

**UNIVERSITÉ TOULOUSE III – PAUL SABATIER
FACULTÉS DE MÉDECINE**

ANNÉE 2019

2019 TOU3 1599

THÈSE

**POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE
MÉDECINE SPÉCIALISÉE CLINIQUE**

Présentée et soutenue publiquement

par

Lucie BERNARDO

Le 04 Octobre 2019

**RECUEIL RETROSPECTIF SUR LE LONG TERME DES GREFFES DE
MEMBRANE AMNIOTIQUE EN CHIRURGIE OPHTALMOLOGIQUE DE
SURFACE REGENERATIVE ET RECONSTRUCTIVE**

Directeur de thèse : Pr Pierre FOURNIE

JURY

Monsieur le Professeur François MALECAZE

Président

Monsieur le Professeur Pierre FOURNIE

Assesseur

Madame le Docteur Myriam CASSAGNE

Assesseur

Madame le Docteur Jacmine PECHMEJA

Assesseur

Madame le Docteur Safa EL HOUT

Suppléant

Table des matières

I INTRODUCTION.....	1
II MATERIEL ET METHODES	3
A. Design.....	3
B. Sélection des données.....	3
C. La greffe de membrane amniotique	5
Histologie.....	5
Préparation.....	5
Techniques chirurgicales	6
D. Analyses statistiques.....	6
III RESULTATS.....	7
A. Caractéristiques de la population	7
B. Antécédents généraux et ophtalmologiques	7
C. Indications	9
D. Caractéristiques des GMA et techniques chirurgicales.....	12
E. Evolution de la meilleure acuité visuelle corrigée	13
F. Taux de succès et récurrences.....	14
G. Complications des ulcères et traitements complémentaires aux GMA.....	14
I. Caractéristiques du groupe ulcères neurotrophiques	18
J. Facteurs pronostiques d'amélioration de l'acuité visuelle	20
IV DISCUSSION	22
V CONCLUSION	29
VI ANNEXES	30

Abréviations

AINS : Anti-inflammatoire non stéroïdien

AV : Acuité visuelle

C.H.U : Centre Hospitalier Universitaire

CNIL : Commission nationale informatique et libertés

CSL : Cellules souches limbiques

DMLA : Dégénérescence maculaire liée à l'âge

GMA : Greffe de membrane amniotique

GVH : Graft versus host disease

IGF-1 : Insulin-like growth factor-1

IL : Interleukine

KI : Kératites infectieuses

KLAP : Kératoplastie lamellaire antérieure profonde

KN : Kératite neurotrophique

KT : Kératoplastie transfixiante

LogMAR : Logarithme du minimum d'angle de résolution

MAVC : Meilleure acuité visuelle corrigée

Rh-NGF : Recombinant human nerve growth factor

N.S : Non significatif

PR : Polyarthrite rhumatoïde

TIMP : Tissue inhibitor of metalloproteinase

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine

I INTRODUCTION

La greffe de membrane amniotique (GMA) fait partie des possibilités thérapeutiques de l'ensemble des troubles chroniques de la cicatrisation cornéenne. La cicatrisation cornéenne est un phénomène complexe mettant en jeu de multiples mécanismes moléculaires¹. En cas d'atteinte sévère ou répétée, ceux-ci peuvent être dépassés et conduire à des ulcérations cornéennes chroniques. Plusieurs modèles physiopathologiques sont aujourd'hui identifiés dans les diverses pathologies de la surface oculaire. Parmi ceux-ci, la kératite neurotrophique (KN), dans lequel les troubles de l'homéostasie cornéenne font suite à une altération du nerf Trijumeau², en constitue un intéressant. Peu de données épidémiologiques sur les KN sont pourtant disponibles dans la littérature³⁻⁵.

Les traitements de première intention font généralement appel à des collyres lubrifiants associés au traitement des facteurs favorisants, et éventuellement à une occlusion palpébrale. Lorsque ceux-ci s'avèrent insuffisants, d'autres armes thérapeutiques sont envisageables. Le collyre de sérum autologue⁶, les thérapies matricielles^{7,8} ou les facteurs de croissance⁹ (dont le rh-NGF) constituent des approches innovantes dans la prise en charge de ces troubles chroniques de la surface oculaire et notamment des KN. En substitut ou complément de celles-ci, La GMA revêt un intérêt particulier du fait de sa disponibilité et de sa simplicité d'utilisation. Du fait de l'essor de ces thérapeutiques prometteuses, et de l'utilisation croissante des GMA, nous proposons dans cette étude de faire l'état des indications actuelles des GMA, et d'étudier en particulier leurs caractéristiques dans les KN.

La première indication en ophtalmologie a été décrite par Rotth¹⁰ en 1940 pour des reconstructions conjonctivales lors d'exérèses de symblépharons. Par la suite, de nombreuses études¹¹⁻¹³ ont confirmé l'intérêt de cette technique, en raison de son absence d'immunogénicité et de son excellent potentiel en tant que substrat pour la croissance, la migration et l'adhérence des cellules épithéliales cornéennes et conjonctivales.

L'objectif de notre étude était de décrire les caractéristiques épidémiologiques de l'utilisation des GMA en détaillant : les données démographiques, les indications, les techniques chirurgicales et l'évolution en fonction de l'acuité visuelle initiale, sur 12 années d'expérience au C.H.U de Toulouse.

II MATERIEL ET METHODES

A. Design

Nous avons réalisé une étude observationnelle rétrospective et monocentrique, en conformité avec la méthodologie de référence MR-004 définie par la CNIL. Elle concernait l'ensemble des patients ayant bénéficié d'une greffe de membrane amniotique, à visée reconstructive ou régénérative, au C.H.U. de Toulouse. 1033 interventions ont été répertoriées entre le 16 Février 2005 et le 31 Décembre 2017.

B. Sélection des données

Les patients ont été trouvés à partir de la base de données du logiciel de gestion des blocs opératoires OPERA® (GE Healthcare, Etats-Unis) à l'aide des mots clefs « membrane amniotique, greffe de membrane », puis les données cliniques recueillies à partir des comptes rendus opératoires, d'hospitalisation, et courriers de suivi des logiciels d'information patient ORBIS® (Agfa, France) et de consultation ophtalmologique SOFTALMO® (Corilus, Belgique) à partir du 15 Novembre 2015. Pour les dates antérieures, le recueil de données était effectué à partir des dossiers médicaux archivés du service.

Les données cliniques collectées pour chaque patient étaient l'âge, le sexe, les antécédents généraux d'immunodépression, de diabète, de polyarthrite rhumatoïde, et de dysthyroïdie. Sur le plan ophtalmologique, les antécédents de glaucome chronique, de greffe cornéenne, de kératite herpétique, de chirurgie réfractive et de cataracte, de décollement de rétine et de DMLA.

Concernant les GMA, nous avons recueilli le côté de l'œil greffé, le nombre de greffes par patient, le diamètre de la ou des membrane(s) greffée(s) (couche du plus grand diamètre), le nombre de couches, la technique (inlay, overlay ou multicouches), l'étiologie principale, les facteurs favorisants, les facteurs et les éventuelles complications associées. Les traitements complémentaires chirurgicaux et/ou médicaux ainsi que les dates auxquelles ils étaient réalisés étaient aussi pris en compte. Pour la localisation des ulcères cornéens, la surface était scindée en 4 zones: une centrale de 3 mm, une paracentrale entre 3 et 7 mm, une périphérique entre 7 et 11 mm et zone limbique.

L'acuité visuelle corrigée pour la vision de loin (échelle de Monoyer puis convertie en échelle LogMar) en pré-opératoire de l'œil opéré, puis à 6 mois, 1 an, et 2 ans ; ainsi que l'acuité visuelle de l'œil controlatéral au moment de l'intervention étaient également notées. Nous avons défini 3 groupes en fonction de l'acuité visuelle initiale, faible supérieure ou égale à 1,7 LogMar, moyenne entre 1,6 et 0,5 LogMar, et forte, inférieure ou égale à 0,4 LogMar. Le succès était défini par la cicatrisation cornéenne à la suite d'une GMA en l'absence de nécessité d'autre intervention chirurgicale, à type de greffe cornéenne à visée tectonique, ou d'éviscération.

Les interventions étaient classées en 11 groupes en fonction des indications principales, selon les éléments du dossier clinique. Un groupe « reconstructions », et les suivants pour ulcères cornéens de causes diverses : « ulcères inflammatoires », « kératites infectieuses », « ulcères neurotrophiques », « destructions aiguës de la surface », « insuffisances en cellules souches limbiques (CSL) », « kératopathies bulleuses », « anomalies de la statique palpébrale », « ulcères mécaniques », et « idiopathiques ».

Les GMA pour destructions aiguës de la surface oculaire comprenaient les traitements en phase aiguë d'ulcères étendus dans les cas de brûlures sévères et de syndrome de Stevens-Johnson ou de Lyell sans présager de l'évolution vers une insuffisance en CSL séquellaire dans ces indications. L'indication dans les kératites infectieuses (KI) comprenait le traitement en phase aiguë des abcès cornéens mais également les retards de cicatrisation après stabilisation de l'infection. Les analyses secondaires sur l'acuité visuelle ont été réalisées pour les indications d'ulcères cornéens.

C. La greffe de membrane amniotique

Histologie

Les membranes fœtales sont issues du feuillet embryonnaire ectoblastique. Elles sont constituées d'une partie externe : le chorion, et la membrane amniotique (MA), couche la plus interne. Elle est constituée de trois couches différentes (Figure 1).

En microscopie optique, elle se compose d'un épithélium cubique monostratifié reposant sur une membrane basale constituée essentiellement de collagène IV et V¹⁴, fibronectine et laminines et d'une matrice stromale épaisse de collagène avasculaire, elle-même divisée en trois couches : une acellulaire compacte, une de fibroblastes et une couche spongieuse, la plus externe¹⁵. Le stroma est constitué en majorité de collagène 1 et en quantité moindre de collagène 3. Il est parcouru par des fibres de collagène 5 qui se terminent dans la lamina densa de la membrane basale et semblent avoir une fonction d'ancrage entre le stroma et la lamina densa.

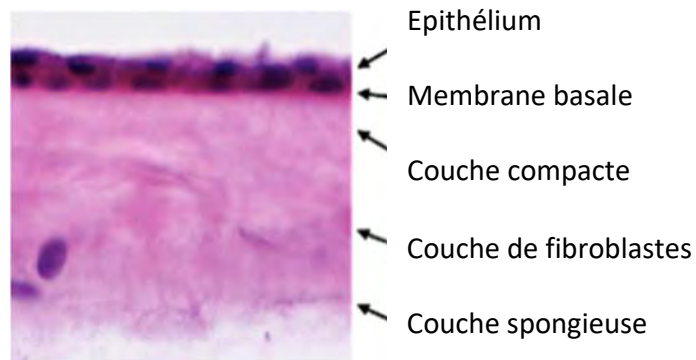


Figure 1 : Coupe histologique de MA humaine

Préparation

Les placentas sont prélevés et conditionnés en milieu stérile à la banque de tissu, après consentement éclairé de la patiente, lors de délivrances par césarienne programmée.

