



**UNIVERSITE DU DROIT ET DE LA SANTE – LILLE 2
FACULTE DE MEDECINE HENRI WAREMBOURG**

Année : 2015

**THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN MÉDECINE**

**Efficacité à 1 an du protocole accéléré de cross-linking versus
cross-linking conventionnel dans le traitement du kératocône
évolutif : à propos de 64 cas traités au CHRU de Lille**

Présentée et soutenue publiquement le mercredi 25 Novembre 2015 à
18h00

au Pôle Recherche
Par Anaïs RUPIN

JURY

Président :

Monsieur le Professeur JF. ROULAND

Assesseurs :

Monsieur le Professeur P. LABALETTE

Monsieur le Professeur CA. MAURAGE

Madame le Docteur F. ERNOULD

Directrice de Thèse :

Madame le Docteur F. ERNOULD

Avertissement

**La Faculté n'entend donner aucune approbation
aux opinions émises dans les thèses :
celles-ci sont propres à leurs auteurs.**

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS	3
SOMMAIRE	9
LISTE DES ABREVIATIONS	11
RESUME	12
INTRODUCTION	13
ETAT DES CONNAISSANCES	15
I. LE KERATOCONE	15
A. Définition	15
B. Epidémiologie	15
1. Rôle de l'hérédité et des facteurs environnementaux	16
2. Maladies associées	17
C. Anatomie de la cornée, histopathologie et physiopathologie du kératocône	17
1. Anatomie de la cornée	17
2. Histopathologie du kératocône	20
3. Physiopathologie du kératocône	21
D. Diagnostic	24
1. Circonstances de découverte	24
2. Examen clinique	24
3. Examens paracliniques	28
4. Les différentes classifications du kératocône	31
5. Evolution du kératocône	34
E. Diagnostic différentiel	35
1. Corneal warpage	35
2. Ectasie cornéenne post-LASIK	36
3. Dégenescence marginale pellucide	36
4. Kératoglobe	37
G. Prise en charge du kératocône	37
1. Correction optique	37
2. Chirurgie du kératocône	38
II. CROSS-LINKING DU COLLAGENE CORNEEN	42
A. Principes généraux	42
B. But du cross-linking dans le kératocône	42
C. Biochimie du cross-linking	43
D. Matériel	44
1. La riboflavine	44
2. Les UV-A	47
E. Les différents protocoles de cross-linking	48
1. Préparation du patient	48
2. Le protocole standard ou classique	49
3. Le protocole accéléré	50
4. Le protocole trans-épithélial	52
5. Le protocole iontophorèse	53
F. Les effets du cross-linking	53

1. In vitro.....	53
2. Chez l'homme.....	54
G. <i>Complications du cross-linking</i>	55
1. Haze cornéen	55
2. Infections cornéennes.....	56
3. Atteinte endothéliale	56
4. Cicatrices stromales.....	56
5. Nécrose stromale.....	56
6. Echec du traitement.....	57
H. <i>Indications du cross-linking</i>	57
I. <i>Autres applications du cross-linking</i>	58
MATERIELS ET METHODES	59
I. OBJECTIFS	59
II. LES SUJETS.....	60
A. <i>Critères d'inclusion</i>	60
B. <i>Critères d'exclusion</i>	60
C. <i>Critères de non inclusion</i> :.....	61
III. LA METHODE	62
A. <i>Déroulement de l'intervention</i>	62
B. <i>Suivi</i>	63
C. <i>Critère de jugement principal</i>	64
D. <i>Critères secondaires</i>	64
IV. ANALYSE DES DONNEES.....	65
RESULTATS.....	66
I. CARACTERISTIQUES DES GROUPES	66
A. <i>Descriptif général de la population</i> :	66
B. <i>Comparabilité initiale des groupes</i> :	66
II. EFFICACITE DU TRAITEMENT	68
III. EVOLUTION DU K MAX AU COURS DU TEMPS.....	69
IV. EVOLUTION FONCTIONNELLE : ACUITE VISUELLE	71
V. EVOLUTION DE LA KERATOMETRIE SIMULEE	72
VI. EVOLUTION DE LA PACHYMETRIE MESUREE PAR ULTRASONS	74
VII. LE COMPTAGE DES CELLULES ENDOTHELIALES	74
VIII. ANALYSE DES MODIFICATIONS EN MICROSCOPIE CONFOCALE	76
A. <i>Au niveau du stroma antérieur</i>	76
B. <i>Au niveau du stroma postérieur</i>	78
IX. LIGNE DE DEMARCATION A L'OCT	79
X. COMPLICATIONS.....	80
A. <i>Haze</i>	80
B. <i>Douleur</i>	80
C. <i>Autres</i>	81
DISCUSSION.....	82
CONCLUSION.....	87
REFERENCES.....	88

LISTE DES ABREVIATIONS

A1 : 1 an
AV : acuité visuelle
CE : comptage endothélial
CHRU : Centre Hospitalier Régional Universitaire
D : dioptries
DMP : dégénérescence marginale pellucide
et al. : et autres
HRT : Heidelberg Retinal Tomograph
J0 : pré-opératoire
KLAP : kératoplastie lamellaire antérieure profonde
Kmax : kératométrie maximale centrale
LASIK : Laser-Assisted In-Situ Keratomileusis
MAVC : meilleure acuité visuelle corrigée
M3 : 3 mois
M6 : 6 mois
 μm : micromètres
min : minutes
OCT : tomographie à cohérence optique
RCM : Rostock Cornea Modulus
SimK : Kératométrie simulée
UV-A : ultraviolets - A
XL : cross-linking
XLA : cross-linking accéléré
XLC : cross-linking classique

RESUME

TITRE : Efficacité à 1 an du protocole accéléré de cross-linking versus cross-linking conventionnel dans le traitement du kératocône évolutif : à propos de 64 cas traités au CHRU de Lille.

OBJECTIF : L'objectif de l'étude était de rechercher si le traitement du kératocône évolutif par cross-linking accéléré était aussi efficace et sûr que le protocole standard.

METHODE : Il s'agissait d'une étude comparative rétrospective de patients atteints de kératocônes évolutifs, traités par cross-linking conventionnel (XLC, 3mW/cm², 30 min) entre Février 2010 et Avril 2014 et par cross-linking accéléré (XLA, 10mW/cm², 9 min) entre Avril 2014 et Septembre 2014, au CHRU de Lille. Nous avons étudié les variations de l'acuité visuelle (AV), de la kératométrie maximale (Kmax), de la kératométrie simulée (SimK), de la pachymétrie et du comptage endothélial. La durée du haze et de la douleur post-opératoire était relevée. La ligne de démarcation à l'OCT était mesurée à un mois chez les patients ayant eu un cross-linking accéléré.

RESULTATS : Nous avons inclus 64 yeux de 58 patients. 32 « cas » traités par cross-linking accéléré et 32 « témoins » traités par cross-linking conventionnel. L'AV était stable dans les deux groupes. Le Kmax diminuait significativement quel que soit le groupe (XLC p=0,01; XLA p=0,02). Il n'y avait pas de différence significative entre les groupes sur le Kmax (p=0,21). Le SimK, la pachymétrie et le comptage endothélial étaient stables à un an dans les deux groupes, sans différence significative entre les groupes. Le haze post-opératoire durait significativement plus longtemps dans le groupe conventionnel que dans le groupe accéléré (p=0,013). La ligne de démarcation était mesurée en moyenne à 203,5 ± 44,5 µm à l'OCT dans le groupe accéléré.

CONCLUSION : Les protocoles conventionnel et accéléré étaient efficaces pour stabiliser la progression du kératocône à un an. Le protocole accéléré semblait raccourcir les effets secondaires de type haze cornéen.

