Revues générales
Cornée

# Intérêt du laser femtoseconde pour la greffe endothéliale

**RÉSUMÉ : Pour réaliser une greffe lamellaire endothéliale, le greffon peut être obtenu par découpe lamellaire mécanique assistée au microkératome ou au laser femtoseconde. La découpe mécanique est simple, peu coûteuse et permet la réalisation d'interfaces lisses par rapport au laser. En revanche, le laser autorise des découpes personnalisées, plus reproductibles et plus fines. Sa limite principale actuelle est les irrégularités d'interface sur la face stromale du greffon, qui limitent l'acuité visuelle des patients déjà greffés avec la procédure laser. Il est cependant possible d'obtenir des interfaces laser lisses en utilisant le protocole de double découpe que nous décrivons. La vision des patients greffés et la survie de leurs greffons devront maintenant déterminer l'intérêt de cette nouvelle procédure laser.**

→ **J.L. BOURGES**
Université Paris-Descartes,
Hôpital Hôtel-Dieu,
PARIS.

Aujourd'hui et bien qu'elle ne soit pas toujours réalisable ou souhaitable, l'indication d'une kératoplastie lamellaire endothéliale (KLE) est systématiquement évaluée lorsqu'il faut remplacer un endothélium cornéen défaillant. Il s'agit, après avoir ôté l'endothélio-Descemet pathologique du patient, d'insérer en chambre antérieure une lenticule provenant d'une cornée de donneur avec son endothélium sain et sa membrane de Descemet seulement dans les greffes endothélio-descémétiques. Cette lenticule endothélio-descémétique est accompagnée d'un disque de stroma postérieur dans les kératoplasties lamellaires endothéliales (KLE). Depuis les premières KLE pour lesquelles le greffon (ou lenticule) était obtenu manuellement à partir des cornées de donneurs, la technique d'obtention des lenticules a radicalement évolué. Il n'est pas encore possible d'obtenir des greffons endothéliaux sans stroma de manière automatisée pour les greffes endothélio-descémétiques. En revanche, la découpe de la lenticule endothéliale accompagnée de son support stromal est aujourd'hui généralement assistée par microkératome ou par laser femtoseconde [1, 2], ce qui augmente grandement la qualité des greffons obtenus et la reproductibilité de la procédure.

La majorité des chirurgiens utilisent actuellement un microkératome pour obtenir leurs lenticules endothéliales. Pourtant, les avantages de la découpe laser femtoseconde (FS) sont nombreux et cette technique s'est progressivement imposée en chirurgie réfractive [3, 4]. En fait, les résultats visuels obtenus jusqu'alors par assistance femtolaser sont restés assez décevants [5-8]. Depuis peu, il est désormais possible de contourner les principales limites de cette technique pour bénéficier de ses nombreux avantages.

## Limites connues de l'assistance femtolaser pour les KLE

La disponibilité et le coût du laser FS sont un frein à son utilisation dans l'indication de greffe endothéliale, qui ne permet pas encore à elle seule d'assurer la rentabilité du dispositif. De plus, la découpe cornéenne par FS est limitée

# Revues générales
## Cornée

par l'opacité des milieux que le faisceau traverse. Ainsi, la diffraction lumineuse liée à une taie cornéenne, à un gérontoxon ou à un œdème stromal important est cumulative proportionnellement à la profondeur de découpe et nuit à l'efficacité d'une découpe profonde [5, 7]. Il existe aussi dans les tissus œdémateux des phénomènes d'autofocalisation non linéaires qui impactent la précision de découpe profonde. Des ponts de collagène peuvent persister dans la zone opacifiée et générer des adhérences invincibles ou bien à l'origine d'irrégularités d'interface, potentiellement nuisibles à la qualité visuelle finale du patient greffé (***fig. 1***). Enfin, la procédure de découpe de la lenticule endothéliale par laser FS n'est aujourd'hui pas clairement établie pour les cornées conservées en organoculture telles qu'elles nous sont fournies en France et le plus souvent en Europe.

De fait, avec les protocoles décrits actuellement, force est de constater que la qualité d'interface stromale des lenticules obtenue par découpe laser n'a pas encore égalé dans les séries rapportées celle des découpes par microkératome [5, 9], moins chères et plus rapides. Il en résulte une moins bonne acuité visuelle finale des patients recevant des greffons obtenus par laser FS jusqu'à présent, par rapport à ceux greffés avec des greffons découpés par microkératome dans les quelques séries comparatives publiées à ce jour [2, 5, 7].

