

■ Revues générales

Le déficit en cellules souches limbiques

RÉSUMÉ : Le déficit en cellules souches limbiques est une pathologie rare et complexe de la surface oculaire faisant intervenir dans sa physiopathologie différentes structures : le limbe, la cornée, la conjonctive, les glandes lacrymales et les glandes de Meibomius. L'atteinte peut être uni- ou bilatérale, partielle ou totale. Suivant le degré d'atteinte, le retentissement peut varier d'une simple sensation de corps étranger à une baisse profonde de l'acuité visuelle. Son diagnostic est clinique, même s'il existe à notre disposition des examens paracliniques très utiles comme la microscopie confocale *in vivo* ou la tomographie par cohérence optique de segment antérieur.

Son traitement médical est symptomatique et la réhabilitation visuelle, lorsqu'elle est possible, doit passer par une reconstruction de la surface oculaire chirurgicale. L'amélioration des techniques de culture cellulaire épithéliale permet aujourd'hui de proposer à des patients en impasse thérapeutique une alternative chirurgicale prometteuse pour espérer une réhabilitation visuelle.



R. MOUCHEL, C. BURILLON
CHU Édouard Herriot, LYON.

Les cellules souches limbiques sont des cellules qui se différencient en cellules épithéliales cornéennes lors du renouvellement constant de l'épithélium ou lors de la cicatrisation d'une lésion de ce dernier. Le renouvellement constant des cellules épithéliales cornéennes est indispensable au maintien de l'intégrité de la surface oculaire et donc de la transparence cornéenne [1]. Le déficit en cellules souches limbiques (DCSL) est défini comme une pathologie chronique de la surface oculaire entraînant une diminution du nombre et/ou de la fonction des cellules souches progénitrices limbiques. Cette diminution conduit à l'incapacité de maintenir l'homéostasie de l'épithélium cornéen.

La maladie est caractérisée par une conjonctivalisation (c'est-à-dire le remplacement d'un épithélium cornéen normal par un épithélium conjonctival) et/ou d'autres signes de dysfonctionnement épithélial : défauts épithéliaux chroniques, néovascularisation, inflammation et cicatrices. Le DCSL partiel est caractérisé par la présence d'une

conjonctivalisation incomplète de la surface cornéenne associée à des cellules souches (progénitrices) épithéliales cornéennes résiduelles et conséquentes. Le DCSL total est caractérisé par la présence d'une conjonctivalisation de toute la surface cornéenne due à une perte des cellules souches (progénitrices) épithéliales cornéennes.

■ Classification

De nombreuses étiologies peuvent être responsables d'un DCSL. Dans de rares cas, aucune cause n'est retrouvée (DCSL idiopathique). Le **tableau 1**, issu du consensus global publié en 2019 dans la revue *Cornea* par un panel d'experts mondiaux, résume les principales causes de DCSL [1]. La cause la plus fréquente est la brûlure chimique (acide ou basique) [2], même si les publications ne permettent pas d'estimer correctement une incidence de cette pathologie. Les hommes semblent également plus touchés que les femmes dans les séries étudiant les étiologies des patients opérés d'un DCSL [3].

Revue générale

DCSL acquis	– Non immun ● Lésion chimique ● Lésion thermique ● Lésion par irradiation ● Port de lentilles de contact ● Chirurgies multiples impliquant le limbe ● Kératopathie bulleuse ● Maladie infectieuse de l'œil ● Maladie chronique des paupières : blépharite sévère/rosacée, trachome ● Tumeur de la surface oculaire ● Ptérygion sévère ● Iatrogénie médicamenteuse : mitomycine C, 5-fluorouracile, conservateurs, chimiothérapie et immunothérapie systémiques – Auto-immun ● Syndrome de Stevens-Johnson, nécrolyse épidermique toxique ● Pemphigoïde des muqueuses ● Allergies de la surface oculaire : kératoconjonctivite vernale, kératoconjonctivite atopique ● Réaction du greffon contre l'hôte (GVH) – Idiopathique
DCSL héréditaire	– Aniridie congénitale – Dyskératose congénitale – Syndrome APECED (<i>autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy/dysplasia</i>) ou polyendocrinopathie auto-immune de type 1 – Xeroderma pigmentosum – Syndrome KID (<i>keratitis ichthyosis deafness</i>) – Syndrome EEC (<i>ectrodactyly-ectodermal dysplasia-clefting</i>) – Syndrome LADD (<i>lacrimo-auriculo-dental-digital</i>) – Épidermolyse bulleuse

Tableau 1 : Étiologies du DCSL (d'après [1]).

Signes fonctionnels

Les patients peuvent présenter différents signes d'irritation de la surface oculaire : gêne, picotement, sensation de brûlure ou de corps étranger, prurit, rougeur conjonctivale, larmoiement, sensation de sécheresse, blépharospasme, douleurs, baisse d'acuité visuelle jusqu'à la cécité. Cela peut entraîner une diminution de la qualité de vie des patients [4]. Enfin, le patient peut être totalement asymptomatique.

Signes cliniques

Le signe le plus précoce décrit est la disparition des palissades de Vogt lors de l'examen à la lampe à fente [5]. La conjonctivalisation, lorsqu'elle est totale, est facilement reconnaissable avec l'apparition sur la surface cornéenne d'un tissu conjonctif lâche et opaque. On y retrouve généralement une néovascularisation associée. La cornée résiduelle peut présenter des opacités profondes

(fibrose) ou une néovascularisation active (superficielle et/ou profonde). Suivant le stade de la maladie, les différentes lésions peuvent coexister avec la présence d'une conjonctivalisation et la persistance d'un épithélium cornéen métaplasique.

Le test à la fluorescéine peut aider à mettre en évidence un épithélium pathologique dans les formes précoces (fig. 1). Un test de la sensibilité cornéenne (esthésiomètre de Cochet-Bonnet) est indispensable en cas de défaut épithélial persistant afin de distinguer un DCSL d'une kératopathie neurotrophique, les deux pathologies pouvant s'associer.