INTRODUCTION

Le kératocône est caractérisé par une instabilité et un amincissement du stroma cornéen qui conduit à un astigmatisme irrégulier progressif, des aberrations optiques et des cicatrices cornéennes à un stade tardif, entraînant une baisse d'acuité visuelle (AV).

La technique de cross-linking (XL) du collagène cornéen a d'abord été développée à l'Université de Dresden en 1998 (1) et son utilisation pour le traitement du kératocône a été rapportée pour la première fois par l'équipe de Wollensak en 2003 (2). Le cross-linking permet, en associant imprégnation cornéenne de vitamine B2 et irradiation par ultra-violet A (UV-A), d'augmenter les liaisons entre les fibres de collagène du stroma cornéen, ce qui induit une rigidification de la cornée et permet ainsi une stabilisation de l'ectasie cornéenne. Un des inconvénients de ce traitement est la durée importante de l'intervention. Pour pallier à ce problème, des protocoles accélérés de cross-linking (cross-linking accéléré ; XLA) ont émergé. Le principe est d'augmenter l'intensité d'irradiation des UV-A et de raccourcir le temps d'exposition, sans modifier l'énergie totale délivrée.

Une étude ex vivo sur des cornées de porc a rapporté une rigidification cornéenne comparable pour un cross-linking conventionnel (XLC) et un XLA (3). Une autre étude ex vivo sur des cornées humaines montrait un effet similaire des deux protocoles (4). Une étude ayant testé sur des yeux de porc différentes durées et puissances d'irradiation des UV-A avec une énergie totale délivrée identique, a montré qu'à partir d'un niveau d'irradiation de 45 mW/cm² avec une durée d'irradiation très courte (2 minutes), l'efficacité diminuait franchement (5).

Des études cliniques préliminaires non comparatives utilisant différents protocoles accélérés semblaient montrer une efficacité et une sécurité du XLA (6–12).

Depuis 2012, plusieurs études cliniques ont comparé XLA et XLC mais avec des protocoles de XLA très variables (13–20) . De plus, certaines études avaient un suivi court (inférieur à un an) et un nombre de patients limité.

L'objectif de notre étude était de comparer l'efficacité et les effets secondaires du cross-linking conventionnel (3mW/cm², 30 min) réalisé au CHRU de Lille jusqu'en Avril 2014, et d'un protocole accéléré de cross-linking (10mW/cm², 9 min) réalisé depuis Avril 2014, dans le traitement du kératocône évolutif, avec un suivi d'un an.

ETAT DES CONNAISSANCES

I. LE KERATOCONE

A. Définition

Le kératocône est une dystrophie cornéenne caractérisée par un amincissement et un bombement non inflammatoire de la cornée. Elle touche les deux tiers centraux de la cornée et le plus souvent la partie inférieure, juste sous l'axe visuel (21), entraînant une baisse d'acuité visuelle plus ou moins profonde.

En général les deux yeux sont atteints. La surveillance de la progression de la maladie doit donc être bilatérale, celle-ci pouvant être différente aux deux yeux.

B. Epidémiologie

L'incidence du kératocône est estimée entre 50 et 230 pour 100000 habitants (21). Sa prévalence est d'environ 54,5 pour 100000 personnes dans la population caucasienne, soit environ 1/2000 (22), mais augmente à 229 pour 100000 habitants chez les asiatiques.

Le kératocône est habituellement bilatéral mais l'asymétrie de l'atteinte est fréquente. Des formes unilatérales ont été rapportées (23), mais les nouvelles techniques d'examen (vidéotopographie) permettent de détecter les formes frustes, ramenant de ce fait les véritables formes unilatérales à un taux assez bas (24).

Cette pathologie débute classiquement à la puberté et évolue sur une période allant de 10 à 20 ans. Cependant l'âge de survenue est variable et difficile à définir avec précision. La progression de la maladie est elle aussi variable. Sur une série de

286 yeux, Amsler note une progression maximale entre 10 et 20 ans, ralentie entre 20 et 30 ans et rare après 30 ans (25).

La progression va cesser de façon naturelle mais, l'arrêt de l'évolution pourra se faire à n'importe quel stade de la maladie : soit à un stade modéré avec léger astigmatisme irrégulier ou à un stade avancé avec amincissement marqué et opacités cornéennes.

D'après plusieurs études, plus le début de la maladie est précoce, plus l'évolution est rapide (26–28).

1. Rôle de l'hérédité et des facteurs environnementaux

Le kératocône est une maladie sporadique dans la majorité des cas, qui touche de façon égale les deux sexes. Cependant une minorité de patients a des antécédents familiaux. Dans ce cas, la transmission se fait selon un mode autosomique dominant à pénétrance variable ou autosomique récessif (29,30). Les formes familiales de kératocône sont estimées à 10% mais pourraient être sous-estimées. En effet, plusieurs études évoquent l'existence de formes frustes asymptomatiques parmi les apparentés de patients porteurs de kératocône (31–34). Ces formes frustes pourraient correspondre à des kératocônes d'expressivité faible. Le risque relatif d'être atteint d'un kératocône serait ainsi 15 à 67 fois supérieur chez les apparentés de premier degré, par rapport à la population générale (35).

Les facteurs environnementaux tels que le frottement oculaire et l'atopie sont souvent rapportés.

Les zones géographiques chaudes à haut degré d'ensoleillement ont une prévalence plus grande de la maladie.

L'approche actuelle évoque une étiologie complexe du kératocône associant facteurs génétiques et environnementaux. En plus de la susceptibilité génétique, un cofacteur environnemental pourrait être nécessaire à l'apparition des symptômes cliniques de la maladie. Cependant à l'heure actuelle aucune donnée ne permet d'affirmer cette hypothèse.

2. Maladies associées

Le kératocône est fréquemment associé à la trisomie 21, l'amaurose congénitale de Leber, le prolapsus de la valve mitrale, les maladies du collagène tels que la maladie d'Elher Danlos, la maladie de Marfan, l'ostéogenèse imparfaite.

Il est malgré tout difficile d'établir un lien direct entre ces pathologies et le kératocône.

C. Anatomie de la cornée, histopathologie et physiopathologie du kératocône

1. Anatomie de la cornée

La cornée est une structure transparente, avasculaire, formant la partie antérieure de l'œil. Elle est responsable des deux tiers du pouvoir réfractif de l'œil, le tiers restant étant assuré par le cristallin. Ses propriétés optiques dépendent de sa forme, de sa courbure, de sa transparence et de sa régularité. Elle est constituée de trois couches de cellules et de deux membranes. D'avant en arrière : l'épithélium, la couche de Bowman, le stroma, la membrane de Descemet, l'endothélium.

L'**épithélium cornéen** est la couche la plus superficielle de la cornée. Il est en continuité avec l'épithélium conjonctival. Son épaisseur est de 30 à 50 μm . Il s'agit d'un épithélium pavimenteux non kératinisé, constitué de trois types de cellules réparties en cinq à sept couches au centre et huit à dix en périphérie.

Les cellules superficielles sont les cellules les plus différenciées. Elles sont liées entre elles par des jonctions qui disparaissent pour permettre la desquamation. Les desmosomes situés sur les faces latérales assurent la cohésion entre les cellules. Les « tight » jonctions empêchent le passage trans-épithélial des molécules. Les « gap » jonctions facilitent les échanges intercellulaires.

Les cellules intermédiaires sont les cellules de transition entre les cellules basales et les cellules superficielles. Elles sont reliées entre elles par des desmosomes et des gap jonctions.

Les cellules basales sont de forme cubique et forment une couche cellulaire unique. Cette couche repose directement sur une lame basale et est accrochée très fortement au stroma par des hémidesmosomes.

La membrane basale est synthétisée par les cellules épithéliales. Elle sépare l'épithélium de la membrane de Bowman.

L'épithélium a un rôle de barrière et facilite la dispersion du film lacrymal à la surface de la cornée.

