



**HAL**  
open science

# Impact de la déturgescence en dextran sur la perte cellulaire endothéliale post DMEK

Kristina Dieudonné

► **To cite this version:**

Kristina Dieudonné. Impact de la déturgescence en dextran sur la perte cellulaire endothéliale post DMEK. Médecine humaine et pathologie. 2024. dumas-04791482

**HAL Id: dumas-04791482**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04791482v1>**

Submitted on 19 Nov 2024

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**UFR DE SANTÉ DE ROUEN NORMANDIE**

ANNÉE 2024

**THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE**

(Diplôme d'État)

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 16 OCTOBRE 2024

Par

**Kristina DIEUDONNÉ**

Née le 11 Mai 1996 à Mont Saint Aignan

**IMPACT DE LA DÉTURGESCENCE EN DEXTRAN  
SUR LA PERTE CELLULAIRE ENDOTHÉLIALE POST DMEK**

**PRÉSIDENT DU JURY :**

Professeur Marc Muraine

**DIRECTEUR DE THÈSE :**

Professeur Marc Muraine

**MEMBRES DU JURY :**

Professeur Julie Gueudry

Docteur Céline Tyburn

**ANNÉE UNIVERSITAIRE 2023 - 2024**

**U.F.R. SANTÉ DE ROUEN**

-----

DOYEN : **Professeur Benoît VEBER**

ASSESEURS : **Professeur Loïc FAVENNEC**  
**Professeur Agnès LIARD**  
**Professeur Guillaume SAVOYE**

**I - MÉDECINE**

**PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS – PRATICIENS HOSPITALIERS**

Mme Najate <b>ACHAMRAH</b>	HCN	Nutrition
Mr Frédéric <b>ANSELME</b>	HCN	Cardiologie
Mme Gisèle <b>APTER</b>	Havre	Pédopsychiatrie
Mme Isabelle <b>AUQUIT AUCKBUR</b>	HCN	Chirurgie plastique
Mr Jean-Marc <b>BASTE</b>	HCN	Chirurgie Thoracique
Mr Fabrice <b>BAUER</b>	HCN	Cardiologie
Mme Soumeya <b>BEKRI</b>	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mr Ygal <b>BENHAMOU</b>	HCN	Médecine interne
Mr Jacques <b>BENICHOU</b>	HCN	Bio statistiques et informatique médicale
Mr Emmanuel <b>BESNIER</b>	HCN	Anesthésiologie - Réanimation
Mr Olivier <b>BOYER</b>	UFR	Immunologie
Mme Valérie <b>BRIDOUX HUYBRECHTS</b>	HCN	Chirurgie Digestive
Mme Sophie <b>CANDON</b>	HCN	Immunologie
Mr François <b>CARON</b>	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
Mr Philippe <b>CHASSAGNE</b>	HCN	Médecine interne (gériatrie)
Mr Thomas <b>CLAVIER</b>	HCN	Anesthésie-Réanimation
Mr Florian <b>CLATOT</b>	CB	Cancérologie – Radiothérapie
Mr Moïse <b>COEFFIER</b>	HCN	Nutrition
Mr Vincent <b>COMPERE</b> chirurgicale	HCN	Anesthésiologie et réanimation
Mr Jean-Nicolas <b>CORNU</b>	HCN	Urologie
Mr Antoine <b>CUVELIER</b>	HB	Pneumologie

Mr Jean-Nicolas <b>DACHER</b>	HCN	Radiologie et imagerie médicale
Mr Stéfan <b>DARMONI</b> communication	HCN	Informatique médicale et techniques de
Mr Pierre <b>DECHELOTTE</b>	HCN	Nutrition
Mme Sophie <b>DENEUVE</b>	HCN	ORL
Mr Stéphane <b>DERREY</b>	HCN	Neurochirurgie
Mr Frédéric <b>DI FIORE</b>	CHB	Cancérologie
Mr Fabien <b>DOGUET</b> ( <i>disponibilité</i> )	HCN	Chirurgie Cardio Vasculaire
Mr Franck <b>DUJARDIN</b>	HCN	Chirurgie orthopédique - Traumatologique
Mr Fabrice <b>DUPARC</b> traumatologique	HCN	Anatomie - Chirurgie orthopédique et
Mr Eric <b>DURAND</b>	HCN	Cardiologie
Mme Hélène <b>ELTCHANINOFF</b>	HCN	Cardiologie
Mr Manuel <b>ETIENNE</b>	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
Mr Jean François <b>GEHANNO</b>	HCN	Médecine et santé au travail
Mr Emmanuel <b>GERARDIN</b>	HCN	Imagerie médicale
Mme Priscille <b>GERARDIN</b>	HCN	Pédopsychiatrie
M. Guillaume <b>GOURCEROL</b>	HCN	Physiologie
Mr Dominique <b>GUERROT</b>	HCN	Néphrologie
Mme Julie <b>GUEUDRY</b>	HCN	Ophtalmologie
Mr Olivier <b>GUILLIN</b>	HCN	Psychiatrie Adultes
Mr Florian <b>GUISIER</b>	HCN	Pneumologie
Mr Claude <b>HOUDAYER</b>	HCN	Génétique
Mr Vivien <b>HEBERT</b>	HCN	Dermatologie
Mr Fabrice <b>JARDIN</b>	CHB	Hématologie
Mr Luc-Marie <b>JOLY</b>	HCN	Médecine d'urgence
Mr Pascal <b>JOLY</b>	HCN	Dermato – Vénérologie
Mme Bouchra <b>LAMIA</b>	Havre	Pneumologie
Mr Hervé <b>LEFEBVRE</b>	HB	Endocrinologie et maladies métaboliques
Mr Thierry <b>LEQUERRE</b>	HCN	Rhumatologie
Mme Anne-Marie <b>LEROI</b>	HCN	Physiologie
Mr Hervé <b>LEVESQUE</b>	HCN	Médecine interne
Mme Agnès <b>LIARD-ZMUDA</b>	HCN	Chirurgie Infantile
Mr Pierre Yves <b>LITZLER</b>	HCN	Chirurgie cardiaque
M. David <b>MALTETE</b>	HCN	Neurologie
M. Florent <b>MARGUET</b>	HCN	Histologie
Mr Christophe <b>MARGUET</b>	HCN	Pédiatrie
Mme Isabelle <b>MARIE</b>	HCN	Médecine interne

Mr Jean-Paul <b>MARIE</b>	HCN	Oto-rhino-laryngologie
Mr Stéphane <b>MARRET</b>	HCN	Pédiatrie
Mme Véronique <b>MERLE</b> ( <i>disponibilité</i> )	HCN	Epidémiologie
Mr Pierre <b>MICHEL</b>	HCN	Hépatogastro-entérologie
M. Benoit <b>MISSET</b> ( <i>détachement</i> )	HCN	Réanimation Médicale
Mr Marc <b>MURAINÉ</b>	HCN	Ophtalmologie
Mr Gaël <b>NICOLAS</b>	UFR	Génétique
Mr Mourad <b>OULD SLIMANE</b>	HCN	Chirurgie Orthopédique
Mr Christian <b>PFISTER</b>	HCN	Urologie
Mr Jean-Christophe <b>PLANTIER</b>	HCN	Bactériologie - Virologie
Mr Didier <b>PLISSONNIER</b>	HCN	Chirurgie vasculaire
Mr Gaëtan <b>PREVOST</b>	HCN	Endocrinologie
Mr Jean-Christophe <b>RICHARD</b> ( <i>détachement</i> ) d'urgence	HCN	Réanimation médicale - Médecine d'urgence
Mr Vincent <b>RICHARD</b>	UFR	Pharmacologie
Mme Nathalie <b>RIVES</b> reproduction	HCN	Biologie du développement et de la reproduction
Mr Frédéric <b>ROCA</b>	HCN	Médecine Gériatrique
Mr Horace <b>ROMAN</b> ( <i>détachement</i> )	HCN	Gynécologie - Obstétrique
Mr Jean-Christophe <b>SABOURIN</b>	HCN	Anatomie – Pathologie
Mr Mathieu <b>SALAUN</b>	HCN	Pneumologie
Mr Guillaume <b>SAVOYE</b>	HCN	Hépatogastro-entérologie
Mme Céline <b>SAVOYE-COLLET</b>	HCN	Imagerie médicale
Mme Pascale <b>SCHNEIDER</b>	HCN	Pédiatrie
Mr Lilian <b>SCHWARZ</b>	HCN	Chirurgie Viscérale et Digestive
Mme Fabienne <b>TAMION</b>	HCN	Réanimation médicale
Mr Luc <b>THIBERVILLE</b>	HCN	Pneumologie
Mr Sébastien <b>THUREAU</b>	CB	Radiothérapie
M. Gilles <b>TOURNEL</b>	HCN	Médecine Légale
Mr Olivier <b>TROST</b>	HCN	Anatomie -Chirurgie Maxillo-Faciale
Mr Jean-Jacques <b>TUECH</b>	HCN	Chirurgie digestive
Mr Benoît <b>VEBER</b> chirurgicale	HCN	Anesthésiologie - Réanimation
Mr Pierre <b>VERA</b>	CHB	Biophysique et traitement de l'image
Mr Eric <b>VERIN</b> Réadaptation	Les Herbiers	Médecine Physique et de Réadaptation
Mr Eric <b>VERSPYCK</b>	HCN	Gynécologie obstétrique
Mr Olivier <b>VITTECOQ</b>	HCN	Rhumatologie
Mr David <b>WALLON</b>	HCN	Neurologie

Mme Marie-Laure **WELTER** HCN Physiologie

**MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS**

Mme Elodie **ALESSANDRI-GRADT** HCN Virologie  
Mr Kévin **ALEXANDRE** HCN Maladies Infectieuses et Tropicales  
Mme Noëlle **BARBIER-FREBOURG** HCN Bactériologie – Virologie  
Mme Carole **BRASSE LAGNEL** HCN Biochimie  
Mr Gérard **BUCHONNET** HCN Hématologie  
Mme Mireille **CASTANET** HCN Pédiatrie  
Mr Damien **COSTA** HCN Parasitologie  
Mme Ivana **DABAJ** HCN Pédiatrie  
Mme Charlotte **DESPREZ** HCN Physiologie  
Mr Pierre **DECAZES** CB Médecine Nucléaire  
Mr Maxime **FONTANILLES** GHH Oncologie Médicale  
M. Vianney **GILARD** (*disponibilité*) HCN Neurochirurgie  
Mr Serge **JACQUOT** UFR Immunologie  
Mr Joël **LADNER** HCN Epidémiologie, économie de la santé  
Mr Jean-Baptiste **LATOUCHE** UFR Biologie cellulaire  
Mme Chloé **MELCHIOR** HCN Hépto-gastro-entérologie  
M. Sébastien **MIRANDA** HCN Médecine Vasculaire  
Mr Thomas **MOUREZ** (*détachement*) HCN Virologie  
Mme Muriel **QUILLARD** HCN Biochimie et biologie moléculaire  
Mme Laëtitia **ROLLIN** HCN Médecine du Travail  
Mme Maud **ROTHARME** HCN Psychiatrie Adultes  
Mme Mélanie **ROUSSEL** HCN Médecine d'Urgences  
Mme Pascale **SAUGIER-VEBER** HCN Génétique  
M. Abdellah **TEBANI** HCN Biochimie et Biologie Moléculaire  
Mme Anne-Claire **TOBENAS-DUJARDIN** HCN Anatomie  
Mr Julien **WILS** HCN Pharmacologie

**PROFESSEUR AGREGE OU CERTIFIE**

Mme Noémie **MARIE** UFR Communication  
Mr Thierry **WABLE** UFR Communication  
Mme Mélanie **AUVRAY-HAMEL** UFR Anglais  
Mme Cécile **POTTIER-LE GUELLEC** UFR Anglais

## II – PHARMACIE

### PROFESSEURS DES UNIVERSITES

Mr Jérémy <b>BELLIEN</b> (PU-PH)	Pharmacologie
Mr Thierry <b>BESSON</b>	Chimie Thérapeutique
Mr Jean <b>COSTENTIN</b> (Professeur émérite)	Pharmacologie
Mme Isabelle <b>DUBUS</b>	Biochimie
Mr Abdelhakim <b>EL OMRI</b>	Pharmacognosie
Mr François <b>ESTOUR</b>	Chimie Organique
Mr Loïc <b>FAVENNEC</b> (PU-PH)	Parasitologie
Mr Jean Pierre <b>GOULLE</b> (Professeur émérite)	Toxicologie
Mme Christelle <b>MONTEIL</b>	Toxicologie
Mme Martine <b>PESTEL-CARON</b> (PU-PH)	Microbiologie
Mme Malika <b>SKIBA</b>	Pharmacie galénique
Mr Rémi <b>VARIN</b> (PU-PH)	Pharmacie clinique
Mr Jean-Marie <b>VAUGEOIS</b>	Pharmacologie
Mr Philippe <b>VERITE</b>	Chimie analytique

### MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

Mme Margueritta <b>AL ZALLOUHA</b>	Toxicologie
Mme Cécile <b>BARBOT</b>	Chimie Générale et Minérale
Mr Paul <b>BILLOIR</b> (MCU-PH)	Hématologie Biologique
Mr Frédéric <b>BOUNOURE</b>	Pharmacie Galénique
Mr Thomas <b>CASTANHEIRO MATIAS</b>	Chimie Organique
Mr Abdeslam <b>CHAGRAOUI</b>	Physiologie
Mme Camille <b>CHARBONNIER (LE CLEZIO)</b> (MCU-PH)	Statistiques
Mme Elizabeth <b>CHOSSON</b>	Botanique
Mme Marie Catherine <b>CONCE-CHEMTOB</b> de la santé	Législation pharmaceutique et économie
Mr Romain <b>COPPEE</b>	Bio-Informatique
Mme Cécile <b>CORBIERE</b>	Biochimie
Mme Sandrine <b>DAHYOT</b> (MCU-PH)	Bactériologie
Mme Isabelle <b>DUBUC</b>	Pharmacologie
Mr Thomas <b>DUFLOT</b> (MCU-PH)	Pharmacologie
Mr Gilles <b>GARGALA</b> (MCU-PH)	Parasitologie

Mr Henri <b>GONDÉ</b> (MCU-PH)	Pharmacie
Mme Nejla <b>EL GHARBI-HAMZA</b>	Chimie analytique
Mr Chervin <b>HASSEL</b>	Virologie
Mme Maryline <b>LECOINTRE</b>	Physiologie
Mme Hong <b>LU</b>	Biologie
Mme Marine <b>MALLETER</b>	Biologie Cellulaire
M. Jérémie <b>MARTINET</b> (MCU-PH)	Immunologie
Mr Valentin <b>PLATEL</b>	Pharmacologie
M. Romy <b>RAZAKANDRAINIBÉ</b>	Parasitologie
Mme Tiphaine <b>ROGEZ-FLORENT</b>	Chimie analytique
Mr Mohamed <b>SKIBA</b>	Pharmacie galénique

### **PROFESSEURS ASSOCIES**

Mme Caroline <b>BERTOUX</b>	Pharmacie officinale
M. Charles <b>CALTOT</b>	DEUST Pharmacie
Mme Cécile <b>GUERARD-DETUNCQ</b>	Pharmacie officinale
Mme Christine <b>HAIMET-LEROY</b>	DEUST Pharmacie
Mme Lucile <b>LOUIN</b>	DEUST Officine
Mme Stéphanie <b>LAMOUREUX</b>	DEUST Pharmacie
M. Damien <b>SALAUZE</b>	Pharmacie industrielle

### **PAU-PH**

M. Pierre <b>BOHN</b>	Radiopharmacie
M. Mikaël <b>DAOUPHARS</b>	Pharmacie

### **PROFESSEUR CERTIFIE**

Mme Mathilde <b>GUERIN</b>	Anglais
----------------------------	---------

### **ASSISTANTS HOSPITALO-UNIVERSITAIRES**

M. Eric <b>BARAT</b>	Pharmacie
Mme Marine <b>CAVELIER</b>	Pharmacie
M. Guillaume <b>FEUGRAY</b>	Biochimie Générale
M. Romain <b>LEGUILLON</b>	Pharmacie

## LISTE DES RESPONSABLES DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES

Mme Cécile <b>BARBOT</b>	Chimie Générale et minérale
Mr Thierry <b>BESSON</b>	Chimie thérapeutique
Mr Abdeslam <b>CHAGRAOUI</b>	Physiologie
Mme Elisabeth <b>CHOSSON</b>	Botanique
Mme Marie-Catherine <b>CONCE-CHEMTOB</b>	Législation et économie de la santé
Mme Isabelle <b>DUBUS</b>	Biochimie
Mr Abdelhakim <b>EL OMRI</b>	Pharmacognosie
Mr François <b>ESTOUR</b>	Chimie organique
Mr Loïc <b>FAVENNEC</b>	Parasitologie
Mme Christelle <b>MONTEIL</b>	Toxicologie
Mme Martine <b>PESTEL-CARON</b>	Microbiologie
Mr Mohamed <b>SKIBA</b>	Pharmacie galénique
Mr Rémi <b>VARIN</b>	Pharmacie clinique
M. Jean-Marie <b>VAUGEOIS</b>	Pharmacologie
Mr Philippe <b>VERITE</b>	Chimie analytique

### III – ODONTOLOGIE

#### **PROFESSEURS DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS**

Mme Rénata **KOZYRAKI**

#### **MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS**

Mme Anne-Charlotte **BAS**

#### **MAST**

Mme Isabelle **FONTANILLES**

Mr Romain **JACQ**

Mr Benjamin **SOMMAIRE**

## IV – MEDECINE GÉNÉRALE

### PROFESSEUR MEDECINE GÉNÉRALE

Mr Matthieu **SCHUERS** (PU-MG) UFR Médecine générale

### PROFESSEURS ASSOCIES A MI-TEMPS – MÉDECINS GÉNÉRALISTES

Mr Pascal **BOULET** UFR Médecine générale

Mr Emmanuel **HAZARD** UFR Médecine Générale

Mr Emmanuel **LEFEBVRE** UFR Médecine Générale

Mme Lucille **PELLERIN** UFR Médecine Générale

Mme Yveline **SEVRIN** UFR Médecine générale

### MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES A MI-TEMPS – MÉDECINS GÉNÉRALISTES

Mme Blandine **BILLET** UFR Médecine Générale

Mr Julien **BOUDIER** UFR Médecine Générale

Mme Laëtitia **BOURDON** UFR Médecine Générale

Mme Elsa **FAGOT-GRIFFIN** UFR Médecine Générale

Mme Ségolène **GUILLEMETTE** UFR Médecine Générale

Mr Frédéric **RENOU** UFR Médecine Générale

Mme Charlotte **SIEFRIDT** UFR Médecine Générale

## ENSEIGNANTS MONO-APPARTENANTS

### PROFESSEURS

Mr Sahil <b>ADRIOUCH</b> (med) Inserm 905)	Biochimie et biologie moléculaire (Unité)
Mr Paul <b>MULDER</b> (phar)	Sciences du Médicament
Mme Su <b>RUAN</b> (med)	Génie Informatique

### MAITRES DE CONFERENCES

Mr Jonathan <b>BRETON</b> (med)	Nutrition
Mme Gaëlle <b>BOUGEARD-DENOYELLE</b> (med) 1079)	Biochimie et biologie moléculaire (UMR
Mme Carine <b>CLEREN</b> (med)	Neurosciences (Néovasc)
M. Sylvain <b>FRAINEAU</b> (med)	Physiologie (Inserm U 1096)
Mme Pascaline <b>GAILDRAT</b> (med) 1079)	Génétique moléculaire humaine (UMR
Mme Rachel <b>LETELLIER</b> (med)	Physiologie
Mr Loïc <b>MARTIN</b>	Sciences Rééducation et Réadaptation
Mr Antoine <b>OUVRARD-PASCAUD</b> (med)	Physiologie (Unité Inserm 1076)
Mr Frédéric <b>PASQUET</b>	Sciences du langage, orthophonie
Mme Anne-Sophie <b>PEZZINO</b>	Orthophonie
Mme Christine <b>RONDANINO</b> (med)	Physiologie de la reproduction
Mr Youssan Var <b>TAN</b>	Immunologie
Mme Isabelle <b>TOURNIER</b> (med)	Biochimie (UMR 1079)

### PAU

Mme Léopoldine <b>DEHEINZELIN</b>	Orthophonie
Mme Séverine <b>ROBERT</b>	Orthophonie

### **DIRECTEUR ADMINISTRATIF : M. Jean-Sébastien VALET**

*HCN - Hôpital Charles Nicolle*

*HB - Hôpital de BOIS GUILLAUME*

*CB - Centre Henri Becquerel*

*CHS - Centre Hospitalier Spécialisé du Rouvray*

*CRMPR - Centre Régional de Médecine Physique et de Réadaptation SJ – Saint Julien Rouen*

*Par délibération en date du 3 mars 1967, la faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.*

## SERMENT D'HIPPOCRATE

*“Au moment d’être admise à exercer la médecine, je promets et je jure d’être fidèle aux lois de l’honneur et de la probité.*

*Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.*

*Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J’interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l’humanité.*

*J’informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences.*

*Je ne tromperai jamais leur confiance et n’exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.*

*Je donnerai mes soins à l’indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.*

*Admise dans l’intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçue à l’intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.*

*Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.*

*Je préserverai l’indépendance nécessaire à l’accomplissement de ma mission. Je n’entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.*

*J’apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu’à leurs familles dans l’adversité.*

*Que les hommes et mes confrères m’accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonorée et méprisée si j’y manque.”*

## ABRÉVIATIONS

ABM : Agence de la biomédecine

ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé

BLT : Bowman layer transplantation

BSS : Balanced salt solution

CE : Cellule endothéliale

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

DALK : Deep anterior lamellar keratoplasty

DCE : Densité cellulaire endothéliale

DMEK : Descemet membrane endothelial keratoplasty

DMEK : Greffe endothéliodescemétique

DSAEK : Kératoplastie endothéliale automatisée de Descemet

DSEK : Descemet stripping endothelial keratoplasty

DSO : Descemet stripping only

DWEK : Descemet without endothelial keratoplasty

GMA : Greffe de membrane amniotique

HEC : Hoechst-33342, Éthidium homodimère, Calcéine-AM

HES : Hématoxyline, Éosine, Safran

HRT : Heidelberg Retina Tomography

MAVC : Meilleure acuité visuelle corrigée

PK : Penetrating keratoplasty

PKE : Phacoémulsification

PKT : Photokératectomie thérapeutique

SALK : Superficial anterior lamellar keratoplasty

SCUBA : Submerged corneas using backgrounds aways

# TABLE DES MATIÈRES

<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>1</b>
<b>RAPPELS</b> .....	<b>3</b>
I. La cornée.....	3
A. L'anatomie et la physiologie .....	3
B. L'endothélium cornéen .....	7
II. La dystrophie endothéliale de Fuchs .....	14
A. L'historique .....	14
B. L'épidémiologie.....	14
C. La physiopathologie .....	14
D. La clinique et les examens complémentaires.....	15
E. Les traitements.....	17
III. La DMEK (Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty) .....	18
A. L'historique .....	18
B. La définition .....	18
C. Les indications.....	19
D. Les techniques chirurgicales .....	19
E. Les résultats et les complications.....	21
IV. Les greffons cornéens .....	23
A. L'aspect réglementaire .....	23
B. Les sélections des donneurs.....	23
C. Les techniques de prélèvement .....	24
D. La conservation et la déturgescence.....	26
E. Les contrôles de qualité et de sécurité.....	28
<b>ÉTUDE CLINIQUE</b> .....	<b>31</b>
I. Objectif de l'étude .....	31
II. Matériels et méthodes .....	31
A. L'étude prospective .....	31
B. L'étude rétrospective .....	33
C. L'analyse statistique .....	34
III. Résultats .....	34
A. L'étude prospective .....	34
B. L'étude rétrospective .....	39
IV. Discussion .....	44
A. La confrontation avec la littérature .....	44
B. Les forces et les limites de l'étude .....	47
<b>CONCLUSION</b> .....	<b>48</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE</b> .....	<b>49</b>

## TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1 : Anatomie du globe oculaire. <i>D'après www.cancerdesyeux.fr.(3)</i> .....	3
Figure 2 : Les couches de la cornée. <i>D'après www.centre-cornee-keratocone.com.(5)</i> .....	4
Figure 3 : Cornée entière en microscopie optique, coloration HES. <i>D'après Anatomie de la cornée.(2)</i>	5
Figure 4 : Épithélium cornéen en microscopie optique, coloration HES (à gauche) et en microscopie électronique, x220 (à droite). <i>D'après Anatomie de la cornée.(2)</i> .....	5
Figure 5 : Couche de Bowman en microscopie électronique, x10 000. <i>D'après Anatomie de la cornée.(2)</i> .....	5
Figure 6 : Stroma cornéen en microscopie optique, coloration HES (à gauche) et en microscopie électronique, x 720 (à droite). <i>D'après Anatomie de la cornée.(2)</i> .....	6
Figure 7 : Jonction entre le stroma et la membrane de Descemet en microscopie électronique. <i>D'après Anatomie de la cornée.(2)</i> .....	6
Figure 8 : Nerfs cornéens, photographie en HRT. <i>D'après Anatomie de la cornée.(2)</i> .....	7
Figure 9 : Endothélium cornéen en microscopie optique, coloration HES (à gauche) et en microscopie électronique, x 2200 (à droite). <i>D'après Anatomie de la cornée.(2)</i> .....	8
Figure 10 : Endothélium cornéen en microscopie confocale (à gauche), nid d'abeille. <i>D'après Anatomie de la cornée(2) et https://www.sciencesetavenir.fr(8)</i> .....	8
Figure 11 : Schéma de la pompe endothéliale. <i>D'après The Physiology of Cornea.(10)</i> .....	9
Figure 12 : Réparation endothéliale par migration et élargissement. <i>D'après L'endothélium cornéen.(9)</i> .....	10
Figure 13 : Kératopathie bulleuse. <i>D'après le CHU de Rouen.</i> .....	11
Figure 14 : Observation de l'endothélium cornéen à la lampe à fente. <i>D'après le CHU de Rouen.</i> .....	11
Figure 15 : Microscopie spéculaire d'une cornée normale. <i>D'après le CHU de Rouen.</i> .....	12
Figure 16 : Greffon cornéen avec endothélium prédécoupé selon la technique d'hydrodissection Muraine, en microscopie à fluorescence, triple coloration HEC. Deux filtres de fluorescence ont été utilisés (Pour Hoechst et Calcein). <i>D'après le CHU de Rouen.</i> .....	13
Figure 17 : Verrucosités descémétiques (flèches) en histologie et en microscopie électronique. <i>D'après Dystrophies cornéennes.(24)</i> .....	15
Figure 18 : Dystrophie de Fuchs en lampe à fente. <i>D'après le CHU de Rouen.</i> .....	16
Figure 19 : Dystrophie de Fuchs en OCT. <i>D'après le CHU de Rouen.</i> .....	16
Figure 20 : Dystrophie de Fuchs en microscopie spéculaire. <i>D'après le CHU de Rouen</i> .....	16
Figure 21 : Arbre décisionnel thérapeutique lorsque l'endothélium cornéen d'une dystrophie de Fuchs est défaillant. <i>D'après Dystrophies cornéennes.(24)</i> .....	17
Figure 22 : Représentation schématique des différents types de kératoplastie endothéliale. <i>D'après Corneal Endothelial Transplantation.(34)</i> .....	18
Figure 23 : Technique d'hydrodissection de Muraine. <i>D'après le CHU de Rouen.</i> .....	20
Figure 24 : Dystrophie de Fuchs avant et 2 mois après DMEK. <i>D'après le CHU de Rouen.</i> .....	21

Figure 25 : Graphique montrant la DCE jusqu'à 24 mois après DMEK. <i>D'après Peraza-Nieves, et al.(42)</i> .....	21
Figure 26 : Décollement du greffon. <i>D'après le CHU de Rouen.</i> .....	22
Figure 27 : Rejet de DMEK. <i>D'après le CHU de Rouen.</i> .....	22
Figure 28 : Normes minimales consensuelles de la Eye Bank Association of America sur les contre- indications au don de cornée thérapeutique. <i>D'après l'EBAA.(46)</i> .....	24
Figure 29 : Prélèvement de cornée. <i>D'après le CHU de Rouen.</i> .....	25
Figure 30 : Milieux de culture cellulaire actuellement disponibles en France : Eurobio (à gauche) et Alchimia-Moria (à droite).....	27
Figure 31 : Observations des plis endothéliaux en organoculture, responsables de zones de mortalité cellulaire endothéliale (flèche rouge). (A gauche : coloration bleu trypan, au milieu : coloration Calcein AM, à droite : noyaux cellulaires colorés par Hoechst 33342. <i>D'après le CHU et la banque de cornée de Saint-Etienne.</i> .....	27
Figure 32 : Cellules endothéliales en microscopie électronique à transmission x 2000. A : greffon non déturgé. B : greffon déturgé en dextran. De nombreuses vacuoles cytoplasmiques étaient présentes. <i>D'après Yoeruek et al.(54)</i> .....	28
Figure 33 : Photographie d'un endothélium avec contrôle de la DCE à la banque de cornée. <i>D'après le CHU de Rouen.</i> .....	30
Figure 34 : Frise chronologique du protocole. ....	32
Figure 35 : Graphique représentant la perte de DCE à 2 mois post opératoire dans chaque groupe. .	35
Figure 36 : Graphique représentant la DCE à 2 mois post opératoire en fonction de la DCE avant greffe. .....	36
Figure 37 : Graphique représentant la pachymétrie à 2 mois post opératoire dans chaque groupe ....	37
Figure 38 : Graphique représentant la perte de DCE à 2 mois post opératoire dans chaque groupe. .	40
Figure 39 : Graphique représentant la pachymétrie à 2 mois post opératoire dans chaque groupe ....	41
Figure 40 : Graphique représentant la corrélation entre la perte de DCE à M2 et l'âge du donneur dans les 2 groupes. ....	42
Figure 41 : Graphique représentant la corrélation entre la perte de DCE à M2 et la durée de conservation des greffons dans les 2 groupes.....	43

## TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Tableau représentant l'interprétation du test de viabilité à la triple coloration HEC.....	13
Tableau 2 : Caractéristiques générales des donneurs (moyenne et écart type).....	34
Tableau 3 : Caractéristiques générales des patients (moyenne et écart type) .....	34
Tableau 4 : Analyse de la DCE et de la perte cellulaire à 2 mois post opératoire (moyenne et écart type) * test de Student sur séries appariées avec petits p bilatéraux (H0 : différence de moyennes = 0).....	35
Tableau 5 : Analyse de la pachymétrie à 2 mois post opératoire (moyenne et écart type) * test de Student sur séries appariées avec petits p bilatéraux (H0 : différence de moyennes = 0) .....	36
Tableau 6 : Analyse de la MAVC à 2 mois post opératoire (moyenne et écart type) * test de Student sur séries appariées avec petits p bilatéraux (H0 : différence de moyennes = 0) .....	37
Tableau 7 : Influence de l'âge du donneur sur la perte cellulaire endothéliale de greffon cornéen déturgé ou non. ....	38
Tableau 8 : Influence de la durée de conservation sur la perte cellulaire endothéliale de greffon cornéen déturgé ou non. ....	38
Tableau 9 : Caractéristiques générales des donneurs (moyenne et écart type).....	39
Tableau 10 : Caractéristiques générales des patients (moyenne et écart type) .....	39
Tableau 11 : Analyse de la DCE et de la perte cellulaire à 2 mois post opératoire (moyenne et écart type) * test de Student avec petits p bilatéraux (H0 : différence de moyennes = 0) .....	39
Tableau 12 : Analyse de la pachymétrie à 2 mois post opératoire (moyenne et écart type) * test de Student avec petits p bilatéraux (H0 : différence de moyennes = 0) .....	40
Tableau 13 : Analyse de la MAVC à 2 mois post opératoire (moyenne et écart type) * test de Student avec petits p bilatéraux (H0 : différence de moyennes = 0).....	41
Tableau 14 : Influence de l'âge du donneur sur la perte cellulaire endothéliale de greffon cornéen déturgé ou non. ....	42
Tableau 15 : Influence de la durée de conservation sur la perte cellulaire endothéliale de greffon cornéen déturgé ou non. ....	42

# INTRODUCTION

La dystrophie endothéliale de Fuchs, décrite pour la première fois en 1910, est une pathologie dégénérative de la cornée. Elle représente la principale cause de défaillance de l'endothélium cornéen. Cette affection entraîne une perte progressive des cellules endothéliales jusqu'à la décompensation cornéenne, amenant à des complications telles qu'une sensibilité accrue à la lumière, des douleurs oculaires et la perte progressive de la vision. L'impact sur la qualité de vie des patients est par conséquent considérable.

Le traitement de cette pathologie a évolué au cours des années, allant de la kératoplastie transfixiante à des techniques plus modernes et moins invasives comme la kératoplastie endothéliale. La DMEK (Descemet membrane endothelial keratoplasty) est devenue la référence dans la prise en charge de cette maladie.

Néanmoins, malgré les avancées techniques et le taux de réussite élevé, il est acquis qu'il existe une perte cellulaire endothéliale significative au cours des 2 premiers mois post opératoires pouvant compromettre la durabilité du greffon et la qualité visuelle du patient. Cette perte cellulaire endothéliale est en partie liée aux manipulations per opératoires particulièrement traumatisantes pour l'endothélium. Il est donc important que la densité cellulaire endothéliale au moment de la greffe soit la plus haute possible, permettant ainsi une durée de vie du greffon plus importante.

La conservation des greffons est une étape clé dans la viabilité du greffon. Elle doit être la plus optimale possible. L'organoculture est la méthode de conservation la plus courante en Europe. Elle permet une conservation prolongée allant jusqu'à 35 jours. Toutefois, les milieux de conservation entraînent un œdème stromal important, toxique pour la cornée, rendant la manipulation du greffon au bloc opératoire complexe et la récupération visuelle plus lente (en particulier pour les kératoplasties transfixiantes).

En conséquence, il existe des agents osmotiques utilisés comme solutions de déturgescence tel que le dextran T500. Il s'agit d'un polysaccharide de haut poids moléculaire, dont la toxicité cellulaire endothéliale a été évoquée dans certaines études récentes. Cette toxicité serait significative à partir de 4 jours de déturgescence.

Nous rappelons qu'à ce jour, lors d'une procédure standard de DMEK en France, la déturgescence des greffons n'est pas obligatoire. Cependant, la manipulation et la dissection des greffons cornéens par le chirurgien au bloc opératoire semble moins complexe lorsque que le greffon a été préalablement déturgé. De plus, les plis descemétiques induits par l'œdème stromal lors de l'organoculture pourraient également avoir un effet délétère sur la densité cellulaire endothéliale. De nombreuses études ont étudié l'impact de la déturgescence sur l'endothélium avant la greffe, contrairement aux critères fonctionnels post opératoires.

Enfin, depuis l'émergence des DMEK prédécoupées, certaines études récentes ne retrouvent aucune différence significative sur la toxicité du dextran sur ce type de DMEK voire un rôle protecteur du dextran dans les DMEK préchargées dans une cartouche en plastique pour lentille intra oculaire.

Devant cette ambiguïté dans la littérature, nous avons choisi d'articuler cette thèse autour de l'impact de la déturgescence à l'aide du dextran sur la perte cellulaire endothéliale après une procédure standard de DMEK chez les patients atteints de dystrophie de Fuchs.

# RAPPELS

## I. La cornée

### A. L'anatomie et la physiologie

La cornée représente la partie antérieure du globe oculaire, dans le prolongement de la sclère. C'est une structure transparente et avasculaire(1). Sa face antérieure convexe est directement exposée à l'environnement externe par l'intermédiaire du film lacrymal. Elle est protégée par les paupières la recouvrant partiellement ou totalement. Sa face postérieure concave est baignée par l'humeur aqueuse et forme la paroi antérieure de la chambre antérieure de l'œil (Figure 1).

Sur toute la périphérie de la cornée, se trouve le limbe, tissu très vascularisé, réservoir en cellules à haute capacité proliférative(2).

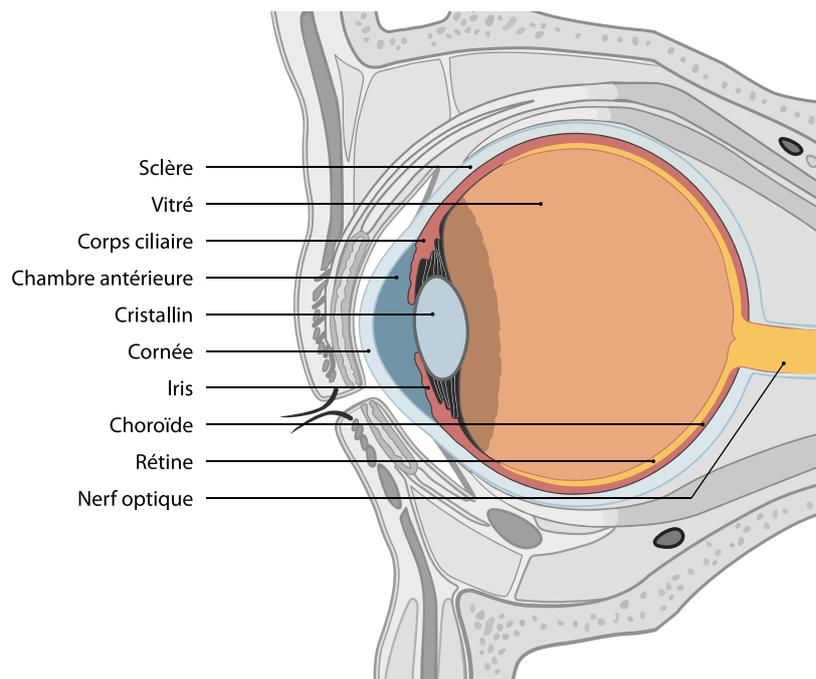


Figure 1 : Anatomie du globe oculaire. D'après [www.cancerdesyeux.fr](http://www.cancerdesyeux.fr).(3)

La cornée se compose de 6 couches successives décrites ci-dessous de la plus antérieure à la plus postérieure (Figure 2, Figure 3) :

- L'épithélium, pavimenteux stratifié non kératinisé, est non dissociable du film lacrymal qui le recouvre car il partage avec celui-ci son rôle optique (1<sup>ère</sup> interface traversée par

les rayons lumineux) et son rôle métabolique (rôle de lubrification et de stabilisation de la cornée). Il mesure 30 à 50  $\mu\text{m}$  (10 % de l'épaisseur cornéenne totale) (Figure 4).

- La couche de Bowman est une couche majoritairement acellulaire, composée de fibres de collagène réparties dans la substance fondamentale. Elle mesure 8 à 10  $\mu\text{m}$  (Figure 5).
- Le stroma est une couche avasculaire, composée de lamelles de collagène entre lesquelles s'intercalent des kératocytes et de la substance fondamentale. On y retrouve des cellules de Schwann, des lymphocytes B et T, des cellules mononucléées et des cellules de Langerhans. Elle mesure 500  $\mu\text{m}$ , soit 90% de l'épaisseur cornéenne. Les propriétés anatomiques, biochimiques et biomécaniques du stroma confèrent à la cornée sa solidité et sa transparence (Figure 6).
- La couche de Dua est une membrane stromale postérieure décrite par le Professeur Harminder Dua en 2013(4). Elle mesure environ 10  $\mu\text{m}$  et est composée de fines lamelles de faisceaux de collagène solidement entrelacées. Elle est dépourvue de kératocytes.
- La membrane de Descemet est une membrane acellulaire sécrétée par l'endothélium (Figure 7). Elle est très résistante, amorphe, élastique, perméable à l'eau. Elle mesure environ 10  $\mu\text{m}$ . Son épaisseur augmente avec l'âge et dans certaines pathologies. Elle est formée de collagènes (IV et VIII) et contient de la fibronectine, de la laminine type 1 et des protéoglycanes (héparane, dermatane et kératane sulfates)(2).
- L'endothélium (détaillé plus loin).

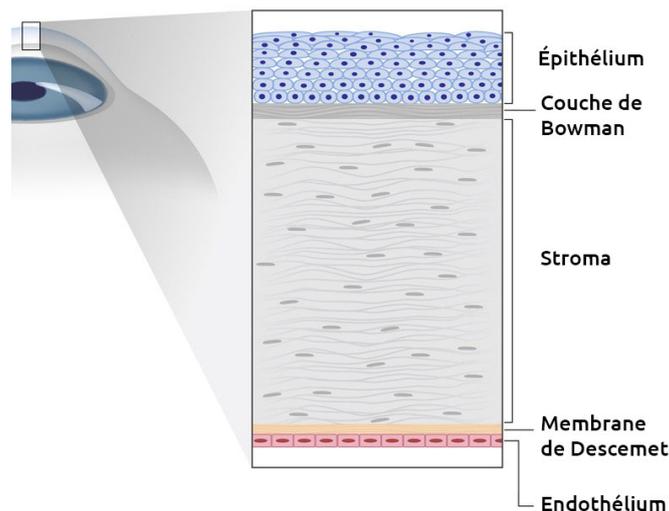


Figure 2 : Les couches de la cornée. D'après [www.centre-cornee-keratocone.com](http://www.centre-cornee-keratocone.com).(5)

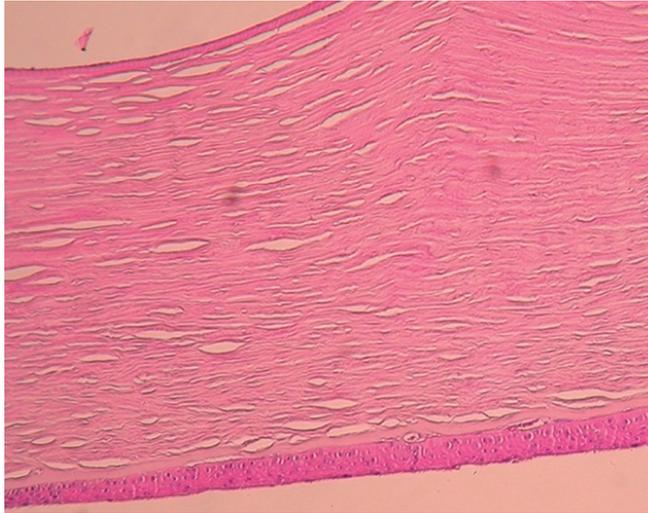


Figure 3 : Cornée entière en microscopie optique, coloration HES. *D'après Anatomie de la cornée.*(2)

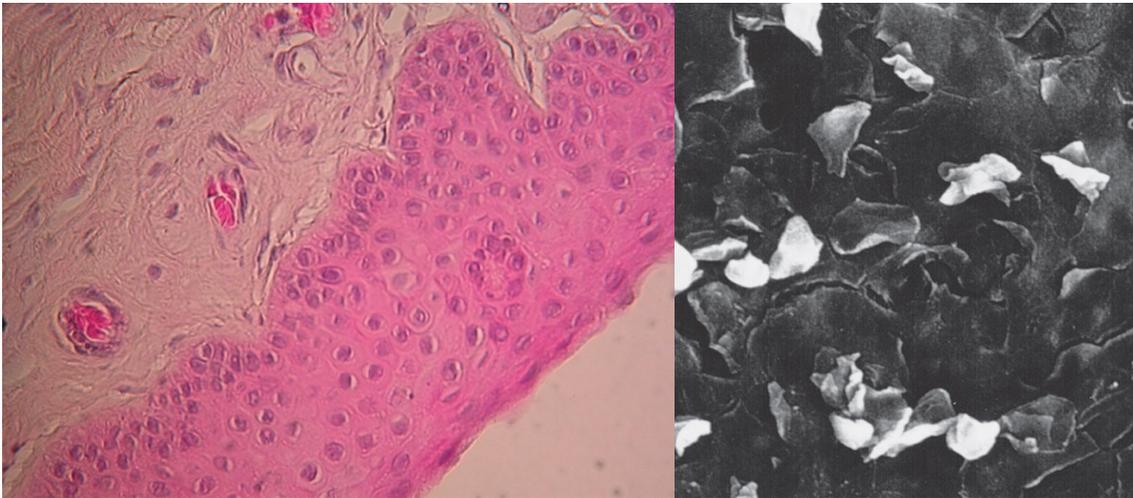


Figure 4 : Épithélium cornéen en microscopie optique, coloration HES (à gauche) et en microscopie électronique, x220 (à droite). *D'après Anatomie de la cornée.*(2)

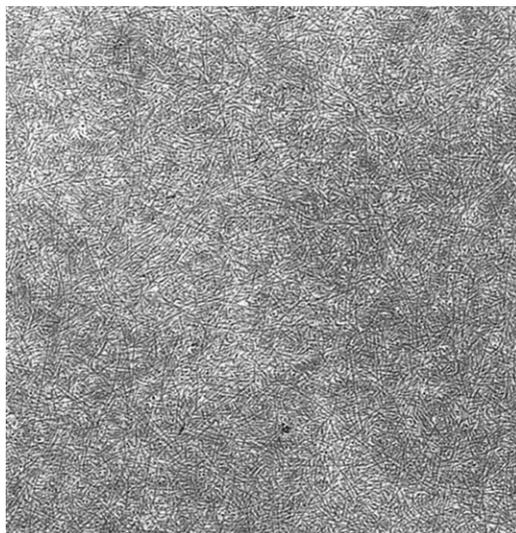


Figure 5 : Couche de Bowman en microscopie électronique, x10 000. *D'après Anatomie de la cornée.*(2)

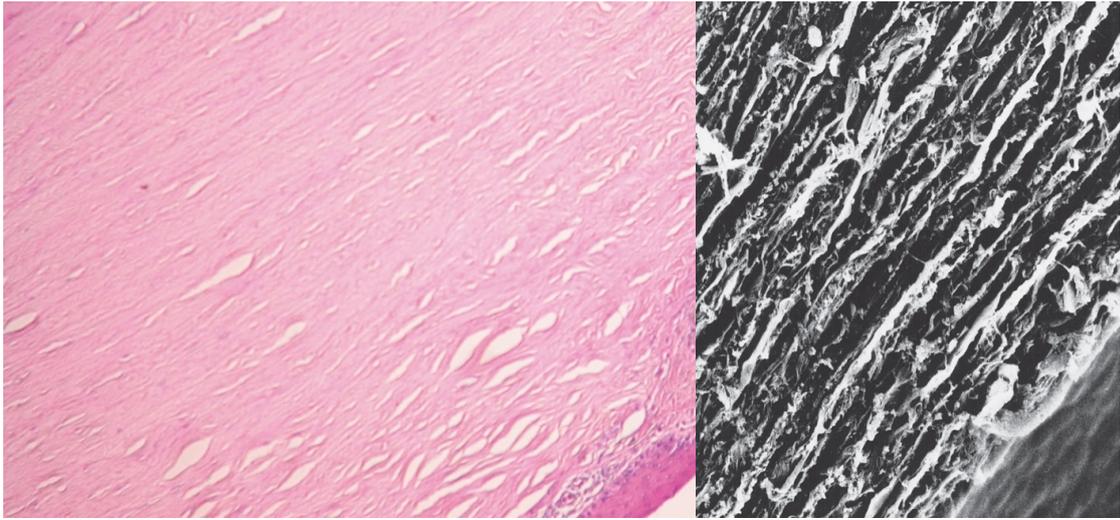


Figure 6 : Stroma cornéen en microscopie optique, coloration HES (à gauche) et en microscopie électronique, x 720 (à droite). *D'après Anatomie de la cornée.*(2)

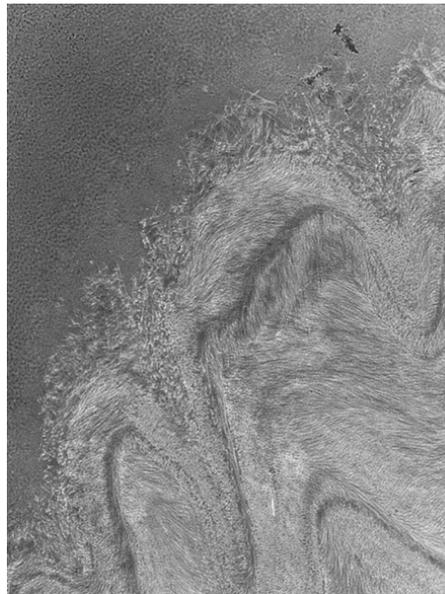


Figure 7 : Jonction entre le stroma et la membrane de Descemet en microscopie électronique. *D'après Anatomie de la cornée.*(2)

La cornée est très richement innervée. Son innervation dépend des nerfs ciliaires longs et courts, qui pénètrent de façon radiaire à la périphérie de la cornée au niveau du stroma moyen et perdent leur périnèvre ainsi que leur gaine de myéline à environ 1 mm de leur entrée du limbe, permettant de maintenir la transparence de la cornée(6) (Figure 8).