Examen paraclinique

1. IVCM (*in vivo confocal microscopy*)

La microscopie confocale *in vivo* est un examen peu invasif et très informatif pour le diagnostic et le suivi du DCSL. En effet, grâce à une visualisation *in vivo* de la morphologie des cellules à la surface cornéenne, cet examen est aujourd'hui incontournable pour la prise en charge du DCSL. Au diagnostic, la visualisation de cellules de morphologie conjonctivale (cellules caliciformes) à la surface de la cornée permet de suspecter ou confirmer un DCSL. Au cours du suivi, la mise en évidence de cellules d'allure épithéliale cornéenne à la surface de la cornée permet d'affirmer la réussite d'un traitement chirurgical du DCSL.

Les anomalies retrouvées à l'IVCM sont [2] :

- la présence de cellules caliciformes à la surface de la cornée ;
- une réduction du plexus nerveux sous-basal ;
- un amincissement de l'épithélium cornéen.

2. AS-OCT (*anterior segment optical coherence tomography*)

L'OCT de segment antérieur, avec le développement de la technologie

Revue générale

swept source, est devenu en quelques années un instrument indissociable d'une consultation spécialisée de cornée. Grâce à une résolution améliorée et à une fenêtre relativement large, il permet d'étudier avec précision les tissus

cornéens et conjonctivaux, et représente une aide diagnostique évidente dans le DCSL. La corrélation entre l'IVCM et l'AS-OCT permet de proposer une classification moderne de la pathologie [6]. C'est un examen totalement non inva-

sif, permettant notamment la mesure de l'épaisseur de l'épithélium cornéen (*mapping* épithélial) et un suivi précis de la pathologie. La différenciation entre un épithélium cornéen hyporéfléctif et un épithélium conjonctival hyperréfléctif est assez aisée avec cet instrument.

Enfin, l'OCT-angiographie (OCT-A) pourrait être un élément intéressant pour l'étude de l'étendue et de l'activité de la néovascularisation cornéenne dans le DCSL [7].

Méthode diagnostique

Les impressions cytologiques sont une technique ancienne et extrêmement efficace de mise en évidence objective d'un DCSL [8]. Le principe est simple : il consiste à réaliser un prélèvement local de cellules situées à la surface de la cornée par l'intermédiaire d'un filtre de polyester sulfone (*fig. 2*), puis de déposer ce prélèvement sur une lame pour analyse. Ensuite, les cellules peuvent être analysées par microscopie optique ou électronique, après les avoir préalablement fixées pour limiter le phénomène d'autolyse et colorées pour mettre en évidence un type cellulaire. Plus récemment, les techniques d'immunohistochimie sont apparues pour analyser spécifiquement les cellules cornéennes et conjonctivales.

La *figure 3* montre les résultats d'un marquage K7/K12 chez un patient sain. Dans le cas d'un DCSL total, le prélèvement cornéen aura un marquage K7 positif et K12 négatif alors que, dans le cas d'un DCSL partiel, le prélèvement cornéen pourra donner un marquage K7 et K12 positif ou K7 négatif et K12 positif.

Traitement médical

1. Lutter contre la iatrogénie

L'utilisation de conservateurs est aujourd'hui à proscrire dans les troubles

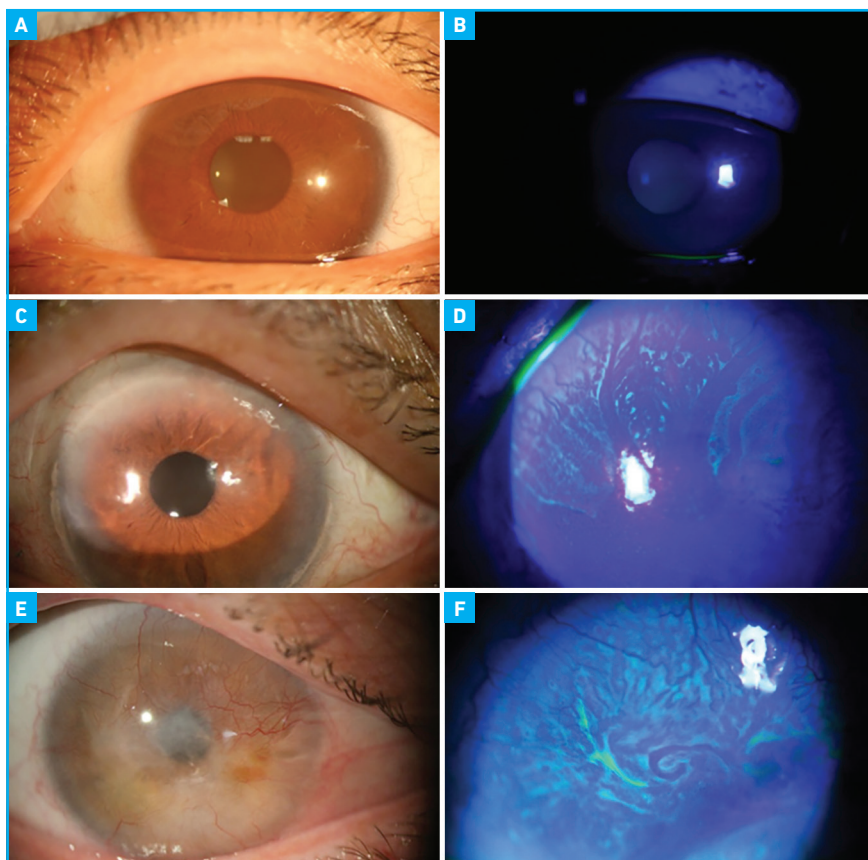


Fig. 1 : Photographies à la lampe à fente, avec fluorescéine à droite. **A et B :** cornée saine. **C et D :** DCSL sectoriel, aspect grisâtre de l'épithélium pathologique en supérieur mis en évidence grâce à la fluorescéine. **E et F :** aspect irrégulier de l'épithélium mis en évidence à la fluorescéine dans un DCSL total avec opacités cornéennes et néovascularisation.

