

UNIVERSITE DE NANTES

FACULTE DE MEDECINE

Année 2012

N°174

THESE

pour le

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE

en OPHTALMOLOGIE

par

Lucy Longeron
née le *7 octobre 1983*

Présentée et soutenue publiquement le 18 octobre 2012

**Evaluation de la perte endothéliale et de la durée de vie des greffes cornéennes pour
kératocône, avec comparaison entre kératoplastie transfixiante et kératoplastie
lamellaire antérieure profonde**

Président : Monsieur le Professeur Michel Weber

Directeur de thèse : Mme le Docteur Isabelle Orignac

Membres du Jury : Monsieur le Pr Alain Pêchereau
Monsieur le Pr Bruno Mortemousque
Monsieur le Dr Bertrand Vabres

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	p6
A. AVANT PROPOS.....	p 7
I. Le kératocône.....	p 7
II. L'endothélium cornéen.....	p 16
1. Description	
2. Physiologie	
3. Le maintien de la transparence cornéenne	
4. Ses méthodes d'analyses	
III. Les kératoplasties et le greffon cornéen	p 22
1. Evolution des techniques	
2. Conservation et analyse endothéliale des greffons	
B. MATERIELS ET METHODES.....	p 26
C. RESULTATS.....	p 29
I. Caractéristiques préopératoires des patients.....	p 29
II. Procédures per et post-chirurgicales et caractéristiques des greffons.....	p 30
III. Résultats visuels.....	p 31
IV. Evolution de la densité endothéliale et survie du greffon.....	p 33
V. Pachymétrie.....	p 48
VI. Constatations diverses.....	p 50
D. DISCUSSION.....	p 52
I. Des résultats fonctionnels comparables.....	p 53
II. Supériorité de la kératoplastie antérieure lamellaire profonde sur l'évolution de la densité endothéliale et la survie du greffon.....	p 56
III. Les avantages associés à la kératoplastie antérieure lamellaire profonde.....	p 63
CONCLUSION.....	p 65
Références bibliographiques	p 66
Résumé	

INTRODUCTION

Le kératocône est une dystrophie cornéenne peu fréquente, résultant d'un amincissement focalisé et d'une ectasie non inflammatoire. Si moins d'un quart des patients atteints subiront une greffe de cornée au cours des trois premières décennies de leur vie, c'est l'une des principales indications de kératoplastie dans le monde. Il s'agit de jeunes patients pour qui les notions de viabilité du greffon et de minimisation des complications sont primordiales.

La suppression du risque de rejet endothélial est l'argument principal qui a récemment propulsé la kératoplastie antérieure lamellaire profonde comme la technique chirurgicale de choix. La perte cellulaire endothéliale au delà du seuil de viabilité est l'une des principales causes d'échec de greffe. L'endothélium étant un tissu post-mitotique, la migration cellulaire, dont les caractéristiques restent encore en partie à décrire, est le mécanisme compensateur de cette perte.

L'objectif principal de cette thèse est de comparer les effets sur la population de cellules endothéliales et sur la survie du greffon de la kératoplastie antérieure lamellaire profonde par rapport à la kératoplastie transfixiante dans le kératocône.

A. AVANT PROPOS

I Le Kératocône

1. Epidémiologie

Il s'agit d'une dystrophie cornéenne se manifestant par une ectasie non inflammatoire de la cornée, qui fut distinguée des autres par Nottingham en 1850.

Il débute classiquement à la puberté progressant dans les deuxième et troisième décades puis ralentit son évolution.

Un âge d'apparition avant 20 ans pourrait être un facteur prédictif de sa gravité et de sa rapidité d'évolution^{6,28}.

Sa prévalence est de 54,5 pour 100000 et son incidence de 2 à 5 pour 2000¹⁹. Sa fréquence, longtemps sous estimée, a ces dernières années manifestement augmenté favorisée par le développement de la chirurgie réfractive corollairement au dépistage des formes de kératocône frustre ou mineur par vidéotopographie.

Il est le plus souvent isolé, sporadique mais certaines associations sont observées :

- avec des désordres génétiques : Trisomie 21, Syndrome de Down et Amaurose congénitale de Leber. Ces deux dernières associations pourraient être causées par une augmentation des microtraumatismes cornéens, liés à une blépharite sévère dans le Syndrome de Down et au frottement oculo-digital dans l'Amaurose congénitale de Leber ; mais d'autres études évoquent plutôt des facteurs génétiques causals.
- avec des maladies du tissu conjonctif. Malgré l'absence d'étude probante sur cette association, celle-ci est retrouvée avec des anomalies telles que le prolapsus de la valve mitrale, l'hyper laxité ligamentaire, les syndromes d'Ehlers Danlos, et de Marfan.
- avec un terrain atopique, retrouvé dans 20 à 44% selon les études, se manifestant surtout par des conjonctivites allergiques ou de l'eczéma.

Par ailleurs des antécédents familiaux sont retrouvés dans 6 à 10% des cas. Des études ont démontrées une transmission sur un mode autosomique dominant avec une pénétrance incomplète et/ou une expression variable.

En effet, l'implication de certains gènes ayant un rôle majeur dans l'étiologie du kératocône a été démontrée et ainsi, des facteurs environnementaux (œil rouge, port difficile de lentille, atopie) pourraient faire apparaître la maladie chez un sujet prédisposé génétiquement. L'hétérogénéité de la nature du kératocône suggère l'existence de plusieurs sous-types de gènes¹⁹.

2. Pathogénie et histopathologie

La pathogénie du kératocône reste à l'heure actuelle non élucidée.

Des études ont mis en évidence une activité accrue des métalloprotéases MMP-2, MMP-9, une baisse de l'activité d'inhibiteurs des protéases comme l'alpha-1-protease inhibitor, ainsi que de forts taux d'oxyde nitrique. Ces résultats suggèrent que le phénotype du kératocône serait la conséquence d'une dérégulation de la réponse au stress oxydatif au niveau de la cornée.

La triade classique histologique du kératocône est la suivante:

- amincissement cornéen
- rupture de la membrane de Bowman
- dépôts ferriques sur la membrane basale épithéliale

Les atteintes tissulaires concernent l'ensemble des couches de la cornée à l'exception de la membrane de Descemet et de l'endothélium : l'intégrité de ces deux structures est une notion déterminante dans la prise en charge thérapeutique par kératoplastie, comme nous le développerons ensuite.

- au niveau épithélial : dégénérescence des cellules basales et moyennes responsable d'une atrophie, dépôts de particules ferriques sous les cellules épithéliales
- au niveau de la membrane de Bowman : perte de son architecture homogène avec des épaissements, des plicatures et des ruptures localisées
- au niveau stromal : compaction et perte fibrillaire dans le stroma antérieur, réduction du nombre de lamelle de collagène, dégénération fibroblastique et perte du parallélisme des lamelles dans le stroma moyen et profond.
- sauf en cas de complication aiguë et de rupture, on ne note pas de modification de la membrane de Descemet

- classiquement, l'endothélium n'est pas atteint avec une mosaïque et une densité cellulaire normale. On rapporte néanmoins des inclusions intracellulaires, un polymégathisme et des elongations cellulaires dans le sens de la protrusion conique.
-

Enfin, Perry, en 1980, après analyse histologique a distingué deux types de morphologie de cône¹⁹:

- le « nipple-type » où la saillie est centrale
- le « oval-type » où elle est inférieure ou infero-temporale.

Ils sont aisément reconnaissables au biomicroscope et en vidéotopographie.

3. Présentation clinique

La déformation conique de la cornée entraîne un amincissement stromal non inflammatoire avec une protrusion, induisant un astigmatisme irrégulier et une myopie qui altèrent la qualité visuelle.

L'atteinte est le plus souvent bilatérale mais peut être très asymétrique⁵⁴.

Les signes cliniques sont variables, selon le stade de progression du kératocône¹⁷ :

- la difficulté à atteindre une vision optimale même avec correction et la distorsion des mires à l'examen au kératomètre de Javal sont des signes précoces
- atteinte modérée diagnostiquée en biomicroscopie :
 - amincissement stromal et protrusion en cône
 - anneau de Fleischer : dépôt de ferritine sur la membrane basale épithéliale en forme d'anneau partiel ou complet à la base du cône, de plus en plus pigmenté et complet à mesure de la progression de l'ectasie.
 - stries de Vogt : lignes de contraintes verticales parallèles à l'axe du cône juste en avant de la Descemet, disparaissant à la pression du globe oculaire. On les explique par la formation d'un reflet par déplacement des lamelles stromales postérieures.
 - nodules épithéliaux
 - opacités stromales
 - visibilité des nerfs cornéens à un âge anormalement précoce, expliqué par un amincissement cornéen et par une similitude d'indices de réfraction entre ces nerfs et le stroma
 - signe de Rizzuti : la projection du faisceau lumineux sur le côté temporal de l'œil en avant du plan irien éclaire le limbe nasal par un faisceau en forme de pinceau étroit à cause de la convergence des rayons lumineux par l'ectasie cornéenne

- en cas de kératocône très avancé, la protrusion cornéenne entraîne une déformation en forme de V de la paupière inférieure, appelée signe de Munson

4. Critères cornéotopographiques

Le diagnostic des cas évolués de kératocône est assez aisé, établi devant une image de déformation ovoïde avec la présence d'un astigmatisme irrégulier, asymétrique dans la zone de kératométrie la plus élevée en position paracentrale, le plus souvent inférieure responsable d'une forme ronde ou de poire.

La difficulté réside dans la distinction des formes normales de la cornée de celles des bombements pathologiques.

Dans ces situations, le recours aux indices topographiques est alors primordial⁹³.

a. Topographie spéculaire par disque de Placido

Amsler, en 1938 est le premier à avoir décrit le kératocône en topographie à disque de Placido en divisant alors les stades précoces (non détectable au biomicroscope) en :

- kératocône fruste : défini par une déviation des axes horizontaux des disques de 1 à 4 degrés
- kératocône débutant ou moyen : dont la déviation se situe entre 4 et 8 degrés mais il est alors détecté seulement en cas d'astigmatisme irrégulier .

Au début des années 1990, Rabinowitz, dans ses premières études a décrit trois indices pour reconnaître un kératocône :

- la valeur du K central, kératométrie maximale de la cornée, >47,2 dioptries
- la valeur I-S, différence > 1,4 dioptries entre les valeurs des puissances kératométriques moyennées de l'hémi-cornée inférieure et de l'hémi-cornée supérieure
- la comparaison droite/gauche : asymétrie entre œil droit et œil gauche

Un nouvel indice est venu les compléter, le SRAX, valeur en degré de l'angulation des deux hémiméridiens les plus bombés.

Ainsi à eux quatre, ces indices permettent de diagnostiquer 98% des kératocônes⁹³.

D'autres indices, dits composites, sont disponibles.

Citons le KISA%, égal à $K \times (I-S) \times SRAX \times 0,3$. Inférieur à 60% la cornée est considérée comme normale ; au delà on suspecte un kératocône, certain si il est supérieur à 100%

b. Topographie cornéenne d'élévation

La disposition récente de ces cartes d'élévation a permis d'apporter au clinicien des données nouvelles, avec en faveur du diagnostic de kératocône :

- une puissance de sphère de référence postérieure >57 dioptries
- une amplitude maximale d'élévation >100microns, critère introduit par Roush, qui prends en compte la valeur de l'amplitude entre l'élévation minimale et celle maximale sur la carte d'élévation antérieure⁹³.

Egalement disponibles, les cartes pachymétriques détectent l'amincissement cornéen au niveau du cône.

Ainsi, il est possible de calculer le gradient d'épaississement cornéen, alors plus élevé, ainsi que le taux d'accroissement de l'épaisseur cornéenne périphérique, qui est diminué dans le kératocône traduisant un amincissement central rapide.

En tenant compte des données fournies par la topographie cornéenne une autre classification, proposée par Krumeich a vu le jour⁶¹ :

Stade 1	- Apex cornéen excentré - Myopie et astigmatisme <5 D - K central moyen <48 D
Stade 2	- Myopie et astigmatisme entre 5 et 8 D - K central moyen <53 D - Absence d'opacité - Epaisseur cornéenne minimum >400 microns
Stade 3	- Myopie et astigmatisme entre 8 et 10 D - K central moyen >53 D - Absence d'opacité - Epaisseur cornéenne minimum entre 300 et 400 microns
Stade 4	- Indices réfractifs non mesurables - K central moyen >55 D - Présence d'opacité cornéenne centrale - Epaisseur cornéenne minimum entre < 200 microns

5. Prise en charge thérapeutique

Nous disposons actuellement de techniques récentes, étoffant les moyens thérapeutiques, devant un kératocône, en particulier pour les stades modérés ne nécessitant pas une kératoplastie.

La stratégie thérapeutique devant un kératocône dépend de son stade, le but étant de maintenir une acuité visuelle satisfaisante et de diminuer sa progression

Seulement 12 à 20% des kératocônes requièrent au cours de leur évolution une greffe de cornée^{9,11,17}.

Nous les passerons rapidement en revue, et consacrerons le chapitre suivant aux kératoplasties.

a. Les lentilles de contact

Il s'agit du traitement de choix quand la correction optique par lunettes est non performante, apportant une bonne qualité de vision avec un confort satisfaisant. Leur type dépend du stade du kératocône, des lentilles souples toriques au départ, aux lentilles rigides perméables aux gaz (LRPG) seules ou en piggy-bag dans les stades avancés. A noter, leur utilisation bénéfique en post greffe pour optimiser le résultat visuel.

b. Le crosslinking du collagène

Il s'agit de la photopolymérisation du collagène cornéen par l'action des UVA, entraînant la formation d'un "pontage" biochimique des fibrilles de collagène qui deviennent alors reliées entre elles par des liaisons covalentes. Ce phénomène naturel se déroule de façon spontanée dans les tissus collagéniques, mais il peut être catalysé par des procédés enzymatiques ou photochimiques.

La cornée est imprégnée d'une substance photo-sensibilisante (vitamine B2 = riboflavine). Secondairement, une irradiation à une longueur d'onde donnée (UV de type A, 360 nm), pendant une durée déterminée, va entraîner la formation de radicaux libres oxygénés qui vont induire la formation d'une liaison covalente entre les terminaisons hydro-carbonées des fibrilles de collagène. Ce procédé est biochimiquement irréversible.

Cette technique relativement récente dont l'utilisation est basée sur des études ayant montré son efficacité selon un protocole bien établi consiste en la désépithélialisation cornéenne, l'application de Riboflavine pendant 15 minutes suivi d'une exposition de 30 minutes aux Ultra Violets A de 360 nm.

Décrite pour la première fois par Wollensak et Seiler ¹⁰¹ en 2003, il montre une absence de progression des kératocônes sur 5ans grâce à cette technique. D'autres études suivront, confirmant son efficacité mais sur des délais court de 12 mois. Néanmoins, les résultats à long terme et les éventuels effets délétères qui pourraient survenir restent encore inconnus.

Classiquement, l'indication de cette prise en charge est un kératocône progressant rapidement : K max progressant de 1 ou plus dioptrie en 6 mois sur la topographie, avec une épaisseur cornéenne nécessaire minimum de 350microns, chez un patient de moins de 40 ans.

c. Les anneaux intracornéens

Ils permettent de repousser le délai à la greffe sans toutefois stopper l'évolution du kératocône. La première implantation dans le kératocône fut effectuée en 1997 par Colin. Cette technique s'adresse au kératocône de plus de 400 microns de pachymétrie avec un centre cornéen clair,et, a pour objectif de régulariser la forme de la cornée en aplatissant les zones les plus bombées.

L'évolution des pratiques a permis le développement de technique assistée par laser femtoseconde pour creuser les tunnels des AIC, habituellement effectués manuellement. Cette technique peut être couplée au Crosslinking et n'empêche pas la kératoplastie ultérieurement en cas de besoin.

d. Les Implants intra-oculaires

Il s'agit d'implants toriques de phaques, ou chez des sujets plus âgés, d'implants de chambre postérieure au décours d'une chirurgie cristallinienne.

Leur utilisation est relativement récente et peu d'études ont été publiées.

Kamiya rapporte de bons résultats après implantation pour corriger un astigmatisme myopique dans le cas de kératocône stable.

e. Les greffes cornéennes

Deuxième cause de kératoplastie en France,seulement 12à 20% des kératocônes y auront recours.

Ses indications sont : une mauvaise acuité visuelle associée à un des éléments suivant :

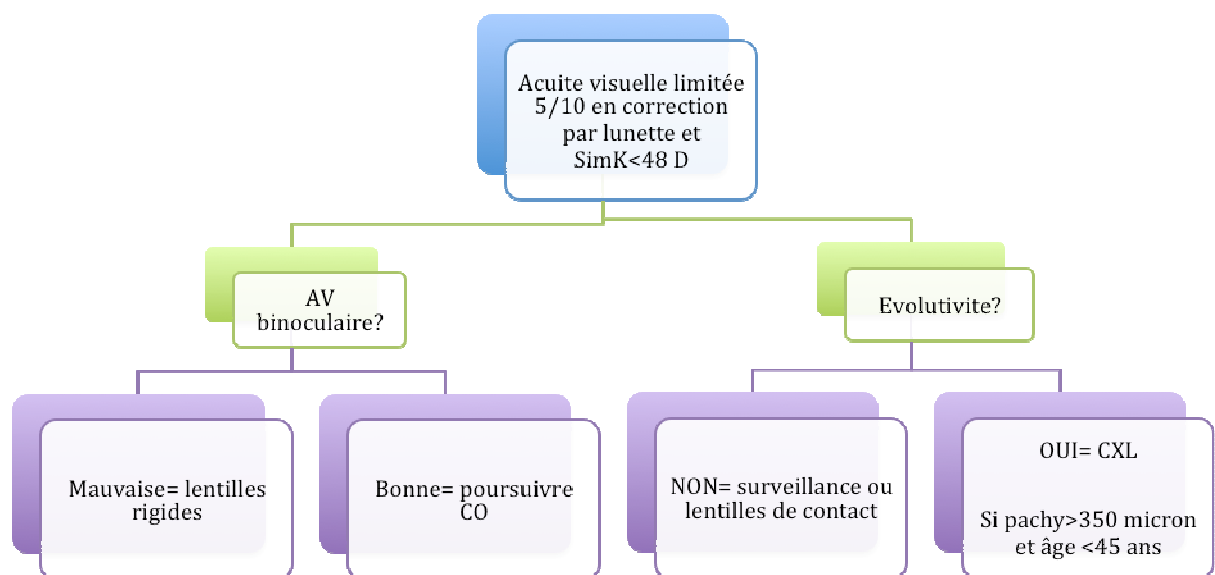
- intolérance aux lentilles ou l'échec de l'adaptation
- présence d'opacités cornéennes centrales

Une étude a par ailleurs identifiée l'âge précoce du diagnostic (<20 ans) et l'importance de la kératométrie moyenne comme des facteurs de risque d'évolution à la greffe²⁸.

Si longtemps, la kératoplastie transfixiante a été la technique de choix, l'avancée des techniques a permis un très net développement de l'utilisation de la kératoplastie lamellaire antérieure profonde, comme nous le détaillerons dans un prochain chapitre.