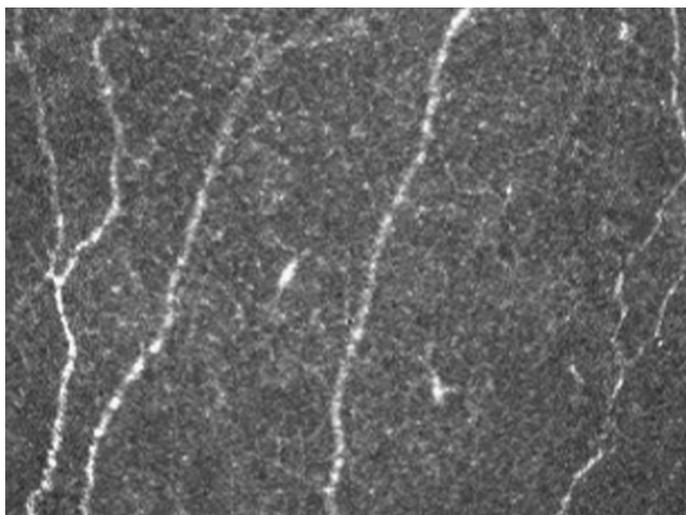


Figure 8 : Nerfs cornéens, photographie en HRT. D'après *Anatomie de la cornée*.(2)

La cornée, avasculaire, reçoit son apport nutritif du limbe (par la périphérie cornéenne via les artères ciliaires antérieures qui émergent de la sclère en regard des muscles droits horizontaux). Elle reçoit également son apport nutritif des larmes et de l'humeur aqueuse.

La cornée possède une forme convexe et est irrégulièrement asphérique. Elle est traversée par des rayons lumineux (de longueur d'onde comprise entre 400 et 650 nm(7)) qui convergent vers la rétine. Dans leur propagation, les rayons lumineux traversent un ensemble de 4 dioptries centrés sur un même axe de révolution : la cornée, l'humeur aqueuse, le cristallin et enfin le corps vitré.

La cornée représente à elle seule, les deux tiers du pouvoir réfractif de l'œil. Sa puissance de 43 dioptries se décompose en un dioptre cornéen antérieur de 49 dioptries et un dioptre cornéen postérieur de - 6 dioptries. Ses propriétés optiques varient en fonction de sa forme, sa courbure (puissance), sa régularité et son épaisseur intimement liée à sa transparence.

## B. L'endothélium cornéen

### 1. L'anatomie

Il s'agit de la couche la plus postérieure de la cornée, elle est en contact avec l'humeur aqueuse.

L'endothélium est formé d'une **monocouche** de cellules uniformes **hexagonales** plates, jointives, qui mesurent environ 5 à 6  $\mu\text{m}$  de hauteur et 15 à 20  $\mu\text{m}$  de largeur(2) (Figure 9). Cette monocouche cellulaire a une disposition caractéristique régulière en « **nid d'abeilles** » (Figure 10). Ces cellules se composent d'un volumineux noyau ovale

centrocellulaire, occupant la plus grande partie de la cellule. Les cellules endothéliales présentent de nombreuses interdigitations et contiennent de nombreuses jonctions complexes (zonas occludens, macula occludens et macula adherens). Les gaps junctions permettent le transfert de petites molécules et d'électrolytes d'une cellule endothéliale à l'autre. Ces cellules interconnectées se comportent comme une barrière face à l'humeur aqueuse.

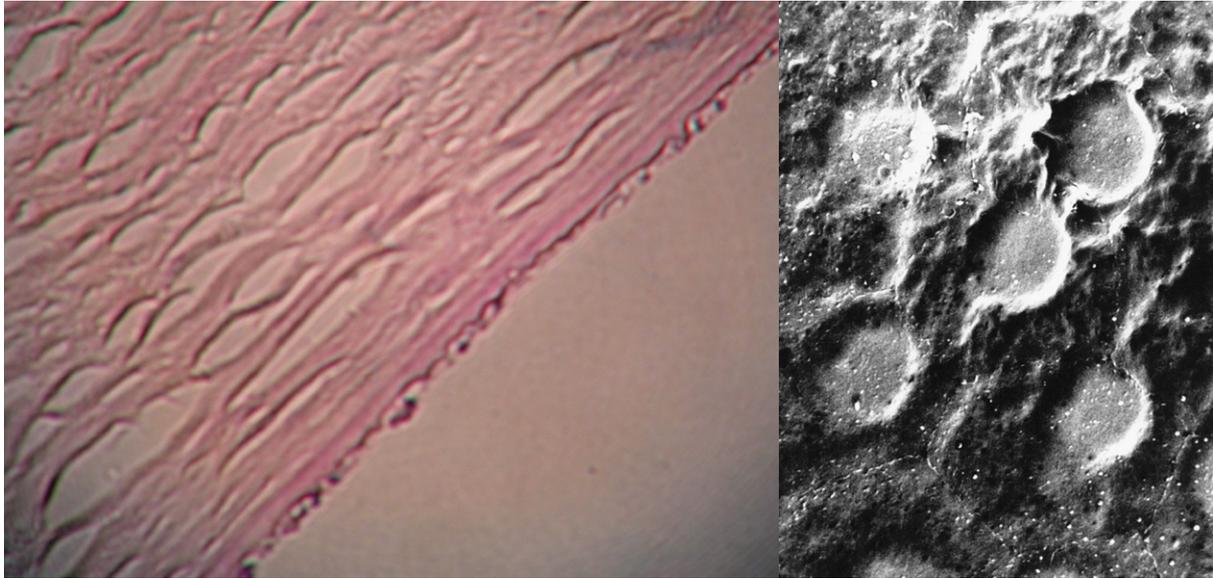


Figure 9 : Endothélium cornéen en microscopie optique, coloration HES (à gauche) et en microscopie électronique, x 2200 (à droite). *D'après Anatomie de la cornée.*(2)



Figure 10 : Endothélium cornéen en microscopie confocale (à gauche), nid d'abeille. *D'après Anatomie de la cornée*(2) et <https://www.sciencesetavenir.fr>(8)

## 2. La fonction

À l'état physiologique, la cornée est transparente grâce à l'organisation régulière des fibres de collagène dans le stroma cornéen. Elle le reste grâce à la fonction de pompe endothéliale qui lutte en permanence contre l'hydrophilie spontanée du stroma. La cornée reste ainsi dans un **état de perpétuelle déturgescence** (78 % d'eau en moyenne). Elle garde une épaisseur constante avec moins de 4 % de variation quotidienne et une organisation stable de son stroma(9).

Le rôle de l'endothélium, qui ne représente que 2 % de l'épaisseur d'une cornée adulte, est essentiel à la fonction visuelle. Il fonctionne comme une **pompe active** grâce à la pompe  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase (Figure 11). Le  $\text{Na}^+$  est expulsé dans l'humeur aqueuse et le  $\text{K}^+$  est libéré dans la cellule endothéliale, ce qui crée un gradient osmotique assurant la déturgescence du stroma (les mouvements de l'eau suivent les mouvements de l'ion  $\text{Na}^+$ ). Ces ions génèrent également une différence de potentiel d'environ 500 mV entre les milieux intra et extracellulaires endothéliaux. Les mouvements de l'ion bicarbonate ( $\text{HCO}_3^-$ ) sont responsables de la polarisation négative de la face postérieure de l'endothélium, ce qui intervient aussi dans le phénomène de déturgescence.

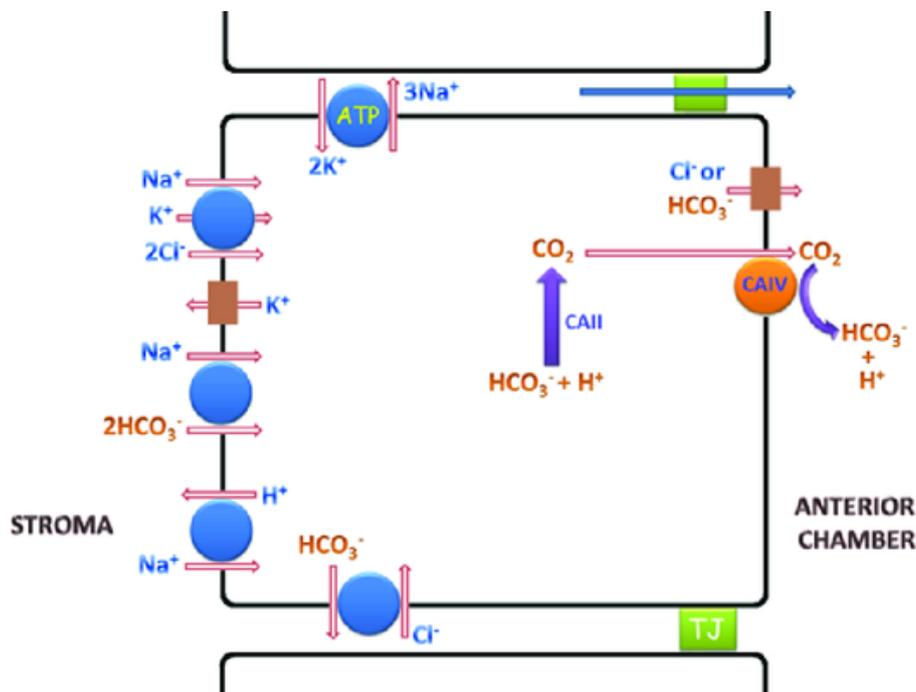


Figure 11 : Schéma de la pompe endothéliale. D'après *The Physiology of Cornea*.(10)

### 3. La densité endothéliale

Le nombre de cellules endothéliales (CE) par unité de surface ( $\text{mm}^2$ ) ou densité cellulaire endothéliale (DCE) est le critère le plus simple et le plus largement utilisé pour qualifier un endothélium cornéen.

Les cellules endothéliales sont bloquées en phase G1 du cycle cellulaire et ne peuvent donc **pas se renouveler par mitose**. Ce qui entraîne une diminution progressive de la densité endothéliale. La DCE **décroit donc avec l'âge** mais de façon non linéaire. Elle décroît rapidement après la naissance pendant une période très courte. Le taux de décroissance pendant l'âge adulte est généralement estimé de 0,3 % à 0,7 % par an.

La DCE est plus importante en périphérie qu'au centre de la cornée. Chez l'adulte sain, la **DCE centrale est entre 2 000 et 3 500 cellules/ $\text{mm}^2$** , soit 250 000 à 450 000 CE par cornée. Elle a une très forte variabilité inter individuelle(11) mais elle est néanmoins très similaire entre les cornées droite et gauche, ainsi qu'entre les hommes et les femmes(12). La DCE peut être également influencée par la présence d'un diabète. En revanche, elle n'est pas influencée par une hypertension artérielle, un tabagisme ou par l'exposition aux UV.

Chez l'adulte, les variations de taille (**polymégathisme**) et de forme (**polymorphisme**) sont plus importantes et s'accroissent avec l'âge(13). Ces variations sont expliquées par le fait que lorsqu'un défaut local survient après la mort spontanée d'une cellule endothéliale, l'espace laissé libre sur la membrane de Descemet est très vite comblé par la **migration** et **l'élargissement** des cellules endothéliales avoisinantes, altérant localement la régularité de la **mosaïque**.

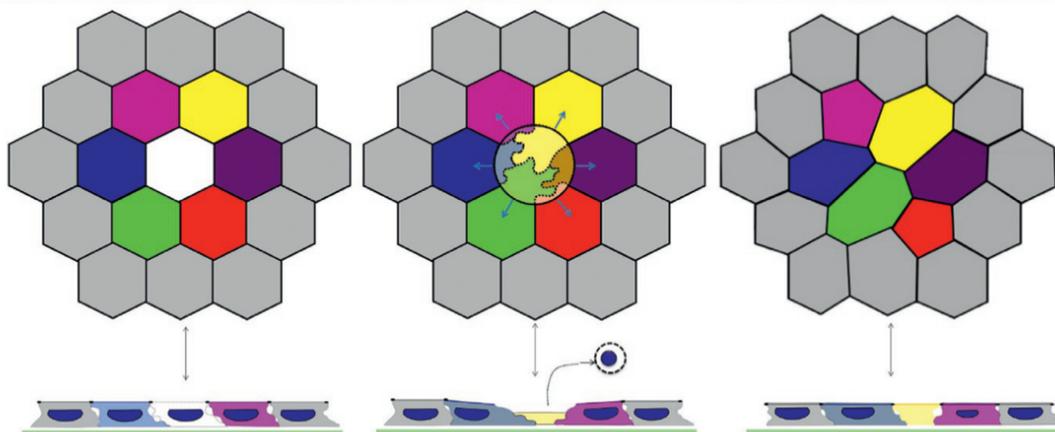


Figure 12 : Réparation endothéliale par migration et élargissement. D'après *L'endothélium cornéen*.(9)

Il existe un **effet de seuil** en-dessous duquel la fonction de pompe endothéliale ne peut plus être assurée : ce seuil est situé autour de **400 à 500 cellules/ $\text{mm}^2$** . Lorsque le seuil est franchi, un œdème stromal irréversible se développe et s'aggrave jusqu'à provoquer une

**kératopathie bulleuse** (Figure 13) caractérisée par des plis endothéliaux, une cornée souvent très opaque, des bulles épithéliales fragiles puis une néovascularisation cornéenne(9).

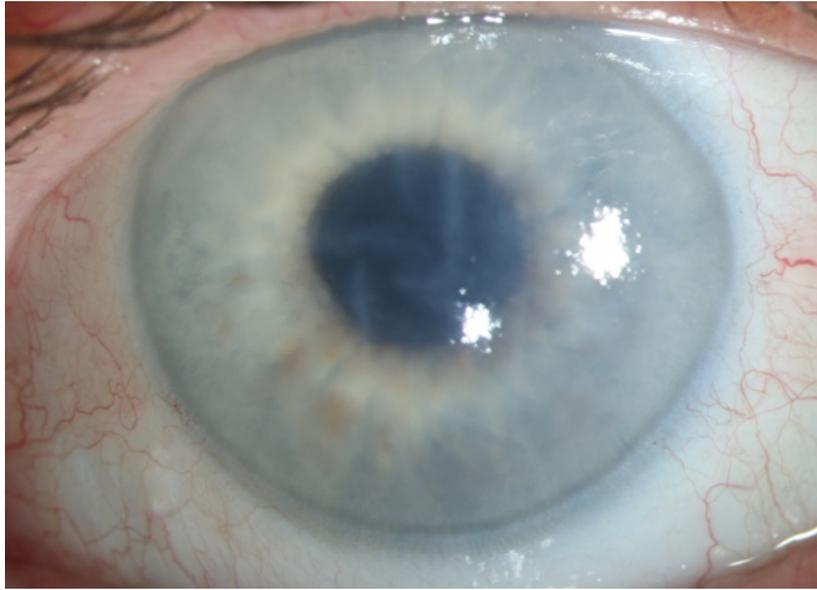


Figure 13 : Kératopathie bulleuse. D'après le CHU de Rouen.

#### 4. Les techniques d'analyses *in vivo*

L'observation clinique de l'endothélium cornéen est possible à la **lampe à fente**, orientée à 45°, à fort grossissement, grâce à la réflexion de la lumière à la face postérieure de la cornée (Figure 14).

La **microscopie spéculaire** sans contact (Figure 15) permet une évaluation de la DCE **centrale**. L'endothélium cornéen est également visible en **microscopie confocale** (Figure 10), sous forme d'une monocouche de cellules hexagonales hyper réfléchives, avec des limites hypo réfléchives et sans noyau visible.

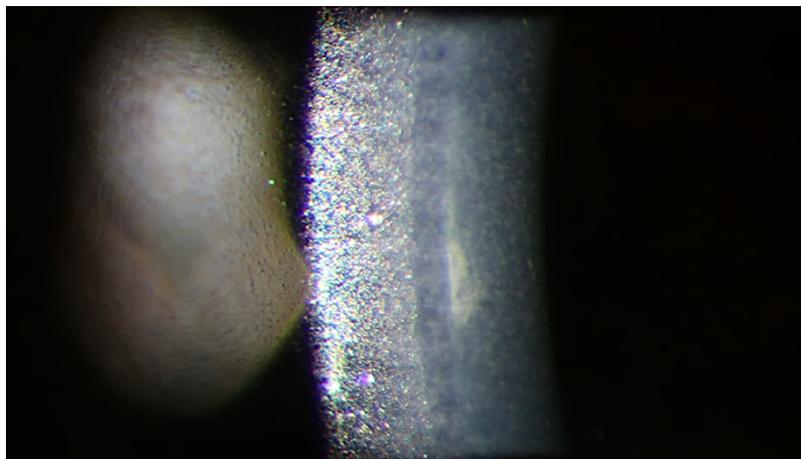


Figure 14 : Observation de l'endothélium cornéen à la lampe à fente. D'après le CHU de Rouen.

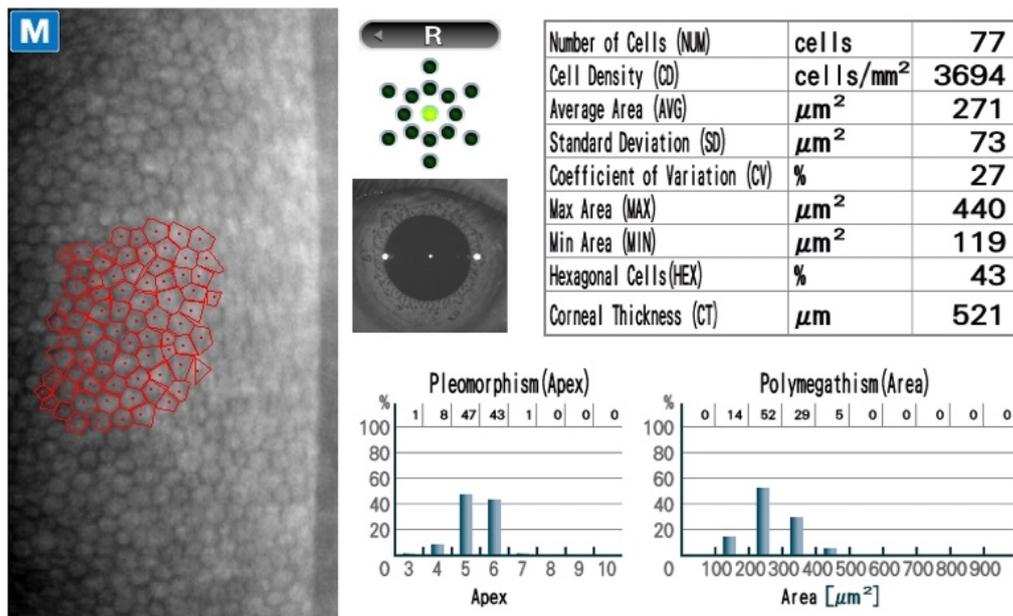


Figure 15 : Microscopie spéculaire d'une cornée normale. D'après le CHU de Rouen.

### 5. La viabilité cellulaire

La viabilité cellulaire endothéliale peut être utilisée pour une évaluation expérimentale de l'endothélium. En effet, il s'agit du critère le plus précis de la qualité endothéliale(14), car la mesure classique de la DCE à un instant  $t$  n'élimine pas les cellules engagées dans un processus d'apoptose et n'informe pas sur le statut métabolique des cellules, ce qui entraîne des valeurs de DCE surestimées. Ce critère qualitatif permet d'évaluer des nouveaux milieux ou nouvelles méthodes de conservation des greffons cornéens.

Un test de viabilité cellulaire fluorescent (Figure 16) a été mis au point à l'aide de la triple coloration HEC (Hoechst-33342, éthidium homodimère et calcéine-AM)(15) :

- Le Hoechst-33342 (H) colore en bleu le noyau de toutes les cellules qu'elles soient vivantes ou mortes.
- L'éthidium homodimère (E) colore en rouge le noyau des cellules mortes.
- La calcéine-AM (C) colore en vert le cytoplasme des cellules vivantes.

L'acquisition des images se réalise à l'aide d'un microscope à fluorescence équipé des trois filtres. La densité et la viabilité endothéliale sont calculées à l'aide d'un logiciel.

Phénotype(9)	H	E	C	Traduction
Zone viable	+	-	+	Cellules vivantes
Zone non viable large	-	-	-	Descemet à nue
	+	-	-	Phase précoce de mort cellulaire
Zone non viable	+	+	-	Phase intermédiaire de mort cellulaire
	-	+	-	Phase avancée de mort cellulaire

Tableau 1 : Tableau représentant l'interprétation du test de viabilité à la triple coloration HEC.

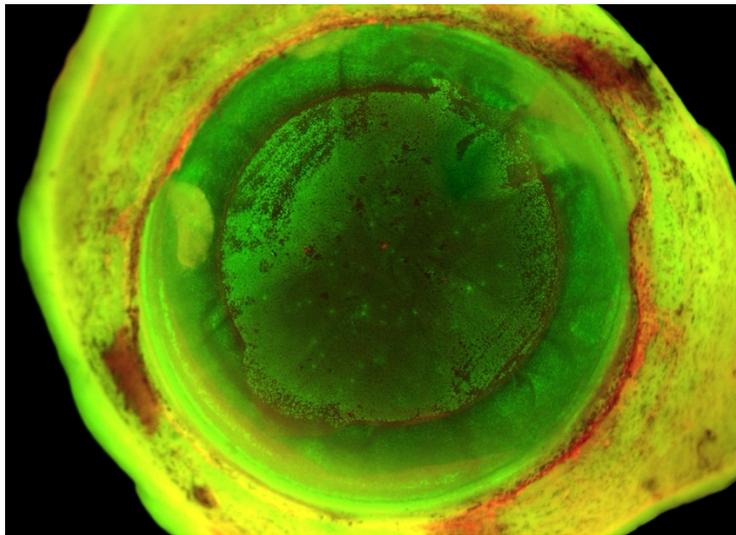


Figure 16 : Greffon cornéen avec endothélium prédécoupé selon la technique d'hydrodissection Muraine, en microscopie à fluorescence, triple coloration HEC. Deux filtres de fluorescence ont été utilisés (Pour Hoechst et Calcein). D'après le CHU de Rouen.

## II. La dystrophie endothéliale de Fuchs

### A. L'histoire

La dystrophie de Fuchs a été décrite en 1910 par Ernst Fuchs (1851–1930, ophtalmologiste autrichien), comme une affection caractérisée par une réduction de la transparence cornéenne centrale sous le terme de « dystrophia epithelialis corneae »(16), « epithelialis » se référant à la présence de bulles sous épithéliales liées à la présence d'un œdème stromal et sous épithélial prononcé.