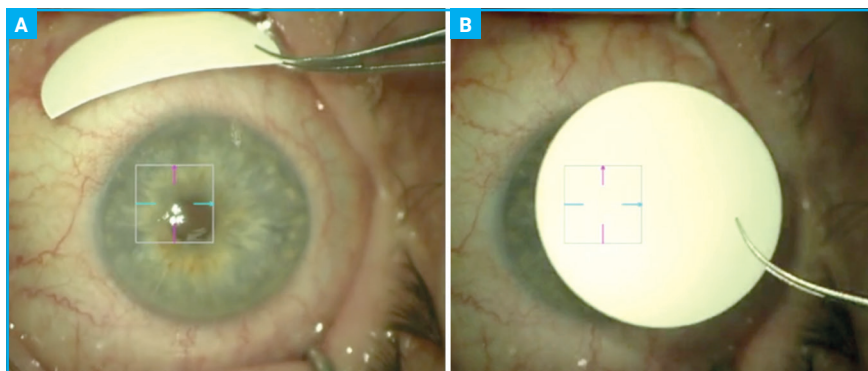


Fig. 2 : Impression cytologique conjonctivale et cornéenne. Application d'un filtre de polyester sulfone sur la conjonctive (**A**) et sur la cornée (**B**).

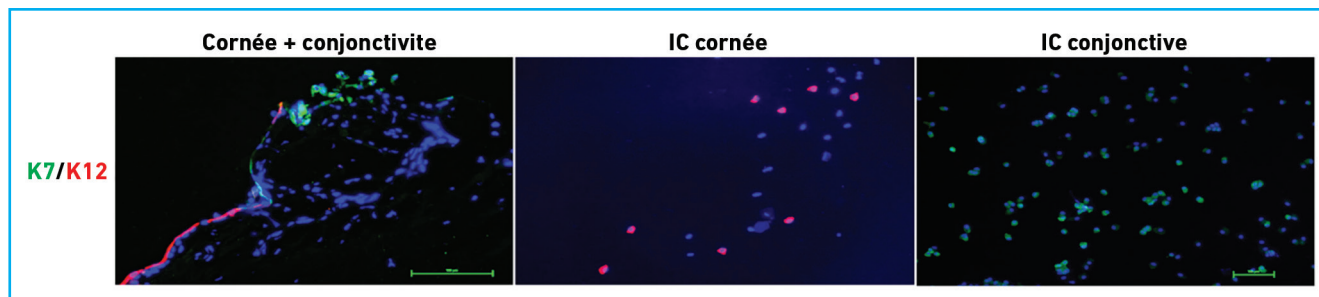


Fig. 3 : Interprétation des impressions cytologiques (IC) de la **figure 2**. Résultats de l'impression cytologique de cornée et de conjonctive saine analysées par immunofluorescence sur les marqueurs K12 (en rouge) et K7 (en vert) en double marquage et les noyaux au Hoechst (en bleu). Barre échelle = 100 µm.

de la surface oculaire [9]. De plus, il est admis que les traitements conservés, lorsqu'ils sont administrés de manière chronique, peuvent également induire des troubles de la surface oculaire jusqu'à l'apparition d'un DCSL, partiel ou total. Quelle qu'en soit l'étiologie, face à une pathologie chronique de la surface oculaire, le premier traitement est l'arrêt de la iatrogénie en interrompant et substituant tous les traitements avec conservateur, en premier plan le chlorure de benzalkonium.

2. Traitement cicatrisant et hydratant

Les substituts lacrymaux sont le deuxième traitement le plus important dans les pathologies de la surface oculaire. Ceux-ci doivent être prescrit de manière orientée vers la pathologie concernée. Dans la prise en charge d'un DCSL, il faut se diriger vers des traitements hydratants et cicatrisants (hyaluronate de sodium, tréhalose et carboxyméthylcellulose).

Traitement chirurgical

Le traitement chirurgical est indiqué en cas de baisse d'acuité visuelle non améliorée par verres correcteurs ou par contactologie (lentille sclérale) et après une prise en charge médicale optimale. Avant d'envisager une reconstruction limbique, la restauration d'une homéostasie de la surface oculaire est indispensable et influencera de manière significative les résultats de la chirurgie. Il faudra donc s'assurer que les troubles

palpébraux ou les symblépharons sont traités, que la pression intraoculaire est bien contrôlée et enfin, s'il existe une pathologie sous-jacente, que cette dernière est équilibrée et stable sous traitement depuis plus de 6 mois. L'œil ne doit pas être inflammatoire, ainsi il est recommandé, après une brûlure sévère, d'attendre au moins un an avant de proposer une chirurgie limbique.

Les différentes techniques [10] décrites et utilisées dans la littérature sont listées ci-après et classées selon le tissu greffé : cellules limbiques autogéniques et allogéniques, cellules limbiques cultivées *ex vivo* et enfin cellules non limbiques cultivées *ex vivo*.

1. Les greffes de cellules limbiques directes, auto- ou allogéniques

>>> Autogreffe conjonctivo-limbique

Il s'agit de la technique de choix et la plus utilisée pour les DCSL strictement unilatéraux. Elle consiste à prélever environ un tiers du limbe de l'œil sain associé à un lambeau conjonctival en regard et de venir le greffer sur l'œil pathologique en patch supérieur et/ou inférieur (*conjunctival limbal autograft*, CLAU, **fig. 4**). Il n'y a pas de risque de rejet et les résultats sont excellents. En revanche, cette technique est contre-indiquée en cas d'atteinte bilatérale ou lors d'une pathologie inflammatoire ou auto-immune sous-jacente.