La membrane amniotique est détachée du chorion et apposée sur une membrane en nitrocellulose la face épithéliale vers le haut et conservée par cryocongélation à -80°C. Des analyses visant à éliminer des infections par le VIH-1 et 2, les hépatites B et C et la syphilis ainsi que plusieurs contrôles bactériologiques et histologiques sont effectués. Avant utilisation, les membranes sont placées à température ambiante pendant environ 30 minutes. Une membrane permet d'obtenir environ 30 greffons.

Techniques chirurgicales

Trois techniques¹⁶ chirurgicales principales de GMA sont décrites (Figure 2).

- Utilisée en greffe ou Inlay, elle est destinée à servir de substrat ou d'échafaudage à la croissance des cellules épithéliales et est donc incorporée au tissu hôte (cornée ou conjonctive), face épithéliale vers le haut.
- En patch ou Overlay. Elle agit comme un pansement biologique et est suturée épithélium vers le bas. L'épithélialisation de la cornée se faisant sous la membrane amniotique. Celle-ci se délite après 2-3 semaines environ.
- En multicouches ou sandwich, en cas d'ulcère profond avec amincissement stromal important ou compliqué d'une perforation cornéenne inférieure à 3 mm.

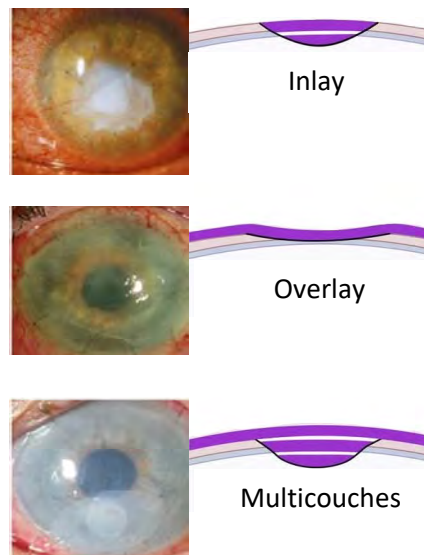


Figure 2 : Principales techniques chirurgicales de GMA

D. Analyses statistiques

Les résultats ont été présentés en moyenne \pm déviation standard. Les comparaisons de moyennes continues et quantitatives ont été réalisées grâce au test de Student et les comparaisons entre les différents groupes ont été effectuées à l'aide du test du Chi². La valeur seuil de $p < 0,05$ était considérée comme statistiquement significative.

III RESULTATS

A. Caractéristiques de la population

Les données démographiques sont résumées dans le tableau 1. Parmi les 1033 interventions répertoriées, 1018 GMA ont été incluses et 15 ont été exclues : 8 par absence de données suffisantes concernant la nature précise de l'intervention réalisée, et 7 par erreur d'intitulé d'intervention. Le total de 1018 yeux concernait 720 patients dont 410 (56,9%) hommes et 310 (43,1%) femmes. L'âge moyen était de $63 \pm 22,4$ ans (0-99 ans). Une majorité de GMA était réalisée entre 60 et 89 ans. La distribution des âges au moment de l'intervention est présentée en annexe dans le graphique 1. La durée moyenne de suivi était de $2,1 \pm 2,6$ ans (de 6 jours à 10,2 ans).

Plus de deux-tiers des patients (73,9%) avait nécessité une seule intervention, 123 (17%) deux, et 40 (5,6%) avaient eu 3 interventions. Une faible proportion en avait eu plus de 3. Ces résultats sont représentés dans le graphique 2 en annexe.

B. Antécédents généraux et ophtalmologiques

Une immunodépression était retrouvée chez 101 patients (14%), dont une majorité était liée à l'existence d'un diabète (38,6%), d'une chimiothérapie pour cancer solide (17,8%), et d'un traitement par antimétabolite (17,8%) (Tableau 2). 52 (7,2%) patients avaient un antécédent de Polyarthrite rhumatoïde, et 39 (5,4%) étaient diabétiques (Tableau 1). Sur l'ensemble des yeux opérés, 149 (14,6%) avaient un antécédent de greffe cornéenne transfixiante ou lamellaire, 116 (11,4%) de glaucome chronique, et 65 (6,4%) de kératite herpétique. Plus de la moitié des yeux (N= 538, 52,8%) étaient phaqes au moment de l'intervention (Tableau 1).

Tableau 1. Caractéristiques de la population

Caractéristiques	Valeurs
Âge en années (moyenne \pm ET)	63 \pm 22,4
Durée de suivi en années (moyenne \pm ET)	2,1 \pm 2,6
Nombre de patients, n	720
Sexe, n (%)	
Hommes	410 (56,9)
Femmes	310 (43,1)
Antécédents généraux, n (%)	
HTA	198 (19,5)
Immunodépression	101 (14)
Polyarthrite rhumatoïde (PR)	52 (7,2)
Diabète	39 (5,4)
Insuffisance rénale	38 (3,7)
Cardiopathie ischémique	31 (3)
Syndrome de Gougerot-Sjögren	17 (2,4)
Dysthyroïdie	14 (1,9)
Nombre d'yeux, n	1018
Oeil opéré, n (%)	
Gauche	496(49)
Droit	516(51)
Antécédents ophtalmologiques, n (%)	
Grefte cornéenne	149 (14,6)
Glaucome chronique	116 (11,4)
Kératite herpétique	65 (6,4)
Rétinopathie diabétique	64 (6,3)
Pathologie oculaire congénitale	36 (3,5)
Myopie forte	30 (3)
Décollement de rétine	29 (2,9)
DMLA	24 (2,4)
Chirurgie réfractive	5 (0,5)
Statut cristallinien, n (%)	
Phaque	538 (52,8)
Pseudophaque	397 (39)
Aphaque	4 (0,4)

HTA : Hypertension artérielle, DMLA : Dégénérescence maculaire liée à l'âge, n : nombre.

Tableau 2. Caractéristiques des antécédents d'immunodépression

Caractéristiques	Nombre de patients (%)
Immunodépression	101 (14)
Diabète	39 (38,6)
Chimiothérapie pour cancer solide	18 (17,8)
Antimétabolite pour Polyarthrite rhumatoïde	18 (17,8)
Chimiothérapie pour hémopathie maligne	6 (6,0)
Immunosuppresseur pour greffe d'organe	5 (5,0)
Immunomodulateur pour Sclérose en plaques	4 (4,0)
Immunosuppresseur pour Lupus	4 (4,0)
VIH	3 (3,0)
Immunosuppresseur pour Sarcoïdose	2 (2,0)
Aplasie médullaire	1 (1,0)
Immunosuppresseur pour Wegener	1 (1,0)

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine

C. Indications

Les données sur les indications de GMA sont représentées dans les tableaux 3.1 et 3.2 et leur répartition sur le graphique 3 en annexe. Les GMA à visée régénérative, pour des ulcères cornéens, concernaient 927 (91,1%) interventions et 91 (8,9%) étaient réalisées à visée reconstructive. La réalisation d'une GMA à but antalgique pour des kératopathies bulleuses représentait 19 (1,9%) cas. Les ulcères neurotrophiques et les KI représentaient les étiologies principales avec respectivement 393 (38.6%) et 233 (22.9%) GMA. Une origine multifactorielle était identifiée dans 131 (12,9%) cas. Le sous-groupe ulcères neurotrophiques sera développé plus en détail dans un chapitre individualisé.

Les indications principales variaient en fonction de l'âge. Chez les moins de 18 ans, elles étaient représentées à part égale par les KI et les insuffisances en CSL. Les KI étaient également les plus représentées entre 19 et 40 ans, et au-delà de 40 ans, il s'agissait des ulcères neurotrophiques.

Tableau 3.1. Indications des GMA

Indications	Âge en années des patients par indication (moyenne ± ET)	Nombre d'yeux	Pourcentage (%)
Atteintes cornéennes			
Ulcères neurotrophiques	68,8 ± 18	393	38,6
Kératites infectieuses	61,5 ± 22,4	233	22,9
Ulcères Inflammatoires	63,2 ± 24,2	99	9,7
Insuffisances en CSL	40,6 ± 21,9	78	7,7
Kératopathies bulleuses	73,2 ± 18,6	46	4,5
Anomalies de la statique palpébrale	71,7 ± 22	40	3,9
Destructions aiguës de la surface	37,6 ± 14,1	20	2
Ulcères mécaniques	57,1 ± 26,8	14	1,4
Idiopathiques	77 ± 13,9	4	0,3
Reconstructions	58 ± 22,7	91	8,9
Multifactorielles		131	12,9

Tableau 3.2. Caractéristiques des indications de GMA par groupe

Kératites infectieuses N=233	Ulcères inflammatoires N=99	Reconstructions N=91	Insuffisances en CSL N=78	Kératopathies bulleuses N=46	Anomalies de la statique palpébrale N=40	Destructions aigües de la surface N=20	Ulcères mécaniques N=14							
Sur porteurs de LSH Indéterminée	65 42	Polyarthrite rhumatoïde Gougerot-Siögren	31 12	Exérèse de tumeur conjonctivale maligne Carcinome épidermoïde	27 16	Brûlures sévères Syndrome de Stevens- Johnson (7) et Lyell (3)	39 10	Du pseudophaque	25	Lagophtalmie	24	Brûlures sévères	18	Sur corps étranger
Sur corps étranger	23	Mooren	12	Mélanome conjonctival	8			Sur dystrophie de Fuchs	14	Entropion	9	Syndrome de Stevens-Johnson (1) et Lyell (1)	2	Tumeur palpébrale
Sur lagophtalmie	18	KC vernale	12	Lymphome	3	Tumeur limbique	8	Sur décompensation endothéliale du greffon	6	Ectropion	7			Effet Dellen post exérèse de ptérygion
Sur greffe de cornée	17			Exérèse de ptérygion	19	Aniridie congénitale	6							
Sur autres facteurs locaux	16	Rosacée	12	Ponçage de kératopathie en bandelette	9	Sclérocornée	5	De l'aphaque	1					
Sur ectropion	16	Pseudo-Mooren	8	Réfection de bulle de filtration	7	Idiopathique	5							
Sur entropion	13	Wegener	4	Cure de symblépharon	6			<u>Dont :</u>						
Sur kératopathie bulleuse	8			Exérèse lésion conjonctivale bénigne autre	5	Radiothérapie	2	27 sur ulcères chroniques						
Sur ulcère aigu herpétique	5	KC allergique	3	Exérèse de kyste d'inclusion	5	Port prolongé de LSH	1	19 à visée antalgique						
Post chirurgie réfractive	5	Rejet de greffe	2	Déhiscence de kératoprothèse	4	Dyskératose cornéenne	1							
Sur dystrophie de cornée	5	Amylose	1	Scléromalacie (1 Wegener, 3 sur matériel d'indentation sclérale)	4	Trachome	1							
		KC limbique de Théodore	2	Exérèse de nodule de Salzmann	4									

(KC : Kératoconjonctivite, LSH : Lentille souple hydrophile)

D. Caractéristiques des GMA et techniques chirurgicales

L'évolution annuelle du nombre d'interventions est représentée dans le graphique 4 en annexe. Une majorité d'ulcères, 570 (56%), a nécessité la réalisation d'une GMA en monocouche dont 421 (73,2%) par une technique overlay. 432 (42,4%) étaient réalisées en multicouches (Tableau 4). La localisation de l'ulcère cornéen était centrale pour 483 (48,1%) yeux, paracentrale pour 215 (21,5%), périphérique pour 207 (20,7%), et limbique pour 66 (6,7%) yeux.