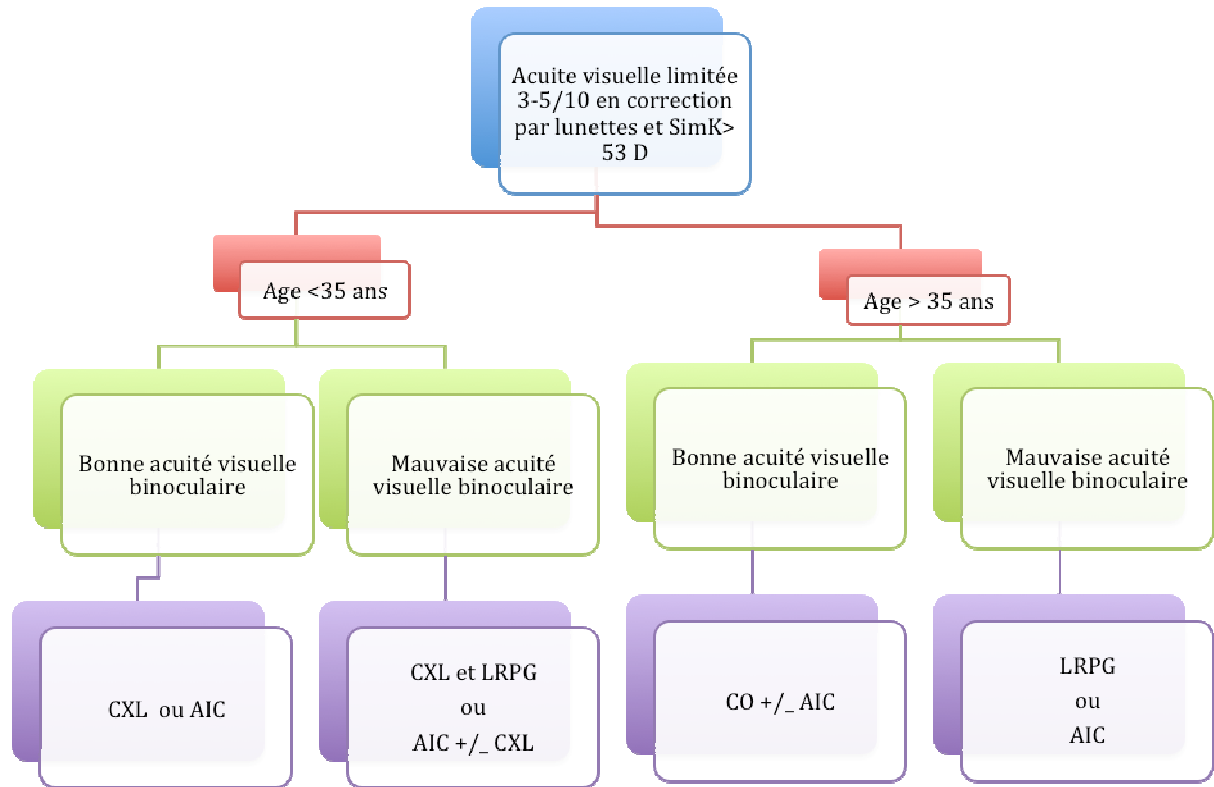
f. Arbres décisionnels thérapeutiques proposés par Fournier et al :

- Pour le kératocône débutant



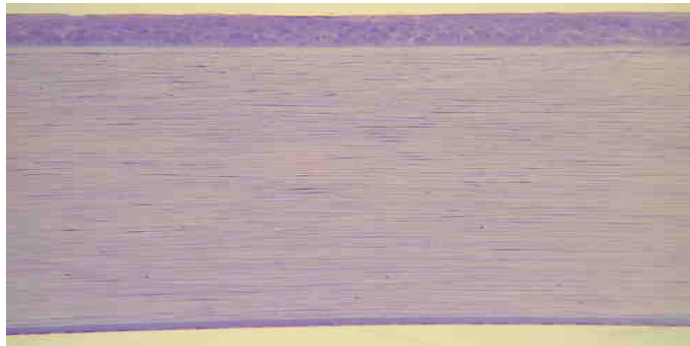
CO= correction optique
CXL= crosslinking

- Pour le kératocône avancé



AIC= anneau intra-cornéen

II. L'endothélium cornéen(*Figure 1*)



←endothélium

Figure 1 : coupe histologique cornéenne

1. Histologie

L'endothélium cornéen est composé d'une monocouche de 4 à 6 microns de cellules polygonales, qui tapissent la surface cornéenne postérieure.(*Figure 2*)

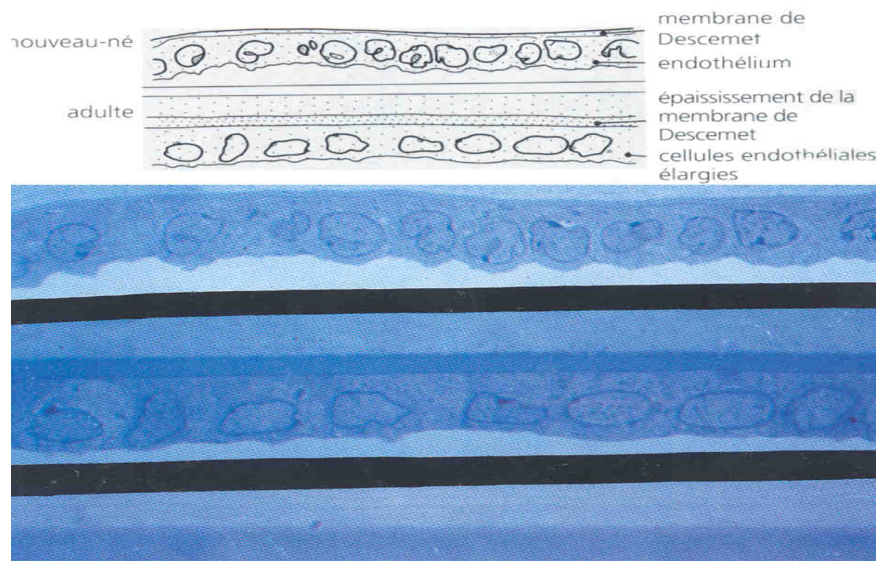
Situé entre l'humeur aqueuse en chambre antérieure et le stroma cornéen hydrophile, il participe à la régulation des flux de solutés et d'eau et ainsi au maintien de la transparence cornéenne.

Les cellules endothéliales, issues du mésodermeembryonnaire, sont polygonales, la plupart hexagonales d'un diamètre de 22 microns et d'une surface de 250 microns et reposent sur une membrane basale, appelée membrane de Descemet.

Le terme d'endothélium est trompeur car ces cellules ne possèdent aucun des marqueurs typiques de cellule endothéliale. Leurs marqueurs cytochimiques ressemblent plus étroitement à celui de l'épithélium cornéen (anticorps anti kératine, vimentine, S100 protéine et énoïase neuronale spécifique)

L'endothélium cornéen humain est un tissu post mitotique, quasiment incapable de se multiplier par mitose après la naissance. La perte cellulaire ne peut donc être compensée par la division, mais par une extension de taille des cellules adjacentes. Pour se faire, les cellules voisines émettent des pseudopodes, rompent leurs jonctions intercellulaires et migrent vers la zone de défaut (à une vitesse de 0,5 à 1 mm par jour). Cela entraîne une modification de la morphologie de ces cellules, qui s'allongent et perdent leur hexagonalité.

Puis une inhibition de contact stoppe leur progression et des jonctions intercellulaires se reforment pour reconstituer la barrière endothéliale permettant ainsi, comme nous le verrons plus loin, de garantir la récupération de son rôle de pompe⁴¹ (sur quelques jours à quelques mois , en fonction de l'atteinte initiale)



Membrane de Descemet et endothélium cornéen

Figure 2 : coupe histologique de l'endothélio-descemet : on constate un épaissement descemetique chez l'adulte

2. Physiologie

Même si les fonctions de l'endothélium sont multiples : embryologiquement il secrète l'acide hyaluronique ; il pourrait aussi produire des protéoglycanes stromales et il est responsable de la production de la membrane de Descemet ; son principal rôle est celui de la régulation de l'hydratation stromale et ainsi du maintien de la transparence cornéenne.

Les deux principaux mécanismes de conservation de l'hydratation par l'endothélium sont : l'un passif par la barrière physique et l'autre actif sous forme de pompe.

- La barrière endothéliale :

Elle fonctionne comme une barrière perméable et son intégrité est essentielle. Elle est constituée d'une monocouche de cellules hexagonales dont les parois latérales présentent des inter-digitations comportant un réseau de jonctions focales intercellulaires, des « Gap -Jonctions » et des « jonctionsserrées ». Ces jonctions, de moindre résistance, permettent une certaine perméabilité. Ainsi en condition physiologique, l'humeur aqueuse traverse l'endothélium et entre dans le stroma à un taux lent mais constant, source de glucose, d'acides aminés et d'autres nutriments indispensables aux cellules avasculaires de la cornée.

Les jonctions serrées ne sont pas disposées de façon continue tout autour de la cellule mais au niveau de certaines zones focales : l'humeur aqueuse peut ainsi accéder à l'espace intercellulaire.

Les Gap junction, elles, lient directement le cytoplasme de deux cellules, permettant le passage de molécules entre elles.

L'intégrité des jonctions est dépendante du taux de Calcium intracellulaire ; la concentration minimale requise est de 0,3mmol. Si elle est inférieure, ceci entraîne une hyperperméabilité.

- La pompe endothéliale

Du fait de l'entrée continue d'humeur aqueuse dans le stroma, la transparence et l'épaisseur cornéenne vont dépendre de la capacité à extraire ce fluide du stroma, d'où la nécessité d'une pompe.

Il s'agit d'un mécanisme de transport actif : un gradient osmotique est généré permettant un flux d'eau vers l'humeur aqueuse grâce au passage d'ions Sodium et Bicarbonate du stroma vers l'humeur aqueuse à travers l'endothélium.

La Na⁺/K⁺ ATP ase : (Figure 3)

Il s'agit de la protéine membranaire constituant l'essentiel de la pompe, localisée dans les parois latérales membranaires cellulaires au nombre 2,1 X 10⁶ sites par cellule chez adulte.

L'anhydrase carbonique endothéliale qui catalyse la conversion de dioxyde de carbone et d'eau en bicarbonate et H⁺ fournit une importante source de bicarbonate pour la pompe.

L'activité de la pompe est dégradée en cas de manque d'O₂ ou de dysfonction des métabolismes glycolytiques ; le glucose étant la principale source d'énergie pour l'endothélium, comme pour l'épithélium.

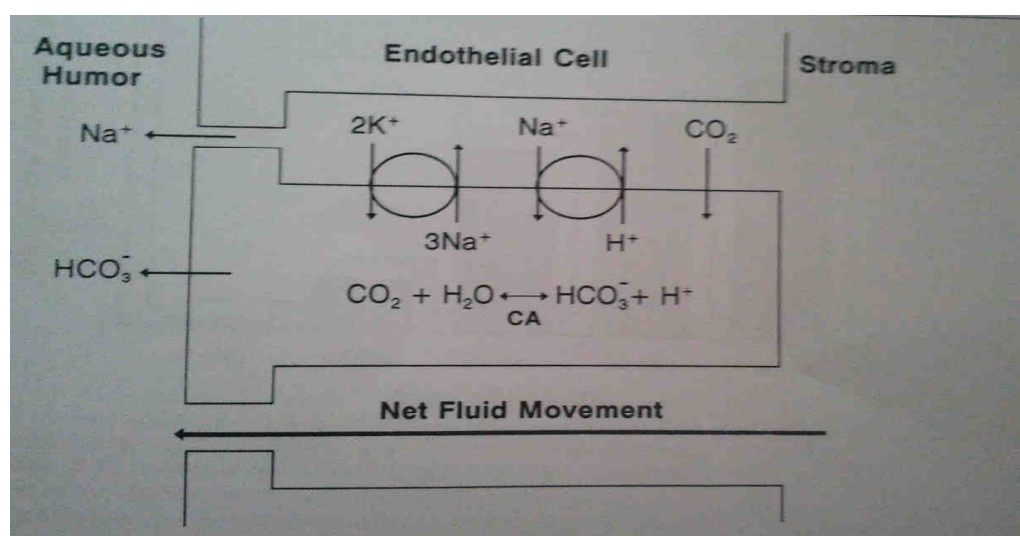


Figure 3 : la protéine Na⁺/K⁺ ATP ase

3. Le maintien de la transparence cornéenne

La transparence cornéenne est conditionnée par le bon fonctionnement de la pompe cellulaire endothéliale, l'intégrité des barrières endothéliales et épithéliales, le maintien d'une pression intraoculaire (PIO) normale et l'absence de cellulite inflammatoire.

L'intégrité de la barrière épithéliale est nécessaire, s'opposant à la pénétration du flux liquidien lacrymal dans le stroma. Elle est assurée par des jonctions étanches entre ces cellules épithéliales et la présence de glycocalix à la surface des cellules superficielles

Le taux d'hydratation du greffon est un facteur clé de la transparence. Sa valeur normale est respectivement de 3,04 et de 8,85 d'eau /mg de poids sec, dans le stroma antérieur et le stroma postérieur. A l'état normal la cornée contient 78% d'eau.

Les fibrilles de collagène du stroma sont entourées de protéoglycanes de charges négatives ayant pour effet d'éloigner les molécules entre elles et donc d'augmenter l'épaisseur cornéenne, phénomène nommé « Pression de Gonflement » du stroma (PG), de l'ordre de 55mmHg. Cette PG diminue en cas d'augmentation de l'hydratation cornéenne car les charges électriques sont plus éloignées et donc les forces de répulsion diminuent.

A l'état physiologique, pour éviter les déplacements liquidien dans les canules stromales, une pression négative est maintenue dans les micro-canules remplies de sérum salé, appelée « Pression d'Inhibition (PI) ». Elle est responsable d'un état de relative déshydratation du stroma in vivo.

Cette pression d'inhibition augmente avec la pression de gonflement et diminue avec la PIO d'où la formule : $PI = PIO - PG$

Donc en cas de hausse de la PIO ou de baisse de la PG, la PI peut se positiver et on note alors l'apparition d'un œdème cornéen sous épithélial.

Afin d'assurer une juste PI, l'endothélium doit assurer son rôle de pompe cellulaire dont le fonctionnement nécessite un nombre suffisant de complexes ATPase Na/K, ce qui sous-tend un nombre minimal de cellules ayant une fonction normale, au minimum 500 cellules/mm².

La réserve initiale de cellules, de 3500 à 4000 C/mm² à la naissance, permet en théorie une longévité de la cornée à 200ans, en considérant un taux de perte de 0,5% /an¹⁸.

La longévité de l'endothélium résulte dans sa capacité de résistance physiologique à l'apoptose.

L'apoptose est une mort cellulaire programmée, un phénomène actif, ne déclenchant pas de réaction inflammatoire ; au contraire de la nécrose, passive, aléatoire, entraînant une réaction inflammatoire détersive et responsable d'une cicatrice.

De nombreux gènes permettent sa régulation, pro ou anti apoptotiques. D'autres facteurs extracellulaires peuvent déclencher l'apoptose : certaines cytokines (TNF, IL 1, TGF beta), le Fas Ligand, la privation en facteurs de croissance, la perte de contact de la cellule avec sa matrice, les glucocorticoïdes, les drogues anti mitotiques, des toxines, les oxydants, les Ultra Violets, les radiations ionisantes, les traumatismes chirurgicaux et les infections virales.

La cellule endothéliale est physiologiquement très résistante à l'apoptose, grâce à la surexpression des protéines anti-apoptotiques HSP (heat shock proteins) et Bcl-2. De plus les cellules iriennes et du corps ciliaire produisent dans l'humeur aqueuse un facteur soluble augmentant l'expression de Bcl 2 par la cellule endothéliale⁴¹.

4. Ses méthodes d'analyse

a. Etude au microscope

Méthode de choix dans les banques de tissus pour l'étude des greffons cornéens, elle est la plus fiable et la plus précise mais ne peut être utilisée in vivo. Nous détaillerons plus loin son mode d'utilisation.

b. Le microscope spéculaire

Il fournit une évaluation in vivo de l'endothélium et est utilisé en pratique courante. Introduit dans les années 1970 par Browns et Lasing, de nombreux types de microscopes spéculaires sont à ce jour disponibles, avec une amélioration de la qualité d'image et une optimisation des méthodes de détection des cellules afin d'aboutir à des données fiables de densité endothéliale¹⁰.

L'image est obtenue à travers une illumination tangentielle de la surface cornéenne dont l'aire centrale des cellules endothéliales reflète la lumière vive et les bords cellulaires apparaissent en ligne noire⁵¹.

Il s'agit d'un procédé non contact, bien toléré, sans risque de traumatisme cornéen ou de transmission infectieuse²⁶.

Il ne permet qu'une mesure au niveau de la zone cornéenne centrale.

Sur la photographie de l'endothélium, une grille de mesure est placée, correspondant à une certaine aire, rectangulaire, de taille constante.

Des logiciels, ensuite, vont assurer le comptage, par des algorithmes basés sur la reconnaissance des contrastes, selon deux types de méthodes :

- La méthode semi-automatique où le lecteur marque les cellules contiguës puis le comptage est automatique, utilisée de façon majoritaire. La « fixed frame method » doit être appliquée pour minimiser les biais de mesure en prenant en compte les cellules coupées sur deux bords du cadre. (Figure 4)

- La méthode automatique où le repérage des cellules est effectué par l'appareil lui-même, avec possibilité de correction. En général il mesure une centaine de cellules.

Certaines études comparatives ont montré la non interchangeabilité des différents appareils et méthode de mesure : lors du suivi régulier d'un patient, il est préconisé d'utiliser le même appareil et la même méthode^{22,26,45,52,71}.

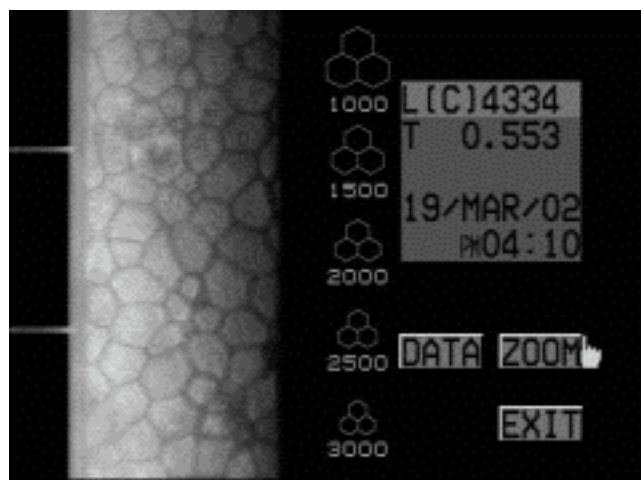


Figure 4 : présentation de l'écran d'un microscope spéculaire

C. Le microscope confocal

Son utilisation pour l'étude cornéenne fut initiée par Lemp et Cavanagh en 1985 et 1990. Grâce aux progrès de la technique, un laser confocal à faisceau d'illumination régulière est disponible, permettant une analyse de qualité et reproductible, fournissant une image histologique en conditions in vivo.

Il permet aussi un comptage cellulaire semi-automatique des cellules endothéliales³⁴.

Il est moins disponible, et donc, moins utilisé en pratique courante.

III La kératoplastie

1. Evolution des techniques chirurgicales

Historiquement, la réalisation de la première greffe cornéenne est attribuée à Reisinger, en 1824 et elle était de type lamellaire.

Le concept de kératoplastie lamellaire profonde s'est ensuite développé à la fin du XIX^{ème} siècle et c'est en 1914 que Anton Elsching rapporte le premier succès de kératoplastie lamellaire, pour un cas de kératite interstitielle.

Ensuite la technique de kératoplastie transfixiante s'est imposée majoritairement jusqu'à assez récemment, grâce à ses bons résultats notamment en termes de récupération visuelle et de par sa facilité de réalisation. Mais son taux élevé de rejets endothéliaux pouvant avoisiner les 20% et ses complications de chirurgie à globe ouvert viennent pondérer ses résultats^{4,25,32}.

En réponse à cette problématique, l'engouement pour les techniques de greffe lamellaire antérieure en cas de cornée à endothélium sain a augmenté depuis une vingtaine d'années, poussé par le perfectionnement des techniques chirurgicales qui assure une plus grande reproductibilité. En effet jusque là, le frein principal était celui de la difficulté de la dissection stromale, responsable de résultats visuels mitigés, le but étant d'atteindre une dissection prédescemetique avec un lit receveur le plus lisse possible^{25,90}.

Plusieurs techniques de dissections ont été mises au point :

C'est Archila, en 1985 qui amorce le mouvement en introduisant l'injection de 1cc d'air par une seringue à tuberculine de 26 gauge placée juste en avant de la membrane Descemet, facilitant l'ablation du stroma par une spatule ou des ciseaux⁸.

L'hydro-délinéation est décrite par Sugita et Kondo en 1994. Il s'agit après une trépanation partielle de $\frac{3}{4}$ de l'épaisseur cornéenne, d'injecter une solution saline dans le lit stromal par une aiguille 27 gauge puis de disséquer à la spatule, et de terminer par un peeling manuel des fibres résiduelles afin d'exposer la membrane de Descemet au niveau des 5mm centraux cornéens⁹⁰.

Melles développera la dissection limbique, une technique employant des lames de dissection lamellaire DORC introduites par un volet scléral limbique supérieur permettant une dissection de 90 à 95% de l'épaisseur cornéenne, en utilisant la « réfection spéculaire » produite par la présence d'air en chambre antérieure. Il s'agit d'une technique difficile et 14 à 25% de perforations descemetiques sont rapportées dans les études²⁴.

En 2000 Anwar et Teichmann vont décrire la technique de la Big-Bubble basée sur le clivage à l'air du plan descemet-stromal^{5,90}. Après trépanation partielle cornéenne, on introduit dans le stroma sur 3 à 4 mm une aiguille 30 gauge pour y injecter de l'air qui va jouer le rôle de séparateur entre les fibres stromales et de membrane de Descemet. Après réalisation d'une paracentèse pour diminuer la pression en chambre antérieure, on effectue alors une kératectomie superficielle par une lame de Crescent puis avec un couteau à 45° on rompt le toit de la Big-bubble. Ensuite les ciseaux de Vanna sont utilisés pour diviser le stroma restant en 4 quadrants, idéalement.

2. Conservation, analyse endothéliale et sélection des greffons

En France la méthode de conservation des greffons la plus répandue est l'Organoculture. C'est celle employée à la banque multi-tissus de Nantes (BMT) et donc celle que nous allons détailler, ainsi que sa méthode de comptage endothéliale. Il s'agit d'une méthode bien documentée et permettant une sécurité microbiologique et une qualité du tissu conservé, autorisant le stockage des cornées pendant 4 à 5 semaines^{7,65}.

a. L'Organoculture

Elle est introduite en Europe par Sperlingen 1978 qui ajoute à la solution initiale élaborée par Doughmann, du dextran T500 afin de diminuer l'œdème du greffon. Il s'agissait d'un dextran dont le poids moléculaire est dix fois supérieur à celui de l'ancien dextran. Mais si les résultats des greffes étaient bons, les études ultérieures ont montré que ce dextran était ingéré par les cellules cornéennes et possédait une certaine toxicité.

Cette constatation a permis des modifications techniques, et ainsi, à l'heure actuelle, la conservation s'effectue en 2 phases : phase de stockage dans un milieu de Doughmann, la plus longue suivie d'une courte phase de déturgescence dans le milieu de Sperling^{7,91}.

Les milieux de conservations contiennent du sérum de veau fœtal irradié d'origine australienne : oui c'est noté sur les docs que m'a fourni la BMT, des acides aminés essentiels et non essentiels, des vitamines et électrolytes, de la pénicilline et streptomycine, du tampon HEPES, de bicarbonate et du rouge phénol, et donc du dextran en plus dans le milieu de déturgescence (respectivement CorneaMax et CorneaJet, laboratoire Eurobio, utilisés à la BMT de Nantes). Le milieu est maintenu à un pH à 7,25 et à une osmolarité de 320 ± 20 mOsm/kg H₂O.

Pendant cette phase d'Organoculture, la fonction de pompe endothéliale est altérée d'où l'utilisation du dextran, agent osmotique, utilisé quelques heures avant la greffe pour permettre au chirurgien de disposer d'un greffon d'épaisseur proche de la normale.

Ensuite, dans les 48 premières heures post opératoire, son effet régresse et un oedème du greffon apparaît qui va se résorber petit à petit avec la remise en fonction de la pompe endothéliale.

Par ailleurs, la perte cellulaire moyenne, par accroissement de l'apoptose, induite par la conservation en Organoculture est estimée entre 11 et 20% pour une durée de stockage de 1 à 3 semaines. Cette déperdition augmente avec la durée de conservation (7.5% à 10 jours pour 18% après 30 j)⁹⁴ ; ce qui schématiquement revient à une perte endothéliale de 1% par jour de conservation^{79,66}.