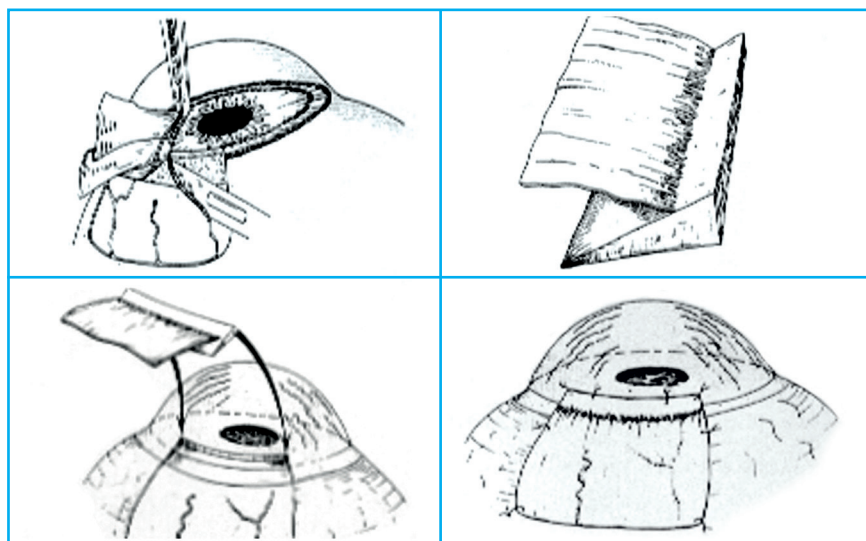


Fig. 4 : Représentation schématique de la technique d'autogreffe conjonctivo-limbique (CLAU). Prélèvement du greffon sur le limbe de l'œil sain, de préférence en supérieur (un tiers de superficie). Préparation du site receveur avec résection des tissus fibrovasculaires et kératectomie supérieure. Mise en place du greffon sur le site receveur, de préférence en supérieur (d'après Durand, Burillon et al. JFO, 1990).

Revue générale

>>> Allogreffe conjunctivo-limbique

En cas de DCSL bilatéral ou secondaire à une pathologie inflammatoire (syndrome de Stevens-Johnson, pemphigoïde des muqueuses), une allogreffe conjunctivo-limbique d'un donneur apparenté peut être proposée (*living-related conjunctival limbal allograft*, LR-CLAL). La technique chirurgicale est la même (fig. 5) mais les résultats sont moins spectaculaires, avec des épisodes de rejet immunitaire nécessitant la mise en route d'un traitement immunosuppresseur par voie générale.

>>> Allogreffe kératolimbique

Cette technique est réservée au DCSL bilatéral ou unilatéral chez un patient ne souhaitant pas utiliser l'œil sain comme donneur. La technique consiste à prélever un contingent cellulaire plus important, sans conjonctive. Elle s'adresse donc à des atteintes purement limbiques, où la conjonctive est respectée (contre-indiquée en cas de pemphigoïde des muqueuses ou syndrome de Stevens-Johnson). Chez ces patients, nous pourrions proposer une allogreffe combinée conjunctivokératolimbique (C-CL/KLAL ou *Cincinnati procedure*) [11]. Les résultats sont bons mais la principale limite est le risque de rejet immunitaire avec nécessité d'introduire un traitement immunosuppresseur général en post-opératoire. La technique chirurgicale est décrite dans la figure 6.

Le taux moyen de réussite de ces techniques utilisant des cellules limbiques est de 72 % d'après une étude évaluant les résultats avec un recul de 4 ans. La principale complication a été le rejet immunitaire et celui-ci était irréversible dans 25 % des cas [12]. La puissance de ces études, faibles, doit faire prendre du recul sur les résultats de ces techniques chirurgicales et chaque centre spécialisé réalise en général sa propre expérience. Aucun consensus, sur le plan thérapeutique, ne peut vraiment être rédigé à ce jour. La nécessité d'introduire un

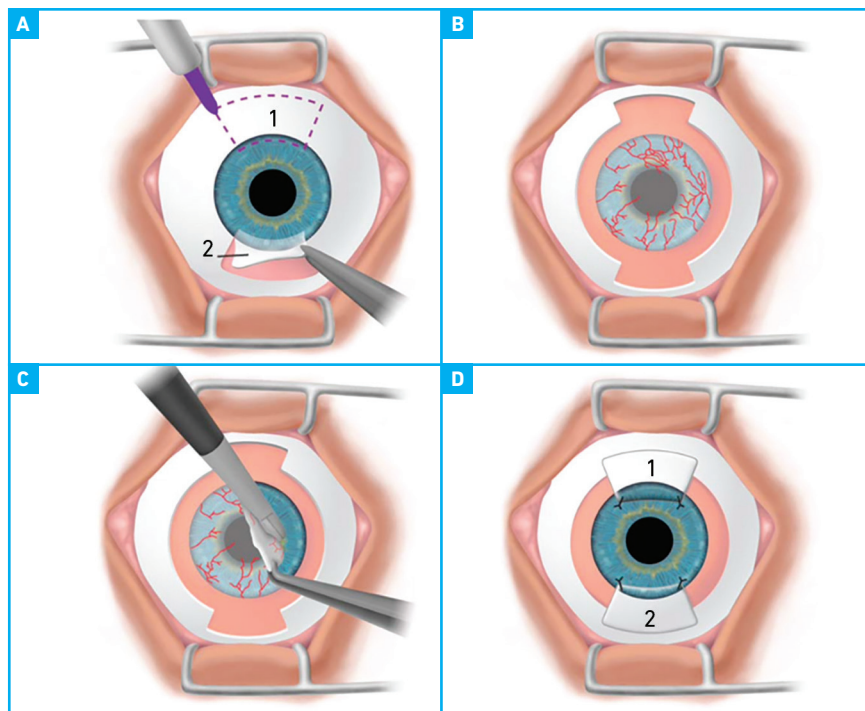


Fig. 5 : Représentation schématique de la technique d'allogreffe de donneur vivant apparenté conjunctivo-limbique (LR-CLAL). **A** : marquage en supérieur et/ou inférieur des greffons à prélever sur l'œil du donneur apparenté. **B** : préparation du site receveur avec résection de la conjonctive sur 360° et recul en supérieur et/ou inférieur. **C** : kératectomie de la cornée réceptrice pour atteindre un stroma sain, avec résection du tissu fibrovasculaire. **D** : mise en place du (ou des) greffon(s) sur les sites receveurs.

