L'Année ophtalmologique

Quoi de neuf dans les pathologies cornéennes ?

P. FOURNIÉ
Service d'Ophtalmologie, CHU de TOULOUSE.

Difficile sur l'année écoulée d'être passé à côté de la "greffe de cornée de porc". L'article de Rafat *et al.* [1], publié en *open access* dans *Nature Biotechnology*, a dépassé un simple lectorat d'ophtalmologistes. Il s'est hissé au 2e rang des articles les plus lus de cette revue et au 212e rang sur plus de 430 000 articles, toutes revues confondues, sur la même période. Rafat *et al.* [1] rapportent un nouveau type de cornée biosynthétique.

Médecine régénérative cornéenne par bio-ingénierie

Ce terme de bio-ingénierie englobe l'étude des biosynthèses appliquée à la cornée dans notre cas, ainsi que la mise en œuvre des connaissances biologiques pour les processus industriels. L'approche de la médecine régénérative cornéenne englobe schématiquement trois stratégies (***fig. 1***) [2] :
– apport de cellules ou facteurs de croissance (1). Cela inclut notamment l'utilisation de Rho-kinase pour la cicatrisation endothéliale ou de cellules souches mésenchymateuses d'origine adipeuse ;
– support à base de matrice hydrogel (2) ou pas (3). Les hydrogels sont des systèmes réticulés, à haute teneur en eau, naturels ou synthétiques superabsorbants. Ils peuvent retenir des cellules humaines et constituer un réseau tridimensionnel en vue de la réparation des tissus.

1. Tissu cornéen biosynthétique à base de collagène de porc [1]

La cornée biosynthétique BPCDX (*bioengineered porcine construct, double crosslinked*) est un tissu cornéen acellulaire biosynthétisé à partir de collagène dermique de porc de type 1, qui est le collagène constitutif le plus représenté dans la cornée [1]. Ce composant est déjà utilisé pour des implants de drainage de glaucome. Dans cette forme de cornée biosynthétique, il est disponible en deux épaisseurs (280 ou 440 µm) et a subi un double *cross-linking*, chimique et photoinduit, pour augmenter ses propriétés biomécaniques, même si le module de Young est inférieur de moitié par rapport à celui d'une cornée humaine normale. Les auteurs rapportent différents tests *in vitro* de sécurité, de stérilité, de stabilité, de compatibilité microstructurale avec une matrice collagénique stromale cornéenne, et de transparence en raison d'une organisation régulière des fibres de collagène (***fig. 2***) [1].

Ces propriétés de biocompatibilité, de stabilité et de transparence ont été validées chez l'animal : le rat en implantation sous-cutanée et le porc en implantation intra-cornéenne [1]. Les auteurs rapportent les résultats à 2 ans des 20 premières implantations humaines : 12 patients en Iran et 8 patients en Inde. Tous étaient porteurs de kératocône sévère, en état de "cécité légale" :

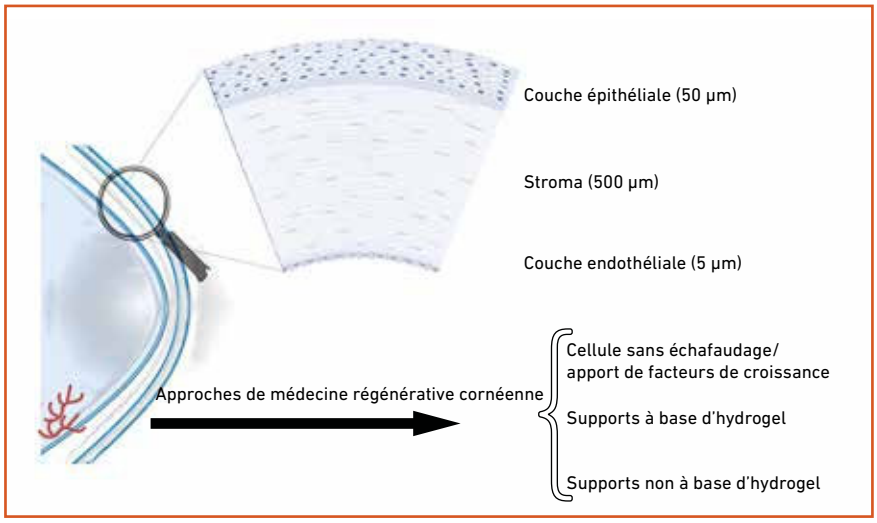


Fig. 1 : Structure de la cornée et approches de la médecine régénérative cornéenne (d'après [2]).

