

Utilisation des membranes amniotiques humaines en ophtalmologie

Nicolas Bonnin^{1,2}, Estelle Daniel^{1,2}, Loïc Blanchon¹, Corinne Belville^{1,3}, Vincent Sapin¹, Frédéric Chiambaretta^{1,2}

Les multiples propriétés de la membrane amniotique humaine (MAH) (promotion de la ré-épithélialisation, effets anti-angiogéniques, antibactériens ou anti-inflammatoires) trouvent leur utilisation dans de nombreuses indications en ophtalmologie. Il s'agit des ulcères cornéens trophiques résistant au traitement médical, dans certains cas de destruction de la surface oculaire ou de reconstruction conjonctivale, que cet article détaille en précisant les différentes techniques utilisées ainsi que les limites à l'utilisation des MAH.

La membrane amniotique humaine (MAH) recouvre le placenta, le cordon ombilical et tapisse la cavité amniotique. Elle est constituée du chorion orienté vers la décidue maternelle et de l'amnios orienté vers le fœtus. Ce sont ces structures qui se rompent pour libérer le liquide amniotique avant l'accouchement. En ophtalmologie, seul l'amnios est utilisé. Histologiquement, il se compose d'un stroma avasculaire, d'une membrane basale épaisse composée de collagène IV et V, de lameline et d'un épithélium cubique monostratifié.

Les propriétés de ré-épithélialisation de la MAH seraient expliquées par :

- un effet mécanique en renforçant l'adhésion et la différenciation des cellules épithéliales basales, en facilitant la migration des cellules épithéliales et en prévenant l'apoptose cellulaire épithéliale ;
- un effet biologique : la MAH renferme de nombreux facteurs de croissance (*Epidermal Growth Factor*, *Keratinocyte Growth Factor*...) capables de promouvoir la ré-épithélialisation cornéenne.

Technique chirurgicale

Le flacon contenant la membrane amniotique est décongelé pendant 30 minutes à température ambiante avant l'intervention. La membrane est ensuite saisie à la pince sur son support de nitrocellulose ; elle est rincée dans du sérum salé isotonique puis immergée jusqu'à

son utilisation sans quoi elle se dessèche rapidement. Quant à la technique de suture, il existe des divergences selon les articles : suivant les indications, la membrane amniotique est utilisée en greffe ou en patch (figure 1).

MAH en patch ou «overlay» (figure 1a) : la MAH est suturée épithélium vers le bas de façon à délivrer une concentration maximale de facteurs biologiques. Elle recouvre la cornée pathologique en jouant un rôle de pansement biologique et un rôle antalgique. La membrane est

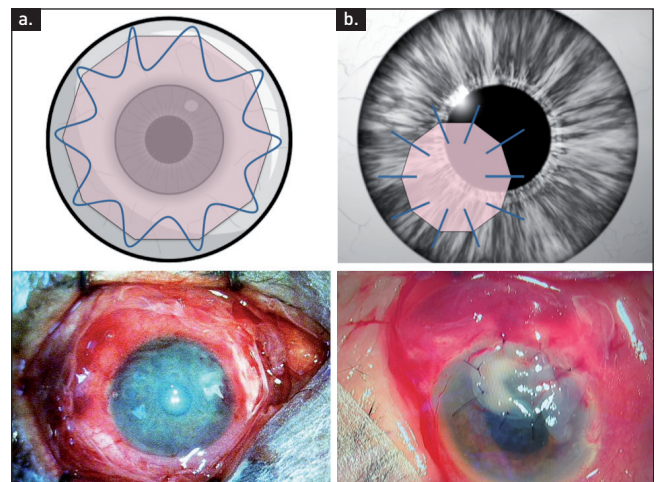


Figure 1. a. MAH en patch ou «overlay» (épithélium vers le bas).
b. MAH en greffe ou technique «inlay» (épithélium vers le haut).

1. EA 7281 R2D2, laboratoire de biochimie médicale, faculté de médecine, université d'Auvergne, Clermont-Ferrand. 2. Pôle médecine interne-ophtalmologie-ORL, service d'ophtalmologie, CHU de Clermont-Ferrand. 3. GRéD, Inserm U1103, Cnrs UMR 6293, université de Clermont-Ferrand.

suturée épithélium contre épithélium au moyen d'un fil synthétique tressé résorbable à la conjonctive le plus souvent par un surjet mais parfois par des points séparés.