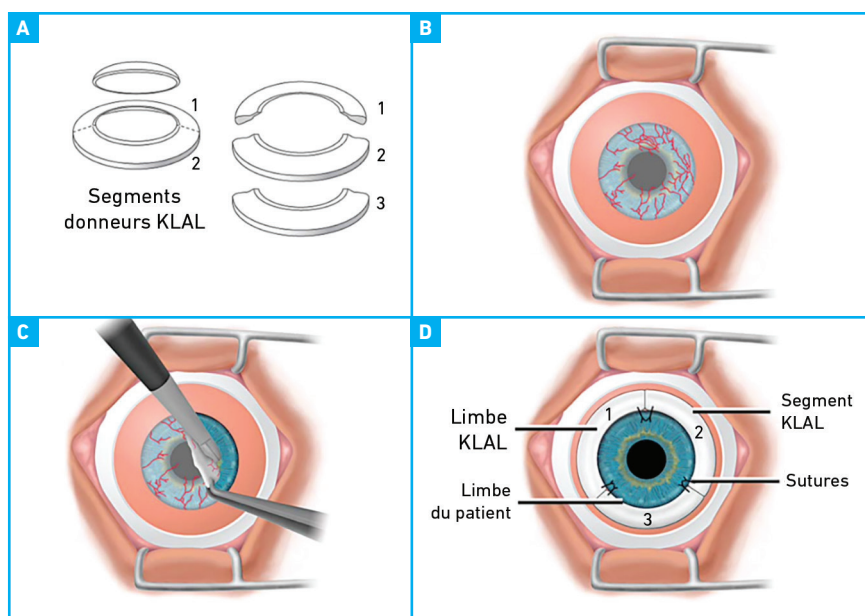


Fig. 6 : Représentation schématique de la technique d'allogreffe kératolimbique (KLAL). **A** : préparation des deux segments en trépanant la cornée à 7,5 mm et en gardant les 2 contingents cornéo-limbiques. **B** : résection de la conjonctive et recul de celle-ci sur 360° pour préparer le site receveur. **C** : kératectomie de la cornée réceptrice jusqu'à atteindre un stroma sain associée à une résection du tissu fibrovasculaire. **D** : les deux contingents sont suturés et/ou collés à la cornée réceptrice.

traitement immunosuppresseur par voie générale, à vie, avec les effets secondaires qu'il peut induire, doit être prise en compte dans la décision chirurgicale.

2. Les greffes de cellules limbiques cultivées

Dans ces techniques, le principal frein est le coût. En effet, pour réaliser une culture cellulaire, il faut disposer d'un laboratoire équipé, de techniciens compétents et de moyens financiers conséquents. Les premiers travaux sur la culture cellulaire épithéliale remontent à 1957 par l'équipe de Rheinwald et Green [13] et son application en ophtalmologie à 1997 par Pellegrini *et al.* [14]. Depuis, de nombreuses études ont montré l'intérêt et l'efficacité de la culture cellulaire des cellules limbiques dans la prise en charge du DCSL.

La biopsie limbique peut être réalisée sur l'œil controlatéral en cas d'atteinte unilatérale ou asymétrique (le prélèvement

est de 2×2 mm), on parle d'auto-CLET (*cultivated limbal epithelial transplantation*). Si l'atteinte est totale et bilatérale, le prélèvement peut être réalisé à partir d'un donneur vivant apparenté, on parle d'allo-CLET.

La technique de culture varie d'une équipe à une autre. Les substrats les plus souvent utilisés sont la membrane amniotique humaine et la fibrine. Les deux techniques prédominantes sont :

- la technique de l'explant : les cellules sont déposées sur une membrane amniotique désépithélialisée et sont laissées en culture dans un milieu 2 à 3 semaines afin qu'elles migrent sur la membrane ;
- la méthode de suspension : elle consiste à séparer de manière enzymatique les cellules du greffon. Les cellules individualisées sont ensuite ensemencées sur un support (membrane amniotique ou boîte de culture en plastique avec couche nourricière de fibroblastes par exemple). La culture est laissée 2 à 3 semaines pour obtenir un feuillet conséquent.

Dans une revue de 13 études publiées avec un recul de 2 ans [10], le taux de réussite était estimé à 72 % (89 % des procédures étaient autologues). Le risque de rejet en cas de greffe allogénique était lui estimé à 30 % mais les protocoles de traitement postopératoire variaient beaucoup d'une équipe à l'autre, rendant les résultats difficilement généralisables.

L'alternative, en cas de DCSL unilatéral et en l'absence de laboratoire à disposition, est de réaliser une migration cellulaire *in vivo* : il s'agit de la SLET (*simple limbal epithelial transplantation*). Décrite pour la première fois par Sangwan en 2012 [15], elle consiste, sur le même principe que la CLET, à prélever une petite biopsie de limbe sain (2×2 mm) sur l'œil controlatéral (auto-SLET) ou sur un donneur décédé (allo-SLET), puis de la diviser en multiples fragments afin de la cultiver *in vivo* sur la cornée réceptrice sur (ou sous) une membrane amniotique cryoconservée (*fig. 7*).