L'Année ophtalmologique

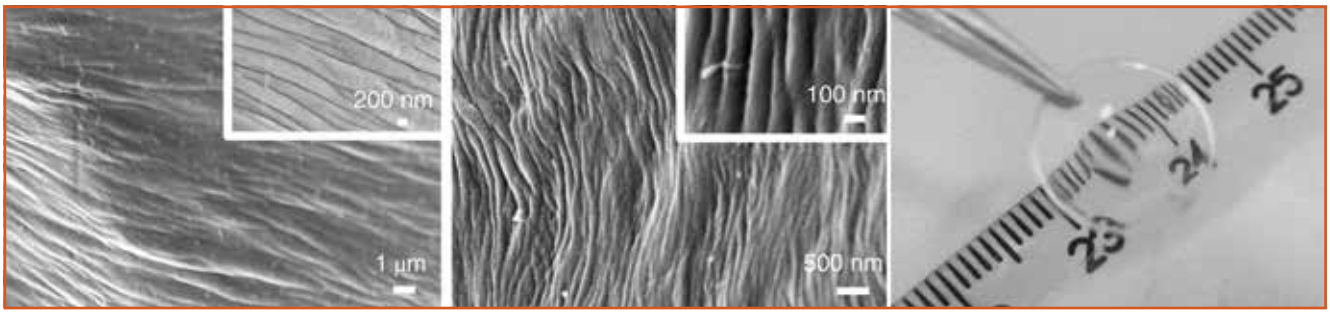


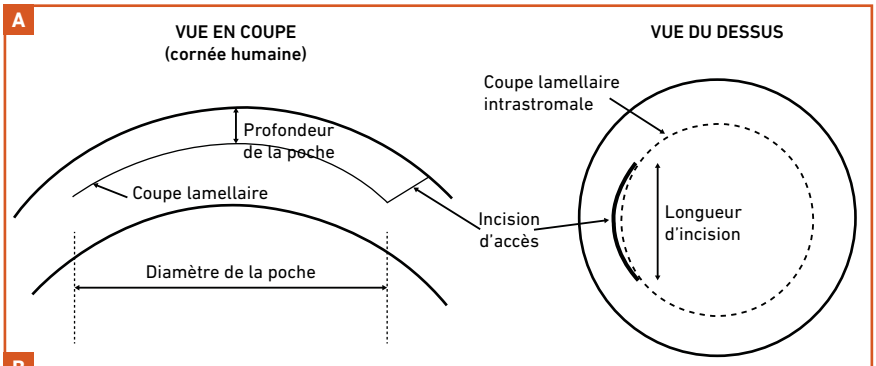
Fig. 2 : Alignement ultrastructural régulier des fibres de collagène en microscopie électronique. Transparence du greffon biosynthétique (d'après [1]).

– moyenne du Kmax : 69,1 ± 9,0 D (cohorte iranienne) et 62,7 ± 7,5 D (cohorte indienne) ;
– moyenne de la pachymétrie au point le plus fin : 405 ± 69 µm (cohorte iranienne) et 378 ± 15 µm (cohorte indienne).

Tous les patients étaient rapportés intolérants aux lentilles de contact et récusés pour une "greffe de cornée conventionnelle" en raison de l'indisponibilité en greffons cornéens humains. L'acuité visuelle préopératoire était dans tous les cas inférieure à 1/20e. Le greffon biosynthétique était inséré dans une poche stromale disséquée au laser femtoseconde à travers une incision de 2 à 4 mm de long, non suturée (***fig. 3***) [1].

Les auteurs rapportent à 2 ans un aplatissement cornéen : Kmax 58,8 ± 4,0 D (cohorte iranienne) et 48,8 ± 1,3 D (cohorte indienne). La pachymétrie était à 683 ± 88 µm (cohorte iranienne) et à 587 ± 18 µm (cohorte indienne). Tous les patients sont devenus tolérants aux lentilles de contact avec une amélioration de la meilleure acuité visuelle corrigée lunettes à 4/10e dans la série iranienne et lentilles à 8/10e dans la série indienne. Les greffons biosynthétiques étaient rapportés comme clairs à 2 ans (***fig. 4***) [1] sans inflammation ni rejet.

Ces premiers résultats apparaissent encourageants et ont provoqué un intérêt médiatique en raison du nombre rapporté de cécités cornéennes, de la pénurie en greffons cornéens humains et de la disponibilité quasiment illimitée de collagène d'origine porcine. Si l'utilisation de xénogreffes a été historiquement abandonnée en raison de rejet systématique, le génie biologique apporte un regard nouveau sur l'utilisation de molécules animales. Ces résultats sont cependant à confirmer sur de plus grandes séries, à plus long terme et par d'autres équipes, avant d'espérer une application clinique.