## Avantages de la découpe de lenticule au laser femtoseconde

Le laser FS présente en revanche plusieurs intérêts notables sur la découpe mécanique, comme cela a été déjà démontré extensivement et indiscutablement pour la chirurgie réfractive [10, 11]. Le choix total du profil de découpe permet d'obtenir des géométries très avantageuses [3, 12], inenvisageables mécaniquement. L'épaisseur du stroma résiduel peut être réduite sur la lenticule [5], permettant de l'insérer en chambre antérieure par de petites incision, dont la taille réduite permet d'envisager l'auto-étanchéité (***fig. 2***). La greffe sans suture est de fait rendue possible avec tous les avantages connexes que cela suscite, comme la stabilité réfractive précoce, l'absence de complication liée aux sutures (granulomes, infections, distension) ou l'affranchissement de l'ablation de celles-ci, génératrice de risque de rejet et de modification réfractive.

Il est aussi possible de standardiser une procédure en déterminant un protocole de découpe précis, dont l'implémentation est fiable. En effet, un éventuel incident technique de découpe laser se solutionne par le renouvellement de la découpe laser dans le même temps et sans conséquence notable. Le blocage ou le ressaut de découpe mécanique pendant la procédure impacte plus ou moins, mais forcément, l'interface de la lenticule. Le laser FS permet enfin des découpes d'épaisseur et de diamètre reproductibles en condition optique approximativement similaire [10, 13]. La reproductibilité de la découpe laser peut être augmentée encore en pelant l'épithélium du donneur avant la procédure d'applanation, alors que cette manœuvre est inutile dans ce but en découpe mécanique. L'aléa dans l'épaisseur effective des lenticules, observé pour les découpes mécaniques, en est d'autant réduit [9, 13, 14]. De fait, le stress de l'opérateur, qui dispose souvent d'une quantité limitée de greffons, l'est aussi. Il résulte de tout cela que les qualités chirurgicales requises et par conséquent la courbe d'apprentissage sont relativement réduites par rapport à la pratique d'une découpe mécanique. Cela rend le savoir-faire des découpes laser FS probablement plus accessible.

## Avancées actuelles

Grâce à la modification des profils usuels de découpe FS des lenticules endothéliales, il est aujourd'hui possible d'améliorer considérablement la qualité des interfaces stromales que l'on obtient. La préparation des lenticules en procédant à une découpe par voie endothéliale est actuellement étudiée.

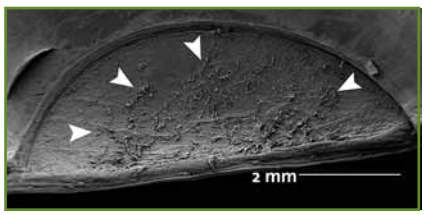


**Fig. 1 :** Lorsqu'un greffon endothélial de moins de 200 µm d'épaisseur est créé à l'aide d'une procédure laser femtoseconde par une procédure en un temps, il persiste des irrégularités visibles à l'interface de découpe, visibles à l'œil nu et objectivables en microscopie à balayage (têtes de flèche). Elles correspondent à des ponts collagéniques interlamellaires résiduels et sont favorisées par la structure particulière du stroma cornéen postérieur.

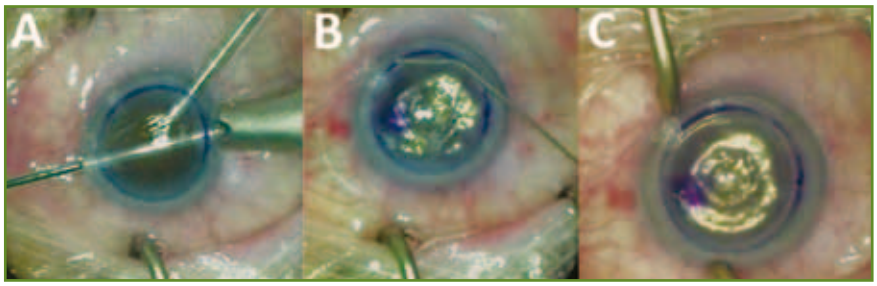


**Fig. 2 :** L'intérêt de disposer de greffons endothéliaux fins réside moins dans l'amélioration discutée des résultats visuels que cela procurerait plutôt que dans la facilitation d'une chirurgie auto-étanche. Un greffon endothélial fin peut être présenté en regard d'une incision cornéenne limbique tunnellisée inférieure à 4 mm pour être attiré en chambre antérieure (**A**). Après injection d'un tamponnement gazeux, la pression, l'auto-étanchéité et l'immobilité du greffon sont vérifiées (**B**) et doivent se maintenir lors de l'ablation du blépharostat (**C**).