Le renouvellement cellulaire épithélial se fait par le biais des cellules souches de l'épithélium, situées au niveau du limbe en périphérie de la cornée. Ce renouvellement est centripète. Un second mécanisme de renouvellement prend le relais, de la base de l'épithélium vers le haut : la couche de cellules basales produit des cellules intermédiaires pavimenteuses, puis des cellules plates superficielles qui desquament dans le film lacrymal.

La **couche de Bowman** sépare l'épithélium du stroma cornéen. Elle mesure 8 à 14 μm d'épaisseur. Elle est synthétisée au 4^{ème} mois de la vie embryonnaire, probablement par les cellules basales épithéliales. Elle ne se renouvelle jamais et par conséquent toute lésion de celle-ci est définitive et entraîne une cicatrice. Elle est acellulaire et constituée de fibres de collagène (V, VI et VII) réparties dans la substance fondamentale. La substance fondamentale est composée de mucoprotéines.

Le **stroma** est la couche la plus épaisse de la cornée et mesure environ 500 μm d'épaisseur (90% de l'épaisseur cornéenne totale). Il est composé de cellules, les kératocytes, et d'une matrice extracellulaire (substance fondamentale) contenant des protéoglycanes et des lamelles de collagène.

Les fibrilles de collagène principales sont de type I, III et V. Leur association forme des fibres de diamètre constant (35nm) et d'espacement constant (59nm), groupées en lamelles parallèles à la surface cornéenne. Cette organisation spécifique permet d'assurer la transparence cornéenne. D'autres types de

collagènes sont présents et permettent d'assurer le maintien de l'espacement régulier.

La substance fondamentale occupe l'espace entre les lamelles de collagène et permet d'assurer leur agencement strict, indispensable à la transparence cornéenne. Elle est essentiellement composée d'eau et de mucopolysaccharides.

Les kératocytes sont des cellules plates, étoilées, parallèles aux lamelles de collagène. Elles ont de longues expansions qui les relient entre elles par des « gap » jonctions et des « tight » jonctions. Elles occupent 2 à 3 % du volume du stroma total. Leur fonction est de synthétiser la matrice extracellulaire. Elles peuvent se différencier en fibroblaste pour aider à la cicatrisation, par exemple après un traumatisme oculaire.

La **couche de Dua** est une couche pré-descemetique découverte récemment (36) grâce à la technique de clivage cornéen (« big bubble ») utilisée dans les kératoplasties lamellaires profondes. Il s'agit d'une couche acellulaire, résistante, de 10 μm , composée de 5 à 8 lamelles de collagène de type 1.

La **membrane de Descemet** correspond à la lame basale de l'endothélium. Elle mesure 10 à 12 μm d'épaisseur.

Elle est formée de deux feuillets : un feuillet antérieur au contact du stroma (constitué de collagène VIII) et un feuillet postérieur au contact de l'endothélium (constitué de collagène IV).

Cette membrane acellulaire constituée de collagène IV et VIII contient également de la fibronectine, de la laminine et des protéoglycanes.

Elle est synthétisée par les cellules endothéliales et s'épaissit avec l'âge.

L'**endothélium** cornéen est la couche la plus profonde de la cornée. Il s'agit d'une mono-couche cellulaire de 5-6 μm de hauteur, constituée de cellules hexagonales organisées en « nid d'abeille ». Ces cellules ne se régénèrent pas. La densité cellulaire est d'environ 3500 cellules/mm².

Le rôle principal des cellules endothéliales cornéennes est de pomper par transport actif l'eau en excès du stroma vers l'humeur aqueuse, afin de maintenir une hydratation constante du stroma, compatible avec le rôle physiologique principal de la cornée: la transmission de la lumière. En dessous d'une certaine densité (entre

600 et 800 cellules/mm²), il est admis que le nombre de cellules endothéliales est insuffisant pour assurer un transfert d'eau efficace et l'œdème stromal apparaît.

2. Histopathologie du kératocône

Dans le kératocône, toutes les couches de la cornée peuvent être atteintes selon l'avancement de la pathologie (21,22).

La triade histologique classiquement décrite est : un amincissement du stroma, des ruptures de la membrane de Bowman et des dépôts de ferritine épithéliaux (Figure 1).

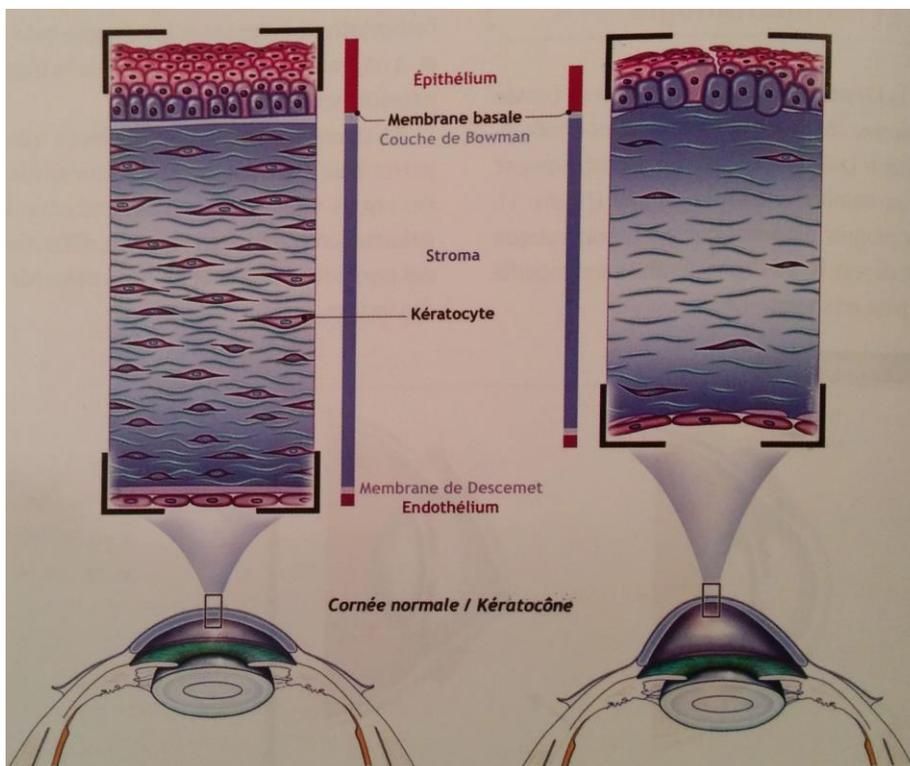


Figure 1 : Schéma histologique. Au sommet du cône, la couche de Bowman est interrompue et le stroma est aminci. F. Malecaze, Jeannine Narduzzi, Florence Malet. Rapport de la SFOALC 2015 : Le kératocône en 2015. Med-Line Editions. (37)

L'**épithélium** est aminci à l'apex du cône et le nombre d'assises cellulaires est diminué. De plus, une dégénérescence précoce des cellules basales (38) entraîne des zones de rupture dans la membrane basale épithéliale.

Ces zones de rupture ainsi que les interruptions de la **membrane de Bowman** sont alors comblées par des cellules épithéliales ou du tissu conjonctif fibreux cicatriciel.

Des dépôts de ferritine se forment dans et entre les cellules basales épithéliales à la base du cône, c'est l'anneau de Fleisher (39).

Le **stroma** présente une diminution du nombre de lamelles de collagène ainsi qu'une désorganisation spatiale. Par contre il n'existe pas de modification des fibres de collagène au sein des lamelles (40). Le nombre de kératocytes est diminué, surtout au niveau du stroma antérieur (41). Il existe un épaissement des fibres nerveuses, qui sont en densité inférieure par rapport à une cornée saine (42).

La **membrane de Descemet** et l'**endothélium** sont longtemps conservés mais à un stade très avancé, des plis ou ruptures de la membrane de Descemet peuvent apparaître. De plus, il peut exister un pléiomorphisme et un polymégathisme des cellules endothéliales, surtout en regard de l'apex.