MAH en greffe ou technique «inlay» (figure 1b) : la MAH sert de substrat à la repousse épithéliale déficiente et le chirurgien vise l'intégration de la membrane amniotique à la cornée. La membrane est suturée épithélium vers le haut à l'aide de points séparés de nylon 10.0 enfouis et ne dépasse pas les limites du limbe scléro-cornéen. Si la perte de substance cornéenne est profonde, plusieurs couches de MAH peuvent être superposées en ne suturant que la plus superficielle.

MAH en «sandwich» : les techniques de greffe et de patch sont combinées en utilisant plusieurs couches de MAH non suturées que l'on dispose dans le défaut cornéen et qui sont maintenues en place par un patch suturé au limbe [1].

Devenir des MAH implantées à la surface oculaire

Pour Resch *et al.* [1], cinq évolutions sont possibles et il existe le plus souvent différents types d'intégration sur un même patient :

- une absence d'intégration,
- une intégration intra-épithéliale : les faces épithéliale et choriale de la MAH sont au contact de l'épithélium cornéen,
- une intégration sous-épithéliale : la MAH est au contact de l'épithélium cornéen par sa face épithéliale et au contact de la membrane de Bowman ou du stroma cornéen par sa face choriale en fonction de la profondeur du défaut initial,
- une intégration intra-stromale : les faces épithéliale et stromale sont au contact du stroma cornéen,
- une intégration superficielle : la face épithéliale n'est pas recouverte mais la face choriale est amarrée à l'épithélium cornéen.

La diversité des pathologies causales explique en partie la localisation de la MAH lorsqu'elle s'intègre : une MAH s'intégrera plus profondément au sein d'un descémétocèle qu'au sein d'une lésion superficielle.

D'autre part, la technique chirurgicale influence notablement le résultat : les patches ne s'intègrent pas ou restent en surface, alors que les greffes s'intègrent et persistent en profondeur pouvant interférer avec la vision [2]. C'est pourquoi, pour des raisons optiques, on réalise plutôt des greffes pour les lésions périphériques et des patches pour les lésions centrales (figure 2). En cas de lésion centrale préperforante, une MAH en greffe per-

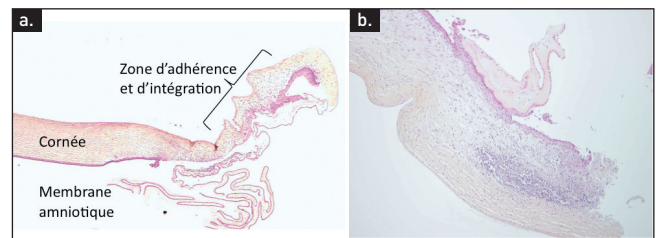


Figure 2. Cas de MAH greffée en overlay sur un abcès préperforatif central (a. : HES X 20, b. : HES X 200). Il existe une zone où les épithéliums et les membranes basales se sont durablement solidarisés.

mettra de temporiser en écartant le risque de perforation, mais seul le recours à la kératoplastie transfixiante dans un second temps permettra de restituer la vision [1].

Indications en ophtalmologie

Ulcères cornéens trophiques résistant au traitement médical

Ulcères trophiques sans facteurs de mauvais pronostic : il s'agit de la meilleure indication de la greffe de membrane amniotique. Dans cette indication, la membrane amniotique est le plus souvent utilisée en greffe, c'est-à-dire épithélium vers le haut. Dans cette indication les taux de succès rapportés sont similaires pour la plupart des séries aux alentours de 80 % [2,3].

Ulcères trophiques associés à une anesthésie cornéenne : la destruction de la première branche du nerf trijumeau est connue pour bloquer la libération d'un certain nombre de facteurs de croissance qui ne sont pas encore tous identifiés avec pour conséquence l'apparition d'une ulcération épithéliale [4]. Dans ce cas, l'amnios ne peut, à lui seul, apporter suffisamment de facteurs de croissance pour permettre une épithélialisation durable, d'autant plus que ce type de patient présente un clignement plus rare et que l'exposition prolongée de la MAH contribue à son élimination. Ceci explique l'efficacité de la greffe de membrane amniotique humaine (GMAH), dans seulement 76,4 % en cas d'ulcères neurotrophiques sévères [4].