Son impact sur la vitalité cellulaire endothéliale n'est pas encore clairement établi, mais interroge. La réalisation d'une simple découpe lamellaire par voie "épithéliale" (même cette appellation usuelle semble impropre lorsque l'épithélium est ôté), ou d'une découpe en deux passages dans les couches cornéennes profondes générait malgré tout des irrégularités d'interface. Elle laissait parfois persister des ponts collagéniques de manière difficilement prédictible. Ces irrégularités ont été décrites comme pouvant favoriser l'adhérence du greffon endothélial au stroma postérieur du receveur. A notre avis, elles sont aussi potentiellement défavorables à la qualité visuelle. Nous avons donc souhaité les limiter en testant la qualité d'interface obtenue avec une découpe lamellaire pratiquée en deux temps successifs sur des cornées expérimentales obtenues auprès de la Banque française des yeux. Pour ce faire, nous avons proposé la réalisation d'un premier temps de découpe qui ôte la moitié antérieure de l'épaisseur cornéenne tandis qu'une seconde découpe lamellaire, adaptée à la pachymétrie peropéatoire, découpe une lenticule postérieure de 150 µm d'épaisseur (***fig. 3***).

Les aspects en microscopie électronique à balayage (Leica, Royaume-Uni) de l'interface des lenticules ainsi obtenus et les clichés OCT spectralis (Heidelberg, Allemagne) sont illustrés sur la ***figure 4***. La régularité des lenticules générées ainsi se rapproche maintenant de celle des interfaces de capots de Lasik réalisés au laser FS à 120 µm de profondeur stromale dans les mêmes conditions. Les lenticules endothéliales créées suivant ce nouveau protocole de découpe et greffées chez des patients à but antalgique pour l'instant ont montré une épaisseur conforme à l'épaisseur attendue, une bonne adhérence stromale et une perte cellulaire endothéliale similaire à celle observée avec les autres techniques à 6 mois.

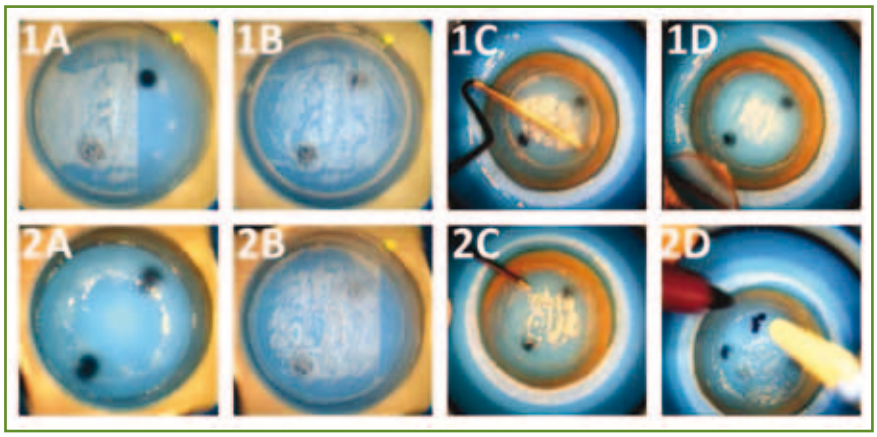


**Fig. 3 :** Protocole de découpe de greffon lamellaire endothélial au femtoseconde selon le profil en deux temps. La première partie de la procédure (**1**) réalise une découpe lamellaire dans le stroma moyen (**1A**, exemple 350 µm de profondeur) dont les berges de découpe latérale antérieure sont angulées (**1B**, cercle blanc). Cela permet la dissection (**1C**) et l'ablation (**1D**) d'une première lenticule stromale. La deuxième partie de la procédure (**2**) consiste en une deuxième découpe sur le lit de la première. L'angulation initiale des berges favorise la deuxième applanation du cône de découpe (**2A**) et permet une deuxième découpe lamellaire de large diamètre (**2B**). Si l'on réalise une découpe latérale antérieure en boutonnière associée à une découpe latérale postérieure sur 360°, il est possible de disséquer l'interface du greffon sur la chambre antérieure artificielle (**2C**). Si la découpe latérale antérieure est complète, la réclinaison du stroma moyen permet le marquage positionnel de l'interface de greffe (**2D**).