3. Physiopathologie du kératocône

Le frottement des paupières et l'allergie sont les seuls facteurs reconnus pouvant déclencher ou aggraver un kératocône mais sa physiopathologie est à ce jour inconnue. Les études fondamentales qui tentent d'élucider la physiopathologie du kératocône suivent 4 approches : morphologique, biochimique, moléculaire («  miquie ») et animale.

L'approche morphologique, utilisant la diffraction des rayons X, montre un déroulement particulier des fibres de collagène de type I, III et V dans le stroma et un glissement des lamelles entre elles (43). Une autre hypothèse, est celle d'une insertion des faisceaux de collagène dans la membrane de Bowman (44).

L'approche biochimique analyse les protéines « candidates » qui ont un rôle physiologique important dans la cornée. Une hypothèse émise est celle d'un amincissement stromal par perte des constituants structurels : diminution d'expression du collagène de type XIII (45), XV, XVIII (46) et des protéoglycanes (47). Une autre hypothèse évoque un amincissement stromal par dégradation excessive du stroma par les enzymes protéolytiques. Une augmentation des protéases et des enzymes cataboliques (48) serait en cause ainsi qu'une diminution des inhibiteurs de protéases (49,50). Dans une étude de 2009, des taux d'IL6 et de TNF α ont été retrouvés augmentés dans les larmes de patients atteints de formes précoces de kératocône (51) suggérant que cette maladie pourrait être liée à des événements inflammatoires chroniques et contredisant l'origine non-inflammatoire du kératocône. Pour le moment, aucune de ces études n'a clairement établi la physiopathologie de la maladie.

L'approche moléculaire « omique » est plus récente et compare des cornées atteintes de kératocône à des cornées saines au niveau de l'ADN (génomique), de l'ARN (transcriptomique) ou de la protéine (protéomique). Au plan génomique l'approche par l'étude des gènes candidats a recherché des variants génétiques (mutation, Single Nucleotide Polymorphism...) dans les gènes codant pour des protéines impliquées dans les cornées atteintes. Des mutations de gènes codant pour des protéines de la voie de l'interleukine 1, des protéases ou de leurs inhibiteurs ainsi que des collagènes ont été recherchés sans succès. Une seule étude de gène candidat a permis d'identifier le gène VSX1 codant pour un facteur de transcription, mais il ne serait impliqué que dans 0,1 à 0,4% des kératocônes familiaux (52). D'autres études d'analyse de liaison génétique ont permis d'identifier une dizaine de régions de l'ADN candidates, mais seules 2 ou 3 régions ont été retrouvées par plusieurs équipes comme pouvant être impliquées dans la physiopathologie du kératocône. La très forte hétérogénéité génétique du kératocône rend cette approche inadéquate et les études récentes se sont tournées vers les nouvelles techniques de séquençage à haut débit du génome (genome-wide association studies, GWAS). Elles consistent à réaliser des études d'association en comparant la fréquence de milliers de variants génétiques distribués sur l'ensemble des chromosomes ou de comparer des phénotypes intermédiaires. Une région associant l'amincissement central cornéen et le kératocône a été identifiée (53), dans

laquelle des variants du gène ZNF469 ont été retrouvés dans plusieurs cohortes indépendantes (54). Cependant, une étude récente Chinoise qui évalue l'association entre le kératocône et des loci génétiques rapportés dans des populations caucasiennes, ne retrouve qu'un seul SNP (Single Nucleotide Polymorphism) en commun avec la population chinoise Han, montrant l'hétérogénéité génétique des patients atteints de kératocône dans la population mondiale (55).

L'étude des ARN montre que le kératocône pourrait être lié à une dérégulation des voies de prolifération et de différenciation cellulaire (56). En ce qui concerne les protéines, certaines auraient une expression différente au niveau épithélial et stromal (57) chez les patients atteints, notamment les protéines composant la matrice, les cytokératines ... Globalement il existerait un déséquilibre structurel cornéen associé à un stress métabolique ainsi qu'un déséquilibre dans la balance apoptose/prolifération.

La dernière approche est celle consistant au développement de modèles animaux de kératocône. Un modèle murin a montré des homologues intéressantes (cornée conique, amincissement) mais aussi des éléments distincts (dépendance au sexe, induction chez les femelles, amincissement aléatoire, opacité) avec le kératocône humain (58). Des souris invalidées pour l'expression du gène codant pour l'intégrine 1 beta ont montré quelques anomalies semblables à celles du kératocône (amincissement épithélial) (59).

Globalement, la physiopathologie du kératocône reste inconnue mais les différentes études commencent à faire ressortir les grandes voies de signalisation affectées. Il reste encore beaucoup de travail à fournir pour bien comprendre le développement de cette maladie.

D. Diagnostic

1. Circonstances de découverte

Le kératocône peut être diagnostiqué lors d'une consultation, motivée par l'existence de signes fonctionnels secondaires à un astigmatisme myopique irrégulier évolutif. En général, les signes fonctionnels sont peu spécifiques. Les plus fréquents sont l'existence d'un flou visuel, d'une photophobie, d'un brouillard, d'une baisse d'acuité visuelle progressive prédominant de loin, d'une diplopie monoculaire ou d'une irritation persistante.

La découverte du kératocône peut aussi se faire lors d'une consultation systématique pour prescription de lunettes ou de lentilles, ou encore lors d'un bilan pré-opératoire de chirurgie réfractive par l'examen vidéotopographique (formes frustes ou débutantes).

2. Examen clinique

Lorsque le diagnostic de kératocône est suspecté, l'interrogatoire doit rechercher des facteurs favorisants ou des pathologies associées comme l'atopie.

Il faudra rechercher des antécédents familiaux de kératocône, retrouvés dans 6 à 8% des cas.

La recherche de facteurs mécaniques comme les frottements oculaires est nécessaire. Ils peuvent être liés à une conjonctivite atopique, une compression oculaire en décubitus dorsal secondaire au floppy eyelid syndrome, ou dans le cadre d'une trisomie 21.

Les signes cliniques dépendent du stade du kératocône. Trois signes très caractéristiques sont présents à des degrés variables de la maladie et sont à rechercher : un astigmatisme irrégulier, un amincissement cornéen avec cornée en forme de cône et des opacités cornéennes au sommet du cône.

L'acuité visuelle est souvent normale au début de la maladie, puis diminue progressivement par astigmatisme irrégulier et myopie induite par l'amincissement

cornéen. La déformation cornéenne entraîne une diffraction des rayons lumineux qui induit une déformation des images (37). Plus tardivement, l'apparition d'une opacification cornéenne peut contribuer à la baisse d'acuité visuelle.

L'examen biomicroscopique en fente fine à 30° permet de déceler un amincissement cornéen stromal central ou paracentral, souvent inférieur ou inféro-temporal, avec une saillie conique qui déforme la fente lumineuse (Figure 2).



Figure 2 : kératocône (CHRU Lille)

Des opacités cornéennes peuvent être visibles à un stade avancé. Leur fréquence augmente avec la sévérité du kératocône et témoigne de son caractère évolutif. Des lignes cicatricielles superficielles peuvent être visibles dans le stroma antérieur au sommet du cône. Elles ont un aspect réticulaire et correspondent à des ruptures de la membrane de Bowman comblées par du tissu cicatriciel. Des cicatrices profondes peuvent également être présentes, correspondant à des ruptures de la membrane de Descemet.

L'anneau de Fleisher est un anneau pouvant être complet ou partiel, de coloration brune, situé à la base du cône et correspondant à de la ferritine provenant des larmes, déposée dans l'épithélium cornéen (Figure 3). Il est plus visible en lumière bleue et si la pupille est dilatée. Cet anneau évolue avec l'ectasie cornéenne et tend à devenir complet.



