



Explorations de la niche limbique

Nilly Banayan

Le déficit en cellules souches limbiques (DCSL) est l'expression d'un double processus : une régénération insuffisante de l'épithélium de la cornée, ne pouvant assurer son maintien physiologique (homéostasie), associée à une invasion cornéenne par une prolifération conjonctivale. Il peut être dû à des étiologies variées résultant d'une diminution du nombre de cellules souches limbiques ou d'une anomalie de leur fonction.

Le limbe cornéen normal

Le limbe cornéen normal constitue une barrière anatomique et fonctionnelle entre l'épithélium cornéen et l'épithélium conjonctival. Il se caractérise par la présence d'une niche en cellules souches limbiques permettant le maintien de l'homéostasie cornéenne (figure 1). L'épithélium cornéo-limbique est organisé comme celui de la cornée centrale mais il s'épaissit avec 10 à 15 couches cellulaires, sans cellule caliciforme ni couche de Bowman. Le stroma limbique est organisé selon une série d'élévations radiaires centrées par un axe fibrovasculaire appelées palissades de Vogt (PV) et alternant avec les cellules épithéliales limbiques. Ces structures constituent la niche de cellules souches, définie comme le microenvironnement constitué de composants cellulaires, d'une matrice extracellulaire et de facteurs de croissance.

Microscopie confocale

En microscopie confocale, on retrouve au niveau superficiel la jonction entre l'épithélium conjonctival hyperrélectif et l'épithélium cornéen bien structuré hyporélectif. Les cellules ont une taille et réflectivité variables, souvent hyporélectives à contours hyperrélectifs. En profondeur, les PV apparaissent comme des structures acellulaires linéaires à double contour, hyperrélectives et perpendiculaires au limbe, alternant avec des colonnes de cellules épithéliales « rete pegs » qui s'étendent de la cornée périphérique vers le stroma cornéen limbique. Les projections stromales focales en « doigt de gant » contiennent un vaisseau central. Elles s'étendent vers l'épithélium cornéen limbique et sont entourées de cellules basales denses, de plus petite taille que les cellules basales cornéennes centrales (figure 2). Elles sont visualisées sur les coupes coronales sous la forme de structures rondes ou ovales. Des cellules dendritiques et des

cellules de Langerhans sont présentes à l'état normal dans la couche basale.

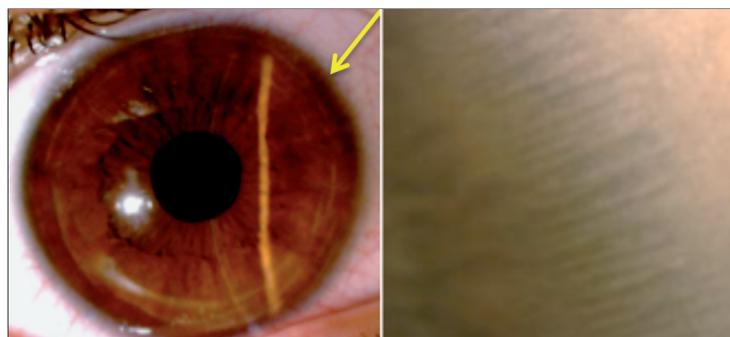


Figure 1. Photographie en lampe à fente d'un limbe normal.

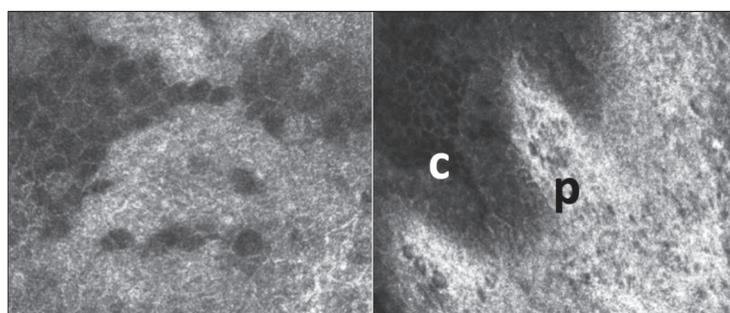


Figure 2. Microscopie confocale in vivo d'un limbe normal. Présence de populations cellulaires distinctes. Alternance de palissades de Vogt hyperrélectives (p) et cryptes limbiques (c).

Déficit en cellules souches limbiques

Manifestations cliniques

Les manifestations cliniques d'un déficit en cellules souches limbiques varient selon la sévérité de l'atteinte. Certains signes sont non spécifiques, tels que l'hyperhémie conjonctivale, la sensation d'irritation, la photophobie et

CHNO des Quinze-Vingts, Paris

Clinique

la baisse d'acuité visuelle liée à un astigmatisme irrégulier ou à des opacités cornéennes. Les patients peuvent aussi présenter des signes spécifiques incluant des retards de cicatrisation avec des érosions récidivantes, une prolifération conjonctivale et une néovascularisation cornéenne superficielle. La conjonctivalisation cornéenne peut être visible en lampe à fente avec ou sans fluorescéine (figure 3). L'épithélium conjonctival étant plus perméable que l'épithélium cornéen, une prise de contraste tardive à la fluorescéine caractéristique de l'insuffisance limbique est observée [1].

