

Intérêt des greffes amniotiques

1^{ère} partie

Dr Marc Muraine – CHU de Rouen

Introduction

Les brûlures chimiques de la cornée nécessitant une prise en charge chirurgicale sont heureusement rares. Elles sont caractérisées par une destruction de la surface oculaire dont l'origine est certes l'agression chimique, mais surtout la mise en route d'un processus biologique destructeur tant au niveau de la cornée que de la conjonctive. La production de collagénases, l'ischémie conjonctivale, l'inflammation, et l'afflux de polynucléaires neutrophiles eux-mêmes générateurs d'enzymes protéolytiques, sont les éléments d'un cercle vicieux qui va aboutir en quelques semaines à la destruction définitive des cellules souches de l'épithélium cornéen et empêcher de ce fait toute cicatrisation normale de la surface oculaire.

Une bonne prise en charge de cette pathologie nécessite de bien appréhender ses mécanismes et son évolution clinique habituelle. L'approche la plus pragmatique est de séparer schématiquement l'évolution de l'atteinte oculaire lors des brûlures chimiques en deux phases :

- une phase précoce d'à peu près 4 à 6 semaines au cours de laquelle le limbe cornéo-conjonctival n'est souvent pas encore détruit mais est soumis à de multiples agressions venant principalement de la région conjonctivale périlimbique.
- une 2^{ème} phase au-delà de 2 mois que nous qualifierons déjà de séquellaire. A ce stade l'inflammation a souvent diminué, l'ampleur de la destruction

des cellules souches limbiques conditionne la gravité de l'altération de la surface cornéenne. Les patients présentent alors une instabilité épithéliale de la cornée puis une néovascularisation ainsi qu'une perte de transparence de la cornée. Une greffe de cornée ne peut malheureusement pas restaurer la transparence perdue car elle est immédiatement colonisée par l'épithélium pathologique et voit donc la récurrence du pannus vasculaire.

1) Au cours de la phase précoce, l'objectif principal est d'éviter la destruction du limbe cornéo-conjonctival en portant tous nos efforts sur l'amélioration de l'environnement péri-limbique. Le traitement médical institué dès le premier jour est à ce titre capital et vise en particulier à diminuer l'inflammation par l'utilisation de corticoïdes locaux, à diminuer autant que possible l'effet des collagénases (tétracyclines, inhibiteurs de collagénases) et à "doper" la cicatrisation stromale (acide ascorbique) et épithéliale. Néanmoins le tableau clinique s'aggrave dans un certain nombre de cas rendant nécessaire une solution chirurgicale urgente car les chances de récupération vont diminuer avec le temps. C'est à ce stade la place privilégiée de la greffe amniotique dont les propriétés principales sont de diminuer l'inflammation locale et de favoriser la réépithélialisation normale de la cornée. La réalisation des greffes limbiques n'est en général pas indiquée à ce stade car l'environnement inflammatoire risque d'altérer la viabilité des cellules souches greffées.

2) Lors de la phase tardive, la greffe de cellules souches limbiques (autogreffe, allogreffe, cel-

lules souches cultivées) reste la seule solution permettant d'espérer la récupération d'une surface oculaire normale. La greffe amniotique en revanche ne peut pas remplacer le limbe déficient et n'est plus indiquée seule à ce stade. Elle pourrait néanmoins être un facteur favorisant la réussite des greffes limbiques à ce stade.

(Au cours de cette première partie, nous rappellerons les propriétés de la membrane amniotique puis nous détaillerons son utilisation dans la prise en charge chirurgicale des brûlures chimiques au stade aigu.

Dans le prochain numéro, nous nous intéresserons dans un deuxième temps à la chirurgie reconstructrice des séquelles définitives de la surface oculaire après brûlure chimique et insisterons donc sur l'intérêt des greffes limbiques à ce stade).

Rappel sur la membrane amniotique

La membrane amniotique recouvre le placenta et le cordon ombilical et tapisse toute la cavité amniotique. La membrane amniotique est constituée d'un stroma avasculaire et d'une membrane basale épaisse composée de collagène IV et V et de lamiline. Les propriétés majeures de cette membrane basale sont de renforcer l'adhésion des cellules épithéliales basales, de faciliter la migration, la différenciation et l'adhésion des cellules épithéliales et de prévenir l'apoptose cellulaire épithéliale. La membrane amniotique contient de plus un certain nombre de facteurs de croissance (EGF, KGF,

HGF) capables de promouvoir encore plus la réépithélialisation cornéenne ; par sa capacité à inhiber la synthèse de TGF- β elle va pouvoir réguler et diminuer la cicatrisation stromale ; elle présente également des propriétés anti-angiogéniques et anti-inflammatoires. Enfin, la membrane amniotique a l'avantage de ne pas exprimer les antigènes d'histocompatibilité et n'entraîne de ce fait pas de réaction de rejet.