Paramètre	Iran	Inde
Profondeur de la poche (µm)	250-300	200
Diamètre de la poche (mm)	9.0	8.0
Longueur d'incision (mm)	4.0	2.0
Diamètre de BPCDX (mm)	8.5	7.5
Épaisseur de BPCDX (µm)	280 or 440	280
Modèle de laser femtoseconde	Technolas, Bausch & Lomb	FS 200, ALCON

Fig. 3 : Schéma et paramètres de découpe d'une poche stromale au laser femtoseconde (d'après [1]).

2. Cellules souches mésenchymateuses

Les cellules souches dérivées du tissu adipeux sont un sous-type de cellules souches mésenchymateuses qui présentent l'avantage important d'être facilement obtenues (de manière autologue) par des procédures peu invasives (par liposuccion), de produire un grand nombre de cellules souches multipotentes ayant le potentiel de se différencier en plusieurs lignées cellulaires, de présenter des propriétés immunomodulatrices et de favoriser la régénération des tissus par une action paracrine grâce à la sécrétion de vésicules extracellulaires contenant des facteurs trophiques. Ce sécrétome est actuellement étudié en tant que source potentielle pour une thérapie régénératrice sans cellules pour les tissus humains, ce qui réduirait considérablement les coûts, les risques et les réglementations légales, permettant une application plus large en pratique clinique.

Les possibles domaines d'application dans les atteintes de surface épithéliale, avec des études cliniques en

L'Année ophtalmologique

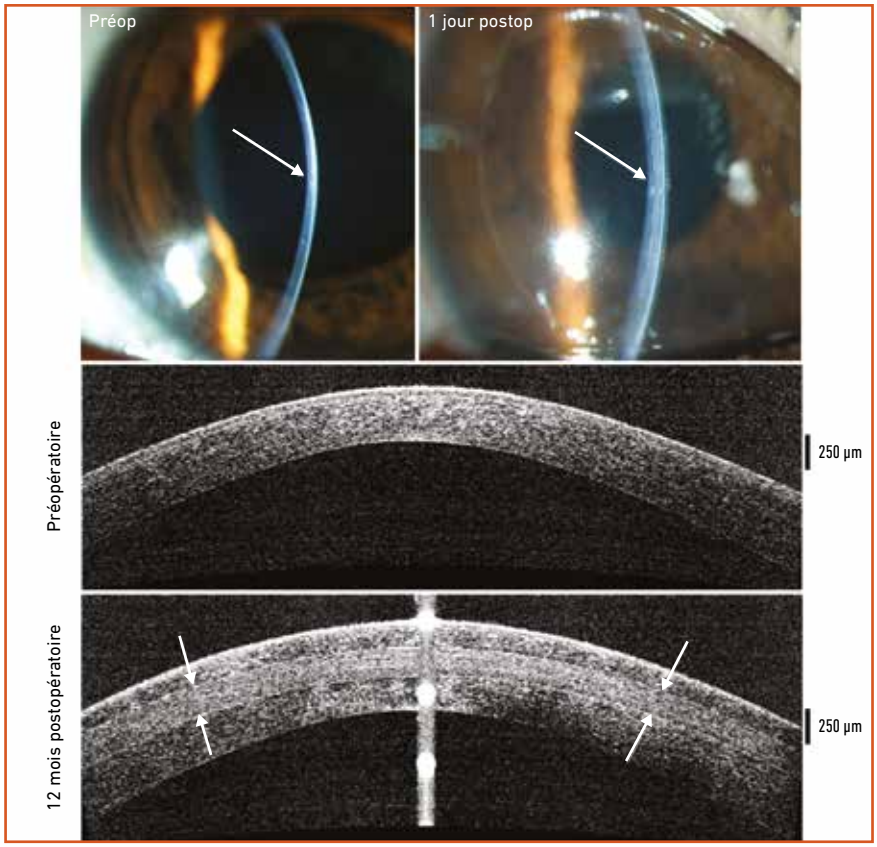


Fig. 4 : Amélioration de la transparence cornéenne à la lampe à fente, 2 ans après implantation. Bonne transparence du greffon biosynthétique à l'OCT (**entre les flèches blanches**) (d'après [1]).

