au seuil de 500 cellules/mm², la durée de vie théorique d'un greffon est de 20 à 30 ans si la densité endothéliale prégreffe est comprise entre 2000 et 2500 cellules/mm².

Les données concernant l'évolution de la greffe au-delà de 15 ans sont encore rares. Des résultats concernant 20 yeux greffés avec un recul de 15 à 33 ans par rapport à la kératoplastie transfixiante ont été publiés (Kus, 1999). La densité endothéliale moyenne est d'environ 800 cellules/mm² avec des extrêmes 600 et 1200. Le polymégathisme endothélial est toujours présent, malgré le long délai postopératoire, ce qui témoigne de la persistance d'une instabilité endothéliale.

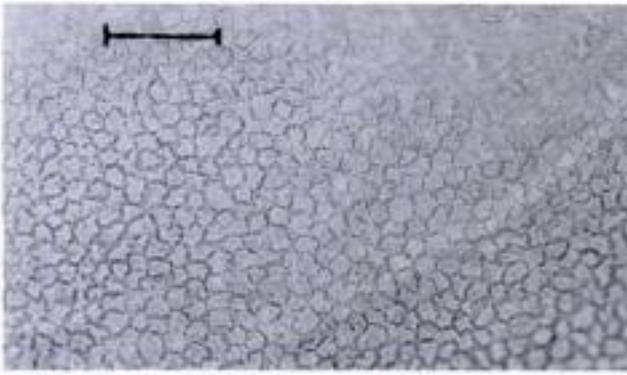
La morphologie cellulaire endothéliale postopératoire comparée à celle du greffon avant l'intervention semble peu modifiée. Harper (1998) rapporte une augmentation modérée du facteur forme des cellules endothéliales sans modification significative du coefficient de variation de la surface cellulaire endothéliale.

Évolution de la densité endothéliale du greffon avec le temps

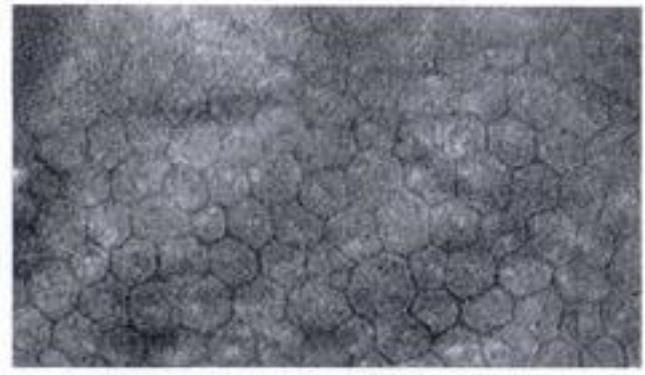




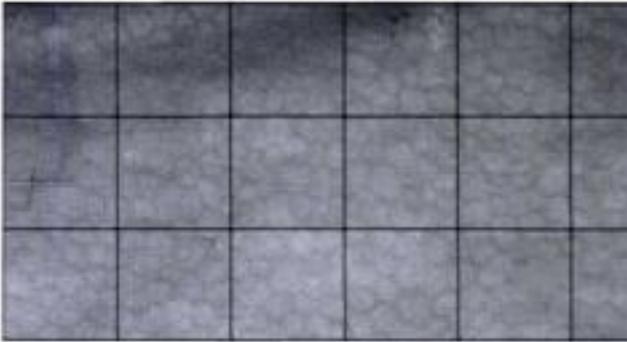
Les kératocônes (2) qui correspondent aux receveurs les plus jeunes ont reçu les greffons les plus riches en cellules. Ils ont également les greffons les plus riches à 2 et 4 ans de la greffe. Le groupe qui perd le plus de cellules avec le temps est celui des échecs de greffe (7).



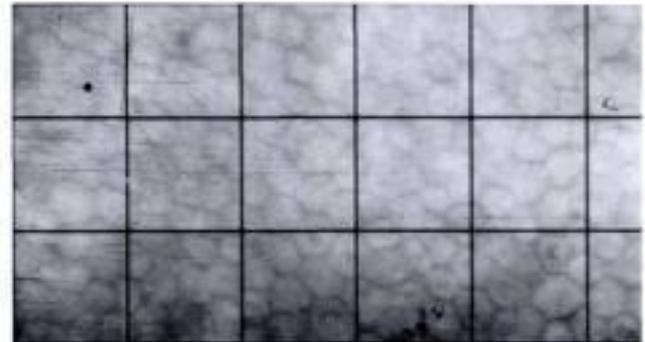
Contrôle endothélial prégreffe après 19 jours d'organo-culture : 2200 cellules/mm².



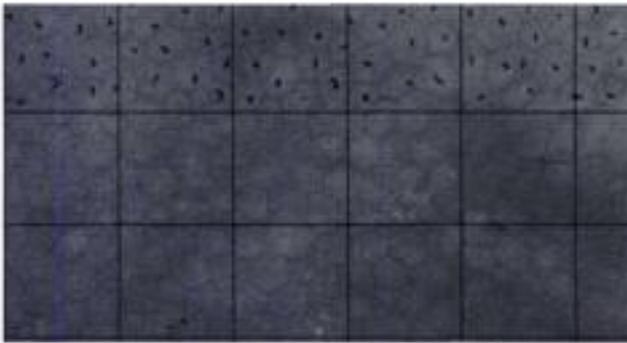
Microscopie spéculaire à M75 : 700 cellules/mm².



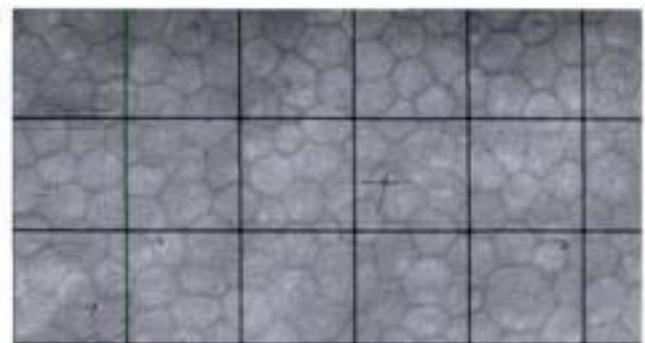
Kératoplastie transfixiante pour kératocône. Microscopie spéculaire à M15 : 2000 cellules/mm².



Microscopie spéculaire à 16 ans d'une kératoplastie transfixiante : 900 cellules/mm².



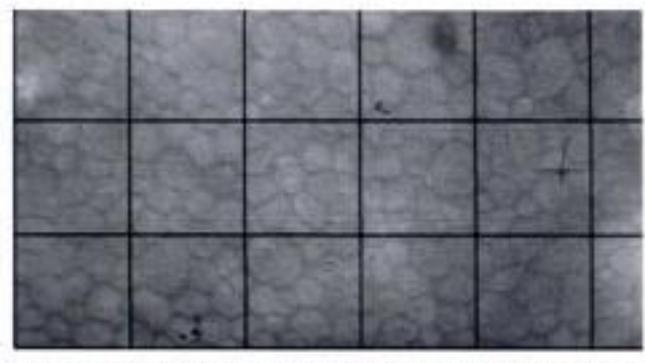
Microscopie spéculaire à M36 : 1200 cellules/mm².



Microscopie spéculaire à 23 ans d'une kératoplastie transfixiante : 700 cellules/mm², polymorphisme important.



Microscopie spéculaire à M60 : 800 cellules/mm².



Microscopie spéculaire à 19 ans d'une kératoplastie transfixiante : la densité cellulaire est relativement élevée, comprise entre 1000 et 1500 cellules/mm², mais il existe un polymorphisme important.

5.4. Évolution de l'épaisseur cornéenne

Les greffons conservés en organoculture (technique de conservation de référence en Europe) ont une épaisseur qui se modifie avec le délai postopératoire. Globalement, on distingue quatre phases : œdème induit par la conservation, déturgescence postopératoire pendant environ un mois, puis amincissement temporaire avec un minimum vers six mois, et enfin retour progressif à une épaisseur normale vers 12–18 mois (Borderie, 1999d ; Ehlers, 1982 ; Geerards, 1993). La conservation du greffon en organoculture induit un œdème stromal qui est artificiellement réduit en incubant le greffon dans un milieu supplémenté en Dextran un à quatre jours avant la greffe (Borderie, 1997c ; Pels, 1993). Cet effet du Dextran disparaît pendant l'intervention (le greffon est plus œdémateux en fin d'intervention qu'au début) et pendant les deux premiers jours postopératoires. Puis les fonctions de pompe et de barrière endothéliales se reconstituent progressivement pendant le premier mois postopératoire.

5.5. Néovascularisation cornéenne

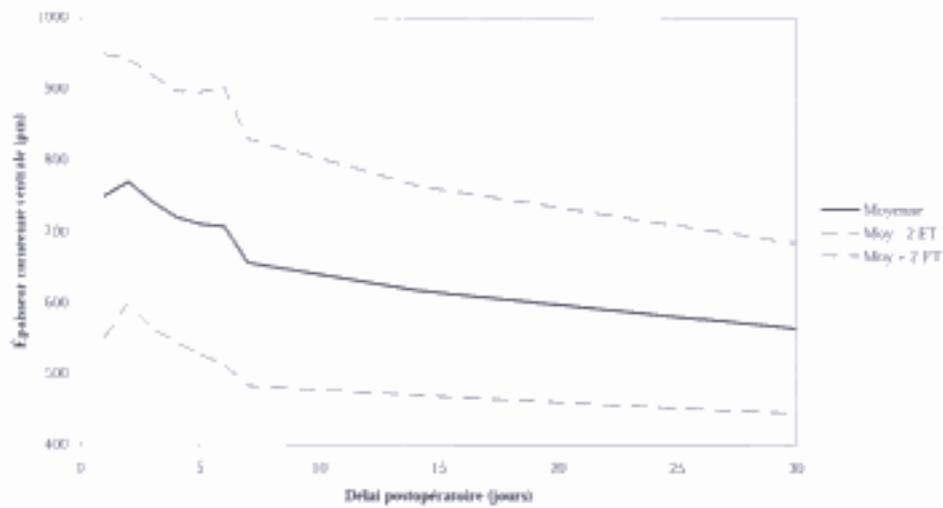
Le développement de néovaisseaux cornéens après la greffe est un phénomène fréquent au niveau de la

cornée réceptrice. Ces néovaisseaux se développent à partir du limbe, entre l'épithélium et la membrane de Bowman, de manière centripète en direction des sutures. Leur fréquence a été évaluée à 58 % à un an chez des receveurs à faible risque de rejet, avec une extension au niveau de la cicatrice dans 12 % des cas (Cursiefen, 2001).

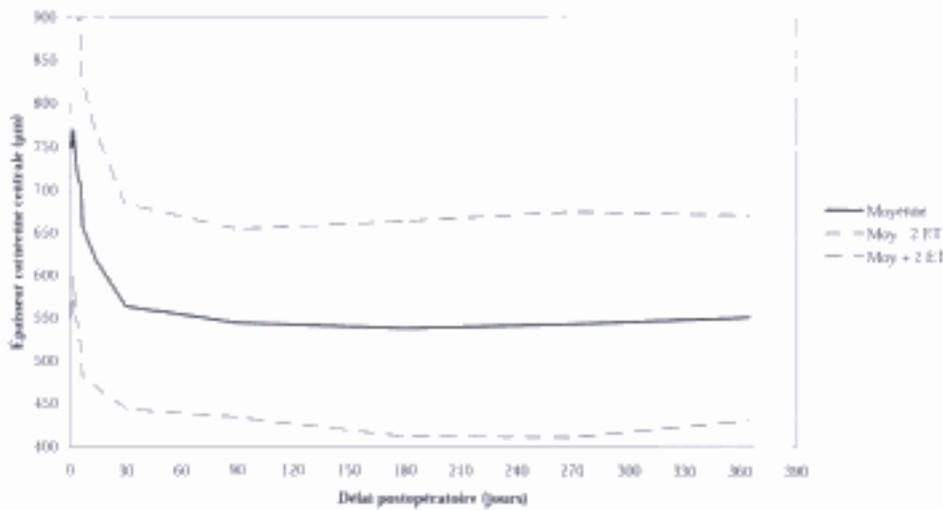
5.6. Réinnervation du greffon

La réinnervation du greffon est un processus lent et souvent partiel (Matthers, 1988 ; Rao, 1985 ; Ruben, 1979). En microscopie confocale, les nerfs sont détectés dans le stroma moyen et superficiel de la zone centrale du greffon sept mois après la kératoplastie. La réinnervation de la couche basale de l'épithélium central du greffon prend deux ans (Richter, 1996). Fonctionnellement, la progression de la réinnervation mesurée à l'aide de l'esthésiomètre de Cochet Bonnet se fait à une vitesse de 0,029 mm par mois. Une sensibilité cornéenne au centre du greffon n'apparaît pas avant 18 mois. Les patients greffés pour une kératite herpétique ne récupèrent pas de sensibilité cornéenne (Mathers, 1988).

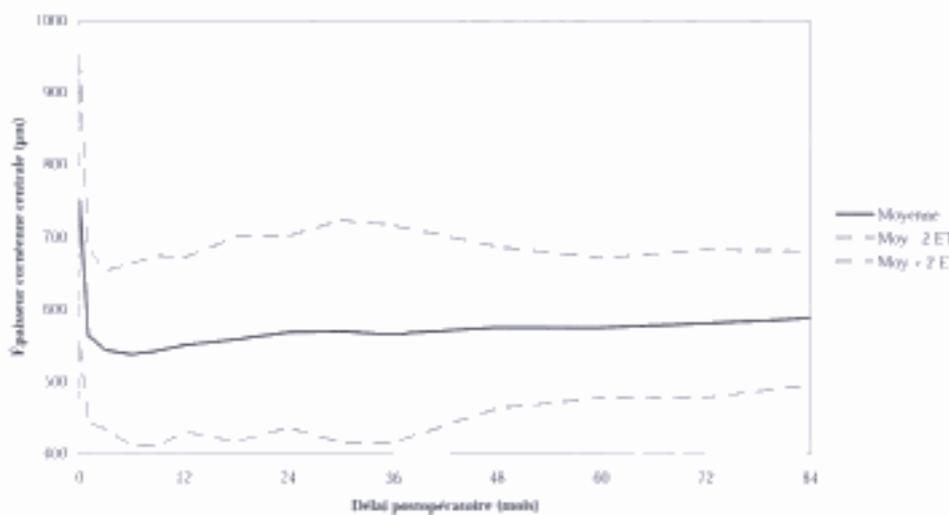
Évolution de l'épaisseur cornéenne pendant le premier mois



Évolution de l'épaisseur du greffon pendant la première année



Évolution de l'épaisseur du greffon pendant les sept premières années



5.7. Évolution de l'astigmatisme, de l'équivalent sphérique et de la topographie cornéenne

L'évolution de l'astigmatisme après kératoplastie est essentiellement fonction de la gestion des sutures (ablation de points séparés, d'un surjet, modification de la tension d'un surjet, ablation de toutes les sutures). L'astigmatisme postgreffe est hautement corrélé à la forme topographique de la cornée (Borderie, 1999g ; Touzeau, 1997 et 2001b). Les formes en sablier symétriques sont associées aux astigmatismes les plus importants suivies des formes en sablier asymétrique puis des formes plat-bombé. Les formes rondes et ovales sont associées à un astigmatisme faible, mais elles sont assez rares après greffe.

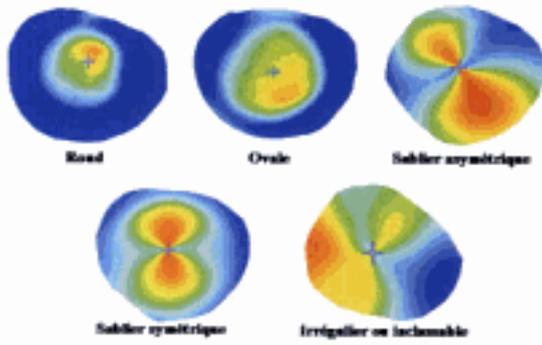
L'ablation de toutes les sutures après kératoplastie transfixiante entraîne une diminution de l'astigmatisme par aplatissement du méridien le plus cambré alors que la courbure du méridien le plus plat reste inchangée. L'axe de l'astigmatisme est également modifié de manière imprévisible. La diminution de l'astigmatisme entraîne une amélioration de l'acuité visuelle, avec un gain moyen d'une ligne. L'ablation des sutures modifie le profil et la forme de la topographie cornéenne et entraîne une hypermétropisation d'environ 0,6 D (diminution de la myopisation induite par la greffe) par diminution de la puissance cornéenne moyenne. Cette diminution de puissance cornéenne est de 1,1 D (soit un facteur multiplicatif de 0,5 différent du 0,9 de la formule SRK des cornées normales). La discordance entre la puissance cornéenne et la puissance réfractive peut avoir plusieurs explications. La puissance cornéenne est mesurée dans le plan de l'apex cornéen contrairement à la réfraction subjective. L'absence de prise en compte de la distance verre-œil peut entraîner des différences significatives en cas d'amétropies fortes. De plus, la puissance cornéenne mesurée est beaucoup moins fiable quand la morphologie de la cornée s'éloigne de la normale. La proportion de cornées oblates et le coefficient d'asphéricité cornéenne augmentent après ablation des sutures. Ainsi, nous observons, avant ablation des sutures, un profil prolate dans 44 % des cas, oblate dans 31 % des cas et mixte dans 25 % des cas. Après ablation des sutures, ces pourcentages deviennent 7,5 % pour les prolates, 85 % pour les oblates et 7,5 % pour les mixtes (Touzeau, 2001c). La forme en sablier asymétrique est la plus fréquente avant et après ablation des sutures et représente envi-

ron 40 % des cas (Ibrahim, 1996 ; Shimazaki, 1997 ; Waring, 1992). Le pourcentage de formes en sablier symétrique représente près de 40 % des cornées avant ablation des sutures et diminue après ablation, ce qui coïncide bien avec la diminution globale de l'astigmatisme. La régularité de la surface cornéenne mesurée par les indices topographiques est peu ou pas modifiée par l'ablation des sutures (Touzeau, 1999c).

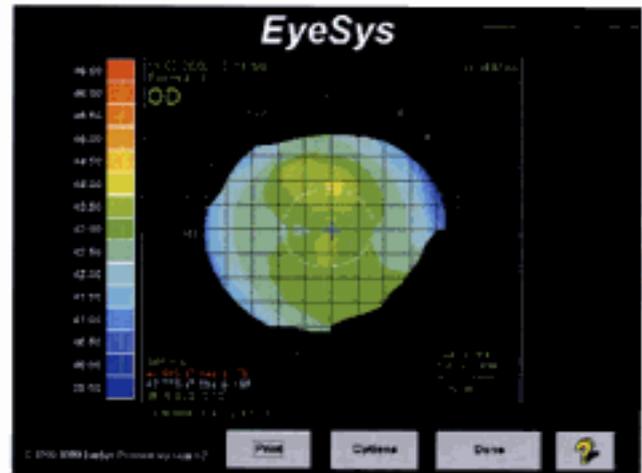
Ces effets de l'ablation des sutures sont vrais pour l'ensemble des patients si l'on considère la moyenne des résultats. Néanmoins, il existe des variations inter-individuelles. Ainsi, l'ablation des sutures peut entraîner une augmentation de l'astigmatisme (notamment lorsque celui-ci était peu important avant l'ablation des sutures), une myopisation (Holaday, 1992). L'amplitude des variations de l'astigmatisme après ablation des sutures est très importante, allant d'une baisse de 7 D à une augmentation de 5 D. Les cornées ayant une forme en sablier voient souvent leur astigmatisme diminuer après ablation des sutures, alors que celui-ci a tendance à augmenter lorsque la forme est ovale ou plat-bombé (*steep-flat*) avant ablation des sutures (Touzeau, 1999c). Chez ces derniers patients, il faut dans la mesure du possible laisser les sutures en place tant qu'elles sont bien supportées et qu'elles ne cassent pas.

5.8. Évolution de l'acuité visuelle

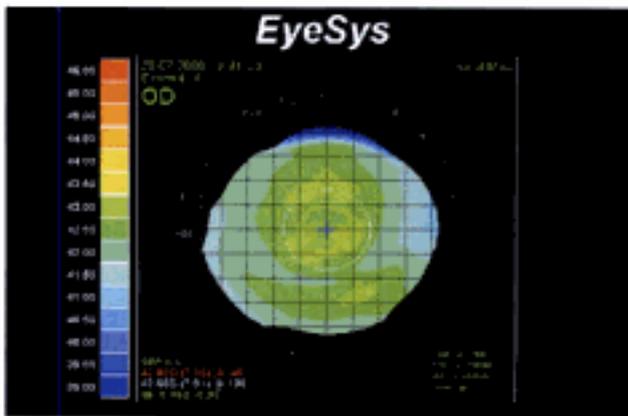
La récupération visuelle est très progressive après kératoplastie transfixiante. Pendant le premier mois postopératoire (temps de déturgescence du greffon), la vision est très floue. Un premier verre correcteur peut être prescrit habituellement après deux à quatre mois, temps nécessaire pour une première stabilisation de l'astigmatisme après (éventuellement) ablation sélective de points séparés trop serrés. La vision s'améliore ensuite pendant au moins deux ans (Borderie, 1999d). Entre deux et quatre ans, on observe encore une amélioration discrète mais significative de l'acuité visuelle (0,4 ligne en moyenne) (Touzeau, 2003a). La seule explication actuelle à cette amélioration progressive de l'acuité visuelle pendant cette période est une augmentation de la transparence du greffon, probablement secondaire aux modifications du stroma cornéen. En effet, les modifications de l'astigmatisme et celles de la topographie cornéenne ne sont pas corrélées aux modifications de l'acuité visuelle pendant cette période (Touzeau, 1999c).



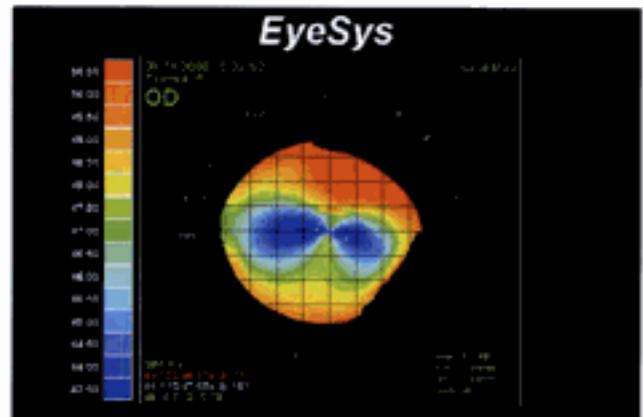
Classification de Bogan: Les cartes de courbure (axiale et tangentielle) de la topographie Placido peuvent être classées en 5 formes. Les cornées « normales » ont généralement une forme ronde, ovale ou en sablier. Les topographies non classables en « rond », « ovale » ou « sablier » sont qualifiées d'irrégulières.



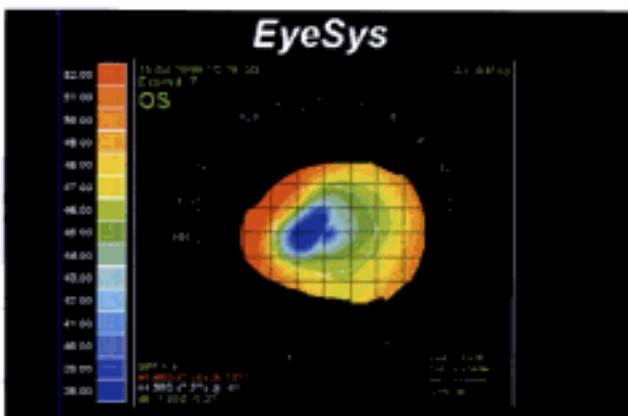
Topographie cornéenne en algorithme axial ; forme ovale prolate.



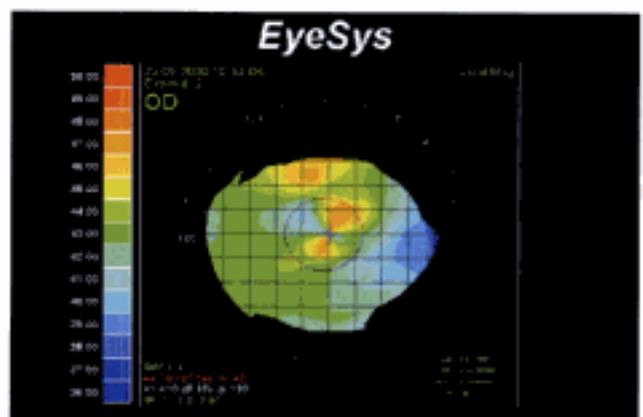
Topographie cornéenne en algorithme axial ; forme ronde prolate. Il s'agit d'un œil non greffé. Cette forme est en effet exceptionnelle après kératoplastie transfixiante.



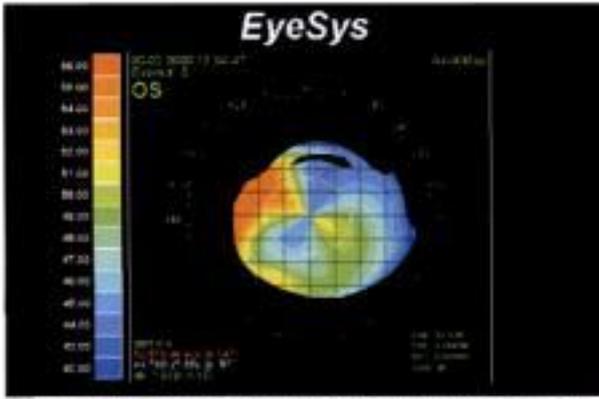
Topographie cornéenne en algorithme axial ; forme en sablier asymétrique oblate.



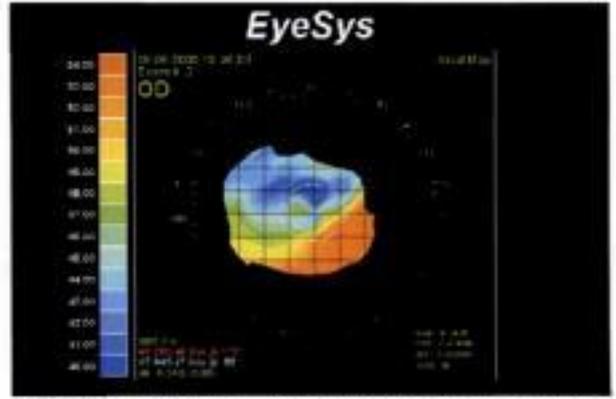
Topographie cornéenne en algorithme axial ; forme ovale oblate.



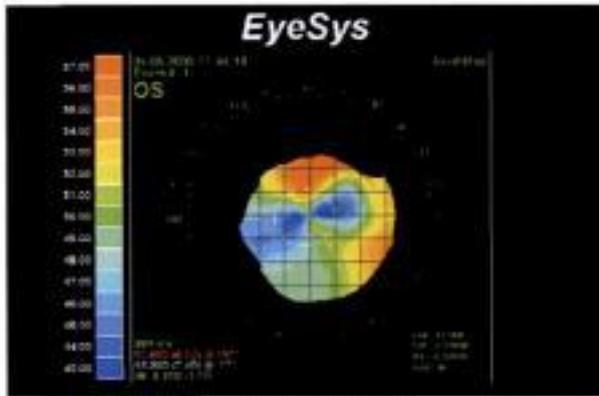
Topographie cornéenne en algorithme axial ; forme en sablier asymétrique prolate.



Topographie cornéenne en algorithme axial : forme en sablier asymétrique mixte.



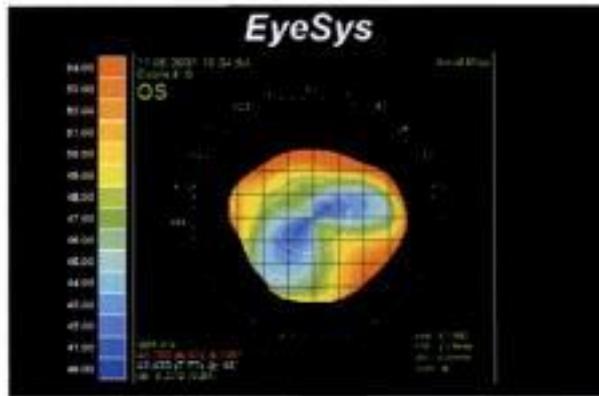
Topographie cornéenne en algorithme axial : forme plat-bombé (steep-flat).



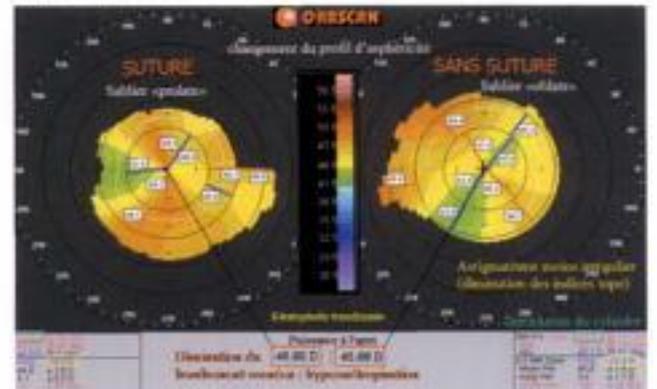
Topographie cornéenne en algorithme axial : forme en sablier symétrique oblate. 1 an postopératoire, sutures en place.



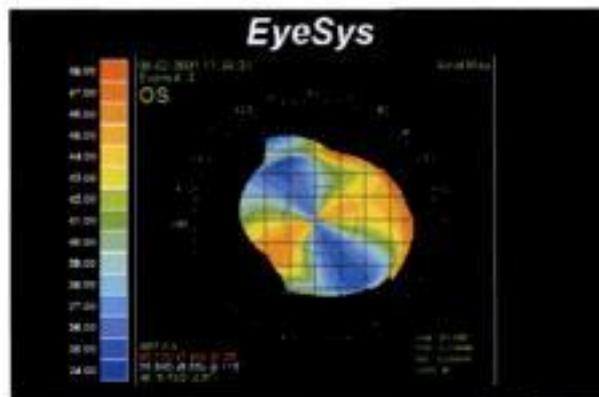
Topographie cornéenne en algorithme axial montrant un cylindre de 4,8 D en kératométrie simulée avec une forme en sablier asymétrique oblate.



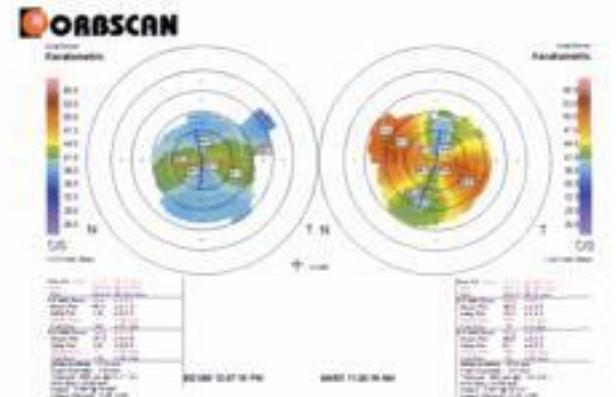
Topographie cornéenne en algorithme axial : forme en sablier symétrique oblate. Délai postopératoire 3 ans, sutures enlevées.



Exemple résumant le comportement moyen des kératoplasties transixiantes après ablation des sutures.



Topographie cornéenne en algorithme axial : forme en sablier symétrique prolate.



Effet néfaste de l'ablation des sutures 4 ans après la greffe. Le cylindre était de 3,3 D en kératométrie simulée à 16 mois de la greffe. La rupture du surjet, 4 ans après la greffe, oblige à l'enlever et le cylindre augmente à 12,7 D.

Évolution normale d'une kératoplastie transfixiante

- Après kératoplastie, le greffon se réépithélialise de la périphérie vers le centre en un temps variable en fonction des patients, de l'ordre de quelques jours, l'utilisation de hyaluronate de sodium en peropératoire pour protéger l'épithélium permettant d'obtenir un délai de réépithélialisation inférieur à 24 heures.
- Il existe une rupture de la barrière hémato-aqueuse qui diminue entre six semaines et trois mois postopératoires. L'endothélium cornéen subit des modifications morphologiques et s'appauvrit avec le temps. Au niveau de la cicatrice se forme une nouvelle membrane de Descemet pendant le 1^{er} semestre.
- La diminution de la population cellulaire endothéliale après greffe se fait en deux phases avec une perte cellulaire endothéliale précoce (demi-vie : quelques mois) fonction des lésions de conservation et du traumatisme chirurgical et maximal au voisinage de la cicatrice, et une phase tardive (demi-vie : 21 ans). La durée de vie théorique d'un greffon est de 20 à 30 ans si la densité endothéliale prégreffe est comprise entre 2000 et 2500 cellules/mm².
- Les greffons conservés en organoculture ont une épaisseur qui se modifie avec le délai postopératoire : déturgescence postopératoire pendant environ un mois, puis amincissement temporaire avec un minimum vers six mois, et enfin retour progressif à une épaisseur normale vers 12–18 mois.
- Le développement de néovaisseaux cornéens après la greffe est un phénomène fréquent au niveau de la cornée réceptrice.
- La réinnervation du greffon est un processus lent et souvent partiel.
- L'évolution de l'astigmatisme après kératoplastie est essentiellement fonction de la gestion des sutures (ablation de points séparés, d'un surjet, modification de la tension d'un surjet, ablation de toutes les sutures).
- La récupération visuelle est très progressive. Pendant le premier mois postopératoire, la vision est très floue. Elle s'améliore ensuite pendant au moins deux ans. Entre deux et quatre ans, on observe encore une amélioration discrète mais significative de l'acuité visuelle.

6. Complications peropératoires

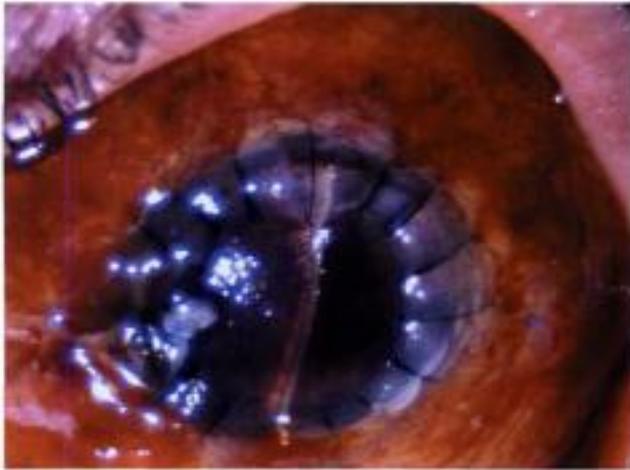
La complication peropératoire majeure de la kératoplastie transfixiante est l'hémorragie expulsive à ciel ouvert. Sa fréquence varie suivant les études de 0,5 à 2 % (Borderie, 1998e ; Purcell, 1993 ; Leibowitz, 1998). Elle est plus fréquente en cas d'œil multiopéré et aphake, de forte myopie, de glaucome, d'hypotonie, d'inflammation intraoculaire, de traumatisme et chez les patients âgés ou ayant une athérosclérose (Lam, 1995). Elle peut parfois se présenter comme un hématome choroïdien découvert après l'intervention. Les manœuvres entraînant une traction sur l'iris à ciel ouvert doivent être considérées comme dangereuses. Il peut être prudent, en cas de chirurgie combinée, de travailler derrière une cornée trépanée et maintenue en place par une zone de Descemet non découpée afin de diminuer le temps opératoire hypotonique. En cas d'hémorragie expulsive à ciel ouvert, il faut faire des sclérectomies postérieures pour drainer l'hémorragie et suturer le greffon par des points séparés de soie. Le pronostic est en règle catastrophique avec la perte fonctionnelle voire anatomique de l'œil. Les tentatives de chirurgie rétinovitréenne après cet accident se soldent souvent par un échec.

Un décollement de la membrane de Descemet du greffon peut survenir pendant l'intervention. Cette complication exceptionnelle est favorisée par la présence d'anomalies endothélio-descémétiques du greffon.

D'autres complications moins sévères peuvent survenir : lésion de l'iris ou du cristallin lors de la trépanation, issue de vitré chez un patient aphake ou pseudophake. Ces incidents imposent un traitement peropératoire : suture irienne si nécessaire, extraction du cristallin et implantation dans le sac capsulaire, vitrectomie. Ils ont habituellement peu de conséquences sur le résultat de la greffe.

Enfin, des complications exceptionnelles liées à des erreurs chirurgicales ont été décrites, telles que le bouton cornéen laissé en chambre antérieure (Borderie, 1998b). Cette complication peut être traitée avec succès en enlevant le bouton cornéen et en changeant le greffon.

Les interventions combinées comportent également des risques peropératoires propres à la chirurgie qui est combinée à la greffe. Au cours des triples procédures à ciel ouvert, le risque de rupture de la capsule postérieure avec ou sans issue de vitré est d'environ 10 % (Sridhar, 2000).



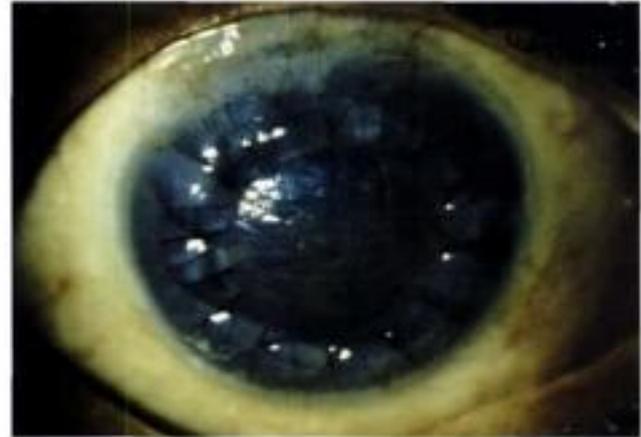
Hémorragie expulsive à ciel ouvert. Le greffon a été suturé avec un fil de soie après sclérotamies postérieures pour drainer l'hémorragie.



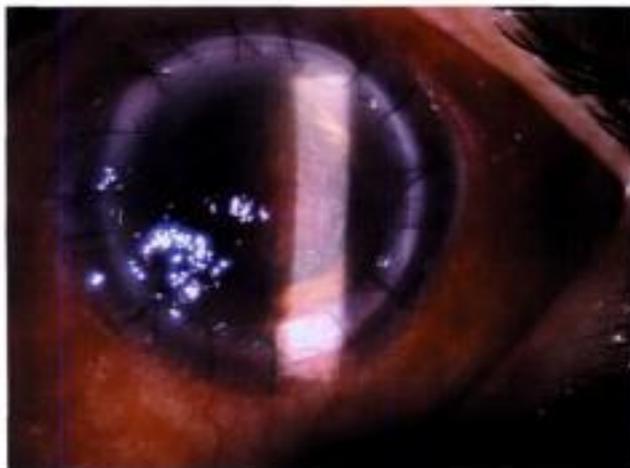
Hématome choroïdien après greffe de cornée. Ceci correspond à une hémorragie expulsive retardée survenant après la suture du greffon ou dans les heures qui suivent la greffe. Les conséquences fonctionnelles sont les mêmes que celles d'une hémorragie expulsive à ciel ouvert.



Hématome choroïdien survenu pendant la greffe, après trépanation de la cornée réceptrice. La suture d'un anneau de Flieringa a permis d'éviter l'expulsion du contenu oculaire à ciel ouvert.



Décollement de la membrane de Descemet du greffon survenu pendant l'intervention : aspect postopératoire immédiat.



Même patiente. Aspect à J1.



Même patiente après tentative de suture de la membrane de Descemet. L'évolution se fait vers l'échec primaire de la greffe. Après changement du greffon, l'examen histologique montrera une cornea guttata au niveau de ce greffon.

7. Complications postopératoires

7.1. Échec primaire de la greffe

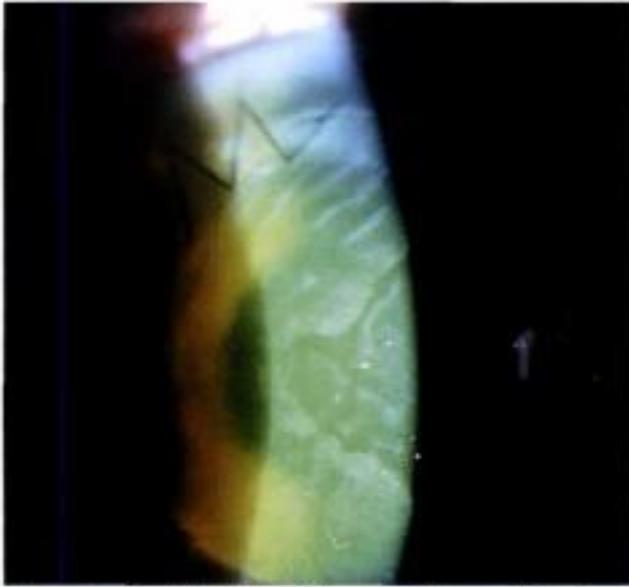
L'échec primaire de la kératoplastie se définit comme une absence d'éclaircissement du greffon dans la période postopératoire avec persistance définitive d'un œdème du greffon. La première cause d'échec primaire de la kératoplastie est actuellement l'infection herpétique du greffon qui peut être transmise par l'intervention (greffon porteur du virus herpétique) ou acquise en postopératoire immédiat. L'ADN du virus herpétique a été retrouvé dans un tiers des greffons enlevés après échec primaire de la greffe dans une série de 21 cas (Cockerham 2000). Dans notre expérience, la fréquence des échecs primaires dus au virus herpétique est de 0,3 %.

Les autres causes d'échec primaire de la greffe sont l'insuffisance de qualité du greffon, l'endophtal-

mie, les traumatismes peropératoires du greffon et l'hémorragie expulsive.

Buxton (1988) évalue la fréquence des échecs primaires à 1,2 % (17 cas parmi 1351 kératoplasties transfixiantes). Dans cette étude, cinq cas correspondent à une dystrophie de Fuchs du greffon, sept cas à un décollement peropératoire de la membrane de Descemet et sept cas à une toxicité du milieu de conservation du greffon (pH alcalin). Une revue de la littérature faite aux États-Unis rapporte une incidence des échecs primaires de 2,1 % (Wilhemus, 1995).

L'échec primaire de la kératoplastie requiert un changement de greffon qui sera fait assez rapidement après une période d'observation de trois à quatre semaines (Van Resburg, 1998).



Échec primaire de kératoplastie transfixiante secondaire à une infection herpétique postopératoire.



Autre exemple d'échec primaire de kératoplastie transfixiante secondaire à une infection herpétique postopératoire.



Échec primaire de kératoplastie transfixiante secondaire à un décollement de la membrane de Descemet du greffon (greffon porteur d'une cornea guttata).

7.2. Rejet d'allogreffe de cornée

Le rejet d'allogreffe de cornée, décrit sous le terme de « maladie du greffon » (Paufigue, 1948), est la première cause d'échec des kératoplasties transfixiantes (Borderie, 1998e). Cliniquement, on distingue quatre formes de rejet en fonction de la couche de la cornée qui est atteinte par le processus immunologique (rejet épithélial, sous-épithélial, stromal et endothélial). Ces formes cliniques peuvent être associées, ou au contraire survenir isolément grâce aux barrières anatomiques que constituent la membrane de Bowman et la membrane de Descemet (Khodadoust, 1969). Parmi ces quatre formes cliniques, celle qui peut aboutir à l'échec définitif de la greffe est le rejet endothélial. Le rejet peut être déclenché par divers facteurs : arrêt de la corticothérapie locale, infection, ablation de fils, intervention chirurgicale ou traumatisme sur l'œil greffé, stress (Kok-van Alphen, 1983).

7.2.1. Fréquence du rejet

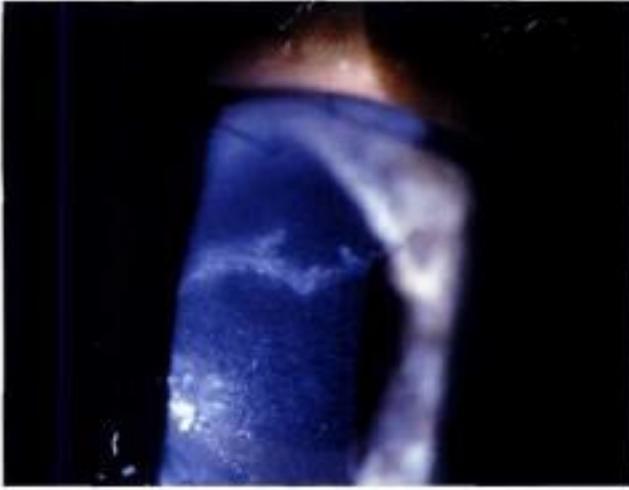
La fréquence du rejet a été évaluée par plusieurs auteurs. Alldredge (1981) retrouve 10 % de rejets épithéliaux avec un délai moyen de survenue de trois mois. Arensten (1983) évalue cette fréquence à 14 %. Alldredge (1981) retrouve 15 % de rejets sous-épithéliaux avec un délai moyen de survenue de dix mois. Arensten évalue cette fréquence à 2,4 %. Alldredge a retrouvé 21 % de rejets parmi 156 greffes, avec un délai moyen de survenue de huit mois. Shapiro (1993) évalue la fréquence du rejet à 12 % chez les receveurs standard et 40 % chez les receveurs à haut risque de rejet. Khodadoust (1973), à qui l'on doit la description de la ligne de rejet endothéliale, montre que la fréquence du rejet dépend de la vascularisation de la cornée du receveur : 3,5 % en l'absence de néovascularisation cornéenne, 13,3 % en cas de cornée faiblement vascularisée, 28,0 % en cas de cornée moyennement vascularisée et 65,0 % en cas de cornée fortement vascularisée. Donshik (1979) a étudié la fréquence du rejet au cours des greffes pour kératocône. Celle-ci varie en fonction des antécédents de greffe : 13 % en cas de greffe unilatérale et 27 % en cas de greffe bilatérale. Il définit le second set syndrome : rejet du greffon du premier œil après la greffe du deuxième œil. Nous avons trouvé, dans une série de plus de 400 greffes consécutives, une fréquence du rejet de 19 %. Le délai moyen de survenue du rejet était de dix mois avec des extrêmes de dix jours et 41 mois (Naacke, 2001). La fréquence du rejet dépend aussi de l'indication de la greffe. Le risque de rejet à dix ans a été estimé à 15 % pour les kératocônes, 28 % pour les kératopathies bulleuses de l'aphaque et 47 % pour les kératites herpétiques (Ing, 1998).

7.2.2. Survie du greffon sans rejet endothélial

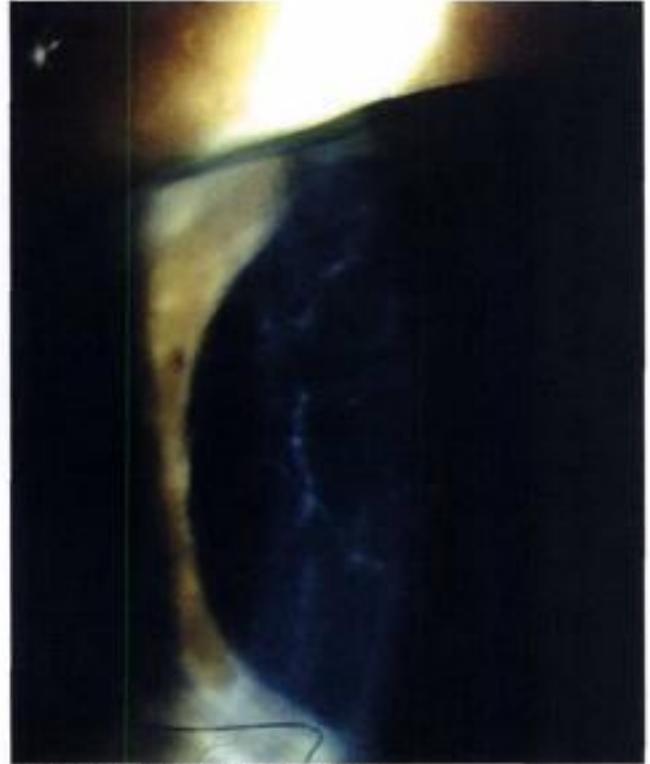
Les greffes de cornées sur cornée avasculaire chez des receveurs n'ayant jamais été greffés ont un taux de survie du greffon à deux ans supérieur à 90 % (Price, 1996). L'étude du CCTS (Collaborative Corneal Transplantation Studies Research Group) chez 417 receveurs à haut risque de rejet (2 quadrants de néovascularisation profonde ou plus et/ou antécédents de rejet) retrouve 35 % d'échecs à trois ans et 28 % d'échecs à deux ans par rejet (1992). La précocité du diagnostic et du traitement du rejet est un facteur pronostic majeur de succès dans cette étude. Volker-Dieben (1982) a étudié la survie du greffon de 539 kératoplasties transfixiantes. Le taux de survie à un an en fonction de la néovascularisation est de : 100 % si celle-ci est absente, 91 % si elle est faible, 70 % si elle est modérée et 69 % si elle est sévère. Le taux de survie en fonction du diamètre du greffon est de 82 % entre 7,0 et 8,4 mm, 57 % entre 8,5 et 8,9 mm, 56 % au-delà de 8,9 mm. Une autre étude du CCTS chez des patients à haut risque de rejet retrouve 62 % de réactions de rejet avec un délai médian de six mois pour la première réaction (Kamp, 1995). La présence de signes fonctionnels (douleur, rougeur, baisse de vision, photophobie) est un indicateur peu sensible (22 à 76 %) de l'existence d'une réaction de rejet. La présence d'une baisse de la vision est un indicateur assez spécifique (> 80 %) de l'existence d'une réaction de rejet. Des signes fonctionnels sont présents dans 48 % des cas de réaction de rejet modérée et 69 % des cas de réaction sévère.

7.2.3. Facteurs de risque de rejet

Deux critères sont unanimement reconnus comme facteurs de risque de rejet. Ils permettent une définition des receveurs à haut risque de rejet largement utilisée dans la littérature (CCTS, 1992 ; Volker-Dieben, 1982). Il s'agit de la néovascularisation de la cornée du receveur (au moins 2 quadrants de néovascularisation stromale) et des antécédents de rejet d'allogreffe de cornée (receveur pré-immunisé). D'autres facteurs ont été identifiés comme facteurs de risque de rejet : néovascularisation superficielle, antécédents de greffe de cornée (80 % de succès en l'absence d'antécédent, 42 % pour une 2^e greffe et 12 % pour une 3^e greffe ou plus), greffe pour kératite herpétique (Bouton, 1989), présence de leucocytes dans la cornée réceptrice (Williams, 1989), taille du greffon supérieure à 8,0-8,5 mm, inflammation oculaire, âge du receveur inférieur à 40-50 ans (Bouton, 1989 ; Maguire, 1994), et plus particulièrement les greffes chez l'enfant, chirurgie combinée (Maguire, 1994). Une étude auprès des chirurgiens de la zone



Ligne de rejet épithélial.



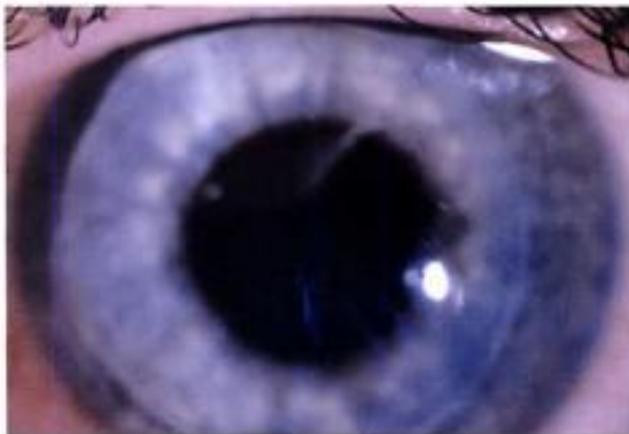
Ligne de Khodadoust (rejet endothélial).



Rejet mixte stromal et endothélial.



Rejet endothélial diffus à 2 mois d'une greffe pour kératocône.



Ligne de Khodadoust (rejet endothélial).



Même patient 1 an après la greffe : l'évolution après traitement (flashes de méthylprednisolone) s'est faite vers la récupération complète ; acuité visuelle corrigée 10/10.

Eurotransplant (Beekhuis, 1995) a montré que sont considérés comme facteurs de haut risque de rejet : un antécédent de rejet dans l'œil à greffer (78 % des chirurgiens), une néovascularisation stromale dans deux quadrants ou plus (72 %), une brûlure chimique (51 %), un échec non immunologique de kératoplastie (29 %), un antécédent de rejet dans l'œil adelphe (20 %), une uvéite et/ou inflammation (18 %), une taille de la greffe supérieure à 8,5 mm (8 %), une vascularisation dans moins de deux quadrants (8 %).

Certains facteurs remarquables n'ont pas d'influence sur la survenue du rejet : disparité de sexe ou de race entre donneur et receveur, antécédents de transfusions, antécédents de grossesses, immunisations anti-HLA, méthodes de conservation du greffon (Volker-Dieben, 1982 et 1987).

7.2.4. Signes cliniques du rejet

7.2.4.1. Rejet épithélial

Il s'agit d'une ligne blanche de cellules nécrosées prenant la fluorescéine et le rose Bengale, surélevée, d'évolution centripète, avec un greffon clair. L'œil est peu ou pas inflammatoire. La ligne de rejet est composée de cellules inflammatoires du receveur (polynucléaires neutrophiles notamment) et est le lieu de destruction de l'épithélium du donneur (Hill, 1996). Au niveau du limbe correspondant, il existe un infiltrat de lymphocytes, plasmocytes et polynucléaires neutrophiles. Souvent méconnu, le rejet épithélial est difficile à différencier de la ligne de réépithélialisation du greffon. Il ne compromet pas par lui-même le pronostic de la greffe. Mais il est associé ou suivi par d'autres formes de rejet dans les trois quarts des cas (Hill, 1996 ; Shapiro, 1993).

7.2.4.2. Rejet sous-épithélial

Infiltrats sous-épithéliaux blanchâtres de 0,2 à 0,5 mm de diamètre n'intéressant que le greffon, avec un œdème discret de celui-ci (Krachmer, 1978). Le rejet sous-épithélial ne compromet pas par lui-même le pronostic de la greffe. Mais il est souvent associé ou suivi par d'autres formes de rejet (Hill, 1996 ; Shapiro, 1993).

7.2.4.3. Rejet stromal

Opacification brutale localisée périphérique du greffon, avec un infiltrat dans le stroma du greffon, une injection périkeratique, des néovaisseaux envahissant le greffon. Il s'y associe un œdème du greffon lorsqu'un rejet endothélial survient concomitamment (ce qui est le cas le plus fréquent). L'infiltrat inflammatoire présent dans le stroma du greffon est composé de lymphocytes, plasmocytes et polynucléaires neutrophiles. Il détruit les kératocytes du donneur.

7.2.4.4. Rejet endothélial

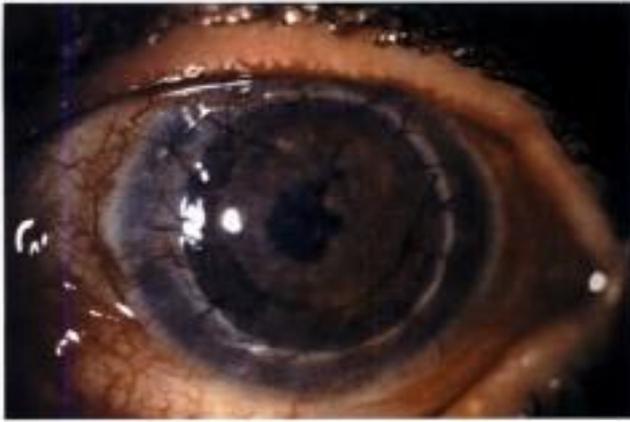
Il survient plus de dix jours après une première greffe sur un greffon clair (Shapiro, 1993). Ce délai peut être raccourci chez les receveurs ayant des antécédents de rejet. Les signes fonctionnels sont une baisse d'acuité visuelle, une photophobie, une irritation, un larmolement, des douleurs et une rougeur oculaire. La baisse d'acuité visuelle est présente dans 40 à 50 % des cas (Kamp, 1995 ; Naacke, 2001). L'examen retrouve une ligne de rejet endothélial (Khodadoust, 1969), d'évolution centripète, ou bien des précipités rétrocornéens diffus sur le greffon, avec un œdème stromal du greffon en regard, des plis descémétiques, des signes inflammatoires du segment antérieur (Tyndall, injection ciliaire), une néovascularisation du greffon. On distingue deux formes de rejet endothélial : l'une est progressive (ligne de Khodadoust), l'autre est d'emblée diffuse (précipités rétrocornéens diffus sur le greffon). La ligne de Khodadoust est présente dans 45 % des cas selon Arensten (1983). L'œdème stromal peut être diagnostiqué précocement par une augmentation de l'épaisseur cornéenne centrale mesurée en pachymétrie ultrasonore, mais aussi en pachymétrie optique à la lampe à fente. La probabilité d'échec de la greffe est d'autant plus grande que l'augmentation de l'épaisseur cornéenne est importante (McDonnell, 1993). Une augmentation de la pression intraoculaire peut être un signe de rejet endothélial (Adams, 1991). En microscopie spéculaire, on retrouve des précipités rétrocornéens sombres de petite taille et une perte cellulaire endothéliale. Le rejet endothélial compromet le pronostic de la greffe (échec définitif) lorsque la densité endothéliale devient inférieure au seuil de décompensation endothélial (250-500 cellules/mm²). Il évolue vers l'échec définitif irrémédiable en l'absence de traitement. Il peut être réversible ou non réversible sous traitement. Le traitement doit donc être précoce. Le patient doit connaître les signes d'appel. Le délai moyen de survenue est de huit mois : 50 % des cas avant six mois, 80 % dans la première année, 95 % dans les deux ans. Le délai maximal connu est de 31 ans (Alldredge, 1981). Dans l'étude du CCTS (1992), le délai médian de survenue de la première réaction de rejet est de six mois.

7.2.4.5. Formes mixtes

Rejet endothélial et rejet stromal sont souvent associés.

7.2.5. Microscopie confocale

Le rejet d'allogreffe de cornée chez le rat et le lapin a été étudié en microscopie confocale (TSCM) (Cohen, 1995). Chez le rat, les premiers signes sont observés pendant la quatrième semaine. Les lignes de rejet



Rejet endothélial suraigu (au cours de la première semaine postopératoire) chez une patiente ayant déjà fait un rejet de greffe sur le même oeil.



Rejet endothélial diffus qui s'avèrera réversible après traitement.



Même patiente 1 an après la greffe : le rejet est irréversible et l'évolution se fait vers l'échec définitif de la greffe.



Même patiente.



Rejet endothélial diffus.



Rejet endothélial diffus chronique : aspect en microscopie spéculaire, nombreux éléments noirs qui correspondent probablement à des cellules inflammatoires au contact des cellules endothéliales.

épithélial sont formées par des petites cellules inflammatoires très brillantes associées à des cellules épithéliales lésées de plus grande taille. Les infiltrats sous-épithéliaux sont composés d'agrégats de petites cellules inflammatoires très brillantes. Le rejet stromal donne une augmentation du reflet stromal dû à l'œdème avec un infiltrat de cellules inflammatoires. Les lignes de rejet endothélial sont composées d'agrégats de cellules inflammatoires et de cellules endothéliales lésées de grande taille avec un noyau pycnotique très brillant. Puis le nombre de cellules endothéliales diminue, leur taille augmente et elles émettent des prolongements. Chez le lapin, la microscopie confocale met en évidence des infiltrats cellulaires dans le stroma du greffon, plus denses autour des sutures, des leucocytes nombreux autour des terminaisons capillaires, une diminution du nombre de kératocytes dans les zones sièges d'un infiltrat et une fibrose autour des sutures et au niveau de la cicatrice.

7.2.6. Traitement curatif du rejet

Le traitement curatif du rejet doit être le plus précoce possible afin de minimiser la perte cellulaire endothéliale induite par le rejet et, ainsi, d'augmenter les chances de récupération de la transparence du greffon après traitement. Cela implique que le patient soit parfaitement informé des signes fonctionnels et qu'il consulte dès leur apparition. Le traitement repose sur la corticothérapie par voie locale et/ou générale. En cas de rejet, la corticothérapie topique doit être reprise ou intensifiée avec des instillations très fréquentes (1 goutte toutes les heures) et peut être complétée par des injections latéro-bulbaires ou sous-conjonctivales de dexaméthasone. La concentration dans l'humeur aqueuse et le vitré après injection sous-conjonctivale de 2,5 mg de dexaméthasone a été évaluée chez l'homme (Weijtens, 1999). Après 2-3 heures, les concentrations obtenues atteignent 800 ng/ml dans l'humeur aqueuse et 70 ng/ml dans le vitré, soit trois fois les taux obtenus après injection péri-bulbaire.

L'adjonction d'une corticothérapie systémique (bolus intraveineux de méthylprednisolone sur trois jours) est indiquée en cas de signes de gravité : sévérité de l'inflammation, importance de l'atteinte endothéliale, absence de réponse à la corticothérapie locale et receveur à haut risque de rejet (Hill, 1996). Elle implique de prendre en compte les contre-indications, notamment les antécédents de pathologie gastro-duodénale, le diabète, l'hypertension artérielle, les antécédents de psychose grave, les anguilluloses, l'hypokaliémie. En cas de contre-indication, un avis spécialisé doit être demandé pour distinguer la contre-indication absolue qui interdira l'utilisation de la corticothérapie systémique de la contre-indication

relative qui autorisera cette utilisation sous couvert d'une surveillance rapprochée et d'un traitement adjuvant de la pathologie. Les effets secondaires potentiels de la corticothérapie systémique sont notamment l'hypertension artérielle, l'hypokaliémie, les ulcères gastro-duodénaux, l'aggravation d'une psychose, la décompensation d'un diabète, l'insuffisance surrénalienne à l'arrêt du traitement. Dans tous les cas, la corticothérapie systémique doit être accompagnée d'un régime désodé, d'une supplémentation en potassium et d'une protection gastrique. La kaliémie doit être surveillée régulièrement. En cas de perfusion intraveineuse de corticoïde, la pression artérielle doit être surveillée de manière rapprochée. Le bolus intraveineux de méthylprednisolone donné en un seul flash de 500 mg ne semble pas améliorer l'efficacité du traitement local associant un collyre à la dexaméthasone toutes les heures et une injection sous-conjonctivale de 2 mg de bétaméthasone (Hudde, 1999). Une injection de corticoïde dans la chambre antérieure a été proposée en association au traitement habituel (Reinhard, 2002).

Globalement, le traitement est efficace chez 50 % des patients ou plus (Alldredge, 1981 ; Chandler, 1974 ; Foulks, 1982 ; Gibbs, 1974 ; Khodadoust, 1973 ; Naacke, 2001 ; Williams 1989). Le taux de succès est d'autant plus grand que le traitement est précoce (Alldredge, 1981). Les facteurs pronostiques du rejet traité sont l'indication opératoire de la greffe et l'épaisseur du greffon lors du rejet. Ainsi, le taux de réversibilité du rejet est de plus de 90 % en cas de greffe pour un kératocône ou une dystrophie de Fuchs, d'environ 50 % en cas de greffe pour une taie cornéenne ou des séquelles de traumatisme, et d'environ 40 % en cas de greffe pour une kératopathie bulleuse de l'aphake ou du pseudophake ou un échec de greffe. Plus l'épaisseur cornéenne centrale est augmentée, plus le taux de réversibilité du rejet diminue (McDonnell, 1993 ; Naacke, 2001). Il semble que les rejets sans signes fonctionnels soient plus souvent réversibles que ceux qui s'accompagnent d'une symptomatologie fonctionnelle (Smiddy, 1986). Néanmoins, cette constatation est discutée (Naacke, 2001). En revanche, l'âge du receveur, les antécédents d'hypertonie oculaire, les signes biomicroscopiques autres que l'importance de l'œdème cornéen et les caractéristiques du greffon utilisé lors de la kératoplastie ne sont pas des facteurs pronostiques du rejet traité (Smiddy, 1986). Il semble que les flashes intraveineux de corticoïdes entraînent une diminution du taux de récurrences ultérieures du rejet, comparés à la corticothérapie orale (Hill, 1991). Après traitement, en cas de rejet réversible, l'épaisseur cornéenne diminue progressivement pour revenir à la normale et l'acuité visuelle s'améliore progressive-

Hidden page

ment. Le temps moyen de récupération de l'acuité visuelle est de deux mois, avec des extrêmes à un mois et 12 mois. Il faut donc savoir patienter après le traitement avant de conclure à l'échec de la greffe par rejet. Un anticorps anti-interféron γ d'origine caprine a été utilisé avec succès par voie topique chez 13 patients pour traiter un rejet de kératoplastie transfixiante (Skrukovich, 2002). Ce collyre était donné trois fois par jour pendant sept à dix jours. Un seul traitement a été suffisant chez dix patients et trois traitements ont été nécessaires chez trois patients.

7.3. Hypertonie oculaire

L'hypertonie oculaire est la deuxième cause d'échec des kératoplasties transfixiantes (Allouch, 2003 ; Ayyala, 2000). Elle est favorisée par les antécédents d'hypertonie, d'échec de greffe, de traumatisme ou d'inflammation intraoculaire (kératites herpétiques notamment), les dysgénésies du segment antérieur, l'utilisation peropératoire de substance viscoélastique, la présence d'un implant de chambre antérieure ou d'un implant suturé à la sclère, l'aphakie, les goniosynéchies, les modifications anatomiques de l'angle iridocornéen induites par l'intervention (collapsus du filtre trabéculaire, perte du support antérieur lié à l'ouverture circulaire de la membrane de Descemet, perte du support postérieur lié à l'aphakie et à la vitrectomie), l'inflammation postopératoire, la corticothérapie (Allouch, 2003 ; Ayyala, 2000 ; Burke, 1990 ; Chien et Schein, 1993 ; Djalilian, 1998 ; Foulks, 1987 ; Franca, 2002 ; Jonas, 2001 ; Karesh, 1983 ; Kirkness, 1992 ; Lois, 1997 ; Polack, 1988 ; Simmons, 1989).