C'est De Rotth en 1940 qui fut le premier à l'utiliser en ophtalmologie dans le traitement des symblépharons et des défauts conjonctivaux, mais c'est depuis 1995 que Tseng et Tsubota ont repris et commencé à réévaluer cette technique dans le traitement des pathologies oculaires de surface et en particulier dans le cadre des brûlures cornéennes. En cas de destruction limbique importante, la greffe amniotique a montré qu'elle pouvait être un complément important des techniques d'auto ou d'allogreffe limbique.

La greffe amniotique n'est pas intégrée à long terme en tant que tissu, elle améliore la qualité de

l'épithélialisation puis disparaît progressivement.

La membrane amniotique est prélevée à l'occasion d'un accouchement par césarienne après réalisation des tests sérologiques habituels. Elle peut être conservée en congélation à -80° dans le laboratoire d'une banque de tissus pendant une durée de 4 à 12 mois. Elle sera délivrée après un nouveau contrôle des tests sérologiques chez la donneuse 4 mois après le prélèvement.

Prise en charge chirurgicale des brûlures chimiques au stade aigu (1 semaine) :

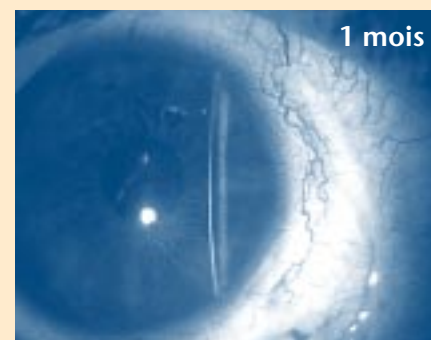
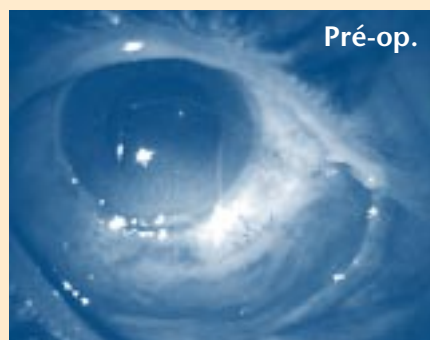
L'utilisation de la membrane amniotique au stade aigu des brûlures chimiques est une notion récente. Celle-ci ne sera proposée en général qu'en l'absence d'amélioration clinique malgré un traitement médical bien conduit pendant une durée d'une semaine. L'afflux des polynucléaires se produisant en deux phases au premier puis au septième jour, il nous paraît utile de ne pas attendre plus d'une

semaine avant de réaliser une greffe amniotique si l'ischémie du limbe et l'inflammation conjonctivale persistent, et en l'absence de toute cicatrisation épithéliale.

La technique chirurgicale consiste à réséquer toute la conjonctive pathologique. La membrane amniotique sera alors découpée aux dimensions de la zone mise à nu puis disposée épithélium vers le haut. Elle sera suturée à la conjonctive avoisinante à l'aide de fils résorbables. Il n'est en général à ce stade pas nécessaire de recouvrir la cornée désépithélialisée par la membrane amniotique. Lorsque la greffe permet d'améliorer l'environnement périlimbique, l'épithélialisation de la cornée se fait en une à deux semaines, parallèlement à la diminution progressive de l'inflammation.

Nous rapportons dans notre expérience 4 cas de brûlures chimiques entraînant une ischémie du limbe comprise entre 180° et 240° , traitées efficacement par cette technique (Figure 1).

Dans la littérature, Meller et al. rapportent 13 yeux présentant



▲ **Figure 1** : Patient opéré de greffe amniotique au stade aigu une semaine après brûlure chimique. Aspect préopératoire avec ulcération cornéenne, ischémie inférieure et nasale du limbe et opacité stromale inférieure. Membrane amniotique en place 1 semaine après l'intervention puis aspect à 1 mois post-opératoire avec disparition des signes inflammatoires, revascularisation du limbe et normalisation épithéliale.