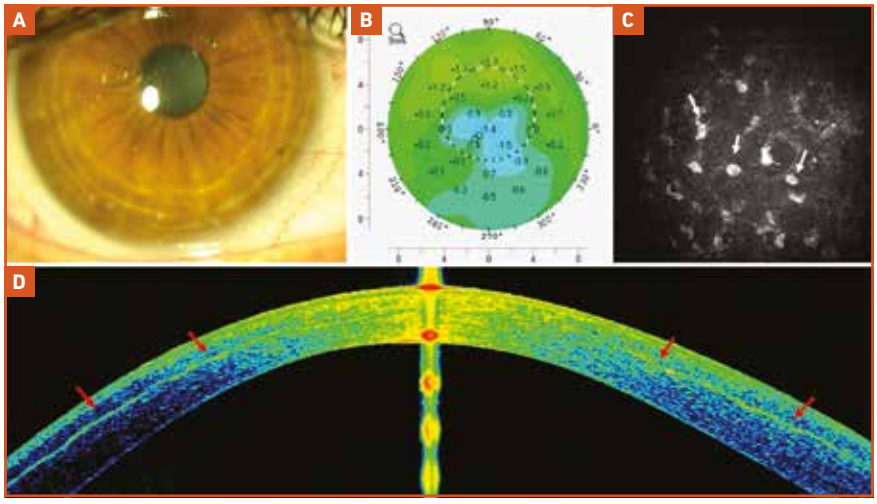


Fig. 5 : Implantation de cellules souches mésenchymateuses d'origine adipeuse dans un kératocône avancé. **A :** transparence cornéenne inchangée à la lampe à fente 24 h après l'intervention ; **B :** carte différentielle topographique (Pentacam) entre la période préopératoire et 6 mois postopératoire : stabilité des paramètres kératométriques ; **C :** images de biomicroscopie confocale cornéenne au niveau du plan chirurgical au cours du premier mois postopératoire. La survie des cellules souches est confirmée par la présence de cellules présentant une morphologie plus arrondie (**flèches blanches**) ; **D :** image AS-OCT 6 mois après l'opération. Notez les zones hyperréflectives (**flèches rouges**) au niveau de la poche stromale, compatibles avec une production de néocollagène (d'après [3]).

cours, concernent notamment la sécheresse oculaire, le syndrome de greffon contre l'hôte et les insuffisances en cellules souches épithéliales [3]. Dans les atteintes stromales, une publication récente fait état des résultats à 3 ans de l'implantation intrastromale de cellules souches mésenchymateuses d'origine adipeuse chez 14 patients atteints de kératocône sévère à un stade de greffe [3, 4]. Les auteurs rapportent une survie et bio-intégration sans réponse inflammatoire tissulaire ou clinique des cellules mésenchymateuses *in vivo*, et une production de néocollagène (environ 15 µm d'épaisseur en moyenne en cas d'injection seule de cellules mésenchymateuses) (***fig. 5***). Les kératométries et la réfraction subjective n'étaient pas modifiées sur ce terme. Si l'efficacité restait modérée en termes d'amélioration visuelle (environ 2 lignes de gain), il s'agit cependant d'une preuve de concept de l'implantation de cellules souches autologues d'autre lignée au sein du tissu cornéen à des fins thérapeutiques.

3. Autres approches

La technique d'impression 3D d'une cornée biosynthétique en médecine régénérative est un domaine en pleine expansion pour essayer de générer une structure cornéenne artificielle proche de la cornée humaine native. La recherche sur la bio-impression de cornées artificielles suscite un intérêt avec un large éventail de matériaux et de cellules qui peuvent être utilisés comme encres biologiques pour obtenir une transparence, une biocompatibilité et une résistance tectonique optimales. Il s'agit d'un domaine aujourd'hui en devenir avec des progrès continus de la science des biomatériaux et des technologies d'impression [5].

Néovascularisation cornéenne

La cornée est classiquement un tissu transparent sans vaisseaux sanguins ni lymphatiques. Ces vaisseaux sont