La fréquence de l'hypertonie après kératoplastie transfixiante varie suivant les études entre 10 et 50 %, selon que l'on considère seulement les neuropathies optiques glaucomateuses postgreffe, les hypertopies demandant un traitement prolongé ou toute hypertension supérieure à 20 ou 21 mmHg (Allouch, 2003 ; Chien, 1993 ; Foulks, 1987 ; Franca et Seitz, 2002 ; Kirkness, 1992 ; Polack, 1988 ; Sihota, 1998 ; Simmons, 1989). Dans une étude prospective incluant 170 patients greffés pour un kéraconne ou une dystrophie de Fuchs, sans antécédent de chirurgie intraoculaire, avec un suivi moyen de trois ans, Seitz (2002) rapporte une hypertension postopératoire supérieure à 21 mmHg dans 15 % des dystrophies de Fuchs, 11 % des kéraconnes, 11 % des greffes simples et 15 % des triples procédures (différences non significatives). L'hypertonie apparaît en moyenne quatre mois après la greffe dans cette étude et aucun cas d'excavation papillaire glaucomateuse n'est retrouvé. Polack (1988) rapporte 30 % d'hypertonie oculaire précoce parmi 204 yeux greffés pour une kéraconne bulleuse de l'aphakie, et 52 % parmi 137 yeux greffés pour une kéraconne bulleuse

du pseudophaque. Dans ces deux groupes, la fréquence du glaucome persistant au cours de l'évolution est respectivement de 20 et 25 %. Dans une série prospective incluant 410 patients, nous retrouvons une prévalence de l'hypertonie supérieure à 20 mmHg de 42 %. Le délai moyen de survenue de l'hypertonie est de trois mois avec des extrêmes à un jour et trois ans. L'hypertonie complique 54 % des greffes faites pour une kéraconne bulleuse et 27 % des greffes faites pour un kéraconne. L'hypertonie postopératoire diminue la survie du greffon ; l'existence d'une hypertension préopératoire étant également un facteur de risque d'échec de la greffe. Les facteurs de risque d'une hypertension postopératoire sont l'existence d'une hypertension ou d'un glaucome préopératoire, l'indication opératoire, le statut cristallinien (aphakie et implants de chambre antérieure), la chirurgie combinée à une vitrectomie et un âge du receveur supérieur à 60 ans (Allouch, 2003).

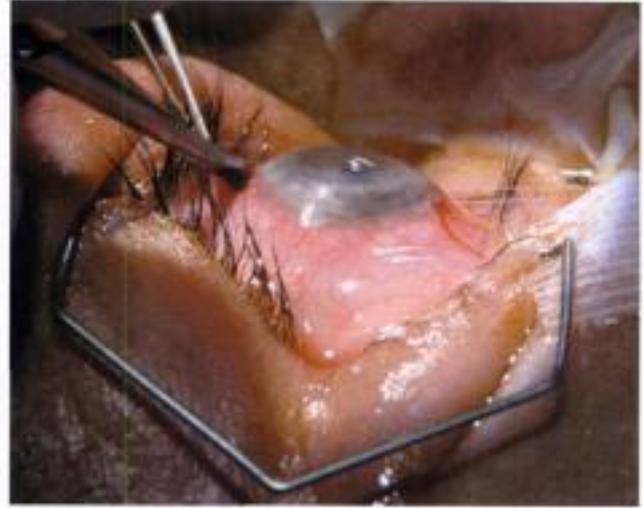
La pression intraoculaire est l'élément clé du glaucome des patients greffés. En effet, en préopératoire, le champ visuel et l'examen de la papille et des fibres optiques sont rendus difficiles par l'absence de transparence cornéenne. Dans les cas de glaucome préopératoire, le champ visuel au Goldmann permet de savoir si l'atteinte glaucomateuse est très évoluée (ce qui est alors une contre-indication à la greffe) ou non, mais il ne permet pas une évaluation précise du déficit glaucomateux.

L'hypertonie est source de neuropathie optique glaucomateuse et d'une perte cellulaire endothéliale accélérée. Ainsi, la perte cellulaire endothéliale au cours des trois premières années est multipliée par trois en cas d'hypertonie postopératoire chez des patients ayant des antécédents de glaucome par comparaison à des patients sans hypertension postopératoire ni antécédents de glaucome (Reinhard, 2001). Cela retentit sur la survie du greffon et explique que l'hypertonie soit la deuxième cause d'échec de la kéraconne transfixiante (Reinhard, 1997). Lorsque la transparence du greffon peut être maintenue (ce qui suppose un contrôle satisfaisant de la pression intraoculaire), le pronostic visuel des patients ayant un glaucome chronique postgreffe reste réservé (Sihota, 1998).

Il faut noter qu'un greffon anormalement clair et fin le lendemain d'une kéraconne traduit habituellement une hypertension (effet compressif de l'hypertonie sur un greffon dont la barrière épithéliale n'est pas encore reconstituée). La prise de la pression intraoculaire chez un patient greffé doit être effectuée au tonomètre à aplanation de Goldmann en prenant deux mesures sur les deux méridiens principaux. Néanmoins, une étude comparant tonométrie au



Synéchies antérieures périphériques après greffe de cornée entraînant une néovascularisation irienne qui envahit la cicatrice de la greffe.



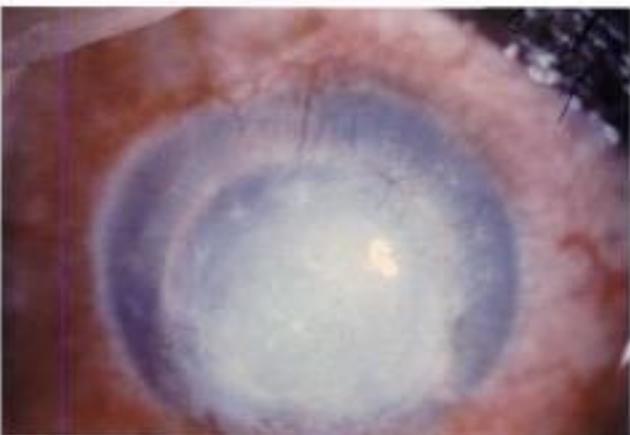
Trabéculéctomie - mitomycine pour un glaucome post greffe non contrôlé médicalement. Désinsertion conjonctivale au limbe.



Trabéculéctomie avec mitomycine pour un glaucome non contrôlé après greffe de cornée.



Application d'une éponge imbibée de mitomycine entre la sclère et la conjonctive pendant 3 minutes.



Échec de la greffe secondaire à une hypertension oculaire non contrôlée. Cet exemple montre bien la gravité de l'hypertonie chez le patient greffé.



Rinçage abondant au BSS.

tonomètre de Goldmann, tonométrie par mesure du flux sanguin oculaire et Tonopen n'a pas retrouvé de différence significative entre les trois techniques (Rao, 2001). La pression intraoculaire mesurée tend à être plus élevée lorsque l'épaisseur cornéenne augmente (surestimation de la PIO). L'œdème du greffon donnerait des chiffres moins élevés que la réalité (sous-estimation de la PIO).

La correction de l'hypertonie fait appel à une diminution des collyres corticoïdes (remplacement de la dexaméthasone par de la fluorométholone ou de la rimexolone, voire remplacement du collyre corticoïde par un collyre à la ciclosporine), à la prescription de collyres hypotonisants (β -bloquant, prostaglandine, α -agoniste présynaptique, inhibiteur de l'anhydrase carbonique, etc.) et à la prescription d'acétazolamide per os (Perry, 1998).

La chirurgie filtrante (trabéculéctomie avec ou sans antiméiotique, sclérectomie profonde, valve de dérivation de l'humeur aqueuse) ou la cyclodestruction (cyclophotocoagulation au laser diode ou YAG neodymium, cyclocryoapplication) sont assez souvent nécessaires pour contrôler le glaucome postgreffe (Ayyala, 1998). La trabéculoplastie au laser argon a été également proposée mais l'effet pressif est faible alors que l'hypertonie postgreffe est souvent caractérisée par des chiffres pressif élevés (Van Meter, 1988).

La trabéculéctomie avec mitomycine permet un contrôle de la pression intraoculaire dans 70 à 90 % des cas, alors que le taux de succès est faible en l'absence d'antiméiotique (Chowers, 1999 ; Gilvarry, 1989 ; Ishioka, 2001). Dans notre expérience, l'utilisation peropératoire de mitomycine doit souvent être complétée par des injections sous-conjonctivales de 5-fluorouracile dans la période postopératoire pour conserver une trabéculéctomie fonctionnelle. La chirurgie filtrante du glaucome après la greffe diminue la survie du greffon ; la probabilité de survie du greffon est divisée par deux en cas de chirurgie du glaucome après la greffe (Allouch, 2003). La probabilité de garder un greffon clair avec une pression intraoculaire normale (avec ou sans drogues hypotonisantes) a été évaluée à 50 % à cinq ans après chirurgie combinée kératoplastie transfixiante et trabéculéctomie (Kirkness, 1992). Ces résultats sont meilleurs que ceux des patients opérés dans un premier temps d'une trabéculéctomie puis dans un deuxième temps d'une kératoplastie. Les complications possibles de la chirurgie filtrante avec antiméiotiques sont les défauts épithéliaux chroniques, l'œdème maculaire, les décollements ou hématomas choroïdiens, les fuites au niveau de la bulle de filtration, l'athalémie et la cataracte (Chowers, 1999 ; Ishioka, 2001). Néanmoins, la principale complication

reste la perte de perméabilité de la trabéculéctomie secondaire à une fibrose sous-conjonctivale, source de non-contrôle de la pression intraoculaire qui conduit souvent à l'échec de la greffe.

Les valves de dérivation de l'humeur aqueuse qui ont été proposées pour traiter le glaucome lors de la kératoplastie ou dans un deuxième temps sont les implants de Molténo, d'Ahmed, de Baerveldt et de Krupin. Le tube de drainage de l'humeur aqueuse de ces dispositifs peut être inséré dans la chambre antérieure à travers un volet de trabéculéctomie ou dans la cavité vitréenne à travers la pars plana. En terme de pression intraoculaire, les dispositifs de drainage de l'humeur aqueuse sont très efficaces, avec des taux de succès supérieurs à 70 % à un an et 60 % à deux et trois ans (Beebe, 1990 ; Kwon et Sidoti, 2001 ; McDonnell, 1988). En revanche, ils sont un facteur de risque d'échec de la greffe. La survie du greffon des patients opérés de kératoplastie transfixiante et d'une valve de drainage (dans le même temps opératoire ou en deux temps) a été évaluée à 75 % à un an par Coleman (1997), 41 % à deux ans par Sidoti (2001) et 55 % à trois ans par Kwon (2001). La survie du greffon à un an est de 48 % lorsque le dispositif de drainage est placé dans la chambre antérieure, et 83 % lorsqu'il est placé dans la cavité vitréenne. En revanche, la survie du greffon n'est pas influencée par le fait que le dispositif de drainage de l'humeur aqueuse soit placé dans le même temps opératoire que la greffe ou qu'il soit mis dans un deuxième temps (Arroyave, 2001). La probabilité de garder un greffon clair avec une PIO contrôlée a été évaluée à 50 % à trois ans en cas de chirurgie combinée kératoplastie transfixiante avec mise en place d'une valve d'Ahmed (Al-Torbak, 2003). Les complications possibles des valves de drainage sont l'hypotonie et l'atrophie du globe oculaire, le contact entre le greffon et le tube de drainage, les ulcérations conjonctivales au contact du tube et l'obstruction du tube avec perte de l'effet thérapeutique.

Shah (2001) rapporte les résultats de la cyclodestruction au laser diode avec un protocole de 40 impacts sur 270 à 300 °C, une puissance de 1,5 W et une durée de 1,5 s par impact. Le traitement est répété dans 57 % des cas. Il permet une baisse de la pression intraoculaire de 12 à 25 mmHg ; 80 % des patients obtiennent une pression inférieure ou égale à 21 mmHg après traitement avec une diminution du nombre moyen de drogues prescrites de 2,6 avant cyclodiode à 1,8 après traitement. Le recul minimal est de six mois. Les résultats du laser Nd :YAG sont proches de ceux du cyclodiode ou des valves de drainage en termes de contrôle de la pression intraoculaire et de survie du greffon (Beiran, 2000 ; Threlkeld, 1995).

Hidden page

La comparaison entre la trabéculéctomie avec mitomycine, les valves de drainage et la cyclodestruction au laser YAG montre peu de différences en termes de contrôle de la pression intraoculaire et de survie du greffon. Néanmoins, les résultats de la cyclodestruction sont légèrement moins bons que ceux des deux autres méthodes (Ayyala, 1998).

7.4. Complications infectieuses

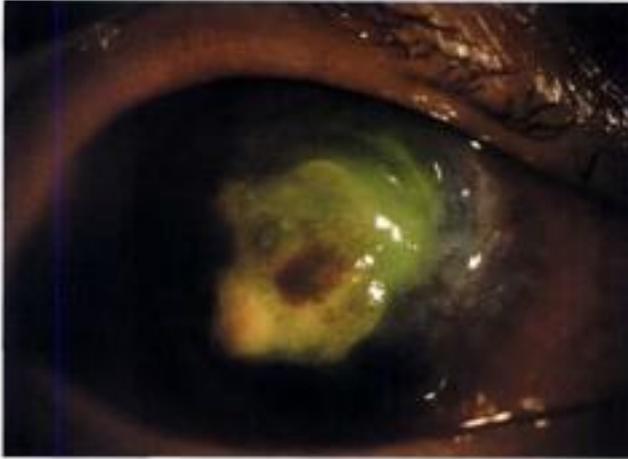
L'endophtalmie postopératoire est une complication redoutable de la kératoplastie dont la fréquence est de l'ordre de 0,5 % (Leibowitz, 1998). Son étiologie peut être un germe transmis par le greffon (Cameron, 1998). Il faut noter que le risque d'endophtalmie est multiplié par environ 20 lorsque le greffon utilisé n'est pas stérile (Borderie, 1998c). Actuellement, seule l'organoculture permet d'assurer la stérilité des greffons avec une fiabilité de l'ordre de 99 % (Borderie, 1998c ; Lass, 1994). Le germe peut être également transmis par l'implant ou provenir de la flore conjonctivale et palpébrale du patient. Les signes cliniques, le diagnostic et le traitement d'une endophtalmie postopératoire après kératoplastie transfixiante sont les mêmes que ceux de l'endophtalmie après chirurgie de la cataracte. Une endophtalmie chronique peut compliquer une triple procédure et donner un tableau clinique proche de celui d'un rejet endothélial diffus (Reinhard, 2002).

Les *kératites infectieuses* après kératoplastie peuvent être d'origine bactérienne, fongique, virale ou parasitaire (amibes). Leur fréquence a été évaluée suivant les séries entre 1 et 12 % des patients opérés de kératoplastie transfixiante (Akova, 1999 ; Al-Hazaa, 1988 ; Bates et Lamensdorf, 1982 ; Sanchez Perez, 2000 ; Tixier, 2001 ; Tseng, 1995 ; Tuberville, 1981). Elles surviennent souvent pendant la première année postopératoire, mais les formes tardives ne sont pas rares (Akova, 1999 ; Al-Hazaa, 1988 ; Bates et Driebe, 1983 ; Fong et Harris 1988 ; Tseng, 1995).

Les *kératites bactériennes et fongiques* sont des complications qui intéressent habituellement le greffon ou la cicatrice. Elles sont favorisées par les corticoïdes, les défauts épithéliaux, les sutures desserrées, le port de lentille de contact, les anomalies palpébrales (trichiasis), la sécheresse oculaire et, plus généralement, les pathologies de la surface oculaire, l'hypoesthésie cornéenne, les greffes pour kératite herpétique, la défaillance endothéliale du greffon et le terrain (diabète notamment) (Al-Hazaa et al., 1988 ; Sanchez Perez, 2000 ; Tseng, 1995 ; Vajpayee, 2002). Elles se présentent sous forme d'ulcération épithéliale, d'infiltrat ou d'abcès stromal voire s'accompagnent d'un Tyndall ou d'un hypopion. Il s'y associe une rougeur, des douleurs, une photophobie, un larmoie-

ment et une baisse de la vision. Il faut noter (et surveiller ensuite) la taille de la lésion et son extension en profondeur dans le stroma cornéen qui sont deux facteurs pronostiques de l'évolution finale ainsi que les éventuels signes de réaction inflammatoire ou de diffusion de l'infection en chambre antérieure (Bourcier, 2003).

Le diagnostic étiologique doit être fait à partir d'un prélèvement cornéen fait à la lampe à fente (grattage de la lésion) avant de débiter le traitement antibiotique ou antifongique. Un étalement du produit de grattage sur deux lames permet un examen direct après coloration de la première lame par le May Grünwald Giemsa et coloration de la deuxième lame par d'autres colorants plus spécifiques (Gram, acide périodique Schiff, acridine orange) dont le choix est fait après observation de la première lame. L'ensemencement de milieux appropriés (gélose chocolat, bouillon de Shaedler, gélose Portagerm, milieu de Sabouraud) permet la culture des micro-organismes à une température appropriée (37 °C pour les bactéries, 30 °C pour les champignons), leur identification et la réalisation d'un antibiogramme ou d'un antifongogramme. Le résultat de la culture doit être interprété en fonction du germe identifié et du nombre de colonies obtenues. Ainsi, une colonie unique de *Pseudomonas aeruginosa* correspond à un prélèvement positif alors que, pour des germes habituellement présents à la surface de l'œil (*Staphylococcus epidermidis*), on exigera la présence d'au moins trois colonies pour déclarer le prélèvement positif. L'infection est d'origine bactérienne dans les deux tiers des cas et d'origine fongique dans un tiers des cas (Harris, 1988). Les deux germes les plus fréquents de ces kératites postgreffe sont *Staphylococcus epidermidis* et *Candida albicans* (Harris, 1988 ; Sanchez Perez, 2000 ; Vajpayee, 2002). Parmi les bactéries pouvant être à l'origine d'une kératite postgreffe, *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* sont des germes assez souvent retrouvés. Les autres bactéries retrouvées incluent des cocci Gram positifs (*Streptococcus viridans*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus hominis*), des cocci Gram négatifs (*Moraxella*) et des bacilles Gram négatifs (*Hemophilus influenzae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Serratia marcescens* et *Alcaligenes xyloxydans*) (Tixier, 2001). En dehors de *Candida albicans* qui est à l'origine de la majorité des kératomycoses postgreffe, d'autres champignons ont été isolés : *Candida parapsilosis*, *Aspergillus*, *Paecilomyces lilacinus*, *Exophiala dermatidis*, *Torulopsis glabrata* (Bourcier, 2003 ; Gordon, 1985 ; Kremer, 1991 ; Larsen, 1978 ; Levenson, 1984 ; Weichel, 2002). Les kératomycoses peuvent se propager dans la chambre antérieure sous forme d'une masse ou de filaments se



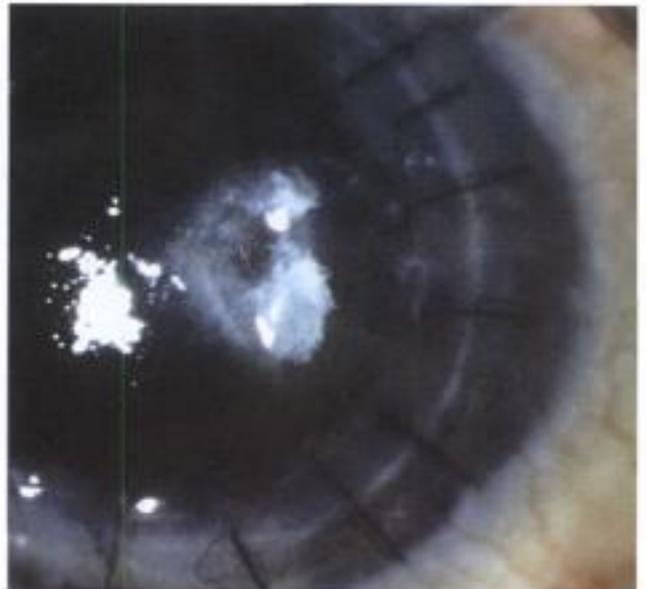
Abcès à pyocyanique sur le greffon.



Kératite microcristalline.



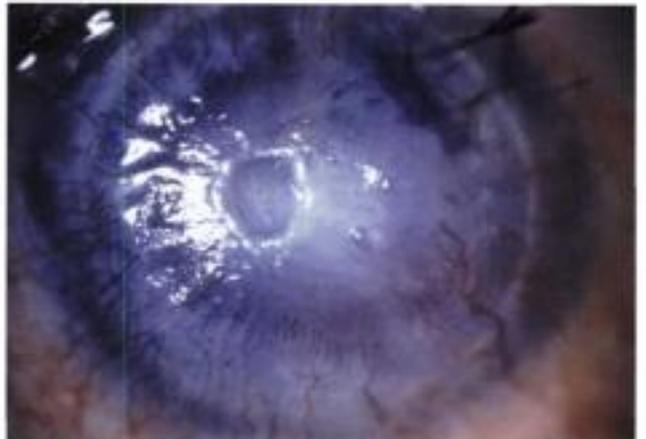
Abcès bactérien tardif.



Kératite microcristalline.



Abcès bactérien sur fil avec une lame d'hypopyon.



Même patient : évolution vers le rejet et l'opacification définitive du greffon.

développant à partir de la face postérieure du greffon. L'infection aspergillaire peut prendre l'aspect d'un aspergillome précornéen (Weichel 2002). L'étude microbiologique des sutures desserrées ou cassées a montré la présence d'une bactérie dans 21 cas sur 55 (Siganos, 1997). Les germes isolés sont des *Staphylococcus epidermidis* et des *Diphtheroides*.

Les kératites infectieuses après kératoplastie sont sources de complications sévères : rejet de greffe, cicatrice opaque allant de la taie superficielle à l'opacification complète du greffon, perte de substance stromale induisant un astigmatisme irrégulier impossible à corriger, endophtalmie, hypertension oculaire, perte anatomique de l'œil, perte de la fonction visuelle. Lorsque le germe en cause est un champignon, les complications sont plus fréquentes et le pronostic est plus sévère que lorsqu'il s'agit d'une bactérie.

Le traitement de ces kératites infectieuses post-greffe requiert souvent une hospitalisation. Il fait appel aux collyres antibiotiques renforcés utilisés en association, aux collyres antifongiques renforcés, voire aux injections intracaméculaires ou intravitréennes d'amphotéricine B (5 µg dans 0,1 ml), de ceftazidime (1 mg dans 0,1 ml) ou de vancomycine (1 mg dans 0,1 ml) et aux antibiotiques ou antifongiques par voie systémique. Les collyres antibiotiques et antifongiques renforcés sont utilisés à forte dose au début (par exemple 1 goutte toutes les 15 minutes pendant deux heures puis une goutte toutes les heures pendant 48 heures), puis rapidement et progressivement diminués dès que l'infection est contrôlée car ils ont une toxicité épithéliale incontestable. Si le traitement initial d'une kératite supposée bactérienne associe habituellement trois collyres renforcés ayant des spectres complémentaires (par exemple ticarcilline, amikacine et vancomycine), ce traitement est adapté dès que le germe est identifié en ne gardant que deux antibiotiques renforcés actifs sur le germe. Après la phase aiguë qui dure souvent environ une semaine, les collyres renforcés peuvent être remplacés par des collyres antibiotiques habituels (disponibles en pharmacie de ville) qui ont une meilleure tolérance épithéliale. Les antibiotiques systémiques utilisés sont des drogues à haute diffusion tissulaire qui ne sont utilisables que par voie veineuse, sauf pour les fluoroquinolones et certaines céphalosporines qui peuvent être utilisées per os. La pipéracilline, la ciprofloxacine, l'ofloxacine, l'imipénème, les céphalosporines de 3^e génération, la vancomycine et la phosphomycine sont les principaux antibiotiques systémiques utilisés habituellement. Les antifongiques oraux utilisables sont le fluconazole, la 5-fluorocytosine et l'itraconazole. L'amphotéricine B peut être utilisée par voie veineuse mais elle a une toxicité rénale. En cas d'infection fongique, il est logique de diminuer ou d'arrêter les

corticoïdes qui favorisent la croissance fongique. On peut alors remplacer le collyre corticoïde par un collyre à la ciclosporine (Perry, 2002). L'infection peut être guérie par le seul traitement anti-infectieux dans les trois quarts des cas, mais avec des séquelles anatomiques entraînant très souvent une limitation sévère de l'acuité visuelle (Vajpayee, 2002). Ailleurs, une greffe thérapeutique est nécessaire afin de diminuer la charge bactérienne ou fongique et de permettre ainsi aux antibiotiques ou antifongiques de stériliser la cornée. Le pronostic de la greffe est en général engagé par ces kératites infectieuses. Le taux de survie du greffon après celles-ci est en général inférieur à 50 %, de l'ordre de 25 à 40 % (Harris, 1988 ; Sanchez Perez, 2000 ; Tseng, 1995). Le changement de greffon est donc souvent nécessaire soit pour traiter l'infection (greffe thérapeutique), soit pour récupérer la fonction visuelle. L'évolution de la l'infection peut être sévère avec atteinte de la chambre antérieure puis du segment postérieur. Dans ce cas, l'évolution se fait en règle vers la perte de la vision et une éviscération est alors nécessaire.

Une forme particulière est la kératopathie cristalline qui donne un aspect de cristaux ramifiés en arbre de Noël avec peu ou pas de signes inflammatoires (Gorovoy, 1983 ; Reiss, 1986 ; Salabert et Stern, 1993 ; Sharma, 2000). Le germe habituel de cette forme clinique est *Streptococcus viridans* (Reiss, 1986 ; Stern, 1993), mais d'autres germes ont été rapportés : anaérobies, *Streptococcus mitis*, *Hemophilus*, *Chlamydiae*, *Candida albicans*, *Candida parapsilosis* (Bourcier, 2003 ; Eiferman, 1985 ; Groden, 1987 ; Sanchez Perez, 2000 ; Wilhelmus, 1991). Les germes prolifèrent et s'accumulent entre les lamelles de collagène du stroma donnant l'aspect cristallin (Samples, 1985). L'absence de réaction inflammatoire est liée à la corticothérapie locale prolongée. Cette complication de la greffe est rare, mais aboutit habituellement à l'échec de la greffe par opacification définitive du greffon ou fonte purulente (Reiss, 1986 ; Salabert et Stern, 1993 ; Samples, 1985). Le traitement de cette infection est long et la stérilisation du foyer infectieux est difficile à obtenir. Les corticoïdes qui favorisent cette infection peuvent être remplacés par la ciclosporine topique (Touzeau, 1999b).

Les kératites bactériennes et fongiques peuvent survenir de manière retardée par rapport à la greffe. Tseng (1995) a rapporté 41 cas sur 354 kératoplasties transfixiantes consécutives, avec un délai de survenue moyen de dix mois et un délai maximum de 52 mois. Les facteurs étiologiques retrouvés sont des défauts épithéliaux (49 %), des anomalies des sutures (41 %), le port de lentilles de contact (17 %), un trichiasis (17 %), une sécheresse oculaire (12 %) et des anomalies palpébrales (10 %). Les germes les plus

Hidden page

Hidden page

Collyres antibiotiques et antifongiques renforcés utilisables dans les kératites infectieuses postgreffe (la préparation est réalisée par une pharmacie hospitalière)

Dénomination commune internationale	Dosage	Spectre antimicrobien
Ticarilline	6 mg/ml	Cocci Gram positif (sauf staphylocoques), bacilles Gram négatif
Ceftazidime	12,5 et 20 mg/ml	Bacilles Gram négatif
Amikacine Gentamicine Tobramycine	25 et 50 mg/ml 15 mg/ml 20 mg/ml	Cocci Gram positif (staphylocoques méfisensibles) et cocci Gram négatif, entérobactéries, pyocyanique
Vancomycine	50 mg/ml	Cocci Gram positif (dont staphylocoques méfirésistants), entérocoques, bacilles Gram positif
Bacitracine	500 UI/ml	Cocci Gram positif et cocci Gram négatif, anaérobies
Colimycine	125 000 UI/ml	Bacilles Gram négatif
Amphotéricine B Natamycine Fluconazole Flucytosine	7 mg/ml 5 % 2 mg/ml 1 %	Levures et filaments (spectre large) Levures Levures (<i>Candida</i> , <i>Cryptococcus</i>), <i>Histoplasma</i> Levures (<i>Candida</i> , <i>Torulopsis</i> , <i>Cryptococcus</i>), <i>Aspergillus</i> est inconstamment sensible
Nitrate de phényl mercure Miconazole	0,02 mg/ml 0,1 %	Levures et filaments Levures (<i>Candida</i> , <i>Cryptococcus</i>) et filaments (<i>Aspergillus</i>), <i>Histoplasma</i>

Collyres antibiotiques commercialisés utilisables dans les kératites infectieuses postgreffe

Dénomination commune internationale	Nom commercial	Spectre antimicrobien
Acide fusidique	Fucithalmic [®]	Cocci Gram positif (staphylocoques) et cocci Gram négatif
Bacitracine	Bacitracine [®]	Cocci Gram positif et cocci Gram négatif, anaérobies
Rifamycine	Rifamycine [®]	Cocci Gram positif (staphylocoques) et cocci Gram négatif
Oxytétracycline	Posicycline [®]	Spectre large, résistance croissante des staphylocoques et des bacilles Gram négatif
Tobramycine Gentamicine Néomycine Néomycine + polymyxine B	Tobrex [®] Gentalline [®] , Gentamicine [®] Néomycine [®] Cébémixine [®]	Cocci Gram positif (staphylocoques) et cocci Gram négatif, entérobactéries, pyocyanique
Norfloxacine Ciprofloxacine Ofloxacine	Chibroxine [®] Ciloxan [®] Éxocine [®]	Cocci Gram positif (staphylocoques) et cocci Gram négatif, entérobactéries, pyocyanique, chlamydiae

Antibiotiques et antifongiques systémiques utilisables dans les kératites infectieuses postgreffe

Dénomination commune internationale	Nom commercial	Posologie et voie d'administration	Spectre antimicrobien
β-lactamines et dérivés :			
Pipéracilline + tazobactam Imipénème + cilastatine	Tazocilline [®] Tiénam [®]	4 g toutes les 8 heures, IV 500 mg toutes les 8 heures, IV	Streptocoques, corynébactéries, pyocyanique Cocci Gram positif (sauf staphylocoques méfirésistants) et négatif, bacilles Gram négatif (sauf <i>Xanthomonas</i>)
Fluoroquinolones :			
Ciprofloxacine	Ciflox [®]	200 mg toutes les 12 heures, IV 500 mg toutes les 12 heures, p.o.	Bacilles Gram négatif, staphylocoques méfisensibles, propionibactérium, le pyocyanique est inconstamment sensible
Ofloxacine	Oflocet [®]	200 mg toutes les 12 heures, IV 200 mg toutes les 12 heures, p.o.	
Antistaphylococciques :			
Vancomycine	Vancocine [®]	500 mg toutes les 6 heures, IV	Cocci Gram positif (dont staphylocoques méfirésistants), entérocoques, bacilles Gram positif
Fostomycine	Fosfocine [®]	4 g toutes les 8 heures, IV	Cocci Gram positif (sauf streptocoque A), bacilles Gram négatif (sauf <i>Proteus</i>), le pyocyanique est inconstamment sensible
Céphalosporines de 3 ^e génération :			
Ceftazidime	Fortum [®]	1 g toutes les 8 heures, IV	Bacilles Gram négatif, streptocoques
Antifongiques :			
Amphotéricine B Fluconazole Kétoconazole Itraconazole Flucytosine (5-fluorocytosine)	Fungizone [®] Triflucan [®] Nizoral [®] Sporanox [®] Ancotil [®]	0,3 mg/kg par 24 heures, IV 100 mg toutes les 12 heures, p.o. 200 mg par jour, p.o. 200 mg par jour, p.o. 2 g (4 cp) toutes les 8 heures, p.o.	Levures et filaments (spectre large) Levures (<i>Candida</i> , <i>Cryptococcus</i>), <i>Histoplasma</i> Levures (<i>Candida</i> , <i>Torulopsis</i> , <i>Cryptococcus</i>), <i>Histoplasma</i> Levures (<i>Candida</i> , <i>Cryptococcus</i>), <i>Histoplasma</i> Levures (<i>Candida</i> , <i>Torulopsis</i> , <i>Cryptococcus</i>), <i>Aspergillus</i> est inconstamment sensible

7.5. Pathologies épithéliales

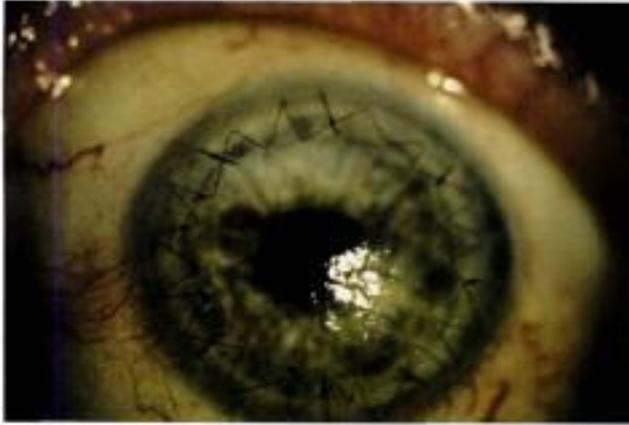
Les lésions épithéliales s'observent dans un tiers à trois quarts des cas après kératoplastie transfixiante. Les facteurs de risque sont l'âge, les brûlures, l'herpès, le diabète et le syndrome sec. Au cours des premières semaines qui suivent la greffe, une kératite ponctuée superficielle est pratiquement constante si l'on prend en compte toutes les formes même minimales observées pendant les premiers jours qui suivent la greffe, de même qu'une irrégularité de l'épaisseur épithéliale (Tsubota, 1995 ; Vannas, 1987). Les phénomènes de sécheresse oculaire sont aggravés par la greffe, comme ils le sont par les autres chirurgies cornéennes (LASIK notamment). On constate donc souvent une augmentation de la symptomatologie fonctionnelle au niveau de l'œil greffé par rapport à son état préopératoire et par rapport à l'œil adelphe. Les défauts de qualité de l'épithélium ont un retentissement sur l'étalement du film lacrymal et peuvent entraîner une limitation de l'acuité visuelle. Les facteurs de risque de pathologies épithéliales postopératoires précoces (pendant les 4 premiers mois), incluant les kératites ponctuées superficielles, la hurricane kératopathie, les défauts épithéliaux, l'œdème épithélial microkystique, les bulles sous-épithéliales et la kératite filamenteuse, ont été étudiés de manière rétrospective dans une série de 100 greffes (Mannis, 1997). La fréquence de ces pathologies épithéliales postopératoires précoces est de 33 % ; la plus fréquente est la kératite ponctuée superficielle. Dans cette étude, l'âge du receveur est le seul facteur de risque significatif ; les patients atteints sont statistiquement plus âgés (âge moyen 69 ans) que ceux qui n'ont pas d'anomalies de surface (âge moyen 53 ans).

Les défauts épithéliaux (ulcérations épithéliales du greffon) sont sources de baisse visuelle, d'infection, de rejet, d'ulcérations stromales et perforations et, enfin, d'échec de la kératoplastie. Leurs causes sont multiples. Le diabète et l'âge sont des facteurs favorisants (Leibowitz, 1998). La conservation du greffon lèse partiellement l'épithélium cornéen. La persistance des réserves épithéliales en glycogène après décès varie en fonction du mode de conservation : chambre humide à +4 °C : 48 heures ; milieux liquides à +4 °C : 79 heures, organoculture à +34 °C : 35 jours. Si le receveur n'a pas d'insuffisance limbique, la réépithélialisation se fera normalement après kératoplastie. Le traumatisme chirurgical a un rôle dans la genèse des défauts épithéliaux postopératoires : lésions de la membrane basale épithéliale, manipulation du greffon et du lit receveur peropératoire (pincées) source de défauts périphériques, dessiccation épithéliale possible due à l'éclairage du microscope opératoire. Les causes postopératoires des défauts

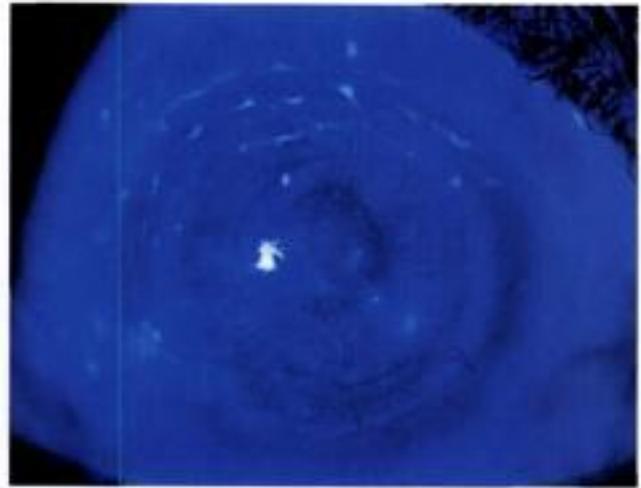
épithéliaux comprennent les traumatismes, les anomalies palpébrales, la toxicité épithéliale de certains collyres (antiviraux, ciclosporine, antibiotiques renforcés, β -bloquants), la sécheresse oculaire, la maladie primitive (syndrome Stevens-Johnson, pemphigoïde, brûlure caustique), les dellens (notamment au voisinage d'une suture desserrée), les anomalies de réinnervation du greffon, les infections de la surface oculaire, notamment l'herpès. Cliniquement, ces défauts épithéliaux se présentent comme des ulcères chroniques de forme arrondie et de localisation centrale ou paracentrale. Une forme clinique particulière est le pseudo-ulcère de Mooren post-greffe qui réalise un ulcère marginal creusant du greffon. Les défauts épithéliaux postgreffe peuvent entraîner une collagénolyse du stroma sous-jacent allant jusqu'à la descémétocèle ou à la perforation.

La prévention des défauts épithéliaux repose sur la correction des facteurs étiologiques, la protection épithéliale peropératoire par un viscoélastique et l'ablation des sutures desserrées en postopératoire. Le traitement repose sur la correction des facteurs étiologiques, les traitements mouillant, les collyres favorisant la cicatrisation (acide hyaluronique), la protection de l'épithélium en cours de cicatrisation (lentille pansement souple à haut Dk qui engendre un risque infectieux, voire tarsorrhaphie latérale).

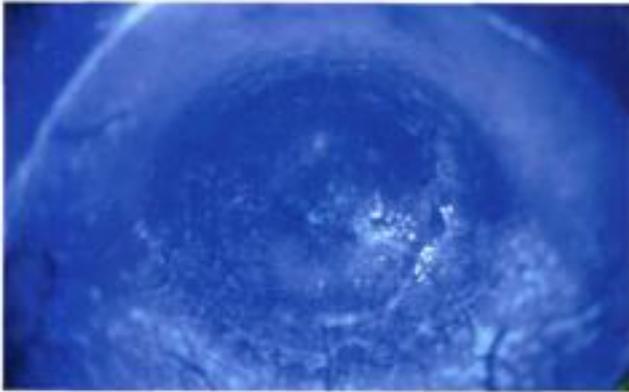
L'hurricane kératopathie est centrée sur le sommet de la cornée donnant un aspect de spirale. Elle reflète la migration centripète des cellules épithéliales et l'augmentation du turn over épithélial. Elle est plus fréquente entre six et 12 mois (fréquence : environ 70 %). Les aspects cliniques de la hurricane kératopathie (Dua, 2000) ont été décrits dans une étude de 36 cas dont 20 après kératoplastie transfixiante et 16 après port de lentilles rigides perméables aux gaz. Dans cette étude, l'aspect spiralé apparaît dans les trois premières semaines qui suivent la greffe et persiste jusqu'à quatre mois. Des séquelles sont retrouvées au centre : petits défauts épithéliaux (11 %), hyperplasie épithéliale (6 %), petites opacités (3 %). La kératite filamenteuse est retrouvée dans 27 % des cas. Elle est plus fréquente en cas de greffe pour kératocône. Elle est souvent présente au niveau de la cicatrice. L'épithéliopathie dendritiforme hypertrophique superficielle (Mannis, 1998) correspond à des lésions hypertrophiques mucoïdes épithéliales en plaques, résistantes au traitement décrites chez des femmes de la soixantaine. Elle semble favorisée par une inflammation oculaire chronique préopératoire, des anomalies des larmes et des anomalies palpébrales. Elle est aggravée par la toxicité des collyres et peut être améliorée par le port de lentille thérapeutique. Des dépôts de fluoroquinolones ont été décrits ainsi que des dépôts calcaires (kératopathie en bandelette).



Syndrôme sec. La greffe aggrave le syndrome sec qui peut entraîner une irrégularité importante de l'interface air/film lacrymal source de limitation de l'acuité visuelle.



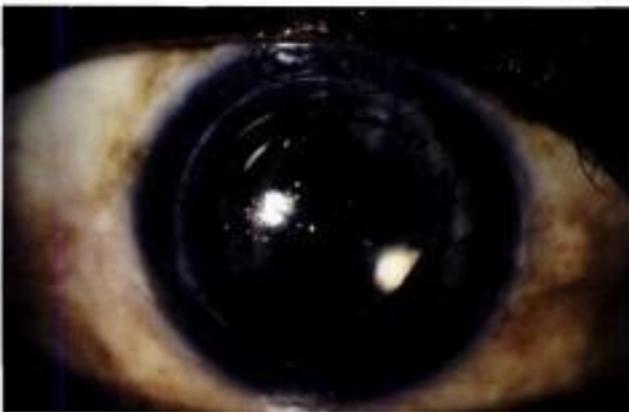
Même patiente après instillation de fluorescéine.



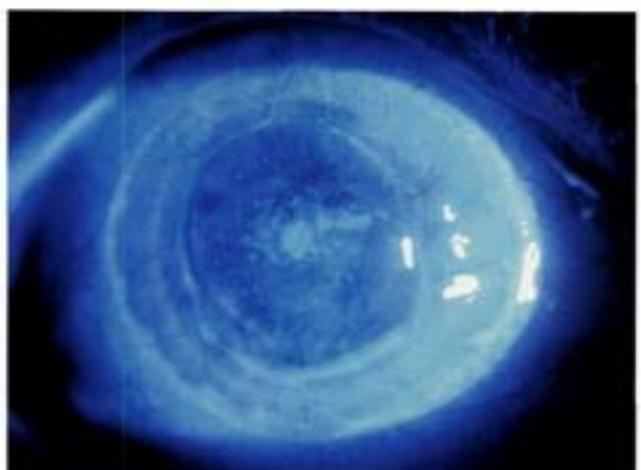
Même patiente après instillation de fluorescéine.



Irrégularité de l'épithélium cornéen après greffe.

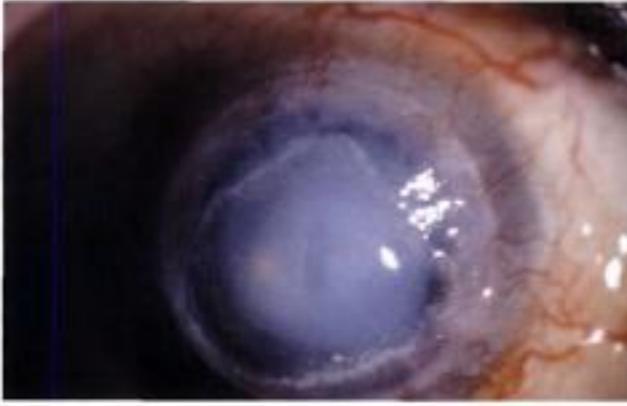


Kératite filamenteuse sur le greffon.



Hurricane keratopathy à 8 mois de la greffe. Notez l'aspect de l'épithélium en tourbillon centré sur le sommet du greffon.

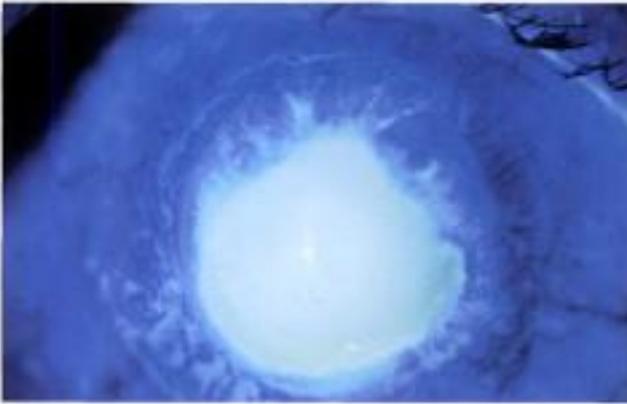
Hidden page



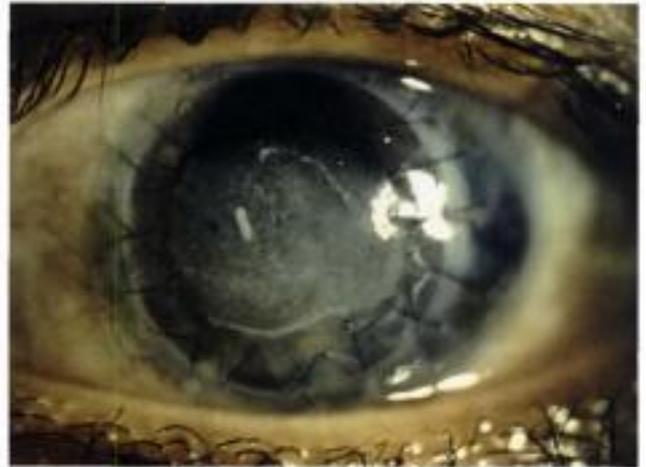
Ulcère épithélial chronique entraînant une collagénolyse du stroma sous-jacent.



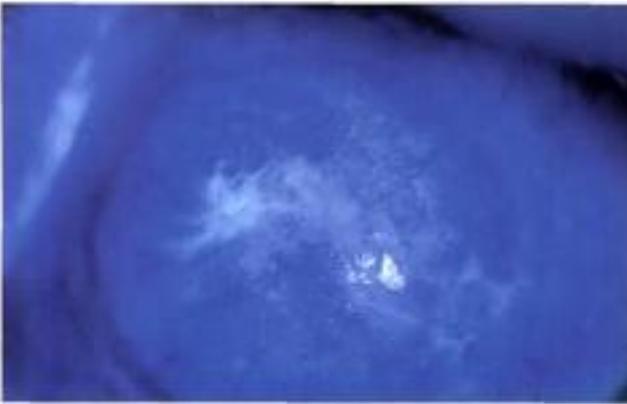
Même patient : aspect au grossissement 40. Il ne reste au niveau de la zone du defect épithélial qu'une fine lame de stroma postérieur.



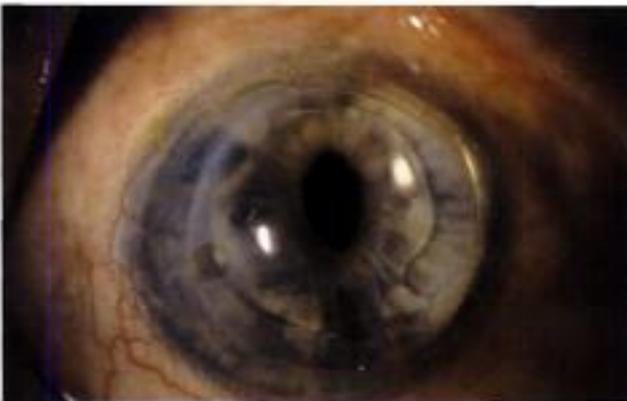
Même patient : aspect en fluorescéine.



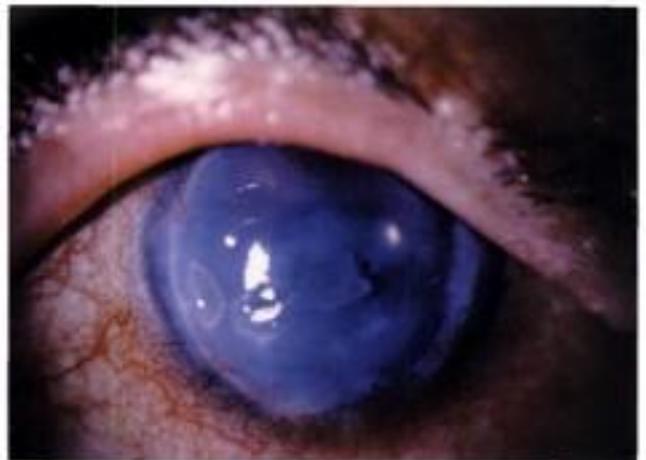
Kératopathie en bandelette après greffe de cornée pour kératite herpétique.



Échec de greffe par insuffisance limbique.



Séquelle de defect épithélial postgreffe sous forme d'un amincissement extrême localisé de la jonction entre le greffon et la cornée réceptrice. Aspect à 4 ans de la greffe.



Dépôts calcaires après defect épithélial chronique et rejet de greffe de cornée.

Hidden page

Hidden page

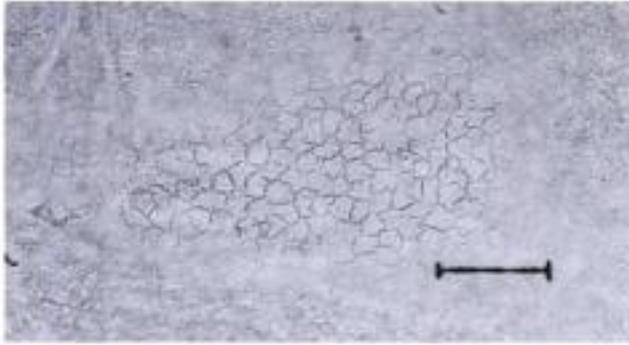
7.6.2. Cornea guttata progressive

Il s'agit de la présence de gouttes au niveau du greffon évoluant progressivement dans les années qui suivent la greffe en devenant plus nombreuses, plus grandes et enfin confluentes (Alexandrakis, 2000). Cela entraîne une limitation de l'acuité visuelle, une photophobie, puis à terme un œdème du greffon aboutissant à l'échec de la greffe.

Cette complication est plus fréquente en cas de présence de gouttes groupées au niveau du greffon avant l'intervention (Borderie, 2001). Néanmoins, elle peut survenir en l'absence de cornea guttata détectée sur le greffon. Si l'indication opératoire de la greffe est une dystrophie de Fuchs, il s'agit alors probablement d'une récurrence de la dystrophie sur le greffon, complication fréquente de la greffe à moyen et long terme dans cette indication. Si l'indication opératoire n'est pas une dystrophie de Fuchs, on peut évoquer un phénomène de vieillissement du greffon ou une dystrophie de Fuchs peu évoluée chez le donneur dont l'évolution aura été provoquée par la greffe. Il faut noter que l'apoptose des cellules endothéliales intervient dans la physiopathologie de la dystrophie de Fuchs (Borderie, 2000 ; Li, 2001).

La surveillance régulière du greffon permet d'observer l'évolution progressive de la cornea guttata. La classification de Laing est utile pour apprécier cette progression (Borderie, 1999a ; Laing, 1981). Au stade 1, les gouttes sont isolées, elles ont une taille inférieure à celle d'une cellule endothéliale et

leur spot clair central est bien défini. La morphologie des cellules endothéliales voisines est normale. Au stade 2, les gouttes sont isolées, elles ont une taille proche de celle d'une cellule endothéliale. La morphologie des cellules endothéliales voisines est anormale : celles-ci sont allongées et forment une rosette, leur contour est estompé au contact de la goutte. La morphologie cellulaire autour de la rosette est normale. Au stade 3, les gouttes commencent à confluer, elles ont la taille de cinq à dix cellules endothéliales. La morphologie des cellules endothéliales voisines est anormale alors que les cellules à distance restent normales. Deux types de gouttes peuvent être observés. Les gouttes régulières sont arrondies avec un spot central bien limité rond ou ovale. Les gouttes irrégulières ont un spot central aux limites mal définies et d'intensité variable. Au stade 4, les gouttes sont confluentes, elles donnent une image multilobée comportant plusieurs spots clairs. Il existe en outre des gouttes isolées de distribution irrégulière. La morphologie des cellules endothéliales est anormale même à distance des gouttes, avec une augmentation importante de la surface cellulaire. Les deux types de gouttes (régulières et irrégulières) peuvent être observés. Au stade 5, aucune cellule et aucun contour cellulaire n'est visible. L'aspect du reflet endothélio-des-cémétique est inversé avec des contours clairs beaucoup plus brillants que la surface cellulaire normale entourant des zones noires qui résultent des dépôts de collagène.



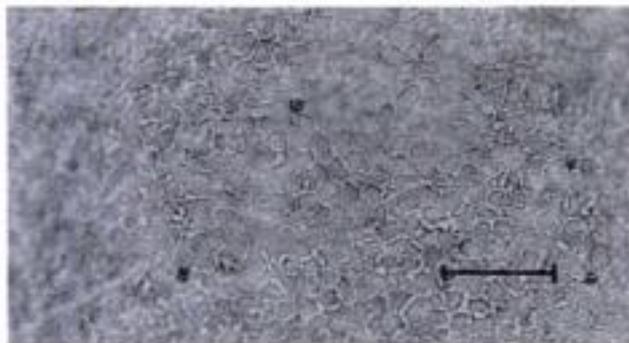
Contrôle endothélial prégreffe après 22 jours d'organoculture. Densité endothéliale 2400 cellules/mm². Notez en haut les deux images brillantes d'une taille inférieure à 1 cellule pouvant correspondre à des gouttes isolées.



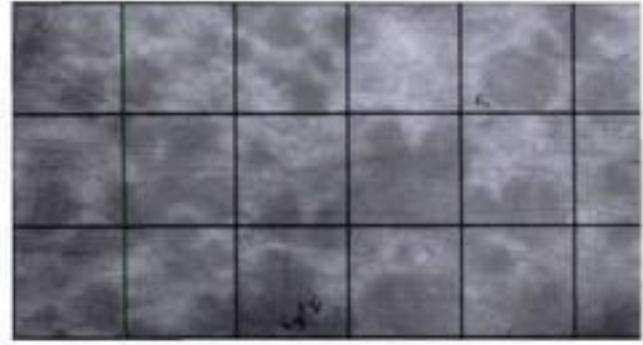
Cornea guttata se développant sur la greffe de cornée faite pour un kératocône. Aspect en microscopie spéculaire à 48 mois de la greffe. Densité endothéliale 800 cellules/mm². Cornea guttata stade II (gouttes de taille supérieure à la taille d'une cellule) de Laing. Acuité visuelle 8/10, pachymétrie 570 µm.



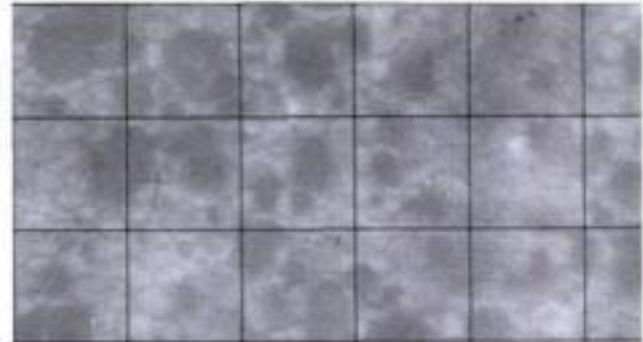
Même patient. Aspect de l'endothélium dans une autre zone du greffon où la cornea guttata est au stade IV (gouttes confluentes avec persistance de cellules endothéliales visibles).



Contrôle endothélial prégreffe après 20 jours d'organoculture. Densité endothéliale 2000 cellules/mm². Notez la présence d'images rondes d'une taille inférieure à 1 cellule pouvant correspondre à des gouttes isolées.



Cornea guttata se développant sur la greffe de cornée faite pour un kératocône. Aspect en microscopie spéculaire à 12 mois de la greffe. Cornea guttata stade III de Laing (taille des gouttes supérieure à 5 cellules). Acuité visuelle 4/10, pachymétrie 500 µm.



Même patiente à M42. Cornea guttata stade III de Laing. Pachymétrie 600 µm.



Même patiente à M70. Cornea guttata stade III de Laing. Pachymétrie 590 µm.



Même patiente à M70. Aspect de l'endothélium dans une autre zone du greffon où la cornea guttata est au stade IV.

7.7. Astigmatisme

L'astigmatisme est la principale source de limitation de l'acuité visuelle après kératoplastie transfixiante chez les patients dont le greffon est clair et qui ne présentent pas de pathologie maculaire. En effet, l'importance de l'astigmatisme (valeur du cylindre) et son irrégularité limitent la meilleure acuité visuelle corrigée. L'astigmatisme géant complice environ 10 % des greffes de cornée (Jensen, 1974 ; Perlman, 1981 ; Troutman, 1979 ; Touzeau, 1997). L'étude de l'astigmatisme après kératoplastie transfixiante fait appel à la réfraction subjective, à la kératométrie et à la vidéokératoscopie (topographie cornéenne) (Borderie, 1996b). Il faut noter que la kératométrie donne la meilleure mesure de l'axe de l'astigmatisme, alors que la topographie cornéenne en algorithme axial ou en pouvoir réfractif donne la meilleure mesure de la valeur de l'astigmatisme. De plus, le cylindre topographique en pouvoir réfractif est significativement corrélé à la meilleure acuité visuelle corrigée, alors que les indices fournissant une estimation de la régularité de la surface cornéenne sont faiblement ou pas corrélés à l'acuité visuelle corrigée. C'est l'inverse de ce que l'on observe avec une cornée normale ou une cornée opérée de chirurgie réfractive (Borderie, 1996b ; Hersh, 1996). Les profils en sablier sont associés aux astigmatismes les plus importants ; ils représentent 50 à 80 % des cornées greffées (Borderie, 1999g ; Touzeau, 1997 ; Waring, 1992). Il faut noter qu'à la différence des astigmatismes congénitaux, des astigmatismes post-kératoplastie ayant des topographies similaires peuvent évoluer différemment après le même traitement chirurgical. L'irrégularité de l'astigmatisme peut être quantifiée à l'aide des indices fournis par le Holladay Diagnostic Summary du topographe cornéen EyeSys (*PCA-predicted corneal acuity*, *CU-corneal uniformity index*, et *asphéricité*) et du RPSI (*refractive power symmetry index*) (Borderie, 1996b ; Holladay, 1997). Le RPSI est fondé sur les données des quatre héli-méridiens principaux sur le cercle de 3 mm en vidéotopographie. Il s'agit de la moyenne des valeurs absolues des différences de ces mesures au niveau des deux héli-méridiens les plus cambrés et des deux héli-méridiens les plus plats. Lorsque l'on analyse les modifications de l'astigmatisme après chirurgie, des méthodes de calcul vectoriel doivent théoriquement être utilisées (Holladay, 1992).

Plusieurs facteurs concourent à créer un astigmatisme après kératoplastie : trépanation du greffon, trépanation de la cornée réceptrice, astigmatisme de la cornée réceptrice, état du cristallin, décalage entre le greffon et la cornée réceptrice, astigmatisme du greffon, astigmatisme de la cornée réceptrice, qualité de réalisation des sutures, qualité de la cicatrisation,

modalité d'ablation des sutures, expérience du chirurgien (Reing, 1997 ; Touzeau, 1997). Pour la plupart des auteurs, la trépanation est le premier facteur étiologique de l'astigmatisme postgreffe après ablation des sutures (Kaufman, 1982 ; Olson, 1979, 1980 ; Troutman 1980). Si l'astigmatisme lié aux sutures peut être corrigé par la gestion postopératoire des sutures, l'astigmatisme lié aux défauts de qualité de la trépanation (trépanation ovale) ne peut être corrigé que chirurgicalement. Il est probablement à l'origine des astigmatismes géants apparaissant après ablation de toutes les sutures.

En pratique, le problème le plus difficile est celui de l'astigmatisme géant (> 5 D) chez un patient dont toutes les sutures ont été enlevées. Lorsque cet astigmatisme limite l'acuité visuelle corrigée et qu'une correction en lunettes n'est pas supportable, il faut envisager une chirurgie de l'astigmatisme. Celle-ci ne doit être faite qu'à distance (environ six mois au minimum) de l'ablation du dernier fil et chez un patient dont l'astigmatisme est stable sur au moins deux examens à plusieurs mois d'intervalle. Le bilan d'un astigmatisme géant postgreffe doit comprendre une topographie cornéenne. En effet, la correction chirurgicale de l'astigmatisme planifiée à partir des données de la topographie cornéenne donne de meilleurs résultats que celle fondée sur les seules données de la kératométrie et de la réfraction subjective (Karabatsas, 1998). Les résultats sont meilleurs en cas de forme topographique régulière (sablier symétrique) qu'en cas d'astigmatisme irrégulier (sablier asymétrique, *steep-flat*).

Les techniques les plus couramment utilisées actuellement sont les kératotomies arciformes faites à l'aide du kératome arciforme de Hanna, les incisions transverses faites à main levée au couteau diamant de kératotomie radiaire et le laser excimer (PhotoAstigmatic Refractive Keratotomy ou bien LASIK) (Agapitos, 1993 ; Fronterre et Kirkness, 1991 ; Hodving, 1994 ; Lindstrom, 1988 ; Maguire, 1989 ; Price, 1995 ; Saragoussi, 1990 et 1992 ; Troutman, 1980 ; Tuunanen, 1997). La photoablation peut être personnalisée à l'aide d'un logiciel reprenant les données de la topographie cornéenne pour créer un profil d'ablation tenant compte des irrégularités de la topographie cornéenne (Alessio, 2001 ; Hjorftal, 2001). Cela paraît logique car l'astigmatisme postgreffe est irrégulier. Néanmoins, si la technique permet une diminution globale des aberrations, la décomposition de celles-ci à l'aide du polynôme de Zernike montre que l'aberration la plus importante avant et après traitement est l'astigmatisme régulier (toricité). D'autres techniques sont moins utilisées car très peu prédictibles : kératotomie trapézoïdale, suture compressive, résection cunéiforme permettant la réduction des astigmatismes.

Hidden page

mes les plus importants (Harto et Koffler, 1996 ; Krachmer, 1980 ; Lavery, 1985 ; Mandel, 1987 ; Troutman, 1982). Globalement, toutes les techniques sous corrigent l'astigmatisme de l'ordre de 50 %.

Les grandes séries utilisant des incisions relaxantes font état d'un astigmatisme résiduel moyen allant de 3 à 5 D (Chastang, 1997 ; Hannush et Hjorddal, 1998 ; Krachmer, 1980 ; Saragoussi, 1992). Cela permet en règle une amélioration de l'acuité visuelle corrigée et la prescription d'un verre correcteur.

Par rapport aux incisions faites à main levée au couteau diamant, l'utilisation du kératome arciforme de Hanna permet de réaliser un geste plus sûr et plus uniforme (Hanna, 1993 ; Hannush, 1998). Il s'agit d'un appareil mécanique en forme de cône tronqué. Il comprend un système de fixation pneumatique, et deux lames diamant situées à 180° l'une de l'autre. L'appareil peut être utilisé avec ou sans fixation par succion. L'intervention est réalisée sous anesthésie locale. Le méridien de midi est repéré à l'aide d'une marque au crayon dermographique, patient en position assise, avant de réaliser l'anesthésie locale. Des abaques permettent de déterminer le diamètre de la zone optique et la longueur angulaire des incisions à réaliser en fonction du cylindre à corriger. Le centre du greffon est soigneusement repéré et la zone optique choisie est marquée. Le méridien le plus cambré est marqué en se fondant sur le méridien de midi précédemment repéré. Il est donc utile d'exprimer l'astigmatisme subjectif en cylindre positif dont l'axe correspond au méridien le plus cambré. L'axe d'un sablier prolate en topographie cornéenne est également celui du méridien le plus cambré. Habituellement, deux incisions symétriques sont réalisées sur le greffon, centrées sur le méridien principal de l'astigmatisme subjectif. Il est prudent de réaliser les deux incisions séparément après avoir vérifié la sortie de lame à l'aide d'une gauge. La cornée doit être humidifiée pendant l'incision pour éviter d'arracher l'épithélium. La course de lame est contrôlée pendant l'incision. L'incision est réalisée par un aller-retour en commençant dans le sens du biseau de la lame pour revenir avec le côté droit (les deux côtés de la lame étant tranchants). On peut réaliser également deux incisions asymétriques ou une seule incision en cas d'astigmatisme très irrégulier sur la topographie cornéenne. Néanmoins, cette situation correspondant généralement à un profil plat-bombé en topographie cornéenne est celle dans laquelle les résultats des kératotomies arciformes sont les moins bons ; les bonnes indications des kératotomies arciformes correspondent aux profils en sablier symétrique ou légèrement asymétriques avec une asphéricité prolate. Les incisions sont soigneusement lavées avec du BSS et un collyre ou une pommade antibiotique et

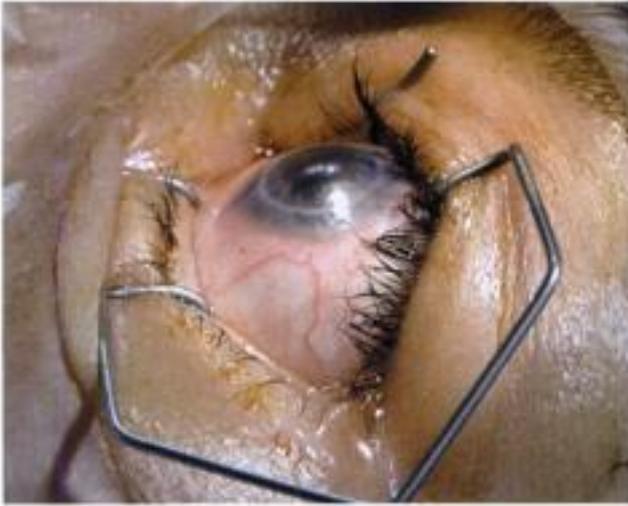
corticoïde est appliqué sur la cornée. Une injection sous-conjonctivale de corticoïde peut être réalisée en fin d'intervention. Après l'intervention, un collyre corticoïde associé à un collyre antibiotique doit être prescrit pour éviter la survenue d'un rejet et une surinfection des incisions.

Dans notre expérience, les kératotomies arciformes réalisées à l'aide du kératome arciforme de Hanna à 75 % de l'épaisseur cornéenne centrale ont permis de diminuer l'astigmatisme subjectif de 6,9 D en préopératoire à 3,8 D en postopératoire avec un recul moyen de sept mois par rapport aux incisions. L'astigmatisme kératométrique résiduel moyen est de 3,9 D. L'acuité visuelle sans correction s'est améliorée de 3,9 lignes. L'acuité visuelle corrigée s'est améliorée de 2,1 lignes. L'équivalent sphérique n'a pas été significativement modifié et l'irrégularité de l'astigmatisme n'a pas été augmentée. Sur 22 yeux opérés, un seul a eu une diminution de sa meilleure acuité visuelle corrigée de deux lignes par augmentation de l'irrégularité de l'astigmatisme induite par les incisions arciformes (Borderie, 1999f). Dans l'étude d'Hannush (1998), l'astigmatisme subjectif passe de 8,8 D en préopératoire à 3,2 D après incisions arciformes réalisées au kératome de Hanna.