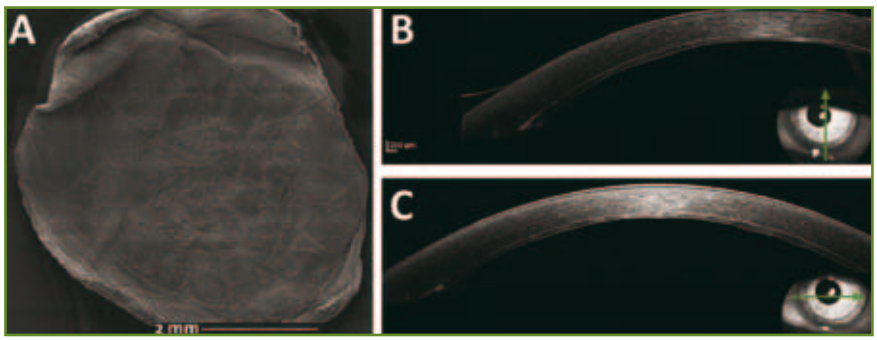


**Fig. 4 :** Aspect de la lenticule endothéliale obtenue avec le protocole de découpe femtoseconde en deux temps. La régularité d'interface est désormais très correcte, comme il est possible de l'objectiver en microscopie électronique à balayage (**A**). De même, une semaine après la procédure de greffe, la régularité d'épaisseur de ces lenticules observée en OCT spectralis, bien qu'encore imparfaite, est désormais excellente (**B** : coupe horizontale, **C** : coupe verticale, lenticule d'épaisseur moyenne estimée à 80 µm). On observe une réduction du ménisque périphérique lenticulaire associée.

## Questions en suspens

Le protocole de double découpe des lenticules endothéliales semble améliorer la régularité d'interface des greffons créés par laser FS, tout en permettant d'obtenir une épaisseur de lenticule réduite et reproductible. Pour autant, il reste quelques questions en suspens auxquelles il conviendra de répondre si l'on veut estimer l'intérêt de l'assistance femtolaser dans les découpes de greffon de KLE. Les trois questions principales sont probablement :

>>> L'acuité visuelle finale des patients greffés avec des lenticules générées par laser FS selon le protocole idéal de découpe sera-t-elle équivalente à celle observée avec des lenticules créées mécaniquement ?

# Revues générales
## Cornée

### POINTS FORTS

- Actuellement : meilleurs résultats visuels avec greffons endothéliaux découpés par microkératome car irrégularités d'interface avec le laser femtoseconde.
- Avantages du laser femtoseconde pour la découpe des lenticules : reproductibilité en profondeur, toutes géométries possibles, finesse du lit stromal résiduel, automatisation totale de la découpe.
- Nouveau protocole de découpe en double couche : interfaces lisses possibles sur des lenticules de 100 à 150 µm d'épaisseur.
- Regain d'intérêt pour la création de greffons endothéliaux avec laser femtoseconde : à confirmer par l'analyse des résultats visuels des patients greffés.

>>> La densité cellulaire endothéliale postopératoire se maintiendra-t-elle à long terme de manière satisfaisante lorsqu'une lenticule fine est générée par assistance femtolaser ?

>>> Enfin, les avantages des découpes au laser FS observés sur de petites séries jusqu'à présent se confirmeront-ils sur un nombre plus étendu de patients avec un suivi significatif ?

## Conclusion

La greffe lamellaire endothéliale nécessite la préparation de greffons endothéliaux lenticulaires de qualité. Il est possible aujourd'hui, grâce à l'assistance des lasers femtosecondes et à l'utilisation de protocoles de découpe appropriés, d'obtenir des lenticules dont la régularité d'interface est comparable à celle des capots de Lasik et dont l'épaisseur peut être réduite à 100 µm de manière correctement reproductible. Auparavant, l'intérêt d'obtenir des greffons lenticulaires à l'aide des lasers femtosecondes était quasi inexistant, en raison de la mauvaise acuité visuelle qui résultait de la procédure. Les nouveaux protocoles de coupe et l'augmentation des fréquences de ces lasers apportent aujourd'hui un regain d'intérêt pour cette technique.