Tableau 4. Caractéristiques des GMA

Taille de la GMA en mm (moyenne \pm ET)	7,4 \pm 2,4	
	Nombre d'yeux	Pourcentage
Type de greffe		
Monocouche	570	56
Overlay	421	73,9
Inlay	149	26,1
Multicouches	432	42,4
Indéterminée	16	1,6
Localisation de l'ulcère		
Cornée centrale	483	48,1
Cornée paracentrale	215	21,5
Cornée périphérique	207	20,7
Cornée limbique	66	6,7
Sclère et conjonctive	30	3
Types d'ulcères		
Ulcères perforés	87	8,5
Ulcères pré-perforatifs	72	7,1
Mode d'anesthésie		
Topique et sédation	557	54,7
Anesthésie générale	392	38,5
Topique	46	4,5
Anesthésie loco-régionale	6	0,6
Indéterminée	17	1,7

E. Evolution de la meilleure acuité visuelle corrigée

La Meilleure acuité visuelle corrigée (MAVC) initiale en pré-GMA des yeux opérés pour des ulcères cornéens était de $1,76 \pm 0,7$ LogMar. Elle était significativement améliorée de $0,16$ LogMar à 6 mois, $0,28$ à 1 an, et $0,34$ LogMar à 2 ans, ($p < 0,001$) dans les 3 cas (Tableau 5).

Elle était supérieure ou égale à $1,7$ LogMar pour 637 (65,3%) yeux, entre $1,6$ et $0,5$ LogMar pour 252 (25,8%) yeux, et entre $0,4$ et 0 LogMar pour 87 (8,9%) yeux. Celle de l'œil controlatéral était en moyenne de $0,38 \pm 0,64$ LogMar et $6,1\%$ ($n=62$) des yeux opérés étaient monophthalmes.

L'acuité était améliorée pour $32,6\%$ des yeux, détériorée pour $12,8\%$, et stable dans $54,8\%$ des cas à 6 mois. Le pourcentage d'yeux améliorés passait à $34,5\%$ à 1 an et $36,6\%$ à 2 ans (Graphique 5.1, en annexe). Les gains ou pertes de lignes d'AV correspondants sont représentés dans le graphique 5.2 en annexe.

Tableau 5. Evolution de la MAVC des yeux opérés au cours du suivi selon les indications

Indications de GMA	MAVC pré-GMA	MAVC 6 mois	MAVC 1 an	MAVC 2 ans
Toutes indications	1.7 ± 0.75	1.56 ± 0.83 ($p < 0.001$)*	1.47 ± 0.90 ($p < 0.001$)*	1.44 ± 0.94 ($p < 0.001$)*
Reconstructions	1.1 ± 0.9	0.95 ± 0.89 ($p < 0.001$)*	0.79 ± 0.91 ($p < 0.001$)*	0.84 ± 0.87 ($p < 0.001$)*
Ulcères cornéens	1.76 ± 0.7	1.6 ± 0.8 ($p < 0.001$)*	1.48 ± 0.88 ($p < 0.001$)*	1.42 ± 0.91 ($p < 0.001$)*

MAVC= meilleure acuité visuelle corrigée en LogMar. Les résultats sont présentés en moyenne \pm écart-type.
* $p < 0,05$ significatif.

F. Taux de succès et récurrences

Le taux de succès, défini par la réalisation d'une seule GMA et l'absence de traitement complémentaire à type de greffe architecturale ou éviscération, était de 84,5% pour l'ensemble des GMA, et de 74,8% pour les ulcères pré-perforatifs et perforés.

Le délai moyen entre la réalisation de la première et la seconde GMA était de $7,4 \pm 12,1$ mois (1-14 mois), et de $9,3 \pm 16,9$ mois (6-22 mois) entre la deuxième et la troisième.

G. Complications des ulcères et traitements complémentaires aux GMA

Une surinfection était associée dans 98 (9,6%) cas au moment de l'intervention. Celle-ci correspondait à un abcès cornéen dans 85 (8,3%) cas, et avec endophtalmie dans 13 (1,3%) cas. La durée moyenne de traitement par collyres fortifiés associés, en cas de kératite infectieuse ou d'une autre étiologie compliquée de surinfection, était de $7,38 \pm 2,2$ jours (3-22 jours).

Les prélèvements locaux étaient contributifs dans 41,5% des cas et retrouvaient au premier plan des causes bactériennes avec des Gram positif dans 61% des cas (essentiellement à Staphylocoques et Streptocoques), des Gram négatif dans 25% des cas (essentiellement à *Pseudomonas aeruginosa* et *Moraxella*) et des infections fongiques dans 12% des cas (essentiellement à *Candida*, *Fusarium* et *Aspergillus*). Plus rarement une cause amibienne était retrouvée (2%).

Au moment de l'intervention, 87 (8,5%) des ulcères cornéens étaient perforés et 72 (7,1%) étaient pré-perforatifs.

Un premier traitement complémentaire à la GMA, chirurgical ou médical, a été nécessaire pour 357 (34,7%) yeux, et un second pour 83 (8,2%) yeux (Tableau 6). Tout d'abord en cas d'ulcère résistant après réalisation de la GMA, en traitement préventif des récurrences, ou à distance dans un but de réhabilitation visuelle.

Une tarsorrhaphie externe a complété le traitement par GMA de 48 (4,7%) yeux et 25 (2,5%) ont bénéficié de l'instauration d'un traitement par sérum autologue. Une greffe cornéenne à visée tectonique a dû être réalisée sur 47 (4,6%) yeux et une éviscération a finalement été nécessaire pour 39 (3,8%) yeux. Une greffe de cornée à visée optique, lamellaire profonde (KLAP) ou transfixiante (KT) a été pratiquée pour 85 (8,3%) yeux.

En moyenne ce traitement intervenait $7,9 \pm 12$ mois (15 jours à 2 ans) après la GMA. En prévention des récurrences plus particulièrement, le traitement était en moyenne réalisé $2,4 \pm 1,2$ mois après l'intervention, et à distance 14 ± 7 mois dans un but d'amélioration fonctionnelle.

Tableau 6. Traitements complémentaires après GMA

Traitements complémentaires	Nombre d'yeux	Pourcentage (%)
A visée de cicatrisation		
Greffe cornéenne à visée tectonique	47	4,6
Cross-linking cornéen	17	1,7
Recul conjonctival	16	1,6
Greffe de CSL	15	1,5
Recouvrement conjonctival	10	1
En prévention de récurrences d'ulcère		
Tarsorrhaphie externe	48	4,7
Sérum autologue	25	2,5
Ciclosporine collyre	20	2
Cure chirurgicale de la statique palpébrale	18	1,8
Verres scléraux	5	0,5
Toxine botulique	3	0,3
Bouchons méatiques	2	0,2
A visée de réhabilitation visuelle		
Greffe cornéenne	85	8,3
En cas d'échec des traitements		
Eviscération	39	3,8

H. Analyses comparatives des groupes d'AV initiale faible, moyenne, et forte

L'évolution de la MAVC au cours du suivi ainsi que les analyses comparatives des trois groupes d'AV initiale faible, moyenne et forte sont présentées dans les tableaux 7.1 et 7.2.

Tableau 7.1. Evolution de la MAVC dans les groupes d'AV initiale (AVi) faible, moyenne, et forte après GMA

MAVC en LogMar	AVi Faible N= 637	AVi Moyenne N= 252	AVi Forte N= 87
Initiale	2,25 ± 0,15	0,96 ± 0,25	0,28 ± 0,16
6 mois	1,99 ± 0,59 (p << 0,001) *	0,95 ± 0,56 (N.S)	0,40 ± 0,60 (p<0,05) *
1 an	1,85 ± 0,72 (p << 0,001) *	1,00 ± 0,78 (N.S)	0,26 ± 0,41 (N.S)
2 ans	1,80 ± 0,84 (p << 0,001) *	1,00 ± 0,77 (N.S)	0,26 ± 0,32 (N.S)

N.S = non significatif, * p < 0,05 significatif, Groupe AVi faible : ≥ 1,7 LogMar, groupe AVi moyenne : de 1,6 à 0,5 LogMar, groupe AVi forte : ≤ à 0,4 LogMar. Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart-type.

Tableau 7.2. Comparaisons des groupes de différente AV initiale (AVi)

	Groupe AVi Faible N= 637	Groupe AVi Moyenne N= 252	Groupe AVi Forte N= 87	P value AVi Faible vs Moyenne	P value AVi Faible vs Forte	P value AVi Moyenne vs Forte
Technique de GMA						
Monocouches	325 (51) ¹	161 (63,9)	55 (63,2)	<0,001*	0,032*	<0,001*
Overlay	300 (47,1)	147 (58,3)	44 (50,1)	N.S	0,004*	0,023*
Inlay	25 (3,9)	14 (5,6)	11 (12,6)	N.S	0,004*	0,023*
Multicouches	304 (47,7)	85 (33,7)	31 (35,6)	<0,001*	0,032	<0,001*
Statut cristallinien						
Phaque	323 (50,7)	138 (54,8)	59 (67,8)	N.S	< 0,001*	0,007*
Pseudophaque	267 (41,9)	97 (38,5)	19 (21,8)	N.S	< 0,001*	0,007*
Localisation de l'ulcère						
Cornée centrale et paracentrale	473 (74,3)	174 (69)	21 (24,1)	N.S	<0,00001*	<0,00001*
Cornée périphérique	123 (19,2)	56 (22,3)	29 (43,4)	N.S	<0,00001*	<0,00001*
Cornée Limbique	29 (4,6)	19 (7,5)	22 (25,3)	0,937	<0,00001*	<0,00001*
Sclère et conjonctive	12 (1,9)	3 (1,2)	15 (17,2)	N.S	<0,00001*	<0,00001*
Indications						
Ulcères neurotrophiques	268 (42,1)	99 (39,3)	7 (8)	<0,00001*	<0,00001*	<0,00001*
Kératites infectieuses	163 (25,6)	50 (19,8)	10 (11,5)	0,0056*	0,0056*	0,0056*
Ulcères inflammatoires	48 (7,5)	26 (10,3)	24 (27,6)	<0,00001*	<0,00001*	<0,00001*
Reconstructions	38 (6)	21 (8,3)	31 (35,6)	<0,00001*	<0,00001*	<0,00001*
Insuffisances en CSL	42 (6,6)	26 (10,3)	7 (8)	0,170	0,170	0,170
Kératopathies bulleuses	36 (5,7)	8 (3,2)	0	0,029*	0,029*	0,029*
Anomalies de la statique palpébrale	22 (3,5)	8 (3,2)	6 (6,9)	0,246	0,246	0,246
Destructions aigüe de la surface	11 (1,7)	8 (3,2)	1 (1,1)	0,321	0,321	0,321
Mécaniques	6 (0,9)	6 (2,4)	1 (1,1)	0,238	0,238	0,238
Idiopathiques	3 (0,5)	0	0	-	-	-
Antécédents ophtalmologiques						
Grefe de cornée	120 (18,8)	23 (9,1)	3 (3,4)	<0,001*	0,196	N.S
Glaucome chronique	72 (11,3)	19 (7,5)	11 (12,6)	0,124	0,0011*	0,008*
Kératite herpétique	43 (6,8)	21 (8,3)	0	N.S	0,005*	0,012*
Antécédents généraux						
Immunodépression	66 (10,4)	18 (7,1)	6 (6,9)	0,142	0,142	0,142
Diabète	28 (4,4)	4 (1,6)	4 (4,6)	0,122	0,122	0,122
Dysthyroïdie	14 (2,2)	4 (1,6)	0	0,284	0,284	0,284
PR	31 (4,9)	17 (2,7)	2 (2,3)	0,163	0,163	0,163
Gougerot-Sjögren	13 (2)	4 (0,6)	4 (4,6)	0,371	0,371	0,371