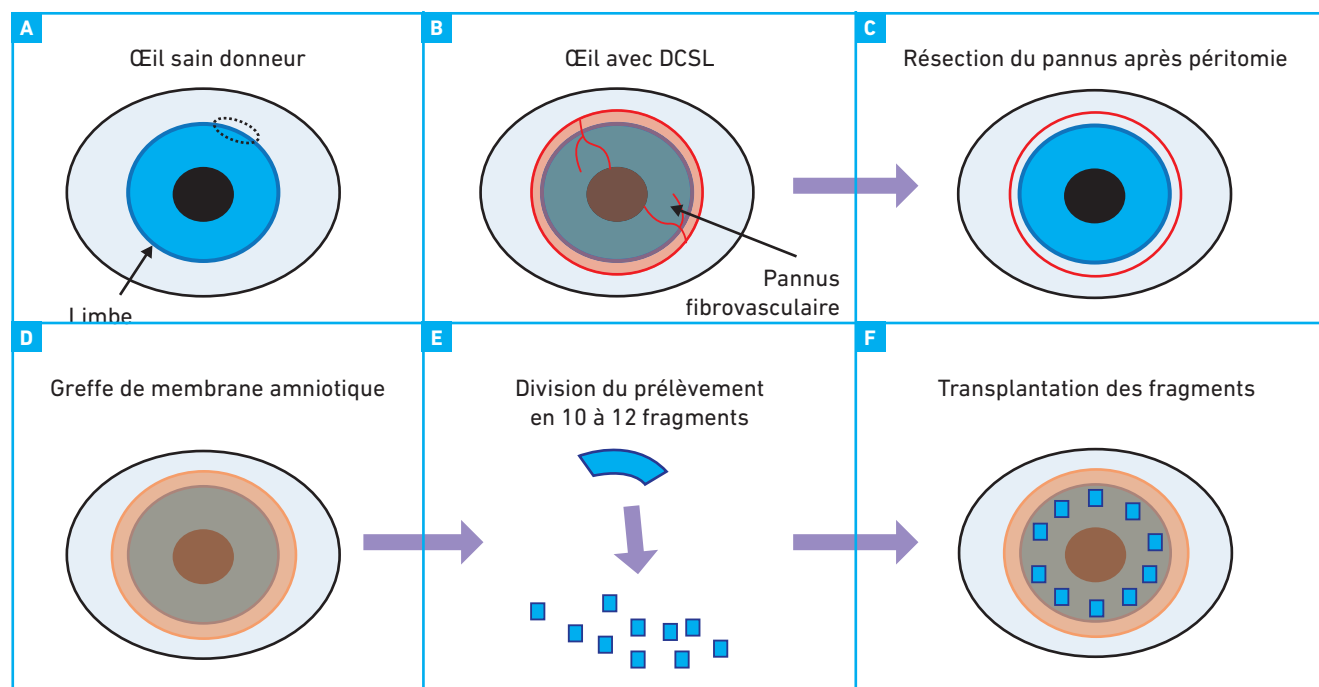


Fig. 7 : Représentation schématique de la SLET. **A :** le prélèvement limbique de 2 mm^2 est réalisé de préférence en supérieur sur l'œil sain. **B et C :** résection du tissu conjonctival et du pannus vasculaire de l'œil atteint d'un DCSL total jusqu'à obtenir un stroma nu sain. **D :** greffe de membrane amniotique INLAY, face épithéliale vers le haut. **E :** division de la biopsie limbique en 10 à 12 fragments. **F :** mise en place des fragments en périphérie cornéenne, en épargnant l'axe optique, sur 360° à l'aide d'une colle de fibrine.

Revue générale

Les résultats publiés par Sangwan en 2017 montrent un taux de succès de 78 à 87 % sur plus de 200 yeux opérés pour brûlure oculaire unilatérale [16]. L'une des interrogations restant en suspens est le taux de réussite d'une kératoplastie transfixiante (KT) dans les suites de cette technique, dont la trépanation centrale pourrait emporter les cellules greffées. L'autre limite de cette technique est la fragilité du système avec l'absence de suture des fragments de limbe qui peuvent tomber dès les premiers jours postopératoires, malgré l'apposition d'une lentille souple hydrophile pansement, à cause des mouvements palpébraux. Il est d'ailleurs recommandé d'utiliser chez le jeune enfant une tarsorrhaphie externe provisoire.

3. Les greffes de cellules non limbiques, cultivées *ex vivo*

Les feuillets épithéliaux de muqueuse orale semblent être une voie intéressante en cas d'atteinte bilatérale du DCSL. En effet, outre leur origine autologue qui annule le risque de rejet immunitaire, ces cellules ont la particularité d'être stables en culture. Les premiers travaux (animal et homme) remontent aux années 2000 par l'équipe de Kinoshita *et al.* [17]. La culture de ces cellules, appelée COMET (*cultivated oral mucosal epithelial sheet transplantation*), consiste à prélever un greffon de muqueuse orale (6 à 9 mm²) au scalpel (pour ne pas abîmer les cellules avec un bistouri électrique). Ensuite, les cellules épithéliales sont séparées de la *lamina propria* en utilisant la dispase. L'épithélium est ensuite traité par trypsine-EDTA pour obtenir une suspension cellulaire. Comme pour la culture de cellules limbiques, la suspension est alors ensemencée sur un support (membrane amniotique par exemple) puis plongée dans un milieu de culture pour 2 à 3 semaines. Le feuillet doit enfin être décollé de son support avant d'être proposé à la greffe : la méthode diffère selon le support utilisé. Dans l'étude CAOMECS [18], le support utilisé était un polymère thermosensible qui permet-

POINTS FORTS

- Le déficit en cellules souches limbiques (DCSL) est une pathologie rare et complexe de la surface oculaire.
- Son diagnostic est clinique. Lors d'une atteinte totale, la présence d'un tissu conjonctival épais et opaque sur la surface cornéenne rend sa reconnaissance aisée. En revanche, lors d'une atteinte partielle, les examens complémentaires tels qu'un *mapping* épithélial ou l'instillation de fluorescéine peuvent aider à reconnaître le DCSL.
- Les impressions cytologiques représentent une méthode objective mais coûteuse de diagnostic d'un DCSL. Leur utilisation semble être bénéfique dans la prise de décision d'une chirurgie limbique.
- Le traitement médical est dominé par la lutte contre la iatrogénie, l'inflammation de la surface oculaire et la préparation de l'œil à une chirurgie reconstructrice. La greffe de membrane amniotique est utile à la phase aiguë pour calmer l'inflammation et limiter les séquelles.
- Le traitement chirurgical est indiqué en cas de baisse d'acuité visuelle non améliorable par la contactologie. Il est divisé en deux temps : d'abord une greffe limbique pour rétablir une stabilité de l'épithélium cornéen puis, si nécessaire, la réalisation secondaire d'une kératoplastie à visée optique.

taut de décoller facilement le feuillet du support et de le proposer à la greffe sans suture. Ce polymère n'est malheureusement plus fabriqué à ce jour et nous

avons développé au CHU de Lyon un nouveau protocole de recherche appelé FEMJA (feuillet épithélial de muqueuse jugale autologue, *fig. 8*), avec un support