Dans les années 20, Alfred Vogt (1879-1943, ophtalmologiste suisse) décrit la présence de « gouttes », petites excroissances arrondies, au niveau de l'endothélium, faisant saillie à la face postérieure de la cornée.

### B. L'épidémiologie

Ce n'est pas une maladie rare : l'incidence est supérieure à 1/2000. Il existe une prédominance **fémminine** entre 2,5 et 3,1. La prévalence serait de 4% à 11 % des individus de plus de 40 ans(17).

### C. La physiopathologie

La transmission est autosomique dominante. La pénétrance est de 100 %, d'expressivité variable. Il existe une forme précoce et forme tardive :

- Dans la forme précoce, le *gène COL8A2* impliqué dans la production du collagène VIII situé sur le chromosome 1 a été mis en cause(18).
- Dans la forme tardive, il existe un large spectre d'altérations génétiques. La plupart sont liées au *gène TCF4* codant le facteur de transcription 4(19), situé sur le chromosome 18.

Les altérations de l'ADN mitochondrial(20) et nucléaire, liées au stress oxydatif(21) (endogène génétique et exogène liés au tabac et aux UV) ont été incriminées dans la genèse de la dystrophie(22) : le stress cellulaire induit est à l'origine d'une régression du métabolisme des CE. Ces CE pathologiques sont responsables d'une sécrétion aberrante de molécules de matrice extra cellulaire tel que le collagène 8 embryonnaire, qui s'accumule en verrucosités appelées « guttae » (Figure 17) à la face interne de la membrane de Descemet(23). Ces verrucosités de collagène néo formé prennent un aspect en goutte appelée « **cornea guttata de Vogt** » visible en lampe à fente.

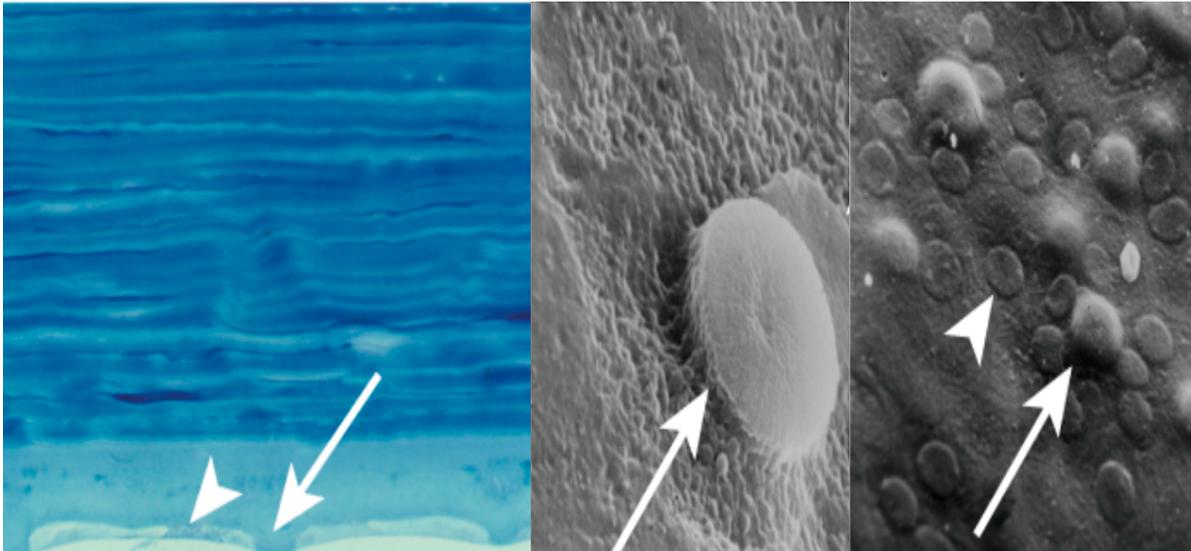


Figure 17 : Verrucosités descemétiques (flèches) en histologie et en microscopie électronique. D'après *Dystrophies cornéennes*.(24)

Ces guttaes créent un environnement toxique pour les cellules endothéliales, ce qui entraîne une sénescence et une **apoptose cellulaire**(25). Au cours de l'évolution, les CE pathologiques laissent place aux CE voisines qui migrent et s'étendent afin de rester confluentes pour assurer la déturgescence cornéenne. À terme, leur **rupture de confluence** engendre un œdème cornéen qui diffuse dans le stroma jusque sous la membrane basale de l'épithélium, formant ainsi des bulles sous-épithéliales : il s'agit du stade de la kératopathie bulleuse.

#### D. La clinique et les examens complémentaires

Les signes fonctionnels commencent entre **50 et 60 ans dans la forme classique**(26) et entre 10 et 20 ans dans la forme précoce. Ils commencent par une sensation de flou visuel après décubitus, qui disparaît après l'orthostatisme, pour une durée qui augmente avec l'évolution, témoignant de l'incompétence endothéliale dans la déturgescence : c'est le **déverrouillage visuel matinal**. Il s'agit du principal marqueur évolutif de l'affection. Au stade d'œdème central, on note une baisse d'acuité visuelle permanente, une sensation de corps étranger, des douleurs à type de décharge électrique puis des érosions épithéliales récidivantes jusqu'à des douleurs permanentes et invalidantes au stade de kératopathie bulleuse. Au stade terminal, une fibrose stromale, parfois néovascularisée, s'installe.

Les verrucosités de la membrane de Descemet sont visibles en **lampe à fente**, donnant un aspect descemétique en **médailon martelé (argent battu)** (Figure 18), mieux visible à fort grossissement en incidence lumineuse oblique ou en rétro-illumination dilatée.

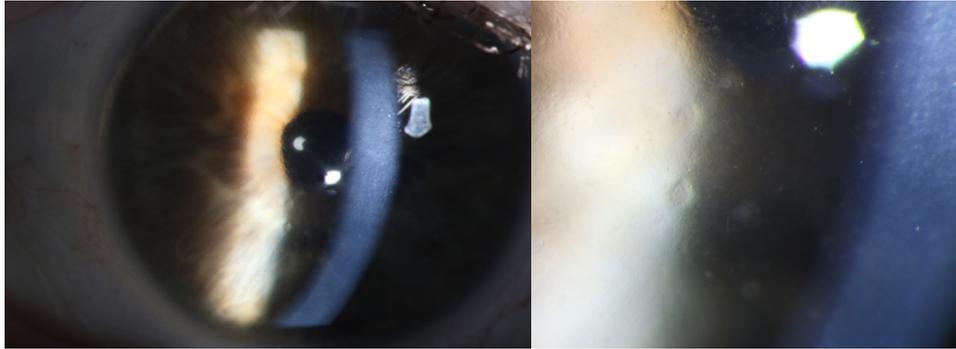


Figure 18 : Dystrophie de Fuchs en lampe à fente. D'après le CHU de Rouen.

En **tomographie par cohérence optique (OCT)**, la pachymétrie centrale est augmentée (Figure 19), la membrane de Descemet est hyper réfléctive, épaissie et irrégulière(27), composée de plusieurs zones hyper ou hypo réfléchives, comme un aspect multi stratifié(9).

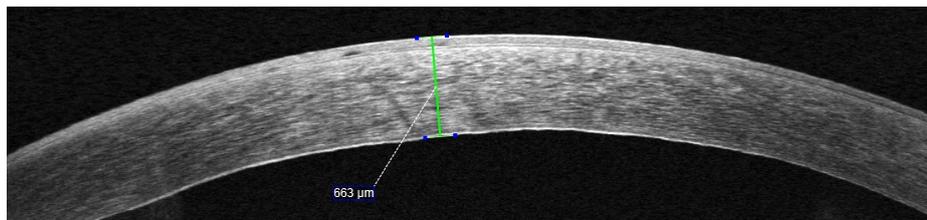


Figure 19 : Dystrophie de Fuchs en OCT. D'après le CHU de Rouen.

En **microscopie spéculaire sans contact**, on observe des gouttes, sous forme de zones noires avec un centre clair (Figure 20) masquant les cellules qui les recouvrent, un pléomorphisme, un polymégathisme et une diminution de la densité cellulaire endothéliale(28).

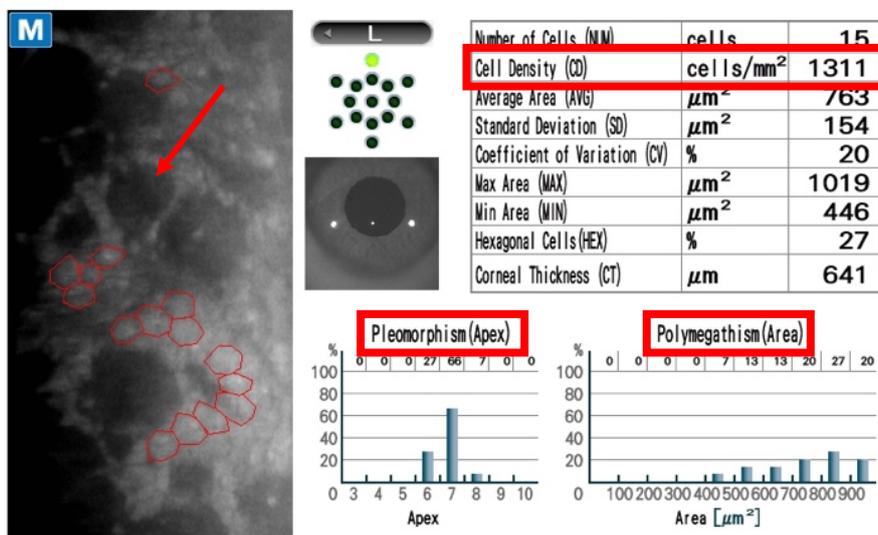


Figure 20 : Dystrophie de Fuchs en microscopie spéculaire. D'après le CHU de Rouen.

## E. Les traitements

Le traitement médical, au stade d'œdème débutant paucisymptomatique, comprend les **agents hyperosmolaires** aidant à la déturgescence essentiellement épithéliale. Au stade de la kératopathie bulleuse, la douleur peut être prise en charge à l'aide d'une **lentille thérapeutique**. Le traitement chirurgical est le traitement curatif de **référence** et consiste à remplacer le tissu endothélial par une **greffe de cornée de type endothéliale**.

L'arbre décisionnel thérapeutique est présenté ci-dessous (Figure 21).

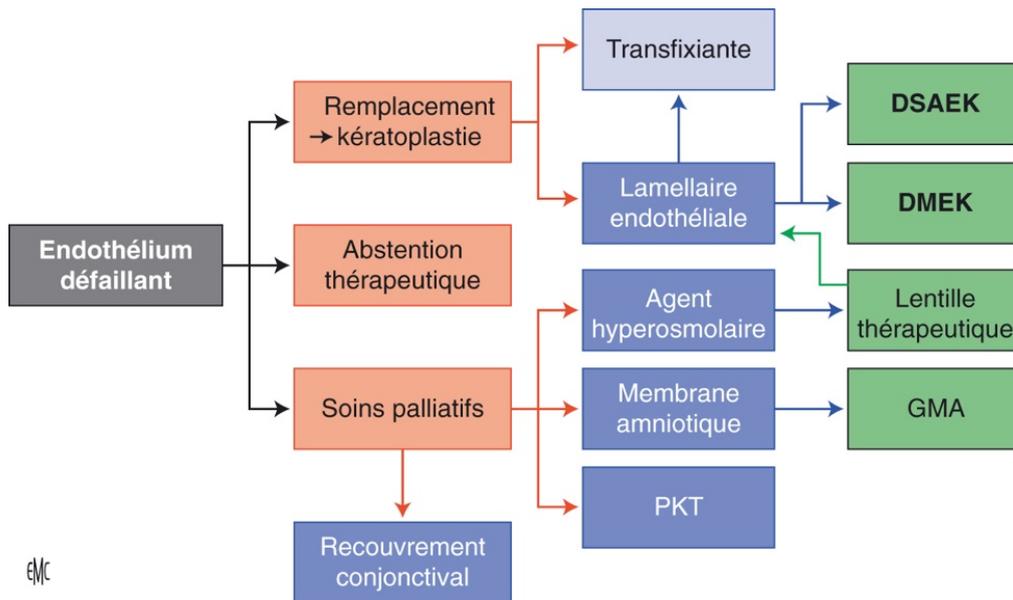


Figure 21 : Arbre décisionnel thérapeutique lorsque l'endothélium cornéen d'une dystrophie de Fuchs est défaillant. D'après *Dystrophies cornéennes*.(24)

### III. La DMEK (Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty)

#### A. L'histoire

Erasmus Darwin (1731-1802, médecin britannique) décrit en 1796 le concept de greffe de cornée(29).

Les premières expérimentations commencèrent au XIX<sup>ème</sup> siècle, avec le concept de « kératoplastie » introduit par Franz Reisinger (1787-1855, médecin allemand). La première greffe hétérologue (animale) réussie fût décrite en 1888 par Arthur Von Hippel (1841-1916, ophtalmologiste allemand)(30).

La première greffe homologue (humaine) allogénique réussie fût décrite par Eduard Konrad Zirm (1863-1944, ophtalmologiste autrichien), en 1905(31). Il s'agissait d'une kératoplastie transfixiante sur un homme de 45 ans ayant subi des brûlures cornéennes basiques bilatérales sévères, à partir d'une cornée d'un œil perdu d'un enfant de 11 ans.

Le concept de kératoplastie endothéliale est né dans les années 50 (32), malgré des résultats fonctionnels décevants liés à la difficulté de la technique et le manque d'instruments adaptés.

La **première DMEK est pratiquée et décrite en 2006 par Gerrit Melles(33)**, en démontrant qu'il était possible de réaliser un remplacement sélectif autologue d'une membrane de Descemet et d'un endothélium.

#### B. La définition

La DMEK (Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty) appartient au groupe des kératoplasties lamellaires postérieures (endothéliales) (Figure 22), visant à remplacer un endothélium pathologique : la membrane de Descemet et l'endothélium sont remplacés par un greffon d'un donneur contenant de la membrane de Descemet et de l'endothélium.

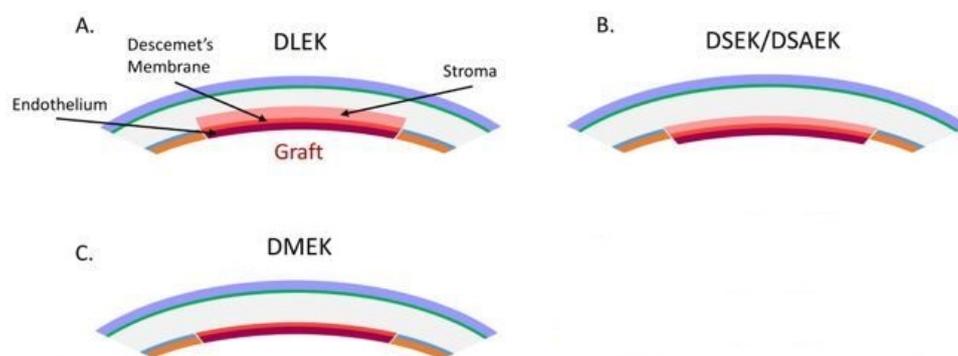


Figure 22 : Représentation schématique des différents types de kératoplastie endothéliale. D'après *Corneal Endothelial Transplantation*.(34)

### C. Les indications

Les indications de la DMEK sont larges et concernent l'ensemble des dysfonctions et dystrophies endothéliales(35) : la dystrophie de Fuchs, la dystrophie postérieure polymorphe, la CHED, la kératopathie bulleuse du pseudophaque ou de l'aphaque, la décompensation endothéliale post traumatique, post chirurgicale ou post hypertonie oculaire, le syndrome iridocornéen endothéliale et l'échec de greffe.

L'indication opératoire se pose en fonction de la gêne visuelle et de l'épaisseur cornéenne centrale(36).

Les possibilités de récupération visuelle sont moindres s'il existe une fibrose stromale secondaire à un œdème intra stromal chronique. La kératoplastie transfixiante est alors privilégiée.

### D. Les techniques chirurgicales

Comme expliqué précédemment, la DMEK consiste à ne greffer que l'endothélium et la membrane de Descemet. Bien que peu coûteuse et associée à une récupération visuelle plus rapide, elle reste une **procédure délicate** à réaliser en raison de la nécessité de préparer et de disséquer le complexe endothéliodescemétique du greffon cornéen avant son introduction dans la chambre antérieure du patient.

Il existe 3 techniques de dissection du greffon :

- Technique SCUBA ou peeling technique(37) : Détachement périphérique du greffon à l'aide de pince puis trépanation centrale.
- Technique pneumatique(38) : Injection brutale dans le plan prédescemétique d'une bulle d'air.
- Technique d'hydrodissection de Muraine(39) : Injection dans le plan prédescemétique de BSS ou de milieu de culture.

Technique d'hydrodissection de Muraine (Figure 23) : La cornée à disséquer est placée sur une chambre artificielle, endothélium vers le haut. Le Punch Muraine D800 (Moria, France) permet une trépanation de la membrane de Descemet sur 330°, laissant deux zones diamétralement opposées intactes, de 15° chacune. De l'air est injecté dans la chambre artificielle afin d'inverser la cornée. L'endothélium est coloré avec du bleu trypan 0,4% (Eurobio) et rincé au BSS, permettant une visualisation parfaite de la zone de trépanation. Une petite spatule ou une pince de Troutman est introduite sous le rabat pour assurer le bon décollement de la membrane de Descemet sur une longueur de 2-3 mm. Le reste de la dissection est réalisé avec une canule 27G montée sur une seringue de 2,5 ml remplie de

milieu de culture ou de BSS. L'injection du liquide vers le centre de la cornée (hydrodissection) détache facilement l'endothélium. Le greffon est introduit dans une cartouche à injection d'implant intraoculaire de façon replié sur lui-même (endothélium vers l'intérieur), à l'aide de la canule 27G. Le greffon est injecté dans la chambre antérieure du receveur par une incision de moins de 2,4mm, après réalisation d'un descemetorhexis sur le patient receveur. Le greffon est déplié dans la chambre antérieure et est maintenu contre la cornée à l'aide d'une bulle d'air.

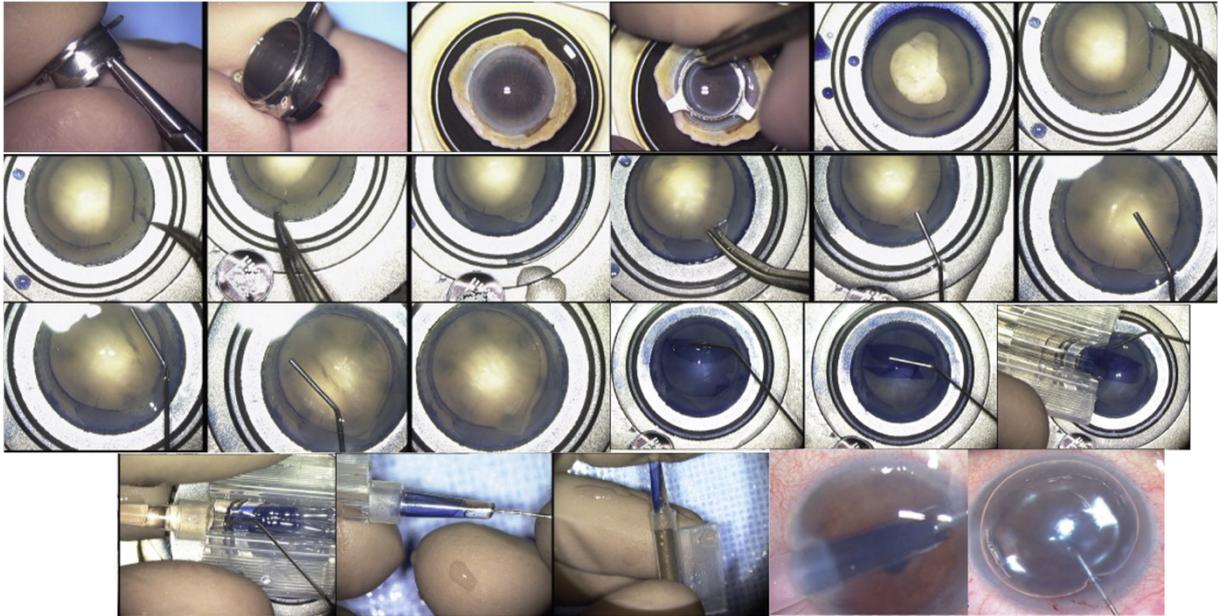


Figure 23 : Technique d'hydrodissection de Muraine. D'après le CHU de Rouen.

La DMEK peut être associée à la chirurgie de la cataracte. La phacoémulsification est à réaliser durant le premier temps opératoire. Il ne devra rester aucun résidu de substance viscoélastique, car cela diminue l'adhésion du greffon à la face postérieure stromale. Un agent myotique permettra d'assurer un plan irien large pour le soutien du greffon et l'efficacité de la tamponnade d'air. Pour les patients atteints de dystrophie de Fuchs, il est préconisé de prévoir une cible réfractive de -0,75 D(40).

## E. Les résultats et les complications

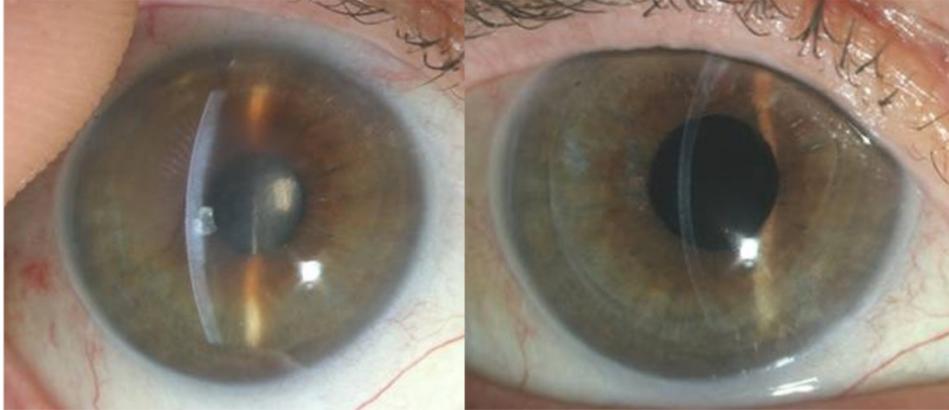


Figure 24 : Dystrophie de Fuchs avant et 2 mois après DMEK. D'après le CHU de Rouen.

Il existe **d'excellents résultats visuels post opératoires** après une DMEK. Rodriguez-Calvo-De-Mora et al.(41) a montré qu'après une série de 500 cas de DMEK (pour dystrophie de Fuchs, kératopathie bulleuse ou échec de greffe) 75 % des yeux ont une MAVC  $\geq 20/25$  ( $\geq 8/10$ ), 41 % des yeux ont une MAVC  $\geq 20/20$  ( $\geq 10/10$ ), 13 % des yeux ont une MAVC  $\geq 20/18$  ( $\geq 12/10$ ) à 6 mois post opératoires. Peraza-Nieves et al.(42) a montré qu'après cette même série de DMEK, 81 % des yeux ont une MAVC  $\geq 20/25$  ( $\geq 8/10$ ), 49 % des yeux ont une MAVC  $\geq 20/20$  ( $\geq 10/10$ ), 15 % des yeux ont une MAVC  $\geq 20/18$  ( $\geq 12/10$ ) à 12 mois post opératoires et est restée stable jusqu'à 24 mois.

La densité cellulaire endothéliale est **maximale dans les 2 premiers mois**(43). Dans ces 2 études(41,42), la DCE moyenne a diminué de 37% à 6 mois et de 40% à 12 mois et de 45% à 24 mois (Figure 25).