Figure 3 : anneau de Fleisher (CHRU Lille)

Les nerfs cornéens sont anormalement visibles, mais cet élément clinique est plutôt fréquent et non spécifique.

Les stries de Vogt sont un autre signe inconstant mais caractéristique. Il s'agit de lignes de contrainte, fines, alignées le long du méridien de plus grande courbure (Figure 4). Elles sont liées à une compression de la membrane de Descemet et disparaissent à la pression externe du globe. Elles sont plus visibles avec lentilles rigides par grossissement dû au ménisque de larmes.



Figure 4 : stries de Vogt (CHRU Lille)

Le signe de Munson est important à rechercher car caractéristique (Figure 5). Il s'agit d'une déformation en forme de V de la paupière inférieure dans le regard en bas. Le signe de Rizzutti peut également être recherché. Il consiste à regarder le

limbe nasal lors de l'illumination par un rayon lumineux du côté temporal de l'œil. En cas de kératocône, il existe un étroit pinceau lumineux focalisé sur le limbe nasal au lieu d'une réflexion régulière.



Figure 5 : signe de Munson (CHRU Lille)

Un kératocône aigu ou hydrops cornéen peut apparaître dans les formes évoluées (Figure 6). Il s'agit d'une rupture aigüe de la membrane de Descemet provoquant une irruption d'humeur aqueuse dans la cornée, avec œdème épithélial et stromal brutal et apparition d'une opacité profonde diffuse.

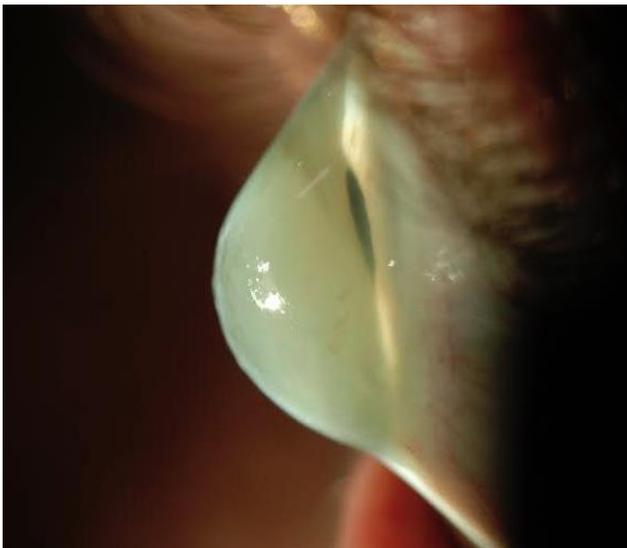


Figure 6 : Hydrops cornéen (CHRU Lille)

3. Examens paracliniques

Ils permettent de confirmer le diagnostic de kératocône et de préciser la localisation et le stade de la maladie.

Les patients ne doivent pas porter de lentilles de contact au moins 72h avant la réalisation des examens sinon ceux-ci ne sont pas interprétables.

La **pachymétrie ultrasonore** est réalisée de façon manuelle et permet de mesurer l'épaisseur cornéenne centrale et de la comparer à l'épaisseur cornéenne périphérique. Elle oriente vers le niveau de sévérité de la maladie. Elle est très importante pour le choix du traitement par cross-linking.

La **kératométrie** met en évidence une myopisation et un astigmatisme irrégulier d'importance variable. Une différence entre les deux yeux est à rechercher.

La **vidéotopographie** est l'examen clé, incontournable pour le diagnostic et la surveillance du kératocône. Il est aussi essentiel pour détecter les kératocônes frustes, notamment dans le bilan préopératoire de chirurgie de myopie.

Il existe deux types de topographie cornéenne :

- La topographie spéculaire, basée sur le disque de placido. Elle permet une cartographie de la courbure cornéenne en fonction de la distance mesurée entre les mires circulaires concentriques du disque de placido projetées sur la cornée. Les formes suspectes de kératocône sont alors : un bombement cornéen inférieur, une asymétrie entre les deux héli-méridiens, une angulation des deux héli-méridiens supérieure à 21° (34), une asymétrie associée à une angulation des deux héli-méridiens.

Rabinowitz et McDonnel ont été les premiers à développer une méthode numérique de détection du kératocône de manière systématisée (31). Cette méthode se base sur les trois critères de Rabinowitz :

- Asymétrie cornéenne supérieure à 1,5 dioptries (D) (calculée par l'indice I-S c'est à dire la différence de puissance entre la zone supérieure et inférieure de la région paracentrale de la cornée sur un cercle de 3 mm)
- Puissance cornéenne centrale supérieure à 47 D (kératométrie maximale, Kmax)

- Asymétrie de kératométrie centrale supérieure à 1D entre les deux yeux

De nombreux autres critères ont été développés par la suite pour discriminer topographie normale et kératocône.

- La topographie d'élévation mesure la forme de la face antérieure et postérieure de la cornée par rapport à une sphère de référence.

La mesure de la face postérieure est importante dans le diagnostic de kératocône car celle-ci se déforme avant la face antérieure.

Les signes de kératocône sont : un gradient d'élévation exagéré entre le centre et la périphérie (plus de 50 μm par rapport à la sphère de référence postérieure), une perte de parallélisme entre la face postérieure et antérieure avec un bombement plus marqué en face postérieure.

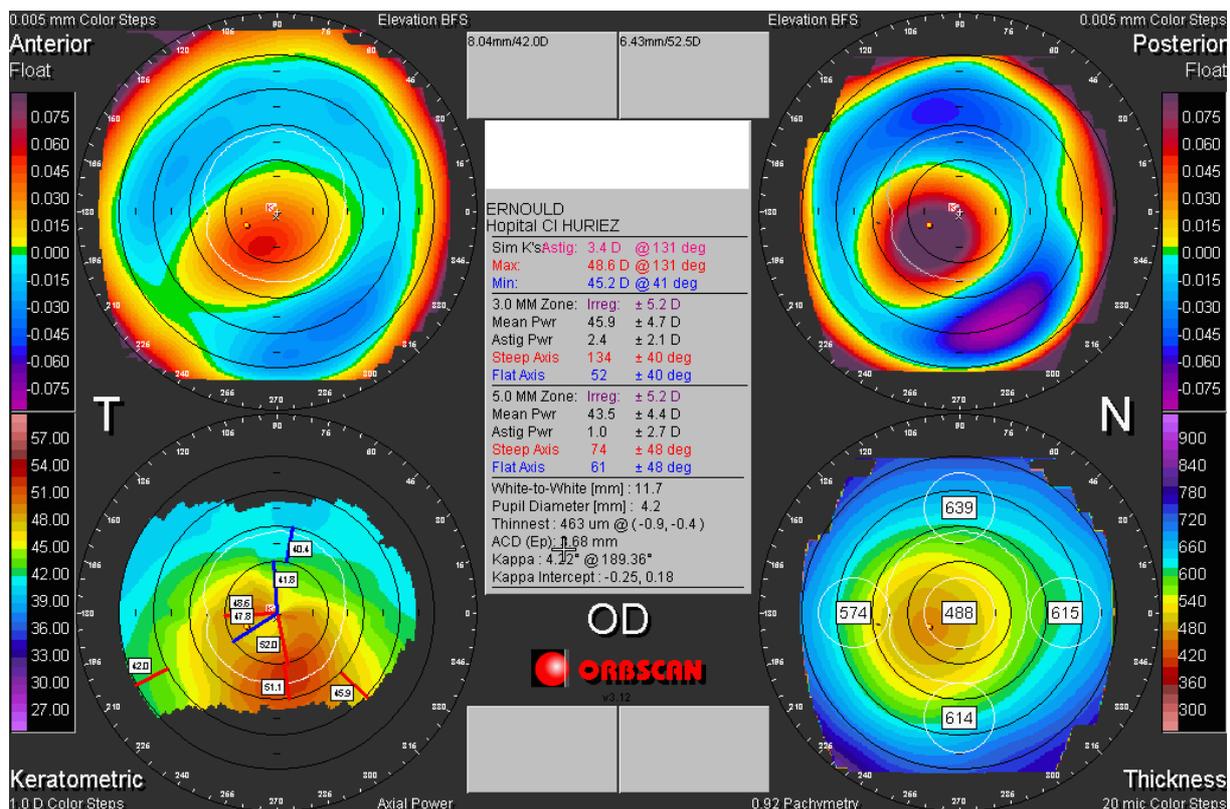


Figure 7 : topographie cornéenne - kératocône - (CHRU Lille)