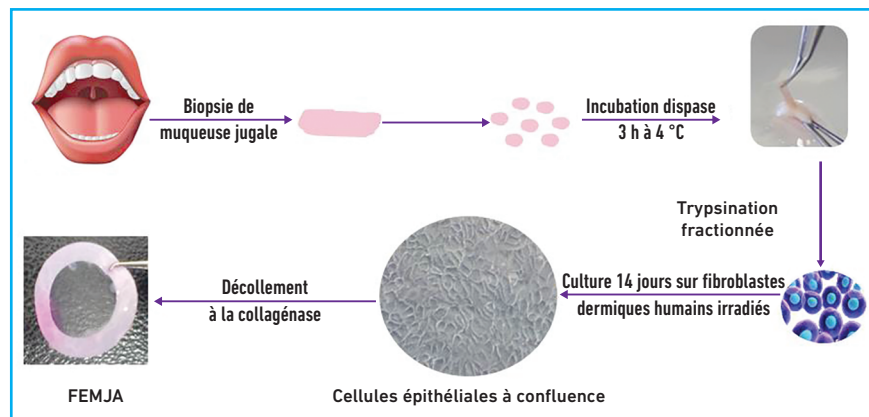


Fig. 8 : Schéma simplifié du protocole FEMJA (programme hospitalier de recherche clinique [PHRC] en cours). Une biopsie jugale de 1 mm² est réalisée sous anesthésie locale au scalpel. Le prélèvement est ensuite transmis à la banque de cornée, où une incubation est réalisée avec action de la dispase pour séparer les cellules épithéliales de la *lamina propria*. La trypsination fractionnée permet d'obtenir une suspension cellulaire qui est mise en culture sur des fibroblastes dermiques humains irradiés pendant 14 jours afin d'obtenir un contingent de cellules épithéliales, qui seront enfin décollées par collagénase et proposées à la greffe sur un anneau de polyfluorure de vinylidène (PVDF).

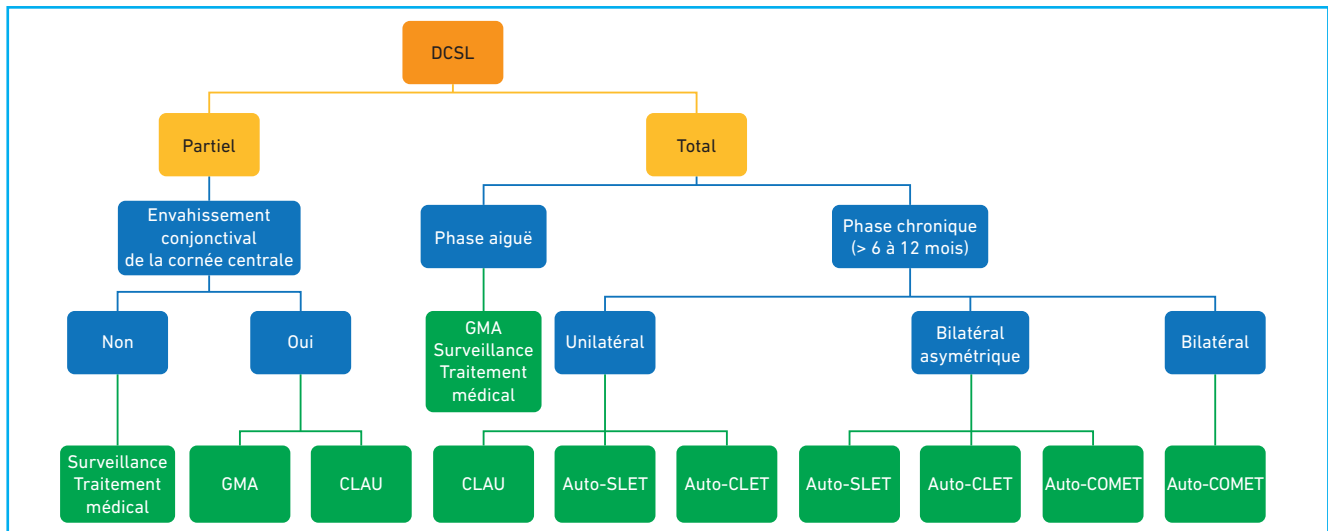


Fig. 9 : Actualisation de l'algorithme de prise en charge du DCSL. Auto-CLET : greffe de cellules limbiques autologues cultivées *ex vivo*; auto-COMET : greffe de cellules de muqueuses orales autologues cultivées *ex vivo*; auto-SLET : greffe épithéliale limbique simple autologue; CLAU : greffe conjonctivo-limbique autologue; DCSL : déficit en cellules souches limbiques; GMA : greffe de membrane amniotique humaine cryoconservée.

propre à la culture des cellules jugales développé au sein de notre laboratoire afin de s'affranchir d'un fournisseur [19].

Le taux de succès varie de 57 à 63 % selon les études. Le gain d'acuité visuelle est souvent faible, car le stroma de ces patients est souvent peu transparent et le recours à une kératoplastie pour réhabilitation visuelle (KT ou KLAP [kératoplastie lamellaire antérieure profonde]) est souvent nécessaire pour obtenir un gain visuel significatif. Le recours à la greffe de cornée n'est pas toujours pris en compte dans les études, limitant encore une fois l'interprétation des résultats. Les complications sont rares car l'origine des cellules est autologue. Les principales complications sont inflammatoires, souvent en lien avec une réactivation de la pathologie sous-jacente, ou surviennent au moment de la greffe de cornée (retard de cicatrisation, rejet immunitaire). Le recours à une greffe de cellules de muqueuses orales (buccale ou jugale) permet d'améliorer le résultat et la stabilité d'une greffe de cornée secondaire chez ces patients.