L'astigmatisme kératométrique résiduel moyen après incisions relaxantes à main levée est de 4,9 D dans l'étude de Sugar (1983) et 5,7 D dans celle de Krachmer (1980). Ces résultats sont donc inférieurs à ceux obtenus avec le kératome arciforme de Hanna. Le taux de perforation est plus élevé après incisions relaxantes à main levée qu'après kératotomies arciformes à l'aide du kératome de Hanna, avec des taux de 2/16 dans l'étude de Krachmer (1980), 2/17 dans l'étude de Sugar (1983), 4/11 dans l'étude de Lavery (1985) et 5/7 dans l'étude de Cohen (1989).

Les complications des incisions relaxantes sont la perforation, l'infection et le rejet. L'effet correctif des incisions relaxantes peut être augmenté par l'insertion d'implants en collagène à l'intérieur des incisions (Espaillat, 1999). Néanmoins, peu de patients ont été traités par cette technique qui est restée confidentielle. Une régression de l'effet peut s'observer avec le temps.

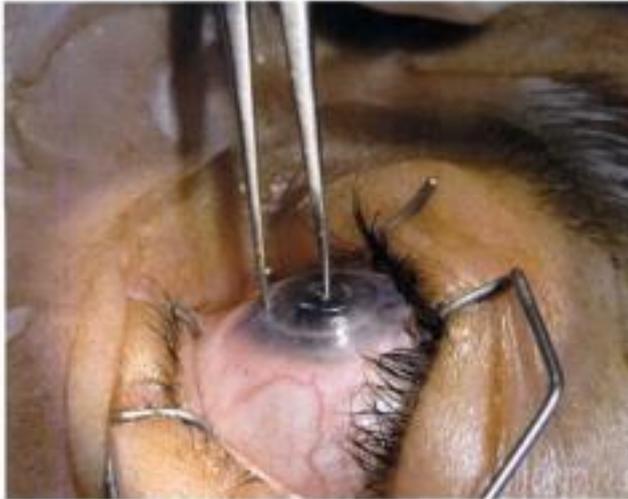
L'utilisation du laser excimer est plus récente ; il permet en outre de corriger une myopie. Les résultats font état d'un haze néfaste pour la vision après PARK : dans une série de 16 yeux, un haze de grade 2 ou 3 a été retrouvé dans six cas (Bilgihan, 2000). Ce haze après PARK est en partie lié à des dépôts de collagène III au niveau de la zone ablatée (Santo, 1998). Une aggravation de l'astigmatisme après photokératectomie réfractive a même été rapportée (Fraenkel, 1998). Le laser excimer de surface permet de corriger



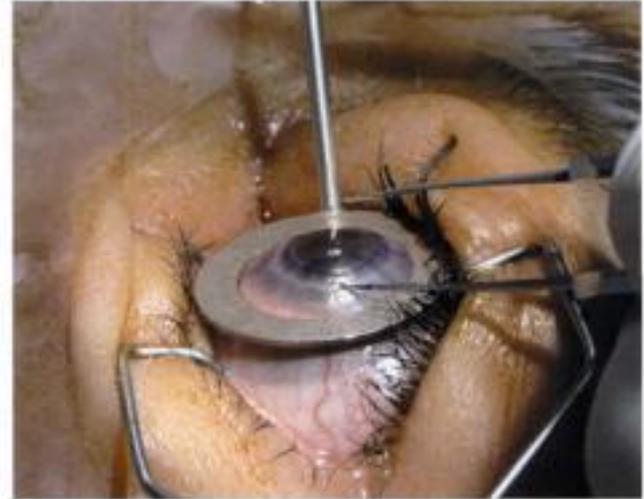
Astigmatisme de 10 D à 10° après une 3^e greffe pour des séquelles d'abcès de cornée. Aspect en début d'intervention. Le méridien vertical a été repéré en position assise avant l'anesthésie locale.



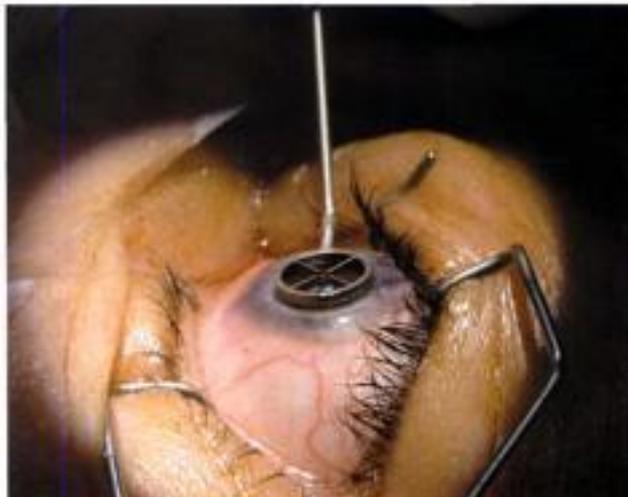
Cette zone optique correspond au cercle sur lequel les incisions arciformes seront réalisées.



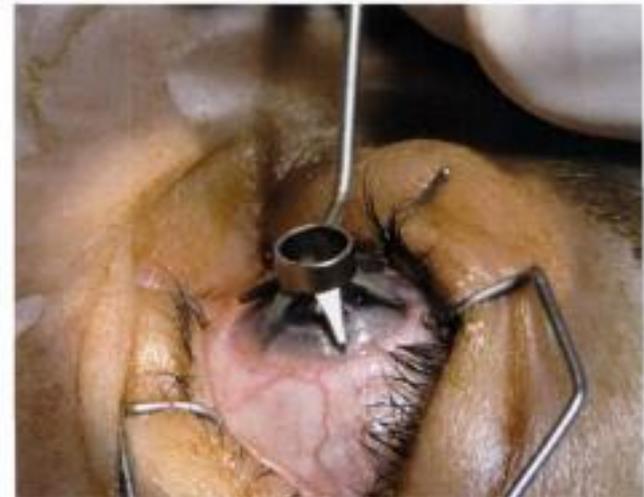
Repérage du centre du greffon.



Repérage du méridien de 10° sur lequel les incisions doivent être centrées.



Marquage de la zone optique de 6 mm.



Marquage du méridien de 10°.

Les greffes en ophtalmologie

environ 50 % de l'astigmatisme, mais avec une diminution de la meilleure acuité visuelle corrigée dans un pourcentage non négligeable des cas qui peut aller jusqu'à 40 % (Tuunanen, 1997).

Les résultats sont plus encourageants après LASIK qui, par ailleurs, semble plus efficace pour traiter la myopie que l'astigmatisme. Le haze semble beaucoup moins fréquent après LASIK qu'après PARK (Amin, 1998). Le LASIK peut être réalisé en un ou deux temps. Dans la procédure séquentielle en deux temps, la découpe lamellaire du capot est réalisée et la réfraction est réanalysée après quelques mois. La photoablation est réalisée dans un deuxième temps en se fondant sur la réfraction obtenue. Ceci permet de prendre en compte l'effet de la découpe lamellaire du capot qui par elle seule peut modifier la réfraction des cornées greffées. Dans plus de la moitié des cas, la découpe du capot

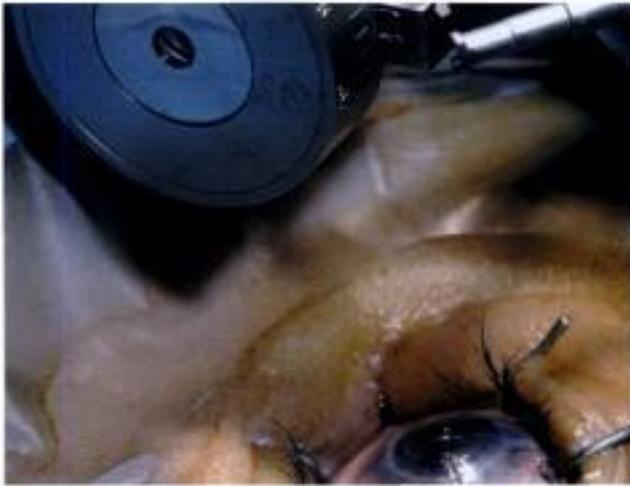
entraîne une modification de la sphère, du cylindre ou de l'axe (Lee, 2003). Dans une série de 23 yeux traités (Donnenfeld, 1999), une perte d'une et de trois lignes d'acuité visuelle a été rapportée dans deux cas. L'équivalent sphérique moyen a diminué de -7,6 D avant LASIK à -1,6 D après LASIK. L'anisométrie a diminué de 6,9 D avant LASIK à 1,4 D après LASIK. Ces résultats intéressants doivent être tempérés par les risques du LASIK sur des yeux greffés. Ainsi, une étude rapportant les résultats de 28 yeux suivis au moins deux ans après le LASIK rapporte une perte de deux lignes ou plus d'acuité visuelle corrigée dans 7 %, une invasion épithéliale de l'interface dans 16 % et un échec de la greffe imposant un changement de greffon dans 9 % (Hardten, 2002). Ces résultats incitent à une grande prudence dans l'indication d'un LASIK après greffe de cornée.



Le trait sur le méridien de 10° va permettre de positionner correctement le kératome arciforme.



Les incisions sont lavées avec du BSS.



La longueur de sortie des couteaux diamant est vérifiée à l'aide d'une gouge avant de réaliser les incisions.



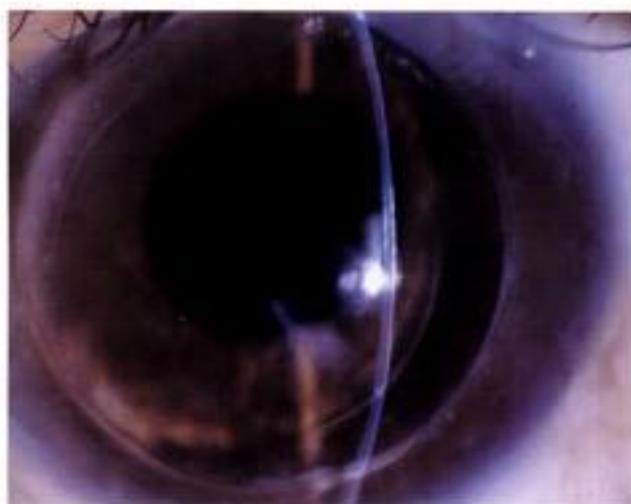
Une injection sous-conjonctivale de dexaméthasone est réalisée en fin d'intervention.



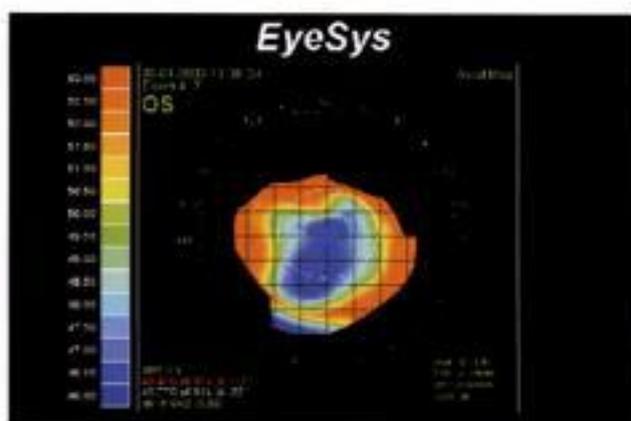
Les incisions arciformes sont réalisées par un mouvement d'aller-retour ; l'aller étant fait avec le biseau de la lame et le retour avec le côté droit.



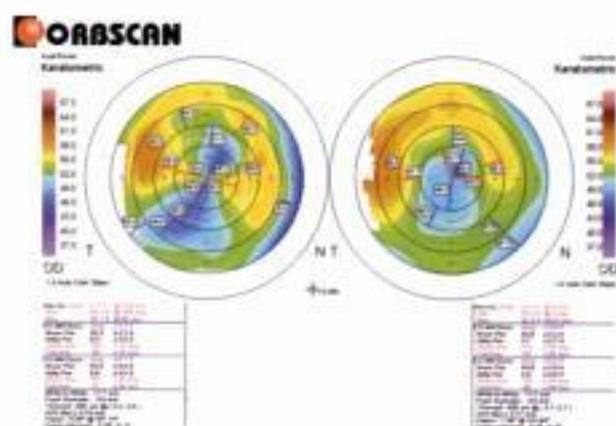
Aspect en fin d'intervention.



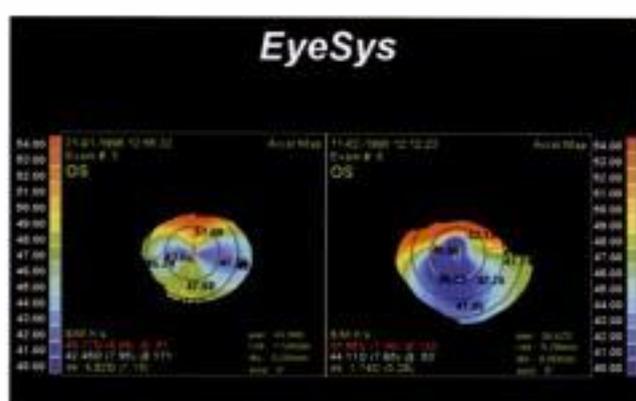
Kératotomies arciformes : aspect postopératoire.



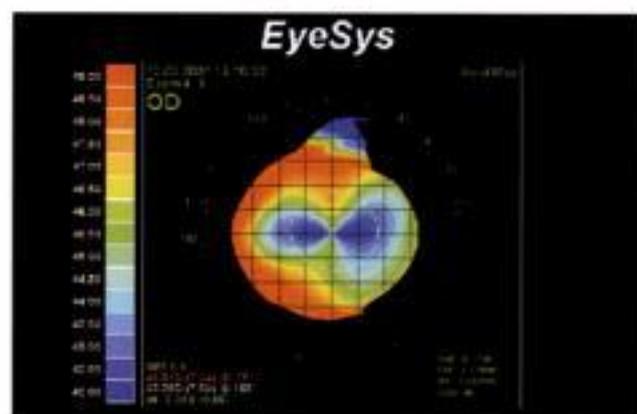
Même patiente 7 mois après kératotomies arciformes : la forme topographique est devenue ovale oblate.



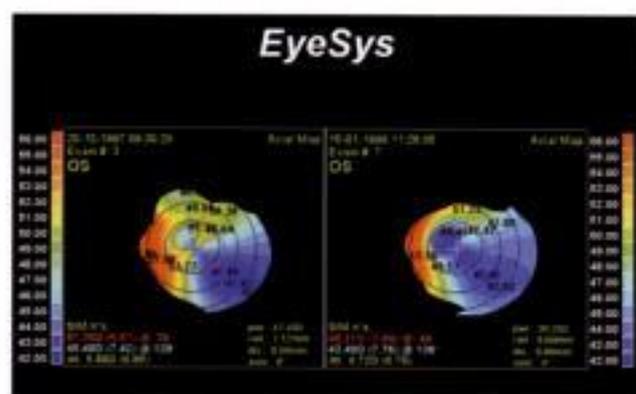
Kératotomies arciformes pour un astigmatisme géant après kératoplastie transfixiante. Topographie cornéenne pré- et postopératoire. Le cylindre en kératométrie simulée est passé de 8,1 D à 3,4 D.



Kératotomies arciformes pour astigmatisme postgreffe. Topographie cornéenne pré- et postopératoire. Le cylindre en kératométrie simulée est passé de 6,8 D à 1,7 D. La forme topographique était un sablier asymétrique oblate en préopératoire. En postopératoire, il s'agit d'une forme plat-bombé (steep-flat).



Topographie cornéenne à 3 ans de la greffe montrant une forme en sablier asymétrique oblate.



Kératotomies arciformes pour astigmatisme postgreffe. Topographie cornéenne pré- et postopératoire. Le cylindre en kératométrie simulée est passé de 5,9 D à 4,7 D. La forme topographique était une forme plat-bombé (steep-flat) en préopératoire, ce qui explique l'absence d'effet des kératotomies arciformes.

Hidden page

7.8. Cataracte, opacification de la capsule postérieure

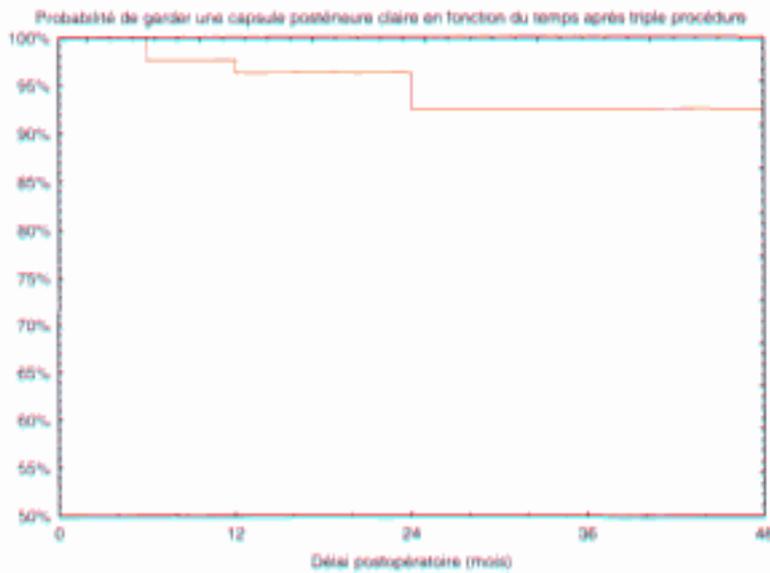
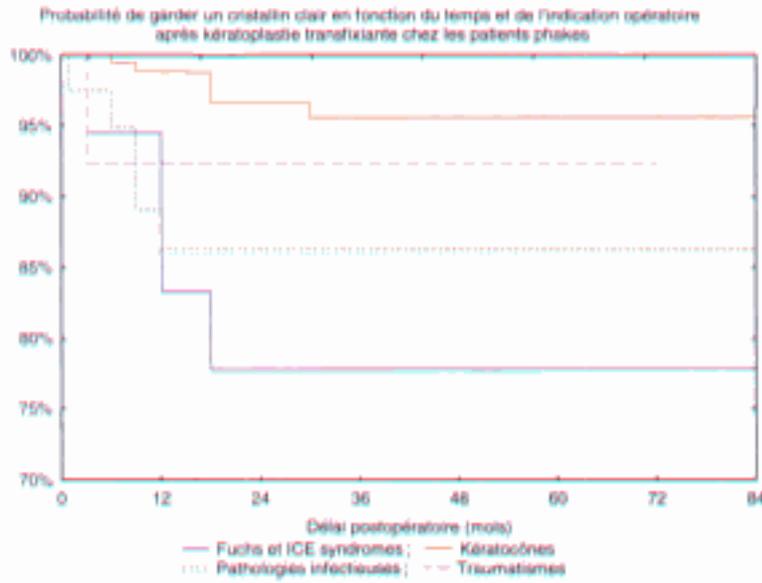
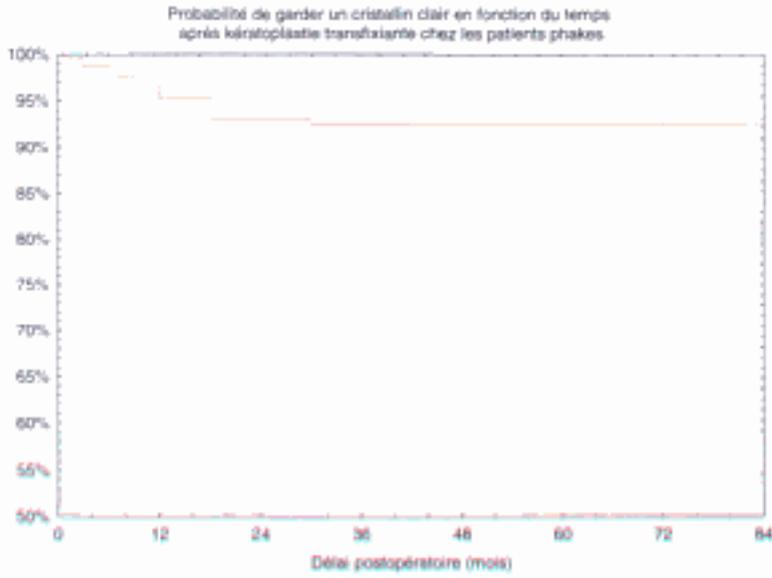
Le principal facteur de risque d'apparition d'une cataracte après kératoplastie transfixiante chez des patients ayant un cristallin clair avant l'intervention est l'âge du receveur (Martin, 1994). Concernant la nécessité d'une chirurgie de la cataracte postopératoire, les facteurs de risque rapportés sont l'âge du receveur, le sexe féminin, l'indication opératoire (dystrophie de Fuchs, pathologies infectieuses), les gestes peropératoires sur l'iris (iridectomie, pupilloplastie, levée de synéchies), la dose totale de collyre corticoïde reçue et la présence d'opacités cristalliniennes préopératoires. La probabilité de devoir opérer de cataracte un patient de 65 ans greffé pour une dystrophie de Fuchs est de 81 % à cinq ans (Martin, 1994). Une étude rétrospective incluant 78 yeux phakes greffés pour une dystrophie de Fuchs rapporte un taux global de chirurgie de la cataracte de 44 % après un suivi moyen de sept ans. Le délai moyen d'apparition de la cataracte dans cette étude est de cinq ans et le risque augmente avec l'âge pour atteindre 75 % après 60 ans (Payant, 1990). Chez les patients greffés pour un kératocône, des opacités cristalliniennes sont apparues dans 28 % des cas avec un suivi moyen de trois ans dans l'étude d'Erlangen (Behrens, 2000). Une étude rétrospective incluant 184 patients rapporte qu'une chirurgie de la cataracte est nécessaire dans 24 % des cas après kératoplastie transfixiante chez le phake (Rathi, 1997). Le risque de cataracte

augmente en cas de changement de greffon (Bersudsky, 2001).

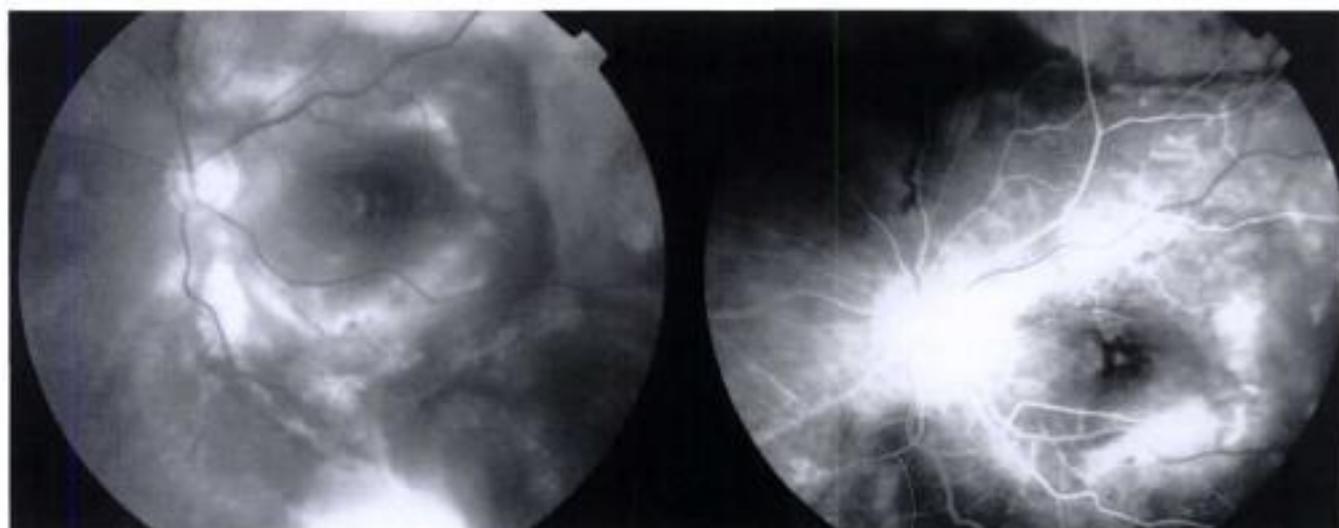
La cataracte postgreffe peut se présenter sous forme d'opacités nucléaires, corticales et sous-capsulaires postérieures. Son traitement correspond à une chirurgie habituelle de la cataracte par phacoémulsification avec une implantation dans le sac capsulaire. Il faut néanmoins vérifier la densité cellulaire endothéliale avant de programmer l'intervention. Une incision sclérale est préférable car elle lèse moins l'endothélium qu'une incision cornéenne. Un produit viscoélastique à haute viscosité doit être utilisé et il faut éviter les ultrasons à proximité de l'endothélium cornéen. En postopératoire, le traitement préventif du rejet doit être repris ou augmenté.

L'opacification de la capsule postérieure après chirurgie extracapsulaire de la cataracte pré-, per- ou postgreffe est une complication assez fréquente. Avec un suivi moyen de deux ans, une étude rétrospective incluant 104 triples procédures rapporte un taux d'opacification de la capsule postérieure de 25 % (Sridhar, 2000). Une autre étude incluant 51 triples procédures rapporte un temps moyen d'opacification de la capsule postérieure assez long de 46 mois (Dangel, 1994).

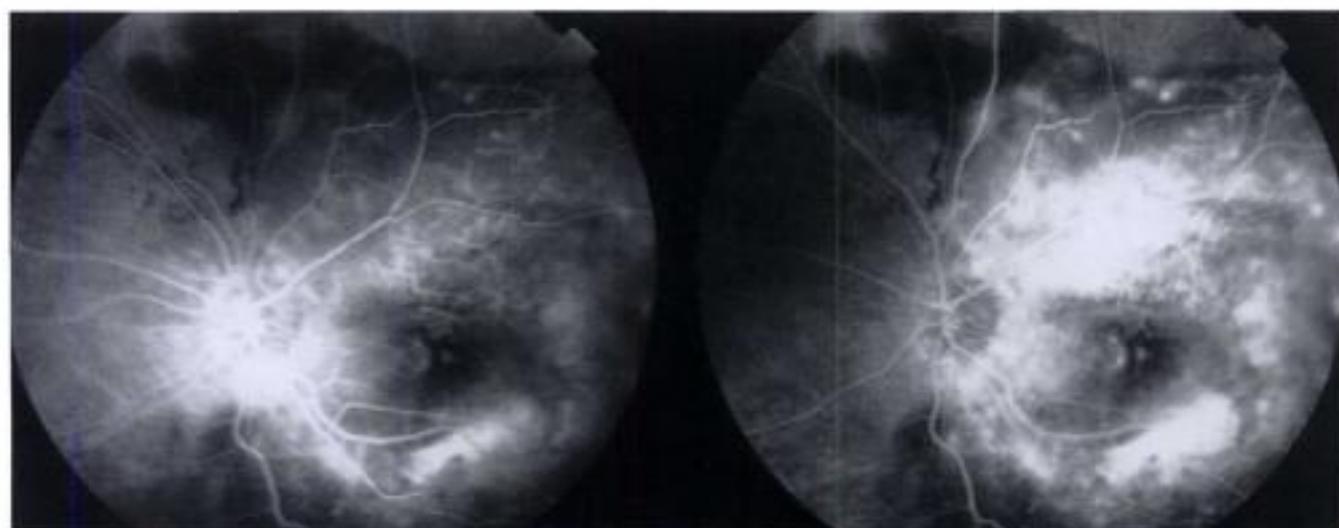
Le traitement de l'opacification de la capsule postérieure est une capsulotomie au laser YAG identique à celle réalisée habituellement après chirurgie de la cataracte. En postopératoire, le traitement préventif du rejet doit être repris ou augmenté.



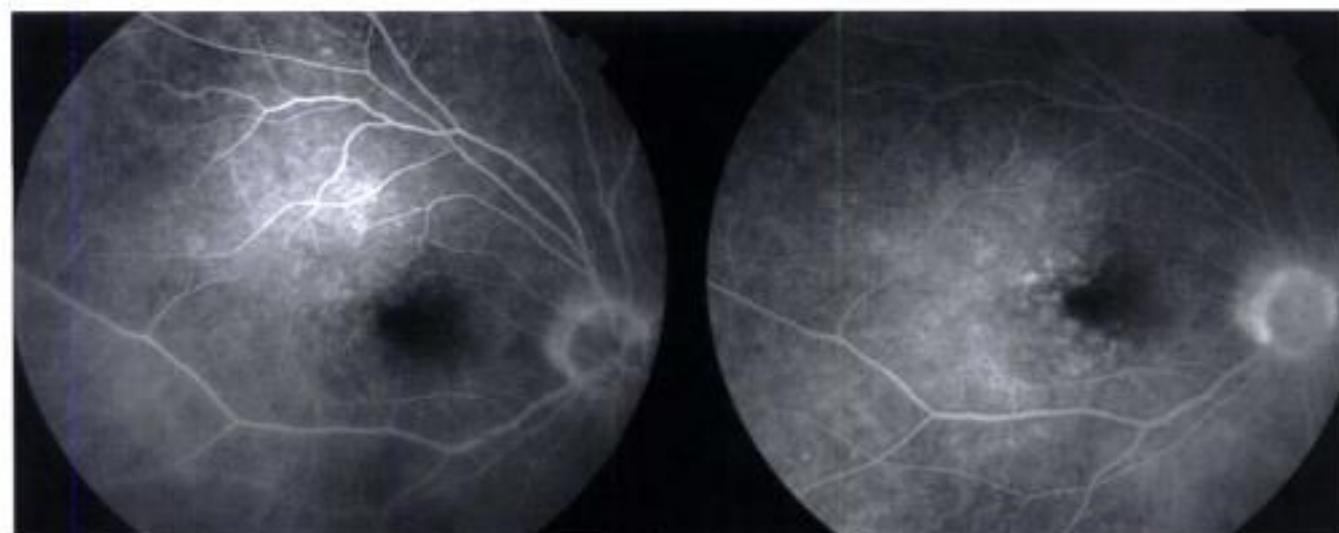
Hidden page



Décompensation néovasculaire sévère d'une dégénérescence maculaire liée à l'âge 1 mois après kératoplastie transfixiante. Angiographie à la fluorescéine.



Il existe un vaste décollement hémorragique atteignant tout le pôle postérieur.



L'autre œil présente une maculopathie liée à l'âge (drusens).

7.10. Transmission de pathologies par le greffon

La kératoplastie transfixiante peut transmettre au receveur des pathologies systémiques (rage, maladie de Creutzfeldt-Jakob, hépatite B) et oculaires (virus herpétique, infections bactériennes et fongiques) (Bodaghi et Leibowitz, 1998 ; O'Day, 1989). L'agent infectieux le plus dangereux pour le receveur en terme de risque vital est le virus de la rage suivi du prion. Les cas de transmission de la rage ou de la maladie de Creutzfeldt-Jakob au receveur correspondent tous à des insuffisances dans la sélection du donneur (donneurs décédés de rage ou de maladie à prion). Ils sont donc évitables, avec une fiabilité très élevée, si l'on refuse tous les donneurs ayant un tableau clinique correspondant ou pouvant ressembler à celui de ces deux maladies neurologiques. Ces cas expliquent que les critères d'exclusion des donneurs incluent un grand nombre de pathologies neurologiques dont la physiopathologie n'est pas claire ou dont le tableau clinique peut ressembler à celui d'une encéphalite rabique ou à prion (Hogan, 1995). Les donneurs ayant transmis la maladie de Creutzfeldt-Jakob présentaient peu de troubles de la mémoire, peu de troubles des fonctions supérieures, peu de déficits extrapyramidaux, mais ils étaient caractérisés par des troubles cérébelleux, une dysarthrie, une ataxie et des myoclonies (Lang, 1998). Le risque qu'un donneur soit porteur de prions, si l'on n'exclut du don aucune pathologie neurologique, a été évalué à deux par an sur les 45 000 donneurs prélevés chaque année aux États-Unis (Hogan, 1999). Il est donc probable qu'une sélection clinique rigoureuse des donneurs permette de réduire voire faire disparaître le risque de transmission des prions par la greffe. Pour les pathologies malignes, le risque de transmission par la greffe semble peu probable (Harrison, 1995 ; Salame, 2001). Les receveurs de greffons prélevés sur un donneur décédé de cancer ont un risque de développer une tumeur maligne équivalent à celui de la population générale. Les receveurs de greffons prélevés sur un œil énucléé pour un mélanome de la choroïde ne semblent pas développer de mélanome.

La transmission du virus herpétique par le greffon est actuellement le sujet le plus préoccupant en matière de sécurité microbiologique de la greffe de cornée. Elle peut se traduire par un échec primaire de la greffe, une absence de réépithélialisation du greffon,

une kératite herpétique postopératoire, ou une kérato-uvéite postopératoire (Biswas et Cockerham, 2000 ; Cleator, 1994 ; Mannis, 1991 ; Salisbury, 1984 ; Remeijer, 2001). Il est encore difficile d'avoir la preuve que l'infection herpétique postopératoire a bien été transmise par le greffon, sauf lorsque l'on peut isoler un virus herpétique ayant le même génotype sur la collerette cornéosclérale du greffon et au niveau de l'œil du receveur (Borderie, 2004). En effet, une infection herpétique postopératoire du greffon peut également correspondre à une réactivation virale dans le ganglion de Gasser du receveur, ou à une infection de novo provenant d'une autre source que le greffon et le receveur. La latence cornéenne du virus herpétique est un fait bien établi démontré par des techniques de biologie moléculaire (Biney, 1997). L'ADN du virus herpétique a été mis en évidence dans le milieu de conservation du greffon en organoculture dans sept cas sur 451 liquides étudiés (Garweg, 1997). Il a été retrouvé également dans des milieux de conservation à 4 °C (Neufeld, 1999). Néanmoins, la présence de l'ADN virale dans le greffon n'implique pas sa transmission au receveur (Morris, 1996). Comme nous ne disposons actuellement d'aucune technique pertinente de détection avant la greffe des greffons à risque de transmission du virus herpétique, la probabilité de greffer un tissu potentiellement contaminant n'est pas nulle. Après la greffe, le virus herpétique peut contaminer les cellules épithéliales, les kératocytes et les cellules endothéliales du greffon (Cockerham, 2000 ; Holbach, 1998).

Des kératites et des endophtalmies bactériennes ou fongiques peuvent être transmises par le greffon. Ce risque existe uniquement si le greffon est porteur de germes avec une charge bactérienne ou fongique suffisante. En pratique, les cas rapportés concernent des greffes faites avec un greffon conservé à +4 °C (Antonios, 1991 ; Baer, 1989 ; Kloess, 1993 ; Sutphin, 2002). Un cas de transmission de *Torulopsis glabrata* par la greffe avait été décrit après conservation du greffon en organoculture en 1978 aux États-Unis (Larsen, 1978). La technique d'organoculture ne comportait pas de phase de quarantaine microbiologique et le système de conservation était un système ouvert. Avec les techniques d'organoculture actuelles, le risque d'infection bactérienne ou fongique transmise par le greffon est proche de 0 s'il n'est pas totalement absent.

Hidden page

7.11. Autres complications

Les autres complications cornéennes de la kératoplastie transfixiante sont le *défait d'étanchéité de la cicatrice* (Seidel dû à un point perforant, un nombre insuffisant de points), l'*invasion épithéliale* du segment antérieur (conséquence de la complication précédente ou récurrence de la pathologie initiale), les dépôts de fibrine en chambre antérieure, la formation d'une *membrane rétrocornéenne* secondaire à l'absence d'affrontement des deux membranes de Descemet ou à un processus immunologique, la *récurrence de la pathologie initiale* sur le greffon (herpès, dystrophies familiales, peut-être le kératocône à très long terme).

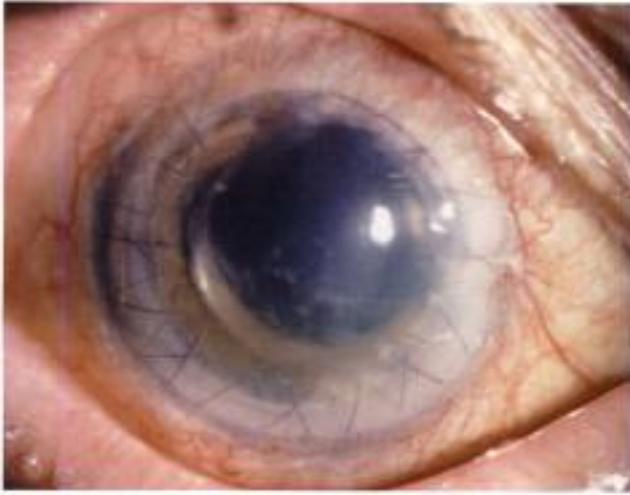
Le *syndrome d'Urrets-Zavalía* comporte une mydriase irréversible, une atrophie irienne et une hypertonie oculaire. Il s'accompagne volontiers de signes fonctionnels inflammatoires : photophobie, rougeur, larmoiement. Il a été décrit initialement après kératoplastie transfixiante pour kératocône, dans les premières semaines postopératoires (Urrets-Zavalía, 1963). À la triade symptomatique mydriase-atrophie irienne-hypertonie peuvent s'associer un ectropion irien, une dispersion pigmentaire, une uvéite antérieure, des synéchies postérieures, des opacités sous-capsulaires antérieures et une réaction fibreuse de chambre antérieure. Le syndrome d'Urrets-Zavalía peut se voir après greffe pour d'autres pathologies cornéennes que le kératocône. Il a été ainsi décrit après kératoplastie transfixiante pour herpès cornéen, brûlure chimique, dystrophie cornéenne, kératopathie bulleuse (Bourcier, 2001 ; Flament, 1984 ; Picetti, 1966 ; Sarau, 1978). Il peut être déclenché par les mydriatiques et correspondrait vraisemblablement à une ischémie irienne. Cette ischémie a été objectivée en angiographie irienne (Tuft, 1995). L'origine de cette ischémie irienne est discutée. La compression peropératoire de l'iris entre le cristallin et la cornée périphérique a été incriminée, de même que la compression de l'iris par les instruments chirurgicaux et la persistance de substance viscoélastique de haut poids moléculaire dans l'angle iridocornéen en fin d'intervention. L'utilisation peropératoire de hyaluronate de sodium de haute viscosité est donc déconseillée. Un blocage pupillaire a été également discuté à l'origine de l'hypertonie et de l'ischémie irienne. Cette hypothèse a conduit à proposer une iridectomie périphérique systématique associée à la greffe (Davies, 1975). Le syndrome peut être déclenché par l'instillation de mydriatiques (Bourcier, 2001 ; Sarau, 1978 ; Urrets-Zavalía, 1963). Ceux-ci doivent donc être évités en per- et postopératoire et certains ont proposé une prévention par prescription de myotiques en postopératoire (Ascher, 1967). Néanmoins, certaines équipes utilisent de l'atropine en postopéra-

toire sans observer d'augmentation de la fréquence du syndrome (Geyer, 1991). Une hyperactivité sympathique avec déficit relatif parasympathique des cornées kératocôniques a été proposée comme hypothèse physiopathologique et a conduit Lagoutte (1983) à proposer un traitement par guanéthidine en collyre pendant 24 heures suivi par de la pilocarpine collyre le 2^e jour. L'efficacité de ce traitement reste à démontrer, de même que l'hypothèse pathogénique sur lequel il repose (Bourcier, 2001). La fréquence de ce syndrome après kératoplastie transfixiante est comprise entre 2 et 18 % selon les séries (Bertelsen, 1974 ; Davies, 1975 ; Gasset, 1977 ; Komukai, 1973 ; Pouliquen, 1972 ; Sharif, 1991 ; Urrets-Zavalía, 1963). Elle semble avoir diminué depuis la description princeps d'Urrets-Zavalía. Après la phase aiguë, ce syndrome laisse des séquelles fonctionnelles handicapantes liées à la mydriase et l'atrophie irienne (éblouissements, photophobie, halos).

Dans notre expérience, la *mydriase irréversible* après kératoplastie, souvent sans hypertonie, est une complication non exceptionnelle et très handicapante sur le plan visuel qui nous fait proscrire l'utilisation de mydriatiques chez les patients greffés en dehors d'une nécessité impérative (angiographie, examen de la périphérie rétinienne) dans la période postopératoire. Cette mydriase irréversible est favorisée par les dégâts iriens préopératoires fréquents chez les aphakes et pseudophakes.

Un *décollement de rétine* peut compliquer une greffe de cornée, notamment chez le patient aphake ou pseudophake. La suture des implants à la sclère peut entraîner des décollements de rétine sévères. La fréquence du décollement de rétine est de l'ordre de 2 % (Leibowitz, 1998).

Les *traumatismes sur œil greffé* peuvent avoir des conséquences désastreuses allant jusqu'à la perte de l'œil. Ils entraînent une ouverture de la cicatrice de kératoplastie même après un délai postopératoire long. Rehany (1998) rapporte les résultats d'une étude rétrospective de 559 yeux greffés. Le taux de rupture traumatique de la cicatrice est de 2,5 %. L'intervalle entre la greffe et le traumatisme va de deux semaines à deux ans. Le traumatisme est survenu avant l'ablation des fils dans 11 cas sur 14. La déchissance se produit toujours au niveau de la cicatrice. Dans huit cas sur 14, le traumatisme a entraîné une expulsion du cristallin et une issue de vitré, dans deux cas une hernie de la rétine. Douze patients sur 14 ont récupéré une acuité visuelle supérieure ou égale à 1/10. Une hypotonie puis une *atrophie* du globe oculaire peuvent survenir sur des yeux multiopérés, conséquence d'un traumatisme, d'une inflammation prolongée ou d'un décollement de rétine.



Invasion épithéliale après greffe de cornée. Il s'agit ici d'une récurrence de la pathologie initiale qui était une kératopathie bulbeuse secondaire à une invasion épithéliale du segment antérieur après chirurgie de la cataracte.



Même patient.



Même patiente : l'invasion épithéliale forme une ligne blanche proche de la ligne de Khadadoust.



Membrane rétrocornéenne à 5 ans d'une kératoplastie transfixiante.



Membrane rétrocornéenne développée à partir de la cicatrice.



Même patient : la membrane rétrocornéenne est associée à une cornea guttata.

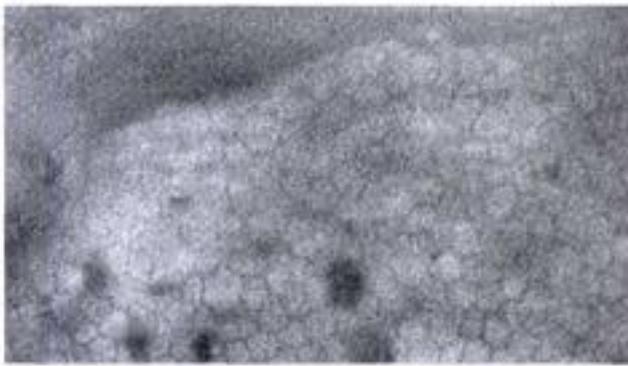
Hidden page



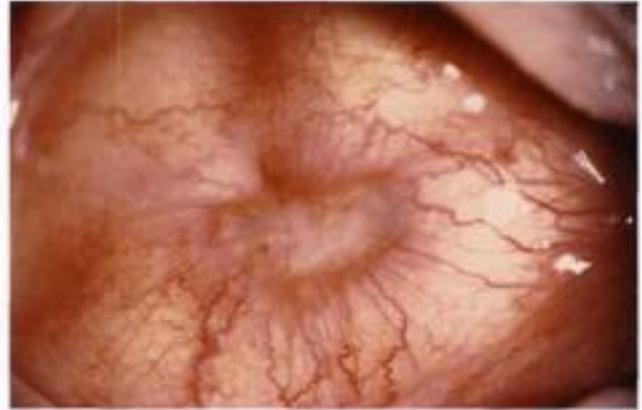
Amincissement périphérique du greffon entraînant un astigmatisme irrégulier 9 ans après la greffe faisant suspecter une récurrence du kératocône sur le greffon.



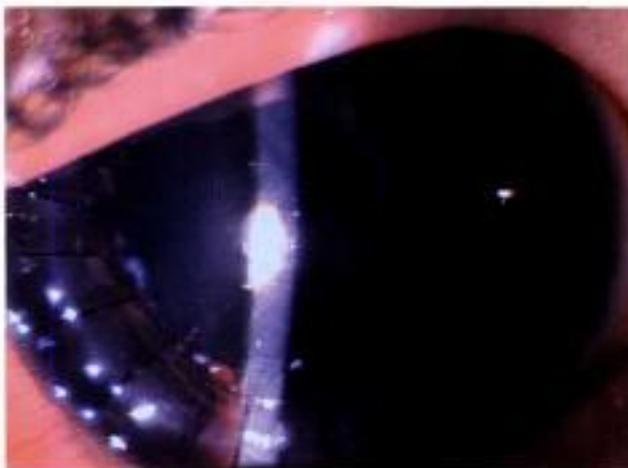
Myopie irréversible après kératoplastie transfixiante. Cette complication très handicapante sur le plan fonctionnel doit inciter à utiliser les collyres mydriatiques avec beaucoup de prudence chez les patients greffés.



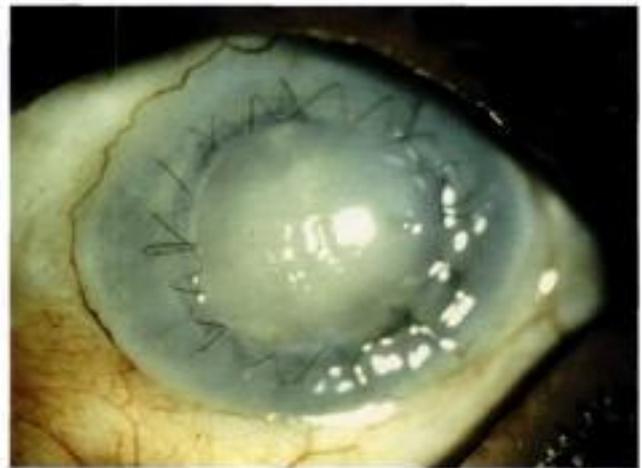
Récurrence d'une dystrophie de Fuchs sur le greffon. Aspect en microscopie spéculaire à 42 mois de la greffe. Densité endothéliale 1400 cellules/mm². Cornea guttata stade II de Laing (gouttes ayant la taille d'une cellule endothéliale). Acuité visuelle 7/10, pachymétrie 550 µm.



Atrophie du globe oculaire après traumatisme sur œil greffé. Notez la disparition quasi complète du greffon et de la cornée réceptrice.



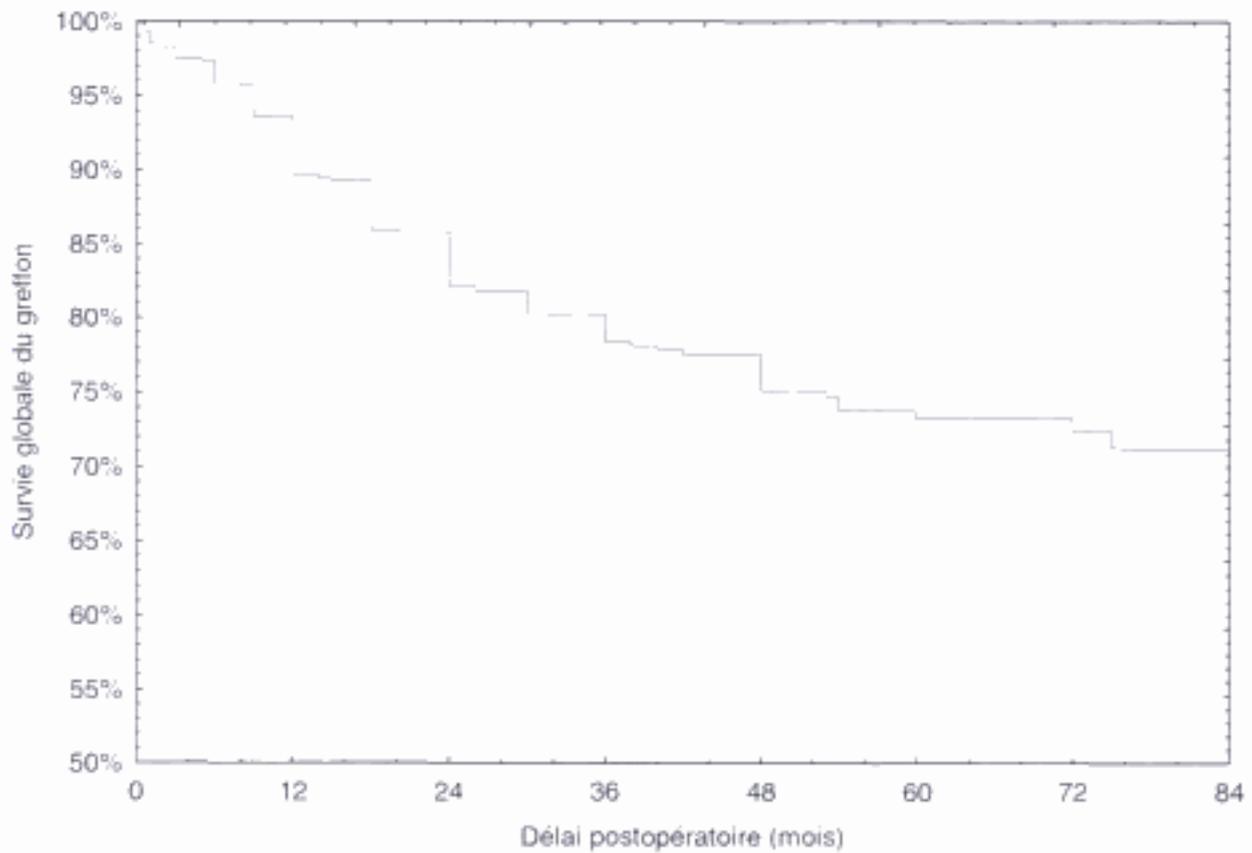
Syndrôme d'Urrets-Zavalía.



Atrophie du globe oculaire après greffe de cornée compliquée de rejet suraigu.

Complications de la kératoplastie transfixiante

- La complication peropératoire majeure de la kératoplastie transfixiante est l'hémorragie expulsive.
- Les autres complications peropératoires sont le décollement de la membrane de Descemet du greffon, les lésions de l'iris ou du cristallin lors de la trépanation, l'issue de vitré chez les patients aphakes ou pseudophakes.
- L'échec primaire de la kératoplastie se définit comme une absence d'éclaircissement du greffon dans la période postopératoire avec persistance définitive d'un œdème du greffon. La principale cause d'échec primaire est actuellement l'infection herpétique du greffon.
- Le rejet d'allogreffe de cornée, décrit sous le terme de maladie du greffon, est la première cause d'échec des kératoplasties transfixiantes. Sa fréquence augmente avec le degré de néovascularisation de la cornée réceptrice.
- Deux critères sont unanimement reconnus comme facteurs de risque de rejet : la néovascularisation de la cornée du receveur (au moins 2 quadrants de néovascularisation stromale) et les antécédents de rejet d'allogreffe de cornée (receveur préimmunisé).
- Le rejet endothélial survient plus de dix jours après une première greffe. Les signes fonctionnels sont une baisse d'acuité visuelle, une photophobie, une irritation, un larmolement, des douleurs et une rougeur oculaire. On distingue deux formes : progressive (ligne de Khodadoust d'évolution centripète) et d'emblée diffuse (précipités rétrocornéens diffus sur le greffon).
- Les autres formes cliniques de rejet sont le rejet épithélial, le rejet sous-épithélial, le rejet stromal et les formes mixtes.
- Le traitement curatif du rejet doit être le plus précoce possible. Il repose sur la corticothérapie topique avec des instillations très fréquentes (1 goutte toutes les heures) qui peut être complétée par des injections latéro-bulbaires ou sous-conjonctivales de dexaméthasone et des bolus intraveineux de méthylprednisolone sur trois jours en cas de signes de gravité (sévérité de l'inflammation, importance de l'atteinte endothéliale, absence de réponse à la corticothérapie locale et receveur à haut risque de rejet). Il est efficace chez plus de 50 % des patients.
- L'hypertonie oculaire est la deuxième cause d'échec des kératoplasties transfixiantes. Elle est source de neuropathie optique glaucomateuse et d'une perte cellulaire endothéliale accélérée. Son traitement repose sur la diminution des collyres corticoïdes, sur les collyres hypotonisants (β -bloquant, prostaglandine, α -agoniste présynaptique, inhibiteur de l'anhydrase carbonique, etc.), l'acétazolamide per os, la chirurgie filtrante (trabéculéctomie, sclérectomie profonde, valve de dérivation de l'humeur aqueuse) ou la cyclodestruction (cyclophotocoagulation, cyclocryoapplication).
- Les complications infectieuses sont des endophtalmies postopératoires et des kératites bactériennes, fongiques, herpétiques et amibiennes.
- Les complications épithéliales sont variées : kératite ponctuée superficielle, défauts épithéliaux, hurricane kératopathie, épithéliopathie dendritiforme hypertrophique superficielle, kératite filamenteuse, œdème épithélial.
- La décompensation endothéliale secondaire non immunologique du greffon peut être due à une perte cellulaire endothéliale progressive isolée ou à une cornea guttata progressive.
- L'astigmatisme est la principale source de limitation de l'acuité visuelle après kératoplastie transfixiante chez les patients dont le greffon est clair et qui ne présentent pas de pathologie maculaire. La persistance d'un astigmatisme géant limitant l'acuité visuelle après ablation de toutes les sutures nécessite une correction chirurgicale par kératotomies arciformes ou par LASIK.
- Le principal facteur de risque d'apparition d'une cataracte après kératoplastie transfixiante chez des patients ayant un cristallin clair avant l'intervention est l'âge du receveur.
- L'œdème maculaire peut compliquer l'évolution d'une kératoplastie transfixiante. L'évolution d'une dégénérescence maculaire liée à l'âge après greffe de cornée n'est pas exceptionnelle.
- La kératoplastie transfixiante peut transmettre au receveur des pathologies systémiques : rage, maladie de Creutzfeldt-Jakob, hépatite B.
- Les autres complications cornéennes de la kératoplastie transfixiante sont le défaut d'étanchéité de la cicatrice, l'invasion épithéliale du segment antérieur, la formation d'une membrane rétrocornéenne, la récurrence de la pathologie initiale sur le greffon (herpès, dystrophies familiales), le syndrome d'Urrets-Zavalía, la mydriase irréversible, le décollement de rétine et les traumatismes sur œil greffé.



Survie globale du greffon dans une série de 806 greffes réalisées chez 806 patients, suivis en moyenne 4 ans (de 1 à 130 mois)

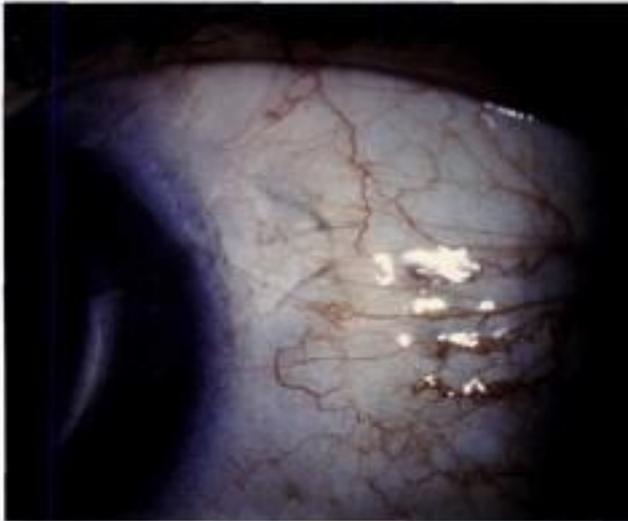
Hidden page



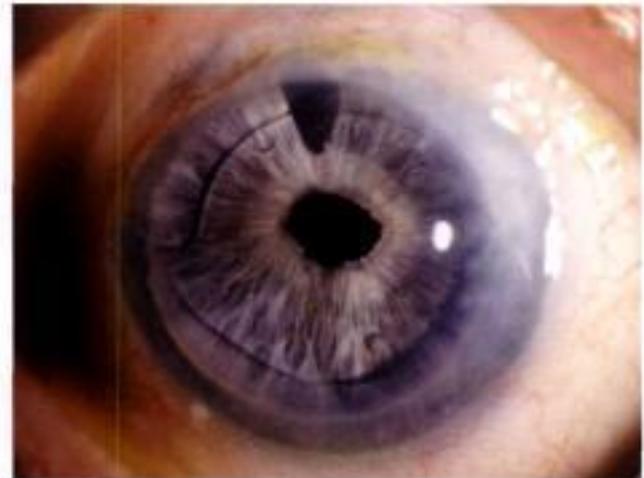
Kératoplastie transfixiante combinée à une ablation d'implant de chambre antérieure, une vitrectomie antérieure et un implant de sulcus suturé à la sclère chez une patiente ayant une kératopathie bulleuse du pseudophake : aspect à 1 an de la greffe.



Même patient à 6 ans de la greffe.



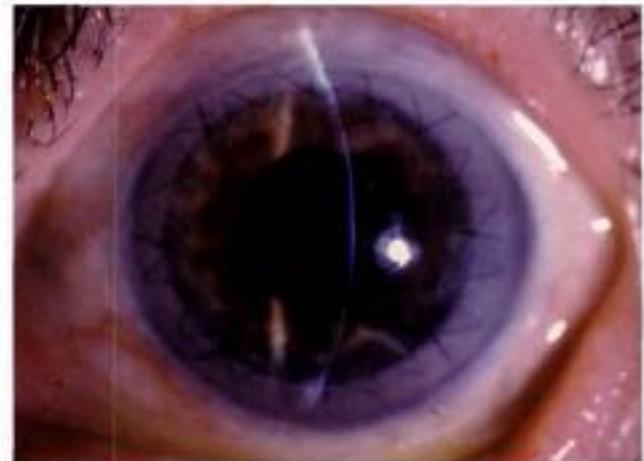
Même patiente : aspect d'un des volets scléraux sous lesquels sont enfouis les sutures de polypropylène qui maintiennent les haptiques de l'implant de chambre postérieure.



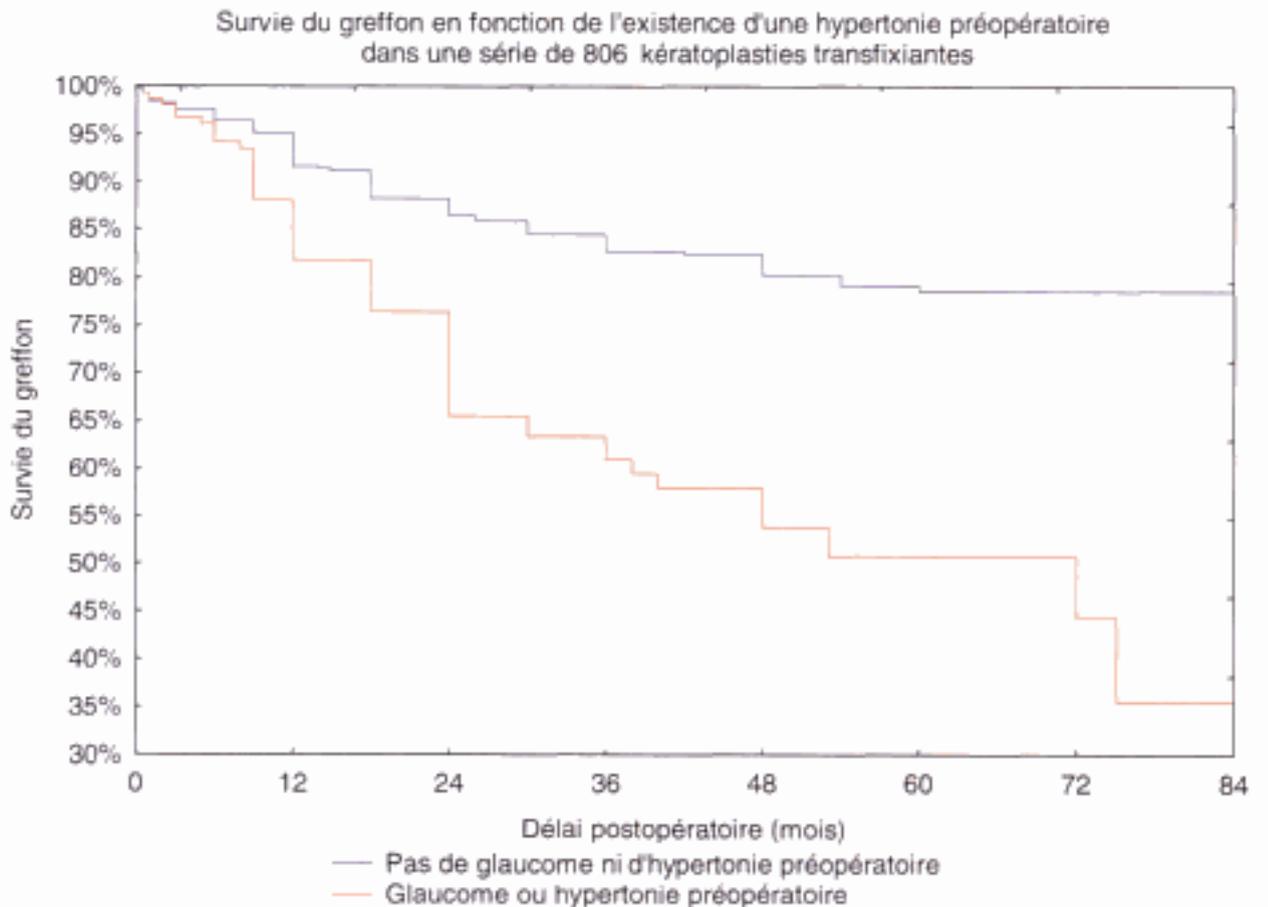
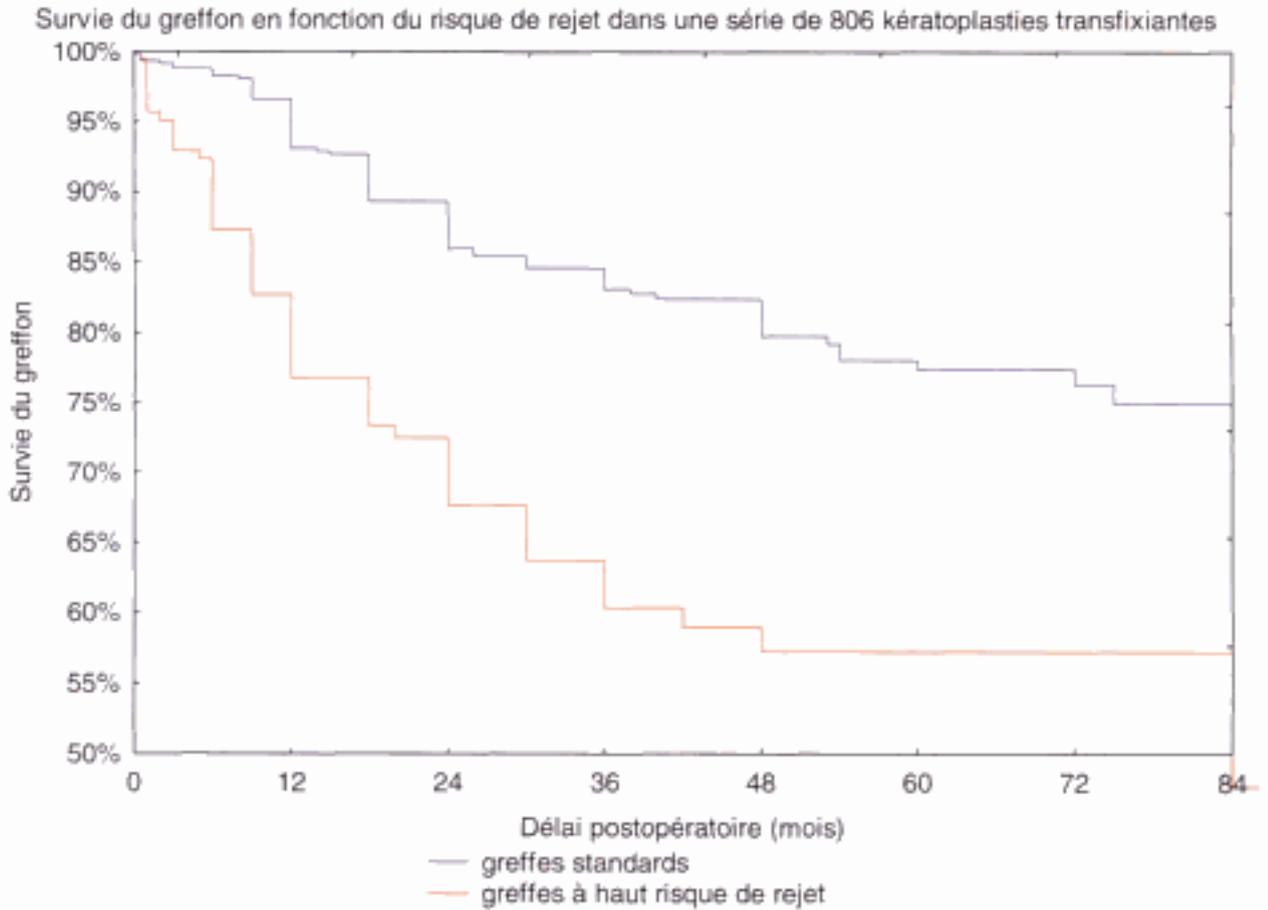
Kératoplastie transfixiante pour kératopathie bulleuse du pseudophake : aspect à 7 ans de la greffe.

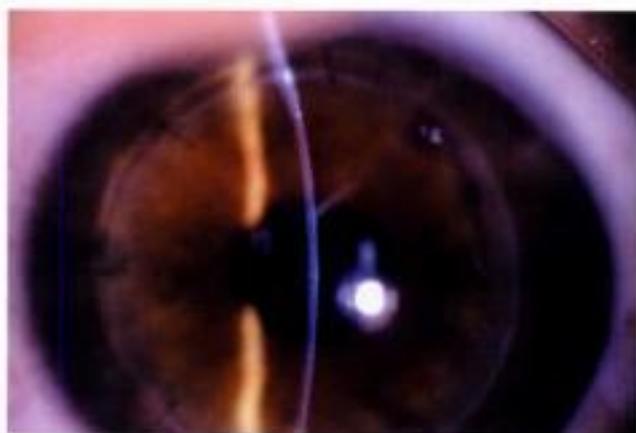


Kératoplastie transfixiante avec changement d'TCA. Aspect à 30 mois.



Kératoplastie transfixiante pour dystrophie de Fuchs : aspect à 1 an de la greffe.





Kératoplastie transfixiante pour kératocône : aspect à 2 ans de la greffe.