### Bibliographie


1. Seitz B, Langenbucher A, Hofmann-Rummelt C *et al.* Nonmechanical posterior lamellar keratoplasty using the femtosecond laser (femtoplak) for corneal endothelial decompensation. *Am J Ophthalmol,* 2003 ; 136 : 769-772.
2. Price MO, Price FW. Descemet's stripping with endothelial keratoplasty : comparative outcomes with microkeratome-dissected and manually dissected donor tissue. *Ophthalmology*, 2006 ; 113 : 1936-1942.
3. Kim JH, Lee D, Rhee KI. Flap thickness reproducibility in laser in situ keratomileusis with a femtosecond laser : optical coherence tomography measurement. *J Cataract Refract Surg,* 2008 ; 34 : 132-136.
4. Farid M, Steinert RF. Femtosecond laser-assisted corneal surgery. *Current Opinion in Ophthalmology*, 2010 ; 21 : 288-292.
5. Jones YJ, Goins KM, Sutphin JE *et al.* Comparison of the femtosecond laser (IntraLase) versus manual microkeratome (Moria ALTK) in dissection of the donor in endothelial keratoplasty : initial study in eye bank eyes. *Cornea*, 2008 ; 27 : 88-93.
6. Suwan-Apichon O, Reyes JM, Griffin NB *et al.* Microkeratome versus femtosecond laser predissection of corneal grafts for anterior and posterior lamellar keratoplasty. *Cornea*, 2006 ; 25 : 966-968.
7. Mootha VV, Heck E, Verity SM *et al.* Comparative Study of Descemet Stripping Automated Endothelial Keratoplasty Donor Preparation by Moria CBm Microkeratome, Horizon Microkeratome, and Intralase FS60. *Cornea*, 2010.
8. Monterosso C, Fasolo A, Caretti L *et al.* Sixty-kilohertz femtosecond laser-assisted endothelial keratoplasty : clinical results and stromal bed quality evaluation. *Cornea*, 2010 ; 30 : 189-193.
9. Terry MA, Ousley PJ, Will B. A practical femtosecond laser procedure for DLEK endothelial transplantation : cadaver eye histology and topography. *Cornea*, 2005 ; 24 : 453-459.
10. Javaloy J, Vidal MT, Abdelrahman AM *et al.* Confocal microscopy comparison of intralase femtosecond laser and Moria M2 microkeratome in LASIK. *Journal of Refractive Surgery* (Thorofare, NJ : 1995), 2007 ; 23 : 178-187.
11. Salomao MQ, Wilson SE. Femtosecond laser in laser in situ keratomileusis. *J Cataract Refract Surg,* 2010 ; 36 : 1024-1032.
12. Cheng YY, Kang SJ, Grossniklaus HE *et al.* Histologic evaluation of human posterior lamellar discs for femtosecond laser Descemet's stripping endothelial keratoplasty. *Cornea*, 2009 ; 28 : 73-79.
13. Thiel MA, Kaufmann C, Dedes W *et al.* Predictability of microkeratome-dependent flap thickness for DSAEK. *Klin Monbl Augenheilkd*, 2009 ; 226 : 230-233.
14. Mehta JS, Shilbayeh R, Por YM *et al.* Femtosecond laser creation of donor cornea buttons for Descemet-stripping endothelial keratoplasty. *J Cataract Refract Surg,* 2008 ; 34 : 1970-1975.


*Remerciements*
*Ce travail a été réalisé grâce à l'aide précieuse du Dr J.J. Saragoussi (Clinique de la Vision ; APHP Hôtel-Dieu), du Pr G. Renard (Université Paris-Descartes ; APHP Hôtel-Dieu), de M.A. Bensalem et Mme B. Servel (Laboratoires AMO France), de Mme I. Sourati (Banque française des yeux) et M. Savoldelli (Inserm UMRS 872 E17 ; APHP Hôtel-Dieu). Les images ont été réalisées avec la collaboration du Dr A. Hay (APHP Hôtel-Dieu) et de Mme V. Garnier-Thibault (plateforme d'imagerie IFR83, Université Pierre et Marie Curie). Que ces personnes soient chaleureusement remerciées pour leur précieuse contribution.*

L'auteur a déclaré ne pas avoir de conflits d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.