L'organoculture modifie aussi la morphologie cellulaire : polymégathisme(anisocytose) , pléomorphisme, figures de rosette et excentration du noyau témoignent des processus mis en place pour assurer la continuité de la mosaïque endothéliale

De ce fait, en organoculture, le contrôle endothélial doit s'effectuer aussi avant la mise en déturgescence.

b. Le contrôle endothélial du greffon

Il est réalisé sous microscope à l'aide d'une coloration du greffon en l'immergeant dans une solution isotonique de bleu Tryptan à 0,3% pendant une minute pour marquer les cellules mortes puis dans un bain de sérum physiologique pendant trois minutes afin de dilater les espaces intercellulaires^{66,40,50}.

Le greffon est ensuite placé dans une boîte de pétri stérile et examiné au microscope pour calcul de la densité cellulaire.

La procédure nantaise est la suivante :

- Notification de la régularité, du nombre de cellules mortes, de la présence de plis de la membrane de Descemet
- comptage du nombre de cellules endothéliales à l'aide d'une grille calibrée de 1mm², placée dans les objectifs du microscope(*Figure 5*), et selon la formule suivante :

$$\text{Nombre de cellules/mm}^2 = [(A1 \times B1) + (A2 \times B2) + (A3 \times B3) + (A4 \times B4)] / 4 \times 25$$

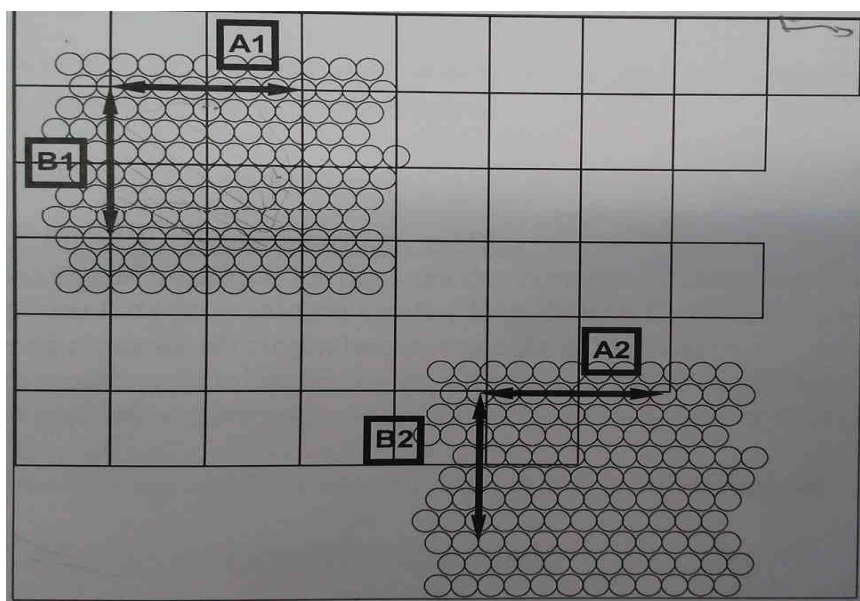


Figure 5 : grille calibrée utilisée pour le comptage endothélial par la BMT

On compte le nombre de cellules entières et une cellule coupée sur deux aux extrémités. Ce contrôle endothélial est réalisé à $J10 \pm 2$ après prélèvement et avant la mise en déturgescence.

Les critères de qualité pour valider le greffon ont été définis par Pels en 1993⁷ :

- Densité endothéliale $> 2000 \text{ C/mm}^2$
- Mosaïque cellulaire continue
- Perte cellulaire au cours de la conservation $< 20\%$
- Absence de gouttes groupées ou nombreuses

A la BMT de Nantes, la sélection des greffons selon le type de greffe pouvant être réalisé est basée sur les principes suivants :

Densité cellulaire (C/mm ²)	>2500	entre 2000 et 2500				Entre 1400 et 2000	
Cellules mortes (%)	<2%			>2%		<2%	>2%
Dystrophie endothéliale	Non	Non	Oui	Non	Oui	Oui ou non	Oui ou non
Type de greffe autorisés	Tous types de greffes	Greffe endothéliale	KLP	KLP	KLP	Greffe tectonique ou KL superficielle	Greffon récusé

B MATERIELS ET METHODES

Notre travail est une étude rétrospective portant sur une série de kératoplasties effectuées chez des patients présentant un kératocône, entre 2000 et 2010 dans le service d'ophtalmologie du Centre Hospitalo-Universitaire de Nantes.

91 kératoplasties au total ont été recensées.

a. Les critères d'inclusion sont:

- le diagnostic de kératocône au stade chirurgical
- la disposition des mesures des valeurs de spéculaire au minimum à 24 mois post opératoire
- l'absence d'autre procédure chirurgicale associées ou secondaire (extraction cataracte par exemple)
- l'absence de pathologie oculaire associée telle que des anomalies rétinienne ou du nerf optique, ou encore d'atteinte des voies visuelles

b. On a recueilli pour chaque cas :

- en préopératoire : les antécédents généraux et ophtalmologiques, l'âge du diagnostic du kératocône, le type de correction optique, la meilleure acuité visuelle corrigée (MAVC), le stade du kératocône, la pression intra-oculaire, l'épaisseur cornéenne centrale, la densité endothéliale cornéenne, la topographie cornéenne.
- en ce qui concerne la greffe : l'âge du sujet, le diamètre de trépanation du greffon, les caractéristiques du greffon comportant l'âge du donneur, la densité endothéliale, et la durée de conservation ; et enfin la procédure de greffe appliquée entre kératoplastie transfixiante et kératoplastie antérieure lamellaire profonde
- en post opératoire immédiat : l'administration ou non de corticoïdes sous forme de bolus de Méthylprednisolone journaliers pendant trois jours et la durée d'hospitalisation
- en post opératoire à 4 mois, 12 mois, et au temps du suivi maximum : la MAVC, la pression intraoculaire, les valeurs de pachymétrie centrale et du spéculaire, ainsi que la topographie.
- Dans la durée de suivi post opératoire : les valeurs de densité endothéliale fournies à chaque contrôle, la durée de l'administration des corticoïdes locaux, la date d'ablation du dernier point, durée de l'obtention de l'acuité visuelle maximale, le nombre de consultations hospitalières et d'éventuelles ré-hospitalisations et enfin la survenue de complications.

L'acuité visuelle est mesurée en décimale selon l'échelle de Monoyer, puis a été convertie en unité d'échelle logarithmique de l'angle minimum de résolution (LogMAR)

La mesure de l'épaisseur cornéenne centrale a été effectuée par les pachymètres contact à ultrasons Tomey SP-5000 et SP-100.

La densité endothéliale est obtenue avec le microscope spéculaire SP 2000P, Topcon (Tokyo, Japon) Les mesures sont effectuées selon la méthode d'analyse simplifiée (sélection de 10 cellules dans une aire rectangulaire)

Le vidéotopographe utilisé est un topographe de type Placido, OPD-scan de Nidek, et les valeurs de kératométries simulées (SimK1 et SimK2) recueillies.

Le stade du kératocône correspond à celui de la classification de Krumeich.

Enfin, les complications retenues sont diverses : Seidel précoce, lâchage de suture, décollement descemetique en cas de kératoplastie antérieure lamellaire profonde, hypertonie oculaire, abcès cornéen, retard de cicatrisation, astigmatisme géant (>6 dioptries)

c. Les procédures chirurgicales

Les patients sont répartis en deux groupes selon la procédure chirurgicale employée, kératoplastie transfixiante ou kératoplastie antérieure lamellaire profonde. Toutes sont effectuées sous anesthésie générale.

- Pour la kératoplastie transfixiante il s'agit d'une procédure standardisée.

La trépanation de la cornée du receveur était effectuée au trépan de Hanna ou de Barron et celle du donneur, de même, était réalisée sur chambre antérieure artificielle, soit par voie épithéliale au trépan de Hanna en iso-diamètre (diamètre de trépanation receveur égal au diamètre de trépanation donneur), soit par voie endothéliale au trépan de Barron (diamètre donneur supérieur de 0,25mm par rapport au receveur).

La suture du greffon était conduite sur viscoélastique en chambre antérieure avec 8 points séparés et un surjet de 16 passages de monofilament nylon 10.0

- Pour la kératoplastie antérieure lamellaire profonde, la procédure était la suivante. :

Avant la description de la technique de la Big-Bubble, une dissection stromale par hydrodélinaison du plan endothélio-descemetique réalisée sous contrôle visuel par bulle d'air en chambre antérieure, selon la description de Sugita et Kondo était effectuée, puis ensuite la technique de la Big-Bubble a été appliquée.

On débutait par une dissection intrastromale profonde manuelle au couteau Crescent après trépanation stromale antérieure non transfixiante des deux tiers de l'épaisseur cornéenne au trépan de Hanna. Ensuite, une boutonnière punctiforme était réalisée dans le stroma profond permettant d'introduire dans les fibres lamellaires postérieures une aiguille 30G biseau vers le bas, montée sur une seringue remplie d'air, injecté avec une pression brève et forte de façon à décoller la Descemet et à la séparer du résidu de stroma profond. L'espace ainsi créé était ensuite rempli d'une substance visco-élastique afin de compléter la kératectomie aux ciseaux de Katsin droit et gauche.

Le greffon trépané (par trépan de Barron ou de Hanna) bénéficiait ensuite d'un pelage descemétique à l'aide d'une pince de Trautmann courbe et de microsponges puis suturé avec 8 points séparés et un surjet de 16 boucles de monofilament nylon 10/0.

En cas de rupture étendue perte-opératoire du plan endothélio-descemétique, la chirurgie était convertie en technique transfixiante classique par complément de trépanation au moyen de ciseaux de Katsin. Ces patients étaient alors inclus dans le groupe KP.

Tous les greffons cornéens proviennent de la banque multi-tissus du Centre Hospitalo-universitaire de Nantes conservés en organoculture à +31 °C et délivrés selon les critères de qualité endothéliale et de sécurité sanitaire réglementaires ; avec une mise en déturgescence 24 heures au minimum avant la greffe.

d. Analyses statistiques

La comparaison des données des deux groupes selon la procédure chirurgicale a été effectuée par les tests de Student ou de Wilcoxon pour les variables quantitatives et par ceux du chi² de Fisher's pour les variables qualitatives.

Les statistiques ont été effectuées avec le logiciel R (R Development Core Team (2011). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0)

Le niveau de significativité statistique est défini par une valeur de $p < 0,05$.

Pour calculer la survie du greffon nous avons utilisé la modélisation bi-exponentielle décrite par Armitage³³ et reprise par Borderie⁸⁷ dont la formule est :

Densité cellulaire endothéliale = $a \times \exp(-b \times \text{time}) + c \times \exp(-d \times \text{time})$
($a=20.15$ $b=4.25$ $c=79.85$ $d=0.0094$)

Les estimations des moindres carrés ont été utilisées pour calculer les coefficients des équations différentes pour chaque patient. Ensuite, un modèle de régression conjointe a été installé sur la survie et la densité endothéliale comme décrit précédemment³³

C RESULTATS

91 yeux greffés pour kératocône ont été inclus divisés en deux groupes : 50 ayant bénéficiés d'une kératoplastie transfixiante soit 54,95% (groupe KP)et 41 d'une kératoplastie antérieure lamellaire profonde soit 45,05% (groupe KLP)

I. Caractéristiques préopératoires des patients(*tableau 1*)

68 hommes (74,7%) pour 23 femmes (25,3%)

14 patients soit 15 % des patients présentaient des antécédents généraux d'allergie et un patient présentait une trisomie 21.

L'âge moyen de diagnostic du kératocône est de $21 \pm 7,5$ ans dans la population totale ; $20 \pm 6,8$ ans pour le groupe KP et $22,8 \pm 8,2$ ans pour le groupe KLP, différence non significative.

L'âge moyen à la greffe est de 35 ± 13 ans dans la population totale ; respectivement de $34,6 \pm 14$ ans et 36 ± 12 ans pour les groupes KP et KLP.

La répartition des moyens de corrections optique est la suivante , pour l'ensemble de la population : 47,73% de lunettes, 39,77% de lentilles rigides perméables aux gaz (LRPG), 1,14% de lentilles souples et 11,36% sans port de correction. On remarque une prédominance du port de LRPG dans le groupe KLP et celle du port de lunettes dans le groupe KP sans qu'une différence statistiquement significative soit retrouvée.

La MAVC est alors en moyenne de -0,70 logMAR, identique dans les 2 groupes.

Au moment de la greffe, le stade 4 du kératocône était majoritaire, à 73,6%, pour 24% de stade 3 et seulement 2,2% de stade 2 sans différence statistiquement significative entre les 2 groupes (respectivement 78 % et 68% de stade 4 ; et 18% et 32% de stade 3 pour les groupe KP et KLP)

A noter, l'absence d'hypertonie oculaire dans les 2 groupes.

Les groupes sont similaires pour leurs caractéristiques cornéennes sans aucune différence statistiquement significative pour les valeurs pachymétriques et de densité endothéliale.

	Total		KP		KLP		p
Nombre			50		41		
Latéralité	45 OD	46 OG	22 OD	28 OG	23 OD	18 OG	0,29
Age du diagnostic	21± 7,5		20±6,8		22,8 ± 8,2		0,28
Type de correction							0,093
Lunette	42		27		15		
Lentille souple	1		1		0		
LRPG	35		16		19		
Aucune	10		3		7		
Non renseigné	3		3		0		
Age à la greffe	35 ± 13		34,6±14		36± 12		0,47
Stade du kératocône							0,37
Stade 2	2		2		0		
Stade 3	23		9		14		
Stade 4	56		39		27		
PIO (mmHg)	11,8± 3,4		12,2± 3,4		11,4± 3,4		0,40
Pachymétrie (micron)	462± 83		472± 104		457± 67		0,82
Spéculaire (C /mm2)	2545± 533		2501± 460		2565± 569		0,67

Tableau 1 : synthèse des caractéristiques pré-opératoires des patients

II. Procédures per et post-chirurgicales et caractéristiques des greffons (Tableau 2)

Le diamètre moyen de trépanation du greffon est de 7,5 mm dans les 2 groupes.

Le groupe KP s'est vu prescrire significativement plus de bolus de corticoïdes en postopératoire, avec un taux de 61,22% contre 7,32% pour le groupe KLP.
La durée moyenne d'hospitalisation, à 4 jours, ne diffère pas entre les deux groupes.

Quant aux paramètres du greffon, les 2 groupes sont statistiquement comparables pour l'âge du donneur (54± 21ans pour KP et 62±20 pour KLP) et la durée de sa conservation (19,4± 5,5 versus 18,75± 5)

Mais on met en évidence un taux de densité endothéliale du greffon plus élevé significativement dans le groupe KP, taux moyen de 2937± 488 contre 2442±318 pour les KLP.

	Total	KP	KLP	p
Diamètre greffon en (mm)	7,5	7,5	7,5	0,14
Administration de bolus de CTC (%)	36,67	61,22	7,32	<0,0001
Durée hospitalisation (jour)	4	4	4	0,18
Age donneur	58± 21	54± 21	62± 20	0,029
Durée de conservation du greffon (jour)	19± 5	19,4± 5,5	18,75± 5	0,45
Densité endothéliale (C/mm2)	2714± 486	2937± 488	2442± 318	<0,001

Tableau 2 : synthèses des caractéristiques chirurgicales et des greffons

III. Résultats visuels(Figure 6)

NB : les délais post-opératoires sont abrégés en M pour mois + suivi du nombre de mois, avec un Max pour le pointage maximal)

L'acuité visuelle moyenne à 12 mois est de 0,18 logMar pour le groupe KP et 0,17 logMar pour le groupe KLP sans différence statistiquement significative;et à la dernière visite effectuée elle est de 0,14 dans les 2 groupes. (Tableau 3)

De même on ne retrouve pas de différence significative en termes de gain d'acuité visuelle entre les 2 groupes à 4, 12 mois post opératoire.(Tableau 4)

A 12 mois, il est de - 0,62 unités logMAR pour les KP et de -0,66 unités logMAR pour les KLP, sans différence significative.

MAVC (logMAR)	Total	KP	KLP	p
Préopératoire	0,78± 0,4	0,79± 0,4	0,77± 0,38	0,59
M+4	0,34± 0,26	0,33± 0,26	0,35± 0,3	0,15
M+12	0,18± 0,18	0,18± 0,18	0,17± 0,27	0,77
MMax	0,14± 0, 13	0,14± 0,13	0,14 ± 0,13	0,97

Tableau 3 : valeurs des acuités visuelles lors du suivi

Gain en AV	KP	KLP	
M+4	-0,57± 0,39	-0,49± 0,39	>0,33
M+12	-0,62± 0,38	-0,66± 0,37	>0,38

Tableau 4 : gain d'acuité visuelle dans les deux sous-groupes à 4 et 12 mois post opératoire

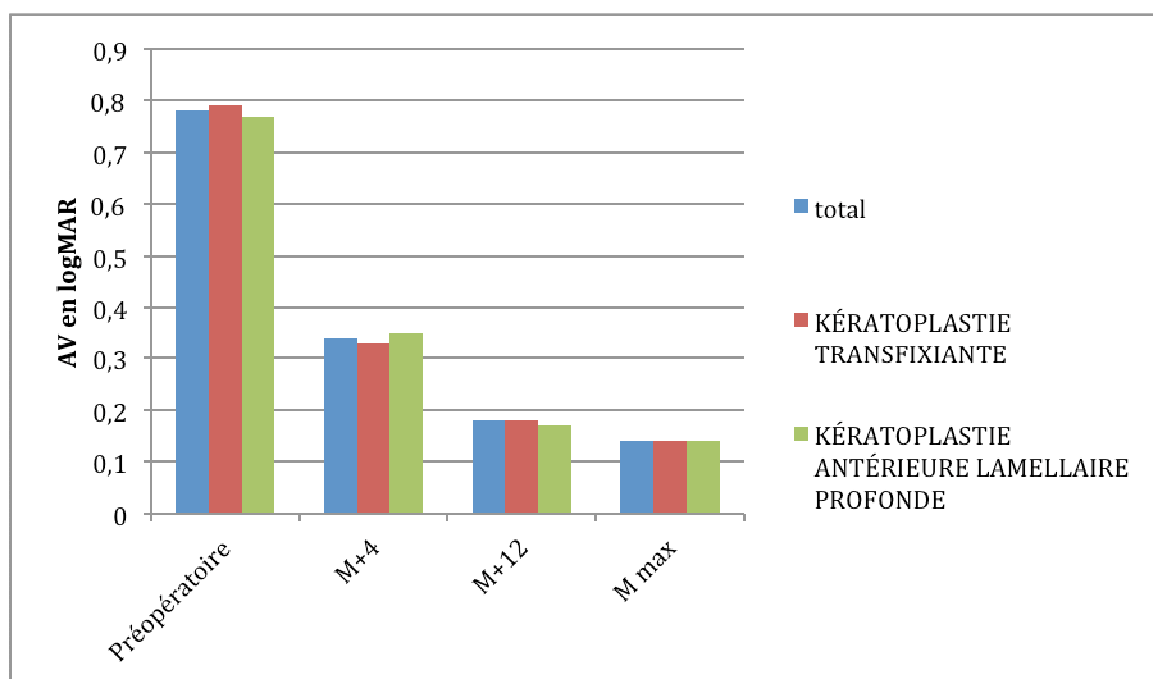


Figure6 : Répartition des acuités visuelles en logMAR

Par ailleurs le délai pour atteindre l'acuité visuelle maximale en post greffe (soit la vitesse de récupération maximale) est en moyenne de 15 mois pour la population totale, avec 13 mois pour KLP et 17 mois pour KP sans que cette différence soit statistiquement significative.

IV. Evolution de la densité endothéliale et survie du greffon

Notons au préalable que la présence d'opacité cornéenne n'a pas permis de mesurer cette densité chez tous les yeux en préopératoire, et que la durée du suivi post opératoire est disparate.

a. Taux de perte global et comparatif entre les 2 groupes

Le nombre de cellules endothéliales diffère significativement en postopératoire entre les groupes KP et KLP à 4, 12, 36 mois post opératoires, les valeurs étant systématiquement inférieures pour les KP. (Tableau 5)

Moyenne de la densité endothéliale en C /mm ²	Total		KP		KLP		p
	Effectif	min-max					
Préopératoire	91 2545±533	(1206-4081)	13 2501± 460	(1620-3000)	29 2565± 569	(1206-4081)	0,96
M+4	91 2093±572	(884-3250)	46 1907± 495	(884-3000)	38 2317± 583	(888-3250)	0,0003
M+12	91 1920±637	(562-3319)	49 1722± 540	(670-3319)	40 2126± 656	(562-3273)	0,002
M+36	30 1527±634	(600-2882)	20 1250± 401	(600-1879)	10 2080± 668	(1042-2882)	0,0009
M+96	11 996± 460	(495-1994)	9 820± 251	(495-1151)	2 1786± 294	(1578-1994)	0,045

Tableau 5 : valeurs des densités endothéliales jusqu'à 96 mois de suivi

On visualise une décroissance progressive de la densité cellulaire endothéliale dans les 2 groupes, mais par contre, les pentes différentes. (Figures 7 et 8).