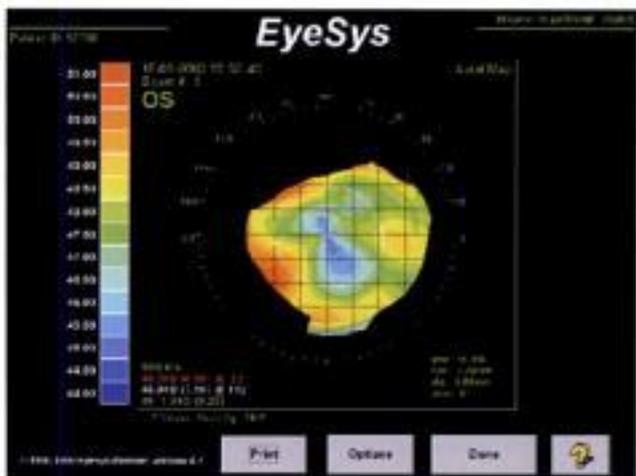
Même patient : Orbscan.



Même patient : aspect au grossissement 40.



Brûlure oculaire électrique grave.



Même patient : topographie cornéenne. La forme topographique est un sablier asymétrique oblate.



Même patient 11 mois après kératoplastie transfixiante. Acuité visuelle : 9/10.

de 95 % pour les kératocônes et 21 % pour les échecs de greffe. Certains facteurs de risque d'échecs sont identifiés dans cette étude : échec de greffe (risque relatif 2,0), kératopathie bulleuse de l'aphake (risque relatif 1,8), pathologies congénitales et glaucome (risque relatif 1,6), leucome adhérent (risque relatif 1,1), faible niveau socioéconomique (risque relatif 1,3), âge inférieur à dix ans (risque relatif 1,4), néovascularisation de la cornée réceptrice (risque relatif 1,2), greffon de faible qualité (risque relatif 1,3).

Une étude rétrospective incluant 396 kératoplasties transfixiantes réalisées chez 335 patients (Inoue, 2000) rapporte des résultats de survie du greffon à dix ans calculée selon la méthode de Kaplan-Meier. Celle-ci est de 72 % pour l'ensemble des patients. Elle est de 99 % pour les kératocônes, 87 % pour les kératites herpétiques, 77 % pour les dystrophies et dégénérescences, 69 % pour les kératites non herpétiques, 62 % pour les brûlures chimiques, 62 % pour les changements de greffon et 51 % pour les kératopathies bulleuses. Les facteurs de risque d'échec sont les chirurgies combinées, les changements de greffon et la néovascularisation de la cornée réceptrice. Ces résultats sont à comparer à ceux rapportés par Muraine (2003). Dans cette étude rétrospective incluant 103 greffes, le taux de survie à dix ans est de 50 %.

8.3. Résultats fonctionnels de la kératoplastie transfixiante chez les patients ayant un greffon clair

La *récupération visuelle* est souvent difficilement prévisible après kératoplastie. Si l'on excepte les patients ayant une pathologie maculaire sévère, l'acuité visuelle postopératoire est influencée par l'acuité visuelle préopératoire du patient, la pathologie initiale et l'état du cristallin, l'existence d'un glaucome, la nécessité d'une vitrectomie peropératoire et l'astigmatisme postopératoire. La récupération visuelle est très progressive et l'acuité visuelle peut s'améliorer au cours des deux ou trois premières années suivant l'intervention. Globalement, une bonne acuité visuelle ($\geq 5/10$) est obtenue chez 50 à 70 % des patients ayant un greffon clair, alors que 10 à 20 % de ceux-ci ont un résultat décevant (acuité visuelle $\leq 1/10$) (Borderie, 1998e et 1999d ; Lass, 1994).

L'acuité visuelle obtenue deux ans après l'intervention est d'autant plus élevée que l'acuité visuelle préopératoire était élevée, que la pression intraoculaire préopératoire était basse et que l'astigmatisme postopératoire est faible. Elle est influencée par le statut cristallinien (Borderie, 1999d) : elle est meilleure chez les patients phakes que chez les pseudophakes et les aphakes, meilleure chez les patients ayant un implant de chambre postérieure que chez ceux ayant

un implant de chambre antérieure ou chez les aphakes, et enfin meilleure chez les patients ayant un implant de chambre antérieure que chez les aphakes. L'influence de l'acuité visuelle préopératoire sur le résultat fonctionnel de la greffe reflète probablement l'état maculaire préopératoire. En effet, les patients ayant les acuités visuelles préopératoires les plus basses sont ceux qui sont greffés pour une kératopathie bulleuse de l'aphake et du pseudophake chez qui la fréquence de l'œdème maculaire est élevée (même si il est difficilement appréciable en préopératoire du fait de l'œdème cornéen). De même, les moins bons résultats obtenus chez les aphakes et chez les patients ayant un implant de chambre antérieure sont au moins en partie expliqués par la plus grande fréquence de l'œdème maculaire chez ces patients. Enfin, l'influence de la pression intraoculaire préopératoire sur le résultat visuel peut s'expliquer par la plus grande fréquence de la neuropathie optique glaucomateuse chez les patients hypertones que chez les normotones. Dans une étude fondée sur le registre britannique des greffes, Vail (1996) retrouve la même influence de l'acuité visuelle préopératoire et du glaucome préopératoire sur le résultat visuel à trois mois de la greffe. Dans cette étude, l'acuité visuelle est moins bonne en cas de greffe de petit diamètre et de chirurgie combinée à une vitrectomie. Une étude incluant 135 greffes combinées à une implantation en chambre antérieure ou en chambre postérieure met en évidence comme facteurs pronostiques de la récupération visuelle l'acuité visuelle préopératoire, l'indication opératoire et le diamètre de la greffe. La pression intraoculaire préopératoire n'est pas un facteur pronostique dans cette étude (Jonas, 2003).

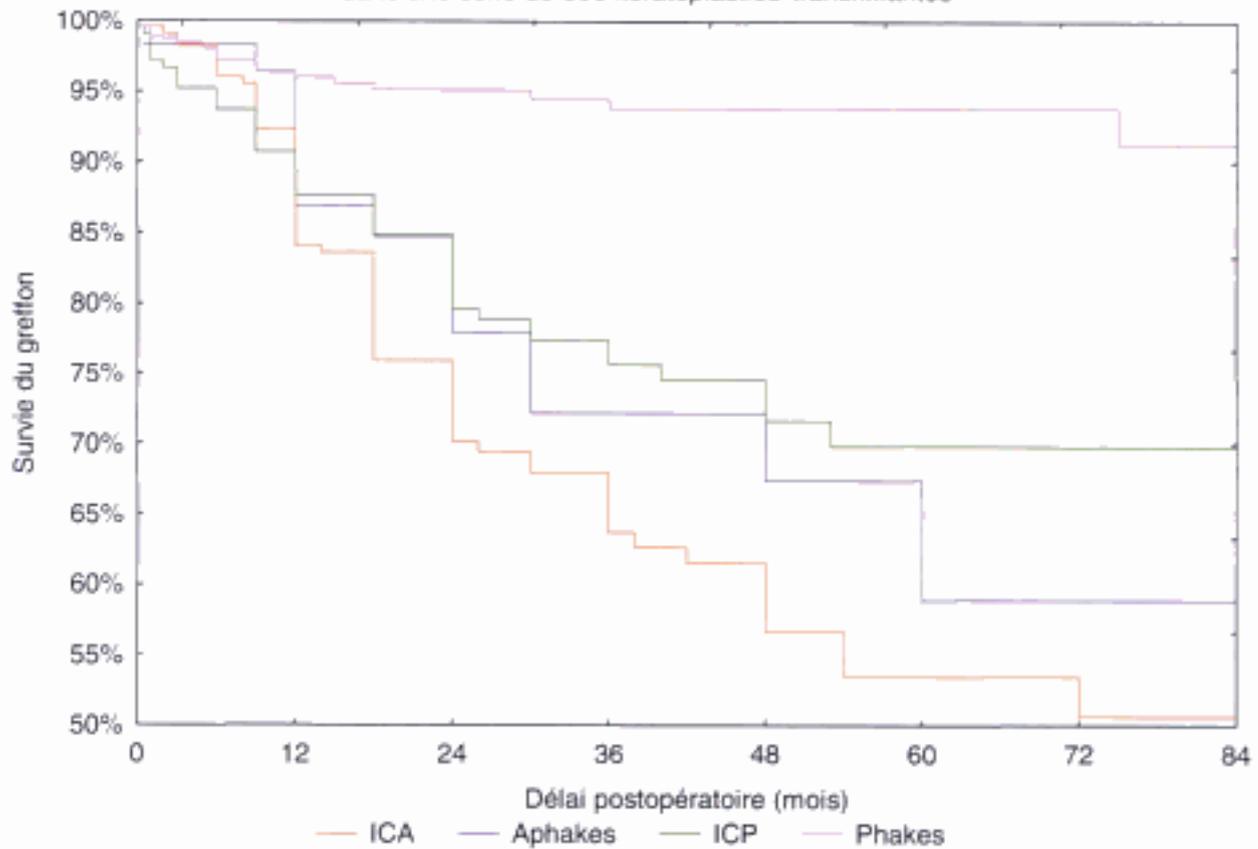
Il est intéressant de noter que les caractéristiques du donneur (âge, sexe) et du greffon (densité endothéliale, viabilité, morphologie) n'influencent pas le résultat visuel lorsque l'on a utilisé un greffon conservé en organoculture satisfaisant aux critères de qualité exigés pour la greffe.

Lorsque l'on veut exprimer les résultats visuels moyens après greffe, on ne peut se contenter de faire la moyenne arithmétique des acuités visuelles décimales, ce qui donnerait un résultat erroné du fait de la progression logarithmique de l'acuité visuelle décimale. Il faut donc faire une transformation logarithmique de chaque acuité visuelle décimale en échelle LogMAR, faire la moyenne des acuités visuelles exprimées en LogMAR, puis retransformer cette moyenne en acuité décimale (Holladay, 1997). On peut faire également la moyenne géométrique des acuités visuelles décimales. Il est utile d'utiliser l'échelle ETDRS qui permet de chiffrer correctement les acuités visuelles faibles, ce que ne permet pas l'échelle de Monnoyer.

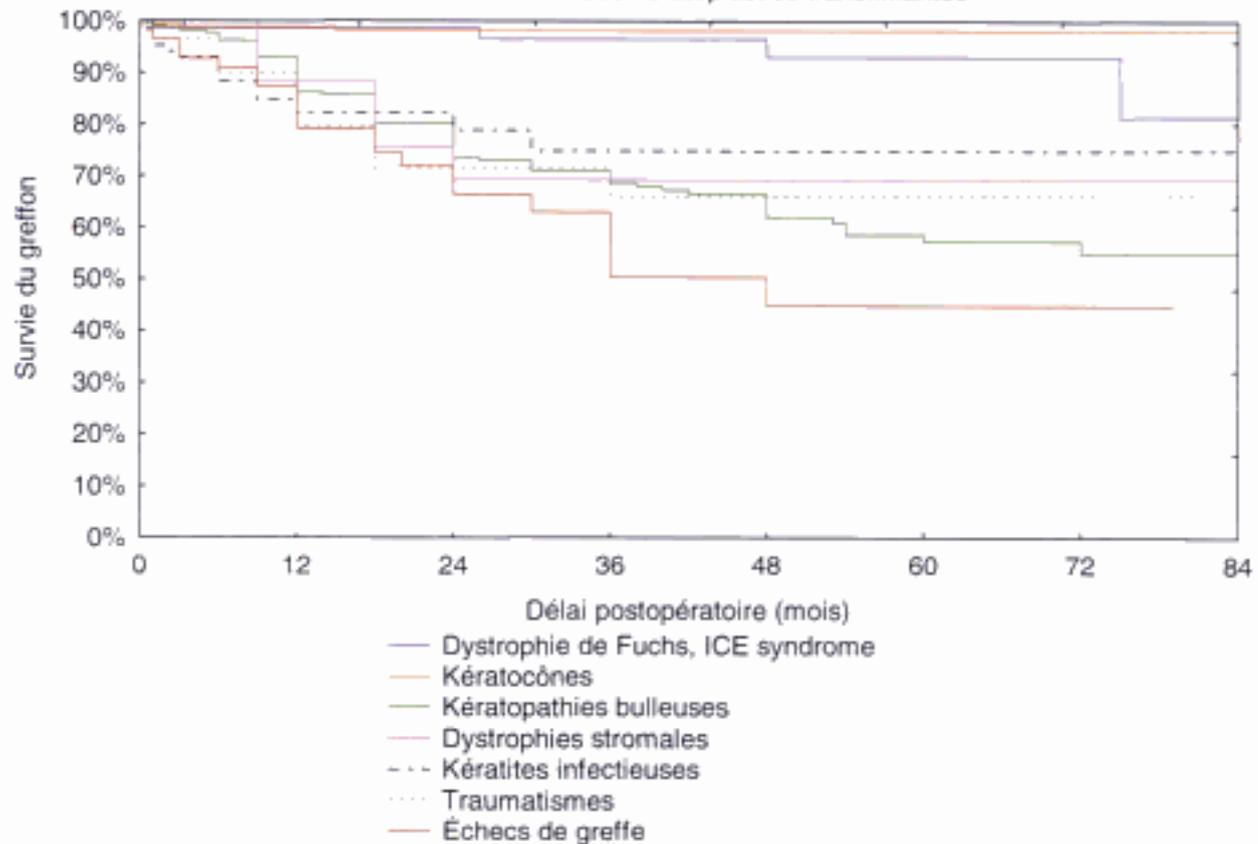
Hidden page

Hidden page

Survie du greffon en fonction du statut du cristallin après la greffe
dans une série de 806 kératoplasties transfixiantes

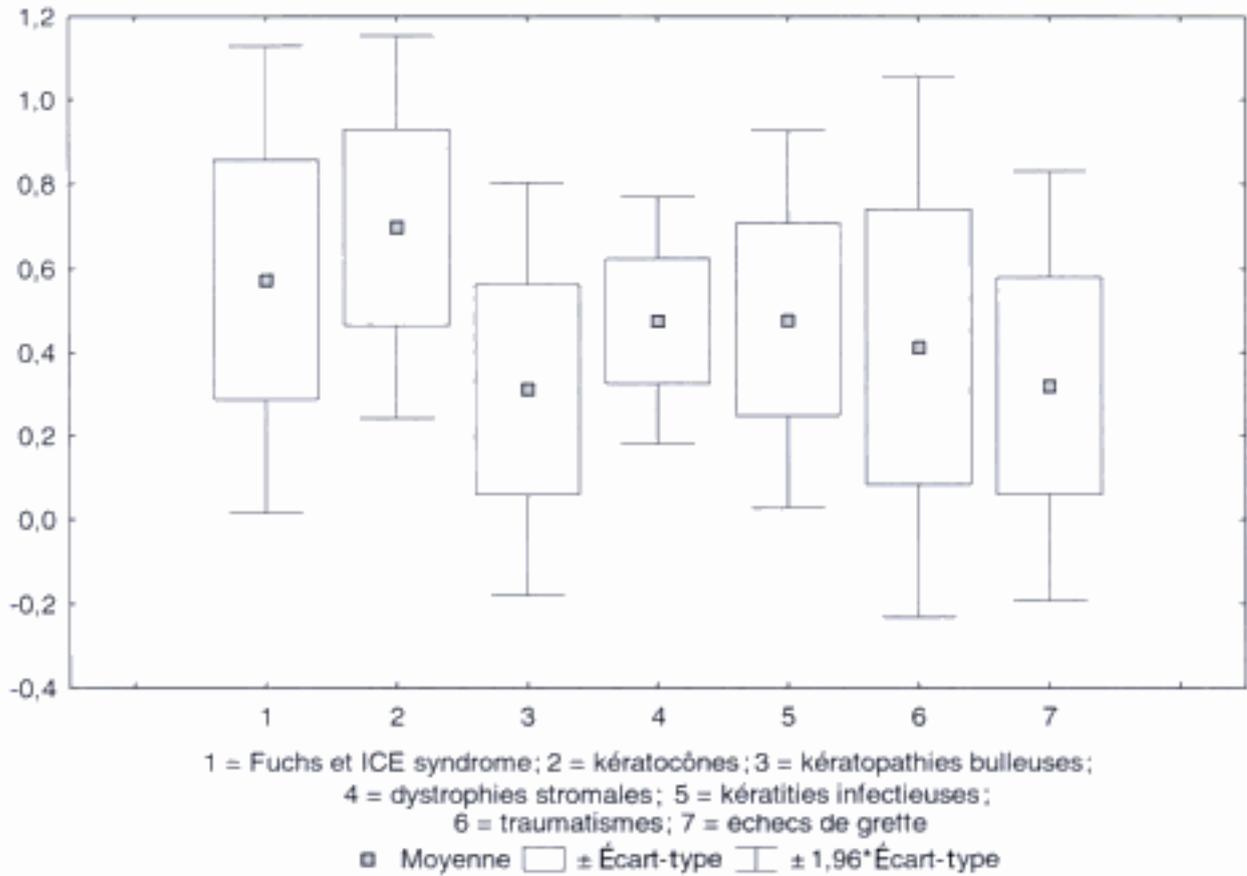


Survie du greffon en fonction de l'indication opératoire
dans une série de 806 kératoplasties transfixiantes

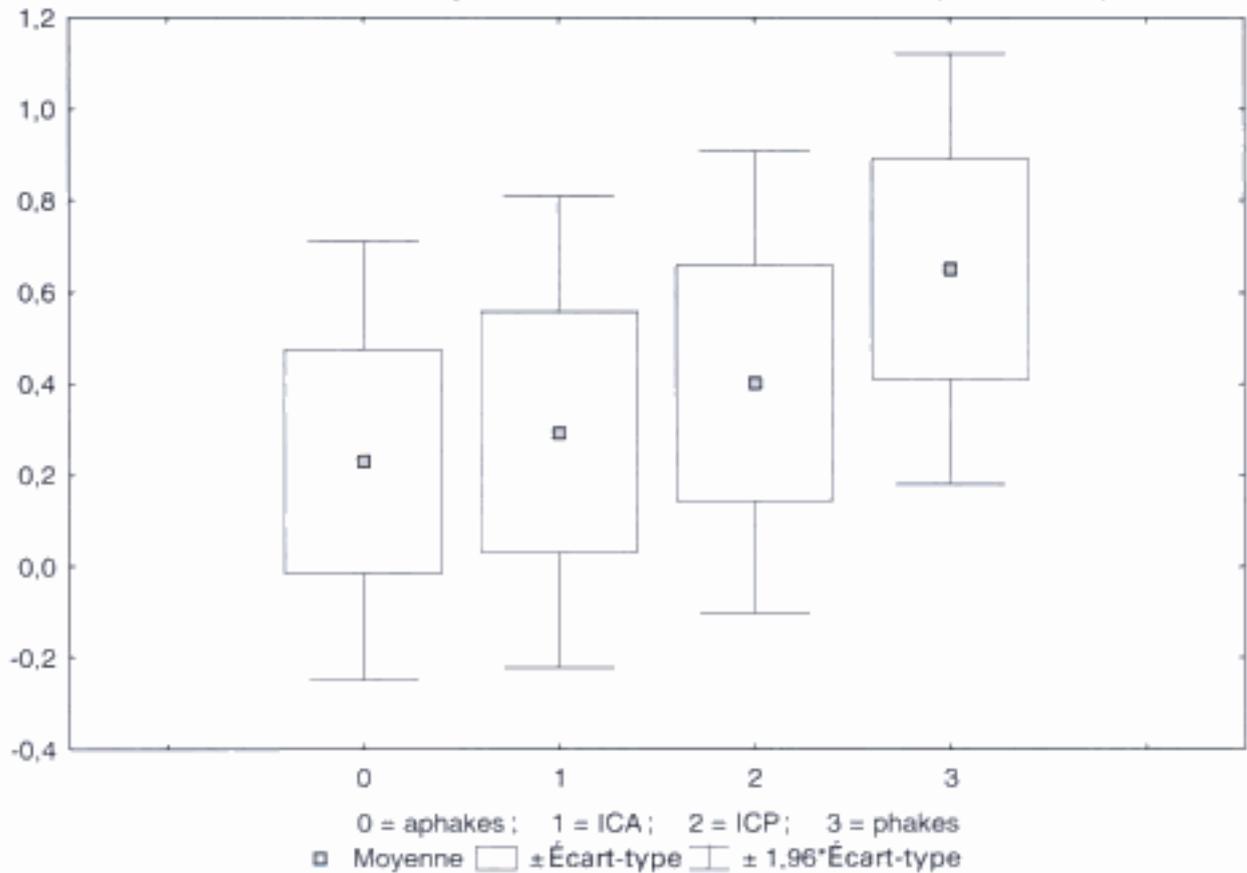


Hidden page

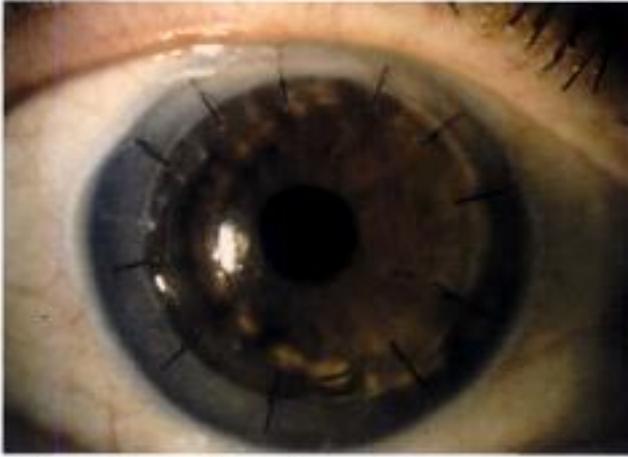
Acuité visuelle à 36 mois de la greffe en fonction de l'indication opératoire



Acuité visuelle à 36 mois de la greffe en fonction du statut du cristallin après la kératoplastie



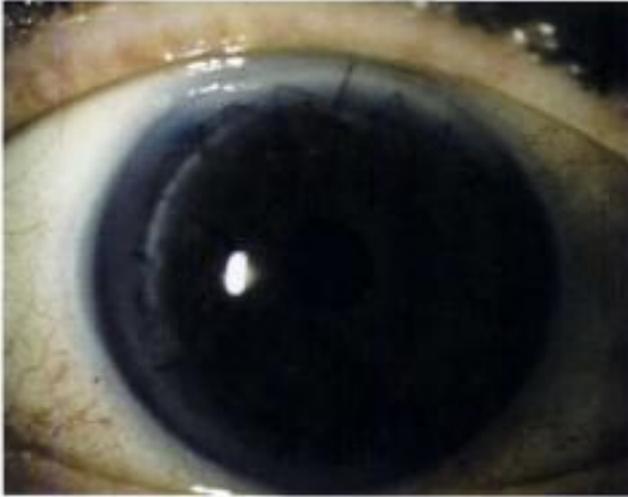
Hidden page



Triple procédure pour kératocône associé à une cataracte : aspect à 1 an de la greffe, après ablation du surjet. Acuité visuelle 5/10, pachymétrie 510 μm , densité endothéliale 1500 cellules/ mm^2 .



Triple procédure pour une dystrophie de Fuchs : aspect à 1 an. Acuité visuelle 5/10, pachymétrie 500 μm , densité endothéliale 1000 cellules/ mm^2 .



Triple procédure pour une dystrophie de Fuchs : aspect à 9 mois. Acuité visuelle 7/10, pachymétrie 440 μm , densité endothéliale 1850 cellules/ mm^2 .



Triple procédure : aspect à 5 ans. Acuité visuelle 5/10, pachymétrie 560 μm , densité endothéliale 1200 cellules/ mm^2 .

9. Deux situations particulières : l'autogreffe rotationnelle et la transposition cornéenne

L'autokératoplastie transfixiante ou transposition cornéenne peut être utilisée dans une situation précise relativement rare. Il s'agit de patients ayant un œil non voyant avec une cornée normale et un œil voyant ayant une pathologie cornéenne. La cornée normale sera greffée sur l'œil voyant et la cornée pathologique sur l'œil non voyant.

Cette intervention est réalisée préférentiellement sous anesthésie générale. Le premier temps concerne l'œil donneur (œil non voyant). La cornée est trépanée avec la même technique que celle utilisée pour une kératoplastie transfixiante. Elle est placée en attente dans une cupule contenant du BSS. Le deuxième temps concerne l'œil receveur (œil voyant). La cornée est trépanée au même diamètre que celui utilisé pour l'œil donneur. Cette cornée pathologique est mise en attente dans du BSS. La cornée de l'œil donneur est ensuite suturée sur l'œil receveur avec

une technique de suture de kératoplastie transfixiante. Le troisième temps concerne l'œil donneur. Il s'agit de la suture de la cornée pathologique sur l'œil donneur. Pendant tout le deuxième temps opératoire, l'œil donneur reste à ciel ouvert. Il faut donc prendre toutes les précautions pour ne pas léser le contenu du globe oculaire. Une kératoprothèse temporaire peut être utilisée après trépanation de la cornée de l'œil donneur pour maintenir l'intégrité de cet œil jusqu'à ce que la cornée de l'œil receveur soit greffée sur l'œil donneur (Rao, 2000).

L'autogreffe rotationnelle concerne les yeux ayant des opacités cornéennes localisées au centre de la cornée. Elle consiste à réaliser une trépanation excentrée permettant, par une rotation de la cornée sur 180°, de placer l'opacité centrale en périphérie. La suture du greffon est réalisée avec une technique de kératoplastie transfixiante.

Hidden page

Hidden page

- Bohringer D, Reinhard T, Spelsberg H, Sundmacher R. Influencing factors on chronic endothelial cell loss characterised in a homogeneous group of patients. *Br J Ophthalmol* 2002; 86: 35-38.
- Bosqjoly (1986) HM, Roy R, Dube I, Laughrea PA, Michaud R, Douville P, Hébert J. HLA-A, B and DR matching in corneal transplantation. *Ophthalmology* 1986; 93: 1280-1297.
- Bosqjoly (1989) HM, Bernard PM, Dube I, Laughrea PA, Bazin R, Bernier J. Effect of factors related to tissue matching on corneal transplant endothelial rejection. *Am J Ophthalmol* 1989; 107: 647-654.
- Bosqjoly (1990) HM, Roy R, Bernard PM, Dube I, Laughrea PA, Bazin R. Association between corneal allograft reactions and HLA compatibility. *Ophthalmology* 1990; 97: 1689-1698.
- Bosqjoly (1993) HM, Tourigny R, Bazin R, Laughrea PA, Bube J, Chamberland G, et al. Risk factors of corneal graft failure. *Ophthalmology* 1993; 100: 1728-1735.
- Borderie (1993) V, Kantelep B, Delbos B, Cathelin P, Piquot X, Montard M, et al. Étude ultrastructurale des cornées humaines conservées en milieu de culture d'organe à +31 °C. *J Fr Ophtalmol* 1993; 16: 80-86.
- Borderie (1995a) V, Kantelep B, Delbos B, Genin P, Masse M, Laroche L. Modulation de l'expression HLA-DR et CD1a de la cornée humaine par une faible dose d'UVB. *Ophthalmologie* 1995; 9: 258-260.
- Borderie (1995b) V, Kantelep B, Delbos B, Oppermann M, Laroche L. Morphology, histology and ultrastructure of human CB organ-cultured corneas. *Cornea* 1995; 14: 300-310.
- Borderie (1995c) V, Kantelep B, Delbos B, Piquot X, Montard M, Laroche L. Expression HLA-DR et CD1a de la cornée humaine fraîche et conservée. *Ophthalmologie* 1995; 9: 115-117.
- Borderie (1995d) V, Laroche L, Védie F, Lopez M. Kératoplastie transfixiante après conservation du greffon en organo-culture à +33 °C : résultats à un an. *J Fr Ophtalmol* 1995; 18: 920-927.
- Borderie (1995e) VM, Kantelep B, Delbos B. Ultrastructure of UV-B irradiated and organ-cultured human donor corneas. *Transplant Proc* 1995; 27: 1652-1653.
- Borderie (1995f) VM, Kantelep BM, Delbos BY, Oppermann MT, Laroche L. Morphology, histology and ultrastructure of human CB organ-cultured corneas. *Cornea* 1995; 14: 300-310.
- Borderie (1996a) VM, Kantelep B, Genin P, Masse M, Laroche L, Delbos B. Modulation of HLA-DR and CD1a expression on human cornea with low-dose UVB irradiation. *Curr Eye Res* 1996; 15: 689-679.
- Borderie (1996b) VM, Laroche L. Measurement of irregular astigmatism using semiautomatic data from videokeratographs. *J Refract Surg* 1996; 12: 595-600.
- Borderie (1997a) V, Delbos B, Montard M, Laroche L. Prélèvement et conservation des greffons cornéens. *Encycl Méd Chir (Elsevier, Paris). Ophthalmologie*, 21-205-A-20, 1997, 3 p.
- Borderie (1997b) V, Touzeau O, Laroche L. Intégrité de l'implantation dans le sac capsulaire au cours de l'intervention combinée kératoplastie transfixiante et chirurgie de la cataracte. *J Fr Ophtalmol* 1997; 3: 200-206.
- Borderie (1997c) VM, Baudrimont M, Lopez M, Carvajal S, Laroche L. Evaluation of the deswelling period in Dextran-containing medium after corneal organ culture. *Cornea* 1997; 16: 215-223.
- Borderie (1997d) VM, Lopez M, Védie F, Laroche L. ABO antigen blood group compatibility in corneal transplantation. *Cornea* 1997; 16: 1-6.
- Borderie (1997e) VM, Lopez M, Laroche L. Donor cornea-scleral rim cultures after organ culture. *Br J Ophthalmol* 1997; 81: 516.
- Borderie (1998a) V, Delbos B, Kantelep B, Laroche L. Le riget d'allogreffe de cornée. *J Fr Ophtalmol* 1998; 21: 596-618.
- Borderie (1998b) VM, Baudrimont M, Vignat C, Laroche L. The complication of retained intraocular corneal button after penetrating keratoplasty. *Am J Ophthalmol* 1998; 125: 256-258.
- Borderie (1998c) VM, Laroche L. Microbiologic study of organ-cultured donor corneas. *Transplantation* 1998; 66: 120-123.
- Borderie (1998d) VM, Martinache C, Sabolic V, Touzeau O, Laroche L. Light microscopy of human donor corneal stroma during organ culture. *Acta Ophthalmol Scand* 1998; 76: 154-157.
- Borderie (1998e) VM, Scherer S, Touzeau O, Védie F, Carvajal-Gonzalez S, Laroche L. Donor corneal tissue selection before penetrating keratoplasty. *Br J Ophthalmol* 1998; 82: 382-388.
- Borderie (1999a) V, Baudrimont M, Bourcier T, Moldovan M, Touzeau O, Laroche L. Cornéa guttata et dystrophie de Fuchs. *J Fr Ophtalmol* 1999; 22: 987-1002.
- Borderie (1999b) V, Baudrimont M, Touzeau O, Laroche L. Edème cornéen. *Encycl Méd Chir (Elsevier, Paris). Ophthalmologie*, 21-2000-C-25, 1999, 15p.
- Borderie (1999c) V, Delbos B, Montard M, Laroche L. Kératoplastie transfixiante. *Encycl Méd Chir (Elsevier, Paris). Ophthalmologie*, 21-206-A-10, 1999, 11p.
- Borderie (1999d) VM, Touzeau O, Alouch C, Scherer S, Carvajal-Gonzalez S, Laroche L. The results of successful penetrating keratoplasty using donor organ-cultured corneal tissue. *Transplantation* 1999; 67: 1433-1438.
- Borderie (1999e) VM, Touzeau O, Bourcier T, Carvajal-Gonzalez S, Laroche L. The triple procedure. In-the-bag placement of ciliary sulcus placement of the intraocular lens. *Br J Ophthalmol* 1999; 83: 486-482.
- Borderie (1999f) VM, Touzeau O, Chastang P, Laroche L. Surgical correction of postkeratoplasty astigmatism with the Harma arcusomes. *J Cat Ref Surg* 1999; 25: 205-211.
- Borderie (1999g) VM, Touzeau O, Laroche L. Videokeratography, keratometry, and extraction after penetrating keratoplasty. *J Refract Surg* 1999; 15: 32-37.
- Borderie (2000) VM, Baudrimont M, Védie F, Eroua TL, Gray R, Laroche L. Corneal endothelial cell apoptosis in patients with Fuchs' dystrophy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41: 2501-2505.
- Borderie (2001) VM, Sabolic V, Touzeau O, Scherer S, Carvajal-Gonzalez S, Laroche L. Screening human donor corneas during organ culture for the presence of guttae. *Br J Ophthalmol* 2001; 85: 272-276.
- Borderie (2004) VM, Scherer S, Bourcier T, Touzeau O, Laroche L. Tissue crossmatch before corneal transplantation. *Br J Ophthalmol* 2004; 88: 84-87.
- Borderie (2004) VM, Méner JF, Chausseil C, Rosenzberg F, Baudrimont M, Touzeau O, Bourcier T, Laroche L. Culture-proven herpetic keratitis after penetrating keratoplasty in patients with no previous history of herpes disease. *Cornea* 2004 (sous presse).
- Bourcier (1999) T, Borderie V, Laroche L. Nouvelles approches génétiques des dystrophies de cornée. *J Fr Ophtalmol* 1999; 22: 234-240.
- Bourcier (2001) T, Laplace O, Touzeau O, Moldovan M, Borderie V, Laroche L. Syndrome d'Ureux-Zavalia. *J Fr Ophtalmol* 2001; 24: 305-308.
- Bourcier (2003a) T, Thomas F, Borderie V, Chausseil C, Laroche L. Bacterial keratitis : predisposing factors, clinical and microbiological review of 300 cases. *Br J Ophthalmol* 2003; 87: 834-838.
- Bourcier (2003b) T, Touzeau O, Thomas F, Chausseil C, Baudrimont M, Borderie V, Laroche L. Candida parapsilosis keratitis. *Cornea* 2003; 22: 51-53.
- Bourne (1976) WM, Kaufman HE. The endothelium of clear corneal transplants. *Arch Ophthalmol* 1976; 94: 1730-1732.
- Bourne (1977) WM, Doughman DJ, Lindstrom RL. Organ-cultured corneal endothelium, in vivo. *Arch Ophthalmol* 1977; 95: 1818-1819.
- Bourne (1978) WM, Brubaker RF. A method for ipsilateral rotational autokeratoplasty. *Ophthalmology* 1978; 85: 1312-1316.
- Bourne (1980) WM. One-year observation of transplanted human corneal endothelium. *Ophthalmology* 1980; 87: 673-679.
- Bourne (1983a) WM. Chronic endothelial cell loss in transplanted corneas. *Cornea* 1983; 2: 289-294.
- Bourne (1983b) WM. Morphologic and functional evaluation of the endothelium of transplanted human corneas. *Tr Am Ophth Soc* 1983; 1XXXX: 403-450.
- Bourne (1984) WM, Doughman DJ, Lindstrom RL, Kolb ME, Mindrup E, Skelton D. Increased Endothelial cell loss after transplantation of corneas preserved by a modified organ-culture technique. *Ophthalmology* 1984; 91: 285-289.
- Bourne (1985a) WM, Doughman DJ, Lindstrom RL. Decreased endothelial cell survival after transplantation of corneas preserved by three modifications of corneal organ culture technique. *Ophthalmology* 1985; 92: 1538-1541.
- Bourne (1985b) WM, Lindstrom RL, Doughman DJ. Endothelial cell survival on transplanted human corneas preserved by organ culture with 1.33% chondroitin sulfate. *Am J Ophthalmol* 1985; 100: 789-793.
- Bourne (1986) WM. Endothelial cell survival on transplanted human corneas preserved at 4 °C in 2.5% chondroitin sulfate for one to 13 days. *Am J Ophthalmol* 1986; 102: 382-386.
- Bourne (1994) WM, Hodge DO, Nelson LR. Corneal endothelium five years after transplantation. *Am J Ophthalmol* 1994; 118: 185-196.
- Bourne (2001a) WM, Nelson LR, Miquire LJ, Baratz KH, Hodge DO. Comparison of Chen medium and Optisol-GS for human corneal preservation at 4 degrees C: results of transplantation. *Cornea* 2001; 20: 663-668.
- Bourne (2001b) WM. Cellular changes in transplanted human corneas. *Cornea* 2001; 20: 360-369.
- Bradley BA, Vail A, Gore SM, et al. Penetrating keratoplasty in the United Kingdom: an interim analysis of the corneal transplant follow-up study. *Clin Transpl* 1993; 293-315.
- Brahma (2000a) A, Enns F, Harper R, Ridgway A, Tullio A. Visual function after penetrating keratoplasty for keratoconus: a prospective longitudinal evaluation. *Br J Ophthalmol* 2000; 84: 60-66.
- Brahma (2000b) A, Ridgway A, Tullio A, Keaton M, Ireland G, Bagley S, Carrington L. Contraction of donor trephination in human corneal transplantation. *Cornea* 2000; 19: 325-328.
- Braude LS, Chandler JW. Corneal allograft rejection. The role of the major histocompatibility complex. *Surv Ophthalmol* 1983; 27: 290-305.
- Brent Reed D, Mannis MJ, Hills JE, Johnson CA. Corneal epithelial healing after penetrating keratoplasty using topical Healon vs Balanced Salt Solution. *Ophthalmic Surg* 1987; 18: 525-528.
- Brightbill FS. Corneal surgery. Theory, technique and tissue. Saint-Louis, Mosby Co: 1993.
- Bron A. Endophthalmitis. Deuxième partie : le traitement. *J Fr Ophtalmol* 1996; 19: 294-314.
- Brooks (1984) AM, Robertson JF, Mahoney AM. Ocular rigidity and intraocular pressure in keratoconus. *Aust J Ophthalmol* 1984; 12: 317-324.
- Brooks (1990) AM, Grant GB, Gillies WE. Bullous keratopathy due to noncavitary corneal endothelial dystrophy. *Aust N Z J Ophthalmol* 1990; 18: 335-341.
- Brooks (1994) AM, Grant G, Gillies WE. The significance of anterior chamber depth in Fuchs' corneal dystrophy and cornea guttata. *Cornea* 1994; 13: 131-135.
- Brunette J, Nelson LR, Bourne WM. Tolerance of human corneal endothelium to glycerol. *Cryobiology* 1989; 26: 513-523.
- Brunette J, Stulting RD, Rinse JR, Waring GO 3rd, Gemmill M. Penetrating keratoplasty with anterior or posterior chamber intraocular lens implantation. *Arch Ophthalmol* 1994; 112: 1711-1719.
- Burke S, Sugar J, Farber MD. Comparison of the effects of two viscoelastic agents, Healon and Viscoat, on postoperative intraocular pressure after penetrating keratoplasty. *Ophthalmic Surg* 1990; 21: 821-826.
- Buss M, Morik T, Al-Nawwash I. Different suturing techniques variously affect the regularity of postkeratoplasty astigmatism. *Ophthalmology* 1998; 105: 1200-5.
- Buxton JN, Sendor JA, Perry HD, Eagle RC, Poggio JA. Donor failure after corneal transplantation surgery. *Cornea* 1988; 7: 89-95.
- Carseton JA, Antonios SR, Cotter JB, Habash N. Endophthalmitis from contaminated donor corneas following penetrating keratoplasty. *Arch Ophthalmol* 1991; 109: 54-59.
- Carseton JA, Badt JA, Miguel Risco J, Abboud E, Gornah el-S. Endophthalmitis cluster from contaminated donor corneas following penetrating keratoplasty. *Can J Ophthalmol* 1998; 33: 8-13.
- Capelle JA, Kaufman HE, Robbins JE. Preservation of viable corneal tissue. *Arch Ophthalmol* 1965; 74: 669-673.
- Caporossi A, Traversi C, Serru C, Tso GM. Closed-system and open-sky capsulorhexis for combined cataract extraction and corneal transplantation. *J Cataract Refract Surg* 2001; 27: 990-993.
- Cardine S, Bourcier T, Chausseil C, Zamfir O, Borderie V, Laroche L. Prise en charge clinique et pronostic de la kératite amibienne. Étude rétrospective de 25 cas. *J Fr Ophtalmol* 2002; 25: 1007-1013.
- Catry I, Van Den Oord J, Foets B, et al. Morphologic and immunophenotypic heterogeneity of corneal dendritic cells. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1991; 29: 182-185.
- Chandler (1974) JW, Kaufman HE. Graft reactions after keratoplasty for keratoconus. *Am J Ophthalmol* 1974; 77: 543-547.
- Chandler (1985) JW, Cummings M, Gillette TF. Presence of Langerhans cells in the central corneas of normal human infants. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1985; 26: 113-116.
- Chandler (1994) JW, Sugar J, Edelhauser HF. External diseases: cornea, conjunctiva, sclera, eyelids, lacrimal system. London: Mosby, 1994.
- Chang SD, Poggio JC, Zadnik K, Drazanich MB, Muthi LX, Mannis MJ. Factors influencing graft clarity. *Cornea* 1996; 15: 577-581.

Les greffes en ophtalmologie

- Chang P, Borderie V, Carvajal-Gonzalez S, Laroche L. Correction chirurgicale de l'astigmatisme induit par la kératoplastie transvasculaire à l'aide du kératome arciforme de Hanna. *J Fr Ophthalmol* 1997; 20: 360-365.
- Cheng CK, Cheng SW, Hu FR. Acyclovir treatment for linear endothelitis on grafted cornea. *Cornea* 1995; 14: 331-335.
- Cheng CL, Tan DE. Lamellar corneal autograft for corneal perforation. *Aust N Z J Ophthalmol* 1999; 27: 437-439.
- Chen AM, Schmidt CM, Cohen EJ, Rajpal RK, Sperlert LT, Rapsaro CJ, Mester M, Smith M, Laibson PR. Glaucoma in the immediate postoperative period after penetrating keratoplasty. *Am J Ophthalmol* 1993; 115: 711-714.
- Chitkara DK, Seneff DL. Risk factors, complications, and results in extracapsular cataract extraction. *J Cataract Refract Surg* 1997; 23: 570-574.
- Cho KS, Lee EH, Choi JS, Joo CK. Reactive oxygen species-induced apoptosis and necrosis in bovine corneal endothelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999; 40: 911-919.
- Chowers I, Ticho U. Mitomycin-C in combined or two-stage procedure trabeculectomy followed by penetrating keratoplasty. *J Glaucoma* 1999; 8: 184-187.
- Christenson J, Kasf PR, Caldwell DR. Bacterial contamination of donor corneas stored in McCarey-Kaufman medium. *Ophthalmol* 1982; 13: 231-233.
- Cibis GW, Krauthammer JA, Phelps CD, Weingast TA. The clinical spectrum of posterior polymorphous dystrophy. *Arch Ophthalmol* 1977; 95: 1529-1537.
- Claas FH, Rethart M, Havinga I, Schothorst AA, Vermaer BJ, Van Rood JJ. Influence of ultraviolet radiation treatment on the survival of heterotopic skin grafts in the mouse. *J Invest Dermatol* 1985; 84: 31-32.
- Claesson M, Armitage WJ, Pagenholm P, Seneff U. Visual outcome in corneal grafts: a preliminary analysis of the Swedish Corneal Transplant Register. *Br J Ophthalmol* 2002; 86: 174-180.
- Clark WM, Heaton KE, Seider GR, Reeve RB, Caskey PJ, Olson RJ. Donor eye contamination. *Am J Ophthalmol* 1982; 94: 995-997.
- Cleator GM, Klapper PE, Dennett C, et al. Corneal donor infection by herpes simplex virus: herpes simplex virus DNA in donor corneas. *Cornea* 1994; 13: 294-304.
- Clifton E, Hanna C. Corneal cryopreservation and the fate of corneal cells in penetrating keratoplasty. *Am J Ophthalmol* 1974; 78: 239-250.
- Crockett GM, Bjwared K, Sheng ZM, et al. Primary graft failure: a clinicopathologic and molecular analysis. *Ophthalmology* 2000; 107: 2083-2090.
- Cohen KL, Tripoli NK, Noecker RJ. Prospective analysis of photokeratotomy for accurate keratometry to reduce postkeratoplasty astigmatism. *Refract Corneal Surg* 1989; 5: 388-393.
- Cohen RA, Chew SJ, Gebhardt BM, Beuerman RW, Kaufman HE, Kaufman SC. Corneal microtopography of corneal graft rejection. *Cornea* 1995; 14: 467-472.
- Coleman AL, Mendezo B, Wilson MR, Casey R. Clinical experience with the Ahmed Glaucoma Valve implant in eyes with prior or concurrent penetrating keratoplasty. *Am J Ophthalmol* 1997; 123: 54-61.
- Collaborative Corneal Transplantation Studies Research Group. Effectiveness of histo-compatibility matching in high-risk corneal transplantation. *Arch Ophthalmol* 1992; 110: 1392-1403.
- Collin HB, Anderson JA, Richard NR, Binder PS. In vitro model for corneal wound healing; organ-cultured human corneas. *Curr Eye Res* 1995; 14: 331-339.
- Collum LM, Levin J, Mullany J. Congenital hereditary endothelial dystrophy. *Bull Soc Belg Ophthalmol* 1985; 211: 1-5.
- Cooper DJ, Shepherd WFL, Chin Fook T, Rice NCS, Jones BR. Prolonged survival of corneal allografts in rabbits treated with cyclosporin A. *Lancet* 1979; 29: 688-689.
- Cooper DJ. Factors affecting the outcome of corneal transplantation. *Ann R Coll Surg Engl* 1983; 63: 91-97.
- Coupland SE, Krause L, Hoffmann F. The influence of penetrating keratoplasty and cyclosporin A therapy on MHC class II (Ia)-positive cells in the rat iris and choroid. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1996; 234: 116-124.
- Crawford GJ, Stulting RD, Waring GO, et al. The triple procedure. Analysis of outcome, refraction, and intraocular lens power calculation. *Ophthalmology* 1986; 93: 817-824.
- Cree LA, Larkin DF. Microfouled cell-keratocyte interaction in human corneal allograft rejection. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995; 36: 9803.
- Crowe JM, Armitage WJ. Integrity of epithelium and endothelium in organ-cultured human corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42: 1757-1761.
- Culbertson WC, Abbott RL, Foster RK. Endothelial cell loss in penetrating keratoplasty. *Ophthalmology* 1982; 89: 600-604.
- Cullor JS, Marnis MJ, Murphy CJ, Smith WL, Selsted ME, Reid TW. In vitro antimicrobial activity of defensins against ocular pathogens. *Arch Ophthalmol* 1980; 108: 861-864.
- Cursiefen (1998) C, Kuchle M, Naumann GO. Changing indications for penetrating keratoplasty: histopathology of 1,250 corneal buttons. *Cornea* 1998; 17: 468-470.
- Cursiefen (2001) C, Wenzel H, Maras P, Langerhuber A, Nguyen NX, Seitz B, Kuchle M, Naumann GO. Impact of short-term vs long-term topical steroids on corneal neovascularization after non-high-risk keratoplasty. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2001; 239: 514-521.
- Cursiefen (2002) C, Schleuter-Schneidert U, Kuchle M, Sorokin L, Bretzinger-Greif S, Alltale K, et al. Lymphatic vessels in vascularized human corneas: immunohistochemical investigation using LYVE-1 and podoplanin. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002; 43: 2127-2135.
- Dana (1990) M, Ciosecki ST, Ahmadian H, Stark J, Young E. Low-dose ultraviolet-B irradiation of donor corneal endothelium and graft survival. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1990; 31: 2261-2268.
- Dana (1995a) MR, Green MB, Gomes JA, Laibson PR, Rapsaro CJ, Cohen EJ. Suture erosion after penetrating keratoplasty. *Cornea* 1995; 14: 243-248.
- Dana (1995b) MR, Green MB, Gomes JA, Laibson PR, Rapsaro CJ, Cohen EJ. Suture erosion after penetrating keratoplasty. *Cornea* 1995; 14: 243-248.
- Dana (1997) MR, Schaumburg DA, Moyes AL, Gomes JA. Corneal transplantation in children with Peters anomaly and mesenchymal dysgenesis. Multicenter Pediatric Keratoplasty Study. *Ophthalmology* 1997; 104: 1580-1586.
- Dandona J, Nadavilath TJ, Janarthanan M, Ragu K, Rao GN. Survival analysis and visual outcome in a large series of corneal transplants in India. *Br J Ophthalmol* 1997; 81: 726-731.
- Dangeli ME, Kirkham SM, Phipps MI. Posterior capsule opacification in extracapsular cataract extraction and the triple procedure: a comparative study. *Ophthalmic Surg* 1994; 25: 82-87.
- Davvas PD, Ruben M. The patent pupil: its incidence and aetiology after keratoplasty for keratoconus. *Br J Ophthalmol* 1975; 59: 223-228.
- De Kossel RL, Koppen C, Ieven M, et al. Primary graft failure caused by herpes simplex virus type 1. *Cornea* 2003; 20: 187-190.
- Deeg JH. Ultraviolet irradiation in transplantation biology. *Transplantation* 1988; 45: 845-851.
- Delbos (1980) B, Hervé P, Carbllet JP, Montard M. La cryoconservation cornéenne chez l'homme: proposition technique originale. *J Fr Ophthalmol* 1984; 7: 321-331.
- Delbos (1987) B, Bon A, Fellmann D, Blum D, Montard M. Analyse d'image semi-automatisée et morphométrie endothéliale in vitro. *Bull Soc Opt France* 1987; 11: LXXXVII.
- Delbos (1987) B, Nargelen J, Hervé P, Carbllet JP, Montard M. Conservation des cornées humaines en milieu de culture enrichi à +37 °C: analyses histologiques et biochimiques. *J Fr Ophthalmol* 1987; 10: 547-555.
- Delbos (1988) B, Piquot X, Montard M. Analyse séquentielle de l'endothélium corneen humain in vitro. *J Fr Ophthalmol* 1988; 11: 31-35.
- Delbos (1990a) B, Fellmann D, Piquot X, et al. Antigénicité HLA des cornées humaines normales et pathologiques. *J Fr Ophthalmol* 1990; 13: 535-541.
- Delbos (1990b) B, Fellmann D, Piquot X, et al. Expression antigénique HLA de la cornée humaine: influence de la conservation en culture d'organe. *Ophthalmologie* 1990; 4: 88-91.
- Delbos (1990c) B, Urelacher A, Torgio MM, Flament J. Phénotypage HLA post-mortem des donneurs d'yeux. Evaluation d'une méthode sérologique de microlymphocytotoxicité sur lymphocytes et lymphoblastes PHA. *J Fr Ophthalmol* 1990; 13: 542-546.
- Delbos (1997) B, Borderie V. Méthodes de conservation des cornées humaines. *J Fr Ophthalmol* 1997; 3: 221-240.
- Dellaert MM, Casey TA, Wilfen S, Gordon J, Johnson P, Gonzales AJ, et al. Influence of topical human epidermal growth factor on postkeratoplasty re-epithelialisation. *Br J Ophthalmol* 1997; 81: 392-395.
- Des Marchais B, Bazin R, Boisjoly HM, Laughton PA, Dube U, Lide S, Roy R. Role of pre-keratoplasty and donor-recipient cross-matching in corneal graft outcome. *Cornea* 1998; 17: 141-145.
- Delve AG. Complications of keratoplasty. *Am J Ophthalmol* 1975; 79: 907-912.
- Diaz-Ariza CM, Madigan MC, Provis JM, Penfold PL. Immunohistochemical and topographic studies of dendritic cells and macrophages in human fetal cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995; 36: 644-656.
- Diaz-López M, Meraño JL. Penetration of 2% cyclosporin eyedrops into human aqueous humor. *Br J Ophthalmol* 1989; 73: 600-603.
- Dixon JA, Reynolds I, Zeggin E, Tullio AB, Hilliarby MC. Fas mRNA expression in blood is reduced during episodes of human corneal graft rejection. *Transplantation* 2001; 71: 702-705.
- Djalilian AR, Anderson SO, Fang-Yen M, Larue SS, Holland EJ. Long-term results of transsclerally sutured posterior chamber lenses in penetrating keratoplasty. *Cornea* 1998; 17: 359-364.
- Donnelly JL, Li W, Rockey JE, Prendergast RA. Induction of class II (Ia) alloantigen expression on corneal endothelium in vivo and in vitro. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1985; 26: 575-580.
- Doutzenfeld ED, Korosten HS, Amin A, Spunker MD, Seedor JA, Storz PD, Landrio IM, Perry HD. Laser in situ keratomileusis for correction of myopia and astigmatism after penetrating keratoplasty. *Ophthalmology* 1999; 106: 1966-74.
- Donskih PC, Cavanagh HD, Boruchoff SA, Dohlman CH. Effect of bilateral and unilateral grafts on the incidence of rejection in keratoconus. *Am J Ophthalmol* 1979; 87: 823-826.
- Doughman (1977) DJ, Van Horn D, Harris JE, et al. Endothelium of the human organ-cultured cornea: an electron microscopic study. *Tr Am Ophthalmol Soc* 1975; LXXI: 304-328.
- Doughman (1974) DJ, Van Horn D, Harris JE, Miller GE, Lindstrom RL, Good RA. The ultrastructure of human organ-cultured cornea: endothelium. *Arch Ophthalmol* 1974; 92: 516-523.
- Doughman (1976) DJ, Van Horn D, Rodman WF, Byrnes J, Lindstrom RL. Human corneal endothelial layer repair during organ culture. *Arch Ophthalmol* 1976; 94: 1791-1796.
- Doughman (1982) DJ, Harris JE, Mistrup E, Lindstrom RL. Prolonged donor cornea preservation in organ culture. Long-term clinical evaluation. *Cornea* 1982; 1: 7-20.
- Dougherty MJ, Desmond F, Nguyen KT. Assessment of the reliability of calculations of the coefficient of variation for normal and polymegathous human corneal endothelium. *Optom Vis Sci* 1993; 70: 759-770.
- Doughty MJ. What the figure coefficient value (for the corneal endothelium) does not tell you. *Int Contact Lens Clinic* 1989; 16: 216-220.
- Doyle SJ, Harper C, Matczynsk B, Ridgway AEA. Prediction of refractive outcome in penetrating keratoplasty for keratoconus. *Cornea* 1996; 15: 441-445.
- Dreizen NC, Whitsett CF, Austin GE, Stulting RD. Laser densitometric analysis of class I HLA antigen expression by corneal epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1986; 27: 883-891.
- Dreizen NC, Whitsett CF, Stulting RD. Modulation of HLA antigen expression on corneal epithelial and stromal cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1988; 29: 933-939.
- Driebe WT, Stern GA. Microbial keratitis following corneal transplantation. *Cornea* 1985; 2: 43-45.
- Dua HS, Gomes JA. Clinical course of hurricane keratopathy. *Br J Ophthalmol* 2000; 84: 285-288.
- Duncker GL, Reich U, Krause R. Cellinfectome in corneal organ-culture. *Ophthalmologica* 1994; 208: 262-266.
- Eastcott HFE, Cross AG, Leigh AG, North DP. Preservation of corneal grafts by freezing. *Lancet* 1954; 237-239.
- Edwards JH. HLA-A and disease: The detection of associations. *J Immunogenet* 1974; 1: 249-257.
- Ehlers (1974) N. Graft thickness after penetrating keratoplasty. *Acta Ophthalmol* 1974; 52: 893-903.
- Ehlers (1981) N, Olsen T, Johnson HE. Corneal graft rejection probably mediated by antibodies. *Acta Ophthalmol* 1981; 59: 119-125.
- Ehlers (1982) N, Sperling S, Olsen T. Post-operative thickness and endothelial cell density in cultivated, cryopreserved human corneal grafts. *Acta Ophthalmol* 1982; 60: 935-944.
- Ehlers (1983a) N, Olsen T. Long term results of corneal grafting in keratoconus. *Acta Ophthalmol* 1983; 61: 918-926.
- Ehlers (1983b) N, Sperling S. Ultrastructure of cryopreserved, functioning human corneal endothelium. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1983; 61: 245-253.
- Ehlers (1987) N, Andersen J. Treatment of central corneal ulcers by a clonal transplantation of organ culture preserved donor tissue. *Acta Ophthalmol* 1987; 65: 516-520.

Hidden page

Hidden page

Hidden page

Les greffes en ophtalmologie

- Marrin (1991) MJ, Flomik RD, Schwab IR, et al. Herpes simplex dendritic keratitis after keratoplasty. *Am J Ophthalmol* 1991; 111: 480-484.
- Marrin (1997) MJ, Zadnik K, Miller MR, Manquez M. Preoperative risk factors for surface disease after penetrating keratoplasty. *Cornea* 1997; 16: 7-11.
- Marrin (1998) MJ, Garcia-Ferrer FJ, Davitt S. Superficial hypertrophic dendritic epitheliopathy post-keratoplasty. *Cornea* 1998; 17: 257-261.
- Martin TP, Reed JW, Legault C, Oberfield SM, Jacoby BG, Yu DD, Dickens A, Johnson HP. Cataract formation and cataract extraction after penetrating keratoplasty. *Ophthalmology* 1994; 101: 113-119.
- Mascarella K, Cavasagh HD. Penetrating keratoplasty using McCarey-Kaufman preserved corneal tissue. *South Med J* 1979; 72: 1268-1271.
- Maake R, Hill JC, Horak S. Mixed lymphocyte culture responses in rabbits undergoing corneal grafting and topical cyclosporine treatment. *Cornea* 1994; 13: 324-330.
- Mathers (1987) WD, Lepp MA. Corneal rim cultures. *Cornea* 1987; 6: 231-233.
- Mathers (1988) WD, Jester JV, Lepp MA. Return of human corneal sensitivity after penetrating keratoplasty. *Arch Ophthalmol* 1988; 106: 210-211.
- Mathieu MV. Résultats obtenus dans la kératoplastie transvasculaire au moyen de cornées conservées dans l'azote liquide. *Canad J Ophthalmol* 1970; 5: 142-145.
- Matsuba A, Beth Mosoy MB, Merton JL, McCulley JP. Donor-to-host transmission of streptococcal infection by corneas stored in McCarey-Kaufman medium. *Cornea* 1984; 3: 105-108.
- Matsuba AY, Fowler JS, Niederkorz JY. T cell subsets in the immune rejection of murine heterotopic corneal allografts. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1986; 27: 1244-1254.
- Matsuda M, Yee RW, Glaser DR, Gerzok DH, Edelhauser HF. Specular microscopic evaluation of donor corneal endothelium. *Arch Ophthalmol* 1986; 104: 259-262.
- Matsuda M, Bourne WM. Long-term morphologic changes in the endothelium of transplanted corneas. *Arch Ophthalmol* 1985; 103: 1343-1346.
- Mattax JB, McCulley JP. The effect of standardized keratoplasty technique on XCL power calculation for the triple procedure. *Acta Ophthalmol (suppl)* 1989; 192: 24-29.
- Mayer (1983) LJ, Durr AS, Casey TA, et al. Localization of HLA-A, B, C and HLA-DR antigens in the human cornea: practical significance for grafting technique and HLA typing. *Transplant Proc* 1983; 15: 126-129.
- Mayer (1987) DJ, Casey TA. Reducing the risk of corneal graft rejection. A comparison of different methods. *Cornea* 1987; 6: 261-268.
- McCarney BE, Kaufman HE. Improved corneal storage. *Invest Ophthalmol* 1974; 13: 165-173.
- McCarney DL, Whitney CE, Stark WJ, Wong S, Bernitsky DA. Refractive keratoplasty for disabling astigmatism after penetrating keratoplasty. *Arch Ophthalmol* 1987; 105: 954-957.
- McDonnell (1988) PJ, Robin JB, Scharzlan DJ, Minckler D, Baerveldt G, Smith RE, Heuer D. Molteno implant for control of glaucoma in eyes after penetrating keratoplasty. *Ophthalmology* 1988; 95: 364-369.
- McDonnell (1989) JY, Falcon mg. Rotational autokeratoplasty. *Eye* 1989; 3: 576-580.
- McDonnell (1993) PJ, Ergut C, Stark WJ, Stulting RD. Corneal thickness changes after high-risk penetrating keratoplasty. *Arch Ophthalmol* 1993; 111: 1374-1381.
- Means TL, Gerzok DH, Hadley A, Lynn MJ, Edelhauser HF. Viability of human corneal endothelium following Optisol-GS storage. *Arch Ophthalmol* 1995; 113: 805-809.
- Meser FM, Tschanz SA, Garzdrif R, Epstein D. A comparative assessment of endothelium from pseudophakic and phakic donor corneas stored in organ culture. *Br J Ophthalmol* 2002; 86: 400-403.
- Merton U. Curved keratotomy procedure for congenital astigmatism. *J Refract Surg* 1987; 103: 441-447.
- Meyer RE, McCarey BE, Valeris J, Gärverstein N, Kaufman H. Scanning electron microscopy of postoperative M-K and moist chamber-stored corneas. *Invest Ophthalmol* 1976; 15: 260-266.
- Meyer RP, Musch DC. Assessment of success and complications of triple procedure surgery. *Am J Ophthalmol* 1987; 104: 223-240.
- Milam JK, Pleyer U, Dukas A, Chou HJ, Lutz S, Ruckert D, Schmidt KH, Mendino BJ. Prolongation of corneal allograft survival with liposome-encapsulated cyclosporine in the rat eye. *Ophthalmology* 1993; 100: 890-896.
- Minguez E, Testas MT, Cristóbal JA, Castillo I, Dupena MP, Palomar A. Absorption intraculaire du collyre cyclosporine A. *J Fr Ophthalmol* 1992; 15: 263-267.
- Mishra S. Clinical investigations on the corneal endothelium. XXXVIII Edward Jackson Memorial Lecture. *Am J Ophthalmol* 1982; 93: 1-29.
- Mohan M, Sachdev MS, Jaffery NF. Tear and serum immunoglobulins during corneal graft rejection. *Cornea* 1987; 6: 273-280.
- Moldovan SM, Borderie V, Baudrimont M, Laroche L. Traitement du syndrome d'insuffisance en cellules sèches limbiaires unilatéral par autogreffe de limbe. *J Fr Ophthalmol* 1999; 22: 302-309.
- Moll AC, Van Rj G, Beekhuis WH, Renvelde De Lavalette JHC, Hermans J, Pels E, et al. Effect of donor cornea preservation in tissue culture and in McCarey-Kaufmann medium on corneal graft rejection and visual acuity. *Doc Ophthalmol* 1991; 78: 273-278.
- Moller-Pedersen (1994) T, Ladet T, Ehlers N. The keratocyte density of human donor corneas. *Curr Eye Res* 1994; 13: 163-169.
- Moller-Pedersen (1995) T, Ehlers N. A three-dimensional study of the human corneal keratocyte density. *Curr Eye Res* 1995; 4: 459-464.
- Moller-Pedersen (1996) T, Moller HJ. Viability of human corneal keratocytes during organ culture. *Acta Ophthalmol Scand* 1996; 74: 449-455.
- Moller-Pedersen (2001) T, Harman U, Moller HJ, Ehlers N, Engelmann K. Evaluation of potential organ culture media for eye banking using human donor corneas. *Br J Ophthalmol* 2001; 85: 1075-1079.
- Morand M, Mahardine M, Delbosc B, Morent P. Greffe de corne et implants suturés à la sclère ou de chambre antérieure. Étude comparative sur la survie du greffon et la perte cellulaire endothéliale. *J Fr Ophthalmol* 1996; 19: 349-355.
- Morris DJ, Claxton GM, Klapper PE, et al. Detection of herpes simplex virus DNA in donor cornea culture medium by polymerase chain reaction. *Br J Ophthalmol* 1996; 80: 624-627.
- Mueller FO, Casey TA, Trexler-Ropper PD. Use of deep-frozen human cornea in full thickness grafts. *Br Med J* 1964; 2: 423-425.
- Mullanev PB, Risco JM, Teschman K, Miller L. Congenital hereditary endothelial dystrophy associated with glaucoma. *Ophthalmology* 1995; 102: 186-192.
- Müller LJ, Pels E, Versman GJ. Density of keratocytes and collagen fibers in preserved human corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1988; 29: 5758.
- Müller MC, Jacobsen U, Michels G, Liedtke G, Reim M. Organ culture of pig cornea: biochemical analyses of mid-term-stored corneal tissue. *Ophthalmic Res* 1988; 20: 44-53.
- Murkhdar B, Hagihara M, Sato T, Tsuchida F, Shoyazaki J, Tsubota K, Tsuji K. HLA class II DNA typing using ocular tissue and its usefulness in corneal transplantation. *Transplant Proc* 1996; 28: 1257-1258.
- Murray (1999) M, Calenda E, Wan J, Proust N, Cardon A, Espherte L, Bausetu G. Peribulbar anaesthesia during keratoplasty: a prospective study of 100 cases. *Br J Ophthalmol* 1999; 83: 104-109.
- Murray (2003) M, Sanchez C, Wan L, Retouf A, Bausetu G. Long-term results of penetrating keratoplasty. A 10-year-plus retrospective study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2003; 241: 571-576.
- Murthy S, Bansal AK, Sridhar MS, Rao GN. Ipsilateral rotational autokeratoplasty: an alternative to penetrating keratoplasty in nonprogressive corneal scars. *Cornea* 2001; 20: 455-457.
- Musch DC, Meyer RF, Sugar A. Predictive factors for endothelial cell loss after penetrating keratoplasty. *Arch Ophthalmol* 1993; 111: 80-83.
- Naacke H, Borderie V, Touzannu O, Bourcier T, Scau Y, Laroche L. Perforation cornéenne marginale liée à l'herpes virus simplex chez un patient atteint de porphyrie. *J Fr Ophthalmol* 2000; 23: 699-702.
- Naacke HC, Borderie VM, Bourcier T, Touzannu O, Moldovan M, Laroche L. Outcome of corneal transplantation rejection. *Cornea* 2001; 20: 350-353.
- Narby IN, Cavasagh HD, Jester JV, Andrews P, Petrol WM. Characterization of specular dark events - in human donor corneal endothelium by scanning and transmission electron microscopy. *Cornea* 1988; 17: 544-9.
- Nash RW, Lindquist TD, Kalra RE. An evaluation of saline irrigation and comparison of povidone-iodine and antibiotic in the surface decontamination of donor eyes. *Arch Ophthalmol* 1993; 109: 869-872.
- Nelken E, Nelken D, Michaelson IC, Gurevich I. ABO antigens in human cornea. *Nature* 1956; 177: 840.
- Nelson LR, Hodge DO, Bourne WM. In vitro comparison of Chen medium and Optisol-GS medium for human corneal storage. *Cornea* 2000; 19: 782-787.
- Neubauer L, Laing RA, Leibowitz HM. Specular microscopic appearance of damaged and dead endothelial cells in corneas following short-term storage. *Arch Ophthalmol* 1984; 102: 438-444.
- Neubauer L, Smith RS, Leibowitz HM, Laing RA. Endothelial findings in cryopreserved corneal transplants. *Arch Ophthalmol* 1984; 16: 980-984.
- Neufeld MV, Steinmann TL, Merin LM, et al. Identification of a herpes simplex virus-induced dendrite in an eye-bank donor cornea. *Cornea* 1999; 18: 489-492.
- Nguyen NX, Langerbucher A, Seitz B, Kuchle M. Frequency and risk factors of intraocular pressure increase after penetrating keratoplasty. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 2000; 217: 77-81.
- Nicholls SM, Bradley BB, Easty DL. Effect of mismatches for major histocompatibility complex and minor antigens on corneal graft rejection. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1991; 32: 2729-2734.
- Niederkorz JY, Callanan D, Ross J. Prevention of the induction of allo-specific cytotoxic T lymphocytes and delayed-type hypersensitivity responses by ultraviolet irradiation of corneal allografts. *Transplantation* 1990; 50: 282-286.
- Niederkorz JY, Lang ES, Ross J, Mellon J, Robertson SM. Promotion of corneal allograft survival with leflunomide. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994; 35: 3783-3785.
- Nilius R, Redhrake C, Salla S, Reim M. Influence of preparation and storage on human corneal thickness. *Vis Res* 1995; 35: 5185.
- Nirankari VS, Keshav JW. Cystoid macular edema following penetrating keratoplasty: incidence and prognosis. *Ophthalmic Surg* 1986; 17: 404-407.
- Nishi M, Herbert CP, Matsubara M, et al. Effects of the immune suppressant FK506 on a penetrating keratoplasty rejection model in the rat. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1993; 34: 2477-2486.
- O'Day DM. Diseases potentially transmitted through corneal transplantation. *Ophthalmology* 1989; 96: 1133-1137.
- Ogguno N, Matsuda M, Kinoshita S. Effects of posterior chamber lens implantation on the endothelium of transplanted corneas. *Br J Ophthalmol* 1997; 81: 1056-1059.
- Olsen (1981a) T. Post-operative changes in the endothelial cell density of corneal grafts. *Acta Ophthalmol* 1981; 59: 863-870.
- Olsen (1981b) T. Post-operative changes in the endothelial cell density of corneal grafts. *Acta Ophthalmol* 1981; 59: 863-870.
- Olsen (1984) T, Ehlers N, Favini E. Long term results of corneal grafting in Fuchs' endothelial dystrophy. *Acta Ophthalmol* 1984; 62: 445-452.
- Olsen (1996) TW, Gothard TW, Holland RJ. Misoprostol with cyclosporin A prolongs corneal allograft survival in an animal model. *Cornea* 1996; 15: 76-81.
- Olsen RJ, Mattingly TP, Wathman SK, Kaufman HE. Refractive variation and donor tissue size in aphakic keratoplasty. *Arch Ophthalmol* 1979; 97: 1323-1325.
- Olsen RJ. Corneal curvature changes associated with penetrating keratoplasty: a mathematical model. *Ophthalmic Surg* 1980; 12: 838-842.
- Ozdemir D. A prospective study of histocompatibility testing for keratoplasty in high-risk patients. *Br J Ophthalmol* 1986; 70: 183-186.
- Panzel GJ, Taylor DM. Combined procedures. Long-term observations. In: Brightbill PS, ed. *Corneal surgery. Theory, technique and tissue*. Saint-Louis: Mosby Co, 1993: 177-183.
- Panda A, Kumar G, Basak SK, Mohan M, Gupta SK. The effects of corticosteroid and reduced glutathione on the endothelial viability during culture in MK medium: A light microscopy study. *Acta Ophthalmol* 1994; 72: 731-736.
- Pardos GJ, Ann Gallagher M. Microbial contamination of donor eyes. A retrospective study. *Arch Ophthalmol* 1982; 100: 1611-1613.
- Pautique I, Souadille GP, Offret G. Les greffes de la corne. Masson, Paris, 1948.
- Pavlopoulos GP, Horn J, Feldman ST. The effect of artificial tears on computer-assisted corneal topography in normal eyes and after penetrating keratoplasty. *Am J Ophthalmol* 1995; 119: 712-722.
- Pavani JA, Gordon LW, VanderZwaag R, Wood TO. Cataract formation following corneal transplantation in eyes with Fuchs' endothelial dystrophy. *Cornea* 1990; 9: 286-292.
- Pels (1983) E, Schuchard Y. Organ culture preservation of human corneas. *Doc Ophthalmol* 1983; 56: 147-153.
- Pels (1984) E, Van Der Gaag R, HLA-A, B, C and HLA-DR antigens and dendritic cells in fresh and organ culture preserved corneas. *Cornea* 1984; 3: 231-239.
- Pels (1985) E, Schuchard Y. The effects of high molecular weight dextran on the preservation of human corneas. *Cornea* 1985; 3: 219-227.