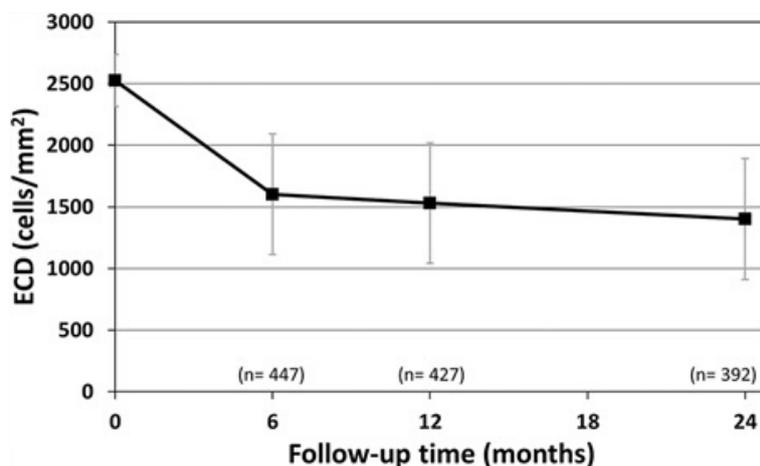


Figure 25 : Graphique montrant la DCE jusqu'à 24 mois après DMEK. D'après Peraza-Nieves, et al.(42)

Des complications post opératoires peuvent survenir. Le **décollement post opératoire du greffon** (Figure 26) est la complication la plus fréquente (35%)(44,45). Les autres complications sont l'hypertonie intra oculaire, l'échec primaire de la greffe (se définissant par un œdème persistant malgré un greffon en place), le blocage pupillaire, le rejet (Figure 27) et le développement d'une cataracte après l'intervention.

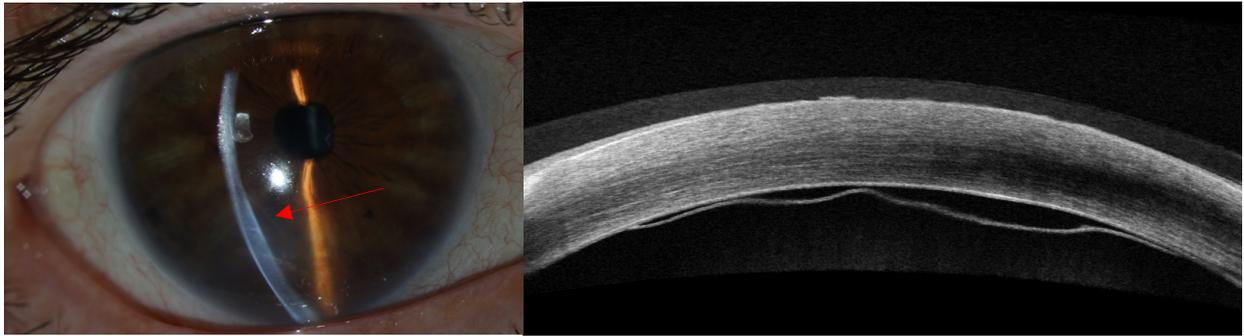


Figure 26 : Décollement du greffon. *D'après le CHU de Rouen.*



Figure 27 : Rejet de DMEK. *D'après le CHU de Rouen.*

## IV. Les greffons cornéens

### A. L'aspect réglementaire

En France, ce sont les **banques de cornées** (au nombre de 16 en France), accréditées par l'ANSM, qui assurent la conservation, la qualification et la distribution des greffons. Ces activités respectent les lois de bioéthique du 29 juillet 1994 (revues en 2004, 2014 et 2015) : respect du corps humain, gratuité du don, anonymat donneur-receveur avec cependant traçabilité, consentement préalable et présumé du donneur, sécurité sanitaire.

Le premier maillon capital est l'**équipe de coordination hospitalière** (accréditée par l'ABM) : elle évalue le dossier médical, explique et recherche auprès des familles la non-opposition du défunt et assiste le préleveur de cornée comme au bloc opératoire.

Le prélèvement doit se faire en théorie dans les 24 heures suivant le décès du patient à condition que le corps ait été réfrigéré dans les 4 heures suivant l'arrêt circulatoire.

Le patient en attente d'une greffe de cornée est directement concerné par les textes législatifs : l'article L. 673-8 du Code de la santé publique précise que « seules peuvent bénéficier d'une greffe de cornée les personnes, qui sont inscrites sur une liste nationale en cours d'élaboration ». L'ABM est chargée de l'enregistrement de l'inscription des patients sur la liste d'attente dite **GLAC**.

### B. Les sélections des donneurs

La première étape garantissant la sécurité de la greffe est le **respect des contre-indications médicales** au prélèvement de cornées (Figure 28). Les critères de sélection consensuels sont actualisés annuellement par les sociétés savantes européennes (European Association of Tissue Banks [EATB], European Eye Bank Association [EEBA]) et américaine (Eye Bank Association of America [EBAA]).

<b>Infections <sup>a</sup></b>	Sida Hépatites virales actives A, B, C Séropositivité : VIH, Ag HBs, VHC, syphilis (syphilis active ; infection ancienne avec séropositivité, pas de contre-indication absolue) Comportements à haut risque pour les virus VIH et hépatites (homosexualité, prostitution, hémophilie, etc.) ; ainsi que examen général évoquant toxicomanie ou risque de maladies transmissibles Encéphalites virales ou d'origine inconnue Rage ou postexposition au vaccin contre la rage pendant les 12 premiers mois Rubéole congénitale Syndrome de Reye Tuberculose active ou pendant les 6 premiers mois de traitement Leucoencéphalopathie multifocale progressive Ictères d'origine inconnue Infection HTVL-1 et 2 Paludisme actif Patient ayant un organe transplanté <sup>b</sup> Antécédent de vaccination récente (< 12 mois) au moyen d'un vaccin vivant atténué Hémodialyse
<b>Pathologie du système nerveux central d'origine inconnue</b>	Maladie de Creutzfeldt-Jacob (CJ) et groupes à risques : antécédents familiaux de CJ, receveur de greffe de dure-mère avant 1992 ou d'hormones pituitaires d'origine humaine Maladie du système nerveux central de cause inconnue (sclérose en plaques, Alzheimer, etc.) Panencéphalite sclérosante subaiguë Syndrome d'asthénie chronique Décès de cause inconnue
<b>Cancers <sup>c</sup></b>	Toute hémopathie maligne Tumeur primitive cérébrale métastasiante
<b>Maladie oculaire et antécédent de chirurgie oculaire</b>	Inflammation oculaire Anomalies congénitales ou acquises de l'œil ou antécédents de chirurgie oculaire susceptibles de retentir sur l'évolution de la greffe Rétinoblastome, Tumeurs malignes du segment antérieur Receveur d'une greffe de cornée, de sclère, de limbe
<b>Traitements pouvant modifier les résultats de qualification biologique des donneurs</b>	Hémodilution (si le volume administré de plasma et colloïde dans les 48 h pré-mortem est supérieur à 50 % du volume plasmatique du donneur) Traitement à base d'agent immunosuppresseur par voie générale (sans précision) <sup>d</sup>

<sup>a</sup> La septicémie n'est pas une contre-indication : les donneurs atteints de septicémie bactérienne peuvent faire l'objet d'une évaluation et être pris en considération pour un don de cornées dans le cadre d'organoculture (un contrôle microbiologique est réalisé systématiquement sur le milieu de prélèvement et sur le milieu de culture).

<sup>b</sup> Un patient greffé de la cornée peut en revanche donner ses organes.

<sup>c</sup> Aucun autre cancer, qu'il soit métastatique ou pas, n'est une contre-indication au don de cornée.

<sup>d</sup> Bien évidemment, une corticothérapie au long cours n'est pas une contre-indication au don de cornée. Quant aux immunosuppresseurs, ils sont à discuter au cas par cas.

Figure 28 : Normes minimales consensuelles de la Eye Bank Association of America sur les contre-indications au don de cornée thérapeutique. *D'après l'EBAA.*(46)

Le don de cornée ne comporte théoriquement pas de limite d'âge puisque la survie des greffons n'est pas strictement corrélée à l'âge des donneurs(47) mais dépend essentiellement de la qualité du greffon.

### C. Les techniques de prélèvement

Le prélèvement des cornées est réalisé dans des conditions d'asepsie chirurgicale. Soit dans un bloc opératoire au cours d'un prélèvement multi organe, soit au dépôt mortuaire dans une salle spécifique (prélèvement à cœur arrêté)(48). Il existe 2 techniques : par excision in situ ou par énucléation. En France, il s'agit quasi exclusivement d'un prélèvement par excision in situ (le prélèvement par énucléation n'étant autorisé que lors des prélèvements multiorganes).

Les étapes du prélèvement par excision in situ (Figure 29) sont :

- 1/ Utilisation de gants, d'instruments stériles et d'une blouse chirurgicale.

- 2/ Asepsie chirurgicale minutieuse de la peau, de la surface oculaire et des culs-de-sac conjonctivaux avec deux écouvillons à la povidone iodée (Bétadine® 5%) puis rinçage abondant au BSS.
- 3/ Champage chirurgical et pose d'un blépharostat.
- 4/ Désinsertion conjonctivale limbique sur 360°. La conjonctive est réclinée dans les culs-de-sac conjonctivaux.
- 5/ Découpe sclérale à 3 ou 4 mm du limbe après marquage au trépan de 17 à 19 mm de diamètre, en déformant le moins possible la cornée (les plis sont délétères pour les cellules endothéliales) et en veillant à ne pas entrer en contact avec l'endothélium cornéen avec la pince.
- 6/ La **cornée (isolée avec sa collerette sclérale)** est placée immédiatement dans un flacon de **milieu de conservation**, hermétiquement clos.
- 7/ La restauration tégumentaire est réalisée à l'aide d'un conformateur assurant le respect du relief oculaire et la fermeture des paupières à l'aide de colle cyanoacrylate.

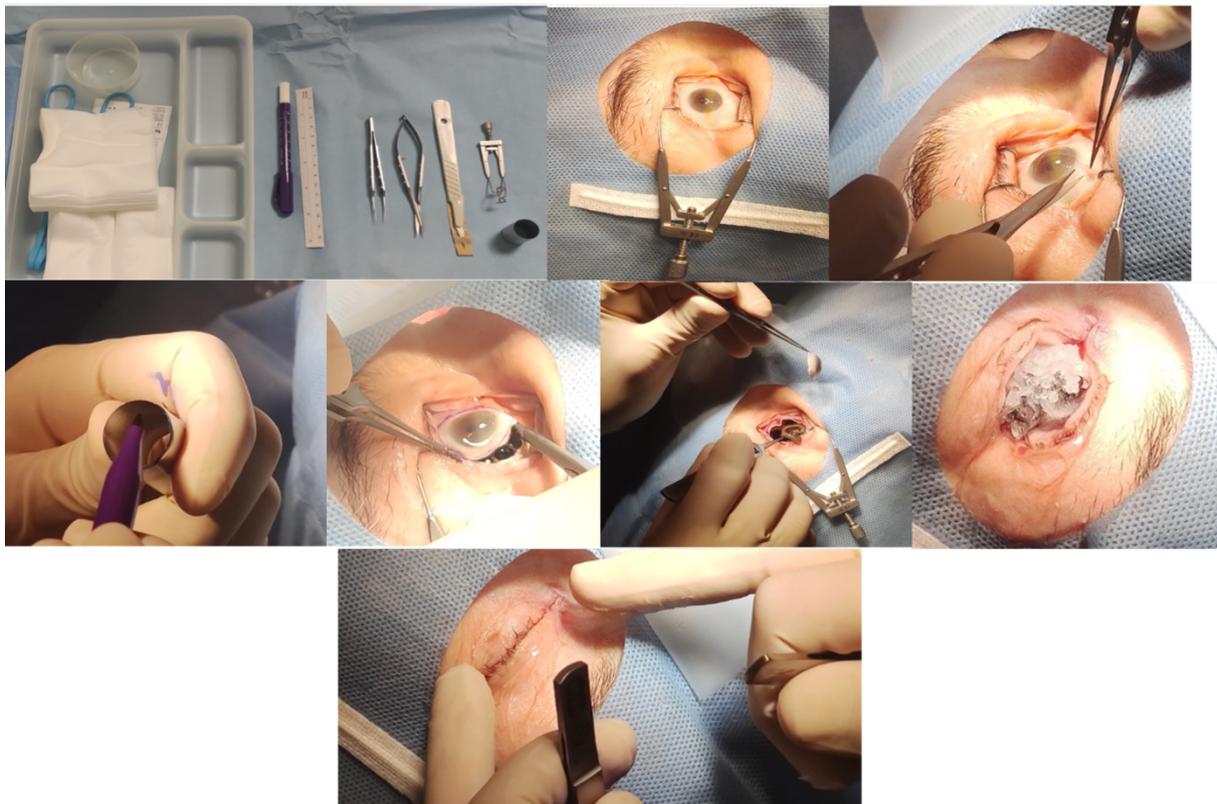


Figure 29 : Prélèvement de cornée. D'après le CHU de Rouen.

Un prélèvement sanguin (par voie sous-clavière le plus souvent) doit être effectué pour la réalisation des sérologies obligatoires.

## D. La conservation et la déturgescence

### 1. L'histoire

Historiquement, la conservation du **globe entier en chambre humide à + 4°C** était la méthode de référence. Elle ne permettait qu'une conservation de 24h. Elle est encore utilisée dans les pays de faible niveau économique(49). Cette méthode ne comporte pas de contrôle microbiologique.

Aux États Unis et dans la majorité du monde(50), la méthode de référence est la conservation d'une **collerette cornéosclérale en hypothermie en milieu liquide à + 4°C**. Depuis plusieurs décennies, le milieu de conservation principal est l'Optisol-GS® (gentamycine-streptomycine). Ce milieu permet une conservation jusqu'à 14 jours maximum. Il ne contient pas de sérum de veau fœtal, mais contient en revanche du dextran et de la chondroïtine sulfate. Ces 2 macromolécules limitent fortement l'œdème stromal et la formation des plis stromaux postérieurs. Cette méthode ne comporte pas de contrôle microbiologique.

### 2. En France

En France et en Europe, la méthode de référence est la conservation d'une **collerette cornéosclérale en organoculture entre 31 et 37°C** (proche de la température d'une cornée in vivo) pour une durée allant jusqu'à 35 jours (selon les pays et les banques). Cette durée de conservation longue permet de réaliser de nombreux contrôles de sécurité et de qualité ainsi que de réduire les pertes de greffons par défaut de disponibilité des receveurs.

Le milieu de conservation est un dérivé des milieux de culture cellulaire : le **minimum essential medium (MEM) de Dulbecco**. Le rôle de ce milieu est de maintenir les fonctions métaboliques cellulaires pendant la période allant du prélèvement de cornée à la greffe. Le milieu contient également 2 % de sérum de veau fœtal indispensable à la survie des cellules endothéliales au-delà de quelques jours.

En France, ces milieux ont le statut de dispositifs médicaux de classe III et possèdent le marquage CE (Conformité Européenne). 2 milieux sont actuellement disponibles (Figure 30) : CorneaPrep/Max/Jet® (Eurobio, France) et Tissu-C/Carry-C® (Alchimia, France).



Figure 30 : Milieux de culture cellulaire actuellement disponibles en France : Eurobio (à gauche) et Alchimia-Moria (à droite)

Durant la phase de conservation en organoculture, le **stroma cornéen devient très œdémateux** du fait de la perte de pression intra oculaire : l'épaisseur de la cornée double, la transparence est réduite et de nombreux plis endothéliaux apparaissent. Ces **plis endothéliaux** sont responsables d'une mortalité cellulaire endothéliale accélérée (Figure 31), altérant la fonction de pompe endothéliale et augmentant l'œdème stromal(51). C'est un cercle vicieux.

Cet œdème stromal entraîne une diminution de la maniabilité du greffon au bloc opératoire, une qualité de trépanation moindre et des sutures plus complexes du fait de la différence d'épaisseur entre la cornée du donneur et du receveur. Il serait également responsable d'un ralentissement de la récupération visuelle en post opératoire.

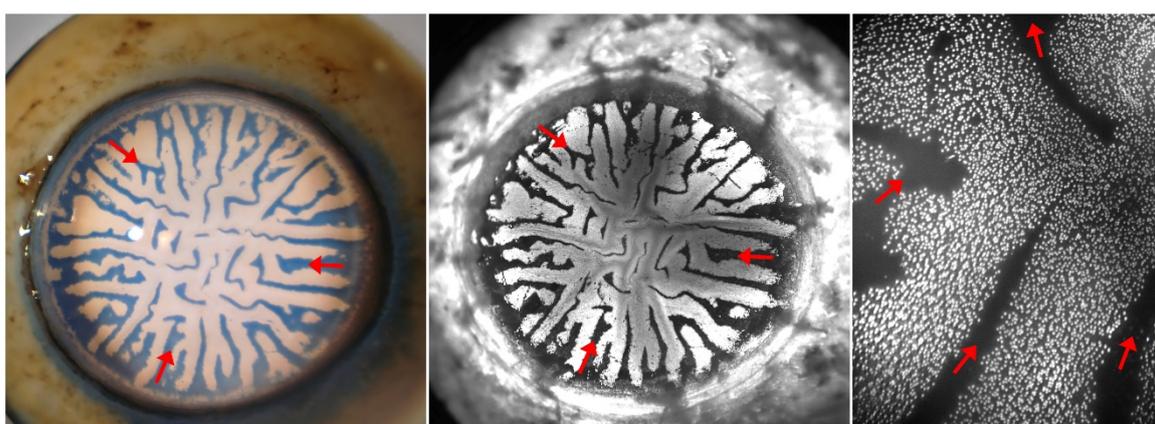


Figure 31 : Observations des plis endothéliaux en organoculture, responsables de zones de mortalité cellulaire endothéliale (flèche rouge). (A gauche : coloration bleu trypan, au milieu : coloration Calcein AM, à droite : noyaux cellulaires colorés par Hoechst 33342. D'après le CHU et la banque de cornée de Saint-Etienne.

Pour réduire cet œdème stromal, une **phase de déturgescence** du greffon est nécessaire. Elle est réalisée en fin de conservation, dans les jours qui précèdent la greffe. La

cornée est immergée dans un milieu de conservation de même composition que le précédent, additionné de **dextran T500** : il s'agit d'une macromolécule hyperosmolaire (polymère synthétique de glucose à grosse chaîne) dont les propriétés hydrophiles et osmotiques, permettent une absorption de l'eau du stroma (la pression osmotique colloïdale d'une solution de dextran à 6% dans de l'eau est équivalente à la pression osmotique colloïdale du sang humain).

La durée de cette phase est **limitée à 4-5 jours** en fonction des milieux utilisés en raison d'une toxicité cellulaire endothéliale. Cette toxicité est attribuée à son accumulation intracellulaire entraînant la formation de **vacuoles** dans le cytoplasme des cellules endothéliales (Figure 32)(52–54). Le greffon immergé dans ce milieu de déturgescence, serait affecté d'une surmortalité cellulaire estimée à une perte de DCE de 7% par jour de déturgescence(52,55).

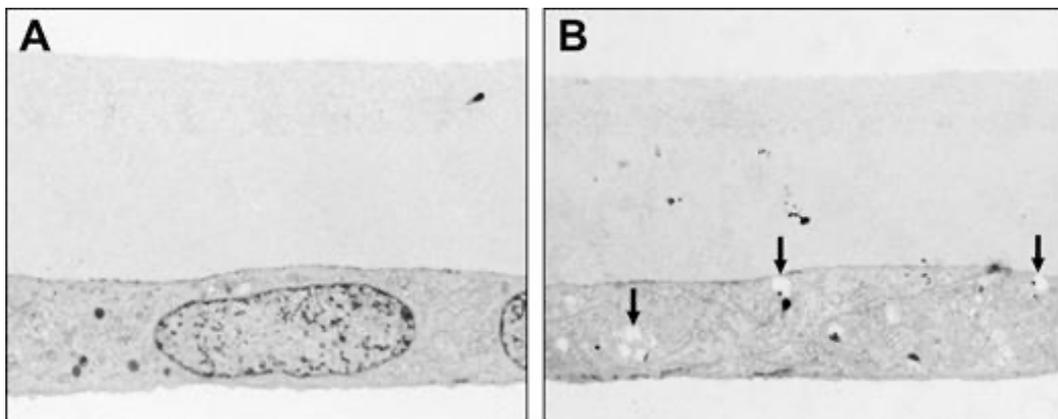


Figure 32 : Cellules endothéliales en microscopie électronique à transmission x 2000. A : greffon non déturgé. B : greffon déturgé en dextran. De nombreuses vacuoles cytoplasmiques étaient présentes. *D'après Yoeruek et al.(54)*

### E. Les contrôles de qualité et de sécurité

Le contrôle de sécurité microbiologique a pour but de réduire au minimum les risques de transmission de pathologies infectieuses du donneur au receveur. Le respect des contres indications médicales au don est la 1<sup>ère</sup> étape. Ensuite, la stérilité bactérienne et fongique du greffon est assurée par l'immersion des greffons dans un milieu nutritif contenant des **antibiotiques** et des **antifongiques** (pénicilline, streptomycine et amphotéricine B). Ce milieu contient également du **rouge phénol**, indicateur coloré de pH pour détecter une infection précoce : les micro-organismes produisent du CO<sub>2</sub> (dioxyde de carbone) dont la réaction avec les composés du milieu produisent des protons qui acidifient le milieu et le font virer au jaune(56).

La mise à l'étude à 31°C pendant quelques jours assure une certaine **quarantaine** microbiologique suffisante pour que les inoculi les plus importants se révèlent(57).

La réalisation de **tests microbiologiques** performants permet de détecter très rapidement les contaminations bactériennes et fongiques(58)(59). L'envoi en bactériologie de la collerette après trépanation est devenu inutile car aucune corrélation entre son taux de contamination et les suites post greffe n'a jamais pu être démontrée(60,61). L'ensemble des manipulations des greffons s'effectuent dans une zone dédiée spécifique, en salle blanche certifiée, sous hotte à flux d'air laminaire, par un personnel accrédité et expérimenté.

Il existe également des contrôles de qualité qui se déclinent en 3 aspects : la transparence cornéenne, l'épaisseur cornéenne et la densité de cellules endothéliales. En organoculture, les contrôles de qualité sont effectués en parallèle des contrôles microbiologiques, après réception et mise en quarantaine de la cornée et avant cession pour greffe.

La qualité endothéliale détermine en partie la survie du greffon dans le temps. Le paramètre le plus important est la **densité cellulaire endothéliale**(62). Les banques de cornée délivrent des greffons ayant une **DCE > 2000 c/mm<sup>2</sup>** avant cession du greffon, un **polymorphisme modéré**, un **polymégathisme modéré**, une **mort cellulaire < 2%**, une **perte cellulaire < 20 %** entre le début et la fin de la conservation, l'absence de gouttes en grand nombre ou confluentes.

Pour pouvoir examiner les cellules endothéliales, il nécessite de déconditionner la cornée pendant plusieurs minutes. Le greffon doit être préparé sous hotte à flux laminaire (système ouvert). La préparation débute par une coloration au bleu trypan 0,4% des cellules endothéliales mortes pendant 1 minute puis rinçage et dilatation des espaces intercellulaires(63) par des bains de sérum physiologique 0,9 % ou de saccharose pendant 4 minutes. Le greffon, placé dans une boîte de Pétri® stérile hermétique, est observé au microscope optique (objectif ×10 ou ×20) dans la salle blanche. 3 photos sont prises au minimum pour l'analyse ultérieure.

La DCE est déterminée par une méthode de comptage des cellules par extrapolation à partir d'un échantillon d'images endothéliales de quelques mm<sup>2</sup> pour obtenir la DCE totale. Le comptage manuel est fastidieux, peu standardisé, non traçable et très variable d'un technicien à l'autre, cette méthode ne permet pas de mesurer la morphométrie des cellules qui fait partie des indicateurs de qualité endothéliale. Le **comptage informatisé** (Figure 33) réalisé par des logiciels d'analyse d'images, donne des résultats fiables et reproductibles et remplace avantageusement les méthodes manuelles(64,65).