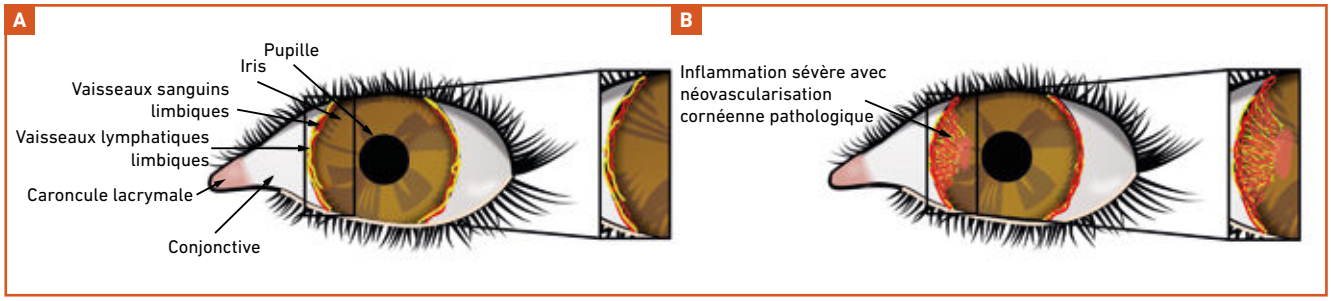


Fig. 6 : A : vascularisation limbique terminale sanguine et lymphatique ; **B :** invasion cornéenne de néovaisseaux sanguins et lymphatiques secondaires à une "agression cornéenne" (d'après [6]).

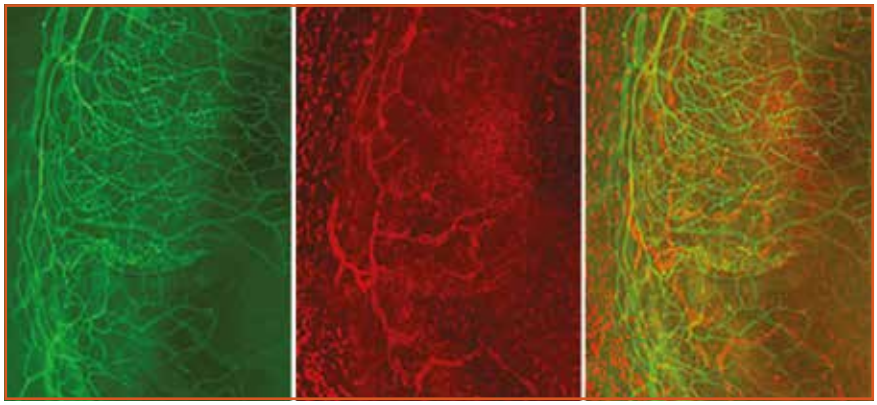


Fig. 7 : Marquages immunohistochimiques des vaisseaux sanguins par marqueur CD31 (**vert**), des vaisseaux lymphatiques par LYVE-1 (**rouge**), et superposition des deux marquages (d'après [6]).

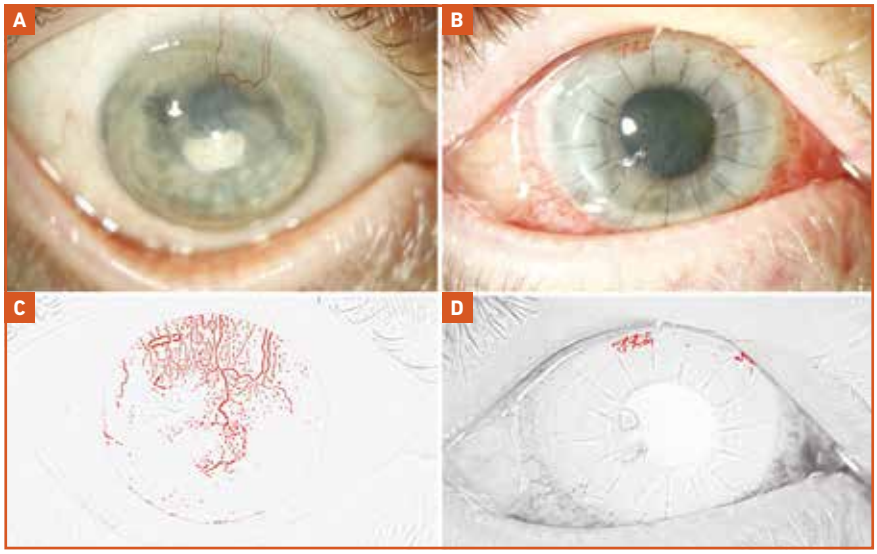


Fig. 8 : Cicatrice cornéenne néovascularisée avant (**A**) puis après (**B**) *cross-linking* cornéen photo-induit et greffe de cornée transfixiante. Analyse morphométrique de la néovascularisation cornéenne avant (**C**) et après (**D**) prise en charge (d'après [6]).

classiquement conjonctivaux avec une vascularisation terminale limbique en circonstances normales. Une effraction cornéenne vasculaire sanguine et/ou lymphatique intervient à la suite de diverses agressions (***fig. 6***), variées et nombreuses, telles que [6, 7] : syndrome sec oculaire, conjonctivites allergiques, rejet de greffe, réaction du greffon contre l'hôte, kératites infectieuses, kératites herpétiques, traumatismes, brûlures oculaires, déficit en cellules souches épithéliales cornéennes limbiques, ptérygion, tumeurs de la surface oculaire, kératopathies bulleuses, hydrops dans un contexte de kératocône.