- Fels (1993) E, Schachard Y. Organ culture in the Netherlands. In: Brightbill FS, ed. Corneal surgery. Theory, technique and tissue. Saint-Louis: Mosby Co; 1993: 622-632.
- Fels (1997) L. Organ culture - the method of choice for preservation of human donor corneas. *Br J Ophthalmol* 1997; 81: 523-525.
- Fels (1999) E, Viersen GE. Microbial decontamination of human donor eyes with povidone-iodine: penetration, toxicity, and effectiveness. *Br J Ophthalmol* 1999; 83: 1019-1026.
- Pena-Carillo J, Polack FM. Histochemical changes in endothelium of corneas stored in moist chambers. *Arch Ophthalmol* 1984; 72: 811-816.
- Pepose JS, Gardner KM, Nestor MS, et al. Detection of HLA class I and II antigens in rejected human corneal allografts. *Ophthalmology* 1985; 92: 1480-1484.
- Pepose JS, Nestor MS, Gardner KM, Foss RY, Pettit TH. Composition of cellular infiltrates in rejected human corneal allografts. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1985; 222: 128-133.
- Perlman RM. An analysis and interpretation of refractive errors after penetrating keratoplasty. *Ophthalmology* 1981; 88: 39-45.
- Ferry (1987) HD, Dornesfeld ED, Kanelopoulos AJ, Grossman GA. Topical cyclosporin A in the management of postkeratoplasty glaucoma. *Cornea* 1997; 16: 284-288.
- Ferry (1998) HD, Dornesfeld ED, Achaampong A, Kanelopoulos AJ, Siorra PD, D'Avanzo G, et al. Topical Cyclosporin A in the management of postkeratoplasty glaucoma and corticosteroid-induced ocular hypertension (CIOH) and the penetration of topical 0.5% cyclosporin A into the cornea and anterior chamber. *CLAO J* 1998; 24: 159-165.
- Ferry (2002) HD, Doshi SJ, Dornesfeld ED, Bai GS. Topical cyclosporin A in the management of therapeutic keratoplasty for mycotic keratitis. *Cornea* 2002; 21: 161-163.
- Philipp W, Gottinger W. T8-positive Langerhans cells in diseased corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1993; 32: 2492-2497.
- Picetti B. Fine M. Keratoplasty in children. *Am J Ophthalmol* 1966; 61: 782-787.
- Pincus (1996a) O, Cohen EJ, Riquarzo CJ, Laibson PR. Long-term results after penetrating keratoplasty for Fuchs' endothelial dystrophy. *Arch Ophthalmol* 1996; 114: 15-18.
- Pincus (1996b) O, Cohen EJ, Riquarzo CJ, et al. Triple vs nonsimultaneous procedures in Fuchs' dystrophy and cataract. *Arch Ophthalmol* 1996; 114: 525-528.
- Piquot (1989) A, Delbosc B, Hervé P, Montard M, Royer J. Conservation à moyen terme des cornées humaines en milieu de culture enrichi à + 37 °C. *J Fr Ophthalmol* 1989; 12: 353-360.
- Piquot (1990) X, Delbosc B, Montard M, Bosc JM, Royer J. Kératoplasties transfixiantes et le système HLA d'histocompatibilité. *Bull Soc Ophthalmol Fr* 1990; 90: 615-618.
- Piquot (1993) X, Delbosc B, Bertrand T, Jeanroy A, Montard M, Hervé P. Vitrification de la corne humaine. Effets des cryoprotecteurs sur l'endothélium. *Ophthalmologie* 1993; 5: 102-106.
- Pitts JE, Jay JL. The association of Fuchs' corneal endothelial dystrophy with axial hypermetropia, shallow anterior chamber, and angle-closure glaucoma. *Br J Ophthalmol* 1980; 74: 601-604.
- Polack (1967) FM, Locatcher-Khorazo D, Gutierrez E. Bacteriologic study of donor eyes. Evaluation of antibacterial treatments prior to corneal grafting. *Arch Ophthalmol* 1967; 78: 219-225.
- Polack (1972) FM. Scanning electron microscopy of corneal graft rejection: epithelial rejection, endothelial rejection, and formation of posterior graft membranes. *Invest Ophthalmol* 1972; 11: 1-14.
- Polack (1985) FM. Keratoplasty and intraocular lenses. *Cornea* 1985; 4: 137-147.
- Polack (1988a) FM. Cryopreservation of corneas for penetrating keratoplasty. *Am J Ophthalmol* 1971; 71: 505-515.
- Polack (1988b) FM. Glaucoma in keratoplasty. *Cornea* 1988; 7: 67-70.
- Poole TG, Insler MS. Contamination of donor cornea by gentamicin-resistant organisms. *Am J Ophthalmol* 1984; 97: 560-564.
- Poon AC, Forbes JE, Dart JK, Subramaniam S, Barco C, Mathison P, et al. Systemic cyclosporin A in high risk penetrating keratoplasties: a case-control study. *Br J Ophthalmol* 2001; 85: 1464-1469.
- Pouliquen Y, Bellouet J, Lecoq P, Clay C. Kératoplastie transfixiante dans le traitement du kératocône. A propos de 60 cas. *Arch Ophthalmol (Paris)* 1972; 32: 733-744.
- Posey NR, Schein OD, Gieser SC, Tieloch JM, Luthra R, Javitt J, et al. Synthesis of the literature on visual acuity and complications following cataract extraction with intraocular lens implantation. *Cataract Patient Outcome Research Team Arch Ophthalmol* 1994; 112: 239-252.
- Prior (1990) FW, Whitson WE. Natural history of cystoid macular edema in pseudophakic bullous keratopathy. *J Cataract Refract Surg* 1990; 16: 163-169.
- Prior (1993) FW, Whitson WE, Collins RS, Marks RG. Five-year corneal graft survival. A large, single-center patient cohort. *Arch Ophthalmol* 1993; 111: 299-305.
- Prior (1995a) FW Jr, Harris SL. Bilateral penetrating autokeratoplasty. *J Refract Surg* 1995; 11: 494-496.
- Prior (1995b) FW, Grese RL, Marks RG, Gonzales JS. Astigmatism reduction clinical trial: a multicenter prospective evaluation of the predictability of arcuate keratotomy. *Arch Ophthalmol* 1995; 113: 277-282.
- Prior (1996a) FW, Grese B, Marks RG, Gonzales JS. Arcuate transverse keratotomy for astigmatism followed by subsequent radial or transverse keratotomy. *J Refract Surg* 1996; 12: 68-76.
- Prior (1996b) FW, Whitson WE, Johns S, Gonzales JS. Risk factors for corneal graft failure. *J Refract Surg* 1996; 12: 134-147.
- Prusoff JJ. Explosive hemorrhage. In: Brightbill FS. Corneal surgery. Theory, technique, and tissue. St Louis: Mosby-Year Book Inc; 1993: 221-224.
- Rao (1984) GN, Aquavella JV, Goldberg SH, Berk SL. Pseudophakic bullous keratopathy. Relationship to preoperative corneal endothelial status. *Ophthalmology* 1984; 91: 1135-1140.
- Rao (1985) GN, John T, Ishida N, Aquavella JV. Recovery of corneal sensitivity in grafts following penetrating keratoplasty. *Ophthalmology* 1985; 92: 1408-1411.
- Rao (2000) SK, Fogla R, Stalakshmi G, Padmanabhan P. Corneal autografting: a systematic approach. *Ophthalmic Surg Lasers* 2000; 31: 457-463.
- Rao (2001) VJ, Gnanaraj L, Mitchell KW, Figueiredo FC. Clinical comparison of ocular blood flow nonmeter, Tonopen, and Goldmann applanation tonometer for measuring intraocular pressure in postkeratoplasty eyes. *Cornea* 2001; 20: 834-838.
- Rasquin E, Demols P, Schroyen M, et al. Primary herpetic infection after transfixing keratoplasty. *Bull Soc Belge Ophthalmol* 1998; 268: 79-85.
- Rathu VM, Krishnamachary M, Gupta S. Cataract formation after penetrating keratoplasty. *J Cataract Refract Surg* 1997; 23: 562-564.
- Ray-Kell L, Chandler JW. Reduction in the incidence of rejection of heterotypic murine corneal transplants by pretreatment with ultraviolet radiation. *Transplantation* 1986; 42: 403-406.
- Redmond RM, Armitage WJ, Whittle J, Moss SJ, Easty DL. Long-term survival of endothelium following transplantation of corneas stored by organ culture. *Br J Ophthalmol* 1992; 76: 479-481.
- Rehany (1994) U, Wassman M. Suppression of corneal allograft rejection by systemic cyclosporin-A in heavily vascularized rabbit corneas following alkali burns. *Cornea* 1994; 13: 447-453.
- Rehany (1998) U, Rumlert S. Ocular trauma following penetrating keratoplasty: incidence, outcome, and postoperative recommendations. *Arch Ophthalmol* 1998; 116: 1282-1286.
- Reing CS, Speaker mg. Postkeratoplasty astigmatism. In: Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ, eds. *Cornea. Surgery of the cornea and corneal ectasia*. St Louis, Missouri: Mosby-Year Book Incorporated; 1997: 1675-1685.
- Reinhard (1996) T, Sundmacher R, Heering P. Systemic cyclosporin A in high-risk keratoplasties. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1996; 234: S115-S121.
- Reinhard (1997) T, Kallusarrn C, Capin A, Godehardt E, Sundmacher R. The influence of glaucoma history on graft survival after penetrating keratoplasty. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1997; 235: 553-557.
- Reinhard (1999) T, Möller M, Sundmacher R. Penetrating keratoplasty in patients with atopic dermatitis with and without cyclosporin A. *Cornea* 1999; 18: 645-651.
- Reinhard (2001a) T, Bohringer D, Sundmacher R. Accelerated chronic endothelial cell loss after penetrating keratoplasty in glaucoma eyes. *J Glaucoma* 2001; 10: 446-451.
- Reinhard (2001b) T, Reis A, Bohringer D, Malinowski M, Voiculescu A, Heering P, Godehardt E, Sundmacher R. Systemic mycophenolate mofetil in comparison with systemic cyclosporin A in high-risk keratoplasty patients: 3 years' results of a randomized prospective clinical trial. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2001; 239: 367-372.
- Reinhard (2002a) T, Becking A, Sundmacher R. Chronic endophthalmitis mimicking an endothelial immune reaction after penetrating keratoplasty. *J Cataract Refract Surg* 2002; 28: 1475-1477.
- Reinhard (2002b) T, Reis A, Mayweg S, Oberhuber H, Mathis G, Sundmacher R. Topical FK506 in inflammatory corneal and conjunctival diseases. A pilot study. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 2002; 219: 125-131.
- Reinhard (2002c) T, Sundmacher R. Adjuvant intracameral application of corticosteroids in patients with endothelial immune reactions after penetrating keratoplasty: a pilot study. *Transp Int* 2002; 15: 81-88.
- Reinhard (2003) T, Bohringer D, Enczmann J, Kogler G, Mayweg S, Wieret P, Sundmacher R. HLA class I and II matching improves prognosis in penetrating normal-risk keratoplasty. *Dev Ophthalmol* 2003; 36: 42-49.
- Reis (1998) A, Reinhard T, Sundmacher R, Braunstein S, Godehardt E. Effect of mycophenolate mofetil, cyclosporin A, and both in combination in a murine corneal graft rejection model. *Br J Ophthalmol* 1998; 82: 700-703.
- Reis (1999) A, Reinhard T, Voiculescu A, Kulkarni B, Godehardt E, Spehsberg H, Althaus C, Sundmacher R. Mycophenolate mofetil versus cyclosporin A in high risk keratoplasty patients: a prospectively randomized clinical trial. *Br J Ophthalmol* 1999; 83: 1268-1271.
- Reis (2001) A, Reinhard T, Voiculescu A, Mayer K, Sundmacher R. Highly active antiviral and immunosuppressive combination therapy with acyclovir and mycophenolate mofetil following keratoplasty in patients with herpetic eye disease. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 2001; 218: 183-186.
- Reiss GR, Campbell RJ, Bourne WM. Infectious crystalline keratopathy. *Surv Ophthalmol* 1986; 31: 69-72.
- Reinejer L, Doornsebal P, Geerds AJ, Rijneveld WA, Beekhuis WH. Newly acquired herpes simplex virus keratitis after penetrating keratoplasty. *Ophthalmology* 1997; 104: 648-652.
- Reinejer L, Maertzdorf I, Doornsebal P, et al. Herpes simplex virus 1 transmission through corneal transplantation. *Lancet* 2003; 357: 1442.
- Renard G, Fayet B, Hoang Xuan T. L'endothélium coréen humain dans le rejet de greffe. *Ophthalmologie* 1987; 2: 265-266.
- Reviland JP. Immunologie. DeBoeck Université, Bruxelles, 1994.
- Rich (1991a) SJ, Armitage WJ. Corneal tolerance of vitrifiable concentrations of propylene-1,2-diol. *Cryobiology* 1991; 28: 159-170.
- Rich (1991b) SJ, Armitage WJ. The potential of an aqueous combination of propylene-1,2-diol and glycerol as a vitrification solution for corneas. *Cryobiology* 1991; 28: 334-326.
- Rich (1992) SJ, Armitage WJ. Corneal tolerance of vitrifiable concentrations of glycerol. *Cryobiology* 1992; 29: 153-164.
- Richter A, Slowik C, Somodi S, Vick HJ, Guthoff R. Corneal reinnervation following penetrating keratoplasty: correlation of esthesiometry and confocal microscopy. *Ger J Ophthalmol* 1996; 5: 513-517.
- Rieck PW, Gagon M, Jasosewiski J, Pleyer U, Hartmann C. Increased endothelial survival of organ-cultured corneas stored in FGF2-supplemented serum-free medium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003; 44: 3826-3832.
- Rinsen K, Ehlers N, Lamm L. Post mortem HLA-DR typing of donor corneas using DNA-hybridization technique. *Acta Ophthalmol* 1987; 65: 430-432.
- Rijneveld (1992) WJ, Beekhuis WH, Van Rij G, Rikel Van Driel B, Teis E. Clinical comparison of grafts stored in Mc-Carey-Kaufman medium at 4 °C and in corneal organ culture at 31 °C. *Arch Ophthalmol* 1992; 110: 203-205.
- Rijneveld (1994) WJ, Beekhuis WH, Haasman EF, Delleraert MM, Geerds AJ. Iris claw lens: anterior and posterior iris surface fixation in the absence of capsular support during penetrating keratoplasty. *J Refract Corneal Surg* 1994; 10: 14-19.
- Robert (1997) PY, Delbosc B, Pireux PM, et al. Traitement par cyclosporine A à doses faibles dans les kératoplasties transfixiantes à haut risque. Étude bicentrique de 90 cas. *J Fr Ophthalmol* 1997; 20: 507-514.
- Robert (2000) PY, Aderus JP, Cognre M, et al. Circulating antibodies to human and bovine cornea in human keratoplasty. *Eur J Ophthalmol* 2000; 10: 132-136.
- Robin JB, Girard JJ, Koh K, Scharztein EJ, Rao NA, York KK, Smith RE. An update of the indications for penetrating keratoplasty, 1979 through 1983. *Arch Ophthalmol* 1986; 104: 87-89.
- Rodrigues MM, Rowden G, Hackett J, et al. Langerhans cells in the normal conjunctiva and peripheral cornea of selected species. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1981; 21: 759-765.
- Roelen DE, Van Beelen E, Van Bree SF, Van Rood H, Vliker-Dieben HJ, Claas FH. The presence of activated donor HLA class I-reactive T lymphocytes is associated with rejection of corneal grafts. *Transplantation* 1995; 59: 1039-1042.

Les greffes en ophtalmologie

- Randau N, Bourcier T, Chaurand C, Bordenave V, Touzeau O, Saut Y, et al. Les kératocystes au Centre Hospitalier National d'Ophtalmologie des Quinze-Vingts. Étude rétrospective, à propos de dix-neuf cas. *J Fr Ophtalmol* 2002; 25: 890-896.
- Ross J, Callanan D, Kaur H, Niederkorn JY. Evidence that the fate of class II-disparate corneal grafts is determined by the timing of class II expression. *Transplantation* 1993; 51: 532-536.
- Ross J, He YG, Pidherney M, Mellon I, Niederkorn JY. The differential effects of donor versus host Langerhans cells in the rejection of MHC-matched corneal allografts. *Transplantation* 1991; 52: 857-861.
- Rothfus WM. Infections. In: Brightbill FS, ed. Corneal surgery. Theory, technique and tissue. Saint-Louis: Mosby Co; 1986: 222-235.
- Roy J, Bousquet R, Boissoly HM, Wagner E, Langlois A, Bernard PM, Bazin R, et al. Pretransplant and posttransplant antibodies in human corneal transplantation. *Transplantation* 1992; 54: 463-467.
- Roy J, Des Marchais B, Bazin R, Boissoly H, Dubé L, Langlois PA. Role of ABO and Lewis blood group antigens in donor-recipient compatibility of corneal transplantation rejection. *Ophthalmology* 1997; 104: 508-512.
- Roy R (2001). Bazin R, Boissoly HM, Langlois PA, Dube L. Reversing the benefits of HLA matching on corneal graft outcome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42: 5469.
- Rubens M, Lotebnosk E. Keratoplasty sensitivity. *Br J Ophthalmol* 1979; 63: 265-267.
- Rubenstein IT, McCulley J, Bergmanson PR, Streilen JW. On the in immunogenicity of mouse corneal allografts infiltrated with Langerhans cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1984; 25: 513-518.
- Ruz JM, Medrano M, Alo JL. An improved method of vital staining of the corneal endothelium. *Ophthalmic Res* 1991; 23: 27-30.
- Rutuvaava (1980) P. The fate of preserved and transplanted human corneal endothelium. *Acta Ophthalmol* 1980; 58: 440-453.
- Rutuvaava (1987) P, Setälä K. The triple procedure: Penetrating keratoplasty, extracapsular cataract extraction and posterior chamber lens implantation. A clinical and specular microscopic study. *Acta Ophthalmol* 1987; 65: 433-443.
- Rutuvaava (1988) P, Setälä K. Corneal graft endothelial cell densities after preservation in M-K, K-SOL and MEM tissue culture media. *Acta Ophthalmol* 1988; 66: 327-333.
- Sabros SS, Basu PK. A and B antigens in human avascular tissues: Cornea, lens and vitreous. *Am J Ophthalmol* 1963; 56: 229-232.
- Saito JS, Mihai S, Jain AK. Evaluation of endothelial function in postkeratoplasty eyes. *Ophthalmic Surg Lasers* 1998; 29: 300-304.
- Sajadi H, Javadi MA, Hemmati R, Mirdelghan A, Farvin M, Nassiri N. Results of penetrating keratoplasty inCHED. Congenital hereditary endothelial dystrophy. *Cornea* 1999; 14: 18-25.
- Salabert D, Robinet A, Colin J. Kératopathie cristalline infectieuse survenue après keratoplastie transvasculaire. *J Fr Ophtalmol* 1994; 17: 355-357.
- Salamo N, Viel JP, Arveux P, Delbos C. Corneal transfection through corneal transplantation. *Cornea* 2001; 20: 660-662.
- Salsbury (1981) JD, Gebhardt BM. Blood group antigens on human corneal cells demonstrated by immunoperoxidase staining. *Am J Ophthalmol* 1981; 91: 46-50.
- Salsbury (1984) JD, Berkowitz RA, Gebhardt BM, et al. Herpesvirus infection of corneal allografts. *Ophthalmic Surg* 1984; 15: 406-408.
- Salla S, Redbrake C, Becker J, Reim M. Remarks on the vitality of the human cornea after organ culture. *Cornea* 1995; 14: 502-508.
- Salla S, Redbrake C, Trepele-Kotek S, Becker J, Reim M. Changes in keratocyte density of the human cornea during organ culture. *Vis Res* 1995; 35(suppl): 5186.
- Salz J, Azar ST, Bernstein J, Caroline P, Villaseñor RA, Schanzlin DJ. Evaluation and comparison of sources of variability in the measurement of corneal thickness with ultrasonic and optical pachymeters. *Ophthalmic Surg* 1983; 14: 750-754.
- Samples JR, Baumgartner SD, Blinder PS. Infectious crystalline keratopathy: An electron microscope analysis. *Cornea* 1985; 4: 118-126.
- Samples JR, Bando PS. Visual acuity, refractive error, and astigmatism following corneal transplantation for pseudophakic bullous keratopathy. *Ophthalmology* 1985; 92: 1554-1560.
- Sanchez Perez A, Bueno Lozano J, Brito Suarez C, Fernandez Tirado FJ, Melcon Sanchez-Jnera B, Paezoy Sotias M, et al. Study of infectious keratitis in corneal graft. *Arch Soc Esp Ophthalmol* 2000; 73: 659-663.
- Sanchez Urdarbol L, Rams KP, Gores GJ, Moore SD, Sternoff S, Wiesner RH, Klein RA. Increased bile duct complications in liver transplantation across the ABO barrier. *Ann Surg* 1993; 218: 152-158.
- Sandiligo F, MacQueen JM, Vaughn WK, Foulik GN. Reduced graft rejection with good HLA-A and B matching in high-risk corneal transplantation. *N Engl J Med* 1986; 315: 29-35.
- Santord DC, Klesges LM, Wood TD. Simultaneous penetrating keratoplasty, extracapsular cataract extraction, and intraocular lens implantation. *J Cataract Refract Surg* 1991; 17: 824-829.
- Sano Y, Kaander BR, Streilen JW. Minor H, rather than MHC, alloantigens offer the greater barrier to successful orthotopic corneal transplantation in mice. *Transplant Immunology* 1996; 4: 53-56.
- Sano Y, Ohawa H, Sotomoto C, Kishimoto S. Cytokine expression during corneal allograft rejection in mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997; 38: 58.
- Sarno RM, Bechara SJ, Goldbaum M, Yanaguchi T, Sueyoshi N. Excimer laser PRK after penetrating keratoplasty: clinical and histopathologic correlations. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998; 39: 5354.
- Saragoussi JJ, Abernath A, Pouliguan Y. Résultats des tréctions transverses dans la correction chirurgicale des forts astigmatismes post-keratoplastie. *J Fr Ophtalmol* 1990; 13: 492-499.
- Saragoussi JJ, Abernath A, Wakod N, et al. Results of transverse keratomies for astigmatism after penetrating keratoplasty: a retrospective study of 48 consecutive cases. *Refract Corneal Surg* 1992; 8: 33-38.
- Sarraf H, Offret H, Binaghi M. A propos du syndrome d'Urbeta-Zavalis syndrome. *Bull Soc Ophthalmol Fr* 1978; 78: 579-584.
- Sawada T, Kuroda W, Kimura T, Suga H, Ohie A, Yamashita S, Ohara T. Long-term follow-up of primary anterior chamber intraocular lens implantation. *J Cataract Refract Surg* 1998; 24: 1515-1520.
- Sayegh (1982) FN. Critical evaluation of corneal graft surgery using fresh corneas and corneo-preserved in M-K-medium. *Ophthalmologica* 1982; 184: 131-138.
- Sayegh (1988) F, Ethies N, Farah I. Evaluation of keratoplasty in cases of post-inflammatory corneal opacity with vascularization. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1988; 66: 404-406.
- Schaeffer EM. Ultrastructural changes in moist chamber corneas. *Invest Ophthalmol* 1963; 2: 272-282.
- Scheer S, Bordenave V, Touzeau O, Allouch C, Laroche L. Effet du hyaluronate de sodium appliqué en fin de keratoplastie transvasculaire sur la réépithélialisation du greffon. *J Fr Ophtalmol* 1999; 22: 859-863.
- Scheer S, Touzeau O, Bordenave V, Laroche L. L'immunosuppression dans la greffe de cornée. *J Fr Ophtalmol* 2003; 26: 637-647.
- Schein (1989) OD, Miller JW, Wagner MD. Panophthalmitis after penetrating keratoplasty. *Arch Ophthalmol* 1989; 107: 71.
- Schein (1993) OD, Kenyon KR, Steiner RE, Vedler DD, Waring GO 3rd, Stamler JE, Seabrook S, Vitale S. A randomized trial of intraocular lens fixation techniques with penetrating keratoplasty. *Ophthalmology* 1993; 100: 1437-1443.
- Schultz RD, Matsuda M, Ise RW, Glasser DB, Sabra SM, Edelhauser HF. Long-term survival of cryopreserved corneal endothelium. *Ophthalmology* 1985; 92: 1663-1667.
- Schwab JR, Dries D, Cullor J, Smith W, Mannis M, Reid T, Murphy CJ. Corneal storage medium preservation with debrisors. *Cornea* 1992; 11: 370-375.
- Seitz (1999) B, Langenbacher A, Kus MM, Kuchle M, Naumann GO. Nonmechanical corneal reepithelation with the excimer laser improves outcome after penetrating keratoplasty. *Ophthalmology* 1999; 106: 3176-64.
- Seitz (2001) B, Langenbacher A, Nguyen NX, Kus MM, Kuchle M, Naumann GO. Graft endothelium and thickness after penetrating keratoplasty, comparing mechanical and excimer laser reepithelation: a prospective randomized study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2001; 39: 12-17.
- Seitz (2002) B, Langenbacher A, Nguyen NX, Kuchle M, Naumann GO. Long-term follow-up of intraocular pressure after penetrating keratoplasty for keratoconus and Fuchs' dystrophy: comparison of mechanical and Excimer laser reepithelation. *Cornea* 2002; 21: 368-73.
- Seikundo W, Lee WR, Aukun IDA, Kirkanen CM. Multisurfacement of corneal posterior polymorphous dystrophy. An ultrastructural study. *Cornea* 1994; 13: 509-513.
- Serdarovic ON, Renaud GL, Pouliquen YP. Videokeratostomy of recipient peripheral cornea in combined penetrating keratoplasty, cataract extraction, and lens implantation. *Am J Ophthalmol* 1996; 122: 29-37.
- Seto SK, Chandler JW. Lack of T6 induction on human corneal Langerhans cells in vivo. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1990; 31: 302-306.
- Seto SK, Gillette TE, Chandler JW. HLA-DR+/TA- Langerhans cells of the human cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1987; 28: 1719-1722.
- Shah P, Lee CA, Kirwan JK, Barice C, Bivott PA, Ficker LA, Khaw PT. Cyclosporin photocoagulation for refractory glaucoma after penetrating keratoplasty. *Ophthalmology* 2001; 108: 1986-1991.
- Shapiro MR, Mandel MR, Krachmer JH. Rejection: clinical forms, diagnosis, and treatment. In: Brightbill FS. Corneal surgery. Theory, technique, and tissue. Mosby, St-Louis, 1993: 254-260.
- Sharif KW, Casey TA. Penetrating keratoplasty for keratoconus: complication and long-term success. *Br J Ophthalmol* 1991; 75: 142-146.
- Sharma N, Vajpayee RB, Pushkar N, Vajpayee M. Infectious crystalline keratopathy. *CLAO J* 2000; 26: 43-43.
- Sherrard ES. Characterization of changes observed in the corneal endothelium with the specular microscope. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1978; 17: 322-326.
- Shimazaki (1993) J, Yamada M, Tsubota K. Corneal transplantation with donor corneas stored in moist chamber and chondroitin sulfate-containing medium. *Cornea* 1993; 12: 104-108.
- Shimazaki (1997) J, Tsubota K. Analysis of videokeratography after penetrating keratoplasty: topographic characteristics and effects of removing running sutures. *Ophthalmology* 1997; 104: 2077-2084.
- Shimizu S, Ohashi Y, Shimizu H, Shimazaki J, Tsubota K. Corneal opacity and cataract: triple procedure vs secondary approach. *Cornea* 2003; 22: 234-238.
- Sidoti PA, Mosny AY, Rittenband DC, Sessler JA. Pars plana tube insertion of glaucoma drainage implants and penetrating keratoplasty in patients with coexisting glaucoma and corneal disease. *Ophthalmology* 2001; 108: 1070-1078.
- Sigano CS, Solomon A, Frucht-Pery J. Microbial findings in suture erosion after penetrating keratoplasty. *Ophthalmology* 1997; 104: 513-516.
- Sigano DS, Telemis H, Papatzanaki ME, Tsilimbiris MK, Paliokaris IG. Achromobacter xylosoxidans keratitis following penetrating keratoplasty. *Refract Corneal Surg* 1992; 8: 71-73.
- Shota R, Sharma N, Tarda A, Aggarwal HC, Singh R. Post-penetrating keratoplasty glaucoma: risk factors, management and visual outcome. *Asian J Ophthalmol* 1998; 26: 305-309.
- Sirirongs RB, Stern RA, Teekhasaene C, Kenyon KR. Elevated intraocular pressure following penetrating keratoplasty. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1999; 87: 79-91.
- Simon JC, Tigelaar RE, Bergmanson PR, Edelbaum D, Cruz P. Ultraviolet B radiation converts Langerhans cells from immunogenic to tolerogenic antigen-presenting cells. *J Immunol* 1991; 146: 485-491.
- Singh Daa H, Shidham VR. Application of specific red blood cell adherence test to the human cornea and conjunctiva. *Am J Ophthalmol* 1979; 88: 1067-1077.
- Skutovich S, Karpov A, Nalut N, Skutovich B. Treatment of corneal transplant rejection in humans with anti-interferon gamma antibodies. *Am J Ophthalmol* 2002; 133: 829-830.
- Slack JW, Kargis TA, Edelhauser HF, Gerson DH, McDermott ML. Comparison of corneal preservation media for corneal hydration and stromal proteoglycan loss. *Cornea* 1992; 11: 204-210.
- Sloper CM, Powell RJ, Dua HS. Tacrolimus (FK506) in the management of high-risk corneal and lenticular grafts. *Ophthalmology* 2001; 108: 1838-1844.
- Smady WR, Stark WJ, Young E, Klein PE, Blas W, Marmor EA. Clinical and immunological results of corneal allograft rejection. *Ophthalmic Surg* 1986; 17: 648-649.
- Sonoda Y, Sano Y, Kaander B, Streilen JW. Characterization of cell-mediated immune responses elicited by orthotopic corneal allografts in mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995; 36: 427-434.
- Spadua L, Ciarullo F, Bianco G, Balentraczo E. Long-term results of penetrating keratoplasty using a single or double running suture technique. *Graves Arch Clin Exp Ophthalmol* 2002; 240: 415-9.
- Sperling (1974) S. Corneal cryopreservation evaluated by trypan blue staining. *Ophthalmol* 1974; 8: 23-25.
- Sperling (1977) S. Combined staining of corneal endothelium by alizarin red and trypan blue. *Acta Ophthalmol* 1977; 55: 573-580.
- Sperling (1978) S. Early morphological changes in organ-cultured human corneal endothelium. *Acta Ophthalmol* 1978; 56: 785-792.

- Sperling (1979) S. Human corneal endothelium in organ culture. The influence of temperature and medium of incubation. *Acta Ophthalmol* 1979; 57: 269-276.
- Sperling (1981a) S, Olsen T, Ehlers N. Fresh and cultured corneal grafts compared by post-operative thickness and endothelial cell density. *Acta Ophthalmol* 1981; 59: 566-575.
- Sperling (1981b) S, Sorenson HG. Decontamination of cadaver corneas. *Acta Ophthalmol* 1981; 59: 126-133.
- Sperling (1982) S. A simple apparatus for controlled rate corneal freezing. *Acta Ophthalmol* 1982; 60: 134-141.
- Sperling (1983) S. Cryopreservation of human cadaver corneas regenerated at 31 °C in a modified tissue culture medium. *Acta Ophthalmol* 1983; 61: 142-148.
- Sperling (1986) S. Evaluation of the endothelium of human donor corneas by induced dilation of intercellular spaces and trypan blue. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1986; 224: 428-434.
- Sridhar MS, Muehly S, Bousé AK, Rao GN. Corneal triple procedure - indications, complications, and outcomes: a developing country scenario. *Cornea* 2000; 19: 333-335.
- Stamer GA, Brightbill FS, Calkins B. A comparison of corneal storage in moist chamber and McCarey-Kaufman medium in human keratoplasty. *Ophthalmology* 1981; 88: 46-49.
- Stam BM, Bourne WM, Campbell RJ. Chondroitin sulfate for corneal preservation at 4 °C. Evaluation by electron microscopy. *Arch Ophthalmol* 1986; 104: 1336-1361.
- Steinmann TL, Kaufman HE, Beerman RW, Varneil ED, Thompson HW, Aldridge KE. Viscosity-restricted corneal storage medium. *Am J Ophthalmol* 1992; 113: 555-560.
- Stein GA. Infectious crystalline keratopathy. *Int Ophthalmol Clin* 1993; 33: 1-7.
- Sweden JW. Ocular immune privilege and the Fas-Fas ligand system. The procorin lecture. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996; 37: 1940-1950.
- Stuart PM, Griffiths TS, Ueda N, Pepose J, Yu K, Ferguson TA. CD95 ligand (FasL)-induced apoptosis is necessary for corneal allograft survival. *J Clin Invest* 1997; 99: 396-402.
- Sugar A, Bekosky JE, Meyer R. A randomized trial of topical corticosteroids in epithelial healing after keratoplasty. *Cornea* 1984; 3: 266-271.
- Sugar A, Meyer RF, Heulemans D, Kaplan S, Berka T, Maguire K, Mantony C. Specular microscope follow-up of corneal grafts for pseudophakic bullous keratopathy. *Ophthalmology* 1985; 92: 325-330.
- Sugar A. An analysis of corneal endothelial and graft survival in pseudophakic bullous keratopathy. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1989; 87: 762-801.
- Sugar J, Kirk AK. Retarding keratoma for post-keratoplasty astigmatism. *Ophthalmic Surg* 1983; 14: 136-138.
- Ständischer R, Reinhard T, Heering P. Six years' experience with systemic cyclosporine A prophylaxis in high-risk perforating keratoplasty patients. *German J Ophthalmol* 1992; 1: 432-436.
- Ständischer R. Adequate HLA matching in keratoplasty. *Karger*, 2003.
- Szirmai P, Portnoy D, Rolin P, Laprise C, Laprise C, Chaouat-Berlich A. Prevention of inter-human rabies transmission after corneal graft. *C R Reunions Acad Sci III* 1981; 293: 689-692.
- Surphin B, Pfister MA, Hollis RJ, Wagoner MD. Donor-to-host transmission of *Candida albicans* after corneal transplantation. *Am J Ophthalmol* 2002; 134: 120-121.
- Swinger CA, Kromschi EW, York S, Forman JS. Corneal mold to measure normal corneal dimensions. *Ophthalmic Surg* 1986; 17: 44-46.
- Tambunan FF, Cohen EJ, Nguyen LH, Rappano C, Laidson FR. Oral acyclovir after penetrating keratoplasty for herpes simplex keratitis. *Arch Ophthalmol* 1999; 117: 445-449.
- Tavakkoli H, Sugar J. Microbial keratitis following penetrating keratoplasty. *Ophthalmic Surg* 1994; 25: 336-340.
- Taylor (1981) ML, Hart CT. Dual staining of corneal endothelium with trypan blue and alizarin red S: importance of pH for the dye-lake reaction. *Br J Ophthalmol* 1981; 65: 835-839.
- Taylor (1986) MJ. Clinical cryobiology of tissues: preservation of corneas. *Cryobiology* 1986; 23: 323-352.
- Taylor (1989) MJ, Hunt C. Tolerance of corneas to multistep dimethyl sulfoxide at 0 °C. Implications for cryopreservation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1989; 30: 400-412.
- Taylor DM, Khaliq R, Maxwell R. Keratoplasty and intracocular lenses: current status. *Ophthalmology* 1979; 86: 242-254.
- Theekfeldt AB, Shields MB. Noncontact transscleral Nd: YAG cyclophotocoagulation for glaucoma after penetrating keratoplasty. *Am J Ophthalmol* 1995; 120: 568-576.
- Thuret (2003a) G, Chiquet C, Bernal F, et al. Prospective, randomized clinical and endothelial evaluation of 2 storage times for cornea donor tissue in organ culture at 31 degrees C. *Arch Ophthalmol* 2003; 121: 442-450.
- Thuret (2003b) G, Chiquet C, Herrag S, et al. Mechanisms of staurosporine induced apoptosis in a human corneal endothelial cell line. *Br J Ophthalmol* 2003; 87: 346-352.
- Tsaur J, Boucier T, Borderie V, Laroche L. Kératites infectieuses après kératoplastie transfixiante. *J Fr Ophtalmol* 2001; 24: 997-1002.
- Toma H. ABO-incompatible renal transplantation. *Urol Clin North Am* 1994; 21: 299-310.
- Touzeau (1997) O, Borderie V, Carvajal-Gonzalez S, Vidie F, Laroche L. Astigmatisme après kératoplastie transfixiante. Analyse vidéo-kératoscopique sur une série de 60 greffes. *J Fr Ophtalmol* 1997; 20: 680-688.
- Touzeau (1998a) O, Borderie V, Chastang P, Scher S, Allouch C, Laroche L. Comparaison des algorithmes du vidéokératopie Eyefix pour l'évaluation de l'astigmatisme isopérial et post-chirurgical. *J Fr Ophtalmol* 1998; 22: 936-942.
- Touzeau (1998b) O, Borderie V, Kazavi S, Warner JM, Laroche L. Utilisation topique de cyclosporine dans une kératoplastie microstalline à streptocoque. *J Fr Ophtalmol* 1998; 22: 662-665.
- Touzeau (1999) O, Borderie VM, Allouch C, Scher S, Laroche L. Effects of penetrating keratoplasty stave removal on corneal topography and refraction. *Cornea* 1999; 18: 636-644.
- Touzeau (1999b) O, Borderie VM, Laroche L. Carcinoma of the corneal scleral limbus in a patient treated with systemic cyclosporin after heart transplantation. *N Engl J Med* 1999; 341: 374-375.
- Touzeau (2001a) O, Allouch C, Borderie V, Chastang P, Ameline B, Laroche L. Précision et fiabilité de la psychométrie mesurée par une fibre lumineuse. *J Fr Ophtalmol* 2001; 24: 912-923.
- Touzeau (2001b) O, Borderie V, Lanson K, Scher S, Allouch C, Chastang P, Laroche L. Corrélation entre la réfraction et la topographie cornéenne dans les astigmatismes isopérial et post-chirurgicaux. *J Fr Ophtalmol* 2001; 24: 329-338.
- Touzeau (2001c) O, Scher S, Borderie V, Allouch C, Boucier T, Moldovan M, Laroche L. Modifications attractives et topographiques induites par l'ablation des sutures des kératoplasties transfixiantes. *J Fr Ophtalmol* 2001; 24: 692-703.
- Touzeau (2003a) O, Allouch C, Borderie V, Boucier T, Scher S, Laroche L. Variations réfractives et topographiques à long terme des kératoplasties transfixiantes. *J Fr Ophtalmol* 2003; 26: 465-469.
- Touzeau (2003b) O, Allouch C, Borderie V, Laroche L. Corrélation entre la réfraction et la biométrie oculaire. *J Fr Ophtalmol* 2003; 26: 355-363.
- Treseiler (1984) PA, Foulks GN, Sanfilippo FF. The expression of HLA antigens by cells in the human cornea. *Am J Ophthalmol* 1984; 98: 763-772.
- Treseiler (1985) PA, Sanfilippo F. Humoral immunity to heterotopic corneal allografts in the rat. *Transplantation* 1985; 39: 193-196.
- Treseiler (1986) PA, Foulks GN, Sanfilippo F. Expression of ABO blood group, hemato-poietic, and other cell-specific antigens by cells in the human cornea. *Cornea* 1986; 4: 157-168.
- Tripathi BI, Tripathi RC, Wong P, et al. Expression of HLA by the human trabecular meshwork and corneal endothelium. *Exp Eye Res* 1990; 51: 269-276.
- Trounman (1979) RC. Astigmatism considerations in corneal grafting. *Ophthalmic Surg* 1979; 10: 21-26.
- Trounman (1980a) RC, Gaster RN. Surgical advances and results of keratocornia. *Ophthalmic Surg* 1980; 10: 131-136.
- Trounman (1980b) RC, Swager CS. Relaxing incision for control of postoperative astigmatism following keratoplasty. *Ophthalmic Surg* 1980; 11: 117-120.
- Trounman (1982) RC. Improved techniques in refractive surgery in astigmatism. *Cornea* 1982; 1: 57.
- Tseng SH, Ling KC. Late microbial keratitis after corneal transplantation. *Cornea* 1985; 14: 591-594.
- Tsuhota K, Mashima Y, Murata H, Yamada M, Ito N. Corneal epithelium following penetrating keratoplasty. *Br J Ophthalmol* 1995; 79: 257-260.
- Tuberville AW, Wood TO. Corneal ulcers in corneal transplants. *Curr Eye Res* 1981; 1: 479-485.
- Tuft (1992) SJ, Fritke JW, Buckley RJ. Myopia following penetrating keratoplasty for keratocornia. *Br J Ophthalmol* 1992; 76: 642-645.
- Tuft (1995) SJ, Buckley RJ. Iris neovascularization following penetrating keratoplasty for keratocornia (Ureth-Zavala syndrome). *Cornea* 1995; 14: 618-622.
- Tullo AR, Marczynski B, Boushek R, et al. Herpes virus in donor cornea. *Eye* 1990; 4: 766-767.
- Tuuminen TH, Ruusuvaara PJ, Uusitalo RJ, Tervo TM. Photostigmatic keratectomy for correction of astigmatism in corneal grafts. *Cornea* 1997; 16: 48-53.
- Ureth-Zavala A. Fixed dilated pupil, iris atrophy and secondary glaucoma. A distinct clinical entity following penetrating keratoplasty in keratocornia. *Am J Ophthalmol* 1963; 53: 257-265.
- Ureth-Zavala A. Management of keratoplasty in the early stages. *Br J Ophthalmol* 1977; 61: 89-91.
- Valdes B, Dufas M, Stork L, Pechereau A. Facteurs non immunologiques d'échec des kératoplasties perforantes. Etude prospective de 119 greffes de cornées au CHU de Nantes sur l'année 1995. *J Fr Ophtalmol* 1998; 22: 33-38.
- Vail (1994) A, Gere SM, Bradley BA, Easty DL, Rogers CA, Armitage WJ. Influence of donor and histocompatibility factors on corneal graft outcome. *Transplantation* 1994; 58: 1210-1217.
- Vail (1996) A, Gere SM, Bradley BA, Easty DL, Rogers CA, Armitage WJ. Clinical and surgical factors influencing corneal graft survival, visual acuity, and astigmatism. *Ophthalmology* 1996; 103: 41-49.
- Vajpayee (2001) RB, Sharma V, Sharma N, Parda A, Taylor HR. Evaluation of techniques of single continuous suturing in penetrating keratoplasty. *Br J Ophthalmol* 2001; 85: 134-138.
- Vajpayee (2002) RB, Bora SK, Dada T, Muehly GV, Parsley RM, Satpathy G. Risk factors for graft infection in India: a case-control study. *Br J Ophthalmol* 2002; 86: 261-265.
- Valladao AI, Lopez MI, Calonge M, Sanchez A, Alonso MJ. Efficacy and safety of micropheres of cyclosporin A, a new systemic formulation, to prevent corneal graft rejection in rats. *Curr Eye Res* 2002; 24: 39-45.
- Van der Schell TL, van Rij G, Bernard de Lavallée JC, Beekhuis WH. Results of penetrating keratoplasty for pseudophakic bullous keratopathy with the exchange of an intracocular lens. *Br J Ophthalmol* 1989; 73: 704-708.
- Van Der West HB, Polo E, Schuchard Y, Olsen R, Sperling S. Electron microscopy of cultured human corneas: osmotic hydration and the use of a Dextran fraction (Dextran T500) in organ culture. *Arch Ophthalmol* 1983; 101: 1920-1926.
- Van der West HJ, Kok-van Alphen CC, Vriens G, Walker-Dilben HJ. Rejected human corneal grafts. II. Light and electron microscopic study. *Doc Ophthalmol* 1981; 50: 343-356.
- Van Hens (1970) DL, Hanna C, Schultz RO. Corneal cryopreservation. II. Ultrastructural and viability changes. *Arch Ophthalmol* 1970; 84: 655-667.
- Van Hens (1974) DL, Schultz RO. Endothelial survival in cryopreserved human corneas - a scanning electron microscopic study. *Invest Ophthalmol* 1974; 13: 7-16.
- Van Horn (1975) E, Doughman DJ, Harris JE, Miller GE, Lindstrom R, Good RA. The ultrastructure of human organ-cultured cornea - stroma and epithelium. *Arch Ophthalmol* 1975; 93: 275-277.
- Van Meter WS, Allen RC, Waring GO 3rd, Stulting RD. Laser trabeculoplasty for glaucoma in aphakic and pseudophakic eyes after penetrating keratoplasty. *Arch Ophthalmol* 1988; 106: 185-188.
- Van Rensburg PD, Kaber DM, Laidson FR, Eagle RC Jr. Management of primary corneal graft failure. *Cornea* 1998; 17: 208-211.
- Van Rooij J, Rijneveld WJ, Borneisje L, et al. Effect of oral acyclovir after penetrating keratoplasty for herpetic keratitis: a placebo-controlled multicenter trial. *Ophthalmology* 2003; 110: 1916-1919.
- Vannas A, Holten BA, Sweeney DE. Epithelial metabolism of the corneal graft is abnormal. *Br J Ophthalmol* 1987; 71: 993-997.
- Varratzen J, Gebos K, Müssaen L, et al. Lymphocytes and Langerhans cells in the normal human cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1985; 26: 220.
- Verna N, Mieling S, Garip JA. Ipsilateral rotational autokeratoplasty for the management of corneal ectasia. *Aust N Z J Ophthalmol* 1999; 27: 21-25.
- Walker-Dilben (1982a) HJ, Kok-van Alphen CC, Landsbergen Q, Ponsje GC. Different influences on corneal graft survival in 539 transplants. *Acta Ophthalmol* 1982; 60: 190-202.

Hidden page

Chapitre 3

Kératoplasties lamellaires à but optique : les alternatives à la kératoplastie transfixiante

Kératoplastie lamellaire profonde

Kératoplastie lamellaire automatisée

Kératoplastie lamellaire postérieure

1. Kératoplastie lamellaire profonde

La kératoplastie lamellaire est une technique ancienne qui est restée confidentielle à cause de ses résultats qui sont inférieurs à ceux de la kératoplastie transfixiante. Les principaux effets adverses de la kératoplastie lamellaire classique sont l'opacification de l'interface donneur-receveur et l'astigmatisme irrégulier, sources de limitation de l'acuité visuelle. Ces effets peuvent être diminués si l'on réalise une dissection profonde prédescémétique. Ce principe a guidé le développement de la kératoplastie lamellaire profonde qui devient une alternative à la kératoplastie transfixiante dans les situations cliniques où l'endothélium du receveur est normal.

1.1. Indications opératoires

La kératoplastie lamellaire profonde peut être utilisée pour traiter des anomalies de transparence ou de courbure cornéenne avec un endothélium et une membrane de Descemet normaux. Cette situation clinique se rencontre au cours du kératocône, des séquelles de kératite infectieuse, des dystrophies cornéennes héréditaires stromales (dystrophie granulaire, dystrophie maculaire, dystrophie grillagée, dystrophie d'Avellino, dystrophie de Turpin, dystrophie cristalline, etc.) et des brûlures et plaies superficielles de la cornée. Néanmoins, il faut savoir qu'une cornea guttata peut être associée au kératocône et à la dystrophie maculaire, ce qui constitue une contre-indication à la kératoplastie lamellaire profonde. De même, une brûlure ou une plaie cornéenne peuvent entraîner une perte cellulaire endothéliale. La densité endothéliale préopératoire doit être vérifiée en microscopie spéculaire ou bien à la lampe à fente au grossissement 40 en fente moyenne, permettant une réflexion spéculaire sur l'endothélium et ainsi une évaluation de la richesse cellulaire endothéliale. L'absence de cornea guttata est vérifiée de la même manière.

1.2. Le greffon

Le greffon utilisé pour une kératoplastie lamellaire profonde est prélevé et conservé dans les mêmes conditions qu'un greffon destiné à une kératoplastie transfixiante. Il doit répondre aux mêmes critères de sélection et de validation qu'un greffon destiné à une kératoplastie transfixiante, sauf pour les critères de qualité endothéliale. En effet, si la procédure de kératoplastie lamellaire profonde est menée à terme sans conversion en kératoplastie transfixiante, la membrane de Descemet et l'endothélium ne seront pas greffés. Il n'y a donc aucun critère de qualité endothé-

liale à respecter dans ce cas et on peut utiliser un greffon ayant un endothélium non conforme pour la kératoplastie transfixiante. Néanmoins, certaines interventions doivent être converties en kératoplastie transfixiante à cause d'une perforation descémétique importante. Il faut donc, dans ce cas, disposer d'un greffon ayant un endothélium conforme pour la kératoplastie transfixiante. En pratique, on peut soit utiliser un greffon ayant un endothélium conforme pour toutes les procédures, soit avoir à disposition au bloc opératoire deux greffons, un avec un endothélium non conforme et l'autre avec un endothélium conforme. Si la dissection de la cornée réceptrice a pu être menée à bien, on utilisera le premier greffon. Si une perforation descémétique importante se produit, on utilisera le deuxième greffon.

1.3. Technique opératoire

Le principe de la kératoplastie lamellaire profonde consiste à greffer le stroma et l'épithélium du greffon en laissant en place la membrane de Descemet et l'endothélium du receveur. Pour éviter les opacités de l'interface, il faut utiliser des gants sans talc et des microsponges sans tissage. Une anesthésie générale est souhaitable afin d'éviter toute poussée postérieure susceptible de rompre la membrane de Descemet lorsque celle-ci est à nu.

Le premier temps opératoire consiste à trépaner le greffon avec la même technique que celle utilisée pour une kératoplastie transfixiante (voir chapitre 1-4). Le diamètre de la trépanation est le même que celui qui aurait été choisi pour une kératoplastie transfixiante. Il est surdimensionné de 0,25 mm par rapport au diamètre de trépanation de la cornée réceptrice. Le greffon trépané est ensuite conservé dans une cupule remplie de milieu de transport jusqu'à son utilisation.

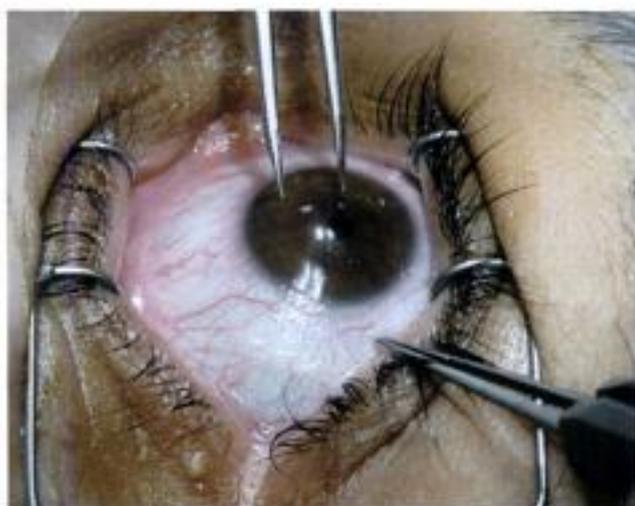
Le deuxième temps opératoire est de loin le plus long. Il consiste à préparer la cornée réceptrice. L'épaisseur cornéenne est mesurée à l'aide d'un pachymètre à ultrasons afin de déterminer l'épaisseur cornéenne minimale. Le repérage du centre de la trépanation est réalisé avec la même technique que celles utilisées pour une kératoplastie transfixiante (voir chapitre 1-4). Une trépanation non transfixiante est ensuite réalisée à une profondeur d'environ 75 % de la plus petite épaisseur cornéenne. Le trépan de Hanna est très utile pour ce geste car il comporte un réglage de la profondeur de la trépanation. Une dissection cornéenne centrale dans le plan du stroma postérieur à l'aide d'un couteau crescent per-



Mesure de l'épaisseur cornéenne en moyenne périphérie.



Trépanation non transfixiante.



Repérage du centre de la trépanation.



Dissection du stroma antérieur et moyen à la lame Crescent.



Marquage de la zone centrale.



Ablation du stroma disséqué.

met d'enlever un bouton cornéen central comportant l'épithélium, le stroma antérieur et le stroma moyen de la cornée réceptrice. Une injection d'air dans le stroma postérieur est réalisée à l'aide d'une aiguille à gaz montée sur une seringue de 3 ml. L'aiguille est introduite dans le stroma postérieur de la zone de trépanée sans franchir la membrane de Descemet. Des petites bulles se forment dans le stroma postérieur, écartant ainsi les lamelles de collagène les unes des autres. Ceci facilite la dissection du stroma postérieur. L'air passe en général en chambre antérieure formant une bulle utile pour la suite de l'intervention. Dans le meilleur des cas, il se forme une bulle d'air entre le stroma postérieur et la membrane de Descemet. Dans ce cas, une injection de substances viscoélastique entre le stroma postérieur et la membrane de Descemet permet l'ablation complète aux ciseaux du stroma postérieur (Manche, 1999). Lorsque la membrane de Descemet n'est pas décollée du stroma postérieur, il faut poursuivre la dissection du stroma postérieur au couteau croissant. L'ablation complète du stroma postérieur est alors généralement impossible. On peut réaliser deux incisions superficielles du stroma postérieur avec un couteau à 45° pour partager le stroma postérieur résiduel en quatre quadrants et ensuite disséquer chaque quadrant avec un couteau croissant (Tsubota, 1998). Une ou plusieurs microperforations sont fréquentes au cours de cette dissection. Si elles ne sont pas trop importantes, elles n'empêchent pas la réalisation de la kératoplastie lamellaire profonde. Lorsqu'une perforation importante entraîne un effondrement de la chambre antérieure qui ne peut être reformée par injection d'air de substance viscoélastique, il faut alors convertir l'intervention en kératoplastie transfixiante.

Dans un troisième temps opératoire, la membrane de Descemet du greffon est enlevée à l'aide de la pince de Troutman. Le greffon est placé sous le microscope opératoire. Il faut saisir la membrane de Descemet avec la pince sans prendre le stroma postérieur du greffon. Il suffit ensuite de tirer sur la membrane de Descemet pour la voir se détacher du greffon. Cela correspond à un clivage entre la portion antérieure striée et la portion postérieure non périodique de la membrane de Descemet (Hirano, 2002).

Le dernier temps consiste à suturer le greffon à la cornée réceptrice. L'interface entre la face postérieure du greffon et la membrane de Descemet du receveur doit être soigneusement nettoyée à l'aide d'une solution de type BSS pour éliminer la substance viscoélastique et les éventuels débris, puis séchée avec une microponge. Le greffon est mis en place et suturé avec la même technique que celle utilisée pour une kératoplastie transfixiante (voir chapitre 1-4).

En cas de perforation importante de la membrane de Descemet, la conversion en kératoplastie transfixiante est réalisée en réséquant aux ciseaux de Vannas ou de Katzin le stroma postérieur et la membrane de Descemet restant dans l'aire de la trépanation. Un greffon avec un endothélium conforme est ensuite suturé avec la même technique que celle utilisée pour une kératoplastie transfixiante.

Dans les suites de la kératoplastie, un collyre corticoïde associé à un collyre antibiotique est prescrit à une dose progressivement dégressive.

1.4. Variantes techniques

L'interface entre la cornée et l'humeur aqueuse est difficile à visualiser au microscope opératoire du fait de la faible différence d'indice de réfraction entre les deux milieux. Cela entraîne un risque de perforation pendant la dissection profonde (jusqu'à 40 % des cas). Melles (2000) propose de remplir la chambre antérieure d'air pour mieux visualiser cette interface. La distance qui sépare alors la pointe du dissecteur du bord du reflet dû à l'air correspond à l'épaisseur du stroma postérieur résiduel situé en arrière du plan de dissection. Lorsque la dissection atteint la membrane de Descemet, des plis se forment au niveau de l'interface cornée-air. Cette technique autorise une dissection lamellaire à 95 % de l'épaisseur cornéenne (Melles, 1999). Une préincision cornéenne périphérique de 5 mm est réalisée au couteau diamant à kératotomie radiaire à une épaisseur inférieure à l'épaisseur cornéenne centrale (épaisseur centrale : 100 µm), après vérification de la profondeur de lame avec une gauge. Une poche stromale profonde est réalisée à partir de cette préincision. Elle est disséquée à l'aide d'un dissecteur spécial, puis remplie de hyaluronate de sodium. Le stroma est trépané au trépan de Hessburg-Barron.

L'injection de BSS ou de bleu trypan dans le stroma postérieur a été utilisée pour faciliter la dissection lamellaire (Amayem, 2000 ; Balestrazzi, 2002 ; Panda 2000). La kératoplastie lamellaire profonde peut être combinée à une chirurgie de la cataracte par phacoémulsification, à une chirurgie vitréorétinienne, ou à une greffe de limbe (Muraine, 2001, 2002 ; Yao 2002). Elle a été utilisée dans un cas de kératoglobule avec une dissection lamellaire additionnelle du stroma périphérique afin de créer une poche stromale (Vajpayee, 2002). Un greffon de 12 mm de diamètre a été aminci en périphérie, la membrane de Descemet a été enlevée et la partie périphérique du greffon a été insérée dans la poche stromale périphérique. La suture a été réalisée par des points séparés. Les résultats rapportés sont bons mais il s'agit d'un cas unique.



Aspect avant injection d'air.



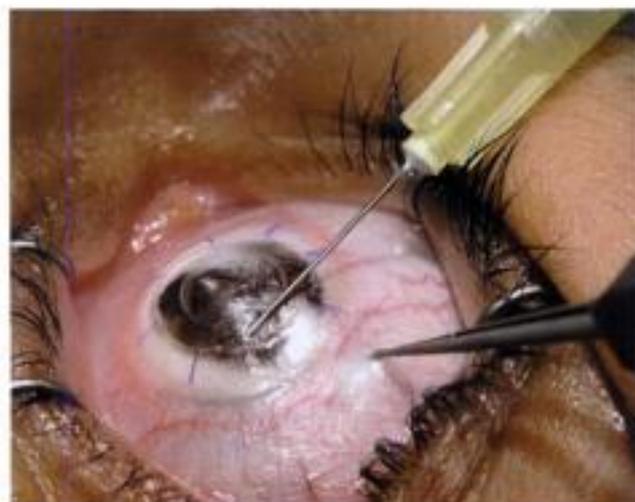
Poursuite de la dissection stromale postérieure.



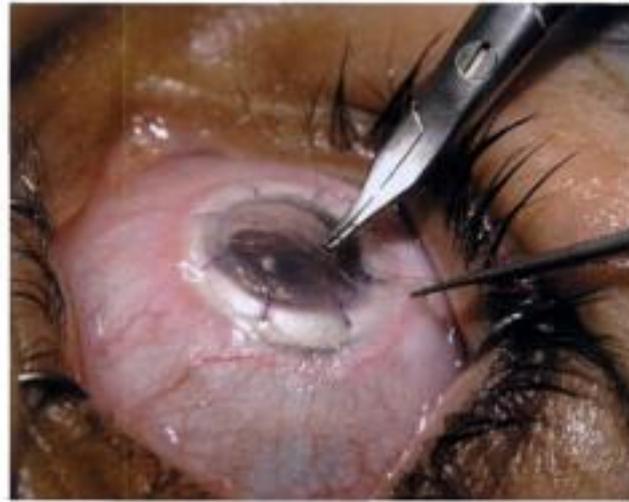
Injection d'air dans le stroma postérieur.



L'interface est lavée et séchée.



L'air injecté diffuse en chambre antérieure à travers le trabéculum.

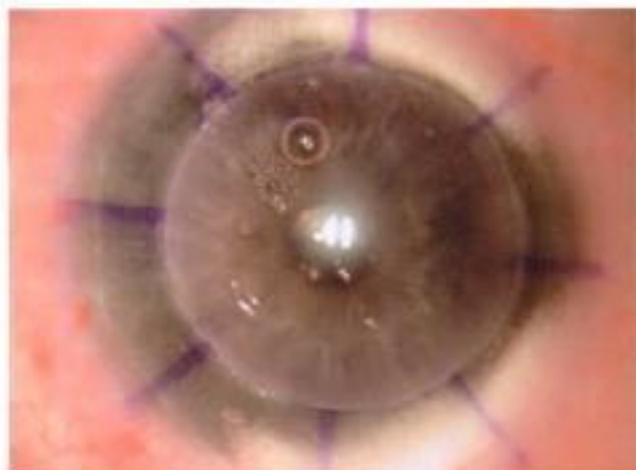


Suture du greffon.

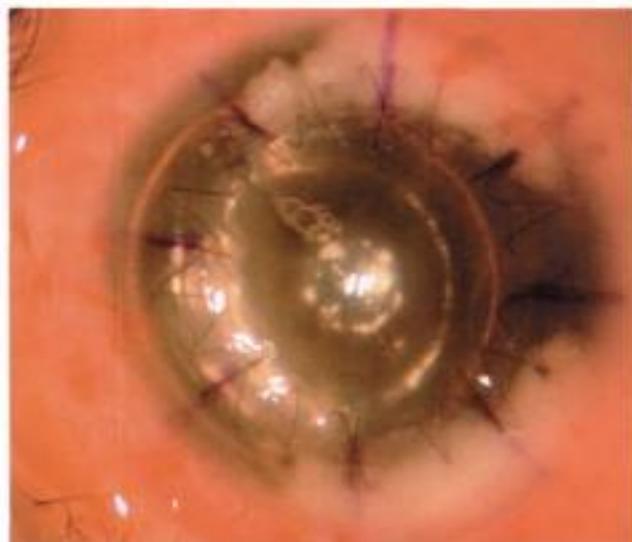
Hidden page

Hidden page

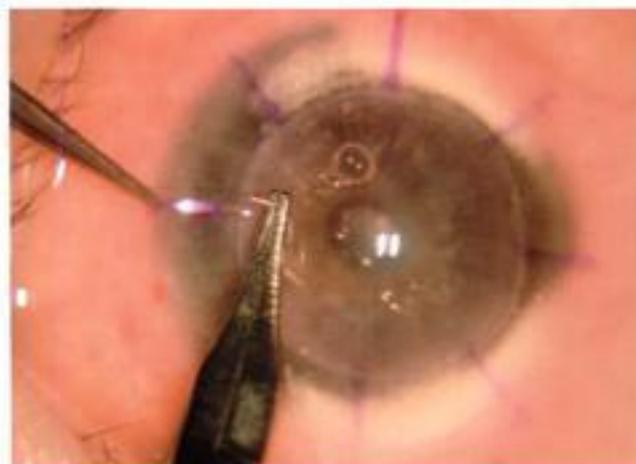
Hidden page



Mise en place du greffon après ablation de toute la membrane de Descemet.