Les données sont exprimées en ¹nombre de cas et pourcentage (%), N.S = non significatif, *p < 0,05 significatif,
 PR : Polyarthrite rhumatoïde,
 Groupe AVi faible = ≥ 1,7 LogMar, groupe AVi moyenne = de 1,6 à 0,5 LogMar, groupe AVi forte = ≤ à 0,4 LogMar

I. Caractéristiques du groupe ulcères neurotrophiques

La cause infectieuse herpétique représentait 35,9% des ulcères neurotrophiques. 102 (26%) étaient secondaires à une iatrogénie, dont près de la moitié d'origine chirurgicale suite à une greffe cornéenne, et près d'un tiers médicale suite à l'utilisation de collyres, notamment par AINS. La troisième cause correspondait aux atteintes centrales du nerf Trijumeau, dans 40 (10,2%) cas, en majorité d'origine tumorale cérébrale. 40 (10,2%) cas également provenaient d'une atteinte chronique de la surface oculaire de causes diverses, et 29 (7,4%) d'un diabète. Une origine multifactorielle était retrouvée dans 88 (22,4 %) cas (Tableau 8.1). Le Tableau 8.2 présente les analyses comparatives de ce groupe par rapport aux autres indications de GMA.

Pour cette indication, 216 (56,1 %) GMA étaient réalisées en monocouche dont 71,3% en overlay, correspondant au stade 2 de la classification de Mackie ; les 62 (28,7%) effectuées en inlay, associées aux 169 (43,9%) en multicouches correspondant au stade 3.

Tableau 8.1. Etiologies des ulcères neurotrophiques traités par GMA

Etiologies	Nombre d'yeux	Pourcentage (%)
Infections aux virus herpétiques	141	35.9
HSV	131	93
VZV	10	7
Iatrogénie	102	26
Greffes de cornée	45	44.1
KT	30	29.4
KLAP	14	13.7
ALTK	1	1
Collyres	36	35.3
Collyre AINS	21	20.6
Collyres aminosides	5	4.9
Collyres bêta-bloquants	7	6.9
Collyres anesthésiants	3	2.9
Radiothérapie	14	13.7
Photocoagulation circonférentielle rétinienne	8	7.8
Atteintes chroniques de la surface oculaire	40	10.2
Rosacée et blépharite	15	38
Syndrome de Gougerot-Sjögren	12	29.3
POC	5	12.2
GVH	5	12.2
Syndrome sec sévère idiopathique	1	2.4
Conjonctive allergique	2	4.8
Atteintes centrales du nerf Trijumeau	40	10.2
Tumeurs cérébrales	19	47.5
Accident vasculaire cérébral	8	20
Thermocoagulation du ganglion de Gasser	3	7.5
Traumatisme cérébral	2	5
Sclérose en plaques	2	5
Neurofibromatose type 2	1	2.5
Diabète	29	7.4
Brûlures	16	4.1
Idiopathique	15	3.8
Divers	7	1.7
Tumeur orbitaire	2	0.5
Ethylisme chronique	1	0.25
Total	393	100

AINS : Anti-inflammatoire non stéroïdien, ALTK : Automated lamellar therapeutic keratoplasty, GVH : Graft versus host disease, HSV : Herpes simplex virus, KLAP : Kératoplastie lamellaire antérieure profonde, KT : Kératoplastie transfixiante, POC : Pemphigoïde oculaire cicatricielle, VZV : Virus varicelle-zona.

Tableau 8.2. Comparaison du groupe ulcères neurotrophiques aux autres indications de GMA

	Ulcères neurotrophiques 393 GMA/ 294 patients	Autres indications de GMA 625 GMA/ 426 patients	P value
Antécédents			
Diabète	27 (9,9%)	10 (2,3%)	<<0,001*
Kératite herpétique	43 (10,9%)	22 (3,5%)	<<0,001*
Greffe cornéenne	67 (17%)	82 (13,1%)	0,084
Glaucome chronique	41 (10,4%)	75 (19,1%)	0,443
Technique de GMA			
Monocouche	216 (56,1%)	354 (56,6%)	0,693
Overlay	154 (71,3%)	250 (70,7%)	0,693
Inlay	62 (28,7%)	104 (29,3%)	0,693
Multicouches	169 (43,9%)	263 (42,1%)	0,693
Indéterminée	0	16 (1,3%)	-
Localisation de l'ulcère			
Cornée centrale	107 (27,2%)	108 (17,3%)	<<0,001*
Cornée paracentrale	198 (50,4%)	285 (45,6%)	<<0,001*
Causes multifactorielles	88 (22,4%)	43 (6,9%)	<<0,001*

Les données sont exprimées en nombre de cas et pourcentage (%), *p < 0,05 significatif

J. Facteurs pronostiques d'amélioration de l'acuité visuelle

Les facteurs significativement associés à une AV améliorée à 6 mois étaient principalement représentés par la localisation périphérique de l'ulcère cornéen, les GMA réalisées pour des reconstructions et des ulcères inflammatoires. Les indications d'ulcères neurotrophiques et les antécédents d'immunodépression étaient davantage représentés dans le groupe d'AV aggravée, et ce de façon significative (Tableau 9).

Tableau 9. Comparaison des caractéristiques des groupes d'AV améliorée, stable et aggravée à 6 mois post-GMA

	AV Aggravée à 6 mois N= 105	AV Inchangée à 6 mois N= 448	AV Améliorée à 6 mois N= 268	P value AV aggravée vs inchangée	P value AV inchangée vs améliorée	P value AV aggravée vs améliorée
Statut cristallinien						
Phaque	33 (32,7) ¹	200 (47,5)	79 (32,1)	0.007	<<0.001*	0.920
Pseudophaque	68 (67,3)	221 (52,5)	167 (67,9)	0.007	<<0.001*	0.920
Localisation de l'ulcère						
Centrale et paracentrale	74 (70,5)	321 (72,5)	164 (61,7)	0.930	<<0.001*	<0.003*
Périphérique	22 (20,9)	83 (18,7)	92 (34,6)	0.930	<<0.001*	<0.003*
Limbique	6 (5,7)	23 (5,2)	2 (0,8)	0,930	<<0.001*	<0.003*
Sclère et conjonctive	3 (2,9)	16 (3,6)	8 (3)	N.S	<<0.001*	<0.003*
Etiologies						
Ulcères neurotrophiques	268 (42,1)	99 (39,3)	7 (8)	<<0,00001*	<0,00001*	<<0,00001*
Kératites infectieuses	163 (25,6)	50 (19,8)	10 (11,5)	0,0056*	0,0056*	0,0056*
Ulcères inflammatoires	48 (7,5)	26 (10,3)	24 (27,6)	<0,00001*	<0,00001*	<0,00001*
Reconstructions	38 (6)	21 (8,3)	31 (35,6)	<0,00001*	<0,00001*	<0,00001*
Insuffisances en CSL	42 (6,6)	26 (10,3)	7 (8)	0,170	0,170	0,170
Kératopathies bulleuses	36 (5,7)	8 (3,2)	0	0,029*	0,029*	0,029*
Anomalies de la statique palpébrale	22 (3,5)	8 (3,2)	6 (6,9)	0,246	0,246	0,246
Destructions aigue de la surface	11 (1,7)	8 (3,2)	1 (1,1)	0,321	0,321	0,321
Mécaniques	6 (0,9)	6 (2,4)	1 (1,1)	0,238	0,238	0,238
Idiopathiques	3 (0,5)	0	0	-	-	-
Antécédents ophtalmologiques						
Greffe de cornée	12 (11,4)	93 (20,8)	24 (9)	0.028*	<<0.001*	0.467
Glaucome	9 (8,6)	48 (10,7)	22 (8,2)	0.506	0.506	0.506
Kératite herpétique	7 (6,7)	35 (7,8)	16 (6)	0.639	0.639	0.639
Pathologie congénitale	0	18 (4)	11 (4,1)	0.110	0.110	0.110
Décollement de rétine	4 (3,8)	12 (2,7)	3 (1,1)	0.224	0.224	0.224
Rétinopathie diabétique	0	0	0	-	-	-
DMLA	1 (1)	10 (2,2)	5 (1,9)	N.S	0.689	0.689
Antécédents généraux						
Immunodépression	16 (31,4)	46 (23)	10 (5,6)	0.216	<<0.001*	<<0.001*
Diabète	7 (13,7)	17 (8,5)	4 (2,3)	0.257	0.008*	<0.001*
Dysthyroïdie	2 (3,9)	8 (4)	4 (2,3)	0.614	0.614	0.614
PR	8 (15,7)	24 (12)	10 (5,6)	0.481	0.032*	0.019*

Les données sont exprimées en ¹nombre de cas et pourcentage (%), N.S = non significatif, *p < 0,05 significatif

PR : Polyarthrite rhumatoïde, DMLA : Dégénérescence maculaire liée à l'âge

IV DISCUSSION

L'usage ophtalmologique de la GMA s'est vraiment développé à partir de 1995 grâce au travail de l'équipe de Tseng¹⁷ sur des altérations de surface pour des brûlures cornéennes. La MA est utilisée in vivo comme substrat pour la croissance épithéliale, la gestion des ulcères cornéens persistants après une infection, de causes neurotrophiques, et les lésions chimiques. Les autres indications incluent la chirurgie du ptérygion et autres reconstructions conjonctivales et le soulagement de la douleur dans la kératopathie bulleuse.

La restauration de l'intégrité de la surface oculaire et la récupération visuelle sont les enjeux thérapeutiques actuels dans les pathologies chroniques altérant la cicatrisation cornéenne. Plusieurs thérapeutiques ont vu le jour récemment dans ce sens. En parallèle, les indications des GMA s'étendent, et leur accès devient plus aisé par la disponibilité récente des MA lyophilisées en comparaison des MA cryoconservées. Ces considérations ont motivé la constitution de notre étude.

Dans notre expérience, pour les ulcères cornéens, la GMA intervenait après échec des mesures cicatrisantes de première intention visant à améliorer le micro-environnement local (collyres mouillants sans conservateurs, arrêt d'éventuels collyres toxiques, et traitement de facteurs aggravants) notamment lors d'un retard de cicatrisation ou pour des ulcères chroniques¹⁸.