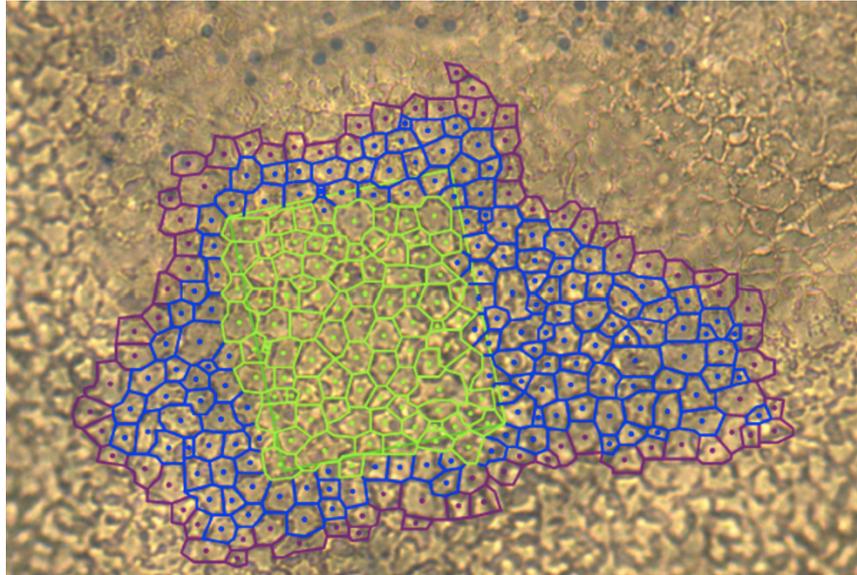


Figure 33 : Photographie d'un endothélium avec contrôle de la DCE à la banque de cornée. *D'après le CHU de Rouen*

Cependant, même si le comptage de la DCE en banque reste un outil de sélection pour les cornées éligibles à la greffe, il y a toujours un laps de temps entre le comptage et la greffe, durant laquelle la perte de cellule endothéliale est non quantifiée (**les cellules meurent au rythme de 1% par jour**(66)).

L'évaluation de la **transparence cornéenne** est subjective, laissée à l'appréciation du préleveur, du technicien de banque et du chirurgien greffeur en bout de chaîne. Des dispositifs d'analyse d'images ont été développés et validés ces dernières années (67,68) mais l'idéal serait de pouvoir mesurer la transparence cornéenne après déturgescence, ce qui nécessiterait un contrôle supplémentaire et comporterait un risque de contamination.

L'**épaisseur cornéenne** est mesurée par tomographie par cohérence optique (OCT), qui a remplacé le pachymètre à ultrasons. L'OCT permet une mesure rapide, faible et non contact, tout en gardant le greffon stérile(69).

# ÉTUDE CLINIQUE

## I. Objectif de l'étude

Le but de notre travail est d'analyser l'impact de la déturgescence en dextran sur la perte cellulaire endothéliale après une DMEK, chez des patients atteints de dystrophie endothéliale de Fuchs.

## II. Matériels et méthodes

### A. L'étude prospective

Il s'agit d'une étude prospective, randomisée, monocentrique, réalisée au Centre Hospitalier Universitaire de Rouen (Normandie, France).

La sélection des patients : Nous avons recherché tous les patients en attente de DMEK seule ou associée à une chirurgie de phacoémulsification (PKE) de Mai 2023 à Juin 2024, à l'aide de la liste des demandes de programmations chirurgicales pour greffes endothéliales sous anesthésie locale par le Pr Muraine, dans le logiciel M-EVA® (Maincare). Pour chaque patient, le dossier médical ophtalmologique a été étudié à l'aide du logiciel Sophtalmo® (Corilus), permettant d'inclure uniquement les patients atteints d'une dystrophie endothéliale de Fuchs.

Les patients présentant des comorbidités ophtalmologiques telles qu'un glaucome, une hypertension oculaire, un antécédent de chirurgie oculaire autre que la PKE, ont été **exclus**.

Les patients ont été répartis par **paires**, afin de se voir attribuer les cornées d'un même donneur. Chaque paire de patients a été programmé pour une intervention le même jour pour garantir leur comparabilité.

Ensuite une **randomisation binaire** a été effectuée à l'aide du site random.org, permettant d'attribuer à chaque greffon d'un même donneur, une déturgescence (GD) ou non (GND). La randomisation a été effectuée en mode ouvert vis-à-vis du chirurgien et de la banque de cornée.

La sélection des greffons : Les greffons sélectionnés pour chaque paire de patients doivent répondre aux caractéristiques suivantes : ils doivent être issues de cornées prélevées au sein d'un même donneur décédé, conformément à la réglementation. La DCE à 10 jours de conservation doit être supérieure à 2000 cellules/mm<sup>2</sup>. La perte de densité cellulaire

endothéliale entre les 2 contrôles de qualité pré greffe doit être inférieure à 20%. La mortalité cellulaire doit être inférieure à 2%.

Le protocole de conservation (Figure 34) : Le prélèvement des cornées a été réalisé après consentement éclairé des proches du défunt. Les cornées sont prélevées au CHU de Rouen selon la procédure recommandée en France pour les cornées destinées à la greffe. Elles sont ensuite immergées dans **60 ml de CorneaPrepII** (Eurobio, France) pendant 5 jours, puis transférées dans **100 ml de CorneaMax** (Eurobio, France) et stockées à 31°C dans un incubateur sec. Le contrôle de qualité endothéliale a été effectué à 10 jours de conservation et 1 à 2 jours avant la greffe. En raison des week-ends et de l'organisation des horaires de travail, les dates peuvent varier de 1 ou 2 jours. Le comptage des cellules endothéliales a été effectué après coloration au bleu trypan 0,4% (Eurobio, France) et préparation osmotique de l'endothélium avec du chlorure de sodium à 0,9%. Les cellules endothéliales ont été visualisées à l'aide d'un microscope à lumière transmise Eclipse 50i (Nikon Japon) objectif X10 avec un appareil photo numérique (Evolution MP, Mediacybernetics, Silver Spring, MD) ainsi que le logiciel QCAPTURE PRO (Qimaging, Canada). Minimum 5 images de l'endothélium ont été capturées dans une zone centrale de 8 mm de diamètre. Les cellules endothéliales ont été comptées par méthode semi-automatique avec le logiciel Image-Pro Express (Mediacybernetics, USA). La moyenne de densité cellulaire endothéliale a été réalisée.

Les greffons cornéens **randomisés sans déturgescence (GND)** sont maintenus dans leur milieu de conservation **CorneaMax original**.

Les greffons cornéens **randomisés en déturgescence (GD)** sont immergés dans **50 ml de CorneaJet** (Eurobio, France) à la suite du contrôle de densité cellulaire endothéliale avant greffe.



Figure 34 : Frise chronologique du protocole.

Les différentes cornées sont ensuite acheminées au bloc opératoire à température ambiante.

Les préparations du greffon et les réalisations des greffes de cornée ont toutes été réalisées par le Pr Muraine, selon la **technique d'hydrodissection de Muraine** précédemment expliquée.

La collecte des données : Les données concernant les patients ont été recueillies à l'aide du logiciel Sophtalmo® (Corilus). Tous les patients greffés bénéficient d'un suivi standardisé. Les patients étaient examinés à J1, J7, J15, M1, M2 post greffe. Les données suivantes ont été recueillies en pré opératoire : l'acuité visuelle, la pachymétrie. Les données suivantes ont été recueillies à 2 mois post opératoire (M2) : la densité cellulaire endothéliale (DCE) mesurée par microscopie spéculaire (Nidek), la meilleure acuité visuelle corrigée (MAVC) et la pachymétrie (pachy). Les complications post opératoires survenant au cours des 2 premiers mois ont également été recueillies. Les données concernant les greffons ont été récupérées à partir de la base de données de la banque de cornée de Rouen : l'âge du donneur, la densité cellulaire endothéliale avant greffe , la durée d'organoculture et le délai de déturgescence ont été recueillis.

## **B. L'étude rétrospective**

Il s'agit d'une étude rétrospective, monocentrique, réalisée au Centre Hospitalier Universitaire de Rouen (Normandie, France).

La sélection des sujets : Nous avons recherché tous les patients atteints de dystrophie de Fuchs et opérés d'une DMEK seule ou associée à une chirurgie de phacoémulsification (PKE) par le Pr Muraine entre Janvier 2022 et Mai 2024 à l'aide de la **base de données de la banque de cornée de Rouen**. Selon les données de conservation des greffons correspondants, nous avons créé deux groupes : **greffon déturgé en dextran (GD)** ou **non déturgé (GND)**.

Les patients présentant des comorbidités ophtalmologiques telles qu'un glaucome, une hypertension oculaire, un antécédent de chirurgie oculaire autre que la PKE, ont été **exclus**.

Le protocole de conservation : Les cornées ont été prélevées, stockées et analysées de manière identique à celle utilisée dans l'étude prospective.

La collecte des données : Les données recueillies concernant les patients sont identique à l'étude prospective.

### C. L'analyse statistique

Un test de Student apparié a été utilisé pour la comparaison statistique de l'étude prospective et un test de Student non apparié pour la comparaison statistique de l'étude rétrospective. Un test de régression linéaire a été réalisé pour mesurer l'influence de l'âge du donneur et de la durée de conservation sur la perte cellulaire endothéliale dans les 2 groupes.

La valeur  $p < 0,05$  étant considérée comme significative.

## III. Résultats

### A. L'étude prospective

#### 1. La population étudiée

Au total, 17 paires de cornées ont été incluses. Concernant les donneurs (Tableau 2), l'âge moyen du donneur est de 68 ans. La durée moyenne d'organoculture est de 20,1 jours. Les DCE avant greffe étaient comparables dans les 2 groupes avec une moyenne globale de 2709 cellules/mm<sup>2</sup>. La durée de déturgescence dans le groupe GD est en moyenne de 0,59 jours. Concernant les patients (Tableau 3), l'âge moyen est de 70 ans, la meilleure acuité visuelle corrigée moyenne pré opératoire est de 0,45 log MAR, la pachymétrie moyenne pré opératoire est de 646  $\mu\text{m}$ . La randomisation garantit la comparabilité des groupes. Quand bien même il peut exister de légers déséquilibres entre les groupes par hasard, cela n'avantage ni l'un ni l'autre des groupes.

53% des DMEK étaient combinées à une chirurgie de la cataracte.

	Total	GND	GD	p value
Âge (années)	67,79 (7,39)	67,71 (7,42)	67,88 (7,59)	
DCE pré greffe (c/mm <sup>2</sup> )	2709 (306)	2717 (305)	2700 (316)	0,714
Durée d'organoculture (jours)	20,1 (5,5)	19,8 (5,5)	20,4 (5,8)	
Durée de la déturgescence (jours)	0,59 (0,37)	NA	0,59 (0,37)	

Tableau 2 : Caractéristiques générales des donneurs (moyenne et écart type)

	Total	GND	GD	p value
Âge (années)	70,18 (7,27)	70,23 (5,72)	70,12 (8,74)	0,963
MAVC pré opératoire (logMAR)	0,45 (0,25)	0,45 (0,24)	0,45 (0,27)	0,973
Pachy pré opératoire ( $\mu\text{m}$ )	646 (53)	656 (59)	635 (45)	0,378

Tableau 3 : Caractéristiques générales des patients (moyenne et écart type)

## 2. La densité cellulaire endothéliale post opératoire

	Total	GND	GD	Différence de moyenne* (p)
DCE à M2 (c/mm <sup>2</sup> )	1533 (427)	1450 (415)	1615 (436)	165 (p=0,25)
Perte de DCE à M2 (%)	43 (14)	46 (14)	41 (15)	-6 (p=0,3)

Tableau 4 : Analyse de la DCE et de la perte cellulaire à 2 mois post opératoire (moyenne et écart type)  
\* test de Student sur séries appariées avec petits p bilatéraux (H0 : différence de moyennes = 0)

Il n'existe **pas de différence significative** de **DCE** à 2 mois post opératoire entre les 2 groupes de greffons. On observe tout de même une tendance à une meilleure DCE à 2 mois post opératoire concernant les greffons déturgés avec une différence entre les 2 groupes de 165 cellules/mm<sup>2</sup>.

La **perte de cellularité** à 2 mois post opératoire est également **non significative** avec une légèrement tendance en faveur des greffons déturgés (41% pour les greffons déturgés contre 46% pour les greffons non déturgés). La différence de perte cellulaire entre les 2 groupes est de 6%.

Dans cette étude la **perte globale de cellule endothéliale est de 43%**.

Le coefficient de corrélation de Pearson entre la densité cellulaire pré-greffe et post-greffe pour un greffon donné était estimée à 0,43 (p=0,002). Il existe donc une corrélation modérée entre la DCE avant greffe et post opératoire.

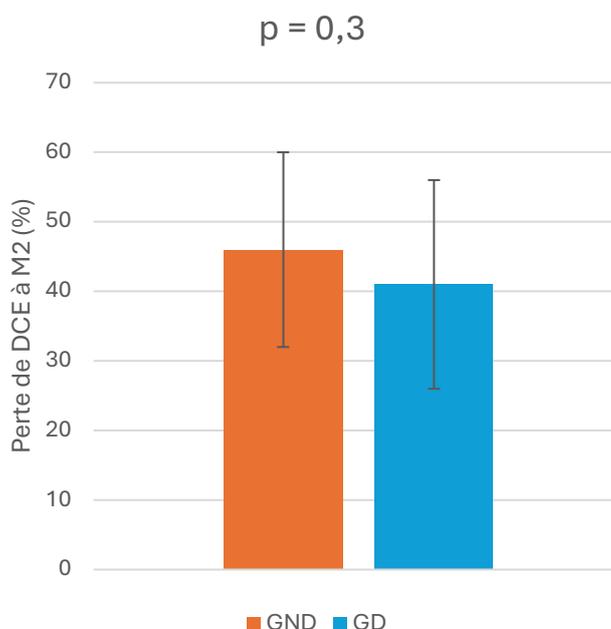


Figure 35 : Graphique représentant la perte de DCE à 2 mois post opératoire dans chaque groupe.

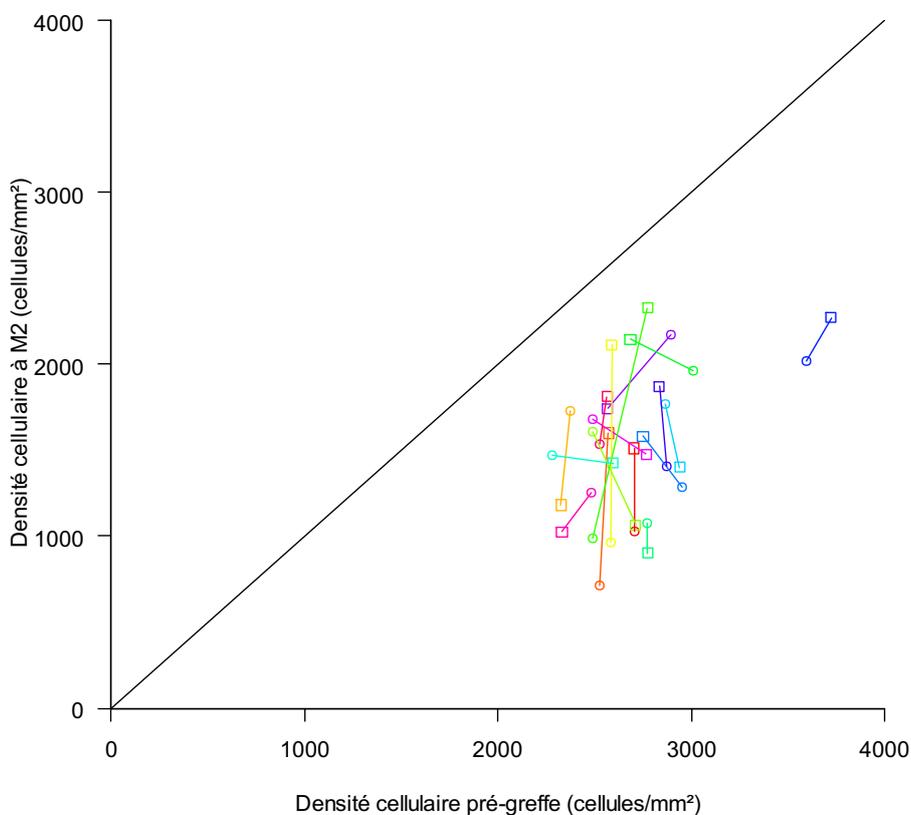


Figure 36 : Graphique représentant la DCE à 2 mois post opératoire en fonction de la DCE avant greffe.

Chaque segment de couleur représente une paire de greffons d'un même donneur, avec l'extrémité carrée qui représente le greffon débridé et l'extrémité ronde le greffon non débridé. La droite noire diagonale représente l'équation  $Y=X$ . Un point sur cette droite correspondrait à un greffon stable en densité cellulaire à M2 de la greffe par rapport à avant la greffe alors qu'un point en-dessous de la droite correspond à une perte cellulaire et un point au-dessus correspondrait à une augmentation de la densité cellulaire.

### 3. La pachymétrie post opératoire

	Total	GND	GD	Différence de moyenne* (p)
Pachymétrie à M2 ( $\mu m$ )	516 (40)	520 (45)	513 (36)	-7 (p=0,54)

Tableau 5 : Analyse de la pachymétrie à 2 mois post opératoire (moyenne et écart type)  
\* test de Student sur séries appariées avec petits p bilatéraux ( $H_0$  : différence de moyennes = 0)

Il n'existe **pas de différence significative** de **pachymétrie** à 2 mois post opératoire entre les 2 groupes de greffons. La pachymétrie moyenne à 2 mois opératoire est de 516  $\mu m$ .

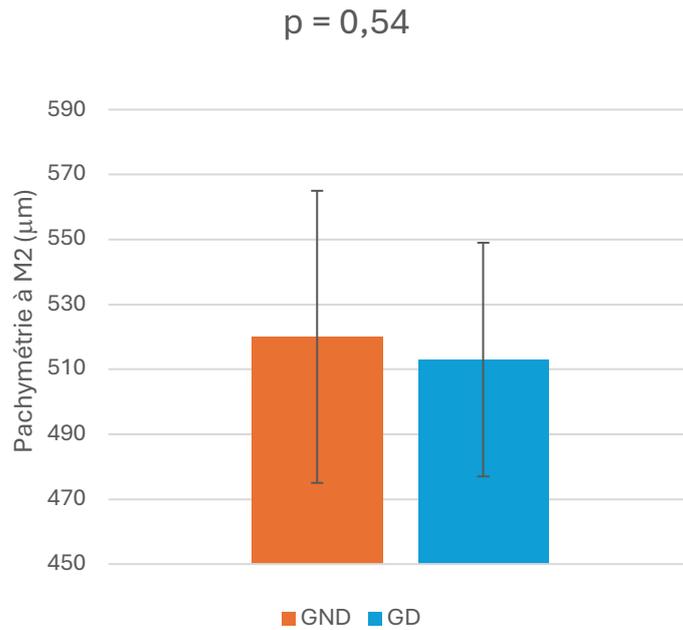


Figure 37 : Graphique représentant la pachymétrie à 2 mois post opératoire dans chaque groupe

#### 4. L'acuité visuelle post opératoire

	Total	GND	GD	Différence de moyenne* (p)
MAVC à M2 (logMAR)	0,16 (0,17)	0,15 (0,13)	0,18 (0,20)	0,03 (p=0,62)

Tableau 6 : Analyse de la MAVC à 2 mois post opératoire (moyenne et écart type)

\* test de Student sur séries appariées avec petits p bilatéraux (H0 : différence de moyennes = 0)

Il n'existe **pas de différence significative** de meilleure **acuité visuelle corrigée** à 2 mois post opératoire entre les 2 groupes de greffons. La MAVC moyenne à 2 mois opératoire est de 0,16 logMAR.

#### 5. Les complications post opératoires

La survenue d'un ou plusieurs **rebullages** pour décollement du greffon dans les 2 premiers mois post opératoire de la greffe est de 29,4% et 17,6% respectivement dans le groupe GND et GD. Il n'existe **pas de différence significative** (p = 0,27).

**Aucun cas de rejet de greffe endothéliale** n'a été observé pendant la période de suivi.

6. La perte de DCE en fonction de l'âge du donneur

	Coefficient bêta	p-value
Âge du donneur	0,773	0,290

Tableau 7 : Influence de l'âge du donneur sur la perte cellulaire endothéliale de greffon cornéen déturgé ou non.

L'âge du donneur n'est **pas significativement associé** à une plus grande perte de densité cellulaire endothéliale dans le groupe avec ou sans déturgescence.

7. La perte de DCE en fonction de la durée de conservation

	Coefficient bêta	p-value
Durée de conservation	-0,514	0,599

Tableau 8 : Influence de la durée de conservation sur la perte cellulaire endothéliale de greffon cornéen déturgé ou non.

La durée de conservation n'est **pas significativement associée** à une plus grande perte de densité cellulaire endothéliale dans le groupe avec ou sans déturgescence.

## B. L'étude rétrospective

### 1. La population étudiée

Au total, 201 cornées ont été incluses, dont 20 déturgées en dextran et 181 non déturgées. Concernant les donneurs (Tableau 9), l'âge moyen du donneur est de 71 ans. La durée d'organoculture est comparable entre les 2 groupes avec une moyenne globale de 19,8 jours. Les DCE avant greffe étaient comparables dans les 2 groupes avec une moyenne globale de 2650 cellules/mm<sup>2</sup>. La durée de déturgescence dans le groupe GD est en moyenne de 1,16 jours. Concernant les patients (Tableau 10), l'âge moyen est de 71 ans, la meilleure acuité visuelle corrigée moyenne pré opératoire est de 0,51 log MAR, la pachymétrie moyenne pré opératoire est de 642 µm.

49% et 50% des DMEK étaient combinées à une chirurgie de la cataracte, respectivement dans le groupe GND et GD.

	Total	GND	GD	p value
Âge (années)	71,22 (12,27)	71,61 (12,30)	67,65 (11,72)	0,171
DCE pré greffe (c/mm <sup>2</sup> )	2650 (284)	2647 (287)	2676 (262)	0,658
Durée d'organoculture (jours)	19,81 (4,62)	19,62 (4,40)	21,51 (6,19)	0,084
Durée de la déturgescence (jours)	1,16 (0,83)	NA	1,16 (0,83)	

Tableau 9 : Caractéristiques générales des donneurs (moyenne et écart type)

	Total	GND	GD	p value
Âge (années)	71,32 (8,39)	70,94 (8,41)	74,75 (7,62)	0,054
MAVC pré opératoire (logMAR)	0,51 (0,35)	0,51 (0,34)	0,57 (0,41)	0,469
Pachy pré opératoire (µm)	642 (54)	642 (56)	639 (35)	0,803

Tableau 10 : Caractéristiques générales des patients (moyenne et écart type)

### 2. La densité cellulaire endothéliale post opératoire

	Total	GND	GD	Différence de moyenne* (p)
DCE à M2 (c/mm <sup>2</sup> )	1436 (434)	1431 (443)	1478 (355)	47 (p=0,650)
Perte de DCE à M2 (%)	46 (17)	46 (17)	45 (13)	-1 (p=0,766)

Tableau 11 : Analyse de la DCE et de la perte cellulaire à 2 mois post opératoire (moyenne et écart type)  
\* test de Student avec petits p bilatéraux (H0 : différence de moyennes = 0)

Il n'existe **pas de différence significative** de **DCE** à 2 mois post opératoire entre les 2 groupes de greffons.

La **perte cellulaire** à 2 mois post opératoire est également **non significative** entre les 2 groupes.

Dans cette étude la **perte globale de cellule endothéliale est de 46%**.