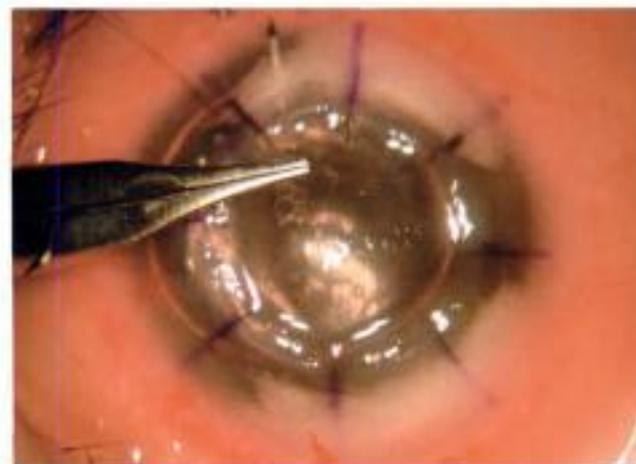
Aspect en fin d'intervention. Une bulle d'air a été injectée en chambre antérieure afin de plaquer la membrane de Descemet du receveur contre le greffon. De petites bulles d'air sont visibles entre la membrane de Descemet et le greffon. De nombreuses bulles d'air sont présentes en périphérie au niveau du trabéculum et de l'angle indocornéen. Toutes ces bulles disparaîtront rapidement au cours des premiers jours postopératoires.



On réalise 8 points séparés de nylon 10/0.



Injection d'air en chambre antérieure pour une non-réapplication de la membrane de Descemet (double chambre antérieure).

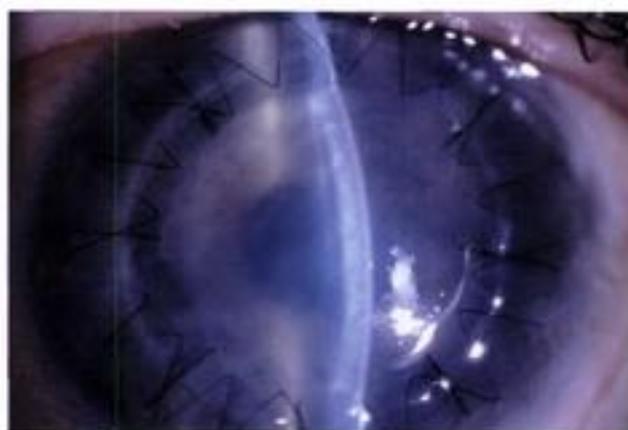


Après réalisation des 8 points séparés, un surjet de 16 passages de nylon 10/0 est réalisé.

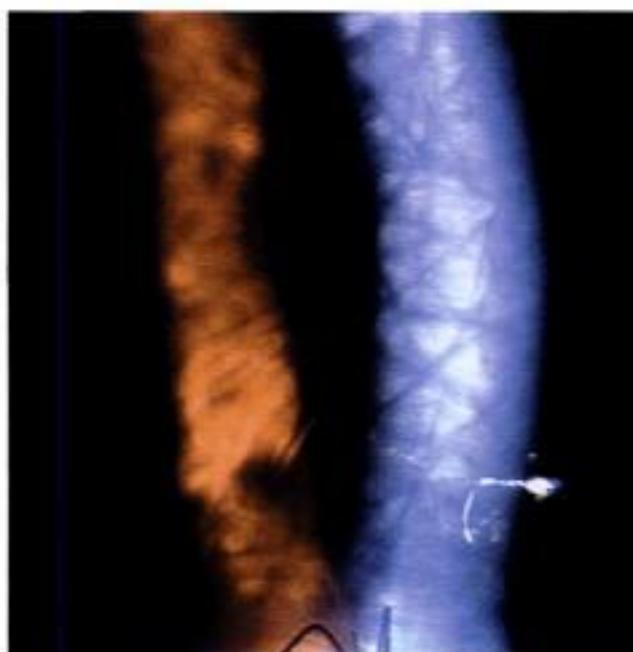
Hidden page



Kératoplastie lamellaire profonde. Aspect postopératoire à J7. Double chambre antérieure (persistance d'un espace entre la membrane de Descemet ou le stroma postérieur résiduel du receveur et le greffon empêchant la déturgescence du greffon).



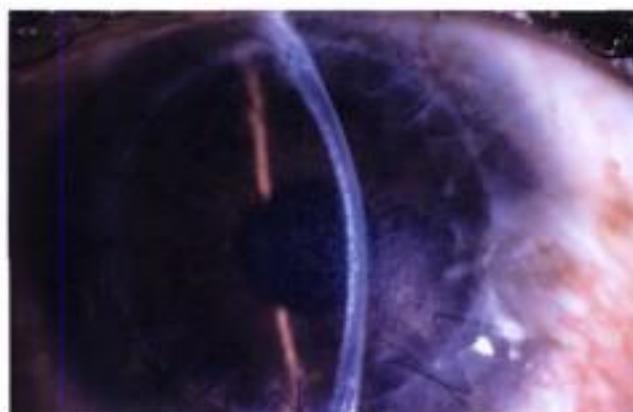
Double chambre antérieure à 7 jours d'une kératoplastie lamellaire profonde. Le stroma postérieur et la membrane de Descemet du receveur sont bien visibles en arrière du greffon qui est œdémateux.



Même patient. Aspect en fente large. La membrane de Descemet du receveur est visible sous forme d'un pli oblique à gauche de la fente. Le greffon est très œdémateux.



Kératoplastie lamellaire profonde pour kératocône à J12. L'injection d'air peropératoire dans le stroma postérieur a décollé la membrane de Descemet sur toute sa surface, permettant une ablation complète du stroma du receveur.



Même patient à 4 mois de la greffe. Le décollement de la membrane de Descemet et l'œdème du greffon ont disparu.

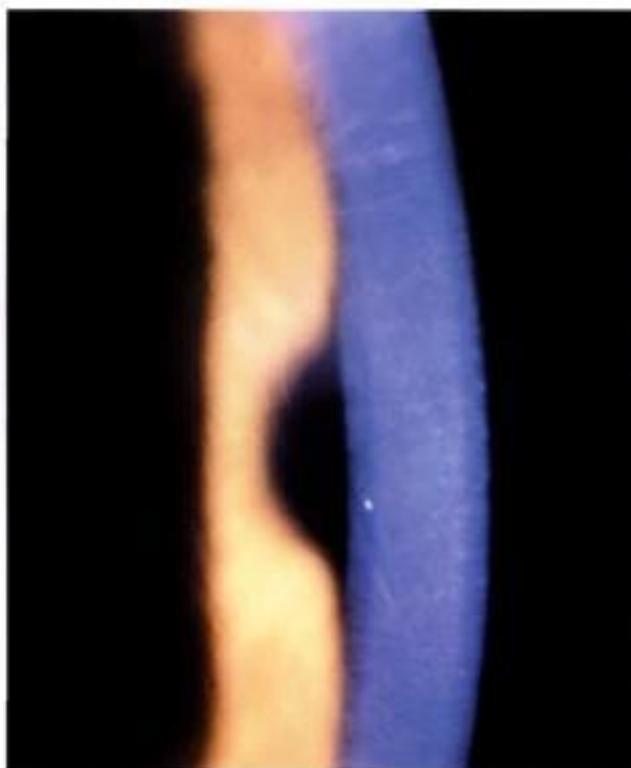


La membrane de Descemet est totalement décollée. Elle est visible sous forme de plis radiaires entre la cornée et l'iris.

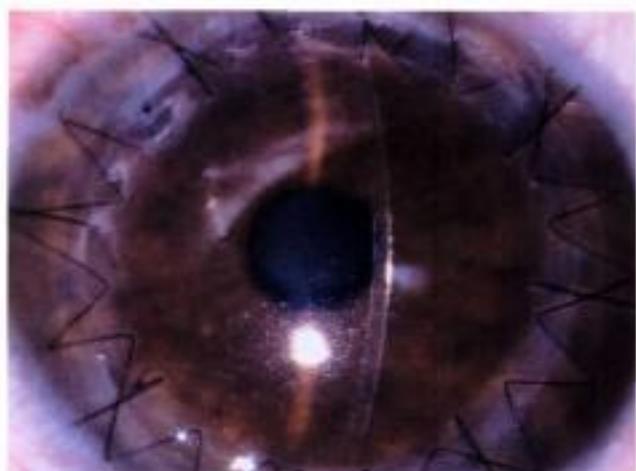
Les greffes en ophtalmologie



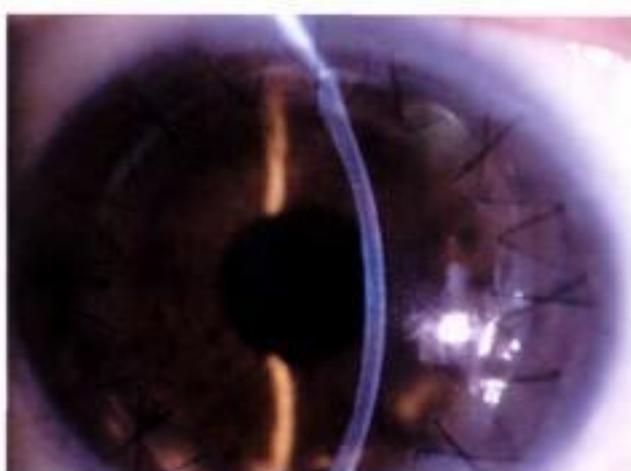
Kératoplastie lamellaire profonde : aspect préopératoire (séquelles de kératite interstitielle).



Aspect de l'interface entre le greffon et la membrane de Descemet de la patiente à J7.



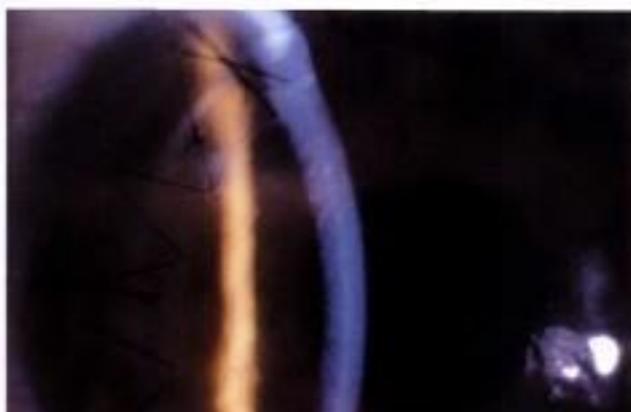
Même patiente. Aspect de la kératoplastie lamellaire profonde à J1.



Kératoplastie lamellaire profonde : aspect à M2. Acuité visuelle 2,5/10, astigmatisme 2,25 D, pachymétrie 565 μ m.



Kératoplastie lamellaire profonde : aspect à J7.



Aspect de l'interface entre le greffon et la membrane de Descemet de la patiente à M2.

Hidden page

Hidden page

Kératoplasties lamellaires à but optique : les alternatives à la kératoplastie transfixiante



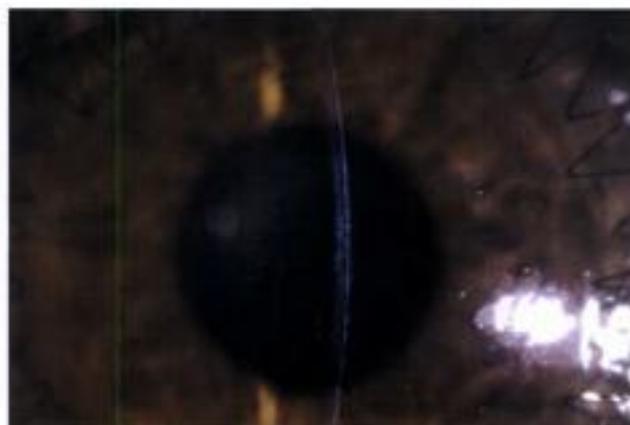
Matériel pour la kératoplastie lamellaire automatisée : microkératome, chambre antérieure artificielle, lentilles d'aplanation.



Kératoplastie lamellaire automatisée : aspect à j15.



Chambre antérieure artificielle démontée.



Même patient : aspect de l'interface entre le greffon et le stroma postérieur de la cornée du patient.



Générateur fournissant l'aspiration.



Même patient à 6 mois de la greffe.

artificielle permet de maintenir une pression élevée dans la chambre. Il est possible d'obtenir une pression plus élevée, ce qui améliore la découpe du greffon, en utilisant une seringue de 10 ml remplie de BSS et branchée sur l'irrigation à l'aide d'un robinet à trois voies. L'aide poussera alors sur la seringue pendant la découpe. Avec le microkératome ALTK, il est prudent d'utiliser une tête permettant une découpe plus épaisse que celle utilisée pour la découpe de la cornée réceptrice. Si la tête de 250 mm a été utilisée pour la cornée réceptrice, on utilisera celle de 350 mm pour le greffon. Une bague permet le réglage du diamètre de la découpe. Celui-ci est vérifié à l'aide d'un système d'aplanation similaire à celui utilisé pour la cornée réceptrice. La bague de réglage est tournée jusqu'à obtention du diamètre souhaité, c'est-à-dire le diamètre de découpe obtenue sur la cornée réceptrice. Il faut vérifier que la tête du microkératome coulisse correctement dans les rails du plateau de découpe. Ce mouvement peut être facilité par du BSS ou une substance viscoélastique. Le plateau de découpe est fixé sur la chambre artificielle. La tête du microkératome est engagée dans les rails du plateau, le moteur est mis en marche et la découpe du greffon est effectuée avec un mouvement lent régulier et continu.

Le troisième temps opératoire consiste à suturer le greffon sur la cornée réceptrice. L'interface entre le greffon et la cornée réceptrice doit être soigneusement lavée à l'aide de BSS. Le greffon est suturé par quatre ou huit points cardinaux provisoires, puis la suture est réalisée par un surjet de nylon 10/0. Les passages doivent être suffisamment rapprochés afin d'empêcher l'épithélium d'envahir l'interface entre le greffon et la cornée réceptrice. La tension du surjet est soigneusement ajustée avant de faire le nœud.

Récemment, l'utilisation d'une colle tissulaire à base de fibrine a été évaluée chez cinq patients au cours de kératoplasties lamellaires automatisées (Kaufman, 2003). Cette colle a permis dans tous les cas l'adhésion du greffon sur le stroma receveur sans aucune suture. À trois mois, les cinq greffons sont clairs. Une découpe lamellaire de la cornée réceptrice au laser Excimer combinée à une découpe lamellaire du greffon en congélation a été également proposée (Rich, 1999).

Dans les suites de la kératoplastie, un collyre corticoïde associé à un collyre antibiotique est prescrit à une dose progressivement dégressive.

Hidden page

Hidden page

3. Kératoplastie lamellaire postérieure

La kératoplastie lamellaire postérieure consiste à greffer une lame de stroma postérieur central avec sa membrane de Descemet et son endothélium après avoir enlevé une lame de stroma postérieur central de même diamètre à la cornée réceptrice. Elle est utilisée dans les pathologies de l'endothélium et de la membrane de Descemet avant la constitution de lésions stromales irréversibles (fibrose). Les indications opératoires potentielles comportent donc la dystrophie de Fuchs au stade II et les autres dystrophies endothéliodescémétiques, les kératopathies bulleuses et les ICE syndromes.

Melles (1998) a décrit une technique permettant de greffer le stroma postérieur et l'endothélio-Descemet par une poche lamellaire sclérocornéenne. Une incision sclérale de 9 mm est réalisée et une dissection lamellaire est faite à 80 % de l'épaisseur stromale. La cornée postérieure est trépanée avec un trépan plat de 7,5 ou 8,0 mm passé dans la poche lamellaire et remplacée par un greffon lamellaire postérieur non suturé. Une bulle d'air est laissée en chambre antérieure en fin d'intervention afin d'assurer le contact entre le greffon et la cornée réceptrice.

Les bénéfices attendus de cette intervention sont la diminution du risque de complications peropératoires, la diminution de l'astigmatisme induit, une récupération visuelle plus rapide, l'absence de gestion postopératoire des sutures, l'absence de néovascularisation induite par les fils, la diminution du risque d'ouverture de la cicatrice et la diminution de la corticothérapie postopératoire. Cliniquement, la puissance cornéenne moyenne et l'équivalent sphérique ne sont pas modifiés par cette intervention (Terry, 2003).

Sur huit yeux opérés à l'aide de cette technique, Melles (1999, 2000) rapporte un cas de microporofaction qui a amené à convertir l'intervention en kératoplastie transfixiante. Après un suivi de 6 à 12 mois, tous les greffons sont clairs, l'acuité visuelle est com-

prise entre 2,5/10 et 10/10, l'astigmatisme moyen est de 1,5 D, l'épaisseur cornéenne moyenne est de 0,49 mm et la densité endothéliale moyenne est de 2520 cellules/mm². Terry (2003) rapporte huit interventions faites pour une dystrophie de Fuchs ou une kératopathie bulleuse du pseudophake. À six mois, tous les greffons sont clairs. L'épaisseur cornéenne centrale moyenne est relativement élevée à 650 µm mais la densité endothéliale moyenne est très satisfaisante (2290 cellules/mm²). L'acuité visuelle obtenue est comprise entre 3/10 et 7/10 et l'astigmatisme induit par la chirurgie est beaucoup plus faible que celui induit par une kératoplastie transfixiante.

Une autre technique a été proposée (Jain, 2001). Elle consiste à faire un volet cornéen central de 9,5 mm de diamètre à l'aide d'un microkératome, puis à trépaner le stroma postérieur à un diamètre de 6,5 mm. Un greffon postérieur d'un diamètre de 7 mm est mis en place et le volet cornéen est suturé à la cornée périphérique. Sur sept yeux opérés par cette technique, l'auteur fait état de sept cornées claires dans les quatre semaines postopératoires, avec cependant un cas d'invasion épithéliale de l'interface. Expérimentalement, cette technique induit peu d'astigmatisme et permet d'obtenir une résistance à une augmentation de la pression intraoculaire allant jusqu'à 100 mmHg (Behrens, 2003). Ehlers (2000) rapporte une densité endothéliale à un an de l'intervention comprise entre 1200 et 2300 cellules/mm² dans une étude incluant quatre yeux opérés à l'aide de cette technique.

La possibilité de réaliser la découpe lamellaire postérieure à l'aide d'un laser femtoseconde a été démontrée expérimentalement sur des cornées humaines de donneurs décédés (Seitz, 2003).

Le faible recul postopératoire et le peu de patients opérés à l'aide de cette technique ne permettent pas actuellement de préciser sa place par rapport à la kératoplastie transfixiante.

Hidden page

Chapitre 4

Kératoplasties à but architectonique et thérapeutique

Indications

Techniques chirurgicales

Résultats

1. Indications

1.1. Kératoplasties à but architectonique

Les kératoplasties à but architectonique, ou greffes bouchons, ont pour objectif de traiter les pertes de substance cornéenne entraînant ou risquant d'entraîner une perforation afin de conserver anatomiquement le globe oculaire. Les causes de ces pertes de substance cornéenne sont diverses :

- ulcères infectieux nécrosants : le virus herpétique est le germe le plus fréquent dans cette situation clinique, mais il peut s'agir également du virus varicelle-zona, de bactéries ou de champignons ;
- ulcères immunologiques creusants : ulcère de Mooren, kératites ulcérales périphériques secondaires à une hépatite C, une collagénose ou une vasculite, ulcères centraux de la polyarthrite rhumatoïde ou du syndrome de Sjögren, syndrome de Lyell, syndrome de Stevens-Johnson, pemphigoïde oculaire cicatricielle ;
- lésions d'origine traumatique : brûlures chimiques et thermiques, plaies cornéennes avec perte de substance stromale, lésions iatrogènes (chirurgie du ptérygion, brûlure cornéenne au cours d'une chirurgie plastique) ;
- chirurgie des tumeurs du limbe et de la cornée nécessitant une résection de stroma cornéen : dermoïde du limbe.
- dégénérescence marginale de Terrien.

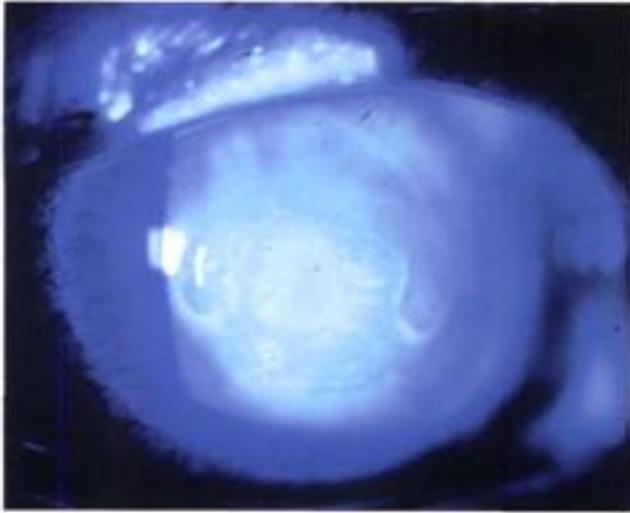
1.2. Kératoplasties à but thérapeutique

Les kératoplasties à but thérapeutique ont pour objectif de remplacer une partie du tissu cornéen infecté par un micro-organisme, lorsque l'infection ne peut être contrôlée par le seul traitement médical, par un tissu stérile afin de diminuer la charge infectieuse cornéenne et permettre ainsi l'action du traitement médical anti-infectieux. Les infections cornéennes

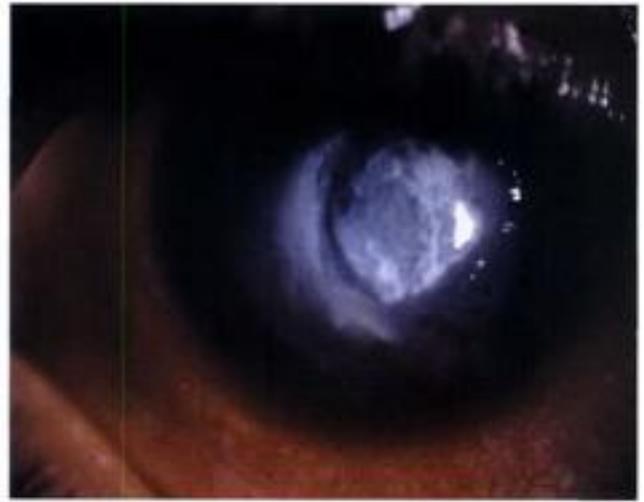
pouvant nécessiter une telle greffe sont les abcès amibiens et fongiques.

1.3. Bilan préopératoire

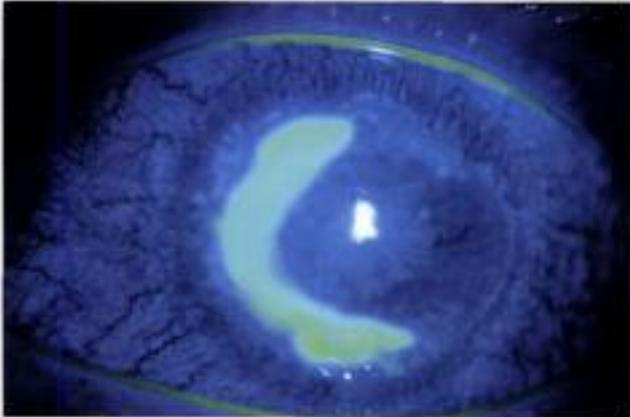
Bien que ces greffes soient souvent faites dans un contexte d'urgence (perforation) ou de semi-urgence (menace de perforation, abcès cornéen) qui leur vaut l'appellation de greffe à chaud, il est indispensable de déterminer la cause de la pathologie cornéenne et de rechercher une insuffisance limbique associée avant d'intervenir. La kératoplastie ne représente dans ces situations qu'un traitement complémentaire au traitement étiologique. Dans le cas des pathologies infectieuses, il faut déterminer l'agent causal à partir de prélèvements d'un ulcère cornéen voire d'une biopsie cornéenne. Les recherches réalisées doivent toujours être multiples (bactériologie, mycologie, virologie et recherche d'amibes) afin de ne pas méconnaître une infection par plusieurs agents différents. Les ulcères immunologiques nécessitent un bilan immunologique si l'étiologie n'est pas déjà connue. L'évaluation de la fonction limbique est souvent difficile dans ces situations du fait de l'inflammation majeure de la surface oculaire qui entraîne souvent un retentissement épithélial et une néovascularisation. La chronicité d'un ulcère peut être due à l'agent infectieux ou au processus immunologique, comme il peut être secondaire à la destruction des cellules souches limbiques par la pathologie initiale (lésions traumatiques, infection, processus immunologique, tumeur). Il faut donc examiner attentivement l'état de l'épithélium cornéen à distance de l'ulcère et l'état du limbe. Lorsqu'une insuffisance limbique est fortement suspectée, la kératoplastie peut être combinée à une greffe de membrane amniotique qui sera protégée temporairement par une lentille thérapeutique.



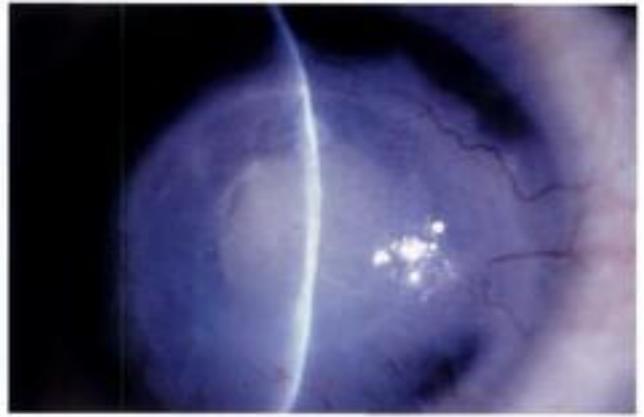
Abcès amibien.



Abcès amibien sévère résistant au traitement médical.



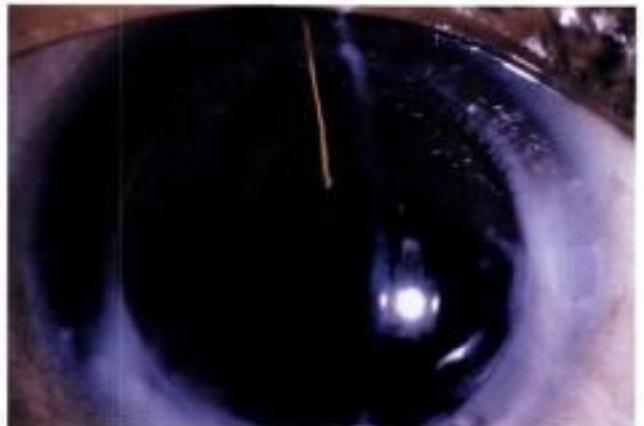
Ulcère de Mooren.



Même patiente : kératoplastie transfixiante à but thérapeutique. Aspect à 15 mois. La greffe a permis la guérison de l'abcès amibien. Il existe une cataracte blanche totale et des synéchies iridocornéennes inférieures.



Ulcère cornéen central préperforatif secondaire à une polyarthrite rhumatoïde.



Même patiente : 2^e kératoplastie transfixiante à but optique associée à une iridectomie sectorielle, une extraction extracapsulaire du cristallin, une implantation dans le sulcus ciliaire. Aspect à 18 mois.

2. Techniques chirurgicales

2.1. Greffon cornéen

Le greffon cornéen doit être disponible dans un délai bref, parfois en urgence. On peut utiliser divers types de greffons :

- greffon cornéen classique répondant à tous les critères de validation pour une kératoplastie transfixiante : le greffon peut être conservé en organoculture ou en hypothermie ;
- greffon cornéen ayant un endothélium cornéen non conforme pour une kératoplastie transfixiante mais répondant à tous les autres critères de validation (sélection clinique du donneur, critères sérologiques, stérilité) : le greffon peut être conservé en organoculture, en hypothermie, en congélation ou par silicodessiccation (technique abandonnée en France).

2.2. Interventions chirurgicales

Le type de kératoplastie à réaliser dépend de la situation clinique : taille, profondeur et siège de la lésion. Certaines interventions sont réalisées en s'adaptant strictement à la lésion.

Les techniques de kératoplastie utilisables pour traiter ces situations cliniques difficiles sont les suivantes :

- kératoplastie transfixiante centrale : elle permet de traiter un abcès ou une perte de substance centrale ;
- kératoplastie transfixiante excentrée : elle permet de traiter un abcès ou une perte de substance paracentrale ;
- kératoplastie lamellaire profonde centrale : elle permet de traiter un abcès central ;
- kératoplastie lamellaire centrale : elle permet de traiter un abcès central ;
- kératoplastie lamellaire périphérique : elle permet de traiter une perte de substance périphérique ;
- kératoplastie lamellaire et/ou transfixiante périphérique avec découpe du greffon à la taille de la zone ulcérée et amincissement du stroma du greffon en fonction de la profondeur de la perte de substance stromale : elle permet de traiter une perte de substance périphérique ;
- sclérokératoplastie lamellaire périphérique en fer à cheval : elle est utilisée dans les formes graves de dégénérescence de Terrien.

- sclérokératoplastie transfixiante : cette intervention très lourde sur le plan anatomique (la greffe intéresse la totalité de la cornée ainsi que la région limbique avec parfois une collerette sclérale) est une ultime tentative avant éviscération, en cas de destruction complète de la cornée et du limbe. Elle pose le problème de la pression intraoculaire (hypotonie par atteinte du corps ciliaire, glaucome sévère par destruction de l'angle irido-cornéen) et celui de la restauration de la fonction limbique.

Au cours des kératoplasties transfixiantes centrale et excentrée, lamellaires centrales, profonde centrale et périphérique, une trépanation du greffon et de la cornée réceptrice doit être réalisée à un diamètre supérieur à celui de la lésion afin de faire la suture en stroma sain (non nécrotique). La trépanation de la cornée réceptrice est difficile en cas de perforation. Il faut alors utiliser un trépan à main levée. La préparation du greffon lamellaire peut être réalisée à l'aide d'un microkératome comme au cours d'une kératoplastie lamellaire automatisée (Wiley, 2002).

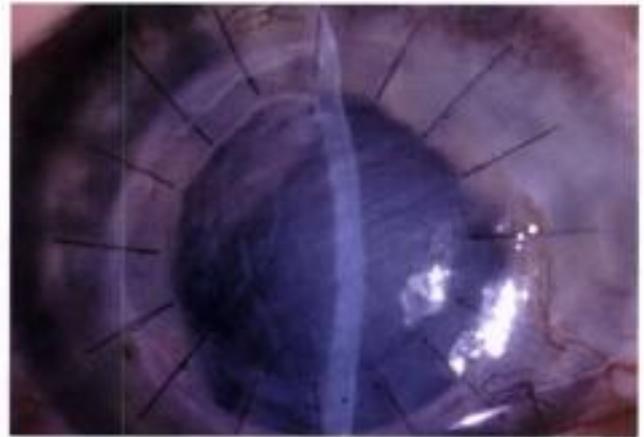
2.3. Traitement médical

Un traitement médical étiologique est associé à l'acte chirurgical. En cas de perforation cornéenne, une prévention de l'endophtalmie est faite à l'aide d'une antibiothérapie à large spectre par voie veineuse avec une association de deux antibiotiques ayant une forte diffusion tissulaire (pipéracilline, imipénème, fluoroquinolones, céphalosporines de 3^e génération, vancomycine, fosfomycine). En cas d'ulcère ou d'abcès cornéen infectieux, un traitement anti-infectieux par voie locale et systémique, adapté au germe, est indispensable. Un ulcère immunologique requiert un traitement corticoïde et/ou immunosuppresseur par voie locale et/ou systémique. Un glaucome associé nécessite un traitement hypotonisant, une sécheresse oculaire, un traitement mouillant.

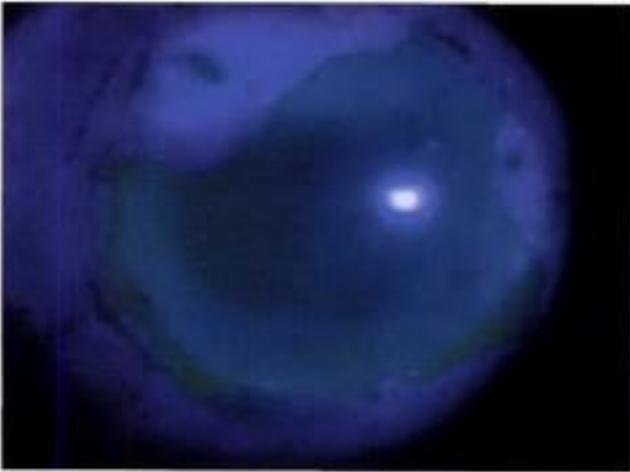
Dans les suites de la kératoplastie, un collyre corticoïde associé à un collyre antibiotique est prescrit à une dose progressivement dégressive. Un traitement hypotonisant est souvent nécessaire.



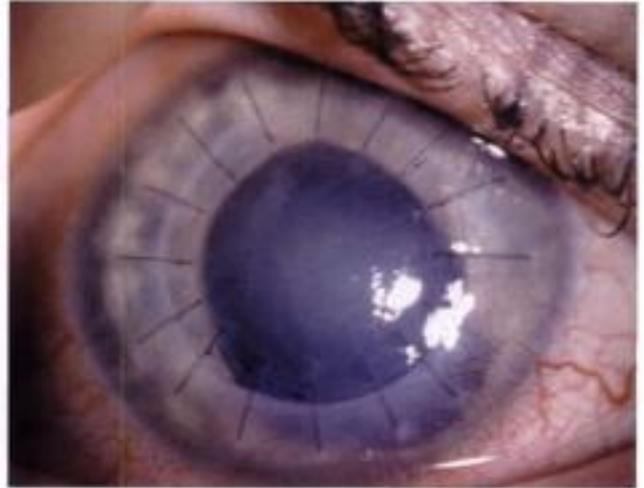
Abcès amibien résistant au traitement médical.



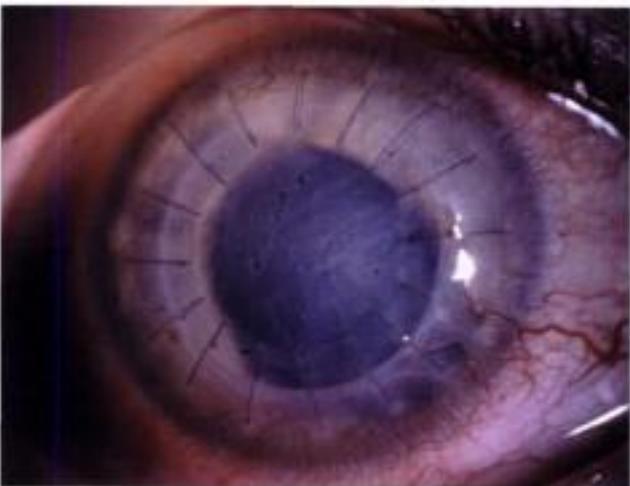
Aspect en fente fine montrant l'œdème du greffon malgré l'absence de phénomène de double chambre antérieure.



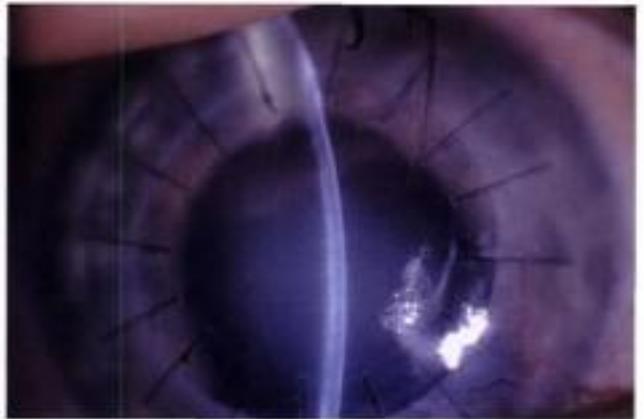
Même patient. Ulcère chronique rebelle.



Aspect à 1 mois: Persistance de l'œdème du greffon.



Même patient. Kératoplastie lamellaire profonde à but thérapeutique. Aspect à j7.



Aspect à 2 mois. L'évolution ultérieure se fera vers la disparition de l'œdème du greffon.

3. Résultats

Vanathi (2002) rapporte les résultats d'une série de 42 greffes à but architectonique faites pour des infections, des kératites immunitaires ou des traumatismes cornéens. Le suivi moyen est de 11 mois. Le taux de succès anatomique est de 85 % et une acuité visuelle supérieure ou égale à 2,5/10 est obtenue dans 71 % des cas. Les principales complications sont les synéchies antérieures périphériques (10 %) et la fonte du greffon (12 %). L'étude de Soong (2000) inclut 64 patients opérés d'une kératoplastie lamellaire à but architectonique. Le taux de succès anatomique (conservation de l'intégrité du globe oculaire) est de 94 % mais une acuité visuelle supérieure ou égale à 2/10 n'est obtenue que dans 22 % des cas. Les résultats sont significativement meilleurs dans les pathologies intéressant la périphérie cornéenne que dans celles qui atteignent le centre de la cornée.

La kératoplastie lamellaire est très utile dans les kératomycoses résistant au traitement médical. Dans une série de 55 cas, Xie (2002) rapporte un taux de succès de 93 % avec un suivi de 6 à 18 mois et une acuité visuelle finale comprise entre 3/10 et 10/10.

Dans les complications de la chirurgie du ptérygion, les résultats sont bons avec 95 % de succès anatomique sur une série de 20 interventions publiées

par Ti (2003). Un cas est un échec dans cette série par infection fongique.

Scott (2001) rapporte les résultats d'une série de 11 yeux opérés d'un dermoïde du limbe avec kératoplastie lamellaire avec un suivi allant de 9 à 46 mois. Un bon résultat esthétique est obtenu dans huit cas, un résultat moyen (néovascularisation du greffon) dans deux cas et un cas est un échec (greffon opaque).

Les résultats des greffes à chaud sont réservés. Dans l'étude d'Ehlers (1987), le taux de survie du greffon après kératoplastie à chaud est de 48 % à 18 mois. Ces résultats sont encore plus décevants lorsque l'on doit réaliser une greffe de grand diamètre. Cristol (1996) rapporte une série de 26 kératoplasties transfixiantes de diamètre supérieur ou égal à 9,5 mm réalisées dans 22 yeux, avec comme indication opératoire une kératite bactérienne dans 11 cas, une kératomycose dans dix cas et une kératite mixte dans un cas. L'évolution se fait vers l'échec de la greffe dans 95 % des cas avec un délai médian d'opacification du greffon de 13 semaines pour les kératites bactériennes et quatre semaines pour les kératites fongiques. L'évolution anatomique du globe oculaire se fait vers la phtisie ou l'énucléation dans 15 % des cas.

Kératoplasties à but architectonique et thérapeutique

- Les kératoplasties à but architectonique, ou greffes bouchons, permettent de traiter les pertes de substance cornéenne entraînant ou risquant d'entraîner une perforation afin de conserver anatomiquement le globe oculaire. Les causes de ces pertes de substance cornéenne sont des ulcères infectieux ou immunologiques, des lésions d'origine traumatique et la chirurgie des dermoïdes du limbe.
- Les kératoplasties à but thérapeutique ont pour objectif de remplacer une partie du tissu cornéen infecté par une amibe ou un champignon, lorsque l'infection ne peut être contrôlée par le seul traitement médical, par un tissu stérile afin de diminuer la charge infectieuse cornéenne et permettre ainsi l'action du traitement médical anti-infectieux.
- La technique opératoire utilisée est choisie en fonction du siège, de la surface et de la profondeur des lésions : kératoplastie transfixiante centrale, kératoplastie transfixiante excentrée, kératoplastie lamellaire profonde centrale, kératoplastie lamellaire centrale, kératoplastie lamellaire périphérique, kératoplastie lamellaire et/ou transfixiante périphérique avec découpe du greffon à la taille de la zone ulcérée, sclérokératoplastie transfixiante, sclérokératoplastie lamellaire périphérique en fer à cheval.
- Un traitement médical étiologique est associé à l'acte chirurgical.
- Les résultats anatomiques de ces interventions (sauvegarde du globe oculaire) sont bons en dehors des greffes de grand diamètre. En revanche, les possibilités de conserver la transparence cornéenne et l'acuité visuelle obtenue sont peu importantes.

Hidden page

Bibliographie

- Cristol SM, Alenciso FC, Guildford JH, Roussel TJ, Culbertson WW. Results of large penetrating keratoplasty in microbial keratitis. *Cornea* 1996; 15 : 571-576.
- Ehlers N, Andersen J. Treatment of central corneal ulcers by a chasad transplantation of organ culture preserved donor tissue. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1987; 65 : 516-520.
- Scott JA, Tan DT. Therapeutic lamellar keratoplasty for limbal dermoids. *Ophthalmology* 2001; 108 : 1858-1867.
- Shimamura S, Shimazaki J, Tsubota K. Therapeutic deep lamellar keratoplasty for cornea perforation. *Am J Ophthalmol* 2003; 135 : 896-897.
- Soong HK, Farjo AA, Katz D, Meyer RE, Sugar A. Lamellar corneal patch grafts in the management of corneal melting. *Cornea* 2000; 19 : 126-134.
- Ti SE, Tan DT. Tectonic corneal lamellar grafting for severe scleral melting after pterygium surgery. *Ophthalmology* 2003; 110 : 1126-1136.
- Vanathi M, Sharma N, Tittyal JS, Tandon R, Vagpayee RB. Tectonic grafts for corneal thinning and perforations. *Cornea* 2002; 21 : 792-797.
- Wiley LA, Joseph MA, Springs CL. Tectonic lamellar keratoplasty utilizing a microkeratome and an artificial anterior chamber system. *Cornea* 2002; 21 : 661-663.
- Xie L, Shi W, Liu Z, Li S. Lamellar keratoplasty for the treatment of fungal keratitis. *Cornea* 2002; 21 : 33-37.

Chapitre 5

Greffes de limbe

*Les cellules souches limbiques : physiologie et pathologie
du renouvellement de l'épithélium cornéen*

Indications

Technique opératoire

Résultats

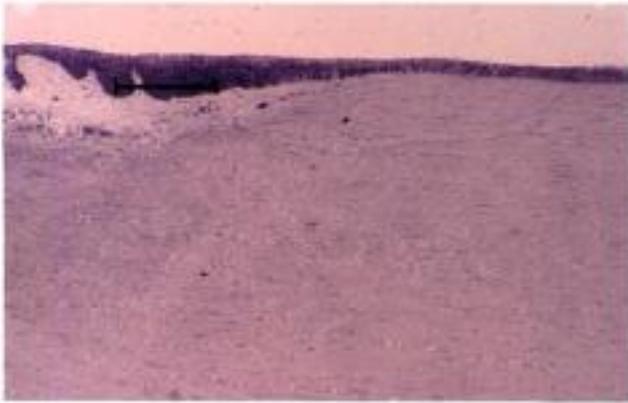
1. Les cellules souches limbiques : physiologie et pathologie du renouvellement de l'épithélium cornéen

1.1. Physiologie du renouvellement de l'épithélium cornéen

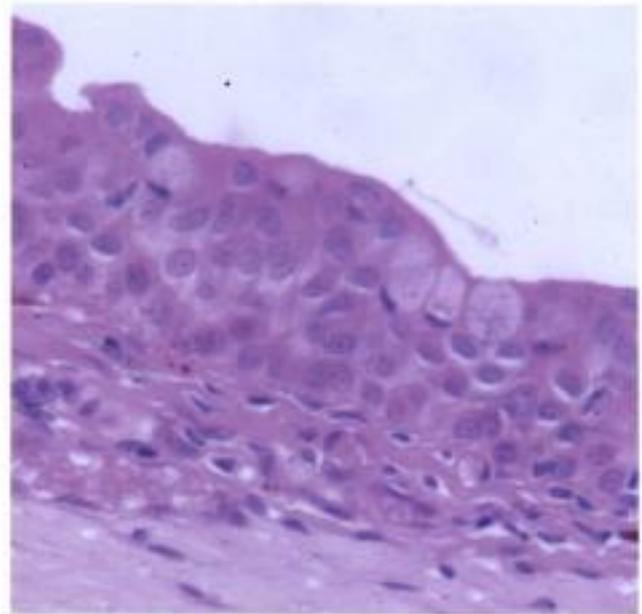
L'épithélium cornéen est un tissu à renouvellement rapide (Borderie et Gatinel, 2000). Il se renouvelle plus rapidement que l'épiderme. Ainsi, le turn-over complet de l'épithélium cornéen en situation expérimentale s'effectue en 2-3 semaines. La migration verticale des cellules épithéliales demande 3-5 jours. Trois théories successives ont été proposées pour expliquer ce renouvellement. Dans la *théorie classique*, l'épithélium cornéen se renouvelle uniquement verticalement de la couche basale vers la surface comme l'épiderme. Dans la *théorie de la transdifférenciation*, les cellules épithéliales cornéennes ont une origine conjonctivale. Elles se différencient au cours de leur migration centripète et verticale. La desquamation épithéliale superficielle est compensée par le mouvement centripète et la migration verticale. Cette théorie de la transdifférenciation avait été proposée après des expériences de désépithélialisation mécanique de la cornée chez l'animal. Une réépithélialisation de la surface cornéenne était observée à partir de la périphérie et interprétée comme une migration centripète de l'épithélium conjonctival avec modification du phénotype des cellules conjonctivales. En fait, l'abrasion de l'épithélium cornéen réalisée dans ces expériences respectait les couches profondes de l'épithélium limbique. La théorie actuelle est celle des *cellules souches limbiques* (Tseng, 1989). Dans cette théorie, les cellules épithéliales cornéennes proviennent de cellules souches épithéliales limbiques situées dans la couche basale de l'épithélium limbique. Lors du processus de mitose, la cellule souche limbique donne naissance à une nouvelle cellule souche qui reste au niveau de la couche basale de l'épithélium limbique et à une autre cellule qui va migrer vers le centre de la cornée en se différenciant en cellule amplificatrice transitoire située dans la couche basale épithéliale cornéenne. Les cellules amplificatrices transitoires vont ensuite se différencier en cellules postmitotiques situées dans les couches intermédiaire et superficielle de l'épithélium cornéen avant de desquamer.

Le processus de migration centripète des cellules épithéliales cornéennes est un fait bien établi. Il s'observe après désépithélialisation mécanique de la cornée, après kératoplastie transfixiante (réépithélialisation du greffon par les cellules épithéliales du receveur après desquamation de l'épithélium du donneur) et après greffe de limbe. L'existence des cellules souches limbiques a été démontrée par

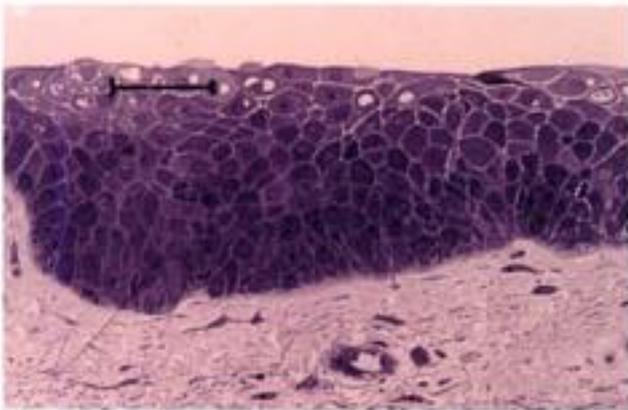
plusieurs constatations. Tout d'abord, les cellules de la couche basale de l'épithélium limbique se caractérisent par l'absence d'expression de la paire de cytokératines K3-K12, alors que les cellules épithéliales limbiques intermédiaires et superficielles ainsi que l'ensemble des cellules épithéliales cornéennes expriment cette paire de cytokératines. Au niveau de la couche superficielle de l'épithélium cornéen, cette expression devient très intense. Les cellules épithéliales conjonctivales n'expriment pas la paire de cytokératines K3-K12. À l'inverse de cette paire K3-K12, les cellules de la couche basale de l'épithélium limbique expriment la cytokératine K19. Celle-ci est également exprimée par les cellules conjonctivales et les cellules basales de l'épithélium cornéen périphérique, mais pas par les couches moyenne et superficielle de l'épithélium limbique et cornéen. Les cellules basales épithéliales limbiques ne sécrètent pas les mêmes sous-types de collagène IV que les cellules basales épithéliales cornéennes. Ainsi, on retrouve des chaînes $\alpha 1$ et $\alpha 2$ au niveau de la membrane basale épithéliale limbique et des chaînes $\alpha 3$, $\alpha 4$, $\alpha 5$ et $\alpha 6$ au niveau de la membrane basale épithéliale cornéenne. Chez l'animal, la réponse mitotique à un mitogène ou à une ulcération cornéenne est beaucoup plus importante au niveau de la couche basale épithéliale limbique qu'au niveau de la couche basale épithéliale cornéenne. Ainsi, après abrasion de l'épithélium cornéen central, 90 % des cellules basales de l'épithélium limbique synthétisent de l'ADN (incorporation de la thymidine tritiée), contre seulement 20 % des cellules basales de l'épithélium cornéen. Si la même étude est réalisée après traitement par du 5-fluoro-uracile (qui élimine les cellules à cycle rapide), on obtient un marquage préférentiel du limbe, indiquant que les cellules de la couche basale de l'épithélium limbique ont un cycle cellulaire lent. En culture cellulaire, les capacités de prolifération des cellules épithéliales sont plus importantes pour l'épithélium limbique que pour l'épithélium cornéen périphérique. De même, la prolifération est plus importante avec l'épithélium cornéen périphérique qu'avec l'épithélium cornéen central. De plus, l'apoptose induite par l'exposition au TNF α est plus importante dans des cultures de cellules épithéliales cornéennes que dans des cultures de cellules épithéliales limbiques. Le gène de résistance à l'apoptose bcl-2 est exprimé par les cellules épithéliales limbiques mais pas par les cellules épithéliales cornéennes. La protéine p63 est exprimée par les cellules souches épithéliales du limbe et de l'épiderme. La connexine 43, protéine des gap junctions, est exprimée



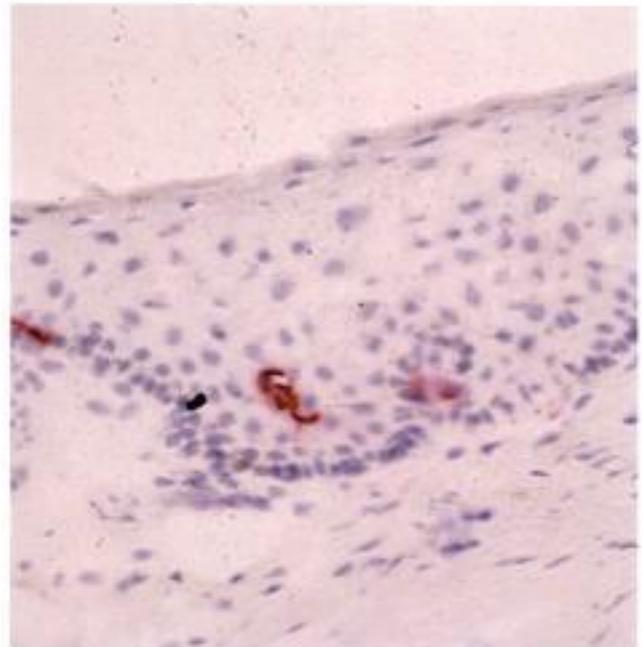
Histologie de la cornée périphérique normale.



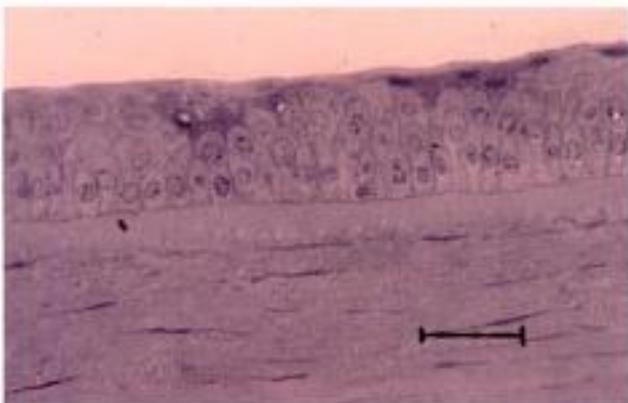
Insuffisance limbique : présence de cellules calciformes (cellules à mucus) au sein de l'épithélium limbique.



Histologie de l'épithélium limbique normal.



Cellules de Langerhans de l'épithélium limbique.



Histologie de l'épithélium cornéen central normal.

par les cellules amplificatrices transitoires mais pas par les cellules souches limbiqes. D'autres marqueurs sont proposés pour identifier les cellules souches limbiqes : intégrines $\alpha 2$, $\alpha 9$, $\beta 1$, $\beta 4$, α -énolase, récepteur de l'EGF, PCNA, CD133 (marqueur des cellules souches hématopoïétiques), télomérase, ABCG2 (membre de la famille des ATP binding cassette transporteurs, marqueur des cellules souches médullaires) et collagène IV. Aucun des marqueurs actuellement étudiés n'est spécifique des cellules souches limbiqes. Leur identification repose donc sur des arguments indirects tel qu'un profil d'expression de plusieurs marqueurs (par exemple CK3-, CK19+, p63+). Expérimentalement, le stroma limbique semble nécessaire pour conserver le phénotype des cellules souches limbiqes.

Les cellules basales de l'épithélium limbique sont des cellules peu différenciées, résistantes à l'apoptose, ayant une activité mitotique faible à l'état basal et un potentiel mitotique élevé. Elles forment une barrière à l'invasion de la surface cornéenne par l'épithélium conjonctival. Par opposition, les cellules amplificatrices transitoires de l'épithélium cornéen sont plus différenciées et sensibles à l'apoptose, avec une activité mitotique importante à l'état basal et un potentiel mitotique limité.

Le renouvellement de l'épithélium cornéen est régulé par divers facteurs, parmi lesquels l'âge qui diminue le turn-over, le nyctémère (le turn-over est maximal pendant la nuit), le clignement palpébral qui l'augmente, l'innervation épithéliale qui assure un rôle trophique, et les facteurs de croissance. L'EGF (facteur de croissance des cellules épithéliales) et le bFGF (facteur de croissance des fibroblastes) augmentent la prolifération épithéliale, le TGF- $\beta 1$ la diminue. Ces facteurs de croissance sont sécrétés par les kératocytes, l'épithélium et la glande lacrymale. Il existe donc une régulation autocrine, paracrine et régionale de la prolifération épithéliale.

1.2. Syndrome d'insuffisance en cellules souches limbiqes

Le syndrome d'insuffisance en cellules souches limbiqes se caractérise par un envahissement de la surface cornéenne par un épithélium ayant une différenciation conjonctivale caractérisée par la présence de cellules caliciformes au sein de l'épithélium limbique et cornéen (Holland, 1996). Il se manifeste cliniquement par une opacification, une irrégularité et une néovascularisation de l'épithélium cornéen associées à des troubles de la cicatrisation épithéliale (défects épithéliaux chroniques ou récurrents), des ulcérations épithéliales étendues pouvant conduire à la perforation (Dua, 2000). L'irrégularité de la surface épithéliale

est évaluée en lumière bleue après instillation de fluorescéine. La symptomatologie fonctionnelle est aspécifique : douleurs, baisse de la vision, photophobie, larmoiement. Le diagnostic positif repose sur l'étude cytologique des empreintes cornéennes colorées par l'acide périodique ou l'hématoxyline-éosine (Puangsrichareern, 1995). La présence de cellules caliciformes au sein de l'épithélium cornéen est pathognomonique du syndrome d'insuffisance en cellules souches limbiqes. Néanmoins, ce signe n'est pas constant car le matériel cellulaire recueilli par les empreintes cornéennes est souvent pauvre. Un résultat négatif ne peut donc éliminer le diagnostic.

Tseng a proposé une classification des étiologies du déficit en cellules souches limbiqes en trois catégories (Puangsrichareern, 1995). L'aplasie ou perte totale des cellules souches se rencontre au cours des brûlures oculaires chimiques ou thermiques, des syndromes de Lyell et de Stevens-Johnson, après chirurgies multiples ou cryothérapie intéressant la région limbique, après port de lentilles de contact et dans les suites de kératites infectieuses ou immunologiques sévères (trachome, herpès, bactéries, atopie, rejet de greffe de cornée, etc.). Une perte progressive de la fonction des cellules souches par insuffisance du support stromal limbique est le mécanisme physiopathologique envisagé dans l'aniridie, le ptérygion et les carcinomes limbiqes, les déficits endocrines multiples, les kératites neurotrophiques et les inflammations limbiqes (limbites). Enfin, certains cas sont classés comme idiopathiques en l'absence de cause décelable. Globalement, l'étiologie la plus fréquente est de loin la perte totale des cellules souches par brûlure de la surface oculaire.

1.3. Syndrome d'insuffisance en cellules souches limbiqes et conjonctivales

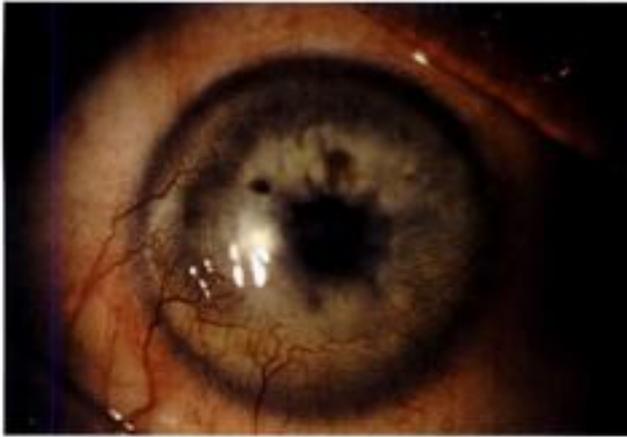
Nos connaissances sur les cellules souches conjonctivales sont actuellement beaucoup moins nombreuses que celles concernant les cellules souches limbiqes. Si l'existence de cellules souches épithéliales conjonctivales est admise, leur localisation et leurs caractéristiques ne sont pas connues avec précision. Ces cellules seraient situées au niveau des culs-de-sac conjonctivaux (Holland, 1996).

L'atteinte limbique peut s'associer à une atteinte conjonctivale au cours de trois grandes pathologies : les brûlures de la surface oculaire, les syndromes de Lyell et de Stevens-Johnson et la maladie de Lortat-Jacob (pemphigoïde oculaire cicatricielle).

Aux signes de l'insuffisance limbique, s'ajoutent ceux de l'atteinte conjonctivale : fibrose conjonctivale, opacification et kératinisation de la surface oculaire, symblépharons, syndrome sec, déficit en mucines par destruction des cellules caliciformes.

Hidden page

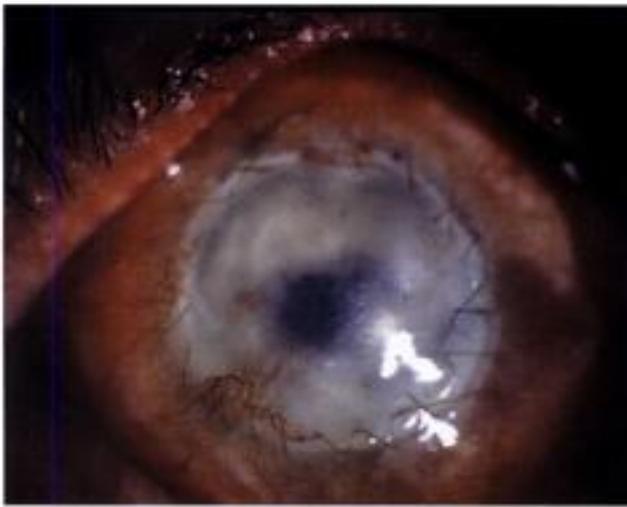
Hidden page



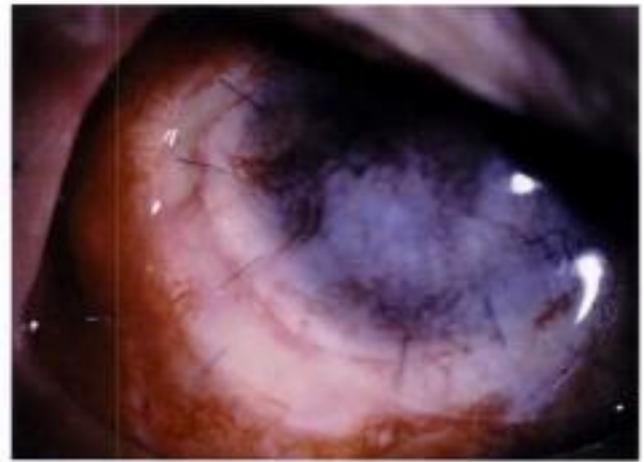
Brûlure oculaire caustique par de la chaux.



Brûlure oculaire thermique grave.



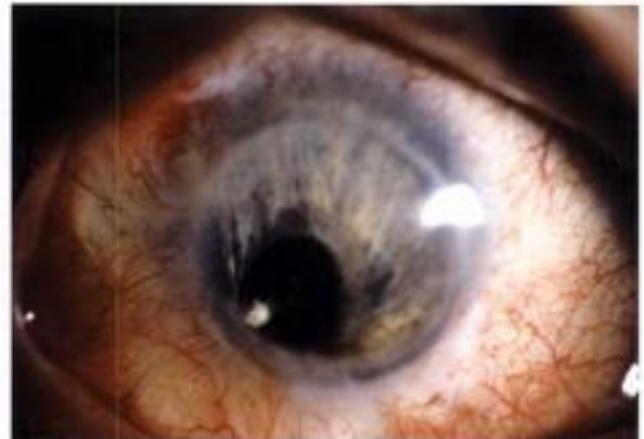
Même patient après allogreffe de limbe circulaire.



Même patient après allogreffe de limbe sur 180°.



Même patient après kératoplastie transfixiante réalisée dans un deuxième temps.



Même patient après kératoplastie transfixiante réalisée dans un deuxième temps.

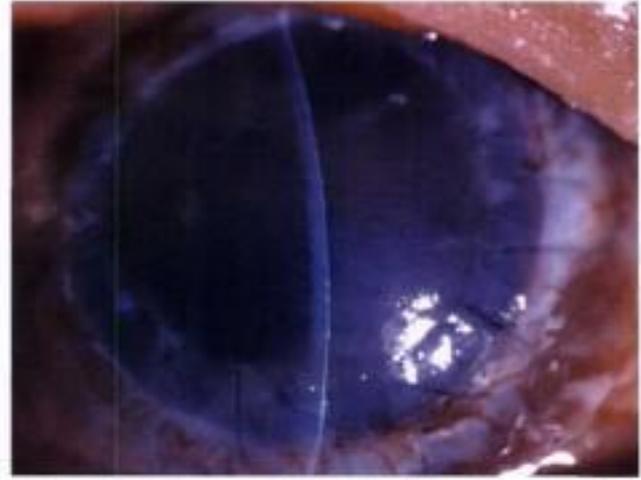
Hidden page

Hidden page

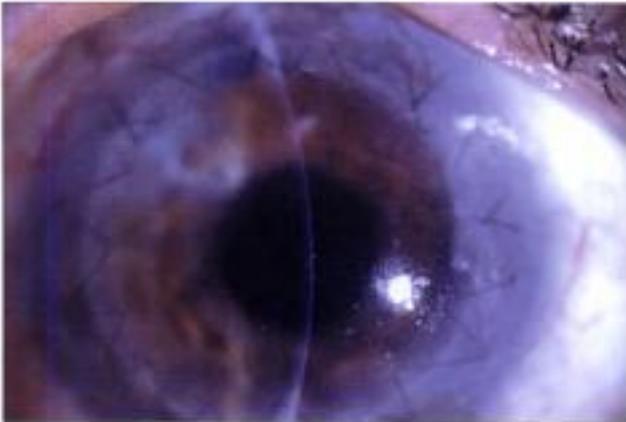
Hidden page



Autogreffe de limbe réalisée pour une insuffisance limbique après séquelles de kératite infectieuse et chirurgie du décollement de rétine.



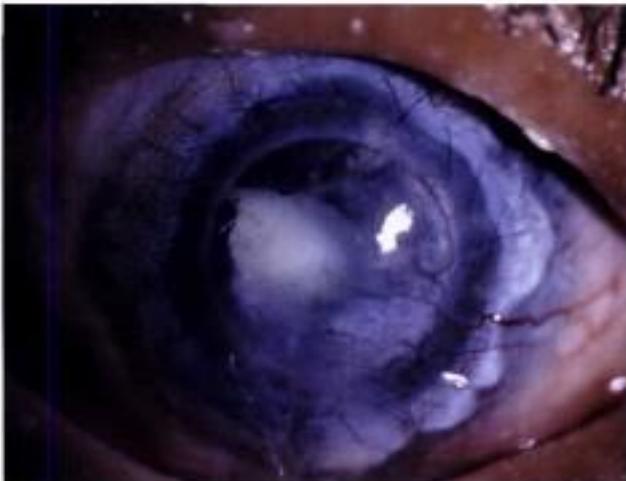
Même patiente 8 jours après kératoplastie transfixiante associée à une chirurgie de la cataracte et une greffe de membrane amniotique.



Même patiente après kératoplastie transfixiante réalisée dans un deuxième temps. Acuité visuelle 5/10.



Échec de la reconstruction de la surface oculaire : récurrence de la pathologie initiale sur les greffons.



Allogreffe de limbe sur 360° chez une patiente ayant un syndrome de Stevens-Johnson et un lupus érythémateux disséminé, ayant déjà subi une greffe de cornée (qui est en échec). Aspect à 2 mois de la greffe de limbe.



Même patiente : symblépharons.

4. Résultats

Apprécier le résultat d'une greffe de limbe n'est pas facile. Les critères de succès de la greffe de limbe sont rarement rapportés dans la littérature et la plupart des auteurs se contentent de donner cas par cas l'évolution de la néovascularisation cornéenne, des défauts épithéliaux et de l'acuité visuelle. Globalement, sont considérés comme des succès les cas où le syndrome d'insuffisance limbique n'a pas récidivé et où l'état de la surface oculaire s'est amélioré. Cela correspond rarement à la restauration d'une physiologie limbique strictement normale. En effet, l'épithélium qui recouvre la cornée après greffe de limbe est moins régulier et moins transparent que celui d'une cornée normale. Cela peut être apprécié au biomicroscope au fort grossissement en fente fine avec une lumière blanche et en éclairage diffus avec une lumière bleue après instillation de fluorescéine. Les photographies de la surface cornéenne réalisées à la lampe à fente ne permettent pas d'apprécier de manière fine l'état de l'épithélium cornéen. Seul l'examen avec une lampe à fente de bonne qualité et un grossissement important (objectif 40) le permet.