Intérêt des greffes amniotiques et limbiques

1^{ère} partie (suite)

une brûlure chimique de grade II et III traités par une greffe amniotique au stade aigu. Onze yeux ont présenté une épithélialisation satisfaisante, évoluant entre 2 et 5 semaines. Dans certains cas, ils proposaient d'utiliser la greffe amniotique comme un patch recouvrant toute la surface oculaire ainsi que les cul-de-sacs conjonctivaux et la conjonctive palpébrale.

Prise en charge chirurgicale

des brûlures chimiques à un stade subaigu (entre 3 et 6 semaines) :

A ce stade, un certain nombre de patients présentent une ulcération épithéliale n'évoluant pas vers la cicatrisation. Les signes de déficit limbique avéré ne sont pas encore toujours évidents. Le renouvellement par les cellules souches est toutefois insuffisant pour permettre une cicatrisation normale de la cornée. La mise à nu prolongée du stroma participe au cercle vicieux d'aggravation de la destruction de la surface oculaire.

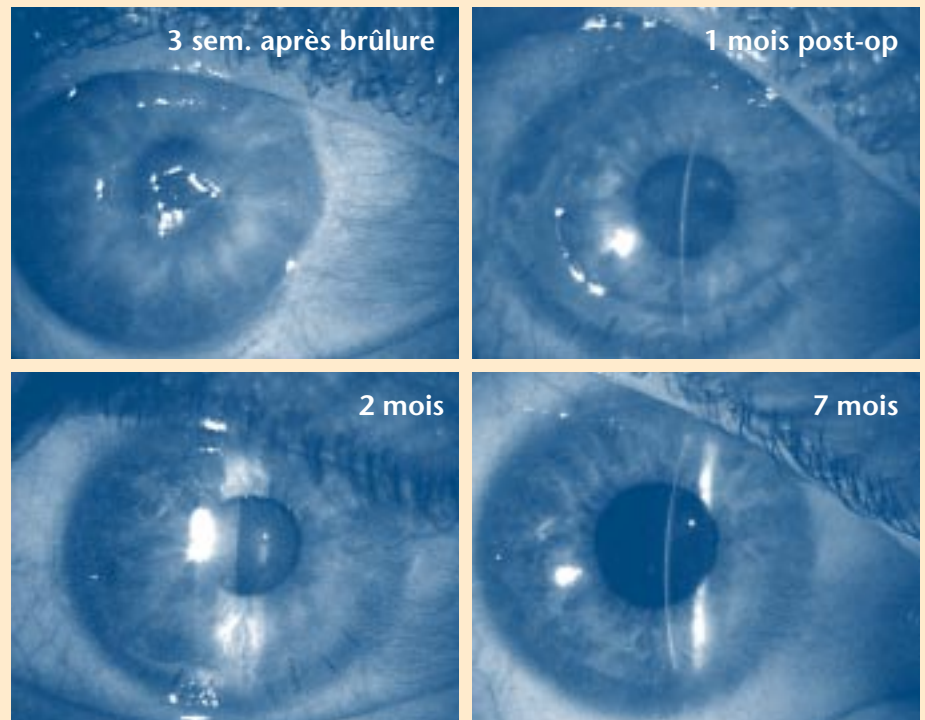
La membrane amniotique peut encore être essayée seule et dans ce cas sera fixée sur la surface de la cornée. La technique chirurgicale consiste à désépithélialiser la cornée pathologique puis à suturer la membrane amniotique sur la cornée face épithéliale vers le

haut. Celle-ci est maintenue à la cornée par des points séparés de nylon non résorbables.

Lorsque la conjonctive péri-limbique est toujours inflammatoire à ce stade, il est possible de la réséquer et d'associer à la première greffe amniotique un recouvrement amniotique par une deuxième membrane positionnée face épithéliale vers le bas, et suturée à l'épiscière en arrière du limbe par des points séparés de fil résorbable.

Dans une étude personnelle de 8 cas de brûlures chimiques traitées à ce stade, nous avons rapporté 37 % de succès (Figure 2). La membrane amniotique ne peut en effet pas toujours éviter l'évolution vers une néo-vascularisation progressive de toute la surface cornéenne, lorsque le limbe est atteint sur plus de 180°.