Concernant la population et les indications, notre étude retrouvait une moyenne d'âge de $63 \pm 22,4$ ans, et une majorité d'ulcères neurotrophiques, ce que Prabhasawat¹⁹ retrouvait également en 2001 sur 28 patients traités par GMA pour des ulcères cornéens chroniques, d'âge moyen de 48,7 ans, à ratio homme/femme équivalent. Cette différence d'âge peut être expliquée par les modifications démographiques, avec un vieillissement progressif de la population. L'étude de Röck²⁰, plus récente, sur 771 GMA retrouvait d'ailleurs une moyenne d'âge plus proche de celle de notre étude, de 67 ± 12 ans. Ahmad²¹, décrivait le syndrome de Stevens-Johnson comme indication principale de son recueil, dans 67% sur 32 yeux, mais il

s'agissait de GMA uniquement pédiatriques. Nos principales indications chez les enfants correspondaient aux kératites infectieuses et insuffisances en CSL.

Le taux de succès dans notre étude était de 84,5 % et s'avère comparable à celui de la méta-analyse réalisée en 2004 par C.S Bouchard et T. John²², regroupant les études de Lee et Tseng, Azuara-Blanco, Lee, Kim et Letko, sur 301 patients, toutes indications confondues, et montrant un taux de succès global des GMA de 85,7%. L'étude de Solomon²³ sur des ulcères cornéens de multiples causes retrouvait un taux de succès de 82,3% sur 34 yeux, et celle de Prabhasawat¹⁹, 82,1% sur 28.

Cependant, le succès n'est pas clairement défini dans la littérature, ce qui peut conduire à des conclusions très variables selon les travaux. Dans une étude, Maharajan²⁴ a abordé cette question et souligné que la définition du succès devrait se rapporter à l'objectif de la greffe. En effet, étant donné la diversité clinique des pathologies traitées par GMA, celle-ci doit également être prise en compte dans l'évaluation de l'efficacité de la GMA. En présence d'un ulcère chronique, le but premier est sa cicatrisation. Si celui-ci se complique d'un amincissement stromal, l'objectif est alors le renforcement et l'épaississement de cette zone, voire d'éviter la réalisation d'une kératoplastie à visée architecturale en cas de perforation cornéenne. L'antalgie dans les altérations de la surface cornéenne comme pour les kératopathies bulleuses est également un autre enjeu de la GMA.

La GMA revêt un intérêt particulier dans les situations d'ulcères cornéens pré-perforatifs et perforés, représentant 15,6% des yeux de notre étude. Dans son travail, Hick²⁵, retrouvait un taux de réussite global de 81,8% sur 33 ulcères cornéens de multiples causes dont 14 perforés (de moins de 3 mm). Les études de Solomon²³ et Prabhasawat¹⁹, de taux de succès similaires, rapportaient une cicatrisation respectivement de 8 des 10 ulcères perforés sur 34 yeux et de 4 des 5 ulcères perforés sur 28 yeux. Rodriguez-Ares²⁶ rapportait un succès des GMA en multicouches dans 73% des cas sur une série de 15 ulcères perforés. Le taux de 74,8% pour les ulcères pré-perforatifs et perforés de notre série est concordant avec ce résultat.

L'efficacité des GMA dans ces multiples indications est en rapport avec ses propriétés intrinsèques. Ce tissu permet le renfort de l'adhésion et la différenciation des cellules

épithéliales basales, de faciliter la migration des cellules épithéliales et de prévenir leur apoptose. Il contient aussi certains facteurs de croissance dont l'EGF, KGF, et le FGF; capables de promouvoir la réépithélialisation cornéenne. La capacité de la GMA à moduler la cicatrisation stromale est impliquée dans le cas d'atteintes cornéennes profondes. Son stroma permet d'inhiber la synthèse de TGF-béata²⁷, diminuant ainsi la transformation des kératocytes²⁸ en myofibroblastes en limitant les interactions épithélio-stromales. A cela s'ajoutent des propriétés antiangiogéniques s'expliquant par la mise en évidence de la synthèse de thrombospondine-1, d'endostatine, et de TIMP par les cellules épithéliales et mésenchymales amniotiques.

La deuxième indication importante de GMA dans notre étude était représentée par les kératites infectieuses. Les activités antibactériennes de la membrane amniotique sont expliquées par la présence de facteurs antibactériens dans les liquides amniotiques tels que la béta-lysine, le lysozyme, ou la transferrine, démontré par Gusdon²⁹ et Galask³⁰. De même, Otsuki³¹ a retrouvé des niveaux significativement plus élevés de lactoferrine et d'interleukine (IL) 6 dans le liquide amniotique de patientes atteintes de chorioamniotite. Paradowska³² a rapporté qu'elle contenait des facteurs de nécrose tumorale et des interférons pour l'activité antivirale. Cependant, dans cette indication, plusieurs facteurs de confusion coexistent dans les retards de cicatrisation, tels que la part inflammatoire existante, les conséquences de la nécrose stromale, et un certain degré d'altération de la trophicité cornéennes par la toxicité des collyres antibiotiques fortifiés.

Ses effets anti-inflammatoires seraient dus à une synthèse accrue d'IL-10³³, ayant un rôle anti-inflammatoire, et du récepteur antagoniste à l'IL-1, associé à une diminution de l'expression de l'IL-1, puissante cytokine pro-inflammatoire.

Notre recueil a montré une croissance progressive du nombre de GMA annuelle au cours de ces 12 années consécutives. Ce résultat est également appuyé par Röck²⁰ qui constatait, sur un recueil de GMA sur 16 ans, une augmentation du nombre annuel de plus de 100% ($p < 0,0001$), entre les huit premières et les huit dernières années de suivi, passant de 31 à 66 GMA par an. Ceci s'explique en partie par une meilleure compréhension de ses propriétés, des mécanismes physiopathologiques des atteintes oculaires, et du développement de la méthode de cryoconservation à -80° introduite par Lee³⁴ en 1997

permettant la préservation³⁵ des facteurs de croissance qu'elle contient. Le développement des MA lyophilisées³⁶ pourrait également participer à la progression du nombre de GMA.

Jusqu'en fin 2010, seule la GMA était à disposition dans notre centre dans le traitement des ulcères cornéens réfractaires. Progressivement, d'autres alternatives tels que les verres scléaux, le sérum autologue, ou les thérapies matricielles, dont le RGTA® en collyre (Cacicol®, Théa, France) disponible depuis 2014, ont été mises à disposition. Du fait de l'émergence de ces thérapeutiques alternatives, notre recueil ne peut pas être considéré comme exhaustif des indications de GMA pour ulcères cornéens, même si la GMA reste dans notre centre une prise en charge de première intention dans la majorité des cas. Malgré tout cela, le nombre augmente. Nous constatons que 2,5% des yeux avaient bénéficié d'un traitement complémentaire par sérum autologue. Dans notre centre, il a été difficile d'accès avant 2012, c'est pourquoi il était davantage utilisé en prévention des récurrences d'ulcères, qu'en première intention dans leur traitement curatif.

Concernant les résultats fonctionnels après GMA, dans notre étude, 6 mois après la GMA, la MAVC était améliorée pour près d'un tiers des yeux, et stable pour plus de la moitié. Dans son étude, Prabhasawat¹⁹ retrouvait une amélioration légèrement plus faible de 28,6% des yeux, et une stabilité pour 67,8%. Ceci pouvant être expliqué par le fait que notre population incluait également des yeux dont les GMA réalisées n'impliquaient pas de trouble cornéen, avec une acuité visuelle initiale plus élevée.

Pour l'ensemble des yeux, et en particulier dans les indications de GMA pour ulcères cornéens, la MAVC initiale était très basse, et le restait à 6 mois, 1 an et 2 ans. Elle était cependant significativement améliorée au cours du suivi avec un gain d'environ 1,5 lignes d'AV à 6 mois, 2,5 à 1 an, et 3,5 à 2 ans. Nous constatons également dans l'analyse des différents groupes d'AV, que plus l'acuité visuelle initiale était faible, plus le gain était meilleur, et ce, de façon significative. Notre étude regroupait en effet 70% d'ulcères cornéens de localisation centrale ou paracentrale, et 15,6% pré-perforatifs ou perforés, limitant la récupération visuelle. Un des biais de notre étude est en effet le recrutement de notre C.H.U et de ses urgences ophtalmologiques expliquant ces proportions. De plus, nous retrouvons chez une partie des yeux, des comorbidités oculaires, notamment rétinienne, pouvant limiter la

récupération visuelle et une proportion importante de causes multifactorielles. Certaines pouvant plus particulièrement influencer sur la cicatrisation, dont 14,6% de yeux avec greffes cornéennes lamellaires ou transfixiantes, 11,4% de glaucome chronique, et 6,4% avec un antécédent de kératite herpétique. Le caractère phaqué retrouvé chez plus de la moitié des yeux pouvait aussi influencer sur l'AV avec l'apparition d'une cataracte secondairement.

L'étude de Westekemper³⁷ présentait les résultats à moyen et long terme, sur $36,4 \pm 18,5$ mois de 72 yeux ayant bénéficié d'une GMA uniquement pour des brûlures chimiques aiguës. L'AV moyenne finale était de $0,7 \pm 0,8$ LogMAR. Elle était inférieure à 0,2 LogMAR pour 40,3% des yeux alors qu'elle était supérieure à 1,0 LogMAR dans 30,5% des cas. Cette différence majeure avec nos résultats montre bien que la récupération visuelle varie en fonction des types d'indications, notamment dans ce cas de la présence ou non d'un déficit en CSL associé.

Bien que l'AV finale reste faible dans notre étude, la perforation du globe a été évitée dans une majorité de cas, et l'inflammation et la vascularisation ont été limitées par la GMA, même si en raison du caractère rétrospectif de l'étude, la régression de la néovascularisation cornéenne n'a pas pu être quantifiée. Toutes ces fonctions constituent des avantages qui réduisent le risque de rejet lors d'une future greffe de cornée à visée optique. Celle-ci a pu être réalisée pour 8,5% des yeux. De plus, nous faisons état d'un pourcentage non négligeable de 6,1% de monophthalmes, avec une réalisation d'une GMA sur l'œil valide, et 5,9% interventions sur une population pédiatrique, d'où l'importance de l'amélioration fonctionnelle, même minime, notamment chez ces patients. L'examen de l'AV souffrait toutefois de nombreux biais de confusion, liés à sa mesure ou à l'existence de pathologies intercurrentes comme décrites précédemment. D'autre part, la mesure de l'AV a été réalisée à 6 mois, 1 an, et 2 ans de suivi, pendant lequel des mesures de réhabilitation visuelle ont pu être entreprises. Les autres biais de notre étude étaient inhérents à son design, rétrospectif.

Nous avons constaté une part importante d'étiologies multifactorielles. La difficulté de classement des indications dans notre étude provenait d'intrications existantes entre plusieurs causes, avec un contingent neurotrophique souvent présent. Notamment concernant la toxicité des collyres fortifiés dans les cas de kératites infectieuses, l'insuffisance

en CSL³⁸ et les atteintes neurotrophiques des brûlures et des syndrome de Stevens-Johnson et Lyell, ainsi que les atteintes du nerf Trijumeau et facial souvent associées dans les chirurgies de neurinome de l'acoustique, entraînant à la fois un ulcère neurotrophique et par lagophthalmie.