4.1. Autogreffe de limbe

Les séries d'autogreffes de limbe publiées restent peu nombreuses et incluent un nombre relativement faible de patients. L'amélioration de la surface oculaire est obtenue dans 75 à 100 % des cas, mais la restauration d'une acuité visuelle utile demande souvent la réalisation d'une kératoplastie. Les complications au niveau de l'œil donneur sont exceptionnelles pourvu que celui-ci soit sain. Un cas de kératite filamenteuse le long de la zone prélevée a été publié (Dua, 2000).

Kenyon (1989) rapporte une série de 21 patients opérés avec suivi moyen de 18 mois. La surface oculaire est améliorée dans 95 % des cas et l'acuité visuelle progresse de deux lignes ou plus dans 81 % des cas. Huit kératoplasties transfixiantes (7) ou lamellaire (1) ont été réalisées, toutes sont des succès. Globalement, les résultats de l'autogreffe de limbe dans les brûlures oculaires unilatérales sont bons (Cardoen, 1999 ; Nuijts, 1999). Deux études comportent exclusivement ou quasi exclusivement des patients greffés pour des brûlures de la surface oculaire (Frucht-Pery, 1998 ; Rao, 1999). Dans ces études, le taux de succès de l'autogreffe de limbe est supérieur à 90 %. L'acuité visuelle s'améliore dans plus de 90 % des cas. Le taux de succès des kératoplasties faites secondairement est élevé, proche de 100 %. Néanmoins, le suivi moyen est limité, compris entre un et deux ans.

Notre expérience porte sur 12 patients dont l'âge moyen est de 48 ans (Borderie, 2000 et 2003). Dans six cas l'indication opératoire était une brûlure, dans trois cas un rejet de greffe de cornée, dans un cas une kératite infectieuse sévère, dans un cas des séquelles de chirurgie du décollement de rétine et dans un cas un ptérygion sévère. Le délai moyen de la greffe par rapport au traumatisme initial était de 82 mois. Huit patients ont été opérés secondairement d'une kératoplastie transfixiante avec un délai moyen de 11 mois entre l'autogreffe de limbe et la kératoplastie. Le suivi moyen est de 29 mois. Globalement, le taux d'amélioration de la surface oculaire est de 75 % et celui de la kératoplastie de 63 %. L'acuité visuelle moyenne initiale était de 1/20 et l'acuité visuelle finale de 2,9/10. L'analyse histologique de l'épithélium de quatre boutons cornéens prélevés au cours de la kératoplastie secondaire a montré la restauration du phénotype épithélial cornéen (absence de cellules caliciformes) dans trois cas (Moldovan, 1999).

Dans les ptérygions sévères récidivants, l'autogreffe de limbe donne d'excellents résultats et semble au moins aussi efficace que l'application peropératoire de mitomycine (Gris, 2000 ; Mutlu, 1999). Elle constitue pour certains le traitement de référence des ptérygions récidivants. Dans une série de 17 ptérygions récidivants, Dekaris (2002) rapporte un taux de récurrence de 12 % après un suivi de six à 18 mois. L'étude de Nabawi (2003) inclut 34 yeux greffés avec application peropératoire de mitomycine. Aucun cas de récurrence n'est rapporté après un suivi minimal de 18 mois.

4.2. Allogreffe de limbe

La principale complication de l'allogreffe de limbe est l'absence d'amélioration de la surface cornéenne. Cette complication peut être secondaire à un défaut de viabilité des cellules épithéliales limbiques du greffon ou un rejet. Le rejet se manifeste volontiers par des hémorragies (Swift, 1996) et une ischémie du greffon, suivies d'une néovascularisation qui envahit le greffon et la surface cornéenne. Globalement, l'amélioration de la surface oculaire est obtenue dans au moins la moitié des cas et 50 % des kératoplasties réalisées sur des yeux traités par allogreffe de limbe restent claires. L'amélioration de l'acuité visuelle est retrouvée dans 60 à 80 % des cas. Un an après la greffe, les cellules épithéliales présentes à la surface de la cornée proviennent du donneur dans au moins 50 % des cas (Shimazaki, 1999). Le pronostic de l'allogreffe de limbe est plus réservé dans les pathologies immunologiques que dans les autres causes d'insuffisance limbique (Samson, 2002).

Résultats des autogreffes de limbe

Étude	<i>Keriyon, 1989</i>	<i>Tan, 1996</i>	<i>Frucht-Pery, 1998</i>	<i>Rao, 1999</i>	<i>Borderie, 2000, 2003</i>
Effectif	21	9	9	16	12
Suivi moyen (mois)	18	27	7-60	19	29
Gain de 2 lignes ou + (%)	81			69	67
Amélioration de la surface oculaire (%)	95	78	100	94	75
Succès KT secondaire	6/6		3/3	6/7	5/8

Hidden page

Hidden page

Hidden page

Bibliographie

- Azuara-Blanco A, Pilla CT, Dua HS. Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction. *Br J Ophthalmol* 1999; 83: 399-402.
- Basti S, Mathur U. Unusual intermediate-term outcome in three cases of limbal autograft transplantation. *Ophthalmology* 1999; 106: 958-963.
- Borderie V, Moldovan M, Touzeau O, Bourcier T, Laroche L. Greffes de limbe et de membrane amniotique. *Encycl Méd Chir (Elsevier, Paris), Ophthalmologie*, 21-2000-A-05, 2000, 6 p.
- Borderie V, Touzeau O, Bourcier T, Allouch C, Scher S, Laroche L. Traitement des séquelles de brûlures oculaires par la greffe de limbe. *J Fr Ophtalmol* 2003; 26: 710-716.
- Cardoen L, Foets B. Limbal transplantation after chemical injuries of the eye. *Bull Soc Belge Ophtalmol* 1999; 272: 105-110.
- Chuck RS, Behrens A, McDonnell PJ. Microkeratome-based limbal harvester for limbal stem cell transplantation: preliminary studies. *Am J Ophthalmol* 2001; 131: 377-378.
- DeKaris I, Gabric N, Karaman Z, Mravcic J, Kastelan S. Limbal-conjunctival autograft transplantation for recurrent pterygium. *Eur J Ophthalmol* 2002; 12: 177-182.
- Dua HS, Azuara-Blanco A. Allo-limbal transplantation in patients with limbal stem cell deficiency. *Br J Ophthalmol* 1999; 83: 414-419.
- Dua HS, Azuara-Blanco A. Autologous limbal transplantation in patients with unilateral corneal stem cell deficiency. *Br J Ophthalmol* 2000; 84: 273-278.
- Dua HS, Azuara-Blanco A. Limbal stem cells of the corneal epithelium. *Surv Ophthalmol* 2000; 44: 415-425.
- España EM, Grueterich M, Ti SE, Tseng SC. Phenotypic study of a case receiving a keratolimbal allograft and amniotic membrane for total limbal stem cell deficiency. *Ophthalmology* 2003; 110: 481-486.
- Frucht-Pery J, Siganos CS, Solomon A, Scheman L, Brautbar C, Zauberman H. Limbal cell autograft transplantation for severe ocular surface disorders. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1998; 236: 582-587.
- Fukuda K, Chikama TI, Nakamura M, Nishida T. Differential distribution of subchains of the basement membrane components type IV collagen and laminin among the amniotic membrane, cornea, and conjunctiva. *Cornea* 1999; 18: 73-79.
- Gatnel D, Hoang-Xuan T. Le déficit en cellules souches limbiques. *J Fr Ophtalmol* 2000; 23: 718-728.
- Gris O, Guel JL, Del Campo Z. Limbal-conjunctival autograft transplantation for the treatment of recurrent pterygium. *Ophthalmology* 2000; 107: 270-273.
- Henderson TR, Findlay I, Matthews PL, Noble BA. Identifying the origin of single corneal cells by DNA fingerprinting: part II-application to limbal allografting. *Cornea* 2001; 20: 404-407.
- Holland EJ, Djalilian AR, Schwartz GS. Management of aniridic keratopathy with keratolimbal allograft: a limbal stem cell transplantation technique. *Ophthalmology* 2003; 110: 125-130.
- Holland EJ. Epithelial transplantation for the management of severe ocular surface disease. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1996; 94: 677-743.
- Holland JH, Schwartz GS. The evolution of epithelial transplantation for severe ocular surface disease and a proposed classification system. *Cornea* 1996; 15: 549-556.
- Jenkins C, Tullis L, Liu C, Buckley R. Limbal transplantations in the management of chronic contact-lens-associated epitheliopathy. *Eye* 1993; 7: 629-633.
- Keenyon KR, Tseng SC. Limbal autograft transplantation for ocular surface disorders. *Ophthalmology* 1989; 96: 709-723.
- Koizumi N, Inatomi T, Quantock AJ, Fullwood NJ, Dots A, Kinoshita S. Amniotic membrane as a substrate for cultivating limbal corneal epithelial cells for autologous transplantation in rabbits. *Cornea* 2000; 19: 65-71.
- Koizumi N, Inatomi T, Sotocoro CJ, Fullwood NJ, Quantock AJ, Kinoshita S. Growth factor mRNA and protein in preserved human amniotic membrane. *Curr Eye Res* 2000; 20: 173-177.
- Kruse FE, Jousseaume AM, Roberscheidt K, You L, Sinn B, Baumann J, Volcker HE. Cryopreserved human amniotic membrane for ocular surface reconstruction. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2000; 238: 68-75.
- Kuckelkorn R, Keller C, Redbrake C. Long-term results of large diameter keratoplasties in the treatment of severe chemical and thermal eye burns. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 2001; 218: 542-552.
- Lee SH, Tseng SC. Amniotic membrane transplantation for persistent epithelial defects with ulceration. *Am J Ophthalmol* 1997; 123: 303-312.
- McCulley JP. Chemical injuries of the eye. In: Leisbowitz HM, Waring III GO, eds. *Corneal disorders. Clinical diagnosis and management*. 2nd ed. WB Saunders Company, Philadelphia, 1998: 770-90.
- Moldovan SM, Borderie V, Baudrimont M, Laroche L. Traitement du syndrome d'insuffisance en cellules souches limbiques unilatéral par autogreffe de limbe. *J Fr Ophtalmol* 1999; 22: 302-309.
- Maraine M, Salezy P, Watt L, Retout A, Brassier G. Dfficience des cellules germinatives de l'épithélium cornéen et autogreffe limbique. A propos de huit cas consécutifs. *J Fr Ophtalmol* 2000; 23: 141-50.
- Matlu FM, Sebaci G, Tatar I, Yildirim E. A comparative study of recurrent pterygium surgery: limbal conjunctival autograft transplantation versus mitomycin C with conjunctival flap. *Ophthalmology* 1999; 106: 817-821.
- Nabawi KS, Ghonim MA, Ali MH. Evaluation of limbal conjunctival autograft and low-dose mitomycin C in the treatment of recurrent pterygium. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging* 2003; 34: 193-196.
- Nishiwaki-Dantas MC, Dantas PE, Reggi JR. Ipsilateral limbal translocation for treatment of partial limbal deficiency secondary to ocular alkali burn. *Br J Ophthalmol* 2001; 85: 1031-1033.
- Nuijts RM. Autologous limbal transplantation in unilateral chemical burns. *Doc Ophthalmol* 1999; 98: 257-266.
- Pellegrini G, Traverso CE, Franz AT, Zingirian M, Cancedda R, De Luca M. Long-term restoration of damaged corneal surfaces with autologous cultivated corneal epithelium. *Lancet* 1997; 349: 990-993.
- Pires RT, Tseng SC, Prabbasawat P, Puangsricharern V, Maskin SL, Kim JC, Tan DT. Amniotic membrane transplantation for symptomatic bullous keratopathy. *Arch Ophthalmol* 1999; 117: 1291-1297.
- Prabbasawat P, Tesavibul N, Komolsuradej W. Single and multilayered amniotic membrane transplantation for persistent corneal epithelial defect with and without stromal thinning and perforation. *Br J Ophthalmol* 2001; 85: 1455-1463.
- Puangsricharern V, Tseng SC. Cytologic evidence of corneal diseases with limbal stem cell deficiency. *Ophthalmology* 1995; 102: 1476-1485.
- Rao SK, Rajagopal R, Sitalakshmi G, Padmanabhan P. Limbal allografting from related live donors for corneal surface reconstruction. *Ophthalmology* 1999; 106: 822-828.
- Rao SK, Rajagopal R, Sitalakshmi G, Padmanabhan P. Limbal autografting: comparison of results in the acute and chronic phases of ocular surface burns. *Cornea* 1999; 18: 164-171.
- Reinhard T, Sundmacher R, Spelsberg H, Althaus C. Homologous penetrating central limbo-keratoplasty (HPCLK) in bilateral limbal stem cell insufficiency. *Acta Ophthalmol Scand* 1999; 77: 663-667.
- Samson CM, Ndaiguba C, Baltatzis S, Foster CS. Limbal stem cell transplantation in chronic inflammatory eye disease. *Ophthalmology* 2002; 109: 862-868.
- Sangwan VS, Murthy SI, Bansal AK, Rao GN. Surgical treatment of chronically recurring pterygium. *Cornea* 2003; 22: 63-65.
- Shimazaki J, Kaido M, Shinozaki N, Shimamura S, Munkhbat B, Hagihara M, et al. Evidence of long-term survival of donor-derived cells after limbal allograft transplantation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999; 40: 1664-1668.
- Shimazaki J, Shinozaki N, Tsubota K. Transplantation of amniotic membrane and limbal autograft for patients with recurrent pterygium associated with symblepharon. *Br J Ophthalmol* 1998; 82: 235-240.
- Shimazaki J, Yang HY, Tsubota K. Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction in patients with chemical and thermal burns. *Ophthalmology* 1997; 104: 2068-2076.
- Shimazaki J, Yang HY, Tsubota K. Limbal autograft transplantation for recurrent and advanced pterygia. *Ophthalmic Surg Lasers* 1996; 27: 917-923.
- Solomon A, Ellies P, Anderson DF, Touhami A, Grueterich M, España EM, Ti SE, Goto E, Feuer WJ, Tseng SC. Long-term outcome of keratolimbal allograft with or without penetrating keratoplasty for total limbal stem cell deficiency. *Ophthalmology* 2002; 109: 1159-1166.
- Stoiber J, Muss WH, Pöhl-Gubo G, Ruckhofer J, Grabner G. Histopathology of human corneas after amniotic membrane and limbal stem cell transplantation for severe chemical burn. *Cornea* 2002; 21: 482-489.
- Sundmacher R, Spelsberg H, Reinhard T. Homologous penetrating central limbo-keratoplasty in granular and lattice corneal dystrophy. *Cornea* 1999; 18: 664-670.
- Swift GJ, Aggarwal RK, Davis GJ, Coster DJ, Williams KA. Survival of rabbit limbal stem cell allografts. *Transplantation* 1996; 62: 568-574.
- Tan DT, Ficker LA, Buckley RJ. Limbal transplantation. *Ophthalmology* 1996; 103: 29-36.
- Tsai RJ, Tseng SC. Effect of stromal inflammation on the outcome of limbal transplantation for corneal surface reconstruction. *Cornea* 1995; 14: 439-449.
- Tsai RJ, Tseng SC. Human allograft limbal transplantation for corneal surface reconstruction. *Cornea* 1994; 13: 389-400.
- Tseng SC, Li DQ, Ma X. Suppression of transforming growth factor-beta isoforms, TGF-beta receptor type II, and myofibroblast differentiation in cultured human corneal and limbal fibroblasts by amniotic membrane matrix. *J Cell Physiol* 1999; 179: 325-335.
- Tseng SC, Prabbasawat P, Barton K, Gray T, Meller D. Amniotic membrane transplantation with or without limbal allografts for corneal surface reconstruction in patients with limbal stem cell deficiency. *Arch Ophthalmol* 1998; 116: 431-441.
- Tseng SC. Concept and application of limbal stem cells. *Eye* 1989; 3: 141-157.
- Tsubota K, Satake Y, Kaido M, Shinozaki N, Shimamura S, Bussen-Miyajima H, Shimazaki J. Treatment of severe ocular-surface disorders with corneal epithelial stem-cell transplantation. *N Engl J Med* 1999; 340: 1697-1703.
- Tsubota K, Satake Y, Ohyama M, Toda I, Takano Y, Ono M, Shimazaki N, Shimazaki J. Surgical reconstruction of the ocular surface in advanced ocular cicatricial pemphigoid and Stevens-Johnson syndrome. *Am J Ophthalmol* 1996; 122: 38-52.
- Tsubota K, Toda I, Saito H, Shinozaki N, Shimazaki J. Reconstruction of the corneal epithelium by limbal allograft transplantation for severe ocular surface disorders. *Ophthalmology* 1995; 102: 1486-1496.
- Vajpayee RB, Thomas S, Sharma N, Dada T, Tabin GC. Large-diameter lamellar keratoplasty in severe ocular alkali burns: a technique of stem cell transplantation. *Ophthalmology* 2000; 107: 1762-1768.
- Xu KP, Wu Y, Zhou J, Zhang X. Survival of rabbit limbal stem cell allografts after administration of cyclosporin A. *Cornea* 1999; 18: 459-465.
- Xu KP, Wu Y, Zhou J, Zhang X. Survival of rabbit limbal stem cell allografts after administration of cyclosporin A. *Cornea* 1999; 18: 459-465.

Chapitre 6

Greffes de membrane amniotique

Propriétés

Indications

Technique opératoire

Résultats

1. Propriétés

La membrane amniotique est un tissu situé à l'interface entre le placenta et le liquide amniotique. C'est la plus interne des membranes fœtales. Elle est en contact avec le liquide amniotique par son épithélium unistratifié, solidement attaché à un mésenchyme sous-jacent avasculaire et très riche en collagène. Elle comporte un stroma et un épithélium monostratifié cubique reposant sur une membrane basale. Le stroma comporte une couche acellulaire compacte, une couche des fibroblastes et une couche spongieuse (Van Herendael, 1978).

Bien qu'utilisée pour la première fois il y a plus de 60 ans par De Roth dans le traitement des symblépharons (1940), puis par Lavery (1946) et Sorsby (1947) dans les brûlures caustiques de l'œil, la greffe de membrane amniotique est pour nous une technique récente. Elle permet de diminuer l'inflammation, l'angiogenèse et la fibrose de la surface oculaire (Hao, 2000), de favoriser sa réépithélialisation (en facilitant la migration des cellules épithéliales [Tseng, 1997] et l'adhésion des cellules basales [Khodadoust, 1968]), de diminuer l'apoptose des cellules épithéliales (Boudreau, 1995) et de préparer le lit d'une greffe de limbe ultérieure.

Les propriétés anti-inflammatoires résultent de mécanismes complexes : non seulement la membrane amniotique contient différentes antiprotéases (α_1 antitrypsine, α_2 macroglobuline, α_2 antichymotrypsine, inhibiteur de l' α_2 plasmine) qui la rendent capable d'inhiber, in vitro et chez l'animal, différentes protéases et collagénases (trypsine, plasmine, cathepsine G, collagénases et protéases de *acanthamoeba* et *Pseudomonas aeruginosa*), mais elle pourrait aussi inhiber la synthèse de différentes chémokines (protéines recrutant les cellules inflammatoires dans les tissus) par les kératocytes stromaux (Kim, 1998 ; Na, 1998).

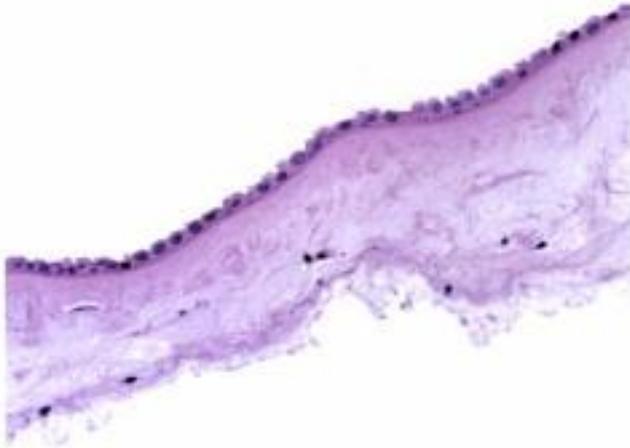
La membrane amniotique est une source de facteurs de croissance : *basic fibroblast growth factor* (bFGF), *transforming growth factor- β 2* (TGF- β 2), présents dans l'épithélium ; TGF- β 1 et *hepatocyte growth factor* (HGF) retrouvés dans l'épithélium et le stroma ; mais aussi *epidermal growth factor* (EGF), TGF- α et *keratinocyte growth factor* (KGF). La concentration en facteurs de croissance est cependant diminuée par la méthode de conservation actuelle (d'environ 50 % après un mois à -80 °C) (Sato, 1998). La greffe de membrane amniotique inhibe la voie de signalisation des TGF- β responsable de l'activation des fibroblastes dans le processus de cicatrisation

(Lee, 2000), ce qui permet d'expliquer son action antifibrotique. Expérimentalement, la culture de kératocytes et de fibroblastes limbiques humains sur une membrane amniotique induit une suppression de l'expression du TGF β (isoformes 1 à 3) et du récepteur de type II au TGF β par ces cellules et inhibe leur différenciation myofibroblastique (diminution de l'expression de l' α -actine du muscle lisse et de l'intégrine α -5) ainsi que la prolifération et l'apoptose de ces cellules (Tseng, 1999).

La greffe de membrane amniotique permet d'apporter des constituants de la membrane basale (collagène IV, laminine 1, laminine 5, fibronectine, collagène VII) (Fukuda, 1999). Après greffe, elle agit comme une membrane basale de substitution. Elle favorise la différenciation des cellules épithéliales (Kurpaus, 1992). Elle restaure le phénotype conjonctival (mais pas cornéen) des cellules épithéliales de la surface oculaire (Koizumi, 2000 ; Fukuda, 1999). Il faut remarquer que le collagène IV de la membrane basale de l'épithélium amniotique a la même composition que celui de la membrane basale de l'épithélium conjonctival (présence de chaînes α 2, absence de chaînes α 5) (Fukuda, 1999), qui est différent de celui de la membrane basale de l'épithélium cornéen.

In vivo la membrane amniotique pourrait aussi recréer une barrière mécanique inhibant les échanges de cytokines entre les couches épithéliales et stromales des tissus lésés tout en protégeant la surface atteinte des larmes chargées en médiateurs et cellules inflammatoires. Cet effet de barrière s'opposerait aussi à l'adhésion de surfaces inflammatoires adjacente (prévention des symblépharons) ainsi qu'à l'invasion de la cornée par les néovaisseaux (intérêt en association avec l'ablation des pannus néovasculaires dans les insuffisances limbiques partielles). L'hypothèse d'une action spécifique du stroma amniotique, normalement avasculaire, s'opposant à l'apparition de néovaisseaux est controversée (Hao, 2000).

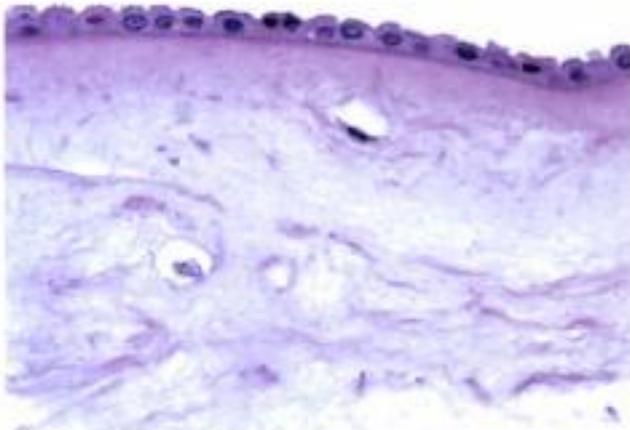
La membrane amniotique n'exprime pas les antigènes HLA classe II (Adinolfi, 1982), elle exprime les antigènes HLA classe I, HLA-G et Fas-ligand (Kubo, 2001). Cela contribue à expliquer l'absence de réaction de rejet après la greffe. De plus, elle inhibe les lymphocytes T alloréactifs in vitro (Ueta, 2002), ce qui pourrait favoriser la survie des allogreffes de limbe combinées aux greffes de membrane amniotique. Elle piège également les cellules inflammatoires (Shimura, 2001).



Histologie d'un greffon amniotique conservé par cryoconservation. Le greffon a été fixé juste après décongélation. Coloration PAS.



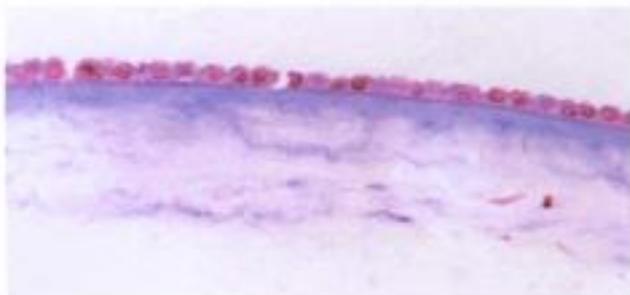
Coloration HES. Noter la présence de fibroblastes dans le stroma amniotique (couche des fibroblastes).



Le greffon amniotique est composé d'un stroma et d'un épithélium qui repose sur une membrane basale. Le stroma comporte une couche acellulaire compacte, une couche des fibroblastes et une couche spongieuse. Coloration PAS.



Coloration par le PAS. L'épithélium est cubique monostratifié. La couche acellulaire compacte est située entre la membrane basale épithéliale et la couche des fibroblastes.



Histologie d'un greffon amniotique après coloration par le bleu alcian.



Coloration par le trichrome vert.

2. Indications

2.1. Pathologie cornéenne

La greffe de membrane amniotique a été proposée pour traiter certaines pathologies cornéennes épithéliales : dans le traitement des défauts épithéliaux réfractaires (Lee, 1997 ; Shimazaki, 1998), dans la reconstruction de la surface oculaire après brûlures chimiques ou thermiques (Tsubota, 1996), au cours des syndromes d'insuffisance limbique, comme seule intervention, ou bien en association ou en préparation d'une greffe de limbe (Tsubota, 1996). Dans le traitement des ulcérations et défauts épithéliaux, la membrane amniotique peut être utilisée soit comme substrat sur lequel les cellules épithéliales repousseront à partir des bords de l'ulcère (dans ce cas la taille du greffon doit être inférieure à celle de l'ulcère), soit comme pansement qui recouvre la surface en cours de cicatrisation, en prévient l'exposition, l'humidifie et la nourrit. Dans le premier cas, l'amnios reste souvent intégré dans l'épaisseur de la cornée où il gagne souvent en transparence avec le temps (si l'ulcère est très creusant, plusieurs couches de membrane amniotique peuvent être utilisées pour combler le déficit stromal) ; dans le second, il se dissout après un délai assez court, d'autant plus court que la surface oculaire réceptrice est inflammatoire (Hanada, 2001). La greffe de membrane amniotique ne peut suffire à traiter une insuffisance limbique sévère. Le traitement par greffe de membrane amniotique des brûlures oculaires sévères avec destruction complète du limbe aboutit à un échec (Joseph, 2001). Elle est également utilisée comme traitement symptomatique des kératopathies bulleuses douloureuses chez les patients ayant par ailleurs une fonction visuelle définitivement compromise (Pires, 1999). D'autres auteurs l'ont proposée dans les maladies oculaires cicatricielles (Tsubota, 1996), mais le taux de succès est faible. Elle peut être intéressante dans certains cas d'ulcères cornéens d'origine infec-

tieuse ne cicatrisant pas malgré un contrôle médical de l'infection (Chen, 2002 ; Kim, 2001). Elle a été utilisée dans les ulcères vernaux (Sridhar, 2001), dans les kératopathies en bandelette (Anderson, 2001).

2.2. Pathologie conjonctivale

La greffe de membrane amniotique permet de traiter certaines pathologies conjonctivales épithéliales. Elle est utilisée dans les ptérygions sévères avec ou sans symblépharon (Prabhasawat, 1997) ainsi que dans la reconstruction de la surface conjonctivale après excision de tumeurs et de symblépharons (España, 2002 ; Shields, 2001 ; Tseng, 1997). Elle est efficace pour reconstruire les culs-de-sac conjonctivaux après diverses pathologies telles que la pemphigoïde oculaire cicatricielle, les ptérygions sévères, les séquelles de chirurgie du strabisme et d'autres maladies inflammatoires ou allergiques chroniques (Solomon, 2003). Elle a été proposée à la phase aiguë du syndrome de Lyell (John, 2002), pour traiter les bulles de filtration poreuses après trabéculéctomie-mitomycine (Kee, 2002), dans la chirurgie de l'entropion (Ti, 2001) et dans le traitement des conjunctivochalasis (Georgiadis, 2001). Dans le traitement des bulles de filtration poreuses après trabéculéctomie, la greffe de membrane amniotique ne donne pas de meilleurs résultats que la résection-recouvrement conjonctival (Budenz, 2000).

2.3. Autres indications

La greffe de membrane amniotique a été proposée pour traiter des scléromalacies en association avec une greffe de sclère (Oh, 2003), pour traiter des perforations sclérales après chirurgie du ptérygion (Lin, 2002), pour traiter les ulcères scléraux infectieux (Ma, 2002).



Brûlure cornéenne au stade aigu.



Même patient : détail du pannus.



Ulcère rebelle sur greffe de cornée dont l'endothélium est défaillant.



Aspect le lendemain de l'intervention.



Kératite secondaire à une acné rosacée compliquée d'une insuffisance limbique partielle avec pannus envahissant la cornée nasale. Acuité visuelle : 4/10.



Aspect à 1 mois. Acuité visuelle 10/10.

Hidden page

Hidden page

Les greffes en ophtalmologie

greffon amniotique est appliqué face basale sur la cornée (Kim, 2000) (contrairement à ce qui est proposé actuellement par les auteurs).

Le vert de lissamine a été proposé pour colorer la membrane amniotique en peropératoire et donc faciliter son utilisation (Hu, 2003). La coloration disparaît en deux heures.

Lorsqu'elle est suturée à la surface de la cornée, la membrane amniotique est recouverte par l'épithélium cornéen et intégrée au stroma. Elle est progressivement résorbée et remplacée par un tissu fibreux. La résorption de la membrane est d'autant plus lente que le stroma est dépourvu de néovaisseaux et de cellules inflammatoires (Gris, 2002).

Hidden page

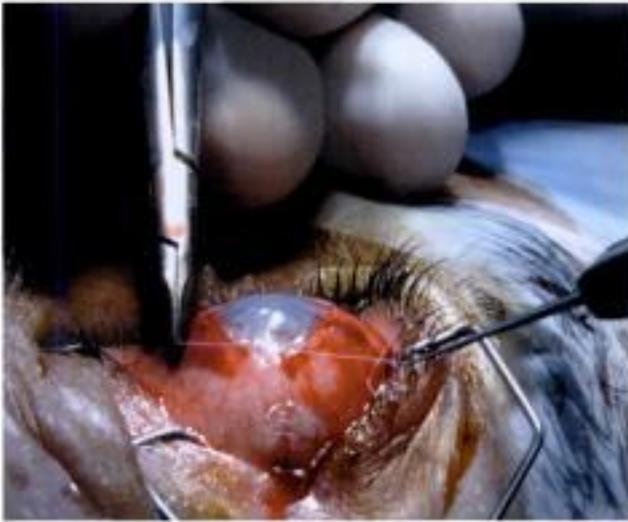
Hidden page



Puis dans la conjonctive périlimbique.



Aspect du 2^e greffon suturé à la conjonctive.



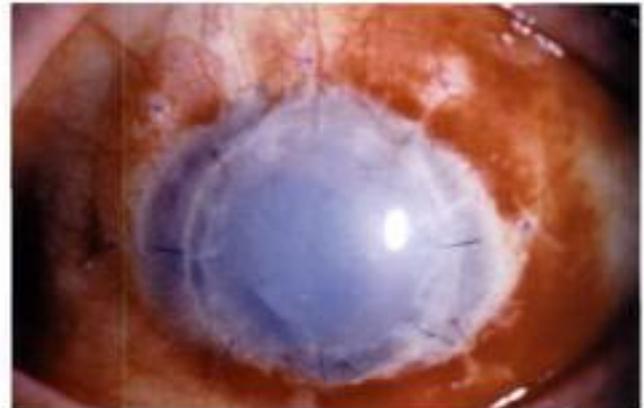
Le nœud est serré fermement.



Mise en place d'une lentille thérapeutique.



Le fil est coupé assez long car les points réalisés avec ce fil résorbable ont tendance à se desserrer rapidement.



Aspect à J7. La lentille thérapeutique sera laissée en place jusqu'à ce que le premier greffon amniotique soit totalement réépithérialisé.

4. Résultats

4.1. Complications

Bien que le recul dont nous disposons par rapport aux débuts de cette chirurgie soit peu important, les complications de la greffe de membrane amniotique semblent rares et peu nombreuses. Le principal risque est l'échec du traitement (absence d'efficacité thérapeutique). Des calcifications cornéennes ont été décrites après greffe de membrane amniotique avec une fréquence de 13 % après un délai allant de 3 à 17 semaines. Dans tous les cas, un collyre contenant des phosphates avait été utilisé (Anderson, 2003). Un cas d'hypopion résolutif sous corticothérapie locale et systémique a été décrit après une deuxième greffe de membrane amniotique (Gabler, 2000).

4.2. Résultats globaux

Les grandes séries de greffe de membrane amniotique sont encore rares. Anderson (2003) rapporte les résultats d'une série de 117 greffes avec une médiane de suivi de 25 semaines. Le taux de cicatrisation épithéliale (cornéenne ou conjonctivale) est de 83 %. Prabhasawat (2001) rapporte les résultats d'une série de 140 greffes suivies en moyenne sept mois. Le taux de succès global est de 76 %. Il est de 81 % dans les pathologies cornéennes et de 71 % dans les pathologies conjonctivales.

4.3. Résultats en fonction de l'indication opératoire

4.3.1. Ulcères cornéens chroniques (défaut épithélial postgreffe, insuffisance limbique partielle, kératites neurotrophiques)

Dans cette indication, les résultats de la greffe de membrane amniotique sont excellents. Lee (1997) rapporte les résultats de 11 ulcères cornéens chroniques (évoluant depuis 17 semaines en moyenne) traités par greffe de membrane amniotique et suivis en moyenne neuf mois. Dix cicatrisations sont obtenues après un délai moyen de quatre semaines et un cas est un échec. Dans l'étude de Tseng (1998), dix yeux ayant une forme modérée d'insuffisance limbique ont été traités par greffe de membrane amniotique seule. L'acuité visuelle est améliorée dans tous les cas. L'étude d'Anderson (2001) inclut 17 yeux ayant une insuffisance limbique partielle. La greffe de membrane amniotique permet une cicatrisation épithéliale stable dans tous les cas avec un suivi moyen de 26 mois. L'acuité visuelle est améliorée dans neuf cas sur dix. L'inflammation et la néovascularisation

régressent dans tous les cas. Le taux d'efficacité de la greffe de membrane amniotique dans les ulcères cornéens persistants a été évalué à 82 % dans une série de 28 yeux sans différence notable entre les sous-groupes (ulcère purement épithélial, ulcère épithélial et stromal, ulcère préperforatif) et avec un suivi moyen de 11 mois (Prabhasawat, 2001). Le délai moyen de réépithélialisation de la cornée après greffe est de deux semaines dans cette étude. Les causes d'échec sont des infections, une anesthésie cornéenne et une perforation. Solomon (2002) rapporte une série de 34 ulcères cornéens perforés ou préperforatifs traités par greffe de membrane amniotique. Le suivi moyen est de huit mois et le taux de cicatrisation des ulcères de 82 %. Gabric (2000) rapporte 67 % de bons résultats dans les ulcérations cornéennes (même préperforantes) et 33 % dans les défauts épithéliaux réfractaires après kératoplastie. Néanmoins, ces bons résultats doivent être tempérés par la possibilité de récurrence de l'ulcération après cicatrisation qui a été décrite dans un tiers des cas (Letko, 2001). Dans les ulcères neurotrophiques, Kruse (1999) rapporte neuf réépithélialisations sur 11 ulcères cornéens profonds neurotrophiques (dont six herpétiques), après greffe de plusieurs couches de membrane amniotique. Chen rapporte un taux de succès semblable avec 13 guérisons sur 17 (2000). Ivekovic (2002) rapporte un taux de cicatrisation de 100 % dans les kératites neurotrophiques sur une série de 11 cas suivis en moyenne 20 mois. Si la greffe de membrane amniotique est très efficace pour permettre la cicatrisation des défauts épithéliaux cornéens persistants, elle serait moins efficace en cas d'ulcère préperforé ou perforé (Azua-Blanco, 1999).

4.3.2. Brûlures oculaires

Dans les brûlures, thermiques ou chimiques, il semble préférable de réaliser la greffe de membrane amniotique à la phase aiguë. Néanmoins, de bons résultats sont également obtenus à la phase chronique en association avec la greffe de limbe (Ucakhan, 2002). Meller (2000), dans une étude prospective incluant des brûlures à la phase aiguë, retrouve 85 % de réépithélialisation dans les deux semaines et 77 % d'amélioration de l'acuité visuelle ainsi qu'une incidence basse de symblépharons (1 cas sur 13). Shridar (2000) rapporte de bons résultats dans deux cas avec atteinte limbique sévère. Dans notre expérience (Zito, 2002), même au stade séquellaire, une amélioration de la qualité de l'épithélium et de l'acuité visuelle est possible, en l'absence d'insuffisance lim-



Grefe de membrane amniotique faite pour un défaut épithélial chronique après kératoplastie transfixiante.



Grefe de membrane amniotique faite pour une pemphigoïde oculaire cicatricielle. Aspect à M1.



Grefe de membrane amniotique faite au stade chronique (M6) d'une brûlure oculaire grave avec insuffisance limbique partielle pour diminuer la néovascularisation cornéenne.



Même patiente à M12 : la pathologie épithéliale a totalement récidivé.



Grefe de membrane amniotique faite au stade aigu (J10) d'une brûlure oculaire grave pour favoriser la cicatrisation épithéliale.

bique totale. Shimazaki (1997) associe greffe de membrane amniotique et greffe de limbe dans le même temps opératoire. Il rapporte sept succès parmi sept yeux ayant une brûlure chimique ou thermique avec un suivi moyen de 12 mois. Gomes (2003) rapporte les résultats d'une étude prospective incluant 20 yeux traités par greffe de membrane amniotique associée ou non à une greffe de limbe autologue ou provenant d'un donneur apparenté, dont le suivi moyen est de 19 mois. Un succès anatomique (épithélium clair sans défaut épithélial ni anomalie de la perméabilité à la fluorescéine, diminution de la néovascularisation cornéenne) et cytologique (absence de cellules calciformes sur les empreintes cornéennes) est obtenu dans 75 % des cas avec un délai moyen de réépithélialisation cornéenne de trois semaines. Ce taux de succès est de 100 % lorsque l'insuffisance limbique est partielle et 69 % lorsqu'elle est complète.

4.3.3. Kératopathies bulleuses

L'étude multicentrique américaine sur la greffe de membrane amniotique au cours des kératopathies bulleuses inclut 50 patients. Quatre-vingt-dix pour cent des patients ont vu leur symptomatologie douloureuse disparaître après une greffe, 6 % après deux greffes et 4 % ont été des échecs partiels ou complets. Lorsque la kératopathie bulleuse s'accompagnait de défauts épithéliaux, ceux-ci ont cicatrisé en trois semaines dans tous les cas, et seuls 8 % des patients ont eu des ulcères récidivants après la greffe (Pires, 1999). Espana (2003) rapporte les résultats de 18 greffes de membrane amniotique réalisées dans cette indication avec un suivi moyen de deux ans. Une diminution des douleurs est obtenue dans neuf cas sur dix et les deux tiers des patients ont une disparition complète de ces douleurs. D'autres études confirment ces résultats (Mejia, 2002).

4.3.4. Kératoconjonctivites fibrosantes

Les résultats de la greffe de membrane amniotique dans les kératoconjonctivites fibrosantes sont réservés (Zito, 2000). Quelle que soit la technique utilisée, le traitement se heurte à la récurrence du processus pathologique auto-immun malgré les immunosuppresseurs (Tsubota, 1996). Une étude récente (Barabino, 2003) fait état d'une disparition des symblépharons dans tous les cas à quatre mois avec une récurrence à sept mois dans quatre cas sur neuf. Une restauration des cellules calciformes est obtenue dans quatre cas sur neuf à sept mois. Globalement, l'évolution se fait vers la récurrence de la pathologie

dans cette étude dont le suivi est pourtant court. Une autre étude rapporte de bons résultats dans une série de dix yeux greffés pour un syndrome de Stevens-Johnson avec un suivi moyen de 14 mois (Honavar 2000).

4.3.5. Insuffisance limbique sévère

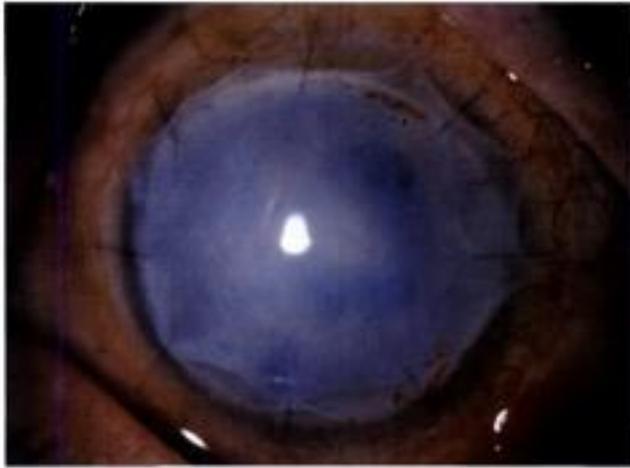
Meallet (2003) rapporte cinq succès dans cinq cas d'insuffisance limbique unilatérale traités par greffe de membrane amniotique combinée à une autogreffe de limbe, avec un suivi moyen de 22 mois. L'amélioration anatomique de la surface oculaire permet une amélioration de l'acuité visuelle comprise entre sept et 12 lignes.

4.3.6. Ulcères cornéens infectieux

Kim (2001) rapporte une série de 21 ulcères infectieux (bactériens, fongiques, viraux ou amibiens) traités par un traitement anti-infectieux associé à une greffe de membrane amniotique destinée à permettre la cicatrisation de l'ulcère. La cicatrisation est obtenue dans tous les cas.

4.3.7. Ptérygion

Petric (2002) rapporte dix cas de ptérygions récidivants traités par greffe de membrane amniotique. Le taux de récurrence du ptérygion est de 20 %. Shimazaki (2003) rapporte les résultats d'une série de 27 ptérygions récidivants traités par greffe de membrane amniotique associée à une autogreffe de limbe ($n = 15$) ou une autogreffe de conjonctive ($n = 12$). Le suivi moyen est de 15 mois et le taux de récurrence du ptérygion est de 15 %. L'autogreffe de limbe et l'autogreffe de conjonctive donnent des résultats similaires. L'auteur conseille donc de préférer la greffe de conjonctive afin d'épargner le limbe. Tekin (2001) rapporte les résultats d'une série de 28 greffes de membrane amniotique réalisées dans des ptérygions. Le suivi moyen est de 15 mois et le taux de récurrence du ptérygion est de 11 %. Ce taux de récurrence est significativement plus faible que celui d'une résection simple. L'étude de Solomon (2001) inclut 54 ptérygions traités par greffe de membrane amniotique et suivis 13 mois en moyenne. Le risque de récurrence du ptérygion à un an est de 10 % pour les ptérygions jamais opérés auparavant (ptérygions primaires) et 31 % pour les ptérygions récidivants. Dans la chirurgie des ptérygions primaires, la greffe de membrane amniotique donne des résultats équivalents à ceux de l'autogreffe de limbe ou de la résection avec application de mitomycine (Ma, 2000).



Grefe de membrane amniotique pour kératopathie bulleuse du pseudophake sur un œil ayant une fonction maculaire perdue. Aspect   J10. Les bulles sous-épithéliales et les douleurs ont disparu.



Même patiente à M24.



Même patiente à M1. La membrane amniotique est recouverte par l'épithélium cornéen.



Même patiente à M36. La membrane amniotique est toujours présente sous l'épithélium.



Même patiente à M6.

4.3.8. Conjonctivochalasis

Meller (2000) rapporte les résultats de l'utilisation de la membrane amniotique dans la chirurgie du conjonctivochalasis dans une série de 47 yeux suivis en moyenne sept mois. Le taux de succès global est de 98 % avec une disparition de l'épiphora dans 83 % des cas. Une cicatrice fibreuse est observée dans cinq cas sur 47 et un granulome conjonctival dans un cas.

4.3.9. Chirurgie des tumeurs de la surface oculaire

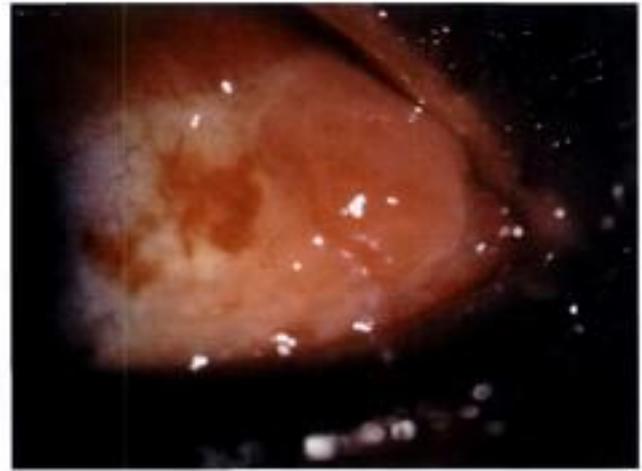
Espana (2002) rapporte les résultats d'une série de 16 yeux opérés de tumeurs (carcinome in situ, mélanose, mélanome) de la conjonctive avec reconstruction de la surface par greffe de membrane amniotique. Le suivi moyen est de deux ans et le taux de cicatrisation est de 100 %.

Greffes de membrane amniotique

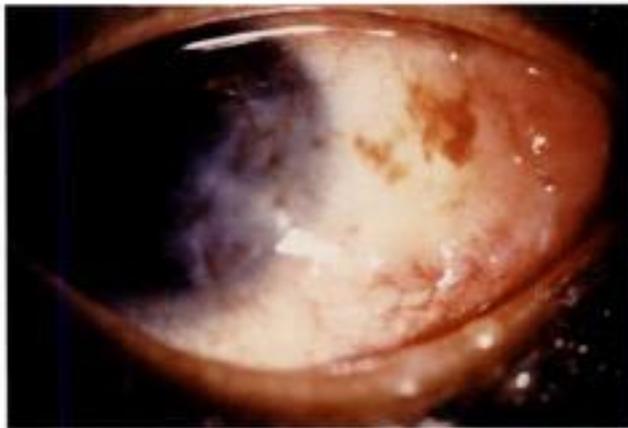
- La membrane amniotique est un tissu situé à l'interface entre le placenta et le liquide amniotique. C'est la plus interne des membranes fœtales.
- La greffe de membrane amniotique permet de diminuer l'inflammation, l'angiogenèse et la fibrose de la surface oculaire, de favoriser sa réépithélialisation (en facilitant la migration des cellules épithéliales et l'adhésion des cellules basales), de diminuer l'apoptose des cellules épithéliales et de préparer le lit d'une greffe de limbe ultérieure.
- La greffe de membrane amniotique permet de traiter des pathologies épithéliales cornéennes (déficits épithéliaux réfractaires, reconstruction de la surface oculaire après brûlures chimiques ou thermiques, syndromes d'insuffisances limbique — comme seule intervention ou bien en association ou en préparation d'une greffe de limbe —, kératopathies bulleuses douloureuses avec une fonction visuelle définitivement compromise, maladies oculaires cicatricielles, ulcères cornéens d'origine infectieuse ne cicatrisant pas malgré un contrôle médical de l'infection, ulcères vernaux) et conjonctivales (ptérygions sévères, reconstruction de la surface conjonctivale après exérèse de tumeurs et de symblépharons, séquelles de chirurgie du strabisme et d'autres maladies inflammatoires ou allergiques chroniques, phase aiguë du syndrome de Lyell).
- La membrane amniotique est prélevée sur un placenta obtenu au cours d'un accouchement par césarienne, chez une femme remplissant les conditions de sécurité sanitaire indispensables à toute greffe de tissu. Elle est conservée par congélation (-80°C) dans un milieu de culture cellulaire contenant du glycérol (50 %) jusqu'à la greffe. Cette cryoconservation détruit les cellules épithéliales amniotiques.
- L'intervention consiste à suturer un fragment de membrane sur la zone désépithélialisée par des points séparés. Elle est ensuite naturellement intégrée au stroma sous-jacent et recouverte par l'épithélium adjacent. La membrane amniotique peut être également utilisée comme une lentille pansement en couvrant la cornée et en suturant la membrane à la conjonctive. La réépithélialisation se fait alors sous la membrane.
- Les complications de la greffe de membrane amniotique semblent rares et peu nombreuses, le principal risque étant l'échec du traitement.
- Le taux de succès global est de l'ordre de 70 à 90 %. Il est meilleur dans les déficits épithéliaux cornéens réfractaires et dans les kératopathies bulleuses que dans les brûlures cornéennes avec insuffisance limbique partielle et dans la chirurgie du ptérygion. La greffe de membrane amniotique seule ne permet pas de traiter une insuffisance limbique totale.



Grefe de membrane amniotique pour un ptérygion sévère nasal et temporal.



Même patient : bourgeon charnu se développant dans le lit du ptérygion, nécessitant une excrèse.



Même patient.



Même patient à M24 ; absence de récive du ptérygion.

Résultats des greffes de membrane amniotique

	Lee, 1997	Tseng, 1998	Shimazaki, 1997	Pires, 1999	Prabhasawat, 2001	Anderson, 2003
Effectif	11	10	7	50	140	117
Pathologie	Ulcères cornéens chroniques	Insuffisances limbiques modérées	Brûlures chimiques	Kératopathies bulleuses	Diverses	Diverses
Suivi (mois)	9		12		7	6
Succès (%)	91	100	100	96	76	83

Bibliographie

- Adids PJ, Hart C, Hartley S. Bacterial contamination of amniotic membrane. *Br J Ophthalmol* 2001; 85 : 228-230.
- Adinolfi L, Ake CA, McColl I, et al. Expression of HLA antigens, 2 microglobulin and enzymes by human amniotic membrane. *Nature* 1982; 295 : 325-327.
- Anderson DF, Ellies P, Pires RT, Tseng SC. Amniotic membrane transplantation for partial limbal stem cell deficiency. *Br J Ophthalmol* 2001; 85 : 567-75.
- Anderson DF, Prabhawat P, Alfonso E, Tseng SC. Amniotic membrane transplantation after the primary surgical management of band keratopathy. *Cornea* 2001; 20 : 354-361.
- Anderson SB, de Souza RF, Hofmann-Rummelt C, Seitz B. Corneal calcification after amniotic membrane transplantation. *Br J Ophthalmol* 2003; 87 : 587-591.
- Azuara-Blanco A, Pillai CT, Dua HS. Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction. *Br J Ophthalmol* 1999; 83 : 399-402.
- Barabino S, Rolando M, Bentivoglio G, Mingari C, Zanardi S, Bellomo R. Role of amniotic membrane transplantation for conjunctival reconstruction in ocular-cicatricial pemphigoid. *Ophthalmology* 2003; 110 : 474-480.
- Basti S, Mathur U. Unusual intermediate-term outcome in three cases of limbal autograft transplantation. *Ophthalmology* 1999; 106 : 958-963.
- Boudreau N, Simpson CJ, Werb Z, et al. Suppression of ICE and apoptosis in mammary epithelial cells by extracellular matrix. *Science* 1995; 267 : 891-893.
- Budenz DL, Barton K, Tseng SC. Amniotic membrane transplantation for repair of leaking glaucoma filtering blebs. *Am J Ophthalmol* 2000; 130 : 580-588.
- Chen HJ, Pires RT, Tseng SCG. Amniotic membrane transplantation for severe neurotrophic corneal ulcers. *Br J Ophthalmol* 2000; 84 : 826-833.
- Chen JH, Ma DH, Tsai RJ. Amniotic membrane transplantation for pseudomonal keratitis with impending perforation. *Chang Gung Med J* 2002; 25 : 144-152.
- Cho B, Djalilian AR, Wesley F, et al. Conjunctival epithelial cells cultured on human amniotic membrane fail to transdifferentiate into corneal epithelial-type cells. *Cornea* 2001; 18 : 216-224.
- De Roth A. Plastic repair of conjunctival defect with fetal membrane. *Arch Ophthalmol* 1940; 23 : 522-523.
- Dekaris I, Gabric N, Karaman Z, Mravacic I, Kastelan S. Limbal-conjunctival autograft transplantation for recurrent pterygium. *Eur J Ophthalmol* 2002; 12 : 177-182.
- Dekaris I, Gabric N, Mravacic I, Karaman Z, Katusic J, Lazic R. Multilayer vs. microlayer amniotic membrane transplantation for deep corneal ulcer treatment. *Coll Antropol* 2001; 25(Suppl) : 23-28.
- Dua HS, Azuara-Blanco A. Allo-limbal transplantation in patients with limbal stem cell deficiency. *Br J Ophthalmol* 1999; 83 : 414-419.
- Dua HS, Azuara-Blanco A. Autologous limbal transplantation in patients with unilateral corneal stem cell deficiency. *Br J Ophthalmol* 2000; 84 : 273-278.
- España EM, Grueterich M, Sandoval H, Solomon A, Alfonso E, Karp CL. Amniotic membrane transplantation for bullous keratopathy in eyes with poor visual potential. *J Cataract Refract Surg* 2003; 29 : 279-284.
- España EM, Prabhawat P, Grueterich M, Solomon A, Tseng SC. Amniotic membrane transplantation for reconstruction after excision of large ocular surface neoplasias. *Br J Ophthalmol* 2002; 86 : 640-645.
- Franek O, Descargues G, Menguy E, Courville P, Martin J, Brasseur G. Technique de prélèvement et de préparation des membranes amniotiques. *J Fr Ophtalmol* 2000; 23 : 729-734.
- Frucht-Pery J, Siganos CS, Solomon A, Scheman L, Brautbar C, Zauberman H. Limbal cell autograft transplantation for severe ocular surface disorders. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1998; 236 : 582-587.
- Fukuda K, Chikama TI, Nakamura M, Nishida T. Differential distribution of subchains of the basement membrane components type IV collagen and laminin among the amniotic membrane, cornea, and conjunctiva. *Cornea* 1999; 18 : 73-79.
- Gabler B, Lohmann CP. Hypopyon after repeated transplantation of human amniotic membrane onto the corneal surface. *Ophthalmology* 2000; 107 : 1344-1346.
- Gabric N, Mravacic I, Dekaris I, Karaman Z, Mitrovic S. Human amniotic membrane in the reconstruction of the ocular surface. *Doe Ophthalmol* 1999; 98 : 273-283.
- Georgiadis NS, Terzidou CD. Epiphora caused by conjunctivochalasis; treatment with transplantation of preserved human amniotic membrane. *Cornea* 2001; 20 : 619-621.
- Gomes JA, dos Santos MS, Cunha MC, Mascaro VL, Barros Jde N, de Sousa LB. Amniotic membrane transplantation for partial and total limbal stem cell deficiency secondary to chemical burn. *Ophthalmology* 2003; 110 : 466-473.
- Gris O, Camps Z, Wolley-Dod C, Guell JL, Bruix A, Calatayud M, Adan A. Amniotic membrane implantation as a therapeutic contact lens for the treatment of epithelial disorders. *Cornea* 2002; 21 : 22-27.
- Gris O, Guell JL, Del Campo Z. Limbal-conjunctival autograft transplantation for the treatment of recurrent pterygium. *Ophthalmology* 2000; 107 : 270-273.
- Gris O, Wolley-Dod C, Guell JL, Trossera F, Lerma E, Corcostegui B. Histologic findings after amniotic membrane graft in the human cornea. *Ophthalmology* 2002; 109 : 508-512.
- Hanada K, Shimazaki J, Shunmura S, et al. Multilayered amniotic membrane transplantation for severe ulceration of the cornea and sclera. *Am J Ophthalmol* 2001; 131 : 324-331.
- Hao Y, Ma DH, Hwang DG, et al. Identification of antiangiogenic and anti-inflammatory proteins in human amniotic membrane. *Cornea* 2000; 19 : 348-352.
- Holland JH, Schwartz GS. The evolution of epithelial transplantation for severe ocular surface disease and a proposed classification system. *Cornea* 1996; 15 : 549-556.
- Honavar SG, Bansal AK, Sangwan VS, Rao GN. Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction in Stevens-Johnson syndrome. *Ophthalmology* 2000; 107 : 975-979.
- Hu DJ, Basti S, Bryar PJ. Staining characteristics of preserved human amniotic membrane. *Cornea* 2000; 22 : 37-40.
- Ivekovic B, Tedeschi-Reiner E, Petric I, Novak-Laus K, Bradic-Hammoud M. Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction in neurotrophic corneal ulcers. *Coll Antropol* 2002; 26 : 47-54.
- Jenkins C, Tuft S, Liu C, Buckley R. Limbal transplantation in the management of chronic contact-lens-associated epitheliopathy. *Eye* 1993; 7 : 629-633.
- John T, Foulks GN, John ME, Cheng K, Hu D. Amniotic membrane in the surgical management of acute toxic epidermal necrolysis. *Ophthalmology* 2002; 109 : 351-360.
- Joseph A, Dua HS, King AJ. Failure of amniotic membrane transplantation in the treatment of acute ocular burns. *Br J Ophthalmol* 2001; 85 : 1065-1069.
- Kee C, Hwang JM. Amniotic membrane graft for late-onset glaucoma filtering leaks. *Am J Ophthalmol* 2002; 133 : 834-835.
- Kenyon KR, Tseng SC. Limbal autograft transplantation for ocular surface disorders. *Ophthalmology* 1989; 96 : 709-723.
- Khodadoust AA, Silverstein AM, Kenyon KR, et al. Adhesion of regenerating corneal epithelium. The role of basement membrane. *Am J Ophthalmol* 1968; 65 : 339-348.
- Kim JS, Kim JC, Hahn TW, Park WC. Amniotic membrane transplantation in infectious corneal ulcer. *Cornea* 2001; 20 : 720-726.
- Kim JS, Kim JC, Na BK, et al. Amniotic membrane patching promotes healing and inhibits proteinase activity in wound healing following acute corneal alkali burn. *Exp Eye Res* 2000; 70 : 329-337.
- Kim JS, Park SW, Kim JH et al. Temporary amniotic membrane graft promotes healing and inhibits protease activity in corneal wound induced by alkali burn in rabbits. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998; 39 : 590.
- Koizumi N, Inatomi T, Quantock AJ, Fullwood NJ, Dota A, Kinoshita S. Amniotic membrane as a substrate for cultivating limbal corneal epithelial cells for autologous transplantation in rabbits. *Cornea* 2000; 19 : 65-71.
- Koizumi N, Inatomi T, Sotomoto CJ, Fullwood NJ, Quantock AJ, Kinoshita S. Growth factor mRNA and protein in preserved human amniotic membrane. *Curr Eye Res* 2000; 20 : 173-177.
- Kruse FE, Jousen AM, Rohrschneider K, You L, Sinn B, Baumann J. Cryopreserved human amniotic membrane for ocular surface reconstruction. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2000; 238 : 68-75.
- Kruse FE, Rohrschneider K, Völcker HE. Multilayer amniotic membrane transplantation for reconstruction of deep corneal ulcers. *Ophthalmology* 1999; 106 : 1504-1511.
- Kubo M, Sonoda Y, Muramatsu R, Usui M. Immunogenicity of human amniotic membrane in experimental xenotransplantation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42 : 1539-1546.
- Kurpaz MA, Stock EL, Jones JCR. The role of basement membrane in differential expression of keratin proteins in epithelial cells. *Dev Biol* 1992; 150 : 243-255.
- Lavery FS. Lime burn of conjunctiva and cornea treated with amnioplastin graft. *Trans Ophthalmol Soc UK* 1946; 66 : 668.
- Lee SB, Lee DQ, Tan DTH et al. Suppression of TGF- β signaling in both normal conjunctival fibroblasts and pterygial body fibroblasts by amniotic membrane. *Curr Eye Res* 2000; 20 : 325-334.
- Lee SH, Tseng SC. Amniotic membrane transplantation for persistent epithelial defects with ulceration. *Am J Ophthalmol* 1997; 123 : 303-312.
- Letko E, Stechschulte SU, Kenyon KR, et al. Amniotic membrane inlay and overlay grafting for corneal epithelial defects and stromal ulcers. *Arch Ophthalmol* 2001; 119 : 659-663.
- Lin HC, Ku WC, Lin KK, Tsai RJ. Surgical management of scleral perforation after pterygium excision. *Ophthalmic Surg Lasers* 2002; 33 : 275-279.
- Ma DH, See LC, Liu SB, Tsai RJ. Amniotic membrane graft for primary pterygium: comparison with conjunctival autograft and topical mitomycin C treatment. *Br J Ophthalmol* 2000; 84 : 973-978.
- Ma DH, Wang SF, Su WY, Tsai RJ. Amniotic membrane graft for the management of scleral melting and corneal perforation in recalcitrant infectious scleral and corneoscleral ulcers. *Cornea* 2002; 21 : 275-283.
- Madhavan HN, Priya K, Malathi J, Joseph PR. Preparation of amniotic membrane for ocular surface reconstruction. *Indian J Ophthalmol* 2002; 50 : 227-231.