Suite de l'article dans Revoir 109



▲ Figure 2 : Patient présentant un ulcère persistant 3 semaines après brûlure chimique. La greffe amniotique a permis une bonne récupération de la surface cornéenne. Sept mois après, il persiste un reliquat de membrane en périphérie de même qu'une néo-vascularisation localisée au limbe sur 4 heures.

Informations locales Lot et Garonne

Après un essai fin 1999, une antenne de la Banque Française des Yeux est en création. Qui veut aider à la transformation de cet essai ? Chacun de nous peut devenir ambassadeur de la Banque Française des Yeux. Pour cela, il suffit de diffuser des formulaires.

Votre correspondant local, monsieur Jacques DAVID, est à votre disposition à l'adresse suivante :
Jacques David
25 rue Naissant - 4700 AGEN
Tel : 05 53 98 38 12.



▲ **Figure 1** : Patient présentant un aspect de déficit limbique 2 mois après brûlure chimique. Néovascularisation superficielle périphérique sur 360% et ulcération centrale persistante. Aspect à J1 d'un des 2 greffons limbiques. Aspect 6 mois plus tard avec une récupération stable de la surface oculaire puis aspect 2 ans après kératoplastie transfixiante.

Dr Marc Muraine – CHU de Rouen

Dans le numéro précédent de la revue REVOIR, nous avons rappelé les mécanismes de la destruction de la surface oculaire lors des brûlures chimiques. Nous avons rappelé les propriétés de la membrane amniotique et insisté sur l'intérêt des greffes de membrane amniotique lors de la prise en charge chirurgicale des brûlures chimiques oculaires au stade aigu.

Dans le numéro présent, nous vous proposons de nous intéresser à la chirurgie reconstructrice des séquelles définitives de la surface oculaire après brûlure chimique et insisterons donc sur l'intérêt des greffes limbiques à ce stade.

L'évolution clinique n'est malheureusement pas toujours favorable lors d'une brûlure chimique oculaire et les séquelles définitives sont parfois lourdes. Les patients présentent alors une cécité secondaire à l'apparition d'un voile vasculaire sur la cornée. Dans certains cas, il existe

également une ulcération persistante, ne cicatrisant pas spontanément. Dans tous ces cas, la greffe de cornée ne peut redonner de la vision au patient car les ulcérations et les néovaisseaux se reproduisent irrémédiablement sur la greffe. La cause initiale est, nous l'avons vu dans le numéro précédent de Revoir, la destruction des cellules germinatives de l'épithélium cornéen localisées au niveau du limbe.

Il est dans tous les cas nécessaire de reconstruire le limbe en apportant un pool suffisant de cellules souches limbiques afin de reconstituer un épithélium cornéen normal. C'est la place de la greffe de cellules souches limbiques, éventuellement associée à une greffe amniotique. Lorsque la brûlure est unilatérale, nous poserons l'indication d'une autogreffe limbique, prélevée sur l'œil sain.

Lorsque la pathologie est bilatérale, il n'est pas possible de prélever chez le même patient. Nous aurons alors recours à une allogreffe limbique prélevée soit sur un donneur décédé, soit sur un donneur apparenté, afin de diminuer les risques de rejet.

1) La greffe amniotique isolée au stade d'insuffisance limbique

Certains auteurs ont proposé d'utiliser une simple greffe de membrane amniotique chez les patients présentant un syndrome de déficience limbique partiel. Ils rapportent dans leur étude une évolution vers une épithélialisation cornéenne stable chez 17 patients avec un recul de 26 mois. Les conclusions de ce travail semblent conférer à la membrane amniotique un effet bénéfique sur les cellules souches encore viables à la surface de la cornée. Il est cependant difficile à la lecture de ce seul travail d'affirmer le rôle de la membrane amniotique et ce, d'autant plus, que nous ne l'avons que rarement retrouvé dans notre pratique clinique.

2) L'autogreffe limbique

Les principes de l'autogreffe limbique remontent aux années 90. Le principe est de retirer tous les vaisseaux recouvrant la cornée malade ainsi que la conjonctive en regard. Dans un 2^{ème} temps,

nous réalisons le prélèvement d'un fragment de limbe sur l'autre œil non brûlé. Ce fragment, riche en cellules souches viables est ensuite transféré puis suturé sur la cornée malade. Les soins post-opératoires consistent en l'instillation de collyres antibiotiques et corticoïdes jusqu'à épithélialisation cornéenne complète, en général 10 à 15 jours.