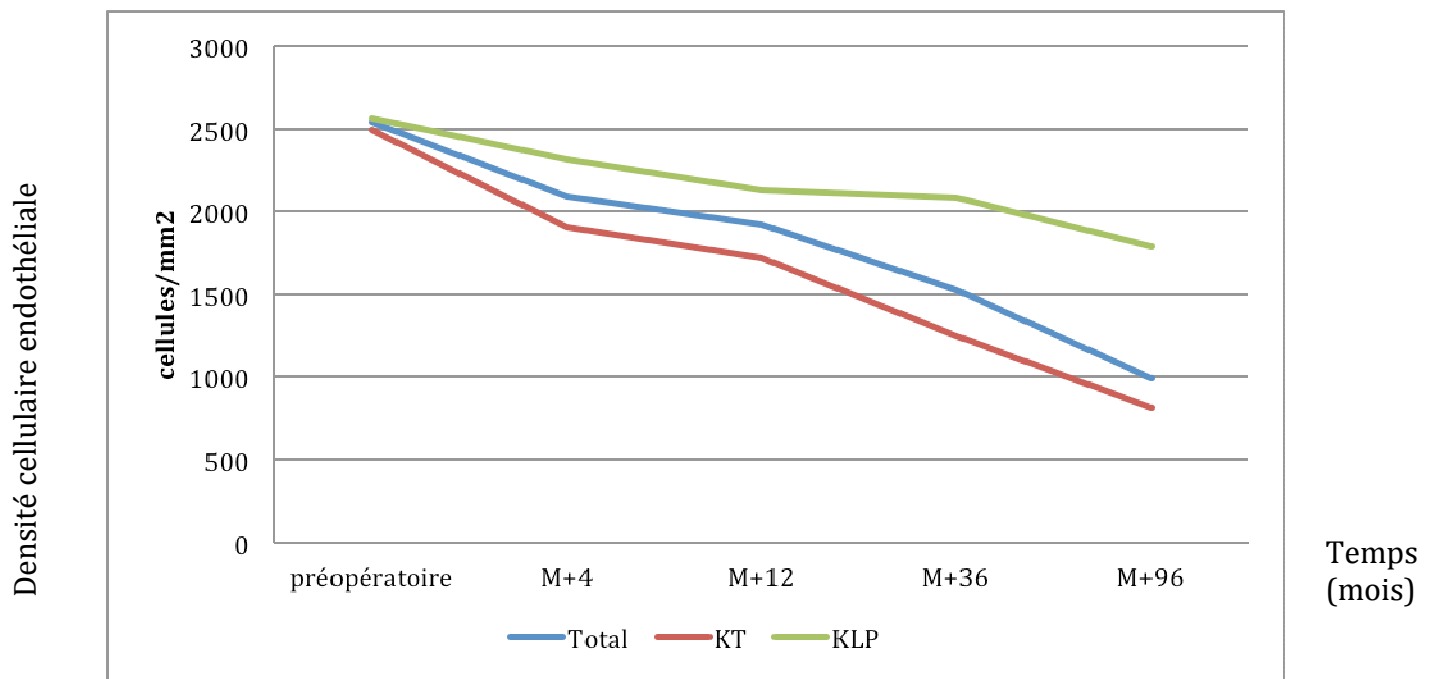


Figure 7 : Evolution de la densité cellulaire endothéliale dans les 96 mois post opératoire dans la population générale et les sous-groupes

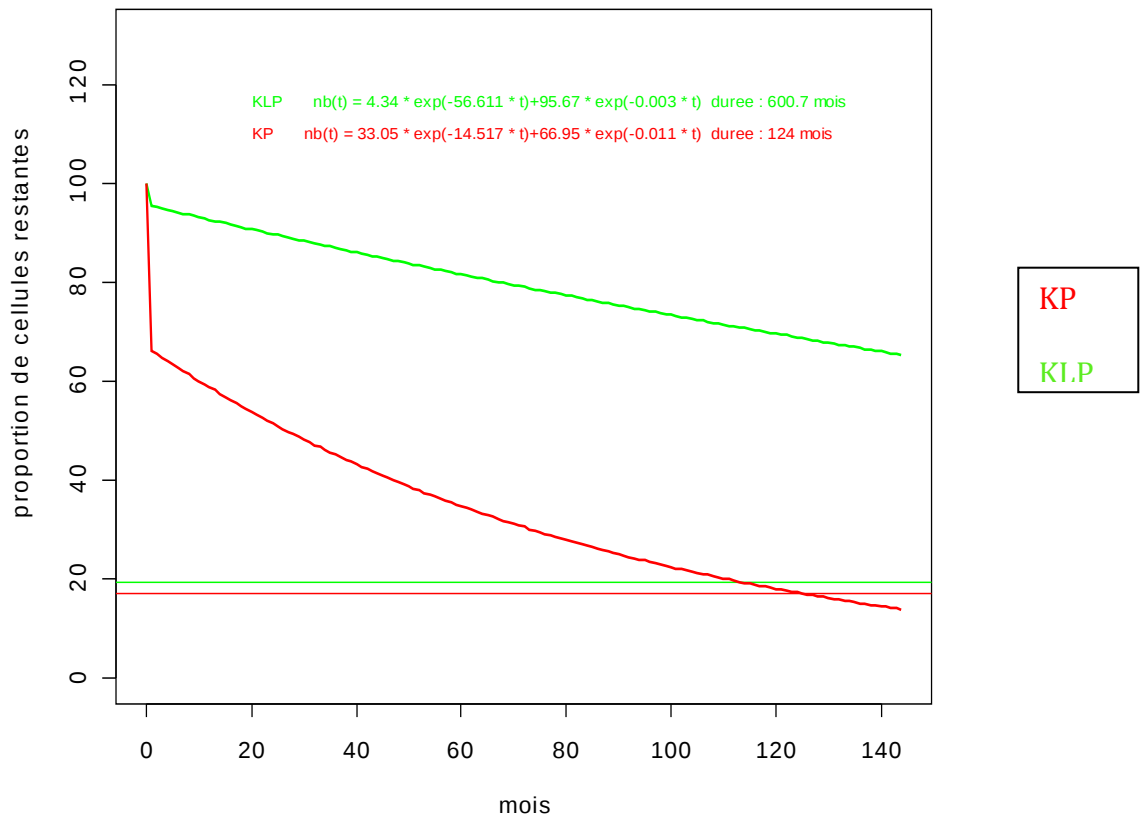


Figure 8 : Evolution de la densité cellulaire endothéliale dans les 2 groupes lors du suivi

De façon remarquable, l'évolution du taux de perte cellulaire diffère selon la procédure. On constate aisément que la perte initiale post opératoire est rapide et correspond à la phase majeure en terme de vitesse de perte pour les KP.

La première phase de perte est en post-opératoire immédiat. Elle est majeure, liée au stress chirurgical ; et surtout elle est nettement accrue pour les KP.

La seconde phase est une perte endothéliale en pente plus douce, progressive mais là encore on constate qu'elle est accélérée pour les KP.

Au bilan à un an, la perte cellulaire endothéliale est significativement moindre pour les KLP avec un taux de 8,9% contre 40,7% pour les KP ($p < 0,001$). De même le pourcentage de greffon perdant plus de 40% de leurs cellules au cours de la première année est significativement plus élevé dans le group KP. (Tableaux 6 et 7)

Perte endothéliale %	KP	KLP
M+4	32,8	4
M+12	40,7	8,9

Tableau 6 : taux de perte cellulaire endothéliale à M+4 et M+12 selon la procédure de kératoplastie
 $p < 0,001$

Procédure	<10%	Entre 10 et 20%	>20%
KP	6	6	7
KLP	0	4	44

Tableau 7 : distribution du niveau de taux de perte cellulaire endothéliale à M+12 selon la procédure de kératoplastie ($p < 0,001$)

b. Survie du greffon

On sait que la densité endothéliale requise pour assurer le maintien de la transparence cornéenne est de 500 C/mm² et on peut donc, partant de ce postulat, calculer une durée prédictive de survie du greffon.

A partir de nos données et après avoir individualisé deux composantes de la perte cellulaires : une première phase précoce de perte rapide et une deuxième phase tardive, on peut déterminer une prévision de durée de survie grâce au modèle biexponentiel. (Figure 9 et 10)

On retrouve alors pour notre série une durée de survie de 50 ans pour une KLP et 10,4 ans pour une KP.

Il s'agit, sur les graphiques, de la durée lors de l'intersection de la courbe de perte cellulaire endothéliale avec la ligne de seuil de viabilité de 500 cellules/ mm² (autour de 20% de cellules restantes)

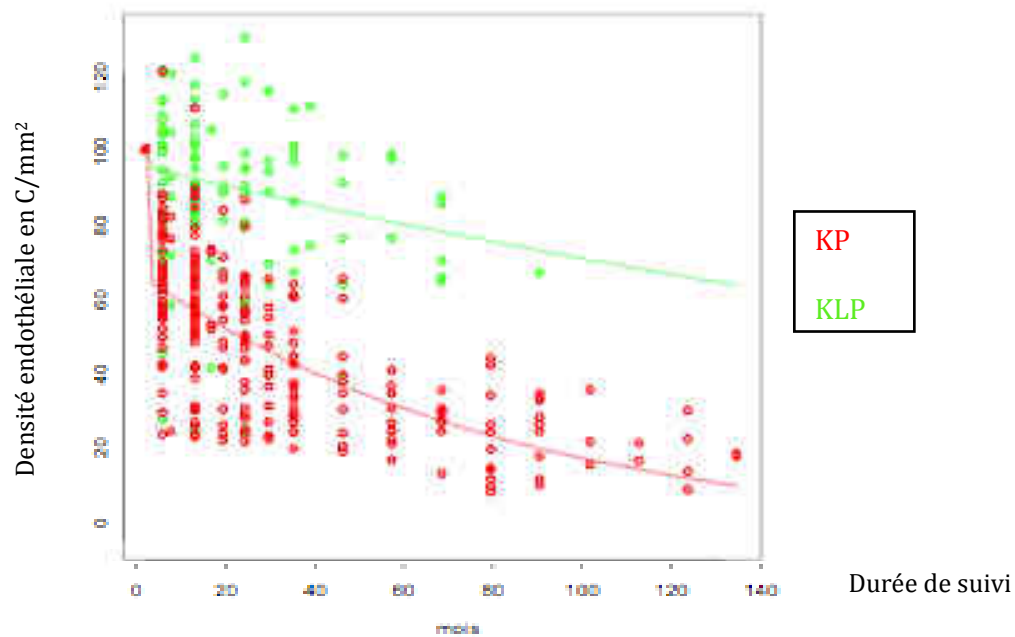


Figure 9 : représentation des densités endothéliales recueillies aux différents pointages de notre suivi avec les courbes de perte obtenue dans les deux sous-groupes

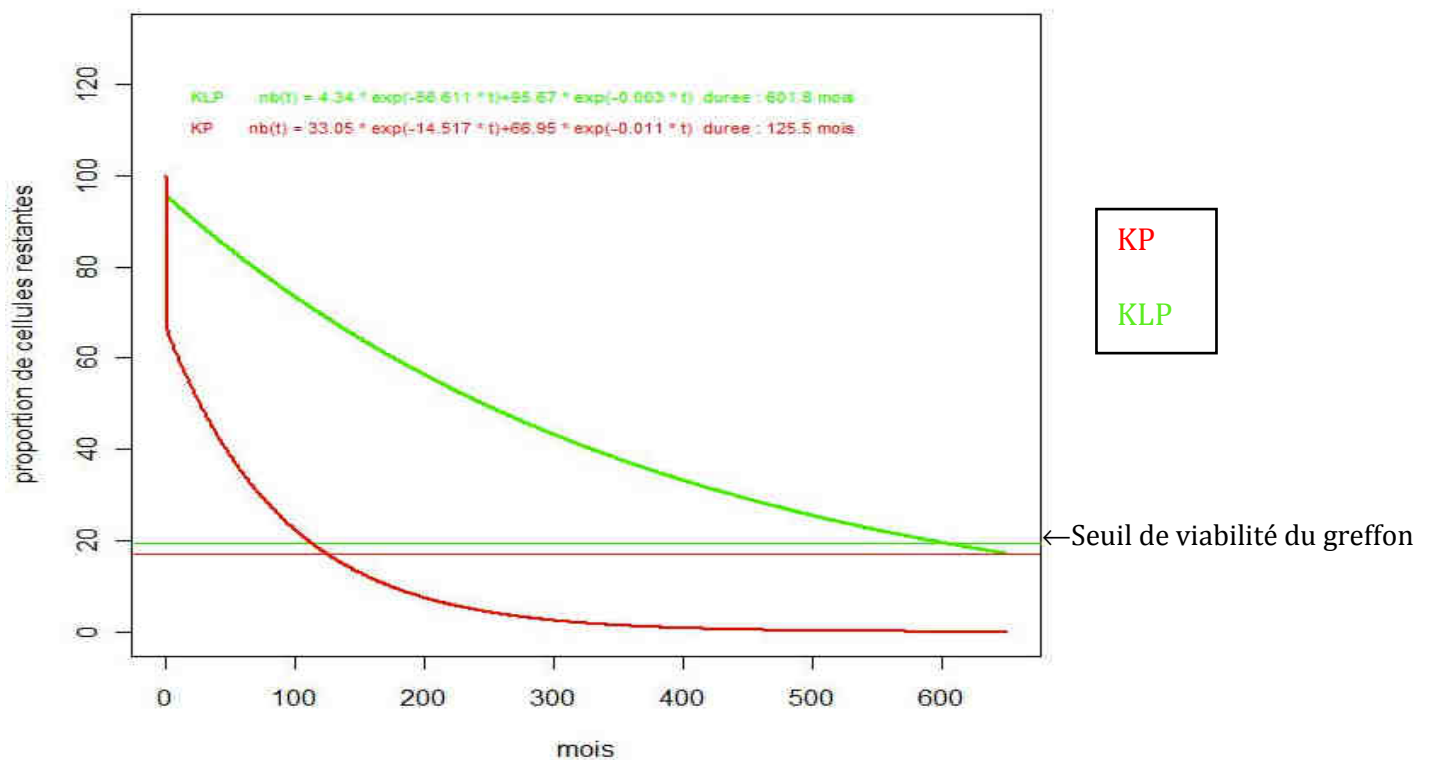


Figure 10 : courbes de survie des greffons obtenues par le modèle exponentiel selon la procédure

c. Influence du déroulement de la procédure chirurgicale pour les KLP

Nous nous sommes penchés sur l'influence de la réalisation technique chirurgicale sur le taux de perte dans le sous-groupe KLP.

Tout d'abord, nous avons divisé les KLP en 2 groupes selon l'année de réalisation de la greffe : avant et après 2005.

	Nombre	Perte<10%	Perte 10-20%	Perte>20%
Avant 2005	14	0	1	2
Après 2005	27	6	5	5

$p=0,125$

Les taux de perte ne diffèrent pas significativement au test de Fischer ($p=0,125$)

En l'illustrant autrement, on visualise sur le graphique si dessous que les courbes de la perte endothéliale dans le temps sont très proches, confirmant l'absence de différence selon la période de réalisation de la KLP (Figure 11)

La survie alors extrapolée ne diffère pas significativement entre les deux groupes (58,4 ans avant 2005 et 49 ans après 2005)

Notons que le nombre de conversion de KLP en KP est un biais à prendre un compte pour ce résultat.

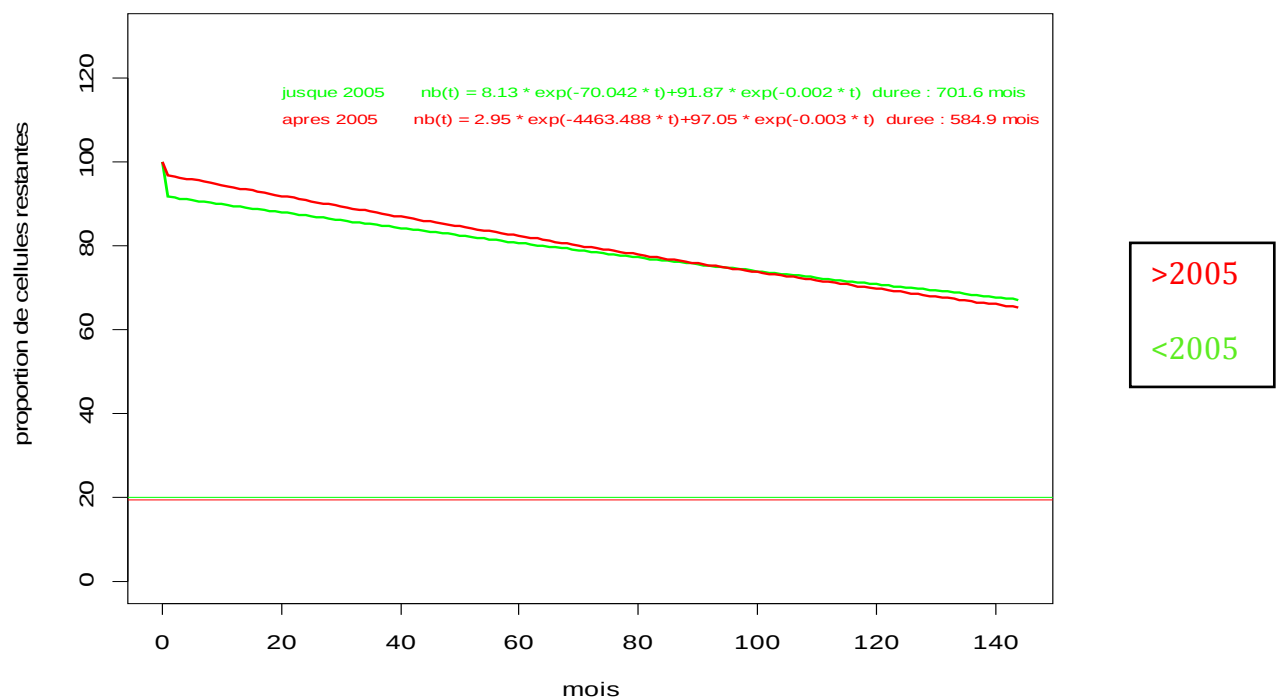


Figure 11 : courbe de la perte endothéliale selon l'année de réalisation de la KLP

Ensuite, nous avons regardé l'évolution endothéliale des KLP ayant présentées une micro-perforation descemetique en peropératoire.(Figure 12)

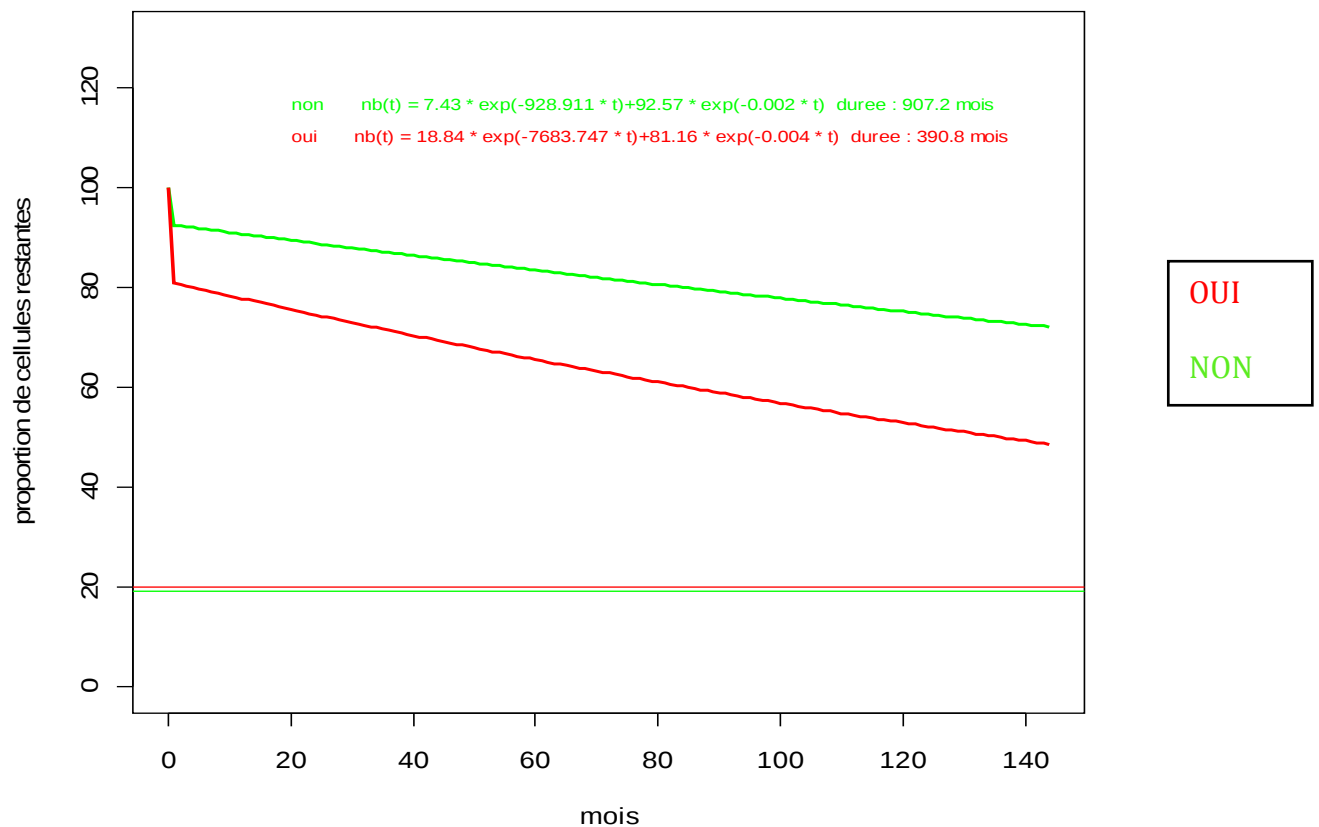


Figure 12 : courbe de la perte endothéliale selon la survenue ou non d'une microperforation descemetique peropératoire ($p=0,05$)

Le graphique met en exergue une perte significativement plus élevée dans le groupe ayant subi une microperforation ($p=0,05$).

Les durées de survie calculées secondairement diffèrent très nettement : 907 mois en l'absence de cette complication contre 390 mois en cas de microperforation.