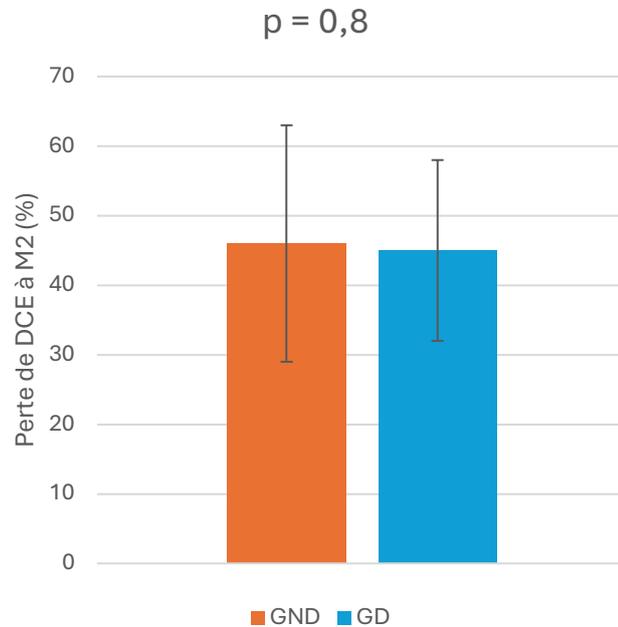


Figure 38 : Graphique représentant la perte de DCE à 2 mois post opératoire dans chaque groupe.

### 3. La pachymétrie post opératoire

	Total	GND	GD	Différence de moyenne* (p)
Pachymétrie à M2 ( $\mu\text{m}$ )	515 (43)	515 (42)	514 (47)	-1 (p=0,926)

Tableau 12 : Analyse de la pachymétrie à 2 mois post opératoire (moyenne et écart type)

\* test de Student avec petits p bilatéraux (H0 : différence de moyennes = 0)

Il n'existe **pas de différence significative** de **pachymétrie** à 2 mois post opératoire entre les 2 groupes de greffons. La pachymétrie moyenne à 2 mois opératoire est de 515  $\mu\text{m}$ .

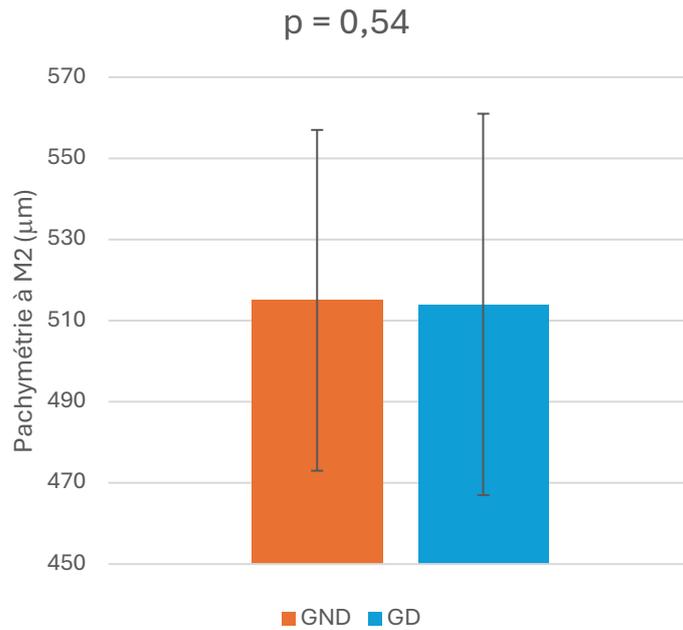


Figure 39 : Graphique représentant la pachymétrie à 2 mois post opératoire dans chaque groupe

#### 4. L'acuité visuelle post opératoire

	Total	GND	GD	Différence de moyenne* (p)
MAVC à M2 (logMAR)	0,18 (0,19)	0,17 (0,17)	0,28 (0,30)	0,11 (p=0,013)

Tableau 13 : Analyse de la MAVC à 2 mois post opératoire (moyenne et écart type)  
\* test de Student avec petits p bilatéraux (H0 : différence de moyennes = 0)

Il existe une **différence significative** de meilleure **acuité visuelle** corrigée à 2 mois post opératoire en faveur du groupe GND avec une MAVC de 0,17 log MAR. La MAVC moyenne à 2 mois opératoire est de 0,18 logMAR.

#### 5. Les complications post opératoires

La survenue d'un ou plusieurs **rebullages** pour décollement précoce dans les 2 premiers mois post opératoire de la greffe est de 27,1% et 15% respectivement dans le groupe GND et GD. Il n'existe **pas de différence significative** (p = 0,29).

**2 rejets de greffe endothéliale** ont été observés à 1 mois post opératoire pour 2 greffons du groupe GND.

### 6. La perte de DCE en fonction de l'âge du donneur

Perte de DCE	GND		GD	
	Coefficient bêta	p-value	Coefficient bêta	p-value
Âge du donneur	0,348	0,00064	0,063	0,810

Tableau 14 : Influence de l'âge du donneur sur la perte cellulaire endothéliale de greffon cornéen déturgé ou non.

Dans le groupe GD, l'âge du donneur n'est pas significativement corrélé à la perte de DCE. Dans le groupe GND, une augmentation d'une unité d'âge du donneur est associée à une **augmentation de 0,348% de perte de DCE** (donc 3,48% pour 10 ans).

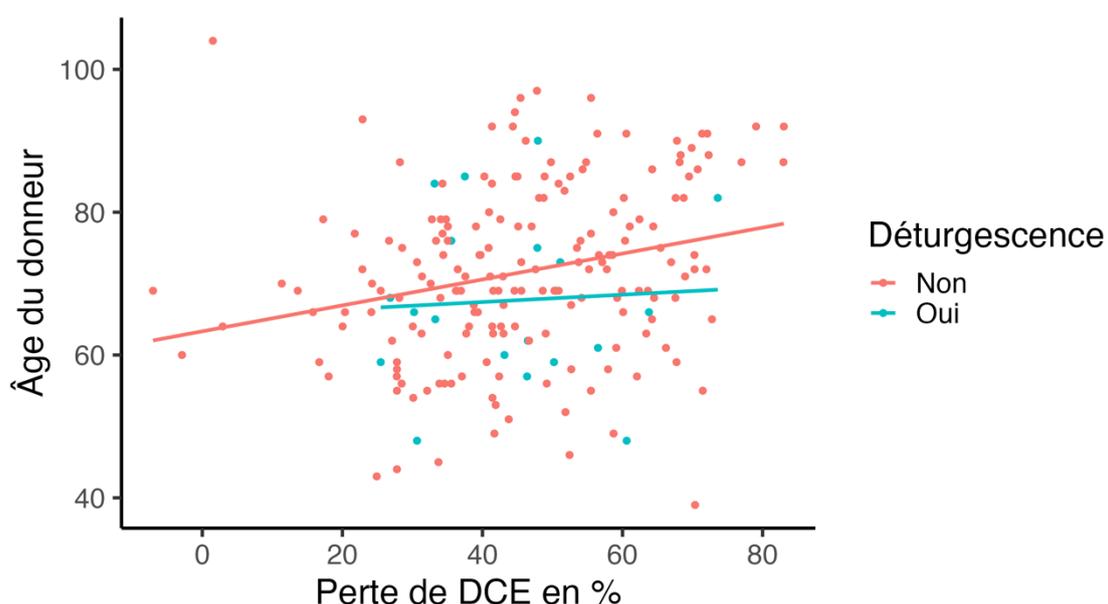


Figure 40 : Graphique représentant la corrélation entre la perte de DCE à M2 et l'âge du donneur dans les 2 groupes.

### 7. La perte de DCE en fonction de la durée de conservation

Perte de DCE	GND		GD	
	Coefficient bêta	p-value	Coefficient bêta	p-value
Durée de conservation	0,919	0,000129	0,0041	0,993

Tableau 15 : Influence de la durée de conservation sur la perte cellulaire endothéliale de greffon cornéen déturgé ou non.

Dans le groupe GD, la durée de conservation n'est pas significativement corrélée à la perte de DCE. Dans le groupe GND, une augmentation d'un jour de durée de conservation est associée à une **augmentation de 0,919% de perte de DCE** (donc 9,19% pour 10 jours)

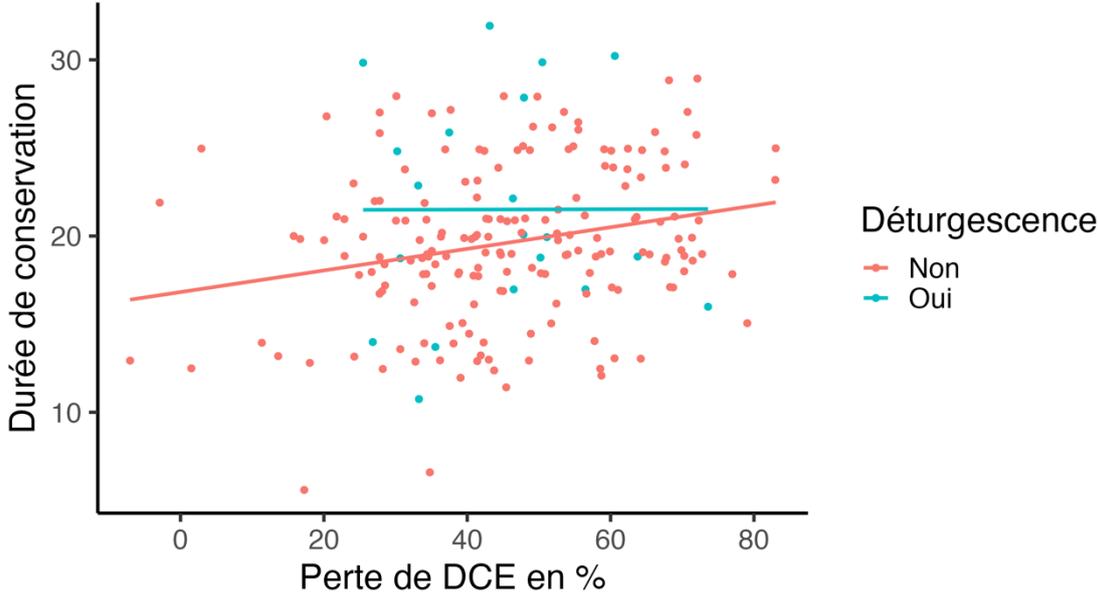


Figure 41 : Graphique représentant la corrélation entre la perte de DCE à M2 et la durée de conservation des greffons dans les 2 groupes.

## IV. Discussion

L'**organoculture** est la technique de conservation de référence en France. Cependant, les milieux de conservation provoquent un **gonflement rapide du stroma**, entraînant un doublement de l'épaisseur de la cornée, une réduction de la transparence cornéenne, ainsi que de nombreux plis descemétiques. Afin de faciliter la manipulation du greffon au bloc opératoire, la cornée doit être déturgée avant la chirurgie par immersion dans un milieu complété par une macromolécule hydrosoluble pour obtenir une pression osmotique similaire à celle de l'organisme humain. Le dextran est de loin l'agent le plus couramment utilisé dans les banques de cornées.

Cette procédure est obligatoire pour la kératoplastie transfixiante. En revanche, les DMEK peuvent être réalisées à partir de cornées qu'elles soient œdématisées ou non. Les protocoles concernant les DMEK varient en fonction des banques de cornées. Cependant, il a été démontré que le dextran a une toxicité endothéliale due à son accumulation intra cellulaire conduisant à la formation de vacuoles dans les cellules endothéliales et les kératocytes(70). Cette toxicité est corrélée à la durée d'exposition au dextran(58,71).

### A. La confrontation avec la littérature

A ce jour dans la littérature, il existe **peu d'études** analysant l'impact du dextran sur la densité cellulaire endothéliale en **post opératoire** d'une DMEK standard.

Nous avons donc décidé dans un premier temps de réaliser une étude prospective. En raison de résultats non significatifs et du nombre de patient non élevé, nous avons décidé de poursuivre les investigations : c'est pourquoi nous avons entrepris une étude complémentaire, cette fois ci, rétrospective sur un échantillon de patients distinct mais plus important.

La **densité cellulaire endothéliale** a été mesurée à 2 mois post opératoire car on sait qu'il existe une perte brutale de 13 % la première semaine, puis une diminution plus lente durant les 6 premiers mois et se stabilise après 6 mois(43). Dans nos 2 études, le pourcentage de perte moyenne de densité cellulaire endothéliale à 2 mois post opératoire est de 43% et 46%, respectivement pour l'étude prospective et rétrospective. Ces résultats sont légèrement supérieurs à ceux retrouvés dans la littérature avec une perte moyenne entre 30 et 40% dans les 6 premiers mois.

Nous n'avons pas mis en évidence de différence significative entre les 2 groupes concernant la **DCE**, la **perte cellularité**, la **pachymétrie**. Ces résultats sont en accord avec les recherches menées par 2 équipes allemandes. Peu d'études issues d'autres pays ont été réalisées car en Allemagne, les greffons pour DMEK sont obligatoirement déturgés dans un

milieu contenant du dextran. Menzel-Severing et al(77) ont mené des recherches au sein d'une cohorte prospective randomisée de 200 patients dans le but d'étudier si l'absence de déturgescence modifiait les résultats post opératoires d'une DMEK. Aucune différence significative n'a été détectée entre les 2 groupes (déturgés et non déturgés) pour la MAVC, la pachymétrie, la DCE et le taux de rebullage précoce, durant la première année post opératoire. Rickmann et al(78) ont également montré qu'il y a pas de différence significative concernant la perte DCE, la pachymétrie, la MAVC et le taux de rebullage, 1 an après une DMEK issues d'un greffon déturgé ou non.

En revanche, de nombreuses équipes ont étudié la **toxicité du dextran dans les DMEK prédécoupées** (*prestripped* DMEK) et ont produit des résultats divergents. Dans cette technique, le greffon endothélial est alors libre dans le milieu de culture ou légèrement attaché à son stroma par une petite charnière centrale. Prenons l'exemple d'Heinzelmann et al(79) comparant une cohorte rétrospective de 453 cas de DMEK standard à 11 cas de DMEK prédécoupées au maximum 48h avant la chirurgie. Ils rapportent que la perte cellulaire endothéliale est significativement plus élevée pour les greffons découpés et attribuent cela à l'accumulation potentielle du dextran sur la surface de la membrane de Descemet. Il est important de préciser que les greffons pour DMEK prédécoupées étaient déturgés pendant les 24 à 72 heures précédant la découpe et étaient ensuite replacés dans un milieu contenant du dextran pendant 24 à 48 heures. Cela correspond à une **durée totale d'exposition au dextran de 2 à 5 jours**. On notera que pour Borderie et al(52), les dommages induits par la déturgescence dans un milieu avec du dextran pendant 24 à 48 heures étaient modérés, alors qu'ils seraient plus graves lorsque la durée s'étendait sur 3 à 4 jours. Et le temps nécessaire selon Hamon et al(80) pour une déturgescence optimale amenant à une pachymétrie de 506 µm en pré opératoire serait de 12 heures. Dans nos études, la **durée moyenne de déturgescence** est 0,55 et 1,16 jours, respectivement dans l'étude prospective et rétrospective. La durée est **toujours inférieure à 2,8 jours**. Nous pouvons considérer que cette période est relativement **courte** et qu'elle n'a pu provoquer que **d'infimes changements** dans le greffon non mis en évidence dans notre étude. Cette hypothèse est validée par Filev et al(81) sur une cohorte rétrospective de 1334 greffons cornéens, où ils observent que la perte cellulaire endothéliale est significativement corrélée au temps immergés dans les milieux contenant du dextran.

D'autres techniques de greffons prêts à l'emploi nécessitant le dextran sont employées telles que les **DMEK préchargées** (*preloaded* DMEK), visant à enrôler le greffon endothélial sur lui-même et le distribuer dans une cartouche pour lentille intra oculaire, prêt à être injecté. Dans la littérature, les recherches rapportent principalement des **résultats favorables** à

**l'utilisation du dextran pour le transport** de ce type de greffon. Pour Parekh et al(82–85), le dextran jouerait un rôle important dans le transport des greffons préchargés pendant 4 jours : Le dextran aiderait à maintenir les cellules endothéliales adhérentes à la membrane de Descemet et préserverait la souplesse indispensable au dépliement des tissus. Dans notre étude, le chirurgien a également observé une **différence dans la manipulation des tissus en faveur des greffons déturgés** bien que cela n'ait pas été formellement évalué.

Concernant les **complications post opératoires**, on sait qu'il existe une corrélation significative entre le taux de rebullage pour décollement post opératoire et l'expérience du chirurgien. Mais la survenue de ces décollements du greffon pourrait être également majoré par une défaillance de fonction de pompe des cellules endothéliales, par altération de la viabilité cellulaire, comme l'affirme Hayashi et al(86). Dans notre étude, le dextran ne semble pas être impliqué dans cette complication, avec une **absence de différence significative** entre les 2 groupes.

**L'âge du donneur** est un critère important à prendre en compte lors d'une DMEK. On sait que plus le donneur est jeune (âge inférieur à 50-55 ans), plus la DCE est importante mais l'endothélium est également plus difficile à manipuler en peropératoire : il est plus élastique, plus fin et s'enroule rapidement après avoir été séparé de son stroma(87). Dans cette étude, nous avons étudié si les effets de la déturgescence sur la perte cellulaire endothéliale étaient influencés par l'âge du donneur. Dans l'étude rétrospective, contrairement aux greffons non déturgés, on note que l'âge du donneur **n'est pas significativement corrélé à la perte de cellularité quand les greffons sont déturgés**. Ces résultats sont confirmées par les recherches menées par Filev et al(81).

Enfin nos résultats de l'étude rétrospective, suggèrent que contrairement aux greffons non déturgés, la **durée de conservation n'est pas corrélée à la perte de cellularité à 2 mois post opératoire quand les greffons sont déturgés**. Il n'y a pas d'étude retrouvée ce jour étudiant à proprement parler ce paramètre. Ces résultats seraient expliqués par le fait que les plis descemetiques induits par la conservation en organoculture sont responsables d'une mortalité cellulaire endothéliale au sein de ces plis. Grâce à la phase de déturgescence, les plis s'estompent et la mosaïque endothéliale serait en mesure de s'organiser et de combler les lacunes cellulaires endothéliales laissées par les cellules mortes.

## **B. Les forces et les limites de l'étude**

Bien que la majorité des analyses biostatistiques n'aient révélé aucune différence entre les groupes, quelques limites de cette étude doivent être prises en compte. Le petit effectif de cornées déturgées dans les 2 études pourraient réduire la fiabilité et la généralisation des résultats. Ce nombre a été volontairement maintenu petit pour maintenir la sécurité des patients en raison de la littérature ambiguë. La courte durée de suivi au CHU de Rouen est également une des limites de cette étude. Elle est expliquée par le fait que la majorité des patients opérés d'une DMEK au CHU de Rouen provient de l'ensemble du territoire français voire de l'étranger. Pour éviter les multiples déplacements aux patients, les consultations post opératoires sont partagées avec l'ophtalmologiste traitant du patient greffé. Seules les consultations à J1, J7 et M2 post opératoire sont obligatoirement réalisées au CHU de Rouen. Ces raisons motivent le fait que le critère de jugement principale soit seulement évalué à 2 mois post opératoire. Une dernière limite est à relever. La déturgescence en dextran est un élément connu du chirurgien réalisant la greffe et du technicien de la banque de cornée réalisant le comptage de cellulaire endothéliale pré greffe. Cela peut induire un biais de performance ou de mesure, c'est-à-dire influencer la manière dont les soins sont dispensés.

La randomisation de l'étude prospective garanti une répartition aléatoire des patients et des greffons entre les groupes, ce qui réduit les biais de sélection et augmente ainsi la validité interne de l'étude. L'utilisation de paires de cornées dans l'étude prospective augmente la puissance de la comparaison en permettant de minimiser la variabilité entre 2 donneurs distincts. On considèrera que les 2 cornées d'un même donneur se comportent de la même façon.

## CONCLUSION

La greffe de cornée de type DMEK est désormais la technique de référence pour traiter les pathologies endothéliales, en particulier la dystrophie de Fuchs. Elle se distingue des autres kératoplasties par une meilleure récupération visuelle, une diminution de l'astigmatisme post opératoire et du rejet du greffe.

La longévité d'un greffon dépend principalement du nombre de cellules endothéliales au moment de la greffe. Il est donc important **d'optimiser la conservation de ces greffons**.

Le **dextran** est un agent osmotique utilisé pour réduire l'œdème stromal induit par la technique de conservation de référence en France qui est l'organoculture. Un greffon non œdémateux possède plusieurs avantages tels qu'une mosaïque endothéliale régulière par l'absence de plis endothéliaux et une meilleure maniabilité au bloc opératoire, mais le dextran est décrit comme étant toxique dans certaines études. L'objectif de cette thèse était donc d'évaluer l'impact du dextran sur la perte cellulaire endothéliale après une DMEK dans le traitement de la dystrophie endothéliale de Fuchs.

Nos résultats montrent que l'utilisation du **dextran** comme agent de déturgescence **n'influence pas de manière significative sur la survie des cellules endothéliales à 2 mois post opératoire, la pachymétrie post opératoire et la survenue de complications post opératoires**. En revanche, pour chaque critère de jugement cité ci-dessus, les valeurs brutes montrent **systematiquement une meilleure qualité du greffon, quand celui-ci a été déturgé**.

**L'âge du donneur et la durée de conservation ne semble pas affecter la survie cellulaire endothéliale des greffons déturgés.**

Ces résultats sont intéressants pour la pratique clinique, notamment dans **l'optimisation des protocoles de conservation des greffons cornéens** dans les banques de cornéens car il n'existe aucune réglementation sur l'utilisation d'une déturgescence des greffons cornéens destinés à une DMEK. Des études complémentaires à plus grandes échelles sont nécessaires pour évaluer l'impact sur le long terme.