De nombreux critères de détection du kératocône infraclinique ont été développés :

- sphère de référence postérieure supérieure à 50 μm
- critères de Roush
- critère d'Efkarpides
- critère de Tanabe (60)
- pachymétrie inférieure à 500 μm
- convergence et décalage (souvent inféro-temporal) des points remarquables (point le plus fin, le plus élevé antérieur, le plus élevé postérieur)

Aucun critère n'a une sensibilité et une spécificité de 100%. C'est l'ensemble des critères qui permet d'évoquer le diagnostic. Actuellement, des programmes de détection cumulant plusieurs paramètres sont mis en place pour essayer d'augmenter la sensibilité et la spécificité de détection du kératocône.

La **microscopie confocale** in vivo est une technique d'analyse de la cornée au niveau cellulaire. L'examen se déroule sous anesthésie topique.

Dans le service, nous utilisons l'Heidelberg Retina Tomograph II (HRT II) adapté avec un module RCM (Rostock Cornea Module). Un manchon avec du gel lacrymal est placé sur le module RCM puis est mis au contact de la cornée du patient. L'acquisition des images et le déplacement sont manuels, réalisés par l'examineur.

Cela permet un grossissement de la cornée X800. La source lumineuse est un laser diode de 670 nm de longueur d'onde. Les images réalisées sont constituées de 384x384 pixels, leur surface est de 400x400 μm . La résolution optique est de 4 μm horizontalement et de 2 μm verticalement. La résolution numérique est de 1 μm par pixel. L'appareil mesure la distance focale, permettant de connaître la profondeur de coupe.

En cas de kératocône, certaines anomalies sont visibles grâce à la microscopie confocale.

Au niveau épithélial, les cellules sont plus allongées, fusiformes avec des noyaux irréguliers. Les cellules basales épithéliales sont élargies et plus plates.

Dans le stroma, il existe une diminution de la densité des kératocytes (plus importante encore en cas de port de lentille rigide) (41,61,62). Des bandes noires peuvent être observées, elles correspondent aux stries de Vogt.

La **tomographie à cohérence optique (OCT) du segment antérieur** est de plus en plus utilisée dans le kératocône.

Elle permet l'obtention d'une valeur pachymétrique notamment minimale plus précise qu'en topographie d'élévation. Elle permet aussi une mesure et une étude morphologique des différentes couches de la cornée ce qui est utile pour évaluer le stade de la maladie et pour le suivi du traitement par cross-linking.

La pachymétrie de l'OCT montre, dans le kératocône, un amincissement paracentral inférieur et une différence supérieure à 45 μm entre la partie nasale supérieure et temporale inférieure des 5 mm centraux de la cornée. Le point épithélial le plus fin est en général localisé en inférieur (63). Un aspect en « beignet » (amincissement à l'apex entouré d'une couronne d'épithélium épaissi) est aussi suspect de kératocône.

Sur le plan morphologique, l'OCT peut montrer, selon le stade de sévérité, un amincissement épithélial et stromal, une hyper réflectivité des couches de Bowman et du stroma postérieur avec orientation anormale des fibres de collagène (avant le stade d'opacités cornéennes visibles en lampe à fente), un épaissement épithélial visant à compenser l'amincissement stromal, des opacités sous épithéliales et stromales avec amincissement paracentral important à un stade avancé (opacités cornéennes visibles en lampe à fente) (63,64).

Une nouvelle classification anatomique, basée sur l'OCT, en 5 stades a été établie par l'équipe de Sandali *et al* (63). Elle est développée ci-après.

4. Les différentes classifications du kératocône

La classification d'AMSLER :

elle permet de classer le kératocône en 4 stades cliniques :

- Stade 1 : présence d'un astigmatisme irrégulier avec une asymétrie perceptible au Javal

- Stade 2 : présence d'un astigmatisme plus marqué, amincissement cornéen visible à la lampe à fente avec une cornée transparente
- Stade 3 : toute mesure au Javal même approximative est impossible, l'amincissement cornéen est plus marqué
- Stade 4 : présence des signes précédents avec opacités cornéennes linéaires

Cette classification est peu précise, elle nécessite un kératomètre de Javal et ne tient pas compte de la pachymétrie.

La classification de KRUMEICH :

elle prend en compte la puissance réfractive de la sphère et/ou du cylindre, la kératométrie maximale, la transparence cornéenne et la pachymétrie au point le plus fin. Elle permet de donner des repères chiffrés et d'assurer le suivi.

- Stade 1 : myopie et/ou astigmatisme < 5 dioptries (D), kératométrie maximale < 48 D, stries de Vogt mais pas de cicatrices, pachymétrie > 500 μm
- Stade 2 : myopie et/ou astigmatisme > 5 D et < 8 D, kératométrie maximale < 53 D, pas de cicatrices centrales, pachymétrie > 400 μm
- Stade 3 : myopie et/ou astigmatisme > 8 D et < 10 D, kératométrie maximale > 53 D, pas de cicatrices centrales, pachymétrie > 200 μm et < 400 μm
- Stade 4 : réfraction non mesurable, kératométrie maximale > 55 D, cicatrices centrales, pachymétrie < 200 μm

La classification OCT :

établie récemment par l'équipe de Sandali *et al* (63), c'est une classification anatomique basée sur l'OCT, en 5 stades (Figure 8) :

- Stade 1 : amincissement des couches épithéliales et stromales d'apparence normale au niveau du cône cornéen
- Stade 2 : hyper réflectivité au niveau de la couche de Bowman et épaissement épithélial en regard, au niveau du cône. A ce stade,

l'épaississement épithélial peut masquer l'amincissement du stroma, alors que la pachymétrie reste inchangée

- Stade 3 : invagination postérieure de structures hyper réfléchives au niveau de la couche de Bowman, avec accentuation de l'épaississement épithélial et de l'amincissement stromal
- Stade 4 : cicatrice panstromale au niveau du cône
- Stade 5 : hydrops. Stade aigu 5a, Stade cicatriciel 5b