Ulcères trophiques associés à une insuffisance limbique : trois modalités thérapeutiques sont décrites :

- **GMAH isolée :** Anderson *et al.* décrivent une ré-épithélialisation stable chez 17 patients ayant un syndrome de déficience limbique partielle [5]. Ils concluent que la MAH aurait des propriétés protectrices sur les cellules souches résiduelles. Cependant, ces résultats dépendent de l'importance du déficit limbique car à l'évidence l'apport de cellules limbiques est nécessaire chez ce type de patient ;
- **GMAH associée à une autogreffe limbique :** l'œil sain est prélevé à partir d'une incision cornéenne d'une profon-

deur d'environ 300 µm que l'on dissèque jusqu'à la sclère et la conjonctive. On réalise en général un prélèvement de limbe supérieur et inférieur chacun d'une largeur équivalente à deux quadrants horaires. Les deux greffons sont suturés sur l'œil pathologique, permettant en général une ré-épithélialisation en 10 à 15 jours avec une efficacité de 75 à 100 % selon les séries [6]. L'inflammation du lit receveur limitant la viabilité des cellules limbiques greffées, il a été proposé d'associer cette chirurgie à une GMAH, mais l'absence de séries comparatives n'a pas permis d'affirmer la supériorité de cette technique ;

- **GMAH associée à une greffe de cellules souches cultivées** : cette technique consiste à prélever le limbe et à le transférer sur un support tel qu'une MAH ou de la fibrine. Ce support va permettre, dans des conditions de culture bien précises, une expansion des cellules souches et sera ensuite transféré chirurgicalement. La littérature encore peu abondante relate quelques succès [7,8].

Ulcères trophiques perforés : la meilleure technique est la réalisation d'une GMAH en multicouches qui a confirmé son intérêt dans les perforations cornéennes d'origine trophique [9] ; elle est toutefois réservée aux perforations ne dépassant pas 2 mm de diamètre. Elle consiste en l'application d'une MAH de taille légèrement supérieure à celle de l'ulcère en la suturant à ses berges avec du monofilament 10/0. On remplit ensuite le fond de l'ulcère avec un autre fragment de membrane glissé sous la membrane préalablement suturée puis on reforme la chambre antérieure à l'aide d'air ou de viscoélastique.

Les séries rapportent la restauration de l'étanchéité dans 72,7 à 100 % des cas [10]. Elle permet d'éviter la réalisation d'une greffe de cornée à chaud. Une autre possibilité en cas de perforation est d'associer une GMAH à l'utilisation de colle cyanoacrylate ou de fibrine [11,12].

Ulcères des kératoconjunctivites vernoales : la GMAH a également été proposée dans cette indication avec une cicatrisation obtenue dans 7 cas sur 7 [13].

GMAH et destruction de la surface oculaire

Les principales causes de destruction de la surface oculaire sont les brûlures chimiques, les syndromes de Lyell, de Stevens-Johnson et les pemphigoïdes oculaires cicatricielles.

Il existe dans les trois premières pathologies un phénomène inflammatoire aigu majeur relativement court, générateur d'une destruction des éléments vitaux de la surface oculaire, puis une phase de cicatrisation et de séquelles. Aucun traitement médical n'est capable à ce jour de modifier cette phase inflammatoire à l'exception des corticoïdes locaux, mais on sait désormais que la GMAH peut jouer un rôle important à ce stade. Encore une

fois, lorsque la destruction de la surface oculaire est avérée et que la cornée présente un tableau classique de déficit en cellules souches épithéliales avec une néovascularisation majeure, la greffe de membrane amniotique ne peut pas reconstituer un épithélium conjonctivo-cornéen de qualité et ne peut s'envisager qu'en complément des greffes de cellules souches et d'une greffe conjonctivale.