L'analyse du groupe ulcères neurotrophiques retrouvait une majorité de causes herpétiques, ce qui est en accord avec la littérature décrivant cette cause comme l'une des plus fréquentes^{2,39}. L'étude de Hsu⁴⁰, étudiant les étiologies de 44 ulcères neurotrophiques retrouvait également une prédominance de causes herpétiques. Bonini⁴¹ décrivait dans son étude sur 43 yeux atteints de KN, 27% de cause herpétique, 21,6% après des chirurgies cornéennes répétées, 16,2% par abus d'anesthésiques locaux, 13,3% dans les suites de brûlures cornéennes, 10,8 % de séquelles neurochirurgicales, et 8,1% de diabète. Notre répartition était semblable, hormis pour celle des ulcères par abus d'anesthésiques locaux et par brûlures cornéennes. Ces derniers étaient principalement attribués à une insuffisance en CSL dans notre recueil de GMA, mais comme dans 22,4% des cas, les causes sont souvent multifactorielles. Le pourcentage conséquent d'atteintes centrales du nerf Trijumeau est un biais de recrutement des centres tertiaires comme notre C.H.U.

Dans une revue de la littérature de 2018, Dua² et les autres auteurs reprennent l'ensemble des étiologies d'ulcères neurotrophiques. Nous n'avons pas retrouvé de causes génétiques telles que les syndromes de Riley-Day, Goldenhar-Gorlin, ou Mobius. Les dystrophies cornéennes granulaires et grillagées ainsi que la lèpre, et le déficit en vitamine A décrits également dans la littérature⁴² ne faisaient pas partie des étiologies de notre série de GMA.

Perspectives

La meilleure connaissance des mécanismes d'altération de la surface oculaire et des propriétés des GMA a permis ces dernières années le développement de nouvelles applications de celle-ci. La GMA n'exprime pas les antigènes HLA-A, -B ou -DR et ne pose donc pas de problème de rejet immunologique ; elle peut être associée à des greffes de CSL dans le traitement de ces déficits. Notamment dans cette indication, la technique SLET (simple limbal epithelial transplantation), a été publiée pour la première fois en 2012 par Sangwan⁴³. La GMA est utilisée comme support dans l'expansion in vivo des CSL. Des recherches sont actuellement

en cours sur les propriétés des dérivés de la MA⁴⁴, et des auteurs décrivent les possibilités d'utilisation de collyres d'extrait de MA⁴⁵ comme applications futures.

Limites de la GMA

Cependant, il s'agit d'une intervention chirurgicale, et comme nous le constatons dans notre étude, le recours à une sédation ou anesthésie générale et ses potentielles complications est nécessaire dans une majorité de cas. De plus, son utilisation pour les brûlures oculaires graves est limitée par la perte importante de CSL fréquemment associée, et nécessite souvent une greffe supplémentaire de CSL autologues ou hétérologues. Enfin, elle possède de nombreuses actions bénéfiques sur la surface oculaire, mais ne permet pas l'apport de facteurs trophiques tels que le NGF, l'IGF-1, et la Substance P, visant l'amélioration des défauts de sensibilité cornéenne. Peu d'effets indésirables directement liés à la GMA ont été rapportés dans la littérature, et aucun dans notre série. Il s'agit notamment d'hypopion secondaire à une réaction immunitaire, et de granulomes pyogéniques sur sutures.

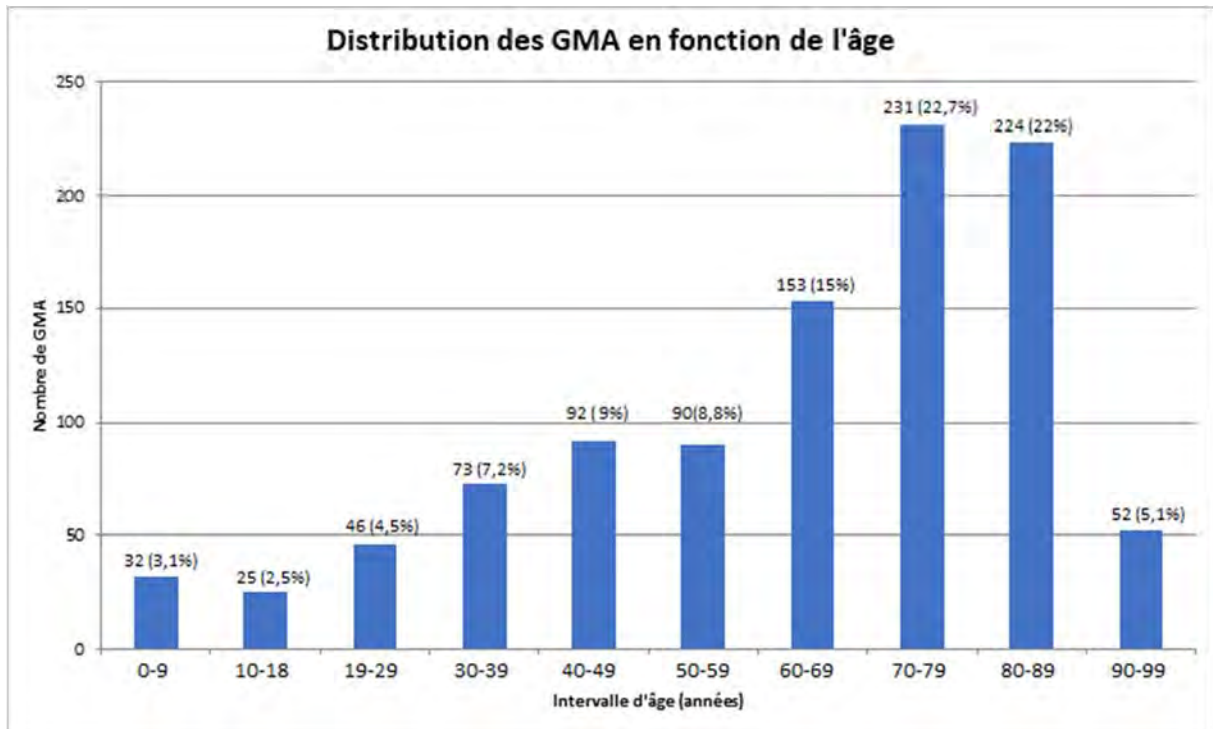
V CONCLUSION

Notre étude a mis en évidence un taux important de cicatrisation des ulcères cornéens, et l'amélioration significative de l'acuité visuelle moyenne après GMA, malgré une part importante d'ulcères cornéens profonds, de localisation centrale et l'existence de certaines comorbidités ophtalmologiques. Un panel large d'indications a été décrit, dont les ulcères cornéens chroniques, principalement neurotrophiques, et l'augmentation du nombre de GMA, réalisées au C.H.U de Toulouse, sur 12 années consécutives de suivi. Il s'agit à notre connaissance de l'étude regroupant le plus grand nombre de GMA analysées, sur une période de 12 ans.

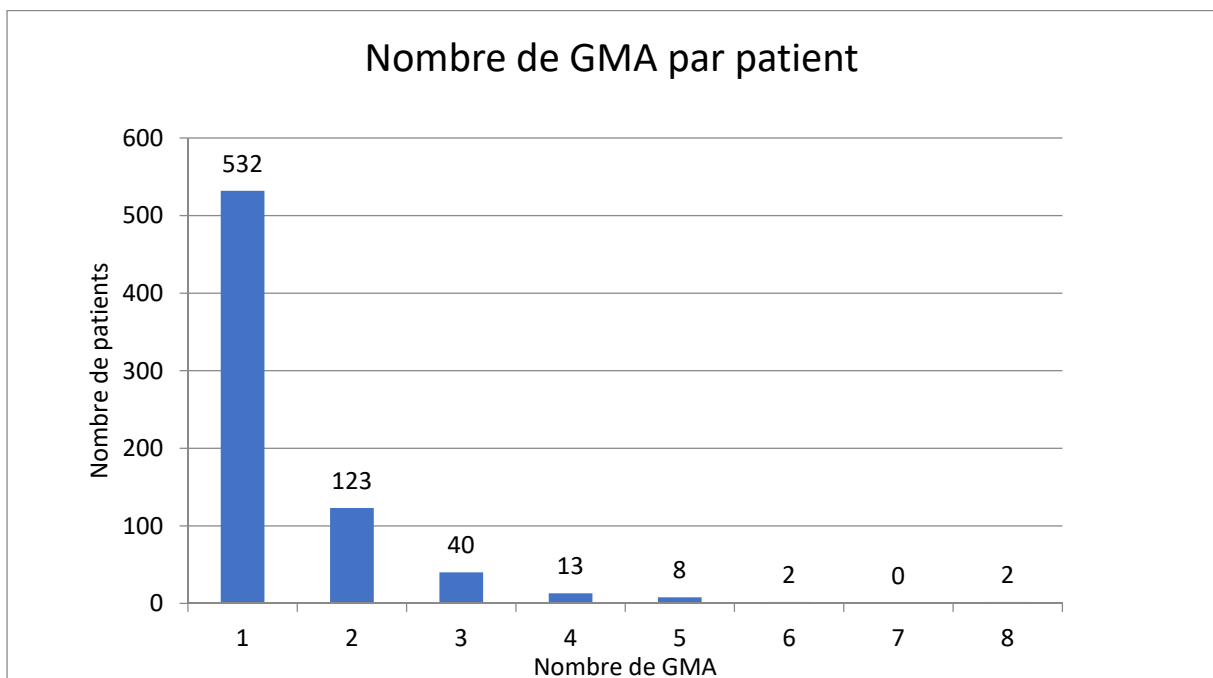
La GMA peut être considérée comme une option sûre et accessible en ophtalmologie reconstructive et régénérative. Le nombre d'indications bénéficiant de GMA est en progression, et les pathologies traitées avec efficacité par cette technique pourraient également bénéficier de ses nouvelles applications, et du développement d'autres traitements innovants. Ceci permettrait de compléter l'arsenal thérapeutique des ulcères cornéens chroniques et la définition d'un consensus dans leur prise en charge.

Une grande partie des atteintes ayant conduit à une GMA dans notre expérience étant d'origine neurotrophique, nous insistons sur l'importance d'un examen systématique de la sensibilité cornéenne lors d'une ulcération chronique, et la recherche de facteurs associés afin de limiter les retards de prise en charge.