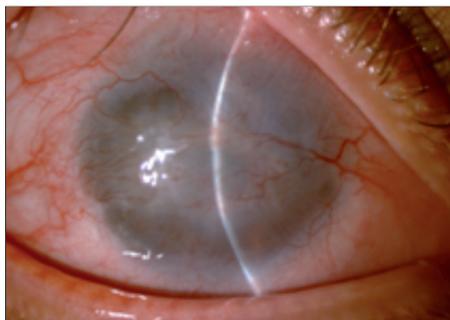
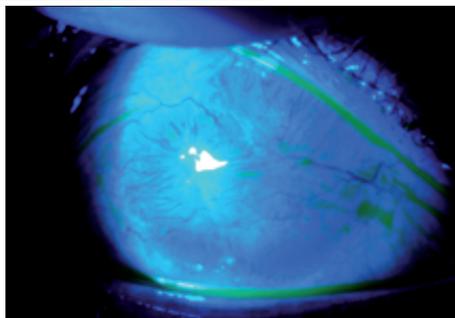


Figure 3.
Photographie en lampe à fente (lumière blanche et lumière bleue) d'un patient ayant un déficit en cellules souches limbiques.



Empreintes cytologiques

Les empreintes cytologiques ont longtemps été la technique diagnostique de référence du DCSL [2]. Cette technique a l'avantage de préserver les cellules souches limbiques tout en fournissant un diagnostic de certitude cytologique en identifiant des cellules à mucus conjonctivales à la surface de la cornée. Cependant, elle est peu sensible chez les patients aux stades précoces et les analyses doivent être répétées dans les cas suspects. À l'opposé, dans les stades tardifs totalement kératinisés, l'absence de cellules à mucus peut conduire à des faux négatifs. Un examen positif confirme donc le diagnostic d'insuffisance en cellules souches limbiques mais un résultat négatif ne l'exclut pas.

Microscopie confocale

En microscopie confocale *in vivo*, il existe des changements microstructurels significatifs dans le déficit en cellules souches limbiques [3].

En cornée centrale, les cellules intermédiaires et basales deviennent progressivement métaplasiques, avec des noyaux proéminents et des contours cellulaires plus flous ; la densité en cellules épithéliales basales et la densité des plexi nerveux sous-basaux diminuent significativement. Dans le stade tardif, la morphologie normale des cellules épithéliales basales est totalement absente ainsi que les plexi sous-basaux. Les altérations varient de manière proportionnelle à la sévérité de la maladie [4]. Les altérations de l'épithélium cornéen central peuvent ainsi être classifiées allant d'un épithélium stratifié normal à un épithélium mal stratifié d'une à deux couches de petites cellules au noyau hyperréfléctif sans autre détail visible, en particulier sans jonction intercellulaire visible. Le dernier stade correspond à un épithélium non vu, en lien avec un défaut épithélial ou une cicatrice fibreuse à la surface de la cornée.

Au niveau du limbe, on note une absence de PV et des cryptes épithéliales limbiques, ainsi qu'un amincissement de l'épithélium limbique en regard. Des modifications kystiques, jusqu'à la fibrose sous-épithéliale, peuvent être observées (figure 4). La progression de l'insuffisance limbique est significativement corrélée à la perte des PV et à l'afflux de cellules inflammatoires, visibles en microscopie confocale comme de petites cellules rondes très hyperréfléctives [5].

Cette technique est longue et invasive du fait du contact cornéen avec un champ d'analyse restreint. Elle nécessite des techniciens entraînés pour obtenir des images de qualité et une bonne coopération du patient. Enfin, elle est rarement employée du fait du coût élevé de l'équipement.

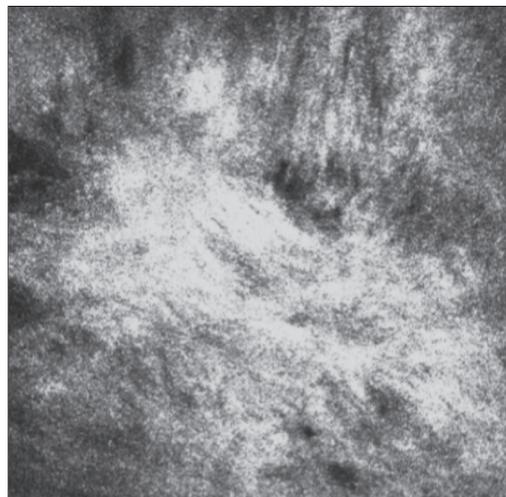


Figure 4. Microscopie confocale *in vivo* d'un patient présentant un déficit en cellules souches limbiques. Visualisation d'une fibrose sous-épithéliale.