Cette notion est confirmée par les données des taux de perte à un an : 13,17% en l'absence de perforation versus 24,63% en cas de perforation avec $p=0,005$ (Figure 13)

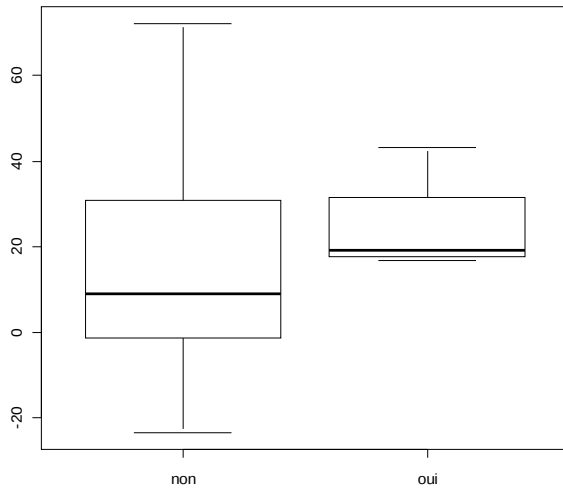


Figure 13 : boîtes à moustache des taux de perte cellulaire en % selon présence ou non d'une microperforation descemetique peropératoire

Par ailleurs, nous avons recherché si la présence d'un décollement descemetique post opératoire immédiat influait sur le profil de la perte cellulaire. C'est le cas pour 5 de nos patients, qui ont alors bénéficié d'une réinjection d'une bulle d'air en chambre antérieure. Malheureusement, le faible nombre de ces patients et le suivi maximum à 50 mois nous empêche d'exploiter cette donnée.

On s'est penché sur le sous-groupe des KLP qui à la fin de notre suivi présentent des densités endothéliales basses à moins de 1000/mm². (Figure 14) Chez les quatre patients concernés, il apparaît que pour trois d'entre eux, la perte est surtout importante initialement, ceux-ci ayant eu un décollement descemetique et une réinjection d'air en chambre antérieure en post opératoire immédiat (et deux d'entre eux avait eu une microperforation).

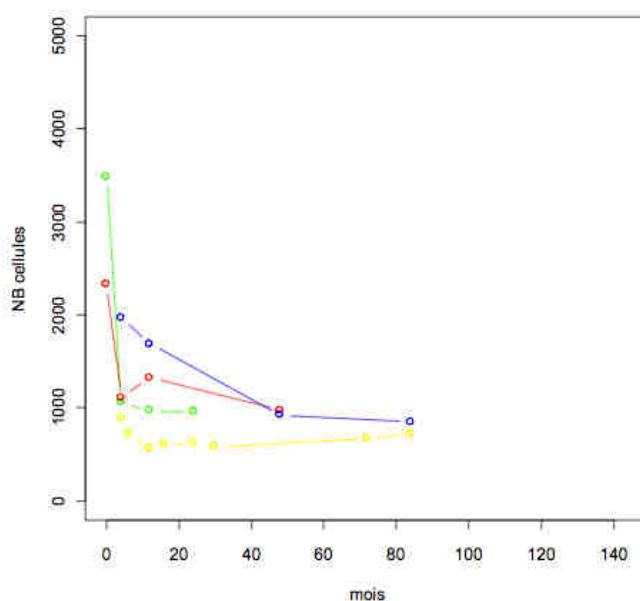


Figure 14 : courbes d'évolution des 4 KLP présentant une densité endothéliale <1000C/mm² à la fin du suivi

Enfin, il faut noter, que d'un point de vue quantitatif, le test de corrélation de Person entre la kératométrie préopératoire et le taux de perte endothéliale à un an n'est pas significatif ($r=0,30$ avec $p=0,11$)

d. Recherche de facteurs de risques dans la population totale

- Age du donneur :

En divisant la population en 4 groupes d'âge de taille comparable (comme détaillés sur la *Figure 15*), on constate que les moyennes de taux de perte à un an sont respectivement de 30,74 %, 31,6 %, 32,3 % et 21 % sans que ces différences soit significatives ($p=0,08$)

Les taux de survie calculés ne diffèrent pas significativement selon les tranches d'âges : 149 mois pour un âge de 0 à 47 ans, 194 entre 47 et 58 ans, 150 entre 58 et 77 ans et 203 après 77 ans. (*Figure 16*)

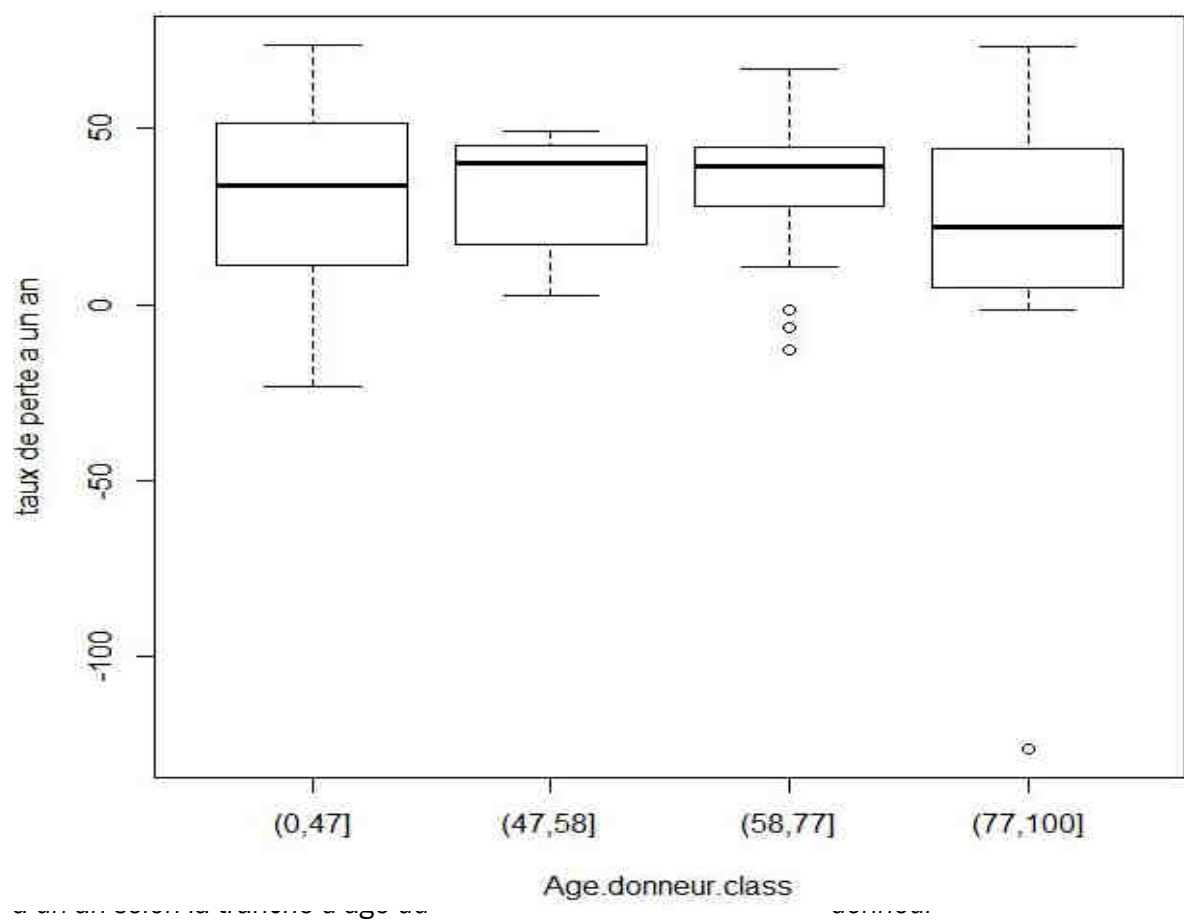


Figure 5 :

du
hélicole

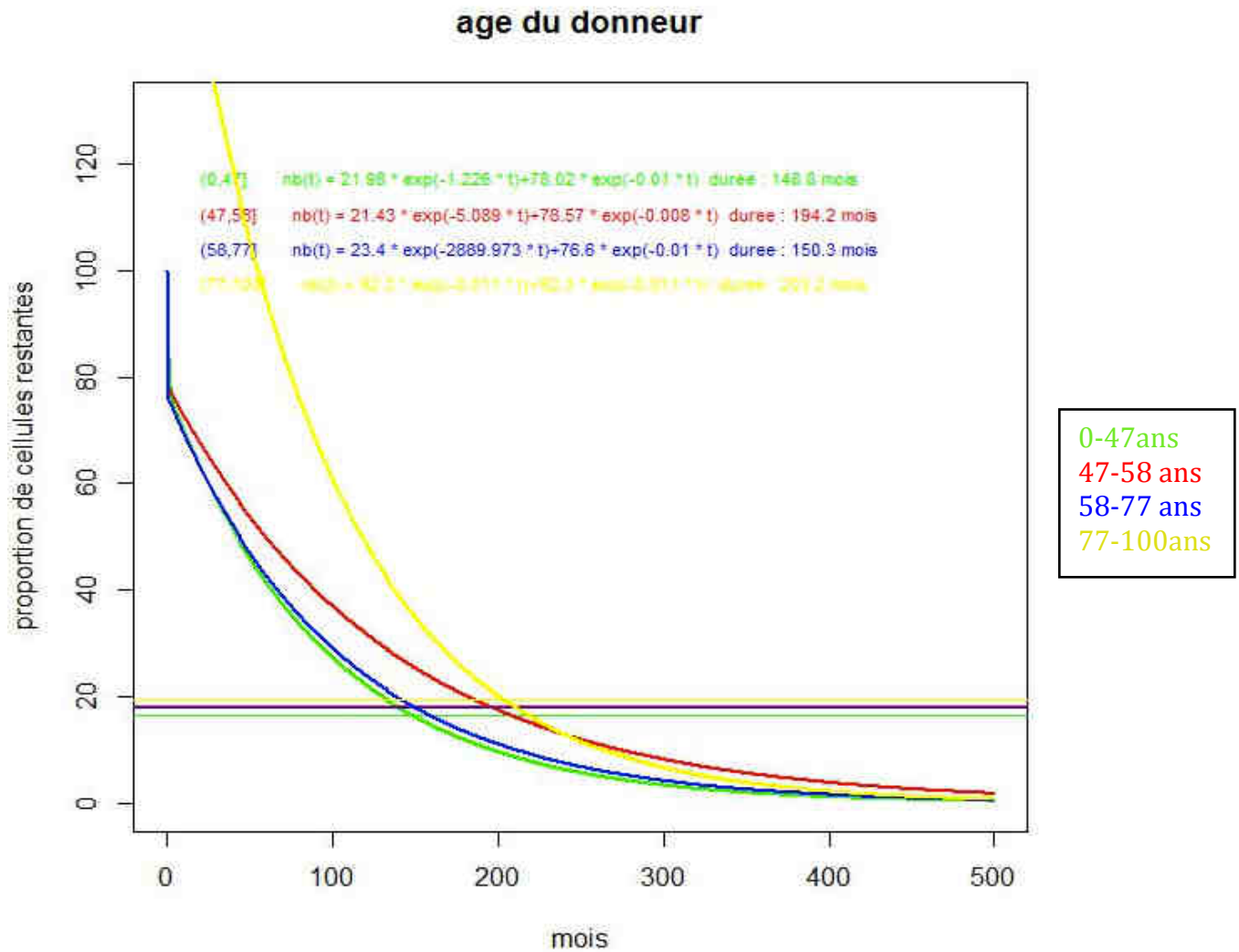


Figure 16 : courbes de survie des greffes selon les tranches d'âge du donneur

- Diamètre de greffe

Le taux de perte cellulaire à un an ne diffèrent pas significativement, s'établissant à 28,8% pour les diamètres 7,5mm, à 26,6% pour 7,75 mm et à 33% pour 8mm ($p=0,73$)(Figure 17)

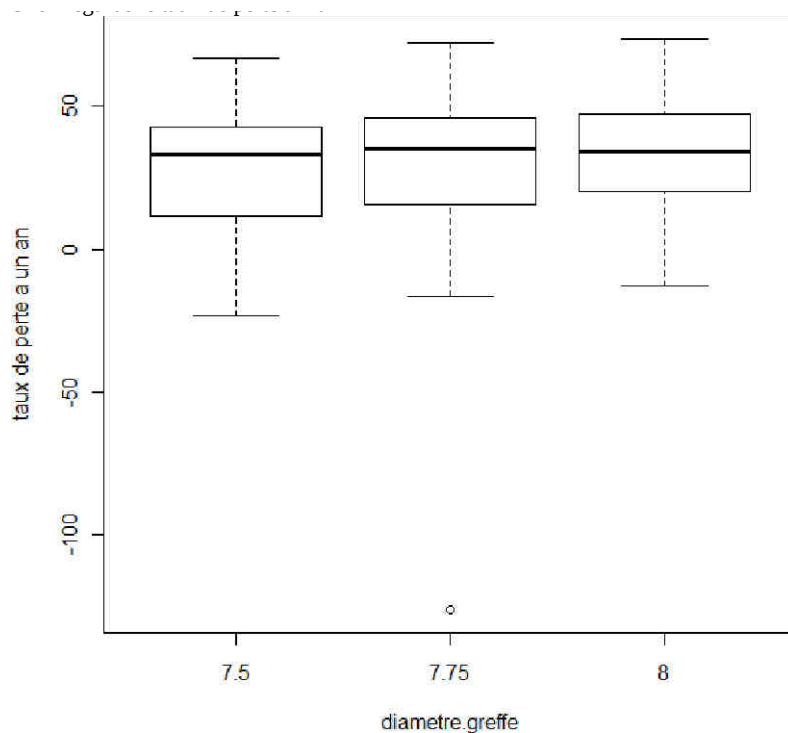


Figure 17 : boites à moustache du taux de perte endothéliale selon le diamètre du greffon

- Stade du kératocône

Les kératocônes greffés au stade 4 ont un taux de perte à un an significativement plus élevé que les kératocônes stade 2 et 3 avec des valeurs de 33,6% contre 18,8% ($p=0,04$) Par contre l  volution ultérieure et les durées de survie obtenues ne diff rent pas significativement (206 mois pour le stade 3 et 145 mois pour le 4) (Figure 18)

Ce résultat s expliquent par le biais de confusion suivant : la proportion de réalisation de KP est plus importante (quasiment deux tiers) que celle de KLP dans le groupe des stades 4.

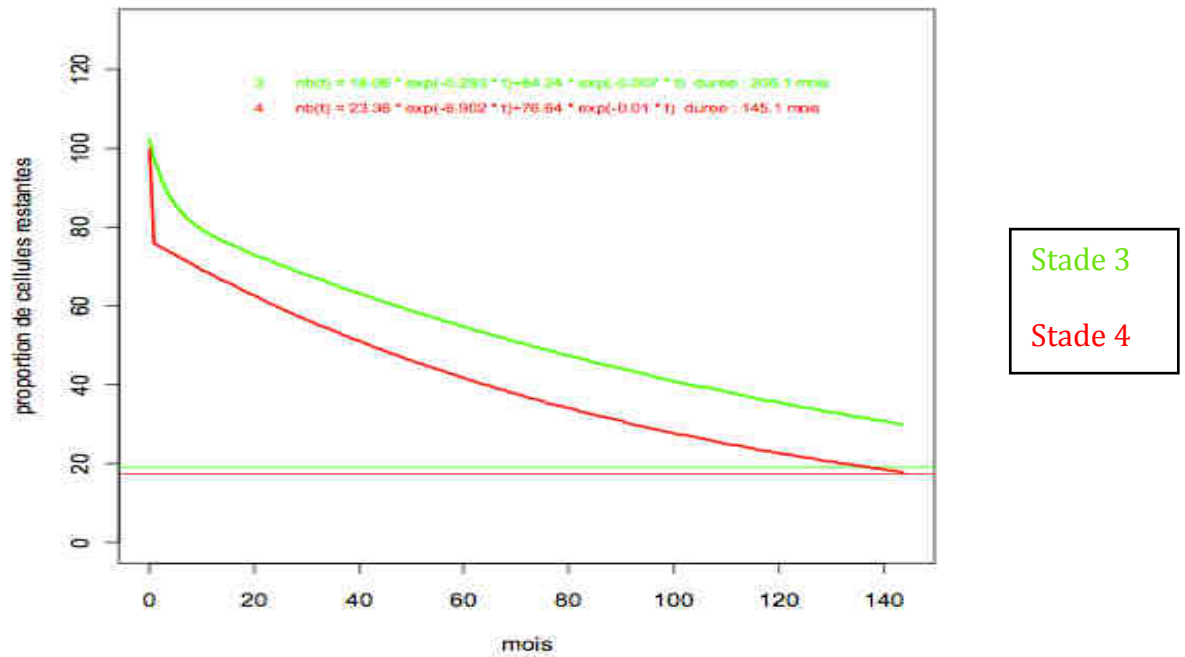


Figure 18 : courbes de survie des greffes selon le stade initial du kératocône

- Durée de conservation du greffon (Figure 19)

Nous avons réparti la population en 2 groupes selon la durée de conservation médiane : plus ou moins de 18 jours.

On constate que celle-ci n'a pas de conséquence significative, ni sur l'évolution de la densité endothéliale, à un an ni sur les courbes d'évolution, comparables ($p > 0,05$)

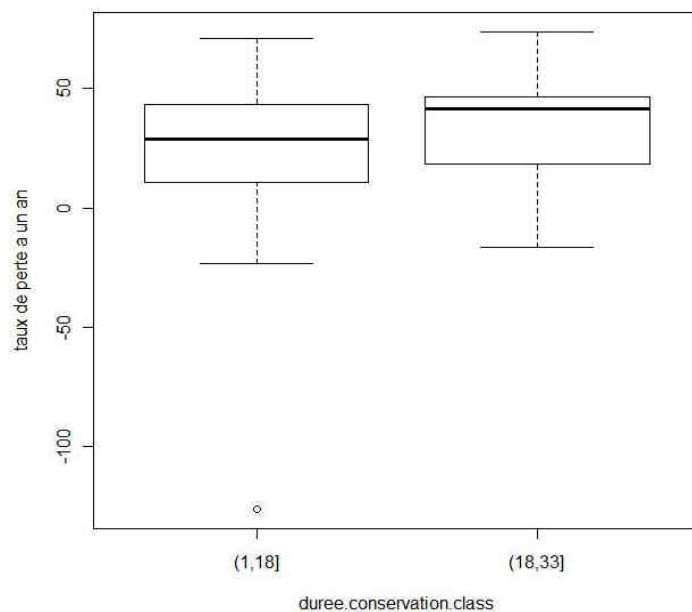


Figure 19 : représentation graphique du taux de perte endothéliale à un an selon le temps de conservation du greffon à la banque multi-tissus

- Nombre de cellules du receveur

Si on répartit la population receveuse en deux groupes, selon le nombre de cellules endothéliales préopératoires du receveur, en les séparant selon la médiane, ici de 2700 cellules, on constate dans un premier temps une différence importante sur l'évolution endothéliale ultérieure avec des survies de 279 mois si moins de 2700 C /mm² contre 146 mois seulement si supérieur.(Figure 20)

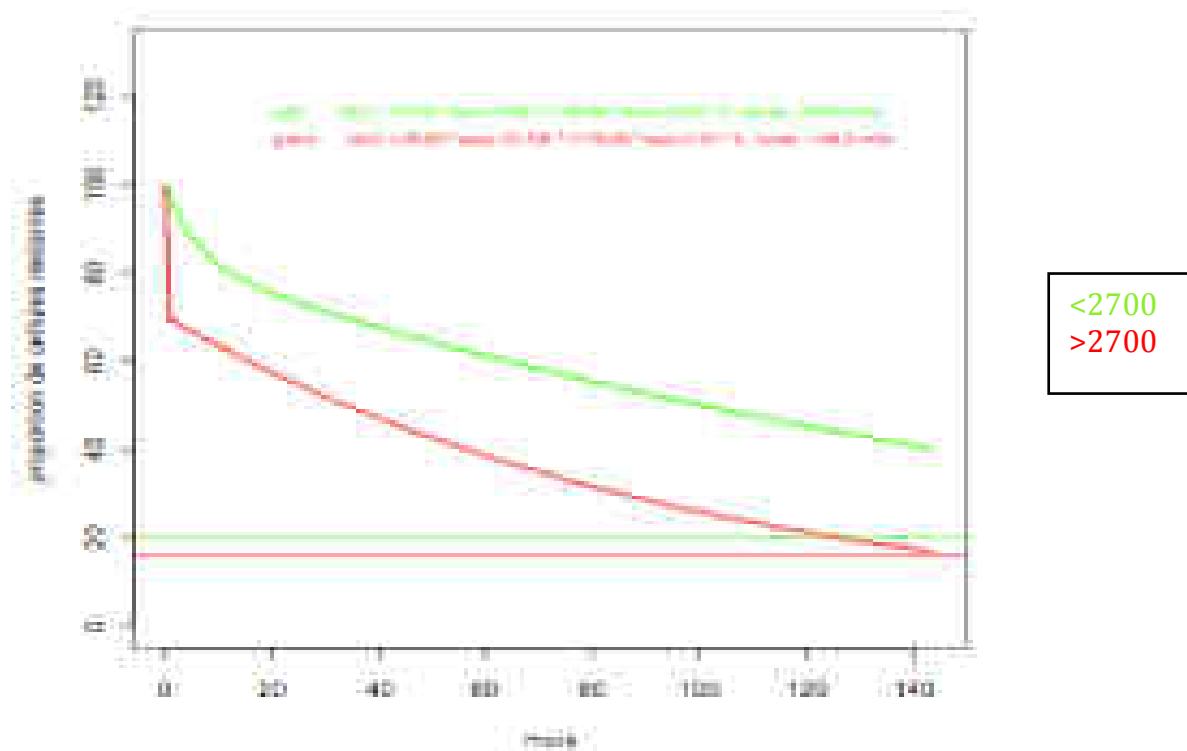
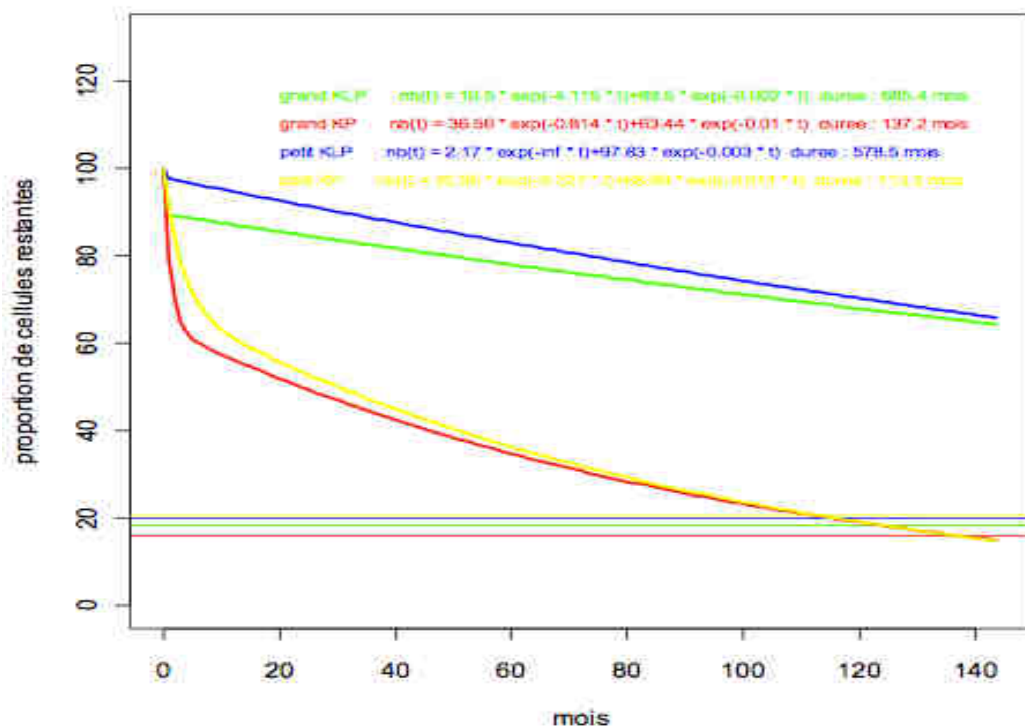