Dans les pemphigoïdes oculaires cicatricielles, l'inflammation et la destruction de la surface oculaire évoluent par poussées sur plusieurs mois ou années pour aboutir à la destruction finale de la surface oculaire. Le rôle des immunosuppresseurs est majeur afin de limiter l'atteinte de la surface et la GMAH n'a qu'un intérêt limité.

GMAH au stade aigu des destructions de la surface oculaire (< 2 semaines) : à ce stade, les éléments vitaux de la surface oculaire ne sont pas totalement détruits, mais il règne une atmosphère inflammatoire ; il paraît donc licite de proposer une GMAH au stade précoce (avant le septième jour) pour les préserver.

GMAH au stade subaigu des destructions de la surface oculaire (3 à 6 semaines) : à ce stade, l'inflammation a diminué, l'ampleur de la destruction des cellules souches limbiques conditionne la gravité de l'altération de la surface cornéenne. Les patients présentent alors une instabilité épithéliale, un début de néovascularisation, voire une perte de transparence de la cornée. Une greffe de cornée ne peut malheureusement pas restaurer la transparence perdue car elle est immédiatement colonisée par l'épithélium pathologique avec une récurrence du pannus vasculaire et un risque de rejet.

La GMAH est à nouveau indiquée : la technique chirurgicale consiste alors à désépithélialiser la cornée pathologique puis à suturer la MAH en patch. On peut renouveler la résection de la conjonctive pathologique et utiliser une MAH pour la restaurer [14].

Cette technique permet à ce stade une épithélialisation satisfaisante et une restauration de la transparence cornéenne dans 37 % des cas permettant de surseoir à la kératoplastie.

GMAH au stade séquellaire des destructions de la surface oculaire (> 6 semaines) : les patients présentent un tableau de néovascularisation de la cornée soit localisée en périphérie, soit allant jusqu'au centre de la cornée. Dans certains cas, il existe également une ulcération persistante ne cicatrisant pas spontanément. On distingue deux situations :

- **insuffisance limbique partielle** : la MAH a un effet bénéfique sur les cellules souches encore viables à la surface de la cornée et peut donc être proposée sans apport de cellules souches limbiques ;

- *insuffisance limbique complète* : dans ce cas, le limbe doit être reconstitué et il s'agit des ulcères associés à une insuffisance limbique vus plus haut.

Reconstruction conjonctivale

Chirurgie du ptérygion : la MAH humaine peut être une alternative à l'autogreffe conjonctivale [15], mais elle ne doit être utilisée dans cette indication que dans le cas de défauts importants car elle expose à des risques plus élevés de récurrence.

Chirurgie des tumeurs : lorsque les chirurgiens ont à réaliser des résections cornéo-conjonctivales étendues, en particulier dans le cas de lésions étendues, récidivantes ou préalablement irradiées où la conjonctive autologue est altérée, la MAH est d'une aide précieuse.

Chirurgie et prévention des symblépharons : en particulier dans le cas de brûlures oculaires [16].

Chirurgie du glaucome : en particulier pour palier des fuites de bulles de filtration ou pour recouvrir des valves dans les cas de glaucomes complexes [17].

Chirurgie orbitaire

Quelques publications montrent l'intérêt de la MAH pour reconstruire la cavité orbitaire lorsque la conjonctive cicatrise difficilement ou se contracte, rendant l'équipement prothétique difficile.

Limites à l'utilisation des MAH

Il y a eu un engouement pour l'utilisation de la MAH en ophtalmologie avec un nombre considérable de publications, mais il n'existe à ce jour que 27 études contrôlées randomisées : la plupart des publications sont donc d'une valeur statistique modeste et dans certaines indications comme le glaucome ou la cure de ptérygion, on a pu constater avec stupéfaction que la MAH était moins efficace que la procédure conventionnelle et qu'elle devait donc être réservée aux complications.

Le mode d'action exact des MAH reste controversé : l'effet biologique semble primer sur l'effet mécanique car l'administration sous forme de broyat permet une ré-épithélialisation aussi efficace que l'utilisation chirurgicale. Il est délicat d'affirmer avec exactitude les acteurs biologiques impliqués dans la mesure où la MAH délivre des facteurs mais aussi leur antagoniste : des substances anti-inflammatoires – IL-1 et IL-10 –, et des substances pro-inflammatoires, des métalloprotéinases de la matrice extra-cellulaire et des inhibiteurs tissulaires de ces dernières.