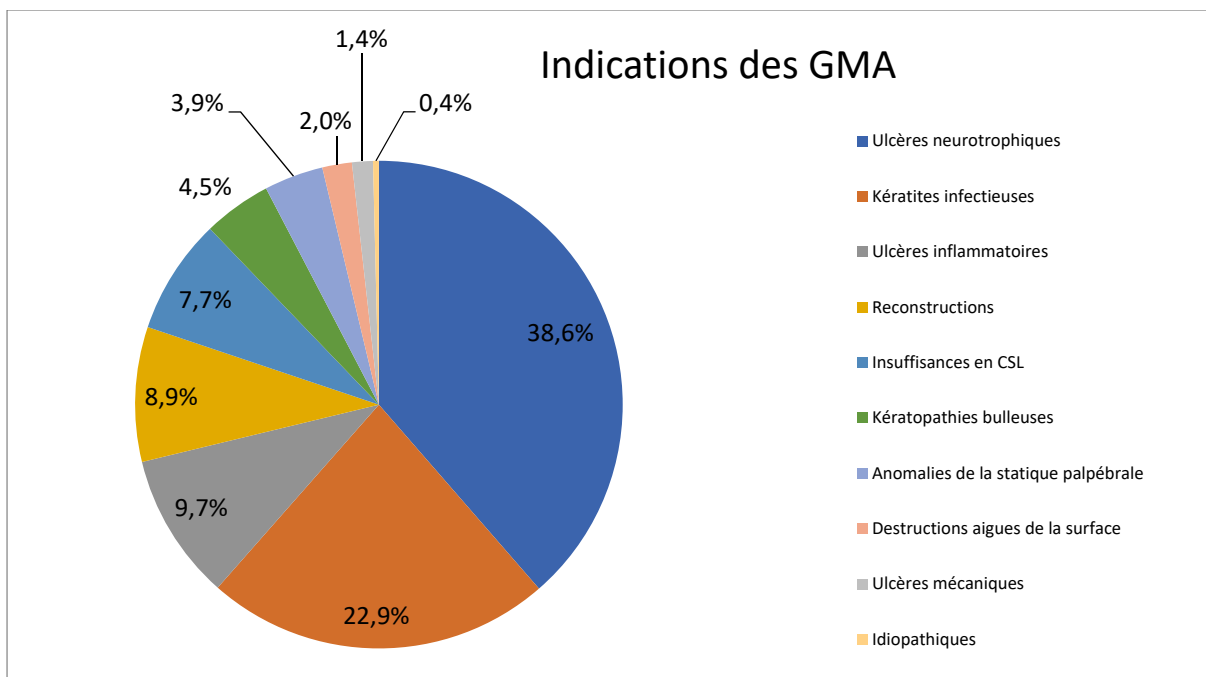
VI ANNEXES



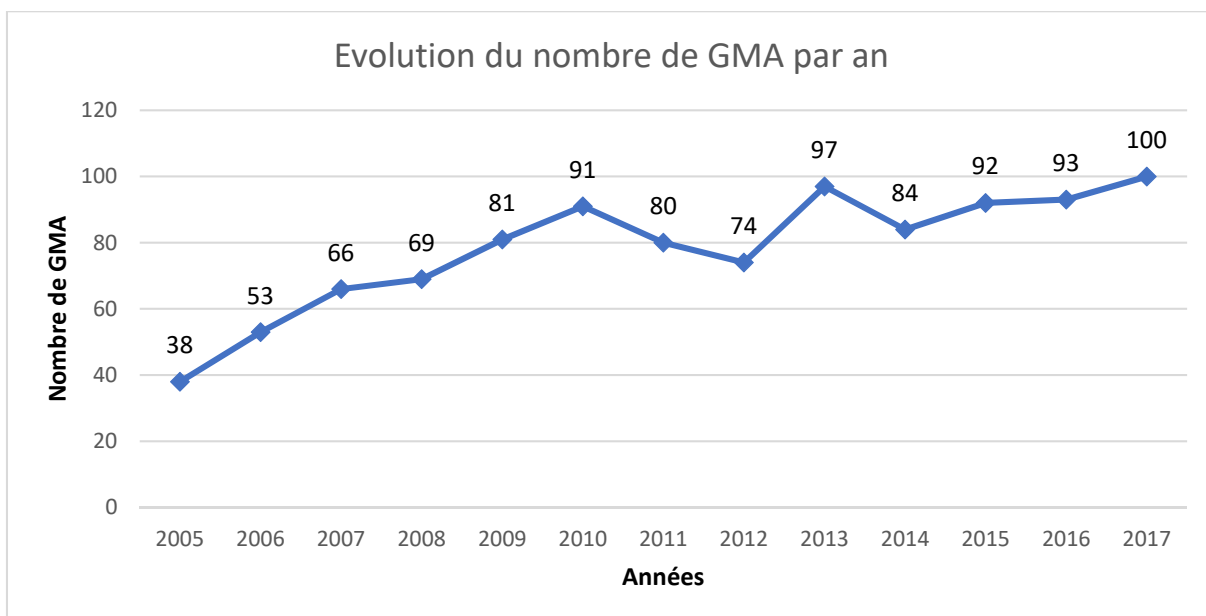
Graphique 1 : Répartition des GMA en fonction de l'âge



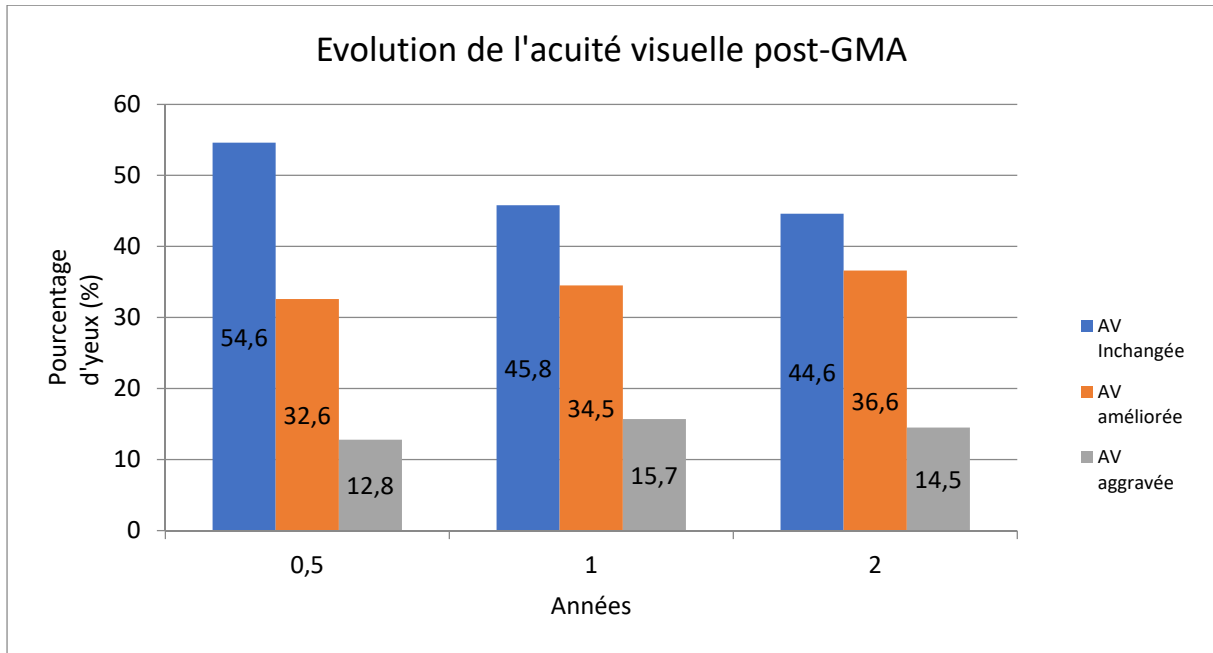
Graphique 2 : Répartition du nombre de GMA par patient



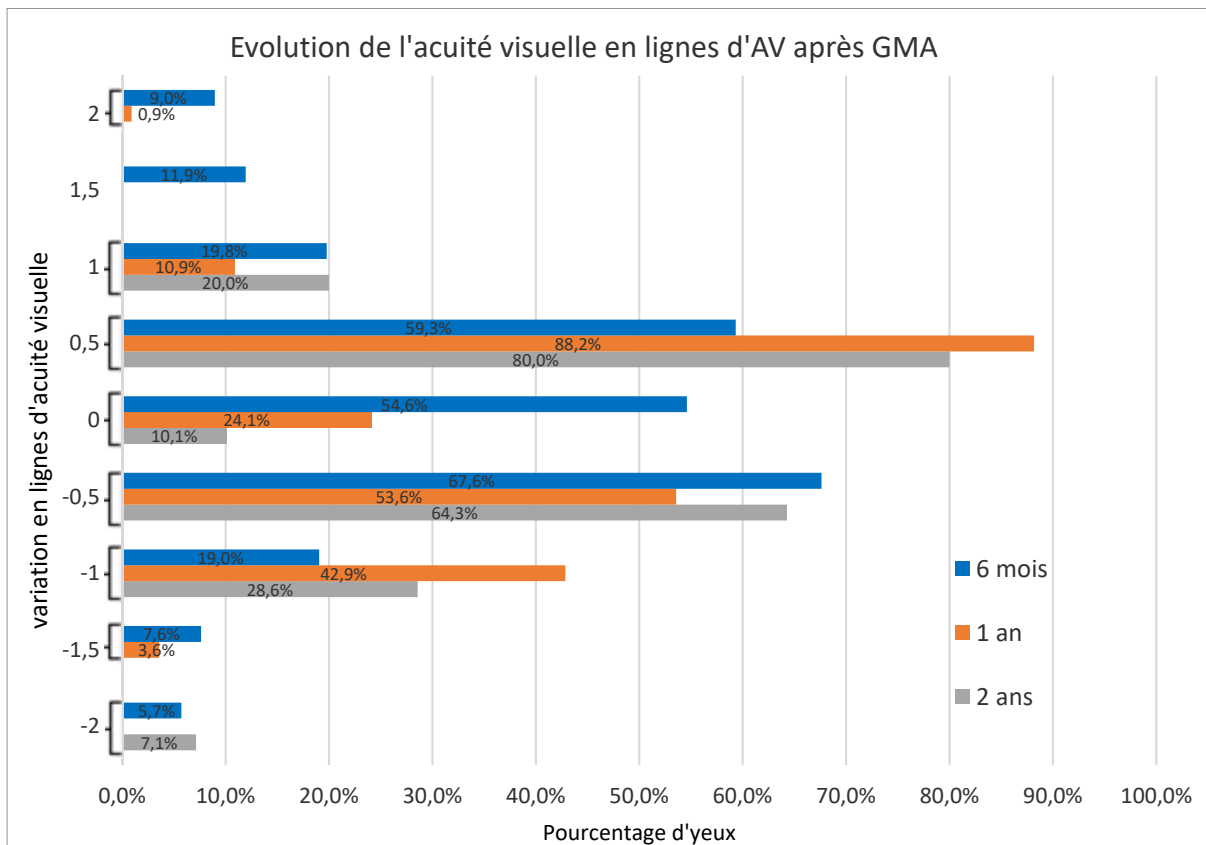
Graphique 3 : Répartition des indications de GMA