## BIBLIOGRAPHIE

1. Maurice DM. The structure and transparency of the cornea. *J Physiol*. 30 avr 1957;136(2):263-86.
2. Souédan V MD, Bouayed E MD. Anatomie de la cornée. *Ophtalmologie*. 1 août 2021;38(3):1-16.
3. Anatomie de l'œil [Internet]. *cancerdesyeux.fr*. [cité 3 août 2024]. Disponible sur: <https://www.cancerdesyeux.fr/cancers-oeil/anatomie-de-loeil/>
4. Dua HS, Faraj LA, Said DG, Gray T, Lowe J. Human corneal anatomy redefined: a novel pre-Descemet's layer (Dua's layer). *Ophthalmology*. sept 2013;120(9):1778-85.
5. La cornée | C.C.K. Paris - Centre de la Cornée et du Kératocône [Internet]. [cité 3 août 2024]. Disponible sur: <https://www.centre-cornee-keratocone.com/content/la-corn%C3%A9e>
6. Millodot M. The influence of age on the sensitivity of the cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. mars 1977;16(3):240-2.
7. Saraux Henry, Lemasson Christian, Offret Hervé, Renard Gabriel, Saraux H. Anatomie et histologie de l'œil / Henri Saraux, ..., Christian Lemasson, ..., Hervé Offret, ... [et al.]. 2e édition entièrement refondue et mise à jour. Paris [etc: Masson; 1982.
8. Rédacteur. Sciences et Avenir. 2013 [cité 26 sept 2024]. Abeilles : l'énigme de leurs alvéoles hexagonales est résolue. Disponible sur: [https://www.sciencesetavenir.fr/nature-environnement/abeilles-l-enigme-de-leurs-alveoles-hexagonales-est-resolue\\_10711](https://www.sciencesetavenir.fr/nature-environnement/abeilles-l-enigme-de-leurs-alveoles-hexagonales-est-resolue_10711)
9. Thuret G, Muraine M, Gain P. L'endothélium cornéen: rapport 2020. Issy-les-Moulineaux: Elsevier Masson; 2020.
10. Balyen L. The Physiology of Cornea. *JOJ Ophthalmology*. 19 déc 2022;9.
11. Galgauskas S, Norvydaitė D, Krasauskaitė D, Stech S, Ašoklis RS. Age-related changes in corneal thickness and endothelial characteristics. *Clin Interv Aging*. 2013;8:1445-50.
12. Arıcı C, Arslan OS, Dikkaya F. Corneal endothelial cell density and morphology in healthy Turkish eyes. *J Ophthalmol*. 2014;2014:852624.
13. Carlson KH, Bourne WM, McLaren JW, Brubaker RF. Variations in human corneal endothelial cell morphology and permeability to fluorescein with age. *Exp Eye Res*. juill 1988;47(1):27-41.
14. Pipparelli A, Thuret G, Toubeau D, He Z, Piselli S, Lefèvre S, et al. Pan-corneal endothelial viability assessment: application to endothelial grafts predissected by eye banks. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 29 juill 2011;52(8):6018-25.
15. He Z, Guedry J, Toubeau D, Gain P, Thuret G, Muraine M. Endothelial quality of eye bank-prestripped DMEK prepared from organ-cultured corneas with the Muraine technique. *Cell Tissue Bank*. déc 2018;19(4):705-16.
16. Fuchs E. Dystrophia epithelialis corneae. *Albrecht von Graefes Archiv für Ophthalmologie*. 1 août 1910;76(3):478-508.
17. Elhalis H, Azizi B, Jurkunas UV. Fuchs endothelial corneal dystrophy. *Ocul Surf*. oct 2010;8(4):173-84.
18. Biswas S, Munier FL, Yardley J, Hart-Holden N, Perveen R, Cousin P, et al. Missense mutations in COL8A2, the gene encoding the alpha2 chain of type VIII collagen, cause two forms of corneal endothelial dystrophy. *Hum Mol Genet*. 1 oct 2001;10(21):2415-23.
19. Li D, Peng X, Sun H. Association of TCF4 polymorphisms and Fuchs' endothelial dystrophy: a meta-analysis. *BMC Ophthalmol*. 19 juin 2015;15:61.
20. Miyai T. Fuchs Endothelial Corneal Dystrophy and Mitochondria. *Cornea*. nov 2018;37 Suppl 1:S74-7.
21. Ong Tone S, Kocaba V, Böhm M, Wylegala A, White TL, Jurkunas UV. Fuchs endothelial corneal dystrophy: The vicious cycle of Fuchs pathogenesis. *Progress in Retinal and Eye Research*. 1 janv 2021;80:100863.
22. Czarny P, Seda A, Wielgorski M, Binczyk E, Markiewicz B, Kasprzak E, et al. Mutagenesis of mitochondrial DNA in Fuchs endothelial corneal dystrophy. *Mutat Res*. févr 2014;760:42-7.
23. Kocaba V, Katikireddy KR, Gipson I, Price MO, Price FW, Jurkunas UV. Association of the Gutta-Induced Microenvironment With Corneal Endothelial Cell Behavior and Demise in Fuchs Endothelial Corneal Dystrophy. *JAMA Ophthalmol*. 1 août 2018;136(8):886-92.
24. Bourges JL Docteur en médecine, PhD, fellow of European Board of Ophthalmology. Dystrophies

cornéennes. *Ophthalmologie*. 1 juin 2024;41(2):1-26.

25. Jurkunas UV. Fuchs Endothelial Corneal Dystrophy Through the Prism of Oxidative Stress. *Cornea*. nov 2018;37 Suppl 1:S50-4.
26. Musch DC, Niziol LM, Stein JD, Kamyar RM, Sugar A. Prevalence of Corneal Dystrophies in the United States: Estimates from Claims Data. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. août 2011;52(9):6959-63.
27. Shousha MA, Perez VL, Wang J, Ide T, Jiao S, Chen Q, et al. Use of ultra-high-resolution optical coherence tomography to detect in vivo characteristics of Descemet's membrane in Fuchs' dystrophy. *Ophthalmology*. juin 2010;117(6):1220-7.
28. Adamis AP, Filatov V, Tripathi BJ, Tripathi RC. Fuchs' endothelial dystrophy of the cornea. *Surv Ophthalmol*. 1993;38(2):149-68.
29. Darwin E, Dibner B, Darwin RW. *Zoonomia ; or, The laws of organic life* [Internet]. Vol. v.1. London: J. Johnson; 1794. Disponible sur: <https://www.biodiversitylibrary.org/item/88978>
30. Hippel PDA v. *Eine neue Methode der Hornhauttransplantation*. *Albrecht von Graefes Archiv für Ophthalmologie*. 1888;34:108-30.
31. Zirm EK. *Eine erfolgreiche totale Keratoplastik (A successful total keratoplasty)*. 1906. *Refract Corneal Surg*. 1989;5(4):258-61.
32. Tillett CW. Posterior lamellar keratoplasty. *Am J Ophthalmol*. mars 1956;41(3):530-3.
33. Melles GRJ, Ong TS, Ververs B, van der Wees J. Descemet membrane endothelial keratoplasty (DMEK). *Cornea*. sept 2006;25(8):987-90.
34. Moshirfar M, Thomson AC, Ronquillo Y. *Corneal Endothelial Transplantation*. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 [cité 21 juin 2024]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK562265/>
35. Soh YQ, Kocaba V, Weiss JS, Jurkunas UV, Kinoshita S, Aldave AJ, et al. Corneal dystrophies. *Nat Rev Dis Primers*. 11 juin 2020;6(1):46.
36. Trindade BLC, Eliazar GC. Descemet membrane endothelial keratoplasty (DMEK): an update on safety, efficacy and patient selection. *Clin Ophthalmol*. 2019;13:1549-57.
37. Guerra FP, Anshu A, Price MO, Giebel AW, Price FW. Descemet's membrane endothelial keratoplasty: prospective study of 1-year visual outcomes, graft survival, and endothelial cell loss. *Ophthalmology*. déc 2011;118(12):2368-73.
38. Venzano D, Pagani P, Randazzo N, Cabiddu F, Traverso CE. Descemet membrane air-bubble separation in donor corneas. *J Cataract Refract Surg*. déc 2010;36(12):2022-7.
39. Muraine M, Guedry J, He Z, Piselli S, Lefevre S, Toubeau D. Novel technique for the preparation of corneal grafts for descemet membrane endothelial keratoplasty. *Am J Ophthalmol*. nov 2013;156(5):851-9.
40. Alnawaiseh M, Rosentreter A, Eter N, Zumhagen L. Changes in Corneal Refractive Power for Patients With Fuchs Endothelial Dystrophy After DMEK. *Cornea*. août 2016;35(8):1073-7.
41. Rodríguez-Calvo-de-Mora M, Quilendrino R, Ham L, Liarakos VS, van Dijk K, Baydoun L, et al. Clinical outcome of 500 consecutive cases undergoing Descemet's membrane endothelial keratoplasty. *Ophthalmology*. mars 2015;122(3):464-70.
42. Peraza-Nieves J, Baydoun L, Dapena I, Ilyas A, Frank LE, Luceri S, et al. Two-Year Clinical Outcome of 500 Consecutive Cases Undergoing Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty. *Cornea*. juin 2017;36(6):655-60.
43. Miron A, Bruinsma M, Ham L, Schaal SC, Baydoun L, Dapena I, et al. In Vivo Endothelial Cell Density Decline in the Early Postoperative Phase After Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty. *Cornea*. juin 2018;37(6):673-7.
44. Monnereau C, Quilendrino R, Dapena I, Liarakos VS, Alfonso JF, Arnalich-Montiel F, et al. Multicenter Study of Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty: First Case Series of 18 Surgeons. *JAMA Ophthalmology*. 1 oct 2014;132(10):1192-8.
45. Ang M, Wilkins MR, Mehta JS, Tan D. Descemet membrane endothelial keratoplasty. *British Journal of Ophthalmology*. 1 janv 2016;100(1):15-21.
46. Arrêté du 4 novembre 2014 relatif aux conditions générales d'utilisation par les organisations syndicales des technologies de l'information et de la communication dans la fonction publique de l'Etat.
47. Price FW, Whitson WE, Johns S, Gonzales JS. Risk factors for corneal graft failure. *J Refract Surg*. 1996;12(1):134-43; discussion 143-147.
48. *abm-ra-2015.pdf* [Internet]. [cité 16 juin 2024]. Disponible sur: <https://www.agence-biomedecine.fr/IMG/pdf/abm-ra-2015.pdf>
49. Jadeja JN, Patel BD, Shanbhag SS. The grave necessity to make eye bank specular microscopy

- mandatory in all eye banks in the subcontinent to improve utilization of scarce donor corneas. *Indian J Ophthalmol.* déc 2013;61(12):711-7.
50. Gain P, Jullienne R, He Z, Aldossary M, Acquart S, Cognasse F, et al. Global Survey of Corneal Transplantation and Eye Banking. *JAMA Ophthalmol.* févr 2016;134(2):167-73.
  51. Nartey IN, Ng W, Sherrard ES, Steele AD. Posterior corneal folds and endothelial cell damage in human donor eyes. *Br J Ophthalmol.* févr 1989;73(2):121-5.
  52. Borderie VM, Baudrimont M, Lopez M, Carvajal S, Laroche L. Evaluation of the deswelling period in dextran-containing medium after corneal organ culture. *Cornea.* mars 1997;16(2):215-23.
  53. Wolf AH, Welge-Lüssen UC, Priglinger S, Kook D, Grueterich M, Hartmann K, et al. Optimizing the deswelling process of organ-cultured corneas. *Cornea.* juin 2009;28(5):524-9.
  54. Yoeruek E, Hofmann J, Bartz-Schmidt KU. Comparison of swollen and dextran deswollen organ-cultured corneas for Descemet membrane dissection preparation: histological and ultrastructural findings. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 9 déc 2013;54(13):8036-40.
  55. Thuret G, Manissolle C, Campos-Guyotat L, Guyotat D, Gain P. Animal compound-free medium and poloxamer for human corneal organ culture and deswelling. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* mars 2005;46(3):816-22.
  56. Thuret G, Carricajo A, Chiquet C, Vautrin AC, Celle N, Boureille M, et al. Sensitivity and rapidity of blood culture bottles in the detection of cornea organ culture media contamination by bacteria and fungi. *Br J Ophthalmol.* déc 2002;86(12):1422-7.
  57. Borderie VM, Laroche L. Microbiologic study of organ-cultured donor corneas. *Transplantation.* 15 juill 1998;66(1):120-3.
  58. Thuret G, Carricajo A, Vautrin AC, Raberin H, Acquart S, Garraud O, et al. Efficiency of blood culture bottles for the fungal sterility testing of corneal organ culture media. *Br J Ophthalmol.* mai 2005;89(5):586-90.
  59. Gain P, Thuret G, Chiquet C, Vautrin AC, Carricajo A, Acquart S, et al. Use of a pair of blood culture bottles for sterility testing of corneal organ culture media. *Br J Ophthalmol.* oct 2001;85(10):1158-62.
  60. Albon J, Armstrong M, Tullo AB. Bacterial contamination of human organ-cultured corneas. *Cornea.* avr 2001;20(3):260-3.
  61. Zanetti E, Bruni A, Mucignat G, Camposampiero D, Frigo AC, Ponzin D. Bacterial contamination of human organ-cultured corneas. *Cornea.* juill 2005;24(5):603-7.
  62. Patel SV, Hodge DO, Bourne WM. Corneal endothelium and postoperative outcomes 15 years after penetrating keratoplasty. *Am J Ophthalmol.* févr 2005;139(2):311-9.
  63. Sperling S. Evaluation of the endothelium of human donor corneas by induced dilation of intercellular spaces and trypan blue. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 1986;224(5):428-34.
  64. Gain P, Thuret G, Kodjikian L, Gavet Y, Turc PH, Theillere C, et al. Automated tri-image analysis of stored corneal endothelium. *Br J Ophthalmol.* juill 2002;86(7):801-8.
  65. Deb-Joardar N, Thuret G, Gavet Y, Acquart S, Garraud O, Egelhoffer H, et al. Reproducibility of endothelial assessment during corneal organ culture: comparison of a computer-assisted analyzer with manual methods. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* mai 2007;48(5):2062-7.
  66. Thuret G, Chiquet C, Bernal F, Acquart S, Romanet JP, Mouillon M, et al. Prospective, randomized clinical and endothelial evaluation of 2 storage times for cornea donor tissue in organ culture at 31 degrees C. *Arch Ophthalmol.* avr 2003;121(4):442-50.
  67. Parekh M, Ferrari S, Ruzza A, Pugliese M, Ponzin D, Salvalaio G. A portable device for measuring donor corneal transparency in eye banks. *Cell Tissue Bank.* mars 2014;15(1):7-13.
  68. Acquart S, Campolmi N, He Z, Pataia G, Jullienne R, Garraud O, et al. Non-invasive measurement of transparency, arcus senilis, and scleral rim diameter of corneas during eye banking. *Cell Tissue Bank.* sept 2014;15(3):471-82.
  69. Amato D, Lombardo M, Oddone F, Nubile M, Colabelli Gisoldi RAM, Villani CM, et al. Evaluation of a new method for the measurement of corneal thickness in eye bank posterior corneal lenticules using Anterior Segment Optical Coherence Tomography. *Br J Ophthalmol.* avr 2011;95(4):580-4.
  70. Yoeruek E, Hofmann J, Bartz-Schmidt KU. Comparison of swollen and dextran deswollen organ-cultured corneas for Descemet membrane dissection preparation: histological and ultrastructural findings. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 9 déc 2013;54(13):8036-40.
  71. Zhao M, Campolmi N, Thuret G, Piselli S, Acquart S, Peoc'h M, et al. Poloxamines for deswelling of organ-cultured corneas. *Ophthalmic Res.* 2012;48(3):124-33.
  72. Baydoun L, Dapena I, Melles G. Evolution of Posterior Lamellar Keratoplasty: PK – DLEK – DSEK/DSAEK – DMEK – DMET. In: Cursiefen C, Jun AS, éditeurs. *Current Treatment Options for Fuchs*

- Endothelial Dystrophy [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2017 [cité 21 juin 2024]. p. 73-85. Disponible sur: [https://doi.org/10.1007/978-3-319-43021-8\\_5](https://doi.org/10.1007/978-3-319-43021-8_5)
73. Feng MT, Price MO, Miller JM, Price FW. Air reinjection and endothelial cell density in Descemet membrane endothelial keratoplasty: five-year follow-up. *J Cataract Refract Surg.* juill 2014;40(7):1116-21.
  74. Bichet P, Moskwa R, Goetz C, Zevering Y, Vermion JC, Perone JM. Five-year clinical outcomes of 107 consecutive DMEK surgeries. *PLoS One.* 2023;18(12):e0295434.
  75. Baydoun L, Tong CM, Tse WW, Chi H, Parker J, Ham L, et al. Endothelial cell density after descemet membrane endothelial keratoplasty: 1 to 5-year follow-up. *Am J Ophthalmol.* oct 2012;154(4):762-3.
  76. Ham L, Dapena I, Liarakos VS, Baydoun L, Dijk K van, Ilyas A, et al. Midterm Results of Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty: 4 to 7 Years Clinical Outcome. *American Journal of Ophthalmology.* 1 nov 2016;171:113-21.
  77. Menzel-Severing J, Prues-Hölscher J, Jürgens L, Geerling G. Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty With and Without Graft Deswelling: A Prospective Clinical Study. *Cornea.* 28 mars 2024;
  78. Rickmann A, Boden K, Wahl S, Trouvain A, Schulz A, Szurman P. Comparison of clinical outcomes after precut DMEK with or without dextran-containing medium compared to standard DMEK: a prospective pilot study. *Int Ophthalmol.* 1 févr 2022;42(2):401-9.
  79. Heinzlmann S, Böhringer D, Eberwein P, Reinhard T, Maier P. Graft dislocation and graft failure following Descemet membrane endothelial keratoplasty (DMEK) using precut tissue: a retrospective cohort study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 1 janv 2017;255(1):127-33.
  80. Hamon L, Daas L, Mäurer S, Weinstein I, Quintin A, Schulz K, et al. Thickness and Curvature Changes of Human Corneal Grafts in Dextran-Containing Organ Culture Medium Before Keratoplasty. *Cornea.* 1 juin 2021;40(6):733-40.
  81. Filev F, Oezcan C, Feuerstacke J, Linke SJ, Wulff B, Hellwinkel OJC. Semi-quantitative assessments of dextran toxicity on corneal endothelium: conceptual design of a predictive algorithm. *Cell Tissue Bank.* mars 2017;18(1):91-8.
  82. Parekh M, Baruzzo M, Favaro E, Borroni D, Ferrari S, Ponzin D, et al. Standardizing Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty Graft Preparation Method in the Eye Bank—Experience of 527 Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty Tissues. *Cornea.* déc 2017;36(12):1458.
  83. Parekh M, Ruzza A, Ferrari S, Ponzin D. Preservation of Preloaded DMEK Lenticules in Dextran and Non-Dextran-Based Organ Culture Medium. *J Ophthalmol.* 2016;2016:5830835.
  84. Parekh M, Ruzza A, Ferrari S, Busin M, Ponzin D. Preloaded Tissues for Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty. *American Journal of Ophthalmology.* 1 juin 2016;166:120-5.
  85. Parekh M, Ruzza A, Di Mundo R, Ferrari S, Recchia G, Elbadawy H, et al. Role of Dextran in Maintaining Adhesive and Stiffness Properties of Prestripped DMEK Lenticules. *European Journal of Ophthalmology.* 1 mai 2017;27(3):270-7.
  86. Hayashi T, Schrittenlocher S, Siebelmann S, Le VNH, Matthaei M, Franklin J, et al. Risk factors for endothelial cell loss after Descemet membrane endothelial keratoplasty (DMEK). *Sci Rep.* 6 juill 2020;10:11086.
  87. Rodríguez-Calvo de Mora M, Groeneveld-van Beek EA, Frank LE, van der Wees J, Oellerich S, Bruinsma M, et al. Association Between Graft Storage Time and Donor Age With Endothelial Cell Density and Graft Adherence After Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty. *JAMA Ophthalmology.* 1 janv 2016;134(1):91-4.

# RÉSUMÉ

**Introduction :** La greffe de cornée type DMEK (Descemet membrane endothelial keratoplasty) est la référence dans le traitement des pathologies de l'endothélium cornéen. La densité cellulaire endothéliale du greffon au moment de la greffe doit être la plus haute possible pour permettre une survie du greffon la plus longue possible. La qualité du greffon dépend du donneur mais aussi des conditions de conservation. L'organoculture, technique référence de conservation en France, est inducteur d'un œdème stromal important, toxique pour la cornée. Le dextran T500, polysaccharide de haut poids moléculaire et agent osmotique, est utilisé comme solution de déturgescence dans les jours qui précèdent la greffe. Sa toxicité cellulaire endothéliale a été évoquée dans certaines études. Le but de ce travail est d'analyser l'impact de la déturgescence en dextran sur la perte cellulaire endothéliale après une DMEK, chez des patients atteints de dystrophie endothéliale de Fuchs.

**Matériels et méthodes :** Il s'agit de 2 études monocentriques menées au CHU de Rouen entre Janvier 2022 et Juin 2024. Une étude prospective randomisée et une étude rétrospective sur la mise en déturgescence (GD) ou non (GND) de greffons cornéens pour DMEK chez des patients atteints d'une dystrophie de Fuchs. La perte de densité cellulaire endothéliale à 2 mois post opératoire a été étudiée. Nous avons également analysé l'acuité visuelle, la pachymétrie post opératoire et les complications post opératoires.

**Résultats :** Dans l'étude prospective, 17 paires de cornées ont été incluses. Il n'existait pas de différence significative de DCE à 2 mois post opératoire entre les 2 groupes de greffons ( $p=0,25$ ), ni de perte de DCE à 2 mois post opératoire ( $p=0,3$ ). La perte globale de cellules endothéliales à 2 mois post opératoire était de 43%. Il n'existait pas de différence significative de pachymétrie à 2 mois post opératoire entre les 2 groupes ( $p=0,54$ ). La pachymétrie moyenne à 2 mois post opératoire était de 516  $\mu\text{m}$ . Il n'existait pas de différence significative de MAVC à 2 mois post opératoire entre les 2 groupes de greffons ( $p=0,62$ ). La MAVC moyenne à 2 mois post opératoire était de 0,16 logMAR. Il n'existait pas de différence significative de survenue de rebullages pour décollement du greffon dans les 2 premiers mois post opératoire ( $p=0,27$ ). L'âge du donneur n'était pas significativement associé à une plus grande perte de densité cellulaire endothéliale dans le groupe avec ou sans déturgescence ( $p=0,290$ ). La durée de conservation n'était pas significativement associée à une plus grande perte de densité cellulaire endothéliale dans le groupe avec ou sans déturgescence ( $p=0,599$ ).

Dans l'étude rétrospective, 201 cornées ont été incluses, dont 20 déturgées en dextran, et 181 non déturgées. Il n'existait pas de différence significative de DCE à 2 mois post opératoire entre les 2 groupes de greffons ( $p=0,65$ ), ni de perte de DCE à 2 mois post opératoire ( $p=0,766$ ). La perte globale de cellules endothéliales à 2 mois post opératoire était de 46%. Il n'existait pas de différence significative de pachymétrie à 2 mois post opératoire entre les 2 groupes ( $p=0,926$ ). La pachymétrie moyenne à 2 mois post opératoire était de 515  $\mu\text{m}$ . Il existait une différence significative de MAVC à 2 mois post opératoire en faveur du groupe GND ( $p=0,013$ ). Il n'existait pas de différence significative de survenue de rebullages pour décollement du greffon dans les 2 premiers mois post opératoire ( $p=0,29$ ). Dans le groupe GND, une augmentation d'une unité d'âge du donneur est associée à une augmentation de 0,348% de perte de DCE ( $p=0,00064$ ). Dans le groupe GND, une augmentation d'un jour de durée de conservation est associée à une augmentation de 0,919% de perte de DCE ( $p=0,000129$ ).

**Discussion :** Nos 2 études ne mettent pas en évidence d'effets néfastes du dextran sur la densité cellulaire endothéliale à 2 mois post opératoire d'une DMEK, la pachymétrie post opératoire et la survenue de rebullages post opératoires. Ces résultats sont en accord avec les recherches effectuées en Allemagne où les greffons pour DMEK sont obligatoirement déturgés dans un milieu contenant du dextran. Une durée de déturgescence courte dans nos études pourrait expliquer qu'elle n'a pu provoquer que d'infimes changements dans le greffon non mis en évidence. La durée de conservation n'est pas corrélée à la perte de cellularité à 2 mois post opératoire quand les greffons sont déturgés. Ces résultats seraient expliqués par le fait que les plis descemetiques induits par la conservation en organoculture sont responsables d'une mortalité cellulaire endothéliale au sein de ces plis. Grâce à la phase de déturgescence, les plis s'estompent et la mosaïque endothéliale serait en mesure de s'organiser et de combler les lacunes cellulaires endothéliales laissées par les cellules mortes.

**Conclusion :** L'utilisation du dextran comme agent de déturgescence n'influence pas de manière significative sur la survie des cellules endothéliales à 2 mois post opératoire, la pachymétrie post opératoire et la survenue de complications post opératoires. L'âge du donneur et la durée de conservation ne semblent pas affecter la survie cellulaire endothéliale des greffons déturgés. Ces résultats sont intéressants pour la pratique clinique, notamment dans l'optimisation des protocoles de conservation des greffons cornéens dans les banques de cornées car il n'existe aucune réglementation française sur l'utilisation d'une déturgescence des greffons cornéens destinés à une DMEK.

**Mots clés :** Cornea, Corneal endothelium, Corneal transplantation, Keratoplasty, Eye banking, Conservation settings, Fuchs endothelial corneal dystrophy, Dextran, DMEK, Deswelling