L'autogreffe limbique permet souvent une épithélialisation de qualité. Elle ne permet pas en revanche de corriger les opacités cornéennes plus profondes et une greffe de cornée est alors souvent nécessaire dans un second temps.

Suivant les études, le pourcentage de succès des autogreffes limbiques va de 75 à 100%. A quelques exceptions, le site du prélèvement sur l'œil sain cicatrise en général tout à fait normalement.

Les facteurs limitant la réussite de l'autogreffe limbique sont la quantité faible de limbe greffé car il n'est pas possible de prélever plus du 1/3 de la circonférence sur l'œil sain sous peine de déclencher de ce côté un tableau d'insuffisance limbique secondaire. Lorsque le limbe est détruit sur 360°, l'autogreffe limbique n'est donc malheureusement pas toujours suffisante pour reconstituer à elle seule une surface cornéenne normale.

Le 2^{ème} facteur limitant est la qualité de l'environnement péri-limbique et en particulier l'inflammation et la fibrose conjonctivale qui altèrent à la longue la viabilité des cellules souches greffées.

Certaines équipes ont proposé d'améliorer l'environnement autour du limbe greffé en y associant une greffe amniotique. Dans la mesure où les séries sont

limitées et en l'absence de séries comparatives, il est encore difficile d'affirmer l'effet bénéfique de la greffe amniotique dans cette indication.

► L'allogreffe limbique

Le principe de l'allogreffe limbique est de prélever les cellules souches limbiques chez un patient décédé. Cette technique a l'avantage de permettre la greffe d'une très grande quantité de cellules limbiques puisqu'elle peut être réalisée sur toute la circonférence de la cornée, en revanche elle entraîne forcément un risque de rejet qui n'existait pas dans l'autogreffe et impose la mise en route d'un traitement par cyclosporine en comprimés ou en collyres. Une autre possibilité est de prélever le limbe chez un donneur apparenté (frère, sœur, parents). L'avantage est de diminuer le risque de rejet, en revanche on ne peut prélever qu'une petite quantité de limbe afin de ne pas entraîner chez le donneur de déficit limbique secondaire.

Les quelques travaux publiés sur des petites séries, font état de bons résultats à un an avec une bonne épithélialisation dans 75 à 100% des cas. Les bons résultats publiés après allogreffe limbique doivent cependant être tempérés car le succès diminue en revanche quelques années plus tard avec un taux de succès d'environ 50 % à 3 ans en raison de l'apparition de rejet des allogreffes ou de défaillance des cellules germinatives.

Il semble donc nécessaire de trouver des solutions diminuant le

risque de rejet de ces allogreffes limbiques, soit en réalisant des greffes HLA compatibles, soit en mettant au point une immunosuppression plus efficace.

Il est également vraisemblable que la persistance d'une inflammation chronique conjonctivale périlimbique dans certains cas explique la perte progressive des cellules limbiques greffées. C'est dans le but d'améliorer l'environnement de la greffe limbique que certains auteurs ont proposé de lui associer une greffe amniotique. Malgré un taux de succès de 83 % à 15 mois, la participation de la greffe amniotique est encore mal définie dans ce type d'indication.

► Greffe d'épithélium cornéen cultivé

Depuis quelques années déjà, de nouveaux espoirs apparaissent dans le traitement des destructions de la surface oculaire retrouvées lors des brûlures chimiques de la cornée avec les premiers cas rapportés de greffe d'épithélium cornéen cultivé.

Le principe est de prélever un petit fragment de limbe au niveau de l'œil sain d'1 mm sur 2, puis de le transférer sur un support (membrane amniotique ou fibrine) afin de le cultiver. Après quelques jours de culture, on obtient une expansion cellulaire de 2 à 3 cm de diamètre. Il est alors possible de greffer cet épithélium cornéen ainsi que les cellules souches sur l'œil pathologique après avoir débridé toute la surface oculaire.

Intérêt des greffes amniotiques et limbiques

2^e partie (suite)

Tsai rapporte le cas de 6 patients traités avec succès avec cette technique. Rama et Pellegrini rapportent en 2001, le cas de 14 patients sur 18 traités avec succès par ce type de technique. Il retrouve une épithélialisation en 7 jours et une diminution de l'inflammation en 3 à 4 semaines.