Figure 20 : évolution de la perte endothéliale selon le nombre de cellules du receveur en préopératoire en dessous ou au dessus de 2700 C /mm²

En fait, un s'agit d'un biais lié à la répartition KP /KLP dans les 2 groupes, et ce qui est observé est l'effet KP/KLP et non celui du nombre de cellules préopératoires du receveur. Il nous faut alors distinguer les 2 sous groupes. Une fois cette distinction opérée, il est constaté qu'il n'y a pas de lien significatif entre la perte endothéliale et le nombre de cellules du lit receveur. (Figure 21)

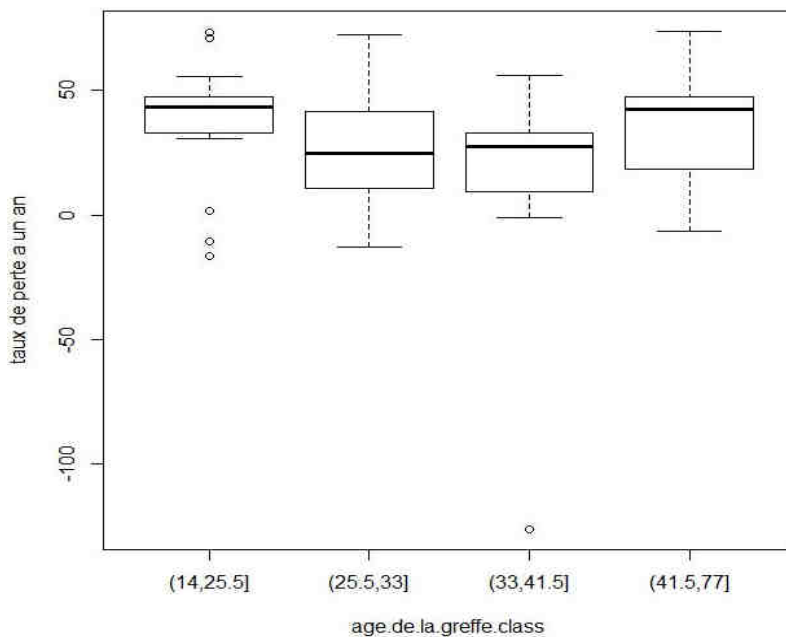


KLP<2700
KLP>2700
KP<2700
KP>2700

Figure 21 : évolution densité endothéliale en fonction du nombre de cellule endothéliale receveur en préopératoire (0,05)

- âge du receveur

Ajoutons que l'âge du receveur n'est pas corrélé à l'évolution endothéliale future, avec des taux de perte à un an et des survies obtenues comparables statistiquement selon les tranches d'âge. (Figure 22)



Les taux de survie calculés sont de :

177mois entre 14 et 25,5 ans
249 mois entre 25,5 et 33 ans
119,8 mois entre 33 et 41,5 ans
130 mois entre 41,5 et 77a ns

Figure 22 : représentation graphique du taux de perte endothéliale à un an selon l'âge du receveur

V .La pachymétrie

Les indices pachymétriques montrent une augmentation statistiquement significative de l'épaisseur cornéenne entre la cornée préopératoire et le greffon à 4 mois ainsi qu'à 12 mois ($p < 0,05$), résultat attendu étant donné que le kératocône se caractérise par un amincissement cornéen.

Par ailleurs une différence significative de l'épaisseur est notée entre les 2 groupes, à 12 mois, avec un greffon plus fin dans le groupe KP. (Tableau 8)

On note également une tendance à l'épaississement cornéen sur la durée pour les kératoplasties transfixiantes ($p < 0,05$ entre M+12 et Mmax)(Figure 23)

	Total	KP	KLP	p
Préopératoire	462± 83	472± 104	457± 67	0,82
M+4	530± 53	524± 53	538± 53	0,17
M+12	541± 54	528± 50	556± 54	0,017
Mmax	564± 50	570± 53	558± 44	0,44

Tableau 8 : valeurs pachymétriques aux différents pointages du suivi dans la population totale et les sous-groupes

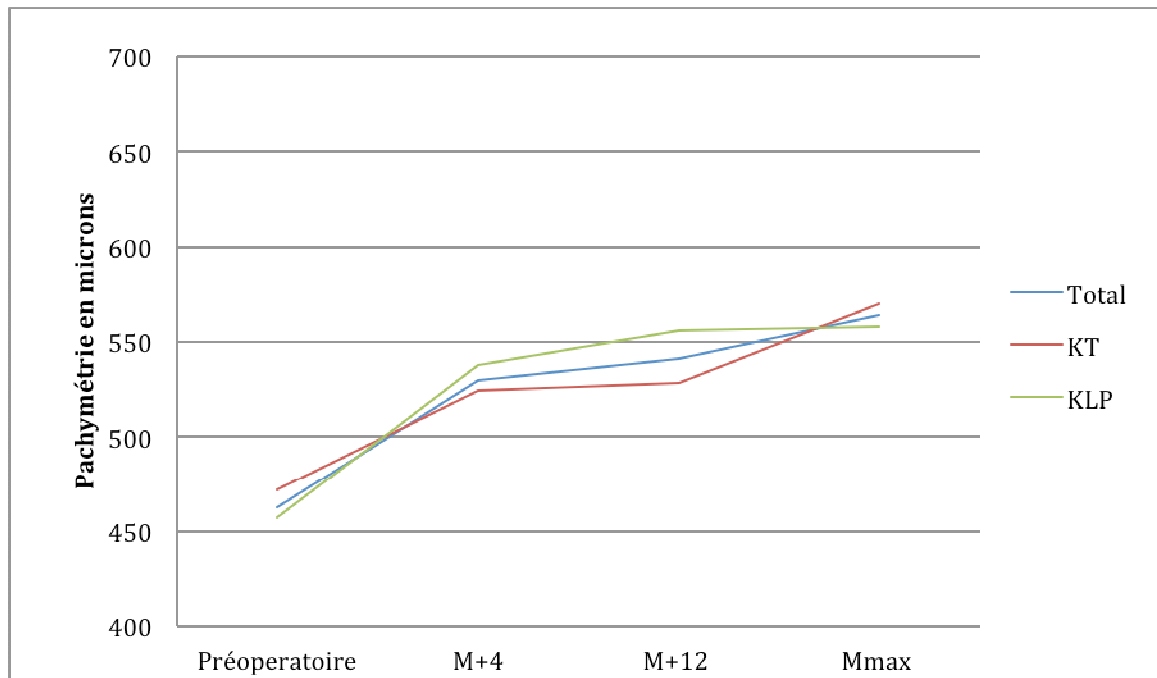


Figure 23 : évolution de la pachymétrie le long du suivi

Nous avons recherché un lien éventuel entre pachymétrie et évolution endothéliale. Aucune corrélation significative n'est retrouvée entre le nombre de cellules endothéliales et la pachymétrie aux périodes de mesures (test de Pearson) : *Tableau 9*

Cellules/pachymétrie	Corrélation	p
Préopératoire	-0,14	0,041
M+4	-0,09	0,39
M+12	-0,002	0,98

Tableau 9 : corrélations valeurs pachymétriques et des densités endothéliales à 4 et 12 mois de suivi pour la population totale

De même aucun lien significatif n'est établi entre les variations de pachymétrie et celle de la densité endothéliale.

VI .Constatations diverses(*Tableau 10*)

La durée moyenne d'instillation des corticoïdes locaux est significativement inférieure dans le groupe KLP avec $13,2 \pm 7$ mois, durée doublée dans le groupe KP avec $25,6 \pm 11$ mois.

Les dernières sutures sont significativement retirées plus tôt lors des kératoplasties antérieures lamellaires profondes avec une moyenne de $16,4 \pm 7$ mois, contre $24,5 \pm 10$ mois pour les kératoplasties transfixiantes.

Au niveau des complications observées, on note un taux identique de lâchage de suture, de 10% pour les 2 groupes, ainsi que 6 yeux dans chaque groupe présentant un astigmatisme géant (avec pour 5 d'entre eux la réalisation de kératotomies transverses pour le groupe KP et 3 pour le groupe KLP).

Il n'existe pas de différence statistiquement significative entre le taux d'hypertonie oculaire de 2% pour les kératoplasties transfixiantes et 4,8% pour les kératoplasties antérieures lamellaires profondes.

Les épisodes de rejets endothéliaux sont retrouvés uniquement dans le groupe KP chez 4 yeux le long du suivi soit 8%.

Concernant le groupe KLP, on constate par ailleurs :

- 14,63% (soit 5 cas) de décollement descemetique post opératoire ayant nécessité une reprise chirurgicale pour injection d'air en chambre antérieure et donc une ré-hospitalisationsans qu'il nous soit possible de démontrer un effet sur la perte endothéliale future.
- et également 8,11% de greffe présentant un syndrome d'interface.

Pour finir, notons que, à l'image du nombre de jours d'hospitalisation, celui des consultations post-opératoires de nature hospitalières ne diffère pas significativement entre les 2 groupes , avec une moyenne de 8,5 consultations pour une kératoplastie transfixiante et 7,1 pour une kératoplastie antérieure lamellaire profonde .

	Total	KP	KLP	
Durée des corticoïdes locaux (jours)	20± 11	25,6± 11	13,2± 7	<0,0001
Date d'ablation des dernières sutures (mois)	20,9± 10	24,5± 10	14,4± 7	<0,0001
Consultations hospitalières (nombre)	7,8± 6,7	8,3± 6	7± 7,3	0,13
Ré-hospitalisations (nombre)	21	13	8	0,89
Complications :				0,039
Aucune	52	30	22	
Décollement descemetique	5	0	5	
Seidel précoce	2	2	0	
Lâchage de suture	10	5	5	
HTO	2	1	2	
Abcès	1	1	0	
Rejet	4	4	0	
Astigmatisme géant	12	6	6	

Tableau 10 : récapitulatif des caractéristiques post-opératoires relevées dans la population générale et dans les deux sous-groupes

D DISCUSSION

De nombreuses études récentes ^{77,78,80-85} démontrent les avantages de la kératoplastie antérieure lamellaire profonde pour les pathologies cornéennes à endothélium préservé, afin de l'imposer comme la technique de choix. Nous allons nous y associer en démontrant au long de cette discussion la supériorité de la KLP.

Pour débiter, comparons tout d'abord les caractéristiques épidémiologiques de notre étude à la littérature :

L'âge moyen du patient avec un kératocône greffé dans notre série, avec 35 ± 13 ans, est comparable à celui de la littérature, qui oscille entre 26 à 39 ans^{28,68,73,85}, sans différence statistiquement significative selon la technique de greffe employée.

Alors que Bourne en 1986 sur une cohorte de 64 patients établissait la médiane de l'âge du diagnostic à 25 ans¹⁴, elle est dans notre étude de 19ans, traduisant en partie la précocité diagnostique liée à l'essor de la chirurgie réfractive, comme on l'a évoqué précédemment. En effet, le bilan pré-chirurgical et le développement de la vidéotopographie ont permis de différencier un astigmatisme normal, d'un kératocône.

Depuis longtemps évoquée, notre série confirme la forte association entre antécédents allergiques et kératocône, avec un taux de 15%, néanmoins inférieur à d'autres études ^{19,55}.

Par ailleurs on peut noter que nos indications opératoires de greffe suivent les recommandations puisque la majorité des patients présentent un kératocône stade 4 (73,6%) avec opacité centrale et les autres un stade 3, dont la kératométrie élevée fait le plus souvent échouer l'adaptation en LRP.

I. Des résultats fonctionnels comparables

La majorité des études récentes tend à démontrer que la récupération visuelle après chirurgie lamellaire est comparable à celle observée dans la greffe transfixiante.

Cela nécessite un lit receveur descemetique lisse, ce que la technique de la Big-Bubble a rendu possible, en augmentant de plus sa reproductibilité.

Comme nous allons le voir ci-après nos résultats retrouvent l'équivalence en termes de résultats fonctionnels entre KP et KLP sans stroma résiduel.

a. Toutes indications confondues

Douze mois après la kératoplastie, toutes indications confondues, Tan retrouve des acuités visuelles concordantes, tout comme Panda, ou récemment Borderie sur une série de 284 patients^{23,74,87}.

Reinhart a d'ailleurs colligé en 2011, les études comparatives kératoplastie transfixiante / kératoplastie antérieure lamellaire profonde : pour un total de onze études comparatives, six indiquaient des résultats d'acuité visuelle identiques, quatre une supériorité de la kératoplastie transfixiante et une de la kératoplastie antérieure lamellaire profonde⁸². (*Tableau 11*)

S'agissant des études favorables à la kératoplastie transfixiante, Shimazaki, sur seulement 24 patients, ne retrouve cette différence que seulement dans les premiers mois post opératoire pour disparaître à 6 mois²⁷. Ardjomand, lui, sur une série de 35 patients, note en effet une acuité visuelle supérieure en cas de kératoplastie transfixiante, mais avec un même niveau de contraste et d'aberrations de haut ordre avec la KLP⁵³.

b. Dans le kératocône

Si on se penche exclusivement sur les études s'intéressant au kératocône, à 12 mois de suivi, elles s'accordent quasiment toutes en démontrant une égalité de résultats visuels entre kératoplastie transfixiante et kératoplastie antérieure lamellaire profonde^{36,60,68,80}.

Javadi, de même, obtient des acuités visuelles finales de 0,18 log pour kératoplastie antérieure lamellaire profonde et 0,15 pour kératoplastie transfixiante, comparable, et sans différence statistiquement significative également en termes de contraste et d'aberrations (ce qui signifierait que l'interface présente dans les kératoplasties antérieures lamellaires profondes n'induirait pas plus d'aberrations de haut ordre, comme le retrouvait déjà Ardjomand^{53,78})

Les résultats de notre série confirment ces données avec des acuités visuelles aux différents pointages et des gains comparables entre les 2 groupes. En termes de résultats quantitatifs, nos données concordent avec la littérature. *Tableau 12* Les publications récentes, utilisant la technique de la Big-Bubble dans la KLP, ne retrouvent pas de différence en acuité visuelle entre les deux techniques de greffes.

Toutes étiologies	Effectifs		Acuité visuelle		p
	KP	KLP	KP	KLP	
Watson 2004	25	26	0	0,2	>0,05
Vabres 2004	10	10	0,13	0,12	0,55
Funnel 2006	20	20	0	0,2	0,035
Ardjomand 2007	15	17	0,023	0,196	0,035
Bahar en 2008	17	13	0,3	0,4	0,52
HAN 2009	100	25	0,27	0,34	0,23
Jones 2009	1136	234	0,24	0,24	0,4
Javadi 2010	35	42	0,15	0,18	0,12
Cohen 2010	30	11	0,22	0,2	0,82
Borderie 2011	142	142	0,35	0,35	>0,05
Kubaloglu 2010	-	234	-	0,15	-
Kim 2012	8	8	0,15	0,18	0,87
Notre série	50	41	0,18	0,17	0,77

Tableau 11 : tableau résumant les résultats des études antérieures en terme d'acuité visuelle à un an post opératoire selon la procédure de kératoplastie toutes étiologies confondues

Kératocône	Effectifs		Acuité visuelle		p
	KP	KLP	KP	KLP	
Watson 2004	25	26	0	0,2	
Vabres 2004	10	10	0,13	0,12	0,55
Funnell 2006	20	20	0	0,2	0,035
Bahar en 2008	17	13	0,3	0,4	0,52
Han 2009	100	25	0,27	0,34	0,23
Jones 2009	1136	234	0,24	0,24	0,4
Javadi 2010	35	42	0,15	0,18	0,12
Cohen 2010	30	11	0,22	0,2	0,82
Kubaloglu 2010		234		0,15	
Kim 2012	8	8	0,15	0,18	0,87
Majavadi			0,15	0,18	>0,05
Notre série	50	41	0,18	0,17	0,77

Tableau 12 : tableau résumant les résultats des études antérieures en terme d'acuité visuelle à un an post opératoire selon la procédure de kératoplastie réalisée pour kératocône.

Maintenant, si l'on étudie le taux de patients recouvrant une acuité visuelle $>5/10$ en post opératoire, nos résultats sont similaires à d'autres études. *Tableaux 13 et 14*
On remarque qu'à un an, dans la littérature, moins de patients post KLP atteignent les 10/10, ce qui traduit une vitesse de récupération plus lente dans les kératoplasties antérieures lamellaires profondes. Cette dernière constatation n'est pas retrouvée dans notre étude avec des taux similaires statistiquement de patients à 10/10^{ème} à un an. Ceci peut s'expliquer en partie par les proportions différentes des techniques chirurgicales employées (technique de la Big-Bubble ou autres techniques avec stroma résiduel potentiel).

$>5/10$	KP	KLP	
Watson	-	87 %	-
Coombes	-	64%	-
Funnell	85%	68%	$>0,05$
Olson	85%	-	-
Bourges	51%	-	-
Fontana	-	85%	-
Fogla	-	92%	-
Notre série	88%	83%	$>0,05$

Tableau 13 : proportions de patients ayant une acuité visuelle Supérieure à 5/10 èmes à un an dans la littérature

10/10	KP	KLP	p
Watson	64%	32%	$>0,05$
Funnell	70%	22%	$<0,05$
Jones	33%	22%	$<0,05$
Notre série	18%	22,5%	$>0,05$

Tableau 14: proportions de patients ayant une acuité visuelle à 10/10 èmes à un an dans la littérature

Il faut tempérer l'impact de Funnell et Watson ou encore Bahar car leur KLP étaient réalisées par la technique de Melles donc les résultats ne sont pas strictement comparables.

Enfin, plusieurs études se sont penchées sur les facteurs potentiels, pouvant influencer sur la récupération visuelle après kératoplastie antérieure lamellaire profonde.

Ardjomand, montre que le niveau d'acuité visuelle serait corrélé à l'épaisseur du lit résiduel de stroma avec un gain d'acuité visuelle moindre s'il est supérieur à 20 microns⁵³.

Tan, lui, compare les KLP dites descemetiques, obtenues par la technique de la Big-Bubble, et les KLP dites prédescemetiques, avec dissection manuelle stromale, et retrouve une différence statistiquement significative entre les groupes KP et KLP prédescemetique, qui n'existe pas avec les KLP descemetiques et avec l'ensemble des KLP ⁷⁴.

De même Borderie retrouve une meilleure récupération visuelle après une KP qu'au décours d'une KLP avec dissection manuelle⁸⁷.

Ces résultats confirment que la présence d'un stroma résiduel diminue le potentiel de récupération visuelle.

A contrario, d'autres séries retrouvent des résultats comparables entre les deux techniques ce qui corrobore l'article de Busin, qui ne retrouve pas de gain d'acuité visuelle supplémentaire lors de KLP assistée par micro-kératome (sensée réduire au maximum le lit stromal)⁹⁵.

En tant que limite de notre travail, on peut relever l'absence de subdivision de la série des kératoplasties antérieures lamellaires profondes selon la technique employée (délinéation viscoélastique, technique de la Big-Bubble réussie ou avortée) pour effectuer cette analyse comparative.

II. Supériorité de la kératoplastie antérieure lamellaire profonde sur la densité endothéliale et la survie du greffon

1. La perte endothéliale

Comme l'avait indiqué entre autre Bourne en 1999, la principale cause de l'échec de greffe (perte définitive de saclarté) est la décompensation lente et progressive par décompensation endothéliale. Le succès d'une greffe est donc intimement lié à ses capacités de réserve endothéliale et à son taux de perte endothéliale^{13,15,63}.

Effectivement en cas d'altérations qualitatives et quantitatives des cellules endothéliales, leur rôle dans l'équilibre de l'hydratation stromale est mis à mal.

La perte physiologique endothéliale a été évaluée à 0,6% par an ¹⁸, et avec un stock initial de plus de 3500 C/mm², une cornée saine peut rester viable bien au delà de la durée d'une vie humaine.

Mais en réalité, le comportement d'un greffon n'est pas le même, avec une accélération de la perte endothéliale depuis son prélèvement, en passant par sa conservation, le traumatisme chirurgical puis son interaction avec le lit receveur.