L'exploration vasculaire lymphatique a bénéficié de l'émergence de marqueurs spécifiques *ex vivo*. Cette vascularisation lymphatique est souvent parallèle aux vaisseaux sanguins (***fig. 7***), faisant de la cornée un modèle d'investigation d'agents anti-angiogéniques. La numérisation de l'imagerie cornéenne permet l'analyse fine par contraste d'image de la néovascularisation cornéenne (***fig. 8***).

L'approche thérapeutique repose sur des moyens physiques : thermocoagulation à la pointe fine de troncs vasculaires nourriciers (***fig. 9***), *cross-linking* cornéen photo-induit par UVA (***fig. 8***), photothérapie dynamique (PDT), greffes de cornée (***fig. 8 et 9***). Ces moyens physiques sont souvent couplés à des moyens médicaux tels que : corticothérapie locale, agents anti-angiogéniques en injection sous-conjonctivale (***fig. 9***) ou par instillation de surface. Si la plupart des agents anti-angiogéniques sont utilisés à base de préparations magistrales ou dans un contexte de recherche clinique, il est à noter l'arrivée prochaine d'un agent anti-angiogénique par oligonucléotides antisens (aganirsen, Laboratoires KÔL) en autorisation d'accès compassionnel (AAC) (***fig. 10***) [8]. À noter les critères d'utilisation :

L'Année ophtalmologique

Fig. 9 : Cicatrice cornéenne néovascularisée avant (**A**) puis traitée par thermocoagulation à la pointe fine et injection sous-conjonctivale de bévacizumab (**B**), puis greffe de cornée (**C**) (d'après [6]).

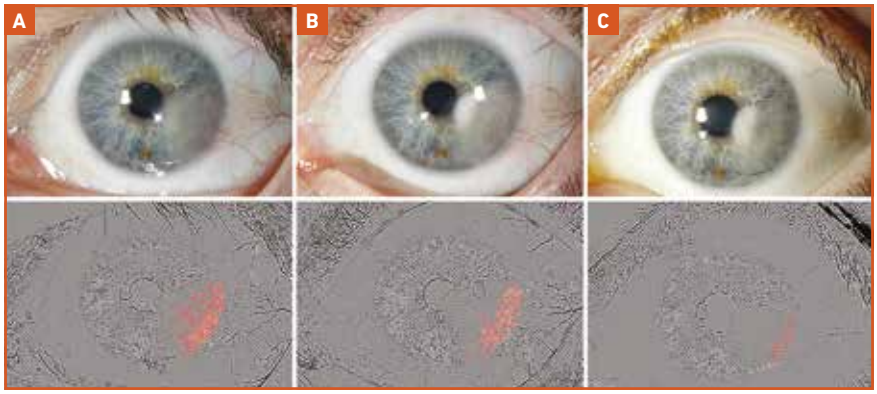


Fig. 10 : Cicatrice herpétique néovascularisée (**A**) avec kératopathie lipidique, à 1 mois (**B**) d'instillation de collyre oligonucléotides anti-sens contre IRS-1 (aganirsen), puis à 90 jours (**C**) avec régression de la néovascularisation cornéenne (d'après [8]).

– néovascularisation évolutive/active ;
– néovaisseaux peu profonds/superficiels ;
– phase aiguë de néovascularisation/néovaisseaux récents (< 3 mois depuis le premier épisode de néovascularisation ou depuis le début de la poussée actuelle) ;
– présence de néovaisseaux à moins de 4 mm du limbe ;
– besoin d'une épargne cortisonique.

Et les critères d'exclusion, souvent à considérer dans la prise en charge de néovaisseaux cornéens comme critères de moins bon pronostic :
– néovaisseaux centraux dans la zone optique centrale (4 mm de diamètre autour du centre cornéen) ;
– néovascularisation chronique non évolutive (néovaisseaux peu actifs, anciens, très diffus) ;
– néovaisseaux profonds (1/3 postérieur de la cornée) ;
– néovaisseaux d'insuffisance limbique constitutionnelle ;
– gros tronc vasculaire déjà installé (hors cas de néovaisseaux coagulés) ;
– insensibilité cornéenne cliniquement significative ;
– épithélium fluo + avec épithéliopathie cornéenne cliniquement significative ;
– infection bactérienne.