Graphique 4 : Evolution du nombre de GMA en fonction des années



Graphique 5.1 : Evolution de l'acuité visuelle après GMA



Graphique 5.2 : Evolution de l'acuité visuelle en lignes d'AV après GMA

VII BIBLIOGRAPHIE

1. Bukowiecki A, Hos D, Cursiefen C, Eming SA. Wound-Healing Studies in Cornea and Skin: Parallels, Differences and Opportunities. *Int J Mol Sci.* 2017;18(6).
2. Dua HS, Said DG, Messmer EM, et al. Neurotrophic keratopathy. *Prog Retin Eye Res.* 2018;66:107-131.
3. Bhatti MT, Patel R. Neuro-ophthalmic considerations in trigeminal neuralgia and its surgical treatment. *Curr Opin Ophthalmol.* 2005;16(6):334-340.
4. Labetoulle M, Auquier P, Conrad H, et al. Incidence of herpes simplex virus keratitis in France. *Ophthalmology.* 2005;112(5):888-895.
5. Dworkin RH, Johnson RW, Breuer J, et al. Recommendations for the management of herpes zoster. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 2007;44 Suppl 1:S1-26.
6. Tsubota K, Goto E, Shimmura S, Shimazaki J. Treatment of persistent corneal epithelial defect by autologous serum application. *Ophthalmology.* 1999;106(10):1984-1989.
7. Cochener B, Zagnoli C, Hugny-Larroque C, Derrien S. Healing of resistant corneal neurotrophic ulcers using a matrix regenerating agent. *J Fr Ophthalmol.* 2019;42(2):159-165.
8. Sevik MO, Turhan SA, Toker E. Topical Treatment of Persistent Epithelial Defects with a Matrix Regenerating Agent. *J Ocul Pharmacol Ther.* 2018;34(9):621-627.
9. Lambiase A, Sacchetti M, Bonini S. Nerve growth factor therapy for corneal disease: *Curr Opin Ophthalmol.* 2012;23(4):296-302.
10. de Rotth A. Plastic repair of conjunctival defects with fetal membranes. *Arch Ophthalmol* 1940; 23: 522–525. de Rotth A. Plastic repair of conjunctival defects with fetal membranes. *Arch Ophthalmol* 1940; 23: 522–525.
11. Jain AK, Sukhija J. Amniotic membrane transplantation in ocular rosacea. *Ann Ophthalmol Skokie Ill.* 2007;39(1):71-73.
12. Chen HJ, Pires RT, Tseng SC. Amniotic membrane transplantation for severe neurotrophic corneal ulcers. *Br J Ophthalmol.* 2000;84(8):826-833.
13. Altay Y, Tamer S, Burcu A, Balta Ö. Amniotic membrane transplantation in bacterial and herpetic stromal keratitis. *Turk J Med Sci.* 2016;46(2):457-462.
14. Fukuda K, Chikama T, Nakamura M, Nishida T. Differential distribution of subchains of the basement membrane components type IV collagen and laminin among the amniotic membrane, cornea, and conjunctiva. *Cornea.* 1999;18(1):73-79.

15. Jirsova K, Jones GLA. Amniotic membrane in ophthalmology: properties, preparation, storage and indications for grafting—a review. *Cell Tissue Bank*. 2017;18(2):193-204.
16. Dua HS, Azuara-Blanco A. Amniotic membrane transplantation. *Br J Ophthalmol*. 1999;83(6):748-752.
17. Kim JC, Tseng SC. Transplantation of preserved human amniotic membrane for surface reconstruction in severely damaged rabbit corneas. *Cornea*. 1995;14(5):473-484.
18. McCulley JP, Horowitz B, Hussein ZM, Horowitz M. Topical fibronectin therapy of persistent corneal epithelial defects. Fibronectin Study Group. *Trans Am Ophthalmol Soc*. 1993;91:367-390.
19. Prabhasawat P. Single and multilayer amniotic membrane transplantation for persistent corneal epithelial defect with and without stromal thinning and perforation. *Br J Ophthalmol*. 2001;85(12):1455-1463.
20. Röck T, Bartz-Schmidt KU, Landenberger J, Bramkamp M, Röck D. Amniotic Membrane Transplantation in Reconstructive and Regenerative Ophthalmology. *Ann Transplant*. 2018;23:160-165.
21. Ahmad MS, Frank GS, Hink EM, Palestine AG, Gregory DG, McCourt EA. Amniotic membrane transplants in the pediatric population. *J AAPOS Off Publ Am Assoc Pediatr Ophthalmol Strabismus*. 2017;21(3):215-218.
22. Bouchard C s., John T. Amniotic Membrane Transplantation in the Management of Severe Ocular Surface Disease: Indications and Outcomes. *Ocul Surf*. 2004;2(3):201-211.
23. Solomon A, Meller D, Prabhasawat P, et al. Amniotic membrane grafts for nontraumatic corneal perforations, descemetocelles, and deep ulcers. *Ophthalmology*. 2002;109(4):694-703.
24. Maharajan VS, Shanmuganathan V, Currie A, Hopkinson A, Powell-Richards A, Dua HS. Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction: indications and outcomes. *Clin Experiment Ophthalmol*. 2007;0(0):070130044
25. Hick S, Demers PE, Brunette I, La C, Mabon M, Duchesne B. Amniotic membrane transplantation and fibrin glue in the management of corneal ulcers and perforations: a review of 33 cases. *Cornea*. 2005;24(4):369-377.
26. Rodríguez-Ares MT, Touriño R, López-Valladares MJ, Gude F. Multilayer amniotic membrane transplantation in the treatment of corneal perforations. *Cornea*. 2004;23(6):577-583.
27. Tseng SC, Li DQ, Ma X. Suppression of transforming growth factor-beta isoforms, TGF-beta receptor type II, and myofibroblast differentiation in cultured human corneal and limbal fibroblasts by amniotic membrane matrix. *J Cell Physiol*. 1999;179(3):325-335.

28. Choi TH, Tseng SC. In vivo and in vitro demonstration of epithelial cell-induced myofibroblast differentiation of keratocytes and an inhibitory effect by amniotic membrane. *Cornea*. 2001;20(2):197-204.
29. Gusdon JP. A bactericidin for *Bacillus subtilis* in pregnancy. *J Immunol Baltim Md* 1950. 1962;88:494-499.
30. Galask RP, Snyder IS. Antimicrobial factors in amniotic fluid. *Am J Obstet Gynecol*. 1970;106(1):59-65.
31. Otsuki K, Yoda A, Saito H, et al. Amniotic fluid lactoferrin in intrauterine infection. *Placenta*. 1999;20(2-3):175-179.
32. Paradowska E, Blach-Olszewska Z, Gejdel E. Constitutive and induced cytokine production by human placenta and amniotic membrane at term. *Placenta*. 1997;18(5-6):441-446.
33. Gu H-W, Bian D-M, Hu N, Zhang J-F. Effects of amniotic membrane transplantation on cytokines expression in chemically burned rat corneas. *Int J Ophthalmol*. 2011;4(1):33-36.
34. Lee SH, Tseng SC. Amniotic membrane transplantation for persistent epithelial defects with ulceration. *Am J Ophthalmol*. 1997;123(3):303-312.
35. Koizumi NJ, Inatomi TJ, Sotozono CJ, Fullwood NJ, Quantock AJ, Kinoshita S. Growth factor mRNA and protein in preserved human amniotic membrane. *Curr Eye Res*. 2000;20(3):173-177.
36. Rodríguez-Ares MT, López-Valladares MJ, Touriño R, et al. Effects of lyophilization on human amniotic membrane. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 2009;87(4):396-403.
37. Westekemper H, Figueiredo FC, Siah WF, Wagner N, Steuhl K-P, Meller D. Clinical outcomes of amniotic membrane transplantation in the management of acute ocular chemical injury. *Br J Ophthalmol*. 2017;101(2):103-107.
38. Sabater AL, Perez VL. Amniotic membrane use for management of corneal limbal stem cell deficiency. *Curr Opin Ophthalmol*. 2017;28(4):363-369.
39. Sacchetti M, Lambiase A. Diagnosis and management of neurotrophic keratitis. *Clin Ophthalmol Auckl NZ*. 2014;8:571-579.
40. Hsu HY, Modi D. Etiologies, Quantitative Hypoesthesia, and Clinical Outcomes of Neurotrophic Keratopathy: *Eye Contact Lens Sci Clin Pract*. 2015;41(5):314-317.
41. Bonini S, Rama P, Olzi D, Lambiase A. Neurotrophic keratitis. *Eye*. 2003;17(8):989-995.
42. Semeraro F, Forbice E, Romano V, et al. Neurotrophic Keratitis. *Ophthalmologica*. 2014;231(4):191-197.
43. Sangwan VS, Basu S, MacNeil S, Balasubramanian D. Simple limbal epithelial transplantation (SLET): a novel surgical technique for the treatment of unilateral limbal stem cell deficiency. *Br J Ophthalmol*. 2012;96(7):931-934.

44. Baradaran-Rafii A, Asl NS, Ebrahimi M, et al. The role of amniotic membrane extract eye drop (AMEED) in in vivo cultivation of limbal stem cells. *Ocul Surf.* 2018;16(1):146-153.
45. Murri MS, Moshirfar M, Birdsong OC, Ronquillo YC, Ding Y, Hoopes PC. Amniotic membrane extract and eye drops: a review of literature and clinical application. *Clin Ophthalmol Auckl NZ.* 2018;12:1105.

RECUEIL RETROSPECTIF SUR LE LONG TERME DES GREFFES DE MEMBRANE AMNIOTIQUE EN CHIRURGIE OPHTALMOLOGIQUE DE SURFACE REGENERATIVE ET RECONSTRUCTIVE

Objectif : Décrire les caractéristiques épidémiologiques de l'utilisation des greffes de membranes amniotiques (GMA) en détaillant les indications, les techniques chirurgicales, l'évolution de l'acuité visuelle et le taux de succès après GMA ainsi que les caractéristiques des ulcères neurotrophiques.

Méthode : Etude observationnelle rétrospective monocentrique réalisée au C.H.U de Toulouse entre le 16 Février 2005 et le 31 Décembre 2017, avec un recueil systématique des données de toutes les GMA effectuées. Les données démographiques, les comorbidités ophtalmologiques, les indications, le nombre et le type de GMA par patient, ainsi que les traitements complémentaires éventuels et la meilleure acuité visuelle corrigée (MAVC) à 6 mois, 1 an, et 2 ans, ont été recueillis. Trois groupes ont été définis en fonction de la MAVC initiale, faible supérieure ou égale à 1,7 LogMar, moyenne entre 1,6 et 0,5 LogMar, et forte, inférieure ou égale à 0,4 LogMar.

Resultats : 1018 GMA ont été réalisées chez 720 patients d'âge moyen de $63 \pm 22,4$ ans, dont 927 (91,1%) à visée régénérative d'ulcères cornéens et 91 (8,9%) à visée reconstructive. Les ulcères neurotrophiques et les kératites infectieuses représentaient les principales indications avec respectivement 393 (38.6%) et 233 (22.9%) GMA. Pour les indications d'ulcères cornéens, la MAVC initiale était de $1,76 \pm 0,7$ LogMar. Elle était améliorée de 0,16 LogMar à 6 mois, 0,28 à 1 an, et 0,34 LogMar à 2 ans, ($p < 0,001$) dans ces trois cas. Le taux de succès global était de 84,5% et de 74,8% pour les ulcères pré-perforatifs et perforés.

Conclusion: Notre expérience montre un taux important de cicatrisation des ulcères cornéens, et l'amélioration significative de l'AV après GMA, malgré une part importante d'ulcères cornéens profonds, de localisation centrale et l'existence de certaines comorbidités ophtalmologiques, dans de nombreuses indications, sur 12 années consécutives de suivi.

TITRE EN ANGLAIS: Long term retrospective study of amniotic membrane transplantation in regenerative and reconstructive surface ophthalmological surgery

DISCIPLINE ADMINISTRATIVE : Ophtalmologie

MOTS-CLÉS: Greffe de membrane amniotique, ulcère cornéen, kératite neurotrophique, surface oculaire, cicatrisation, reconstruction

Université Toulouse III-Paul Sabatier
Faculté de médecine Toulouse-Purpan,
37 Allées Jules Guesde 31000 Toulouse

Directeur de thèse : Professeur Pierre FOURNIE