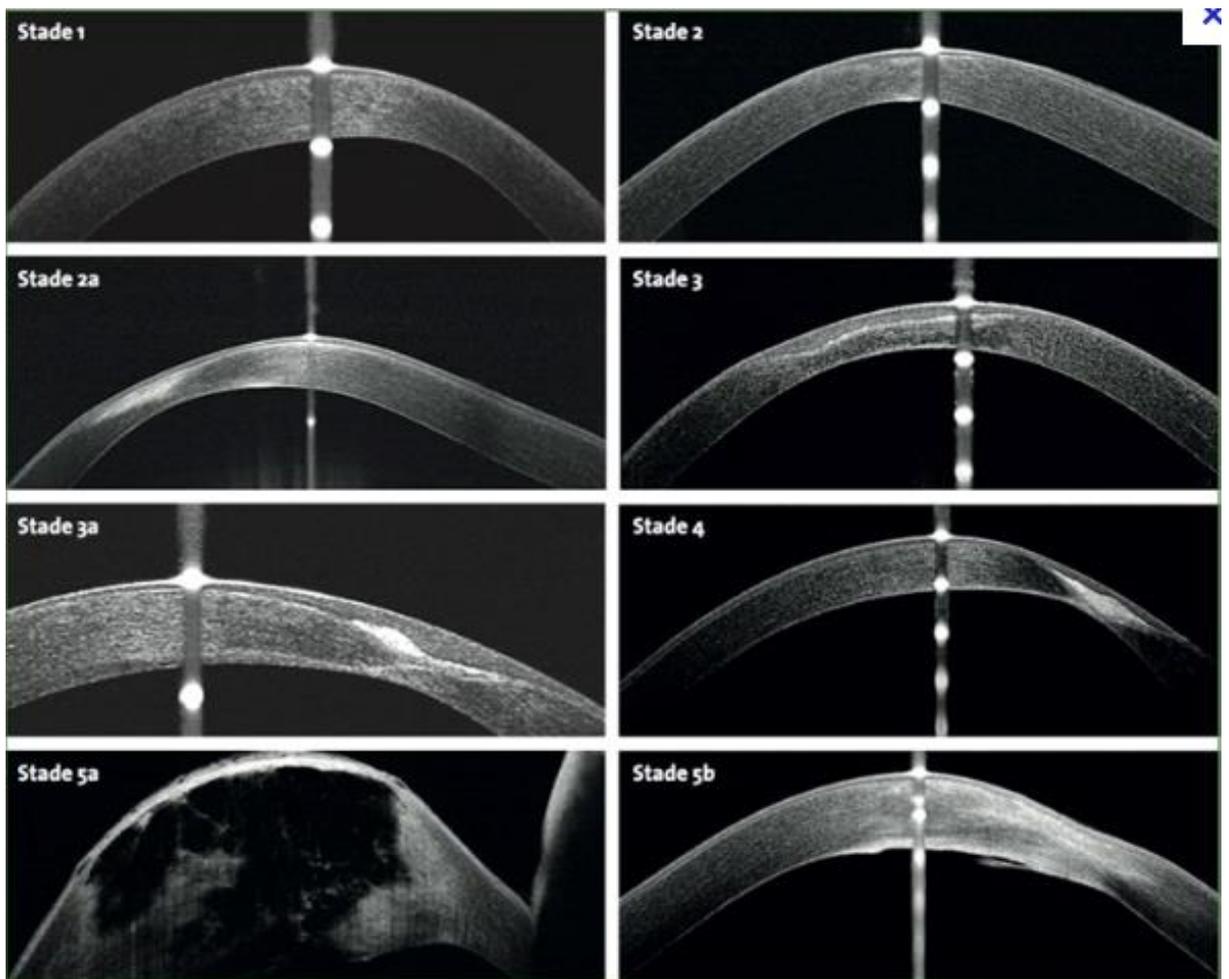


Figure 8 : classification OCT du kératocône basée sur les modifications des couches cornéennes au niveau du cône. Sandali O, El Sanharawi M, Temstet C, Hamiche T, Galan A, Ghouali W, et al. Fourier-domain optical coherence tomography imaging in keratoconus: a corneal structural classification. *Ophthalmology*. 2013 Dec;120(12):2403–12. (63)

La classification de RABINOWITZ :

C'est une classification qualitative du kératocône. Les cornées sont classées selon leur aspect topographique (Figure 9).

Les formes à risques sont :

- Les bombements inférieurs : D
- Les astigmatismes à angulation excessive dans les deux méridiens : G
- Les astigmatismes asymétriques : H et I
- La combinaison de G et H : J

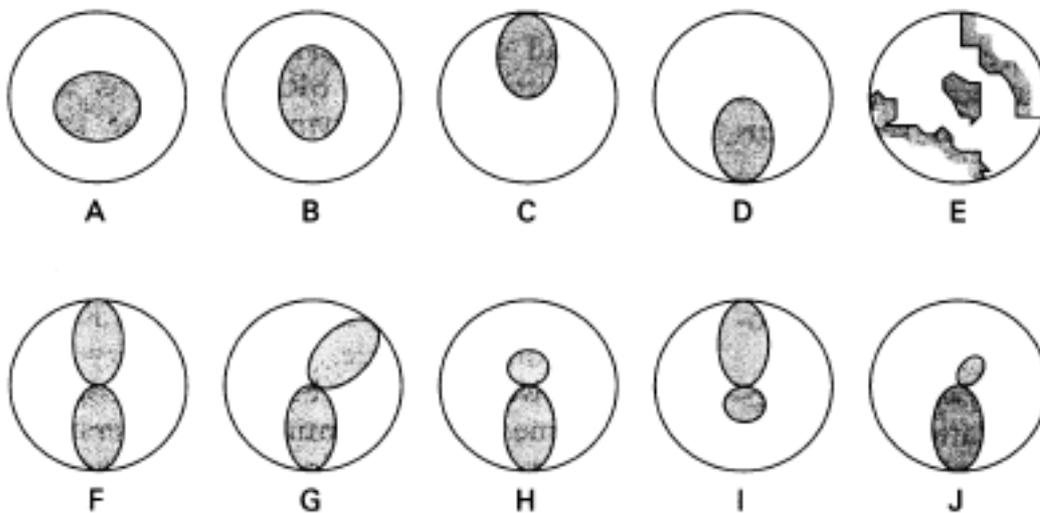


Figure 9 : photo d'après « videokeratography database of normal human cornea » Rabinowitz, 1996 (65)

La perte de l'énantiomorphisme (image en miroir) entre les deux yeux doit faire suspecter un kératocône débutant.

5. Evolution du kératocône

La progression de la maladie est très variable d'un patient à l'autre mais aussi chez un même patient.

L'évolution est importante entre 10 et 20 ans, puis elle ralentit entre 20 et 30 ans et se stabilise après 30 ans (25). Malgré ces observations, une aggravation est

toujours possible plus tardivement, l'évolution du kératocône n'étant pas linéaire et donc non prévisible.

Plus l'âge d'apparition de la maladie est précoce, plus une évolution rapide et défavorable est à craindre, nécessitant un suivi rapproché.

E. Diagnostic différentiel

Il se pose avec les autres causes d'ectasies et d'amincissements cornéens.

1. Corneal warpage

Aussi appelé syndrome de déformation induite par lentille, le « corneal warpage » est une modification de la forme de la cornée, induite par pression d'une lentille en général rigide, parfois souple. Souvent il s'agit d'une lentille mal adaptée, trop plate ou avec une perméabilité à l'oxygène basse. Cela induit des anomalies vidéo topographiques proches de celles du kératocône mais l'ectasie se situe plutôt dans la moitié supérieure. Il existe un astigmatisme central irrégulier plus modéré que dans le kératocône, un aspect en nœud de papillon asymétrique ou des zones de cambrures localisées, une réduction de l'asphéricité cornéenne négative. Les indices d'irrégularité sont moins perturbés que dans le kératocône. Les mesures kératométriques centrales sont assez proches de la normale. La carte pachymétrique est normale. Il n'y a pas d'atteinte de la face postérieure.

La diminution ou disparition de ces signes à l'arrêt du port de lentille pendant au moins 3 à 4 semaines est en faveur du diagnostic.

2. Ectasie cornéenne post-LASIK

Il s'agit d'une complication post-chirurgie réfractive dont l'aspect est proche de celui d'un kératocône.

Cela se présente comme un amincissement progressif avec bombement de la cornée et l'évolution est similaire à celle d'un kératocône.

Les signes évocateurs sont : modification de la réfraction progressive avec astigmatisme irrégulier myopique, baisse d'acuité visuelle avec correction concomitante, anomalies de la topographie cornéenne évocatrices d'un kératocône (augmentation de la cambrure paracentrale inférieure en regard d'une augmentation franche de l'élévation en face postérieure (66)).

La plupart des cas d'ectasie post-LASIK semblent présenter un kératocône fruste ou suspect avant l'intervention.