En bref

1. Suivi à long terme

Avec le recul, les résultats se font plus précis pour les "deux chirurgies qui ont marqué le début du XXIe siècle". Le *cross-linking* cornéen, décrit en 1998 avec les premiers résultats cliniques publiés en 2003, confirme son innocuité à 10 et 15 ans avec une stabilité cornéenne topographique sur des séries de 61 yeux et 42 yeux respectivement [9, 10]. Cette stabilité était attendue étant donné le profil évolutif naturel de la maladie qui se stabilise avec le temps.

Les greffes de cornée endothéliales ont été décrites en 2004. Concernant la DSEK (*Descemet stripping endothelial keratoplasty*), Fu et Hollick [11] rapportent un suivi à 10 ans de 356 yeux. Le taux de survie à 10 ans des greffons est de 79 %, toutes indications confondues. Il est de 92 % en cas de dystrophie de Fuchs uniquement. Le pourcentage de perte cellulaire endothéliale est de 73,1 % ± 9,7 % à 10 ans avec une densité endothéliale moyenne résiduelle de 692 cellules/mm^2. Price [12] rapporte un suivi à 15 ans de 350 DSEK. Le taux d'échec de greffe à 10 ans est de 16 % et de 23 % à 15 ans avec 78 % de perte cellulaire endothéliale à 15 ans pour une densité cellulaire moyenne résiduelle de 705 cellules/mm^2.

Le principal facteur de risque de décompensation endothéliale était la présence d'un glaucome avec un taux d'échec multiplié par 4,4 et un risque multiplié par 24 en cas de chirurgie de glaucome associée. Sur cette série, le risque de rejet de greffe était de 7 % à 1 an, 14 % à 10 ans et 17 % à 15 ans. Melles *et al.* [13] rapportent, sur une série de 68 et 57 DMEK (*Descemet membrane endothelial keratoplasty*) à 5 et 10 ans, un taux de survie des greffons de 83 % et 79 % respectivement. La perte cellulaire endothéliale était de 59 % à 5 ans et de 68 % à 10 ans. Bonnet *et al.* [14] rapportent une perte cellulaire endothéliale après DMEK de 63,8 % en cas de chirurgie de glaucome associée, de 47,6 % en cas de glaucome traité médicalement et de 44 % en l'absence de glaucome sur un suivi moyen de 38,4 ± 11,2 mois (extrêmes : 24,2-64,4 mois). Le taux d'échec de greffe était de 41,6 % en cas de chirurgie de glaucome associée, 0 % en cas de glaucome traité médicalement et de 2,4 % en l'absence de glaucome. Le glaucome est également un facteur de risque d'échec en cas de DMEK, surtout après chirurgie.

2. Big data et intelligence artificielle

Les registres en cornée concernent notamment les greffes de cornée, les kératites infectieuses, les études génomiques – les deux maladies les plus fréquemment étudiées étant le kératocône

et la dystrophie cornéenne endothéliale de Fuchs – et les registres et biobanques basés sur les dossiers médicaux électroniques [15].

L'étude de ces *big data* aura une implication grandissante dans :
– la compréhension et caractérisation des maladies ;
– la surveillance des maladies ;
– l'établissement d'un *gold standard*/d'une référence ;
– l'amélioration du diagnostic et du traitement ;
– la prévision des résultats ;
– la médecine prédictive, préventive, personnalisée et participative ;
– la stratification du risque pour la chirurgie ;
– la planification et allocation des ressources.

Un exemple de l'application de l'IA en pathologies cornéennes est la récente publication de la possible détection d'un œdème cornéen infraclinique sur OCT comme aide à la décision, en cas de dystrophie de Fuchs, entre une chirurgie combinée ou pas de greffe de cornée endothéliale à la chirurgie de cataracte [16]. Un autre intérêt important serait également, dans le suivi des greffes de cornée, la détection de variations fines d'épaisseur en lien avec la survenue d'un rejet de greffe ou témoin de rejet parfois torpide à risque de déperdition endothéliale progressive accélérée.

3. Couche pré-descemétique (couche de Dua)

Enfin, Dua revient dans une large revue sur la couche qu'il a décrite en 2013 [17]. Celle-ci porte sur les polémiques et controverses quant à la description d'une nouvelle couche cornéenne et sur sa dénomination. Cette couche a été décrite chez l'enfant, dans d'autres espèces animales, avec des implications thérapeutiques, notamment dans l'analyse de la *big bubble* obtenue après greffe lamellaire antérieure profonde, selon la dynamique de clivage pré-descemétique ou descemétique.