Enfin, le terme, l'âge maternel, les antécédents maternels, le travail, le mode de confection et de conservation,

influent sur la qualité de la MAH et les agents biologiques délivrés ; or il n'existe aucun consensus à ce sujet.

La création d'une membrane synthétique chargée en facteurs de croissance, cytokines et peptides anti-infectieux de manière calibrée et reproductible est une voie d'étude qui permettrait de palier ces insuffisances. Les premières publications sur les membranes amniotiques synthétiques issues de l'ingénierie tissulaire voient d'ailleurs déjà le jour [18], faisant naître des espoirs tant pour le traitement des ruptures prématurées des membranes fœtales que pour celui des ulcérations ophtalmologiques résistantes au traitement conventionnel.

Bibliographie

1. Resch MD *et al.* Integration patterns of cryopreserved amniotic membranes into the human cornea. *Ophthalmology* 2006;113:1927-35.
2. Kruse FE, Rohrschneider K, Volcker HE. Multilayer amniotic membrane transplantation for reconstruction of deep corneal ulcers. *Ophthalmology* 1999;106:1504-10; discussion 11.
3. Lee SH, Tseng SC. Amniotic membrane transplantation for persistent epithelial defects with ulceration. *Am J Ophthalmol* 1997;123:303-12.
4. Chen HJ, Pires RT, Tseng SC. Amniotic membrane transplantation for severe neurotrophic corneal ulcers. *Br J Ophthalmol* 2000;84:826-33.
5. Anderson DF *et al.* Amniotic membrane transplantation for partial limbal stem cell deficiency. *Br J Ophthalmol* 2001;85:567-75.
6. Kenyon KR, Tseng SC. Limbal autograft transplantation for ocular surface disorders. *Ophthalmology* 1989;96:709-22; discussion 22-3.
7. Tsai RJ, Li LM, Chen JK. Reconstruction of damaged corneas by transplantation of autologous limbal epithelial cells. *N Engl J Med* 2000;343:86-93.
8. Rama P *et al.* Autologous fibrin-cultured limbal stem cells permanently restore the corneal surface of patients with total limbal stem cell deficiency. *Transplantation* 2001;72:1478-85.
9. Prabhasawat P, Tesavibul N, Komolsuradej W. Single and multilayer amniotic membrane transplantation for persistent corneal epithelial defect with and without stromal thinning and perforation. *Br J Ophthalmol* 2001;85:1455-63.
10. Vasseneix C *et al.* [Surgical management of nontraumatic corneal perforations: an 8-year retrospective study]. *J Fr Ophtalmol* 2006;29:751-62.
11. Su CY, Lin CP. Combined use of an amniotic membrane and tissue adhesive in treating corneal perforation: a case report. *Ophthalmic Surg Lasers* 2000;31:151-4.
12. Duchesne B, Tahi H, Galand A. Use of human fibrin glue and amniotic membrane transplant in corneal perforation. *Cornea* 2001;20:230-2.
13. Sridhar MS *et al.* Amniotic membrane transplantation in the management of shield ulcers of vernal keratoconjunctivitis. *Ophthalmology* 2001;108:1218-22.
14. Muraine M *et al.* [Advantages of amniotic membrane transplantation in eye surface diseases]. *J Fr Ophtalmol* 2006;29:1070-83.
15. Prabhasawat P *et al.* Comparison of conjunctival autografts, amniotic membrane grafts, and primary closure for pterygium excision. *Ophthalmology* 1997;104:974-85.
16. Solomon A, Espana EM, Tseng SC. Amniotic membrane transplantation for reconstruction of the conjunctival fornices. *Ophthalmology* 2003;110:93-100.
17. Fujishima H *et al.* Trabeculectomy with the use of amniotic membrane for uncontrollable glaucoma. *Ophthalmic Surg Lasers* 1998;29:428-31.
18. Mi S *et al.* Tissue engineering a fetal membrane. *Tissue Eng Part A* 2011.