Nos résultats mettent en évidence cette diminution continue de la densité cellulaire endothéliale, mais significativement accrue après KP avec des taux de perte de 8,9% pour KLP et 40,7% pour une KP à un an.

Pour les 2 groupes, on se rend compte que le taux de perte postopératoire immédiat est majeur, 33% pour une KP versus 4% pour une KLP. En effet le stress chirurgical et les lésions directes lors de la procédure de kératoplastie entraînent une augmentation de l'apoptose. La notion de l'accélération de cette perte après chirurgie avait été démontrée il y a 20 ans en post chirurgie de la cataracte avec un taux de 7,8% de cellules perdues par an entre 3 et 5ans post opératoires ⁹⁶ et même bien avant par Bron and Brown après kératoplastie dès 1974 ⁹⁷.

Une étude en microscopie confocale de Feizi se penchait sur les changements de densité cellulaire en kératocytes, en post-KLP immédiat. Il notait une perte endensité (sans traduction clinique), venant conforter la notion de souffrance cellulaire cornéenne globale⁷⁶.

Toutes les études comparatives qui s'y sont intéressées montrent le maintien d'une densité endothéliale supérieure pour la kératoplastie antérieure lamellaire profonde à 1, 2 et 3 ans post-opératoire^{23,27,87,88}.

Nos résultats sont similaires avec des valeurs de densités endothéliales significativement supérieures pour les KLP aux différents pointages et avec un des taux de perte à 4 et 12 mois très significativement en faveur de la KLP.

Toutes indications de greffes confondues, on retrouve dans la littérature des taux de perte post KP autour de 34% à un an et entre 50 et 70% à 5ans^{37,63,79}; et post KLP de 12% à un an et autour de 22% à 5ans ^{15,69,87}.

Le taux de perte entre 3 et 5 ans est estimé à 7,8% par an après KP ¹⁸.

Les études s'intéressant uniquement au kératocône retrouvent des taux similaires, avec, en post KP autour de 40% à 45 % à un et deux ans, et post KLP entre 6 et 14% à un et deux ans, comparable à notre série ^{38,60,80,88,85}.

Mais alors comment expliquer cette perte accrue de la densité cellulaire endothéliale après kératoplastie transfixiante ?

L'explication majeure réside dans les dommages causés en peropératoire. Alors que lors d'une KLP, l'endothélium laissé en place est protégé par la membrane de Descemet ; au cours d'une

KP, la trépanation du greffon et sa manipulation sont autant de raisons de le léser entraînant l'apoptose cellulaire endothéliale. Il faudra donc entre autre veiller à protéger en continu cet endothélium par un produit viscoélastique, pour empêcher tout frottement irido-cornéen lors de la réalisation des sutures.

En réponse à cette perte précoce une redistribution par migration des cellules restantes va s'effectuer.

Dès les années 1980, des études histologiques ont mis en évidence une plus grande densité endothéliale au niveau de la périphérie cornéenne^{106,106}. Ceci est confirmé par Amann plus récemment¹⁰⁵ qui mesure également, en microscopie spéculaire, des densités cellulaires endothéliales périphériques supérieures à 8% par rapport au centre cornéen.

Pour Joyce et certains autres auteurs^{10,35}, la migration endothéliale s'effectue dans les deux directions, centrifuge et centripète, pour aboutir à une distribution homogène des cellules sur l'ensemble de la surface endothéliale. In vitro, après stimulation des capacités sous-jacentes de réplication des cellules endothéliales, Joyce retrouve des réponses de croissance similaires au centre et en périphérie cornéenne.

Au contraire, d'autres études^{102,109,110}, majoritaires ont démontré la possibilité de mitoses et la présence d'une migration à partir de la périphérie. Une activité Télomérase positive, marqueur de cellules souches, a été identifiée à la périphérie endothéliale cornéenne dans plusieurs études^{103,108}.

Une étude, publiée récemment¹⁰⁴, fait l'état d'une organisation cellulaire endothéliale périphérique spécifique, à l'origine d'une migration centripète prédominante. En effet, l'examen micro-anatomique des 200 µm périphériques endothéliaux retrouve une organisation cellulaire en grappes, avec des rangées cellulaires radiaires centripètes à haute densité endothéliale. Ces cellules périphériques expriment moins de marqueurs de différenciation que les cellules centrales mais plus de marqueurs d'expression de cellules souches ou progénitrices. Dans ces rangées cellulaires radiaires, un polymorphisme accru est remarqué, indiquant une perte des jonctions intercellulaires et ainsi un potentiel de mobilité augmenté, argument supplémentaire de cette notion de migration centripète.

La perte cellulaire endothéliale initiale traumatique se localisant principalement au centre cornéen, on imagine une migration cellulaire centripète, à point de départ périphérique, d'autant plus après ces résultats.

Ce sont donc, en partie, les cellules de l'anneau receveur qui vont y participer. On peut alors supposer que le nombre initial préopératoire du receveur, voire l'âge du receveur, influencent ensuite l'évolution de la densité endothéliale.

Or d'après nos résultats cela ne semble pas être le cas puisqu'aucune corrélation significative n'a pu être mise en évidence pour ces paramètres.

On peut y ajouter la notion de non corrélation retrouvée entre taille du greffon et perte endothéliale (Figure 17) : le fait de conserver un lit receveur plus étendu n'influence pas la migration et la répartition cellulaire.

Ce résultat négatif doit être tempéré : en effet la mesure spéculaire est effectuée uniquement en cornée centrale et ainsi, une étude spécifique sur la population endothéliale périphérique et son comportement migratoire serait nécessaire, associée à un examen du limbe

et du trabéculum , où, selon les études, les marqueurs de cellules souches et le potentiel mitotique sont les plus importants.

Notons que la taille de notre échantillon et le manque de données préopératoires disponibles pour un certain nombre de patients peuvent diminuer la puissance statistique.

Par ailleurs, on peut se demander si la maîtrise de la technique de KLP influence la perte endothéliale ensuite.

Il s'avère qu'il n'y a pas de différence significative en termes de taux de perte, selon nos données entre les premières KLP réalisées (avant 2005) et les suivantes (après 2005). Cela ne veut pas obligatoirement dire qu'il n'y a pas de différence mais qu'on ne peut pas le démontrer, car l'échantillon est relativement petit. On aurait effectivement pu penser que au début de la courbe d'apprentissage de la technique chirurgicale, pour les premières greffes réalisées, le traumatisme chirurgical serait plus grand ; ce qui ne semble pas être le cas.

Mais il y a peut être eu plus de conversions peropératoires de KLP en KP à cette période.

Mais par contre, la survenue d'une microperforation descemetique per-opératoire accroît la perte endothéliale secondaire, démontrant l'importance du stress chirurgical sur la décompensation endothéliale à long terme du greffon, avec des taux de perte endothéliale de 13,17% en l'absence de perforation versus 24,63% en cas de perforation à un an (*Figure 12*) Malgré cette accentuation de la vitesse de perte, la survie des greffons avec microperforation est de 32,5 ans, très supérieure encore à celle d'une KP. Donc en cas de survenue peropératoire d'une microperforation, il ne faut pas convertir et s'évertuer à poursuivre une dissection prédescemetique.

A contrario, nous n'avons pu démontrer le caractère délétère éventuel de la présence d'un décollement descemetique post-opératoire immédiat, à cause d'un nombre trop faible de patient et d'un manque de puissance statistique.

Mais si on étudie le sous-groupe des KLP qui à la fin de notre suivi présentent des densités endothéliales basses à moins de 1000/mm², il apparaît que pour trois patients sur quatre, la perte est surtout importante initialement, ceux-ci ayant en effet présenté un décollement descemetique et une réinjection d'air en chambre antérieure en post opératoire immédiat (et deux d'entre eux avaient eu une microperforation). Cette constatation est en faveur du rôle du déroulement du geste chirurgical sur la perte endothéliale ultérieure.

Néanmoins, après la perte initiale, on ne retrouve pas le taux de perte physiologique, même à dix ans de distance post opératoire ²², et ce pourquoi ?

Les explications avancées sont celles de possibles interactions cellulaires néfastes entre donneur et receveur, de l'accélération de l'âge cellulaire, de certaines lésions liées à une hypertension

oculaire éventuelle, et de la persistance de viscoélastique dans l'interface des KLP malgré le rinçage.

D'autre part, déjà soulevée par des études précédentes, la question de l'influence de l'âge du donneur n'est pas tranchée. Elle concerne évidemment les KP, et dans notre étude aucun lien significatif n'est retrouvé.

Le Cornea Donor Study Group⁶³, étudiant des KP réalisées pour dystrophie de Fuch's ou décompensation endothéliale du pseudophaque, retrouvait, à 5 ans, une perte cellulaire endothéliale accrue, légèrement, mais de façon significative, lorsque l'âge du donneur est supérieur à 65 ans.

Quant à Bourne¹⁵, même s'il montrait une association entre perte et âge du donneur, celle-ci n'était significative qu'à 12 mois post opératoire (29 % si âge < 25 ans, 34% si entre 26 et 49 et 38% > 50 ans) et non à 3 ans.

De même, Lass retrouvait comme facteur d'influence l'âge inférieur à 40 ans uniquement en analyse multi-variée (associé au diamètre du greffon > 8mm)⁶³.

Au contraire plusieurs études, comme la nôtre, concluent à la non incidence de l'âge du donneur^{12,98,99}.

L'absence de lien mis en évidence pourrait s'expliquer en partie par le biais lié à l'âge des donneurs, pour la majorité supérieure à 40 ans comme dans notre série où 40% ont plus de 40 ans et 20% plus de 60 ans, ce qui diminue les chances de significativité statistique.

Il n'y a donc pas lieu à l'heure d'aujourd'hui de limiter l'âge des donneurs de cornées potentiels.

Par ailleurs, nos résultats rejoignent ceux de la littérature, qui s'accordent en majorité, sur l'absence de corrélation entre durée de conservation en organoculture et perte endothéliale^{31,63,98}.

2. Survie du greffon

En comparaison avec la série de Borderie et al, nos résultats coïncident pour les KLP, avec pour ce dernier une durée retrouvée de 49 ans, alors que dans notre étude les KP perdent plus vite leurs cellules et leur survie est réduite par rapport au 17,3 ans de la série de Borderie⁸⁷. Le taux de survie d'une KP pour kératocône calculé dans la littérature à 10 ans oscille grandement, entre 48 et 90%^{32,68}.

A 5 ans post opératoire, dans notre série les KP ont perdu plus de 50% de leur cellules endothéliales contre seulement 20% pour les KLP, comparable aux résultats de Borderie (respectivement 50% et 22,3%)

D'autre part, on peut penser que la survenue d'un rejet endothélial grève le capital endothélial et la survie du greffon.

D'après l'exploitation de nos données, il s'avérerait que non, car les 4 patients de notre série concernés, ont une durée de survie de 12 ans, ce qui est même supérieure à la moyenne de leur groupe.

De même Ing, ne retrouvait pas d'accélération du taux de perte pour les greffes ayant subi un épisode de rejet ²².

Dans l'avenir, les perspectives d'amélioration de la survie des greffons passent par les voies de recherche sur la stimulation endothéliale, même si parallèlement des améliorations techniques ultérieures peuvent permettre de réduire l'impact chirurgical.

La preuve de la conservation d'une certaine capacité de prolifération par l'endothélium a été démontrée dans des études ex vivo avec l'observation de mitoses dans certaines régions focales de l'endothélium, et de l'expression d'un facteur de transcription, le E2F2, participant à l'induction de la phase S du cycle de réplication cellulaire.

Les voies de recherche portent donc sur la possibilité d'augmenter ces capacités en levant l'inhibition in vivo de l'activité de réplication. Les explications avancées de cette inhibition sont : l'absence de réponse positive au growth factors présent dans l'humeur aqueuse et ou la membrane de Descemet, le manque de stimulation autocrine par les facteurs de croissance synthétisés par les cellules endothéliales, la suppression du cycle C induit par TGF beta 2 de l'humeur aqueuse, l'inhibition de contact induite par la formation de jonctions matures intercellulaires.

L'intérêt se porte aussi sur la cycline kinase p27 protéine qui est un important médiateur de cette inhibition.

Par ailleurs, bien qu'hypothétique, on pourrait alors envisager la possibilité d'implantations toriques, pour gérer l'astigmatisme résiduel important chez des patients relativement jeunes ayant bénéficiés d'une KLP. Au vu de la connaissance de la cinétique de la perte endothéliale, on peut imaginer cette implantation à distance de la greffe et du traumatisme initial, chez un patient à fort potentiel endothélial. Malgré cette durée de survie très satisfaisante, l'implantation de type pré-cristalinienne serait à privilégier par rapport à celle en chambre antérieure pour ainsi limiter l'accélération de la perte cellulaire endothéliale. Mais on imposerait un nouveau traumatisme chirurgical délétère au greffon, ce qui tempère sa pertinence.

3. le comptage cellulaire

On ne peut étudier l'évolution des indices spéculaires sans évoquer la fiabilité de leur mesure.

En effet, l'évaluation in vivo de l'endothélium cornéen, en pratique courante, a été rendue facile grâce à l'invention de microscope spéculaire de maniement aisé, utilisant des méthodes de comptage semi-automatiques.

Plusieurs études se sont penchées sur leur reproductibilité et ont comparé leurs résultats. Il s'avère que, si, par appareil, la reproductibilité interindividuelle est bonne, leur utilisation n'est pas interchangeable (avec des résultats de mesures significativement différents)^{45,71}.

A savoir, qu'il n'existe pas encore de méthode de comptage automatique fiable. Cet élément n'influence pas notre étude puisque toutes nos mesures ont été effectuées par le même appareil.

En revanche, la problématique de la méthode de comptage est intéressante. En effet, il a été démontré que la précision du comptage dépend du nombre de cellules endothéliales mesurées dans l'aire cornéenne : plus on mesure de cellules et plus on nivelle les irrégularités de taille cellulaire selon les zones.

Plusieurs auteurs s'accordent sur un nombre de cellules requises minimal de 75 cellules^{10,18} Ohno, lui, fixe la barre à 50 cellules²².

Or dans notre étude, les mesures ont été effectuées, lors des consultations, par la méthode d'analyse simplifiée du SP 2000p Topcon, avec laquelle on ne marquait manuellement que dix cellules environ ; ce qui diminue la fiabilité de nos mesures (et explique par exemple qu'une mesure soit plus importante qu'une antérieure à quelques mois près)

Cet appareil offre la possibilité d'obtenir une analyse de plus grande précision de l'aire photographiée, de 0,03mm² (équivalent à 75 cellules), grâce à l'utilisation du système de réseau IMAGE, unité de traitement d'image ; mais ceci est consommateur de temps...

Certains facteurs peuvent, par ailleurs, influencer la qualité du comptage. Pour Sturrock¹⁰⁰ en 1978, les mesures par microscope spéculaire seraient moins reproductibles si l'âge du patient est supérieur à 50 ans ou en cas de densité cellulaire endothéliale inférieure à 2300 C/mm². Or, cela concerne une grande partie de nos sujets.

En cas de cornée non saine ou en post opératoire immédiat, comme on peut s'y attendre, les mesures sont moins aisées et doivent être répétées (3 fois au minimum)⁵¹. Szaklik, propose même de privilégier l'utilisation, en post opératoire immédiat (sans préciser le délai), du microscope confocal, qui serait plus performant pour analyser de façon fiable la densité cellulaire endothéliale⁵².

La mesure des greffons, avec leur interface éventuelle, leur trouble de surface, leur astigmatisme s'avère donc plus difficile à effectuer.

Ces éléments peuvent donc interférer avec les résultats de densité cellulaire endothéliale de notre étude.

A noter, enfin, que l'évaluation endothéliale, exercée par la BMT, du greffon, elle, ne souffre pas beaucoup de contestations. Cette méthode a démontré sa fiabilité, sa supériorité par rapport au microscope spéculaire.

Ses défauts sont ceux du manque de calibration régulière du microscope, des différences de stratégie de comptage pouvant être employées entre les banques, et de l'expérience variable des personnes effectuant ce comptage⁴⁰.

Pour notre étude, il n'y a peu de réserve de ce point de vue là puisque la méthode de comptage de la BMT de Nantes est la même depuis 1992 et les technicien(ne)s expérimenté(e)s.

III. Les avantages associés à la kératoplastie antérieure lamellaire profonde

L'administration de corticoïdes locaux en postopératoire est indispensable en prophylaxie du rejet immunitaire. Il n'existe pas de standardisation pour leur durée d'administration même si il est d'usage de les maintenir au minimum 6 mois.

Cependant ceux-ci ne sont pas inoffensifs, et notamment pourvoyeurs d'hypertonie oculaire et d'opacification cristallinienne.

Or on note que leur administration est substantiellement réduite après une kératoplastie antérieure lamellaire profonde par rapport à une kératoplastie transfixiante : $13,2 \pm 7$ mois versus $25,6 \pm 11$ mois. Il semblerait même que cette durée soit supérieure à la littérature. (Noble 9 mois toutes indications confondues et Ardjomand pour kératocône médiane de 9 mois pour KP et 5 mois pour KLP avec une différence statistiquement significative). A un an, les corticoïdes sont arrêtés pour 70% des KLP contre 22% des KP ; là encore avec des résultats différents de Funnell (85% vs 25%)

Même si le risque de rejet est moindre dans le kératocône par rapport à d'autres pathologies et que la prescription de corticoïdes est plus courte même après kératoplastie transfixiante, il n'en demeure pas moins que les patients sont jeunes et, que chez ceux-ci une hypertonie oculaire non réversible est plus problématique.

Cet avantage est dépendant d'un autre atout de la KLP, celui de l'ablation plus précoce des sutures, grâce au rôle de support de la membrane de Descemet et au principe même de non transfixiance.

Avec une différence significative, et des délais de respectivement $14,4 \pm 7$ mois et $24,5 \pm 10$ pour les KLP et KP, notre série paraît légèrement au-dessus des données de la littérature, plutôt autour de 12 mois post KLP et 20 post KP ^{38,53}.

La gestion des sutures est loin d'être codifiée. En effet, même si l'ablation peut débuter dès 4 mois postopératoires, le rythme ensuite va dépendre de l'astigmatisme cornéen, de l'acuité visuelle de la présence de fils détendus. Ainsi on peut être amené à laisser en place des sutures si on obtient un astigmatisme minime avec une bonne acuité visuelle corrigée, en l'absence de signe de mauvaise tolérance.

L'effet de l'ablation des sutures et les modifications tectoniques et architecturales de la cornée, jouant sur l'astigmatisme et la topographie nécessitent une étude plus approfondie.

Il faut noter également que la présence écourtée de fils participe à la diminution de la survenue d'abcès infectieux cornéen, avec dans notre série l'absence de cette complication dans le groupe KLP, et à un taux très faible dans la littérature ^{69,85}.

CONCLUSION

La kératoplastie antérieure lamellaire profonde est depuis plusieurs années défendue par de nombreuses études.

Son mérite majeur, indiscuté, est celui de la sécurité immunologique, prévenant le rejet endothélial.

D'autres atouts, évidents, comme ceux de la procédure (extra-oculaire diminuant les risques d'endophtalmie, de synéchie iridocornéenne et d'hémorragie expulsive), de l'ablation plus précoce des sutures et ainsi de la réduction de la durée de la corticothérapie, sont aisément compréhensibles.

A plus long terme, la conservation endothéliale du receveur s'accompagne d'une viabilité plus longue du greffon, en abaissant le taux de décompensation endothéliale par perte cellulaire progressive.

La durée de vie d'une greffe par kératoplastie antérieure lamellaire profonde de 50 ans, soit plus de 4 fois celle d'une kératoplastie transfixiante mérite bien la concession par le chirurgien de l'allongement du temps opératoire et de l'apprentissage technique.

Ceci permet d'éviter une seconde greffe ultérieurement chez ces jeunes patients.

Enfin un autre atout, non des moindres, est celui de pouvoir optimiser l'utilisation des greffons et disposer de plus de greffons disponibles.

Au vu de ces éléments, et ce d'autant plus que l'évolution des techniques a permis de niveler les résultats fonctionnels, nous plaçons pour que la kératoplastie antérieure lamellaire profonde s'impose comme la technique de choix en première intention dans le kératocône.

F REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1: Paufigue L. Les greffes cornéennes lamellaires thérapeutiques. Bull Mem Soc Fr Ophtalmol 1949 ; 62:210-3.
- 2: Malbran E. Lamellar keratoplasty in keratoconus. Int Ophthalmol Clin 1966 ; 6(1):99-109. □
- 3: Anwar M. Dissection technique in lamellar keratoplasty. Br J Ophthalmol 1972 ; 56:711-15
- 4: Pouliquen Y, Bellivet J, Lecoq PJ, Clay C. Greffes transfixiantes dans le traitement du kératocône. À propos de 60 cas. Arch Ophtalmol Rev Gen Ophtalmol 1972 ; 32:735-44.
- 5: Anwar M. Technique in lamellar keratoplasty. Trans Ophthalmol Soc UK 1974 ; 94:163-71. □
- 6: Pouliquen. Vitesse d'évolution du keratocône. JFO 1981 ; 4 :219-21
- 7: Pels E. Organo- culture preservation of human corneas. Doc Ophthalmol 1983 ; 56 :147-53
- 8: Archila EA. Deep lamellar keratoplasty dissection of host tissue with intrastromal air injection. Cornea 1984 ; 3:217-8.
- 9: Kennedy RH, Bourne WM, Dyer JA. A 48-year clinical and epidemiologic study of keratoconus. Am J Ophthalmol 1986 ; 101(3):267-73. □
- 10: Doughty MJ. Toward a quantitative analysis of corneal endothelial cell morphology: a review of techniques and their application. Optom Vis Sci. 1989 Sep ; 66(9):626-42.
- 11: Lass JH, Lembach RG, Park SB, Hom DL, Fritz ME, Svilar GM, Nuamah IF, Reinhart WJ, Stocker EG, Keates RH, et al. Clinical management of keratoconus. A multicenter analysis. Ophthalmology 1990 ; 97(4):433-45.
- 12: Zacks CM. Long terme changes in corneal endothelium after keratoplasty. Cornea 1990 ; 9 :92-9
- 13: Bourne WM. Morphologic and functional evaluation of the endothelium of transplanted human corneas. Trans Am Ophthalmol Soc 1983 ; 81:403-50
- 14: Bourne WM. Endothelial cell survival on transplanted human corneas preserved at 4 2.5% chondroitin sulfate for on to 13 days. Am J O 1986 ; 102 :382-6
- 15: Bourne WM, Hodge DO, Nelson LR. Corneal endothelium five years after transplantation. Am J Ophthalmol 1994 ; 118:185-96.
- 16: Tuft SJ, Moodaley LC, Gregory WM, Davison CR, Buckley RJ. Prognostic factors for the progression of keratoconus. Ophthalmology 1994 ; 101 :439-47
- 17: Zadnik K, Barr JT, Gordon MO, Edrington TB. Biomicroscopic signs and disease severity in keratoconus. Collaborative Longitudinal Evaluation of Keratoconus (CLEK) Study Group. Cornea 1996 ; 15(2):139-46.
- 18: Bourne WM, Nelson LR, Hodge DO. Central corneal endothelial cell change over a ten years period. Invest Ophthalmology Vis Sci 1997 ; 38 :779- 8
- 19: Rabinowitz YS. Keratoconus. Surv Ophtalm 1998 ; 42:297-319.
- 20: Morris E. Corneal endothelial specular microscopy following deep lamellar keratoplasty with lyophilised tissue. Eye 1998 ; 12 :619-22
- 21: Ing JJ. Ten years postoperative result of penetrating keratoplasty. Ophthalmology 1998 1855-1865
- 22: Ohno K, Nelson LR, McLaren JW, Hodge DO, Bourne WM. Comparison of recording systems and analysis methods in specular microscopy. Cornea 1999 Jul; 18(4):416-23.
- 23: Panda A, Bageshwar LM, Ray M, Singh JP, Kumar A. Deep lamellar keratoplasty versus penetrating keratoplasty for corneal lesions. Cornea 1999 Mar; 18(2):172-5.
- 24: Melles GR. A new surgical technique for deep stromal ,anterior lemellar keratoplasty. Br J Ophthalmol 1990 ; 83 :327-333
- 25: Brierly SC, Isquierdo L, Mannis MJ. Penetrating keratoplasty for keratoconus. Cornea 2000 ; 19:329-32. □

- 25: Terry MA. The evolution of lamellar grafting techniques over twenty-five years. *Cornea* 2000 ; 19(5):611-6.
- 26: Doughty MJ, Muller A, Zaman ML. Assessment of the reliability of human corneal endothelial cell density estimates using a noncontact specular microscope. *Cornea* 2000 ; 19 :148-158□
- 27: Shimazaki J, Shimmura S, Ishioka M, Tsubota K. Randomized clinical trial of deep lamellar keratoplasty vs penetrating keratoplasty. *Am J Ophthalmol* 2002 ; 134(2):159
- 28: Sray WA, Cohen EJ, Rapuano CJ, Laibson PR. Factors associated with the need for penetrating keratoplasty in keratoconus. *Cornea* 2002 ; 21:784-86
- 29: Reinhard T. Chronic endothelial cell loss of the graft after penetrating keratoplasty : influence of endothelial cell migration from graft to host. *Klin Monatsbl Augenheild* 2002 ; 219 :410-416
- 30: Anwar M. Big-bubble technique to bare Descemet's membrane in anterior lamellar keratoplasty. *J Cataract Refract Surg* 2002 ; 28 :398-403
- : Anwar M, Teichmann KD. Deep lamellar keratoplasty : surgical techniques. *Cornea* 2002 ; 21 :374-383
- 31: Böhlinger 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
- 32: Thompson RW Jr, Price MO, Bowers PJ, Price FW Jr. Long-term graft survival after penetrating keratoplasty. *Ophthalmology* 2003 ; 110(7):1396-402.□
- 33: Armitage WJ, Dick AD, Bourne WM. Predicting endothelial cell loss and long term corneal graft survival. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003 ; 44 : 3326-3331
- 34: Klais CM, Bühren J, Kohnen T. Comparison of endothelial cell count using confocal and contact specular microscopy. *Ophthalmologica* 2003 ; 217 :99-103
- 35: Joyce NC. Proliferative capacity of the corneal endothelium. *Prog Retin Eye Res* 2003 ; 22 :359-389
- 36: Watson SL, Ramsay A, Dart JK, Bunce C, Craig E. Comparison DALK and PK in keratoconus. *Ophthalmology* 2004 ; 111 :1676-1682
- 37: Van Dooren BT, Mulder PG, Nieuwendaal CP, Beekhuis WH, Melles GR. Endothelial cell density after DALK. *AJO* 2004 ; 137 :397-400
- 38: Vabres B, Bosnjakowski M, Bekri L, Weber M, Pechereau A. Deep lamellar keratoplasty versus penetrating keratoplasty for keratoconus. *J Fr Ophthalmol* 2006 ; 29(4):361-71.□
- 39: CL Funnell, J Ball and BA Noble. Comparative cohort study of the outcomes of deep lamellar keratoplasty and penetrating keratoplasty for keratoconus. *Eye* 2006 ; 20:527-32.□
- 40: Lass JH, Gal RL, Ruedy KJ, Benetz BA, Beck RW, Baratz KH, Holland EJ, Kalajian A, Kollman C, Manning FJ, Mannis MJ, McCoy K, Montoya M, Stulting D, Xing D; Cornea Donor Study Group. An evaluation of image quality and accuracy of eye bank measurement of donor cornea endothelial cell density in the Specular Microscopy Ancillary Study. *Ophthalmology*. 2005 Mar; 112(3):431-40.
- 41: Joyce NC. Cell cycle status in human corneal endothelium. *Exp Eye Res*. 2005 ; 81(6):629-38
- 42: Terry MA, Ousley PJ. Deep lamellar endothelial keratoplasty visual acuity, astigmatism, and endothelial survival in a large prospective series. *Ophthalmology* 2005; 112(9):1541-8.
- 43: Ousley PJ, Terry MA. Stability of vision, topography, and endothelial cell density from 1 year to 2 years after deep lamellar endothelial keratoplasty surgery. *Ophthalmology* 2005 Jan; 112(1):
- 44: Reeves SW. Risk factors for progression to penetrating keratoplasty in patients with Keratoconus. *AJO* 2005 ; 140 :607-11
- 45: De Sanctis U, Machetta F, Razzano L, Dalmaso P, Grignolo FM. Corneal endothelium evaluation with 2 noncontact specular microscopes and their semiautomated methods of analysis. *Cornea* 2006 Jun; 25(5):501-6
- 46: Eckard A, Stave J, Guthoff RF. In vivo investigations of the corneal epithelium with the confocal Rostock Laser Scanning Microscope (RLSM). *Cornea* 2006 Feb; 25(2):127-31.
- 47: Wilczynski M, Drobniewski I, Synder A, Omulecki W. Evaluation of early corneal endothelial cell loss in bimanual microincision cataract surgery (MICS) in comparison with standard phacoemulsification. *Eur J Ophthalmol* 2006 ; 16(6):798-803.

- 48: Sudeep Pramanik, David C. Musch, John E. Sutphin, Ayad A. Farjo. Extended Long-term Outcomes of Penetrating Keratoplasty for Keratoconus. *Ophthalmology* 2006 ; 113(9):1633-38
- 49: Fogla R. Result of DLK using the big bubble technique in patients with keratoconus. *Am j O* 2006 ; 141 :254-259
- 50: Hirneiss C, Schumann RG, Grüterich M, Welge-Luessen UC, Kampik A, Neubauer AS. Endothelial cell density in donor corneas : a comparison of automatic software programs with manual counting. *Cornea*. 2007 ; 26 :80-83
- 51: Prinz A, Varga J, Findl O. Reliability of a video-based noncontact specular microscope for assessing the corneal endothelium. *Cornea* 2007 Sep; 26(8):924-9
- 52: Szaflik JP, Kaminska A, Udziela M, Szaflik J. In vivo confocal microscopy of corneal grafts shortly after penetrating keratoplasty. *Eur J Ophthalmol*. 2007 Nov-Dec; 17(6):891-6
- 53: Ardjomand N, Hau S, McAlister JC, Bunce C, Galaretta D, Tuft SJ, Larkin DFP. Quality of Vision and Graft Thickness in Deep Anterior Lamellar and Penetrating Corneal Allografts. *Am J Ophthalmol* 2007 ; 143(2):228-35.
- 54: Wagner H, Barr JT, Zadnik K. Collaborative Longitudinal Evaluation of Keratoconus (CLEK) Study: methods and findings to date. *Cont Lens Anterior Eye* 2007 ; 30(4):223-32.
- 55: Sagnières H., Doat M., Girard A., Legeais JM., Renard G., Bourges JL. Acuité visuelle un et deux ans après kératoplastie transfixiante pour kératocône. *Am J Ophthalmol*, 2007 ; 30(5):465-73.
- 56: Noble BA, Agrawal A, Collins C, Saldana M, Brogden PR, Zuberbuhler B. Deep Anterior Lamellar Keratoplasty (DALK): visual outcome and complications for a heterogeneous group of corneal pathologies. *Cornea* 2007 Jan; 26(1):59-64
- 57: Tan DT, Mehta JS. .Future directions in lamellar corneal transplantation. *Cornea* 2007 ; 26 :21-28
- 58: Agreement between two non contact specular microscopes/ Topcon SP2000P versus Rhine Tec. *Br J Oph* 2007 ; 91 :979-80
- 59: Arne JL. Les kératoplasties lamellaires antérieures. *J. Fr. Ophtalmol* 2008 ; 31(9):902-06.
- 60: Bahar H, Kaiserman I, Srinivasan S, Ya-Ping J, Slomovic AR, Rootman DS. Comparison of Three Different Techniques of Corneal Transplantation for Keratoconus. *Am J Ophthalmol* 2008 ; 146(6):905-12
- 61: Krumeich JH, Knülle A, Krumeich BM.. Deep anterior lamellar (DALK) vs. penetrating keratoplasty (PKP): a clinical and statistical analysis. *Klin Monbl Augenheilkd* 2008 ; 225(7):637-48.
- 62: Gal RL. Donor and corneal endothelial cell loss 5 years after successful corneal transplantation. Specular microscopy ancillary study results. *Ophthalmology*, 2008 ; 115 :627-32
- 63: Cornea Donor Study Investigator Group. The effect of donor age on corneal transplantation outcome. *Ophthalmology* 2008 ; 115 :620-626
- 64: Borderie VM. Comparison of techniques used for removing the recipient stroma in anterior lamellar keratoplasty. *Arch Oph* 2008 ; 126 :31-7
- 65: Pels E, Rijnveld WJ. Organ culture preservation for corneal tissue. Technical and quality aspects. *Dev Ophthalmol*. 2009; 43:31-46
- 66: Schroeter J, Rieck P. Endothelial evaluation in the cornea bank. *Dev Ophthalmol* 2009; 43:47-62.
- 67: Mark N. A. Jones, W. John Armitage, William Ayliffe, D. Frank Larkin, and Stephen B. Kaye. Penetrating and Deep Anterior Lamellar Keratoplasty for Keratoconus: A Comparison of Graft Outcomes in the United Kingdom. *Invest Ophthalmol Vis Sci.*, 2009 ; 50(12):5625–29.
- 68: Han DCY, Mehta JS, Ming Por Y, Htoon HM, Tan DTH. Comparison of Outcomes of Lamellar Keratoplasty and Penetrating Keratoplasty in Keratoconus. *Am J Ophthalmol*, 2009 ; 20(5):744-51.
- 69: Borderie. Predicted longterm outcome of cornea transplantation. *Ophtalmology* 2009 ; 116 :2354-60
- 70: Rice A. Mid term outcomes of PK and deep anterior lamellar keratoplasty. *Eye* 2009 ; 23 :2263

- 71: Goldich Y, Marcovich AL, Barkana Y, Hartstein M, Morad Y, Avni I, Zadok D. Comparison of corneal endothelial cell density estimated with 2 noncontact specular microscopes. *Eur J Ophthalmol.* 2010 Sep-Oct; 20(5):825-30.
- 72: Rieth S, Engel F, Bühner E, Uhlmann S, Wiedemann P, Foja C. Comparison of data from the rostock cornea module of the heidelberg retina tomograph, the oculus pentacam, and the endothelial cell microscope. *Cornea* 2010 Mar; 29(3):314-20.
- 73: Feizi S, Javadi MA, Jamali H, Mirbabae F. Deep anterior lamellar keratoplasty in patients with keratoconus: big-bubble technique. *Cornea*, 2010 ; 29(2):177-82.
- 74: D T H Tan, A Anshu, A Parthasarathy, et al. Visual acuity outcomes after deep anterior lamellar keratoplasty: a case-control study. *Br J Ophthalmol*, 2010 ; 94:1295-99.
- 75: Sarnicola V, Toro P, Gentile D, Hannush SB. Descemetica DALK and pre-descemetica DALK: outcomes in 236 cases of keratoconus. *Cornea*, 2010
- 76: Feizi S, Javadi MA, Kanavi MR. Cellular changes of donor corneal tissue after deep anterior lamellar keratoplasty versus penetrating keratoplasty in eyes with keratoconus: a confocal study. *Cornea*, 2010 ; 29(8):866-70. □
- 77: Alex W. Cohen, Kenneth M. Goins, John E. Sutphin, George R. Wandling, Michael D. Wagoner. Penetrating keratoplasty versus deep anterior lamellar keratoplasty for the treatment of keratoconus. *Int Ophthalmol* 2010 ; 30:675-81. □
- 78: Javadi MA, Feizi S, Yazdani S, Mirbabae F. Deep anterior lamellar keratoplasty versus penetrating keratoplasty for keratoconus: a clinical trial. *Cornea* 2010 ; 29(4):365-71.
- 79: Patel SV. Donor risk factors for graft failure in a 20 years study of penetrating keratoplasty. *Arch Oph* 2010 ; 128 :418-425
- 80: Cheng YY et al. Endothelial Cell Loss and Visual Outcome of Deep Anterior Lamellar Keratoplasty versus Penetrating Keratoplasty : A Randomized Multicenter Clinical Trial. *Ophthalmology* 2011 ; 118(2):302–309.
- 81: Van Den Biggelaar F, Cheng YY, Nuijts R et al. Economic evaluation of deep anterior lamellar keratoplasty versus penetrating keratoplasty in the Netherlands. *Am J Ophthalmol* 2011 ; 151(3):449-59
- 82: Reinhart WJ, Musch DC, Jacobs DS, Lee WB, Kaufman SC, Shtein RM. Deep anterior lamellar keratoplasty as an alternative to penetrating keratoplasty a report by the american academy of ophthalmology. *Ophthalmology* 2011 Jan; 118(1):209-18.
- 83: Hengerer FH, Dick HB, Buchwald S, Hütz WW, Conrad-Hengerer I. Evaluation of corneal endothelial cell loss and corneal thickness after cataract removal with light-adjustable intraocular lens implantation: 12-month follow-up. *J Cataract Refract Surg.* 2011 Dec; 37(12):2095-100
- 84: Faramarzi A, Javadi MA, Karimian F, Jafarinasab MR, Baradaran-Rafii A, Jafari F, Yaseri M. Corneal endothelial cell loss during phacoemulsification: bevel-up versus bevel-down phaco tip. *J Cataract Refract Surg* 2011 Nov; 37(11):1971-6
- 85: Kubaloglu A, Sari ES, Unal M, Koytak A, Kurnaz E, Cinar Y, Ozertürk Y. Long-term results of deep anterior lamellar keratoplasty for the treatment of keratoconus. *Am J Ophthalmol* 2011 May; 151(5):760-767
- 86: Kim MH, Chung TY, Chung ES. A Retrospective Contralateral Study Comparing Deep Anterior Lamellar Keratoplasty With Penetrating Keratoplasty. *Cornea* 2012 May 10
- 87: Borderie VM, Sandali O, Bullet J, Gaujoux T, Touzeau O, Laroche L. Long-term results of deep anterior lamellar versus penetrating keratoplasty. - *Ophthalmology.* 2012 Feb; 119(2):249-55
- 88: Sarnicola V, Toro P, Sarnicola C, Sarnicola E, Ruggiero A. Long-term graft survival in deep anterior lamellar keratoplasty. *Cornea* 2012 Jun; 31(6):621-6
- 89: Lefetz J, Orignac I, Vabres B, Libeau L, Weber M, Pechereau A. Réhabilitation fonctionnelle après kératoplastie dans le kératocône : comparaison kératoplastie antérieure lamellaire profonde et kératoplastie transfixiante . *Mémoire de DES*
- 90: Anwar M, Teichmann KD. Deep lamellar keratoplasty : surgical techniques. *Cornea* 2002 ; 21 :374-383
- 91: Borderie V. Les greffes en ophtalmologie. Elsevier 2007

- 92 : Cornea. 3eme édition. Krachmer, Mannis, Holland. Mosby Elsevier 2012
- 93 :Gatinel .Topographie cornéenne. Elsevier 2010
- 94 : Laroche L, Borderie V, Lopez M, Saraux H.Microbiological safety and endothelial quality control during preservation of corneal grafts at +31 degree C.J Fr Ophtalmol. 1994;17(5):314-20.
- 95 : Busin M, Scorcia V, Zambianchi L, Ponzin D.Outcomes from a modified microkeratome-assisted lamellar keratoplasty for keratoconus.Arch Ophthalmol. 2012 Jun; 130(6):776-82.
- 96 : Bourne WM, Nelson LR,Hodge DO. Continued endothelial cell loss ten years after lens implantation. Ophthalmology 1994 ; 101 :185-196
- 97 :Bron AJ, Brown NAP: Endothelium ofthe corneal graft. Trans Ophthalmol Soc UK 1974;94:863-873.
- 98 : Albon J, Tullo AB, Aktar S, Boulton ME. Apoptosis in the endothelium of human corneas for transplantation.Invest Ophthalmol Vis Sci. 2000 Sep; 41(10):2887-93.
- 99 : Abbott RL, Fine M, Guillet E.Long-term changes in corneal endothelium following penetrating keratoplasty. A specular microscopic study.Specular microscopy of the corneal endothelium.Ophthalmology 1983 Jun;90(6):676-85.
- 100 : Sturrock GD, Sherrard ES, Rice NS.Specular microscopy of the corneal endothelium.Br J Ophthalmol. 1978 Dec;62(12):809-14.
- 101.Wollensak G, Spoerl E, Seiler T. Riboflavin/ultraviolet-a-induced collagen crosslinking for the treatment of keratoconus.Am J Ophthalmol. 2003 May;135(5):620-7.
102. Engelmann K, Bednarz J, Böhnke M.Endothelial cell transplantation and growth behavior of the human corneal endothelium. Ophthalmologe. 1999 Sep;96(9):555-62.
- 103.McGowan SL, Edelhauser HF, Pfister RR, Whikehart DR.Stem cell markers in the human posterior limbus and corneal endothelium of unwounded and wounded corneas. Mol Vis. 2007 Oct 18;13:1984-2000.
104. He Z, Campolmi N, Gain P, Minh Hathi B, Dumollard JM, Duband S, Peoc'h M, Piselli S, Garraud O, Thuret G. Revisited Microanatomy of the Corneal Endothelial Periphery: New Evidence for Continuous Centripetal Migration of Endothelial Cells in Humans. Stem Cells. 2012 Sep 4
- 105.Amann J, Glenn P, Edelhauser HF. Increased edothelial cell density in the paracentral and peripheral regions of the human cornea. Am J Ophthalmol 2003 May ; 135 : 584-590
106. Schimmelpfennig BH. Direct and indirect determination of nonuniform cell density distribution in human corneal endothelium. Invest Ophthalmol Vis Sci 1984 ; 25 : 223-9
107. Daus W, Volcker HE, Meysen H, Bundschuh W. Vital staining of the corneal endothelium. Fortschr Ophthalmol 1989 ; 86 : 259-64
108. Whikehart DR, Edelhauser HF. Evidence suggesting the existence if stem cells for the human corneal endothelium. Mol Vis 2005 ; 11 : 816-24
109. Treffers WF. Human corneal endothelial wound repair. In vitro and in vivo. Ophthalmology 1982 ; 89 : 605-13
110. Olsen EG, Davanger M. The healing of human corneal endothelium. An in vitro study. Acta Ophthalmol 1984 ; 62 : 885-92

LONGERON LUCY

**Evaluation de la perte endothéliale et de la durée de vie des greffes cornéennes pour
kératocône, avec comparaison entre kératoplastie transfixiante et kératoplastie
lamellaire antérieure profonde**

RESUME

Le kératocône est une dystrophie cornéenne qui nécessite dans 20% des cas le recours à une kératoplastie qui peut s'effectuer de manière transfixiante ou lamellaire antérieure profonde. La perte endothéliale progressive après la kératoplastie aboutit à la perte de transparence du greffon par défaut de régulation de l'hydratation cornéenne.

Le but de notre travail est de comparer ces deux techniques chirurgicales, principalement en termes d'évolution cellulaire endothéliale et de survie du greffon.

Si les résultats fonctionnels sont comparables, ce n'est pas le cas pour la perte cellulaire endothéliale qui est accrue sévèrement après kératoplastie transfixiante par rapport à la kératoplastie antérieure lamellaire profonde. La perte est surtout majeure en post-opératoire immédiat liée au traumatisme chirurgical initial.

En conséquence, la survie de la greffe, calculée à 50 ans, est quadruplée après une kératoplastie antérieure lamellaire profonde par rapport à une kératoplastie transfixiante réduite à 10,4 ans.

Cet atout majeur, qui vient s'ajouter à celui de sa sécurité immunologique, place encore d'avantage la kératoplastie antérieure lamellaire profonde comme technique chirurgicale de choix dans le traitement du kératocône.

MOTS-CLES

Kératocône, kératoplastie transfixiante, kératoplastie lamellaire antérieure profonde, endothélium cornéen, survie du greffon