D'autres implications ont été rapportées, chirurgicales dans la greffe endothéliale (*Pre-Descemet Endothelial Keratoplasty* ou *PDEK*) ou médicales physiopathogéniques, notamment en cas de survenue d'un hydrops après kératocône, secondaire à la rupture de cette couche et non pas de la Descemet. Des perspectives et explorations sont à venir sur la biomécanique de cette couche dans le kératocône ou le glaucome, qui reposent sur l'observation d'une disparité de répartition et de présence d'élastine dans cette couche rapportée dans certains kératocônes sévères, et sur la continuité de cette couche avec le trabéculum.

BIBLIOGRAPHIE

1. Rafat M, Jabbarvand M, Sharma N *et al.* Bioengineered corneal tissue for minimally invasive vision restoration in advanced keratoconus in two clinical cohorts. *Nat Biotechnol*, 2023;41:70-81.
2. Mahdavi SS, Abdekhodaie MJ, Mashayekhan S *et al.* Bioengineering approaches for corneal regenerative medicine. *Tissue Eng Regen Med*, 2020;17:567-593.
3. Alió Del Barrio JL, De la Mata A, De Miguel MP *et al.* Corneal regeneration using adipose-derived mesenchymal stem cells. *Cells*, 2022;11:2549.
4. El Zarif M, Alió JL, Alió Del Barrio JL *et al.* Corneal stromal regeneration therapy for advanced keratoconus: long-term outcomes at 3 years. *Cornea*, 2021;40:741-754.
5. Jia S, Bu Y, Lau DA *et al.* Advances in 3D bioprinting technology for functional corneal reconstruction and regeneration. *Front Bioeng Biotechnol*, 2023;10:1065460.
6. Clahsen T, Hadrian K, Notara M *et al.* The novel role of lymphatic vessels in the pathogenesis of ocular diseases. *Prog Retin Eye Res*, 2023:101157.
7. Patnam M, Dommaraju SR, Masood F *et al.* Lymphangiogenesis guidance mechanisms and therapeutic implications in pathological states of the cornea. *Cells*, 2023;12:319.
8. Cursiefen C, Viaud E, Bock F *et al.* Aganirsen antisense oligonucleotide eye drops inhibit keratitis-induced corneal neovascularization and reduce need for transplantation: the I-CAN study. *Ophthalmology*, 2014;121:1683-1692.
9. Enders C, Vogel D, Dreyhaupt J *et al.* Corneal cross-linking in patients with keratoconus: up to 13 years of follow-up. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2023;261:1037-1043.
10. Raiskup F, Herber R, Lenk J *et al.* Corneal crosslinking with riboflavin and UVA light in progressive keratoconus: Fifteen-year results. *Am J Ophthalmol*, 2023:250:95-102.
11. Fu L, Hollick EJ. Long-term outcomes of Descemet Stripping Endothelial Keratoplasty: ten-year graft survival and endothelial cell loss. *Am J Ophthalmol*, 2022;234:215-222.
12. Price MO, Price FW Jr. Descemet Stripping Endothelial Keratoplasty: Fifteen-Year Outcomes. *Cornea*, 2023;42:449-455.
13. Vasiliauskaitė I, Oellerich S, Ham L *et al.* Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty: Ten-Year Graft Survival and Clinical Outcomes. *Am J Ophthalmol*, 2020;217:114-120.
14. Bonnet C, Ghaffari R, Alkadi T *et al.* Long-term outcomes of Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty in eyes with prior glaucoma surgery. *Am J Ophthalmol*, 2020;218:288-295.
15. Ting DSJ, Deshmukh R, Ting DSW *et al.* Big data in corneal diseases and cataract: Current applications and future directions. *Front Big Data*, 2023;6:1017420.
16. Bitton K, Zéboulon P, Ghazal W *et al.* Deep Learning Model for the Detection of Corneal Edema Before Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty on Optical Coherence Tomography Images. *Transl Vis Sci Technol*, 2022;11:19.
17. Dua HS, Freitas R, Mohammed I *et al.* The pre-Descemet's layer (Dua's layer, also known as the Dua-Fine layer and the pre-posterior limiting lamina layer): Discovery, characterisation, clinical and surgical applications, and the controversy. *Prog Retin Eye Res*, 2023:101161.

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