L'intérêt de cette technique est qu'il s'agit d'une greffe autologue. Il n'existe donc pas de rejet et il n'est pas nécessaire d'instituer de traitement immuno-suppresseur. De plus le prélèvement sur l'œil sain est minime et n'entraîne qu'un traumatisme faible. En cas d'atteinte bilatérale empêchant tout prélèvement autologue, il est également possible de réaliser un prélèvement minime chez un donneur vivant apparenté.

Reconstruction conjonctivale et greffe amniotique

Une autre utilisation possible de la greffe amniotique est son intérêt dans la reconstruction conjonctivale au stade séquellaire puisqu'elle peut permettre de traiter un certain nombre de cicatrices conjonctivales et palpébrales. Dans ce cas, la technique est de disséquer la bride cicatricielle puis de juxtaposer un greffon amniotique que l'on va suturer à la conjonctive avoisinante. Suivant les cas, on maintiendra le cul-de-sac conjonctival à l'aide de sutures extériorisées à la peau, ou en interposant dans le cul-de-sac un conformateur troué en son centre.

La greffe amniotique ne permet dans notre utilisation que de traiter des brides cicatricielles localisées et lorsque l'inflammation de

la surface oculaire est encore modérée. Dans le cas contraire, il se produit de nouveau une adhérence imposant alors une chirurgie par greffe de muqueuse buccale.

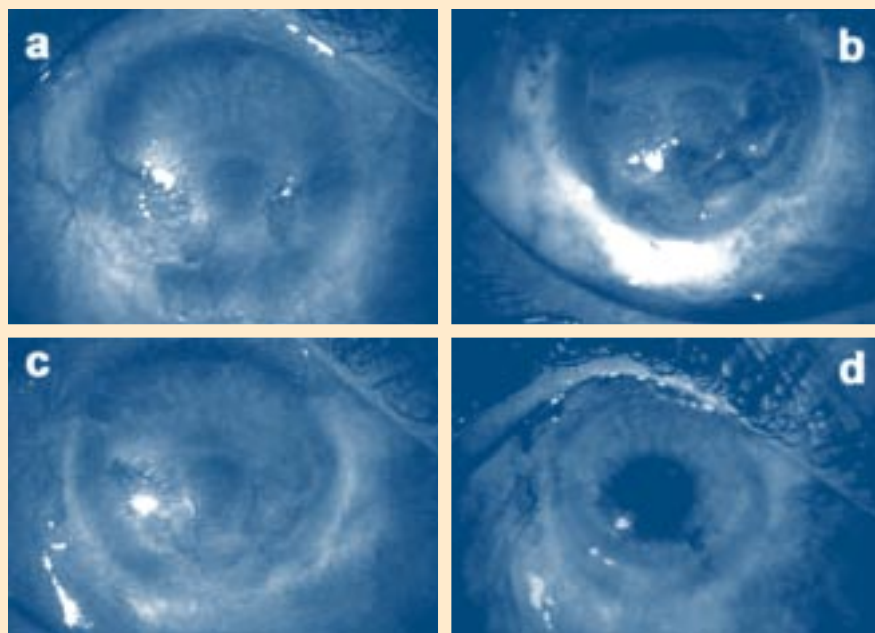
Conclusion

Nous confirmons l'intérêt de la greffe amniotique à la phase aiguë ou subaiguë des brûlures chimiques de la surface oculaire. Celle-ci permet, à un stade où le limbe n'est pas encore totalement détruit, d'améliorer rapidement l'environnement inflammatoire, d'éviter souvent l'évolution vers sa dégradation définitive et de normaliser alors la surface oculaire.

Au stade séquellaire, il est nécessaire de réaliser une greffe de cellules souches limbiques après diminution de l'inflammation conjonctivale, en y associant ou non une greffe amniotique. On réalisera si possible une autogreffe limbique dont les résultats sont souvent meilleurs car les taux de succès des allogreffes limbiques diminuent rapidement avec les années en raison du risque important de rejet.

L'avenir et les espoirs reposent sur les greffes de cellules souches cultivées dont les premiers résultats semblent prometteurs.

Quelles que soient les techniques chirurgicales proposées, le pronostic est cependant encore très réservé pour les brûlures sévères lorsque le limbe cornéo-scléral est détruit sur 360°.



▲ Figure 2 :

- (a) Brûlure chimique au stade séquellaire avec gros déficit limbique. Aspect à 1 mois
- (b) et 1 an
- (c) après allogreffe limbique.
- (d) aspect 2 ans après kératoplastie transfixiante.