- Meallet MA, España EM, Graeterich M, Ti SE, Goto E, Tseng SC. Amniotic membrane transplantation with conjunctival limbal autograft for total limbal stem cell deficiency. *Ophthalmology* 2003 ; 110 : 1585-1592.
- Mejia LE, Santamaria JF, Acosta C. Symptomatic management of postoperative bullous keratopathy with nonpreserved human amniotic membrane. *Cornea* 2002 ; 21 : 342-345.
- Meller D, Maskin SL, Pires RT, Tseng SC. Amniotic membrane transplantation for symptomatic conjunctivochalasis refractory to medical treatments. *Cornea* 2000 ; 19 : 796-803.
- Meller D, Pires RTE, Mack RJS, et al. Amniotic membrane transplantation for acute chemical or thermal burns. *Ophthalmology* 2000 ; 107 : 980-990.
- Muraine M, Descargues G, Franck O, Villeroz F, Toubeau D, Menguy E. La greffe de membrane amniotique dans les pathologies oculaires de surface. Étude prospective à partir de 31 cas. *J Fr Ophtalmol* 2001 ; 24 : 798-812.
- Mutlu FM, Sobaci G, Tatar T, Yildirim E. A comparative study of recurrent pterygium surgery: limbal conjunctival autograft transplantation versus mitomycin C with conjunctival flap. *Ophthalmology* 1999 ; 106 : 817-821.
- Na BK, Hwang JH, Shin EJ, et al. Analysis of human amniotic membrane components as proteinase inhibitors for development of therapeutic agent of recalcitrant keratitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998 ; 39 : 590.
- Oh JH, Kim JC. Repair of scleromalacia using preserved scleral graft with amniotic membrane transplantation. *Cornea* 2003 ; 22 : 288-290.
- Pellegrini G, Traverso CE, Franzini AT, Zingirian M, Cancedda R, De Luca M. Long-term restoration of damaged corneal surfaces with autologous cultivated corneal epithelium. *Lancet* 1997 ; 349 : 990-993.
- Petric J, Ivekovic B, Tedeschi-Reiner E, Novak-Laus K, Lachmanovic-Loncar V, Bradic-Hammoud M. Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction. *Coll Antropol* 2002 ; 26 : 621-626.
- Pires RT, Tseng SC, Prabhawat P, Puangricharem V, Maskin SL, Kim JC. Amniotic membrane transplantation for symptomatic bullous keratopathy. *Arch Ophthalmol* 1999 ; 117 : 1291-1297.
- Prabhawat P, Barton K, Berkett G, Tseng SCG. Comparison of conjunctival autografts, amniotic membrane grafts and primary closure for pterygium excision. *Ophthalmology* 1997 ; 104 : 974-985.
- Prabhawat P, Kosrtrakongs P, Booranapong W, Vaparatul Y. Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction. *J Med Assoc Thai* 2001 ; 84 : 705-718.
- Prabhawat P, Tesavikul N, Kromsuzadej W. Single and multilayered amniotic membrane transplantation for persistent corneal epithelial defect with and without stromal thinning and perforation. *Br J Ophthalmol* 2001 ; 85 : 1455-1463.
- Puangricharem V, Tseng SC. Cytologic evidence of corneal diseases with limbal stem cell deficiency. *Ophthalmology* 1995 ; 102 : 1476-1485.
- Rao SK, Rajagopal R, Sitalakshmi G, Padmanabhan P. Limbal allografting from related live donors for corneal surface reconstruction. *Ophthalmology* 1999 ; 106 : 822-828.
- Rao SK, Rajagopal R, Sitalakshmi G, Padmanabhan P. Limbal autografting: comparison of results in the acute and chronic phases of ocular surface burns. *Cornea* 1999 ; 18 : 164-171.
- Reinhard T, Sundmacher R, Spelsberg H, Althaus C. Homologous penetrating central limbo-keratoplasty (HPC/LK) in bilateral limbal stem cell insufficiency. *Acta Ophthalmol Scand* 1999 ; 77 : 663-667.
- Sato H, Shimazaki J, Shinzaki N et al. Role of growth factors for ocular surface reconstruction after amniotic membrane transplantation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998 ; 39 : 5428.
- Shields CL, Shields JA, Armstrong T. Management of conjunctival and corneal melanoma with surgical excision, amniotic membrane allograft, and topical chemotherapy. *Am J Ophthalmol* 2001 ; 132 : 576-578.
- Shimazaki J, Kaido M, Shinzaki N, Shimamura S, Munkhtat B, Hagihara M. Evidence of long-term survival of donor-derived cells after limbal allograft transplantation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999 ; 40 : 1664-1668.
- Shimazaki J, Kosaka K, Shimamura S, Tsubota K. Amniotic membrane transplantation with conjunctival autograft for recurrent pterygium. *Ophthalmology* 2003 ; 110 : 119-124.
- Shimazaki J, Shinzaki N, Tsubota K. Transplantation of amniotic membrane and limbal autograft for patients with recurrent pterygium associated with symblepharon. *Br J Ophthalmol* 1998 ; 82 : 235-240.
- Shimazaki J, Yang HY, Tsubota K. Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction in patients with chemical and thermal burns. *Ophthalmology* 1997 ; 104 : 2068-2076.
- Shimazaki J, Yang HY, Tsubota K. Limbal autograft transplantation for recurrent and advanced pterygia. *Ophthalmic Surg Lasers* 1996 ; 27 : 917-923.
- Shimamura S, Shimazaki J, Ohashi Y, Tsubota K. Antiinflammatory effects of amniotic membrane transplantation in ocular surface disorders. *Cornea* 2001 ; 20 : 408-413.
- Shridar MS, Bansal AK, Sangwan VS, et al. Amniotic membrane transplantation in acute chemical and thermal injury. *Am J Ophthalmol* 2000 ; 130 : 134-137.
- Solomon A, España EM, Tseng SC. Amniotic membrane transplantation for reconstruction of the conjunctival fornices. *Ophthalmology* 2003 ; 110 : 93-100.
- Solomon A, Meller D, Prabhawat P, John T, España EM, Steuhl KP, Tseng SC. Amniotic membrane grafts for nontraumatic corneal perforations, descemetocoeles, and deep ulcers. *Ophthalmology* 2002 ; 109 : 694-703.
- Solomon A, Pires RT, Tseng SC. Amniotic membrane transplantation after extensive removal of primary and recurrent pterygia. *Ophthalmology* 2001 ; 108 : 449-460.
- Sorsby A, Simmonds HM. Amniotic membrane graft in caustic burns of the eye (burns of second degree). *Br J Ophthalmol* 1947 ; 31 : 409-418.
- Seidhar MS, Sangwan VS, Bansal AK, Rao GN. Amniotic membrane transplantation in the management of shield ulcers of vernal keratoconjunctivitis. *Ophthalmology* 2001 ; 108 : 1218-1222.
- Sundmacher R, Spelsberg H, Reinhard T. Homologous penetrating central limbo-keratoplasty in granular and lattice corneal dystrophy. *Cornea* 1999 ; 18 : 664-670.
- Swift GJ, Aggarwal RK, Davis GJ, Coster DJ, Williams KA. Survival of rabbit limbal stem cell allografts. *Transplantation* 1996 ; 62 : 568-574.
- Tan DT, Ficker LA, Buckley RJ. Limbal transplantation. *Ophthalmology* 1996 ; 103 : 29-36.
- Tekin NE, Kaynak S, Saatci AO, Cingil G. Preserved human amniotic membrane transplantation in the treatment of primary pterygium. *Ophthalmic Surg Lasers* 2001 ; 32 : 464-469.
- Ti SE, Tow SL, Chee SP. Amniotic membrane transplantation in entropion surgery. *Ophthalmology* 2001 ; 108 : 1209-1217.
- Tsai RJ, Tseng SC. Effect of stromal inflammation on the outcome of limbal transplantation for corneal surface reconstruction. *Cornea* 1995 ; 14 : 439-449.
- Tsai RJ, Tseng SC. Human allograft limbal transplantation for corneal surface reconstruction. *Cornea* 1994 ; 13 : 389-400.
- Tseng SCG, Meller D, et al. Amniotic membrane transplantation for acute chemical or thermal burns. 5th international symposium on ocular trauma. Montreal, Canada, July 6-9 2000 ; 24 : 15.
- Tseng SC, Li DQ, Ma X. Suppression of transforming growth factor-beta isoforms, TGF-beta receptor type II, and myofibroblast differentiation in cultured human corneal and limbal fibroblasts by amniotic membrane matrix. *J Cell Physiol* 1999 ; 179 : 325-335.
- Tseng SC, Prabhawat P, Barton K, Gray T, Meller D. Amniotic membrane transplantation with or without limbal allografts for corneal surface reconstruction in patients with limbal stem cell deficiency. *Arch Ophthalmol* 1998 ; 116 : 431-441.
- Tseng SC. Concept and application of limbal stem cells. *Eye* 1989 ; 3 : 141-157.
- Tseng SCG, Prabhawat P, Lee SH. Amniotic membrane transplantation for conjunctival surface reconstruction. *Am J Ophthalmol* 1997 ; 124 : 765-774.
- Tsubota K, Satake Y, Kaido M, Shinzaki N, Shimamura S, Bissen-Miyajima H. Treatment of severe ocular surface disorders with corneal epithelial stem-cell transplantation. *N Engl J Med* 1999 ; 340 : 1697-1703.
- Tsubota K, Satake Y, Ohyama M, Toda I, Takano Y, Ono M. Surgical reconstruction of the ocular surface in advanced ocular cicatricial pemphigoid and Stevens-Johnson syndrome. *Am J Ophthalmol* 1996 ; 122 : 38-52.
- Tsubota K, Toda I, Saito H, Shinzaki N, Shimazaki J. Reconstruction of the corneal epithelium by limbal allograft transplantation for severe ocular surface disorders. *Ophthalmology* 1995 ; 102 : 1486-1496.
- Ucakhan OO, Koklu G, Firat E. Nonpreserved human amniotic membrane transplantation in acute and chronic chemical eye injuries. *Cornea* 2002 ; 21 : 169-172.
- Ueta M, Kweon MN, Sano Y, Sotozono C, Yamada J, Koizumi N. Immunosuppressive properties of human amniotic membrane for mixed lymphocyte reaction. *Clin Exp Immunol* 2002 ; 129 : 464-470.
- Vajpayee RB, Thomas S, Sharma N, Dada T, Tabin GC. Large-diameter lamellar keratoplasty in severe ocular alkali burns: a technique of stem cell transplantation. *Ophthalmology* 2000 ; 107 : 1763-1768.
- Van Herendaal BJ, Oberti C, Brosens I. Microanatomy of the human amniotic membrane: a light microscopic, transmission and scanning microscopic study. *Am J Obstet Gynecol* 1978 ; 131 : 872-880.
- Xu KP, Wu Y, Zhou J, Zhang X. Survival of rabbit limbal stem cell allografts after administration of cyclosporin A. *Cornea* 1999 ; 18 : 459-465.
- Zato E, Bordenie V, Touzeau O, Bouncier T, Allouch C, Laroche L. Greffe de membrane amniotique dans les pathologies sévères de l'épithélium cornéen. Résultats préliminaires. *J Fr Ophtalmol* 2002 ; 25 : 879-888.

Chapitre 7

Autogreffes de conjonctive

Indications

Technique opératoire

Résultats

Complications

Perspectives

1. Indications

L'autogreffe de conjonctive est une technique de reconstruction de surface oculaire sûre et efficace, dont la principale indication est constituée par le traitement du ptérygion volumineux ou récidivant. Elle consiste à déplacer une partie de conjonctive saine vers une zone où celle-ci est anormale ou manquante au niveau du même œil ou de l'œil controlatéral. Cette technique s'applique uniquement aux anomalies conjonctivales isolées et localisées pour lesquelles le processus inflammatoire et/ou cicatriciel n'entraîne pas d'insuffisance en cellules souches limbiques. Si tel est le cas une greffe de limbe ou conjonctivo-limbique est nécessaire. En cas d'atteinte conjonctivale bilatérale et extensive, une greffe de membrane amniotique ou une greffe de muqueuse buccale doivent être envisagées.

L'autogreffe de conjonctive est indiquée dans le traitement primaire des ptérygions volumineux, de certaines tumeurs dont l'exérèse entraîne une perte de substance conjonctivale importante, mais également dans la prise en charge des ptérygions récidivants, des complications cicatricielles de la chirurgie du strabisme, du décollement de rétine (restriction de mobilité oculaire), du glaucome (bulle de filtration non étanche) (Buxton, 1994), et le traitement de certaines brûlures chimiques localisées entraînant un comblement des fornix.

Le ptérygion volumineux ou récidivant constitue donc la principale indication de greffe de conjonctive. La technique a été décrite par Kenyon (1985).

2. Technique opératoire

La greffe de conjonctive bulbaire supérieure est la technique la plus souvent utilisée.

L'intervention est réalisée au bloc, sous microscope opératoire, en conditions d'asepsie optimales, après anesthésie sous-ténonienne ou péribulbaire, dans le cadre d'une chirurgie ambulatoire.

L'utilisation d'un blépharostat à vis et d'un fil de traction (soie 5/0) disposé au limbe à 6 et 12 heures permet une exposition optimale. Après excision complète du ptérygion et hémostase, les dimensions de la sclère à nue sont mesurées grâce à un compas (largeur, longueur en millimètre). La conjonctive bulbaire supérieure est alors exposée, les dimensions exactes de la zone à prélever sont déterminées grâce au compas, et des repères sont marqués par des impacts de cautère ou par un crayon dermatographique. Ces marques facilitent également l'orientation du tissu conjonctival au niveau du site receveur. Les dimensions habituelles d'une greffe de conjonctive pour un ptérygion « standard » sont 8/8 mm, mais des greffons allant jusqu'à 15/15 mm peuvent être prélevés. Une injection sous-conjonctivale de BSS réalisée sous les limites de la greffe par l'intermédiaire d'une aiguille piquée en dehors de celles-ci permet de cliver l'espace conjonctivo-ténonien. La

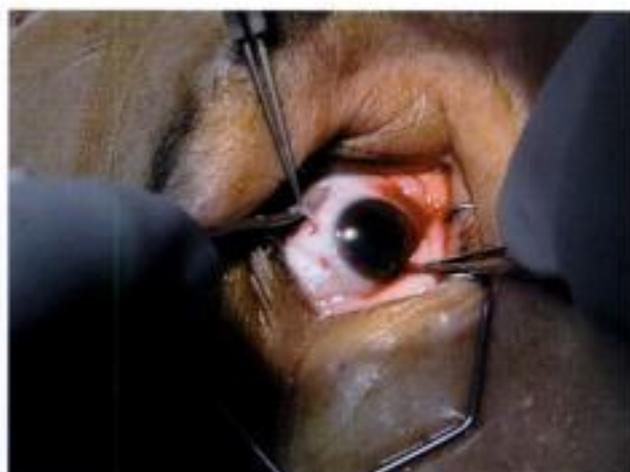
dissection du greffon conjonctival est réalisée sur toute la largeur de la surface à prélever aux ciseaux de Vannas et à la pince de Bonn, du fornix vers le limbe. Le greffon ainsi libéré est transféré au niveau du site récepteur, généralement situé au niveau nasal, en prenant garde de respecter l'orientation initiale (limbe au limbe, face supérieure vers le haut). Huit points séparés de Vicryl 8/0 permettent de fixer la greffe à la conjonctive saine adjacente. Une hémostase soigneuse est effectuée. L'intégrité de la capsule de Tenon sera vérifiée au niveau du site donneur. Une lentille pansement peut être mise en place en fin d'intervention et conservée jusqu'au lendemain à but antalgique.

Un collyre antibiocoïdoïde est prescrit pendant une période de quatre à six semaines en postopératoire, un collyre cycloplégique et des antalgiques par voie orale pendant sept jours. Les pommades antibiotiques ou cicatrisantes sont à éviter.

Des variantes de cette technique ont été décrites : greffe de conjonctive bulbaire inférieure lorsqu'une chirurgie du glaucome est prévue ou lorsque la conjonctive supérieure est pathologique ou a déjà été prélevée, greffe de conjonctive provenant de l'œil controlatéral.



Ptérygion : aspect en début d'intervention.



Dissection de la conjonctive bulbaire supérieure.



Réséction du ptérygion.



Prélèvement d'un greffon conjonctival.



Aspect en fin de résection du ptérygion.



Le greffon conjonctival est isolé de la membrane de Tenon.

3. Résultats

Les résultats de l'exérèse de ptérygion avec autogreffe de conjonctive sont excellents en comparaison des autres techniques chirurgicales de traitement du ptérygion. Le taux de récurrence du ptérygion est :

- de 2 à 7 % selon les séries d'autogreffe de conjonctive (Starck, 1991 ; Prabhasawat, 1997) ;
- de 37 à 91 % en cas d'exérèse-avulsion-sclère laissée à nue ;
- de 2 à 88 % en cas d'exérèse-fermeture de conjonctive (rapprochée et suturée) (Prabhasawat, 1997) ;
- de 3 à 6 % en cas d'exérèse-lambeaux conjonctivaux de rotation (mais peu d'études sont disponibles) (Dadeya, 2002) ;
- de 4 à 14 % en cas d'exérèse-greffe de membrane amniotique (Ma, 2000 ; Prabhasawat, 1997) ;

4. Complications

Les complications liées à l'autogreffe de conjonctive sont nombreuses mais rares, la récurrence du ptérygion étant probablement la plus fréquente d'entre elles.

L'œdème du greffon se manifeste généralement dans les dix premiers jours postopératoires. Ses causes sont multiples : manipulation excessive, mauvaise irrigation du greffon lors de l'intervention, présence de Tenon, mauvaise orientation du greffon. L'œdème semble également plus fréquent chez les sujets jeunes. Il se résout habituellement spontanément en deux à quatre semaines mais de petites incisions verticales peuvent être réalisées au couteau microchirurgical en cas d'œdème important ou persistant.

La rétraction, voire le déplacement du greffon, peuvent être dus au lâchage (spontané ou provoqué) de points de suture, à la présence de Tenon sur le greffon, à un greffon trop petit par rapport à la surface à recouvrir et suturé sous tension, à un greffon de mauvaise qualité (antécédent d'infection, de traumatisme ou de chirurgie). La conduite à tenir dépend de la taille de la sclère exposée.

La nécrose du greffon est due soit à un positionnement incorrect du greffon (face épithéliale vers la sclère), soit à un lit scléral avasculaire, notamment

5. Perspectives

De nouvelles techniques de reconstruction conjonctivale fondées sur l'utilisation de polymères tels que le

- de 0 % en cas d'exérèse-greffe lamellaire cornéo-limbo-conjonctivale (de réalisation relativement longue et délicate) ;
- de 2 à 21 % en cas d'exérèse suivie de l'application per- ou postopératoire d'antimitotiques (mitomycine C, daunorubicine) dont certaines complications sont potentiellement redoutables (Dadeya, 2002 ; Manning, 1997).

Les résultats obtenus avec la greffe conjonctivo-limnique sont supérieurs à ceux de la greffe de conjonctive (Basti, 2000 ; Lee, 2003). L'importance de l'inclusion du limbe dans les autogreffes de conjonctive reste toutefois à préciser par des études prospectives randomisées concernant notamment des ptérygions récidivants ou multirécidivants.

lorsque le ptérygion a été préalablement traité par une radiothérapie. Le phénomène se manifeste dans les 24-48 heures postopératoires par une pâleur anormale du greffon qui devient ensuite nécrotique. La conduite à tenir dépend de la taille de la sclère exposée et du risque de récurrence du ptérygion. Une greffe de conjonctive provenant de l'œil controlatéral, une greffe de membrane amniotique ou une greffe de muqueuse buccale peuvent être envisagées.

Un dellen cornéen peut être observé. Il est la conséquence d'un œdème ou d'un hématome du greffon qui entraîne une mauvaise répartition du film lacrymal et le dessèchement de la cornée, du limbe et éventuellement de la sclère immédiatement adjacents. Il peut conduire à la perforation cornéenne dans un délai bref. Le traitement de l'œdème ou de l'hématome du greffon, l'utilisation de larmes artificielles, de pommade antibiotique et d'un pansement occlusif permet en règle d'obtenir la cicatrisation.

D'autres complications ont été décrites : kyste d'inclusion épithélial, infections, hématomes du greffon, fibrose sous-conjonctivale, granulomes de la Tenon (granulome pyogénique), brides conjonctivo-palpébrales.

poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) sont actuellement à l'étude (Lee, 2003).

Hidden page

Autogreffe de conjonctive

- L'autogreffe de conjonctive permet de traiter des ptérygions volumineux ou récidivants, certaines tumeurs dont l'exérèse entraîne une perte de substance conjonctivale importante, des complications cicatricielles de la chirurgie du strabisme, du décollement de rétine (restriction de mobilité oculaire) et du glaucome (bulle de filtration non étanche) ainsi que certaines brûlures chimiques localisées entraînant un comblement du fornix.
- L'autogreffe de conjonctive consiste à déplacer une partie de conjonctive saine vers une zone où celle-ci est anormale ou manquante au niveau du même œil ou de l'œil controlatéral.
- Les résultats de l'exérèse de ptérygion avec autogreffe de conjonctive sont excellents en comparaison des autres techniques chirurgicales de traitement du ptérygion. Néanmoins, les résultats obtenus avec la greffe conjunctivo-limbique sont supérieurs à ceux de l'autogreffe de conjonctive.
- La récurrence du ptérygion est la plus fréquente des complications liées à l'autogreffe de conjonctive. Les autres complications sont rares : œdème du greffon, rétraction, voire déplacement du greffon, nécrose du greffon, dellen cornéen pouvant conduire à la perforation cornéenne, kyste d'inclusion épithélial, infections, hématomes du greffon, fibrose sous-conjonctivale, granulomes de la Tenon, brides conjunctivo-palpébrales.

Bibliographie

- Bastli S, Rao SK. Current status of limbal conjunctival autograft. *Curr Opin Ophthalmol* 2000 ; 11 : 224-232.
- Buxton JN, Lavery KT, Liebenann JM, et al. Reconstruction of filtering blebs with free conjunctival autografts. *Ophthalmology* 1994 ; 101 : 635-639.
- Dadeya (2002a) S, Kamlesh, Khurana C, Fatima S. Intraoperative daunorubicin vs conjunctival autograft in primary pterygium surgery. *Cornea* 2002 ; 21 : 766-769.
- Dadeya (2002b) S, Malik KP, Gulshan BP. Pterygium surgery: conjunctival rotation autograft vs conjunctival autograft. *Ophthalmic Surg Lasers* 2002 ; 33 : 269-274.
- Gris O, Cozelli JL, del Campo Z. Limbal-conjunctival autograft transplantation for the treatment of recurrent pterygium. *Ophthalmology* 2000 ; 107 : 270-273.
- Kenyon KR, Wagoner MD, Hettinger ME. Conjunctival autograft transplantation for advanced and recurrent pterygium. *Ophthalmology* 1985 ; 92 : 1461-1470.
- Lee SY, Oh JH, Kim JC, et al. In vivo conjunctival reconstruction using modified PLGA grafts for decreased scar formation and contraction. *Biomaterials* 2003 ; 24 : 5049-5059.
- Ma DH, See LC, Liu SB, Tsai RJ. Amniotic membrane graft for primary pterygium: comparison with conjunctival autograft and topical mitomycin C treatment. *Br J Ophthalmol* 2000 ; 84 : 973-978.
- Manning CA, Kloess PM, Diaz MD, Yee RW. Intraoperative mitomycin in primary pterygium excision. A prospective, randomized trial. *Ophthalmology* 1997 ; 104 : 844-848.
- Prabhasawat P, Barton K, Burkett G, Tseng SC. Comparison of conjunctival autografts, amniotic membrane grafts, and primary closure for pterygium excision. *Ophthalmology* 1997 ; 104 : 974-985.
- Starck T, Kenyon KR, Serrano F. Conjunctival autograft for primary and recurrent pterygia: surgical technique and problem management. *Cornea* 1991 ; 10 : 196-202.
- Syam PP, Eletheriadis H, Liu CS. Inferior conjunctival autograft for primary pterygia. *Ophthalmology* 2003 ; 110 : 806-810.

Chapitre 8

Thérapie cellulaire

Thérapie cellulaire épithéliale

Perspectives

1. Thérapie cellulaire épithéliale

La thérapie cellulaire épithéliale est utilisée en pratique clinique en Asie du Sud-Est, en Italie et en Amérique du Nord depuis plusieurs années. Elle est en cours d'introduction en France.

1.1. Indications opératoires

Il s'agit des indications de la greffe de limbe (insuffisance limbique). Si la pathologie est bilatérale ou si le patient est monophthalme, une allogreffe est réalisée. Si la pathologie est unilatérale, une autogreffe peut être réalisée à partir d'un prélèvement de limbe réalisé sur l'œil sain.

1.2. Principe et technique chirurgicale

Deux grandes techniques ont été décrites pour réaliser ces greffes de cellules épithéliales limbiques cultivées : la coculture avec des fibroblastes et la culture sur une membrane amniotique humaine.

1.2.1. Autogreffe de cellules épithéliales limbiques cultivées sur un gel de fibrine avec des fibroblastes murins inactivés

Cette technique développée en Italie par Pellegrini (1997) utilise la coculture des cellules épithéliales limbiques avec des fibroblastes murins 3T3 inactivés. Une biopsie limbique d'une taille d' 1 mm^2 est réalisée sur l'œil sain. Les cellules épithéliales limbiques sont cultivées sur un gel de fibrine puis greffées sur l'œil pathologique.

1.2.2. Autogreffe de cellules épithéliales limbiques cultivées sur une membrane amniotique humaine

Cette technique a été développée par Tsai (2000) à Taiwan. La première intervention consiste à prélever un fragment d'épithélium limbique de petite taille ($1 \times 2 \text{ mm}$) sur l'œil sain. Cet explant est cultivé *in vitro* sur une membrane amniotique humaine. Il peut être mis directement sur la membrane amniotique ou bien dissocié enzymatiquement par la dispase avec un ensemencement de la membrane amniotique par les cellules épithéliales en suspension (Koizumi, 2002). Le milieu de culture est un mélange DMEM/Ham F12 avec du sérum de veau fœtal, de l'EGF, du DMSO, de l'insuline et de la toxine cholérique. Une interface air liquide peut être réalisée en abaissant le niveau du milieu de culture jusqu'à celui des cellules. Cela favorise la reconstitution de la barrière épithéliale (Ban, 2003). La croissance cellulaire

épithéliale est obtenue *in vitro* en deux à trois semaines. Un greffon de 2–3 cm de diamètre est alors utilisable pour la greffe. La culture des cellules sur la membrane amniotique permet de conserver certaines caractéristiques phénotypiques des progéniteurs de l'épithélium cornéen (Grueterich et Meller 2002 ; Hernandez Galindo, 2003). Elle permet également de conserver l'expression de récepteurs au NGF, ce qui est un facteur favorisant la survie des cellules souches épithéliales limbiques (Touhami, 2002). Elle diminue l'expression de TGF- β 1 et TGF- β 2 par les cellules limbiques cultivées (Yam, 2002). Cette technique de culture peut être également utilisée avec des cellules épithéliales conjonctivales (Meller, 2002). La deuxième intervention consiste à greffer le tissu épithélial obtenu avec son support (membrane amniotique) sur la cornée pathologique après excision du tissu fibrovasculaire.

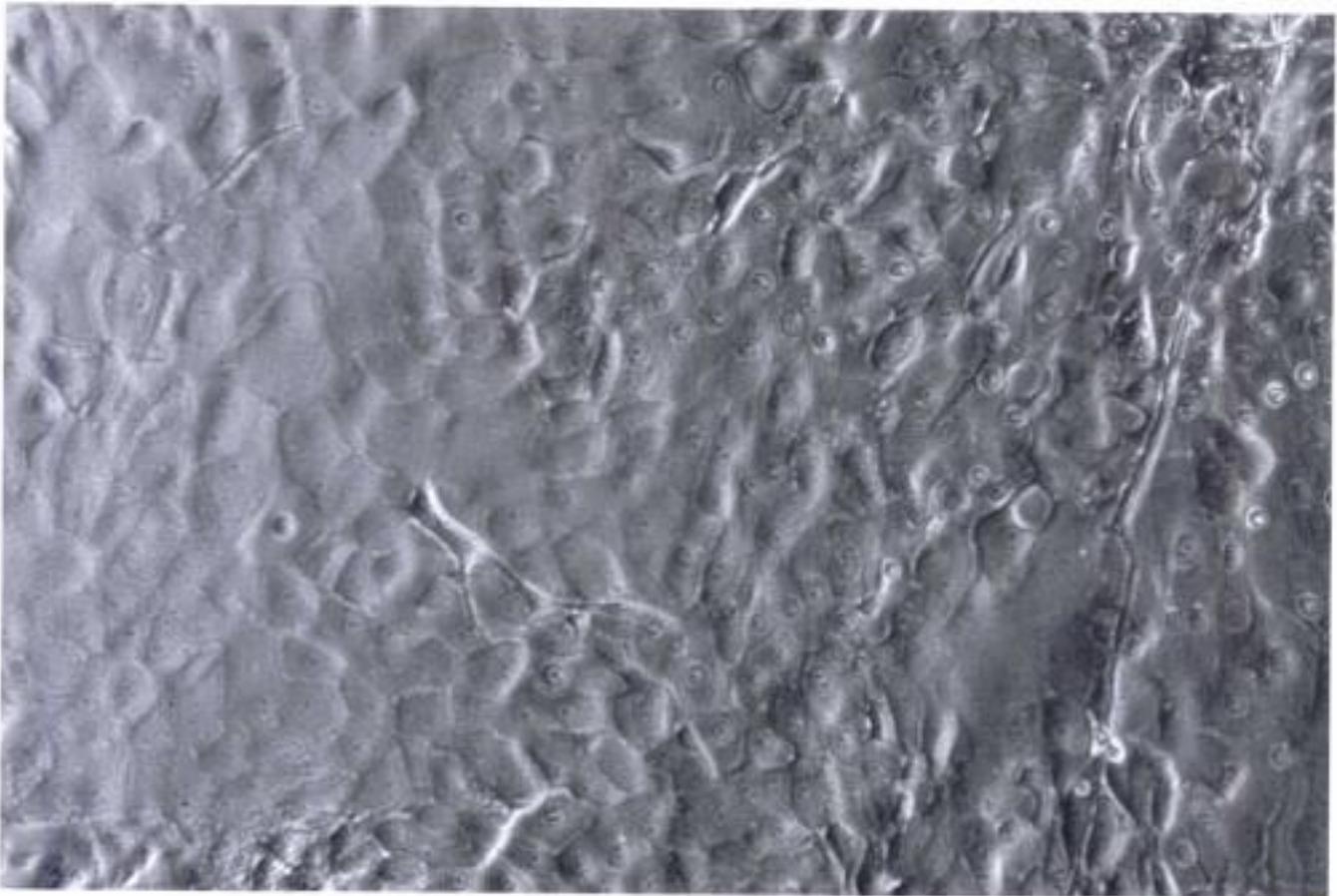
La technique de culture sur une membrane amniotique peut être utilisée pour des allogreffes. Les explants peuvent être obtenus sur une cornée juste après prélèvement post mortem ou sur une cornée conservée en organoculture (James, 2001).

La technique chirurgicale utilisée pour transplanter le greffon obtenu par culture cellulaire est la même que celle utilisée pour la greffe de membrane amniotique.

1.3. Résultats

Après deux succès rapportés par Pellegrini en 1997, Tsai (2000) rapporte les résultats de six yeux opérés, avec un suivi moyen de 15 mois. L'insuffisance limbique unilatérale était partielle dans trois cas et complète (360°) ou quasi complète (270°) dans trois cas. La réépithélialisation de la surface cornéenne est obtenue en deux à quatre jours dans tous les cas. L'acuité visuelle s'est améliorée dans tous les cas et l'inflammation et la néovascularisation ont disparu, sans récurrence durant toute la période d'étude, dans tous les cas. L'étude de Rama (2002) inclut 18 patients traités par autogreffe de cellules épithéliales limbiques cultivées selon la technique de Pellegrini. Le suivi est compris entre 12 et 27 mois. Le taux de succès anatomique est de 78 %, les échecs étant dus à des échecs de la culture.

Shimazaki (2002) rapporte les résultats de 13 allogreffes de cellules épithéliales limbiques cultivées sur une membrane amniotique humaine. Le taux de succès anatomique est de 46 %. Dans l'étude de Koizumi (2001), qui inclut 13 allogreffes de cellules épithéliales limbiques cocultivées avec des fibroblastes 3T3 sur



Culture de cellules épithéliales limbiques humaines destinée à une thérapie cellulaire épithéliale.

Résultats des greffes de cellules épithéliales limbiques cultivées

Étude	Technique	n	Suivi	Succès
Pellegrini, 1997	Autogreffes/coculture avec des fibroblastes 3T3 sur fibrine	2	2 ans	2/2
Tsai, 2000	Autogreffes/culture sur membrane amniotique	6	15 mois	6/6
Schwab, 2000	Auto- et allogreffes/culture sur membrane amniotique	14	13 mois	72 %
Koizumi, 2001	Allogreffes/coculture avec des fibroblaste 3T3 sur membrane amniotique	13	11 mois	77 %
Rama, 2002	Autogreffe/culture sur fibrine	18	12-27 mois	78 %
Shimazaki, 2002	Allogreffes/culture sur membrane amniotique	13		46 %

une membrane amniotique, le taux de succès anatomique est de 77 % après un suivi moyen de 11 mois. En cas de succès anatomique, la récupération visuelle est d'au moins deux lignes dans tous les cas.

L'épithélium cornéen obtenu par thérapie cellulaire a été étudié à partir d'une cornée prélevée lors d'une kératoplastie transfixiante réalisée dans un deuxième temps (Grueterich, 2002). L'histologie épithéliale correspondait à celle d'un épithélium cornéen mais le phénotype cellulaire correspondait à celui d'un épithélium limbique (absence d'expression de la cytokératine 3 et de la connexine 43 dans la couche basale).

Un cas d'autogreffe de cellules épithéliales limbiques et conjonctivales cultivées sur une membrane amniotique a été rapporté (Sangwan, 2003). Le patient avait une insuffisance en cellules souches limbiques et conjonctivales, et le résultat anatomique à un an est très satisfaisant.

En cas d'échec d'une première thérapie cellulaire épithéliale limbique, une deuxième intervention peut être réalisée avec succès (Nakamura, 2003).

Un certain nombre de questions persistent qui nécessiteront des travaux de recherche fondamentale afin d'améliorer les résultats de la thérapie cellulaire épithéliale :

- les cellules greffées sont-elles des cellules souches ? L'absence de marqueur spécifique des cellules souches limbiques ne permet toujours pas de les identifier formellement avant la greffe. La couche basale de l'épithélium limbique contiendrait 10 % de cellules souches. Actuellement les cellules souches limbiques peuvent être identifiées à partir d'un profil d'expression de plusieurs marqueurs : elles n'expriment pas la cytokératine 3 (Grueterich, 2002), la connexine 43 (Wolosin, 2002), la laminine 5, l'involucrine, le CD34 (marqueur des cellules souches hématopoïétiques) et le collagène VII. Elles expriment la cytokératine 19 (Baranard, 2001), la protéine p63 (Moore, 2002 ; Pellegrini, 2001), les intégrines $\beta 1$ et $\beta 4$, le récepteur de l'EGF, le PCNA, le CD133 (marqueur des cellules souches hématopoïétiques), la télomérase (Moore, 2002), ABCG2 (membre de la famille des ATP binding cassette transporteurs, marqueur des cellules

souches médullaires), le CD40 (Iwata, 2002) et le collagène IV. Les résultats sont contradictoires pour Ki67 (marqueur des cellules en prolifération). La protéine p63 marque également les cellules amplificatrices transitoires, de même pour la télomérase et le CD133. En culture, elles incorporent le BrdU et peuvent être sélectionnées par une capacité d'adhésion rapide (20 minutes) à des fonds de puits coatés avec du collagène IV ; elles sont de plus petite taille que les cellules amplificatrices transitoires ;

- les cellules souches greffées peuvent-elles survivre à long terme après la greffe ? Peuvent-elles être l'objet d'une réaction de rejet immunologique ? Les résultats de l'allogreffe de limbe font douter de la possibilité de survie à long terme des cellules souches limbiques allogéniques ;
- quels sont les rapports entre cellules souches limbiques, cellules souches conjonctivales, cellules souches stromales et neurones ? L'épithélium limbique contient des cellules SP (*side population*) définies par l'exclusion du colorant Hoechst 33342 dont la culture permet d'obtenir des cellules épithéliales et des cellules fibroblastiques. Il contient également des cellules ayant des réponses au GABA de type neural en électrophysiologie et expriment des récepteurs au GABA, à la glycine et à la sérotonine (Seigel, 2003). Les cellules épithéliales limbiques cultivées en présence de mitogènes peuvent exprimer des marqueurs des progéniteurs neuronaux (Zhao, 2002). Il est donc probable que la population des cellules épithéliales basales du limbe corresponde à une population hétérogène de progéniteurs ayant des capacités de différenciation variées ;
- quels sont les facteurs de différenciation des cellules souches limbiques ? Quels sont les facteurs permettant de conserver le phénotype des cellules souches limbiques ? ;
- quelle est la nature de la niche limbique ? La présence du stroma limbique semble nécessaire pour conserver un phénotype de cellules souches limbiques chez l'animal ; ce stroma permettrait également la conversion rétrograde de cellules amplificatrices transitoires en cellules souches.

2. Perspectives

Les développements de la thérapie cellulaire permettent d'envisager dans l'avenir l'utilisation clinique de techniques actuellement au stade d'expérimentation animale ou d'essai clinique de phase I chez l'homme. Il s'agit de la greffe de cellules endothéliales cornéennes, de la greffe de photorécepteurs et de la greffe de cellules de l'épithélium pigmentaire. La culture de cellules endothéliales cornéennes humaines a été réalisée avec succès par quelques équipes. Néanmoins, la croissance cellulaire entraîne habituellement une perte de la différenciation cellulaire endothéliale. Il est donc encore difficile d'envisager leur utilisation chez l'homme en clinique. Les cellules de l'épithélium pigmentaire de la rétine humaine peuvent être cultivées sur une membrane amniotique humaine (Capeans, 2003). Quelques essais thérapeutiques ont été publiés dans le traitement de rétinopathies pigmentaires (greffe de photorécepteurs) et de la dégénérescence maculaire liée à l'âge (greffe d'épithélium pigmentaire rétinien ou irien) avec des résul-

tats encore très limités. Néanmoins, cette voie thérapeutique représente un espoir pour certaines pathologies rétiniennes actuellement incurables.

Une cornée artificielle a déjà été réalisée *in vitro* à partir de cellules cornéennes humaines immortalisées par des rétrovirus exprimant les gènes HPV16-E6 et E7, SV40 large T Ag et pSV3néo et par l'adénovirus A1A 12S par Griffith (1999). La sélection des cellules a été faite sur la morphologie, les caractéristiques biochimiques et sur l'électrophysiologie. Succinctement, les kératocytes sont cultivés dans un gel de collagène-chondroïtine sulfate, puis l'épithélium et l'endothélium sont ensemencés à la surface de ce gel. Le tissu cornéen obtenu *in vitro* possède la morphologie, l'histologie et certaines caractéristiques physiologiques d'une cornée humaine normale. Le mode de préparation de cette cornée artificielle n'autorise pas son utilisation clinique, mais il ouvre des voies de recherche passionnantes pour le futur.

Thérapie cellulaire

- La thérapie cellulaire épithéliale est utilisée en pratique clinique en Asie du Sud-Est, en Italie et en Amérique du Nord depuis plusieurs années. Elle est en cours d'introduction en France.
- Les indications opératoires sont celles de la greffe de limbe (insuffisance limbique). Si la pathologie est bilatérale ou si le patient est monophthalme, une allogreffe est réalisée. Si la pathologie est unilatérale, une autogreffe peut être réalisée à partir d'un prélèvement de limbe réalisé sur l'œil sain.
- Deux grandes techniques ont été décrites pour préparer les greffons de cellules épithéliales limbiques cultivées : coculture avec des fibroblastes sur un support de fibrine et culture sur une membrane amniotique humaine.
- La technique chirurgicale utilisée pour transplanter le greffon obtenu par culture cellulaire est la même que celle utilisée pour la greffe de membrane amniotique.
- Le taux de succès des premières séries publiées varie entre 50 et 80 %.
- Les développements de la thérapie cellulaire permettent d'envisager dans l'avenir l'utilisation clinique de techniques actuellement au stade d'expérimentation animale ou d'essais cliniques préliminaires chez l'homme : greffe de cellules endothéliales cornéennes, greffe de photorécepteurs et greffe de cellules de l'épithélium pigmentaire.

Bibliographie

- Avila M, Espana M, Munro C, Peria C. Reconstruction of ocular surface with heterologous limbal epithelium and amniotic membrane in a rabbit model. *Cornea* 2001; 20: 414-420.
- Ban Y, Cooper LJ, Fullwood NJ, Nakamura T, Tsuzuki M, Koizumi N, et al. Comparison of ultrastructure, tight junction-related protein expression and barrier function of human corneal epithelial cells cultivated on amniotic membrane with and without air-lifting. *Exp Eye Res* 2003; 76: 735-743.
- Barnard Z, Apel AJ, Harkin DG. Phenotypic analyses of limbal epithelial cell cultures derived from donor corneoscleral rims. *Clin Experiment Ophthalmol* 2001; 29: 138-142.
- Borderie VM, Moura N, Laroche L. Influence of fetal calf serum, fibroblast growth factors and hepatocyte growth factor on three-dimensional cultures of human keratocytes in collagen gel matrix. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1999; 237: 861-869.
- Capeans C, Pineiro A, Pardo M, Saeiro-Lopez C, Blanco MJ, Dominguez F, et al. Amniotic membrane as support for human retinal pigment epithelium (RPE) cell growth. *Acta Ophthalmol Scand* 2003; 81: 271-277.
- Griffiths M, Osborne R, Munger R, Xiang X, Doillon CJ, Laycock NL, et al. Functional human corneal equivalents constructed from cell lines. *Science* 1999; 286: 2169-2172.
- Grueterich M, Espana E, Tseng SC. Connexin 43 expression and proliferation of human limbal epithelium on intact and denuded amniotic membrane. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002; 43: 63-71.
- Grueterich M, Espana EM, Tsubami A, Ti SE, Tseng SC. Phenotypic study of a case with successful transplantation of ex vivo expanded human limbal epithelium for unilateral total limbal stem cell deficiency. *Ophthalmology* 2002; 109: 1547-1552.
- Grueterich M, Tseng SC. Human limbal progenitor cells expanded on intact amniotic membrane ex vivo. *Arch Ophthalmol* 2002; 120: 783-790.
- Hernandez Galindo EE, Theiss C, Steuhl KP, Meller D. Expression of Delta Np63 in response to phorbol ester in human limbal epithelial cells expanded on intact human amniotic membrane. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003; 44: 2954-2965.
- Hernandez Galindo EE, Theiss C, Steuhl KP, Meller D. Gap junctional communication in microinjected human limbal and peripheral corneal epithelial cells cultured on intact amniotic membrane. *Exp Eye Res* 2003; 76: 303-314.
- Hernandez Galindo EE, Theiss C, Steuhl KP, Meller D. Gap junctional communication in microinjected human limbal and peripheral corneal epithelial cells cultured on intact amniotic membrane. *Exp Eye Res* 2003; 76: 303-314.
- Iwata M, Fushimi N, Suzuki Y, Suzuki M, Sakimoto T, Sawa M. Intercellular adhesion molecule-1 expression on human corneal epithelial outgrowth from limbal explant in culture. *Br J Ophthalmol* 2003; 87: 203-207.
- Iwata M, Soya K, Sawa M, Sakimoto T, Hwang DG. CD40 expression in normal human cornea and regulation of CD40 in cultured human corneal epithelial and stromal cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002; 43: 348-357.
- James SE, Rowe A, Ilari L, Daya S, Martin R. The potential for eye bank limbal rings to generate cultured corneal epithelial allografts. *Cornea* 2001; 20: 488-494.
- Koizumi N, Cooper LJ, Fullwood NJ, Nakamura T, Inoki K, Tsuzuki M, et al. An evaluation of cultivated corneal limbal epithelial cells, using cell-suspension culture. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002; 43: 2114-2121.
- Koizumi N, Inatomi T, Suzuki T, Sotozono C, Kinoshita S. Cultivated corneal epithelial stem cell transplantation in ocular surface disorders. *Ophthalmology* 2001; 108: 1569-1574.
- Meller D, Dabul V, Tseng SC. Expansion of conjunctival epithelial progenitor cells on amniotic membrane. *Exp Eye Res* 2002; 74: 537-545.
- Meller D, Pires RT, Tseng SC. Ex vivo preservation and expansion of human limbal epithelial stem cells on amniotic membrane cultures. *Br J Ophthalmol* 2002; 86: 463-471.
- Moore JE, McMullen CB, Mahon G, Adams AP. The corneal epithelial stem cell. *DNA Cell Biol* 2002; 21: 443-451.
- Nakamura T, Koizumi N, Tsuzuki M, Inoki K, Sano Y, Sotozono C, Kinoshita S. Successful regrafting of cultivated corneal epithelium using amniotic membrane as a carrier in severe ocular surface disease. *Cornea* 2003; 22: 70-71.
- Pellegrini G, Dellambra E, Golisano O, Martinelli E, Fantozzi I, Bondanza S, et al. p63 identifies keratinocyte stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 3156-3161.
- Pellegrini G, Traverso CE, Franz AT, Zingirian M, Cancedda R, De Luca M. Long-term restoration of damaged corneal surfaces with autologous cultivated corneal epithelium. *Lancet* 1997; 349: 990-993.
- Rama P, Bonini S, Lambiase A, Golisano O, Paterna P, De Luca M, et al. Autologous fibrin-cultured limbal stem cells permanently restore the corneal surface of patients with total limbal stem cell deficiency. *Am J Ophthalmol* 2002; 133: 134-135.
- Ramaesh K, Dhillon B. Ex vivo expansion of corneal limbal epithelial/stem cells for corneal surface reconstruction. *Eur J Ophthalmol* 2003; 13: 515-524.
- Sangwan VS, Vemuganti GK, Iftikhar G, Bansal AK, Rao GN. Use of autologous cultured limbal and conjunctival epithelium in a patient with severe bilateral ocular surface disease induced by acid injury: a case report of unique application. *Cornea* 2003; 22: 478-481.
- Schwab IR, Reyes M, Isseroff RR. Successful transplantation of bioengineered tissue replacements in patients with ocular surface disease. *Cornea* 2000; 19: 421-426.
- Schwab IR. Cultured corneal epithelia for ocular surface disease. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1999; 97: 891-986.
- Seigel GM, Sun W, Salvi R, Campbell LM, Sullivan S, Reidy JJ. Human corneal stem cells display functional neuronal properties. *Mol Vis* 2003; 9: 159-163.
- Shimazaki J, Aiba M, Goto E, Kato N, Shimamura S, Tsubota K. Transplantation of human limbal epithelium cultivated on amniotic membrane for the treatment of severe ocular surface disorders. *Ophthalmology* 2002; 109: 1285-1290.
- Steuber J, Moss WH, Pöhla-Gubo G, Ruckhofer J, Grabner G. Histopathology of human corneas after amniotic membrane and limbal stem cell transplantation for severe chemical burn. *Cornea* 2002; 21: 482-489.
- Tsubami A, Grueterich M, Tseng SC. The role of NGF signaling in human limbal epithelium expanded by amniotic membrane culture. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002; 43: 987-994.
- Tsai RJ, Li LM, Chen JK. Reconstruction of damaged corneas by transplantation of autologous limbal epithelial cells. *N Engl J Med* 2000; 343: 86-93.
- Wolosin JM, Schutte M, Zieske JD, Budak MT. Changes in connexin 43 in early ocular surface development. *Curr Eye Res* 2002; 24: 430-438.
- Yam HF, Lam DS, Pang CP. Changes of nuclear matrix in long-term culture of limbal epithelial cells. *Cornea* 2002; 21: 215-219.
- Yam HF, Pang CP, Fan DS, Fan BJ, Yu EY, Lam DS. Growth factor changes in ex vivo expansion of human limbal epithelial cells on human amniotic membrane. *Cornea* 2002; 21: 101-105.
- Zhao X, Das AV, Thoreson WB, James J, Wattram TE, Rodriguez-Sierra J, Ahmad I. Adult corneal limbal epithelium: a model for studying neural potential of non-neural stem cells/progenitors. *Dev Biol* 2002; 250: 317-331.

Hidden page

Pathologie	Situation clinique	Attitudes thérapeutiques
Kératopathie bulleuse	Vision centrale présente, champ visuel normal ou modérément altéré	Kératoplastie transfixiante
Kératopathie bulleuse	Perte de la vision centrale ou champ visuel agonique	Greffe de membrane amniotique
Kératocône évolué (habituellement stade 4)	Échec des lentilles de contact	Kératoplastie transfixiante Kératoplastie lamellaire profonde
Dystrophie de Fuchs évoluée (stade 2 ou 3)	Cristallin clair	Kératoplastie transfixiante
Dystrophie de Fuchs évoluée (stade 2 ou 3)	Cataracte	Triple procédure Kératoplastie transfixiante puis chirurgie de la cataracte
Dystrophie postérieure polymorphe, CHED		Kératoplastie transfixiante
ICE syndrome	Pression intraoculaire normale	Kératoplastie transfixiante
ICE syndrome	Hypertonie oculaire- glaucome	Kératoplastie transfixiante + trabéculéctomie Trabéculéctomie puis kératoplastie transfixiante
Dystrophies avec atteinte stromale (granulaire, maculaire, grillagée, Avellino, Turpin, cristalline)	Atteinte superficielle, endothélium normal	Photokératectomie thérapeutique Kératoplastie lamellaire profonde Kératoplastie lamellaire automatisée
Dystrophies avec atteinte stromale (granulaire, maculaire, grillagée, Avellino, Turpin, cristalline)	Atteinte profonde, endothélium normal	Kératoplastie lamellaire profonde Kératoplastie transfixiante
Dystrophies avec atteinte stromale (granulaire, maculaire, grillagée, Avellino, Turpin, cristalline)	Endothélium pathologique	Kératoplastie transfixiante
Kératites interstitielles, séquelles de kératite infectieuse	Cataracte, épithélium cornéen normal	Chirurgie de la cataracte puis greffe (kératoplastie transfixiante ou lamellaire profonde) si la récupération fonctionnelle est insuffisante
Kératites interstitielles, séquelles de kératite infectieuse	Cristallin clair, épithélium cornéen normal	Kératoplastie transfixiante Kératoplastie lamellaire profonde (si l'endothélium est normal)
Séquelles de kératites infectieuses ou immunologiques sévères	Insuffisance limbique	Greffe de limbe et de membrane amniotique puis greffe (kératoplastie transfixiante ABO-compatible)

Pathologie	Situation clinique	Attitudes thérapeutiques
Séquelles de traumatismes et brûlures	Épithélium cornéen normal	Kératoplastie transfixiante Kératoplastie lamellaire profonde (si l'endothélium est normal)
Séquelles de traumatismes et brûlures	Insuffisance limbique	Greffe de limbe et/ou de membrane amniotique puis greffe (kératoplastie transfixiante ou lamellaire profonde si l'endothélium est normal) ABO-compatible
Brûlures oculaires au stade aigu	Insuffisance limbique	Greffe de membrane amniotique
Séquelles de syndrome de Lyell, de Stevens-Johnson, pemphigoïde oculaire		Allogreffe de limbe et/ou de membrane amniotique puis greffe (kératoplastie transfixiante ou lamellaire profonde si l'endothélium est normal) ABO-compatible, pronostic réservé
Kératopathie de l'aniridie		Allogreffe de limbe
Échec de greffe	Épithélium cornéen normal	Deuxième greffe ABO-compatible
Échec de greffe	Insuffisance limbique	Greffe de limbe et/ou de membrane amniotique puis deuxième greffe ABO-compatible
Perte de substance cornéenne	Risque de perte du globe oculaire à court terme	Kératoplasties à but architectonique
Abcès cornéen amibien ou fongique	Résistance au traitement médical	Kératoplasties à but thérapeutique
Ulcères cornéens chroniques	Résistance au traitement médical	Greffe de membrane amniotique
Ptérygion évolutif	Envahissement cornéen périphérique	Autogreffe de conjonctive
Ptérygion évolutif	Envahissement cornéen central	Greffe de membrane amniotique et/ou de conjonctive Autogreffe conjonctivolimbique
Exérèse de tumeurs conjonctivales ou de symblépharons		Greffe de membrane amniotique

Chapitre 10

Soins infirmiers et greffes

Préparation du patient à l'intervention

Soins postopératoires

Hidden page

Hidden page

Soins infirmiers et greffes

- La préparation du patient à l'intervention comporte la vérification de l'état général, la gestion d'un éventuel traitement anticoagulant oral (contrôle du taux de prothrombine) ou antiagrégant plaquettaire, la prévention de l'endophtalmie postopératoire, la vérification du côté à opérer et la préparation de l'œil à opérer.
- Les soins postopératoires comportent un pansement ou une coque rigide transparente mis la nuit pendant un mois, le traitement local débuté au plus tard le lendemain matin de l'intervention ou, en cas de greffe à haut risque de rejet, dès le retour du bloc opératoire. Le traitement habituel comporte un collyre corticoïde associé à un collyre antibiotique. Le plus souvent, il n'y a pas de traitement général. Dans certaines situations (greffes à haut risque de rejet), des perfusions intraveineuses de corticoïdes (Solumédrol®) sont réalisées trois jours de suite. L'hypertonie oculaire postgreffe est souvent traitée par du Diamox® par voie orale associé à du potassium. Un traitement anticoagulant ou antiagrégant plaquettaire peut être repris dès le lendemain après examen de l'œil opéré par le chirurgien.
- La surveillance postopératoire comporte les constantes (pouls, tension, température) et la rougeur oculaire qui doit évoluer en diminuant avec le temps.
- L'éducation (instillation des collyres) et l'information du patient (signes du rejet : flou visuel, rougeur, photophobie, larmoiement, douleurs ; structure d'accueil d'urgence ; nécessité de ne pas arrêter le traitement indispensable pour éviter le rejet) sont des éléments importants de la prise en charge infirmière du patient après l'intervention.
- Pour les patients ne pouvant mettre leurs collyres eux-mêmes, les soins infirmiers à domicile consistent à nettoyer les éventuelles sécrétions, vérifier l'état de l'œil et instiller les collyres.

Index alphabétique

A

abcès de cornée, 46, 234, 238
 aberrations de sphéricité, 20, 118
 ablation d'un implant de chambre antérieure, 104
 ablation des sutures, 134
 activation des lymphocytes T, 28, 31
 acuité visuelle, 190
 âge du donneur, 54
 agence de régulation, 2
 Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé, 2
 algorithme axial, 118
 algorithme tangentiel, 118
 allogreffe de limbe, 248
 allorecognition directe, 28, 31
 allorecognition indirecte, 28
 amincissement temporaire du greffon, 16
 anesthésie, 92
 annuaire des centres français de conservation de cornées, 10
 anomalie de Peters, 48
 Anterior Chamber Associated Immune Deviation, 29, 31
 apoptose, 32, 34
 apoptose des cellules endothéliales et greffe de cornée, 34
 appariement ABO entre donneur et receveur, 88
 appariement dans les systèmes mineurs d'histocompatibilité, 90
 appariement HLA en biologie moléculaire, 84
 appariement HLA en sérologie, 82
 appariement tissulaire entre donneur et receveur, 80, 90
 asphéricité, 18, 120
 Association européenne des banques d'yeux, 10
 assurance qualité, 6
 astigmatisme, 166, 184, 192, 196
 atrophie du globe oculaire, 180
 atrophie essentielle de l'iris, 44
 autogreffe de cellules épithéliales limbi-ques cultivées, 288
 autogreffe de conjonctive, 280, 284
 autogreffe de limbe, 248
 autogreffe rationnelle, 198
 autokératoplastie transfixiante, 198

B

banques de tissus, 2, 10
 bilan préopératoire des kératoplasties thérapeutiques et architectoniques, 234
 bilan préopératoire des kératoplasties transfixiantes, 51
 brûlures oculaires, 48, 244, 256, 270

C

capsulotomie au laser YAG, 174
 cataracte après kératoplastie transfixiante, 174, 184

cellules effectrices, 29
 cellules souches limbi-ques, 242
 centres de tissus, 6
 cession du greffon, 78
 changement d'implant, 50, 104
 chiffres européens, 10
 chiffres français, 10
 chimérisme cellulaire épithélial, 16
 chirurgie de la cataracte, 50, 174
 chirurgie des tumeurs de la surface oculaire, 274
 chirurgie filtrante, 51, 110, 150, 184
 cicatrisation, 16
 cicatrisation de l'endothélium cornéen, 16
 cicatrisation de la membrane de Descemet, 18
 cicatrisation stromale, 18
 ciclosporine par voie orale, 115
 ciclosporine topique, 114, 123, 150
 classification de Liu, 120
 classification pronostique des indications opératoires, 51
 Code de la santé publique, 2
 complications de l'autogreffe de conjonctive, 282, 284
 complications de la greffe de membrane amniotique, 270
 complications de la kératoplastie lamellaire automatisée, 228
 complications de la kératoplastie lamellaire profonde, 220, 230
 complications de la kératoplastie transfixiante, 184
 complications des incisions relaxantes, 168
 complications infectieuses de la kératoplastie transfixiante, 152
 complications peropératoires de la kératoplastie transfixiante, 138
 complications postopératoires de la kératoplastie transfixiante, 140, 184
 conjonctivochalasis, 274
 conséquences de la conservation à 4 °C, 60
 conséquences de la conservation en organoculture, 64
 conséquences de la cryoconservation, 72
 conservation de la cornée à court terme en milieu liquide à +4 °C, 60
 conservation de la cornée à moyen terme en organoculture à +31 °C, 64
 conservation des greffons cornéens, 58
 conservation du globe entier en chambre humide à +4 °C, 60
 conservation par congélation, 72
 constat de la mort, 2
 contre-indications générales au prélèvement à but thérapeutique, 54
 contrôle de qualité endothélial, 74
 contrôle de stérilité du greffon, 78
 coordination hospitalière du prélèvement, 2
 cornea guttata progressive, 164
 correction optique, 122
 corticoides, 112

critères d'exclusion des donneurs décédés, 6, 54
 critères de qualité, 74
 cross-match, 84
 cross-match tissulaire, 90
 cryoconservation, 72
 cultures lymphocytaires, 24
 cyclodestruction au laser diode, 150

D

décollement de la membrane de Descemet, 138, 184
 décollement de rétine, 180, 184
 décompensation endothéliale secondaire non immunologique du greffon, 162
 décontamination des globes oculaires prélevés par énucléation et dissection de la cornée, 58
 défaut d'étanchéité de la cicatrice, 180, 184
 défauts épithéliaux, 158
 dégénérescence maculaire, 176
 directive européenne, 4
 disque de Placido, 118, 123
 distribution de l'épaisseur cornéenne, 22
 dystrophie cornéenne endothéliale héréditaire, 44
 dystrophie cristalline, 44
 dystrophie d'Avellino, 44
 dystrophie de Fuchs, 42, 192
 dystrophie de Turpin, 44
 dystrophie endothéliale congénitale héréditaire, 194
 dystrophie granulaire, 44
 dystrophie grillagée, 44
 dystrophie maculaire, 44
 dystrophie postérieure polymorphe, 44, 194
 dystrophies endothélio-descémétiques, 42
 dystrophies stromales, 44

E

échec de greffe, 194
 échec de la kératoplastie, 48, 186
 échec primaire de la kératoplastie, 140, 184
 effets secondaires de la ciclosporine, 115
 effets secondaires des collyres corticoides, 112, 123
 endophtalmie postopératoire, 152
 épaisseur du greffon, 16, 116, 123, 132, 137
 épithéliopathie dendritiforme hypertrophique superficielle, 158
 équipe de greffes, 4
 Établissement français des greffes, 2, 10
 évaluation de l'endothélium, 116
 évolution de l'acuité visuelle, 134
 évolution de l'astigmatisme, 134, 137
 évolution de l'endothélium cornéen, 126
 évolution de l'épaisseur cornéenne, 132
 évolution normale d'une kératoplastie transfixiante, 124, 137, 138
 expression antigénique de la cornée humaine, 80

Les greffes en ophtalmologie

F

facteurs de risque de pathologies épithéliales, 158
 facteurs de risque de rejet, 142, 184
 facteurs pronostiques de la kératoplastie transfixiante, 186
 Fédération des banques de tissus oculaires, 10
 formes topographiques, 20
 fréquence de l'hypertonie après kératoplastie transfixiante, 148
 fréquence du rejet, 142

G

gestion postopératoire des sutures, 120, 123
 gouttes, 74
 greffe à chaud, 234
 greffes bouchons, 234, 238
 greffes de limbe, 256
 greffes de membrane amniotique, 259, 274
 greffon amniotique, 264
 greffon cornéen, 54, 78, 92
 greffon pour kératoplastie lamellaire profonde, 212

H

hémorragie expulsive, 138, 184
 histologie des greffons cornéens humains rejetés, 24, 31
 hurricane kératopathie, 158
 hyaluronate de sodium, 92, 94, 98, 114, 124, 137, 180, 274
 hypersensibilité retardée, 29
 hypertonie oculaire, 148, 184

I

immunité humorale, 24
 implant suturé à la sclère, 110
 incisions transverses, 166
 indications de la greffe de membrane amniotique, 262
 indications des interventions combinées, 50
 indications opératoires de l'autogreffe de conjonctive, 280
 indications opératoires de la greffe de limbe, 246
 indications opératoires de la kératoplastie lamellaire automatisée, 224
 indications opératoires de la kératoplastie lamellaire profonde, 272
 indications opératoires de la kératoplastie transfixiante, 36, 53
 indications opératoires de la thérapie cellulaire, 288, 291
 indications opératoires des kératoplasties thérapeutiques et architectoniques, 234
 infirmière, 2, 298, 300
 information du patient, 299, 300
 inspections, 2
 interventions combinées, 104
 invasion épithéliale, 180, 184
 issue de vitré, 138, 184

K

kératite amibienne, 156, 234, 238
 kératite filamenteuse, 158
 kératite herpétique, 46
 kératite interstitielle, 46
 kératite ponctuée superficielle, 158
 kératites bactériennes, 152
 kératites herpétiques, 156

kératites infectieuses, 46
 kératites infectieuses après kératoplastie, 152
 kératocône, 40, 194
 kérato-conjonctivites fibrosantes, 272
 kératome arciforme de Hanna, 166
 kératomycoses, 152, 234, 238
 kératopathie cristalline, 154
 kératopathies bulleuses, 36, 192, 196, 262, 272, 274
 kératoplastie lamellaire automatisée, 224, 230
 kératoplastie lamellaire postérieure, 229
 kératoplastie lamellaire profonde, 212, 230
 kératoplastie simple, 94
 kératoplasties à but architectonique, 234
 kératoplasties à but architectonique et thérapeutique, 238
 kératoplasties à but thérapeutique, 234
 kératoplasties lamellaires à but optique, 230
 kératotomies arciformes, 166

L

laser excimer, 166
 Lasik, 166
 législation française, 2
 lésion de l'iris, 138, 184
 lésion du cristallin, 138, 184
 liste nationale des patients en attente de greffe de cornée, 4
 loi bioéthique, 2
 lymphocytes T cytotoxiques, 29

M

maladie de Creutzfeldt-Jakob, 178, 184
 matériel chirurgical, 92
 mécanisme d'action de la ciclosporine, 114
 mécanisme d'action des corticoïdes, 112
 mécanisme du rejet d'allogreffe de cornée, 24, 31
 médecin greffeur, 4
 médecin préleveur, 2
 membrane amniotique, 260, 274
 membrane rétrocornéenne, 180, 184
 microscopie confocale, 144
 microscopie spéculaire, 116
 migration des cellules effectrices, 29
 milieux d'organoculture, 64
 milieux de conservation à 4°C, 60
 milieux de déturgescence, 64
 mitomycine, 150
 modèle expérimental de rejet d'allogreffe de cornée chez le rat, 26
 modèle expérimental murin de rejet d'allogreffe de cornée, 24
 modèle humain théorique du rejet d'allogreffe de cornée, 28
 modes opératoires normalisés, 6
 mycophénolate mofétil, 116
 mydriase irréversible, 180, 184
 myopisation, 192

N

néovascularisation cornéenne après kératoplastie transfixiante, 96, 132

O

oblate, 20
 œdème maculaire, 176, 184
 opacification de la capsule postérieure, 174
 Orbscan, 178

P

pachymètres ultrasonores, 116
 PARK, 168
 pathologies épithéliales, 158
 perspectives, 291
 perte cellulaire endothéliale, 126
 perte cellulaire endothéliale progressive isolée, 162
 phacoémulsification, 174
 physiologie de la cornée greffée, 74, 22
 pompe endothéliale, 14
 prélèvement, 2
 prélèvement de cornée, 54
 prélèvement par énucléation, 56
 prélèvement par excision in situ, 56
 préparation du greffon prélevé par excision in situ pour la conservation, 58
 préparation du patient à l'intervention, 298, 300
 pression d'imbibition du stroma, 14
 pression de gonflement du stroma, 14
 pression intraoculaire, 16, 148
 prévention de l'endophtalmie, 298, 300
 principe de l'appariement HLA entre donneur et receveur, 82
 privilège immunologique de la greffe de cornée, 29, 31
 procédures, 4
 prolate, 18
 ptérygion, 272, 280
 puissance réfractive, 20, 118

Q

qualité de la vision, 192

R

rage, 178, 184
 réépithélialisation du greffon, 124
 réinnervation du greffon, 132, 137
 récurrence de la pathologie initiale sur le greffon, 180, 184
 récupération visuelle, 190
 réfraction subjective, 122, 192
 registre des établissements agréés, 6
 Registre national des refus, 2
 régulation de l'hydratation du greffon, 74
 rejet d'allogreffe de cornée, 142, 184
 renouvellement de l'épithélium cornéen, 242
 résultat de la greffe de limbe, 252
 résultats de l'autogreffe de conjonctive, 282, 284
 résultats de la greffe de membrane amniotique, 270
 résultats de la kératoplastie lamellaire profonde, 220
 résultats de la kératoplastie transfixiante, 186, 196
 résultats de la kératoplastie transfixiante en fonction de l'indication opératoire, 192
 résultats de la thérapie cellulaire, 288
 résultats des kératoplasties thérapeutiques et architectoniques, 238
 résultats des triples procédures, 796
 résultats fonctionnels de la kératoplastie transfixiante, 190
 rupture de la barrière hémato-aqueuse, 124, 137

S

sclérocornée, 48
 sécurité sanitaire, 4
 sélection clinique du donneur, 54

Services déconcentrés de l'État, 2
 signes cliniques du rejet, 144
 Société française de bioingénierie cellulaire
 et tissulaire, 10
 soins infirmiers à domicile, 299
 soins infirmiers et greffes, 300
 soins postopératoires, 299, 300
 standards minimaux, 10
 suivi des patients greffés, 116, 123
 surdimensionnement du greffon, 22
 surface cornéenne, 18
 survie du greffon, 186, 196
 survie du greffon sans rejet endothélial, 142
 suture du greffon, 96
 syndrome d'insuffisance en cellules souches
 limbiques, 244, 256
 syndrome d'insuffisance en cellules souches
 limbiques et conjonctivales, 244
 syndrome d'Urrets-Zavalía, 180, 184
 syndrome de Chandler, 44
 syndrome de Cogan-Reese, 44
 syndrome endothélial iridocornéen, 44, 194

T

tacrolimus, 115
 taux d'hydratation du stroma, 14
 technique opératoire de l'autogreffe de
 conjonctive, 280

technique opératoire de la greffe de limbe, 248
 technique opératoire de la greffe de mem-
 brane amniotique, 264
 technique opératoire de la kératoplastie
 lamellaire automatisée, 224, 230
 technique opératoire de la kératoplastie
 lamellaire profonde, 212
 technique opératoire de la kératoplastie
 transfixiante, 92, 111
 techniques de kératoplastie thérapeutique et
 architectonique, 236
 thérapie cellulaire, 291
 thérapie cellulaire épithéliale, 288, 291
 topographie cornéenne, 118, 123
 toricité, 120, 166
 trabéculotomie, 110, 150
 traçabilité, 4, 12
 trachome, 46
 traitement curatif du rejet, 146, 184
 traitement des kératites infectieuses, 154
 traitement oral antiherpétique préventif,
 115, 123
 traitement postopératoire et suivi d'une
 kératoplastie transfixiante, 112, 123
 traitement postopératoire général, 114
 traitement postopératoire local, 112
 transformation des tissus et des cellules, 6
 transmission de pathologies par le greffon,
 178

transmission du virus herpétique, 178
 transparence du greffon, 14
 transport du prélèvement vers la banque de
 cornées, 58
 transposition cornéenne, 198
 traumatismes, 46
 traumatismes sur œil greffé, 180
 trépan de Hanna, 94
 trépan de Hessburg-Barron, 94
 trépanation au laser excimer, 96
 trépanation de la cornée réceptrice, 94
 trépanation du greffon, 94
 triples procédures, 104, 196

U

ulcères cornéens chroniques, 270
 ulcères cornéens infectieux, 272
 ultraviolets B, 90

V

valves de dérivation de l'humeur aqueuse,
 110, 150
 vitrectomie, 51, 110

Hidden page

Hidden page

Les greffes en ophtalmologie

Vincent Borderie

Ce livre est le premier ouvrage en langue française consacré aux greffes réalisées en ophtalmologie, depuis la kératoplastie transfixiante, technique pratiquée depuis un siècle, jusqu'aux premiers essais cliniques de thérapie cellulaire. Il décrit les greffes dans leurs aspects cliniques, chirurgicaux, légaux, techniques et scientifiques. Il s'adresse à tous les acteurs de la greffe : ophtalmologistes, chirurgiens greffeurs, médecins préleveurs, coordinateurs des prélèvements, médecins, techniciens des banques de tissus et infirmières. Une iconographie abondante illustre cet ouvrage, qui a été construit à partir de données bibliographiques extensives et du suivi prospectif de plus de 1 000 patients greffés sur une période de dix ans. Le lecteur trouvera des fiches de synthèse pour aller rapidement à l'essentiel, l'état actuel de la science présenté dans le texte, les tableaux et les illustrations cliniques, et une approche pratique des questions sous forme de reportages photographiques des gestes chirurgicaux et techniques. Vincent Borderie est professeur des Universités, praticien hospitalier au centre hospitalier national d'ophtalmologie des Quinze-Vingts et vice-président de l'Association européenne des banques d'yeux (EEBA).

Marie Baudrimont est maître de conférence universitaire, praticien hospitalier en anatomie pathologique à l'hôpital Sainte-Anne.

Tristan Bourcier est praticien hospitalier universitaire au centre hospitalier national d'ophtalmologie des Quinze-Vingts.

Laurent Laroche est professeur des Universités, praticien hospitalier, chef de service au centre hospitalier national d'ophtalmologie des Quinze-Vingts.

Olivier Touzeau est praticien hospitalier dans le service d'ophtalmologie de l'hôpital Saint-Antoine.



ISBN : 2-84299-583-X

ISSN : 1762-0384

150 €

Copy GPS 9 782842 595836