Tomographie en cohérence optique

La tomographie en cohérence optique (OCT) est une technologie rapide, facile et non-contact utilisée pour acquérir des images de la cornée en haute résolution. Elle apporte des informations détaillées du limbe et des PV pouvant être utiles à l'évaluation clinique précise d'atteintes cornéennes compliquées.

Dans chaque quadrant limbique, la présence de PV et de cryptes limbiques sur les coupes parallèles et en face au limbe peut être gradée. La présence d'une transition nette entre la cornée hyporéfléctive et l'épithélium conjonctival hyperréfléctif est évaluée sur les coupes perpendiculaires au limbe. Les modifications principales liées au déficit en cellules souches limbiques retrouvées comprennent :

- une perte des ondulations stromales correspondant aux PV et des cryptes limbiques sur les coupes transversales parallèles au limbe et sur les sections en face ;
- une perte de l'épaississement épithélial dans la région limbique et de la transition normale entre l'épithélium cornéen hyporéfléctif et l'épithélium conjonctival hyperréfléctif sur les coupes perpendiculaires au limbe ;
- une présence de fibrose limbique sous-épithéliale.

En cornée centrale, les cartes pachymétriques montrent une variabilité augmentée de l'épaisseur épithéliale chez les patients insuffisants limbiques (figure 5).

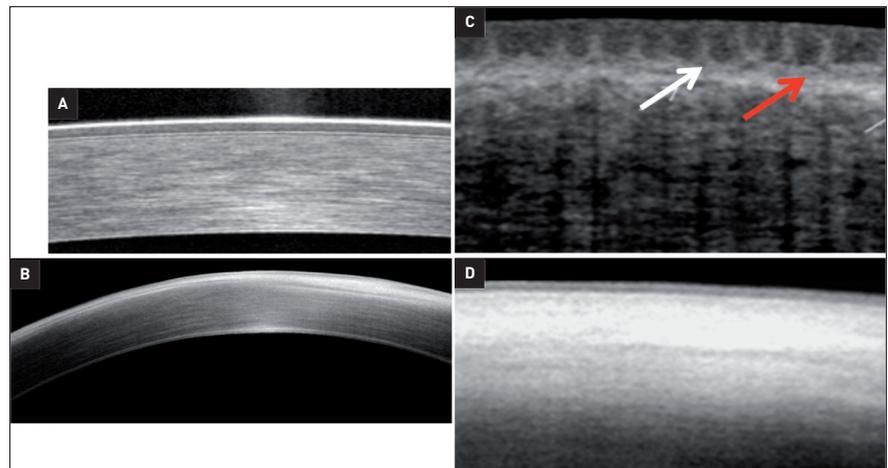


Figure 5. Tomographie en cohérence optique d'une cornée normale et d'une cornée avec un déficit en cellules souches limbiques. **A** : coupe cornéenne centrale normale ; **B** : coupe cornéenne centrale avec une fibrose sous-épithéliale (DCSL) ; **C** : coupe parallèle au limbe normal. Visualisation de nettes ondulations régulières ; **D** : coupe parallèle dans un DCSL. Stroma plat et hyperréfléctif, recouvert par un épithélium fin.

Références bibliographiques

- [1] Dua HS, Saini JS, Azuara-Blanco A, Gupta P. Limbal stem cell deficiency: concept, aetiology, clinical presentation, diagnosis and management. *Indian J Ophthalmol.* 2000;48(2):83-92.
- [2] Puangricharern V, Tseng SC. Cytologic evidence of corneal diseases with limbal stem cell deficiency. *Ophthalmology.* 1995;102(10):1476-85.
- [3] Deng SX, Sejpal KD, Tang Q *et al.* Characterization of limbal stem cell deficiency by in vivo laser scanning confocal microscopy: a microstructural approach. *Arch Ophthalmol.* 2012;130(4):440-5.
- [4] Nubile M, Lanzini M, Miri A *et al.* In vivo confocal microscopy in diagnosis of limbal stem cell deficiency. *Am J Ophthalmol.* 2013;155(2):220-32.
- [5] Lagali N, Edén U, Utheim TP *et al.* In vivo morphology of the limbal palisades of vogt correlates with progressive stem cell deficiency in aniridia-related keratopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013;54(8):5333-42.
- [6] Banayan N, Georgeon C, Grieve K, Borderie VM. Spectral domain optical coherence tomography in limbal stem cell deficiency. A case control study. *Am J Ophthalmol.* 2018;190(6):179-90. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2018.03.034> [Epub ahead of print]