D'autres types de cellules ont été testés et cultivés *ex vivo* (cellules souches mésenchymateuses, cellules souches du

follicule pileux, cellules souches épidermiques par exemple), mais les moyens de prélèvements et les résultats n'ont pas abouti à une généralisation de leur utilisation [20]. Les autres alternatives thérapeutiques chirurgicales sont peu accessibles en France et se discutent lorsque l'état de la surface oculaire ne permet plus de chirurgie conventionnelle : kératoprothèse de Boston (type I et II), ostéo-odonto-kératoprothèse. Les résultats sont limités par les nombreuses complications de ces procédures, en premier lieu le risque de neuropathie optique glaucomateuse [21].

Nous avons proposé, à la lecture de la littérature sur le DCSL, un algorithme de prise en charge, qui représente une interprétation personnelle de cette synthèse bibliographique (fig. 9).

Conclusion

Au total, le DCSL est donc une pathologie rare et complexe de la surface oculaire. Son diagnostic est clinique, mais les nombreux pièges et diagnostics différentiels doivent aujourd'hui faire compléter le bilan par la réalisation d'examen complémentaires tels

que la microscopie confocale *in vivo* ou l'OCT de segment antérieur avec *mapping* épithélial. Lorsque le recours à la chirurgie est envisagé, la réalisation au préalable d'une impression cytologique de la cornée permet de confirmer l'atteinte partielle ou totale et donc de guider le choix de la greffe à proposer. La prise en charge de la surface oculaire doit être réalisée en amont d'une chirurgie limbique, afin d'optimiser la réussite de cette dernière.

Concernant la décision chirurgicale, celle-ci doit toujours faire évaluer le bénéfice par rapport aux risques attendus et être guidée par l'étiologie du DCSL. L'évolution des techniques de cultures cellulaires épithéliales *ex vivo* permet d'améliorer la symptomatologie fonctionnelle oculaire et d'entrevoir un espoir de réhabilitation visuelle chez ces patients en état de cécité légale à la suite d'un DCSL bilatéral et total.

BIBLIOGRAPHIE

1. DENG SX, BORDERIE V, CHAN CC *et al.*, The International Limbal Stem Cell Deficiency Working Group. Global consensus on definition, classification, diagnosis, and staging of limbal stem cell deficiency. *Cornea*, 2019;38:364-375.

Revue générale

2. LE Q, XU J, DENG SX. The diagnosis of limbal stem cell deficiency. *Ocul Surf*, 2018;16:58-69.
3. DUA HS, MIRI A, ALOMAR T *et al*. The role of limbal stem cells in corneal epithelial maintenance: testing the dogma. *Ophthalmology*, 2009;116:856-863.
4. HOLLAND EJ. Epithelial transplantation for the management of severe ocular surface disease. *Trans Am Ophthalmol Soc*, 1996;94:677-743.
5. ZHENG T, XU J. Age-related changes of human limbus on *in vivo* confocal microscopy. *Cornea*, 2008;27:782-786.
6. ARAVENA C, BOZKURT K, CHUEPHANICH P *et al*. Classification of limbal stem cell deficiency using clinical and confocal grading. *Cornea*, 2019;38:1-7.
7. ANG M, SIM DA, KEANE PA *et al*. Optical coherence tomography angiography for anterior segment vasculature imaging. *Ophthalmology*, 2015;122:1740-1747.
8. EGBERT PR, LAUBER S, MAURICE DM. A simple conjunctival biopsy. *Am J Ophthalmol*, 1977;84:798-801.
9. BAUDOUIN C, LABBE A, LIANG H *et al*. Preservatives in eyedrops: the good, the bad and the ugly. *Prog Retin Eye Res*, 2010;29:312-334.
10. HOLLAND EJ. Management of limbal stem cell deficiency: a historical perspective, past, present, and future. *Cornea*, 2015;34:S9-S15.
11. BIBER JM, SKEENS HM, NEFF KD *et al*. The Cincinnati procedure: technique and outcomes of combined living-related conjunctival limbal allografts and keratolimbal allografts in severe ocular surface failure. *Cornea*, 2011;30:765-771.
12. CHEUNG AY, HOLLAND EJ. Keratolimbal allograft. *Curr Opin Ophthalmol*, 2017;28:377-381.
13. RHEINWALD JG, GREEN H. Serial cultivation of strains of human epidermal keratinocytes: the formation of keratinizing colonies from single cells. *Cell*, 1975;6:331-343.
14. PELLEGRINI G, TRAVERSO CE, FRANZI AT *et al*. Long-term restoration of damaged corneal surfaces with autologous cultivated corneal epithelium. *Lancet*, 1997;349:990-993.
15. SANGWAN VS, BASU S, MACNEIL S *et al*. Simple limbal epithelial transplantation (SLET): a novel surgical technique for the treatment of unilateral limbal stem cell deficiency. *Br J Ophthalmol*, 2012;96:931-934.
16. SANGWAN VS, SHARP JAH. Simple limbal epithelial transplantation. *Curr Opin Ophthalmol*, 2017;28:382-386.
17. NAKAMURA T, INATOMI T, SOTOZONO C *et al*. Transplantation of cultivated autologous oral mucosal epithelial cells in patients with severe ocular surface disorders. *Br J Ophthalmol*, 2004;88: 1280-1284.
18. BURILLON C, HUOT L, JUSTIN V *et al*. Cultured autologous oral mucosal epithelial cell sheet (CAOMECS) transplantation for the treatment of corneal limbal epithelial stem cell deficiency. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2012;53: 1325-1331.
19. ROVERE MR, ROUSSELLE P, HAFTEK M *et al*. Preserving basement membranes during detachment of cultivated oral mucosal epithelial cell sheets for the treatment of total bilateral limbal stem cell deficiency. *Cell Transplant*, 2018;27:264-274.
20. GOMES JA, GERALDES MONTEIRO B, MELO GB *et al*. Corneal reconstruction with tissue-engineered cell sheets composed of human immature dental pulp stem cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2010;51:1408-1414.
21. STOLOWY N, CALLET M, BEYLERIAN M *et al*. La kératoprothèse de Boston dans la prise en charge de la cécité cornéenne: intérêts et limites. *J Fr Ophtalmol*, 2018;41:642-649.

Les auteurs ont déclaré ne pas avoir de conflits d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.