Deux mécanismes ont été décrits pour expliquer l'apparition d'une ectasie postopératoire : un affaiblissement biomécanique de la cornée par non respect du lit stromal postérieur résiduel minimal ou la décompensation d'un kératocône méconnu (67).

Il existe actuellement des recommandations contre-indiquant la réalisation du LASIK : pachymétrie centrale inférieure à 500 μm , lit stromal résiduel inférieur à 250 μm , anomalie cornéenne notamment topographique évocatrice d'un kératocône fruste ou suspect, antécédent familial de kératocône.

3. Dégénérescence marginale pellucide

La dégénérescence marginale pellucide (DMP) correspond à un amincissement cornéen périphérique inférieur. L'atteinte est bilatérale avec des stades comparables aux deux yeux. L'amincissement intéresse une bande inférieure étroite de 1 à 2 mm de large. La cornée centrale est d'épaisseur normale et fait saillie au dessus de la zone amincie.

Le diagnostic est tardif, à partir de 40 ans en général. Il existe une baisse d'acuité visuelle secondaire à un astigmatisme inverse irrégulier.

L'aspect topographique est typique : bombement cornéen inférieur périphérique se prolongeant sur les méridiens nasaux et temporaux, aplatissement de la cornée supérieure et astigmatisme inverse. L'image est typiquement décrite en « pinces de crabe ».

4. Kératoglobe

Il s'agit d'un amincissement diffus de toute la cornée, plus marqué en périphérie, parfois associé à un amincissement scléral.

C'est une pathologie rare, bilatérale, non ou peu évolutive. La cornée a un aspect globuleux sans anneau ferrique. Le principal risque est la rupture cornéenne ou la perforation, pouvant survenir même après un traumatisme minime.

G. Prise en charge du kératocône

1. Correction optique

La correction par verres correcteurs est possible à un stade précoce, lorsque l'astigmatisme est faible. Cependant la réfraction est difficile et fluctuante. Il existe souvent une anisométrie et des aberrations optiques résiduelles, qui entraînent fréquemment l'abandon des verres correcteurs.

Les lentilles de contact sont la modalité de prise en charge de première ligne pour la réhabilitation visuelle des patients, et ce aux différentes étapes de l'évolution de la maladie. Par contre elles n'ont pas d'efficacité sur l'évolution du kératocône. L'adaptation peut se faire sur un kératocône non opéré mais aussi après traitement chirurgical.

Les lentilles rigides perméables aux gaz sont les plus utilisées dans cette indication. Un kératocône peu évolué peut être adapté avec des lentilles rigides sphériques ou sphéro-asphériques. Un kératocône plus évolué avec déformation importante nécessite une lentille rigide plus spécifique de type lentille sphérique

multicourbe à dégagement sphérique modulable. Le choix définitif de la lentille rigide se fait selon l'image obtenue en fluoroscopie, qui doit idéalement être en cocarde.

Le « piggy back » est une technique qui consiste à poser une lentille souple sous la lentille rigide. Cela permet d'améliorer le confort du port de lentille rigide. Cela permet aussi une meilleure stabilité de la lentille dans le cas de kératocônes évolués avec déformation cornéenne importante. Les principales indications du «piggy back» sont : le kératocône unilatéral, la mauvaise tolérance des lentilles rigides, l'instabilité des lentilles rigides.

Les lentilles hybrides sont des lentilles dont le principe et les indications sont proches du « piggy back », mais en une seule lentille. Il s'agit de lentilles constituées d'une lentille rigide centrale et de bords souples.

Les verres scléaux sont utilisés chez les patients présentant un kératocône avec des kératométries extrêmes chez lesquels une lentille rigide ne peut être adaptée en raison d'une grande instabilité.

2. Chirurgie du kératocône

Cross-linking du collagène cornéen

Le cross-linking du collagène cornéen a pour but de « rigidifier » la cornée, biomécaniquement instable dans le kératocône, pour stabiliser la maladie. Ce traitement est indiqué en cas de kératocône évolutif, défini par une augmentation du Kmax supérieure ou égale à 1D en un an.

Les principes, indications, protocoles de ce traitement sont décrits en détail dans le chapitre suivant.

Anneaux intra-cornéens

L'objectif majeur des anneaux intra-cornéens est d'améliorer la qualité de vision en diminuant l'astigmatisme asymétrique sans toucher au centre de la cornée ni enlever de tissu cornéen (68,69). La pose d'anneau est indiquée en cas d'intolérance aux lentilles rigides. C'est compatible avec la réalisation d'un cross-linking.

L'insertion d'anneau intra-cornéen dans la profondeur du stroma induit un effet volumétrique qui réduit la longueur d'arc sur le méridien le plus plat (méridien en général choisi pour l'implantation). Cela permet une inflexion de courbure en surface avec aplatissage central ainsi qu'un bombement relatif du méridien le plus plat. Une nouvelle zone optique centrée sur la pupille est ainsi formée. L'objectif primaire est de réduire l'asymétrie dans la zone optique utile et si possible de diminuer la courbure (37).

La dissection d'un tunnel intra-stromal dans lequel sera inséré l'anneau peut se faire de façon mécanique à l'aide de dissecteurs ou au laser femtoseconde (70).

Le choix de l'anneau se fera selon l'équivalent sphérique pré-opératoire, la localisation du cône, l'asymétrie de la déformation et la pachymétrie.

Les contre-indications à la pose d'anneau intra-cornéen sont : opacités centrales, $K_{max} > 65$ D, pachymétrie $< 400 \mu m$ (un mur postérieur de $> 250 \mu m$ est nécessaire), kératocône aigu, comptage endothélial < 1000 cellules/mm².

Grefe de cornée

L'indication chirurgicale de greffe dans le kératocône intervient en dernier recours lorsque les autres moyens de correction ont été épuisés. Il s'agit le plus souvent de kératocônes évolués, avec opacités cornéennes centrales, empêchant une amélioration de l'acuité visuelle. L'hydrops et l'intolérance majeure aux lentilles constituent aussi une indication de greffe.

La greffe de cornée a un but optique, pour restaurer l'acuité visuelle, et tectonique, pour restaurer l'intégrité cornéenne en épaisseur et en forme.

La greffe transfixiante (remplacement de toute l'épaisseur cornéenne par un greffon) a longtemps été le traitement de référence du kératocône mais a perdu sa place au profit de la kératoplastie lamellaire antérieure profonde (KLAP) pré-descemétique.

La KLAP consiste à remplacer la partie antérieure de la cornée par un greffon tout en laissant en place la membrane de Descemet et l'endothélium du receveur. Les avantages de cette technique sont de réduire l'incidence des rejets endothéliaux et de maintenir la densité endothéliale à long terme (71) ce qui semble augmenter la survie du greffon par rapport à la greffe transfixiante. Cela permet aussi une meilleure résistance mécanique avec une acuité visuelle et un astigmatisme post-

opératoire comparables à la greffe transfixiante. Cette intervention se complique parfois de perforation per-opératoire des couches endothélio-descemetique, nécessitant alors une conversion en kératoplastie transfixiante.

Arbre décisionnel de prise en charge du kératocône

L'arbre décisionnel est seulement indicatif (Figure 10).

La prise en charge du kératocône se fait au cas par cas selon des paramètres :

- ophtalmologiques : acuité visuelle, confort binoculaire, transparence cornéenne, pachymétrie, stabilité ou progression du kératocône, kératométrie maximale, myopie axiale associée, tolérance des lentilles de contact, cataracte
- généraux : atopie, trisomie 21, pathologies associées
- personnels : âge, activité professionnelle, loisirs, observance, attentes du patient

Le premier élément à rechercher est l'évolutivité du kératocône. En fonction de cela, on posera l'indication du cross-linking. L'autre objectif est de corriger l'acuité visuelle par des moyens optiques au maximum avant d'envisager une solution chirurgicale. La greffe de cornée étant réalisée en dernier recours.

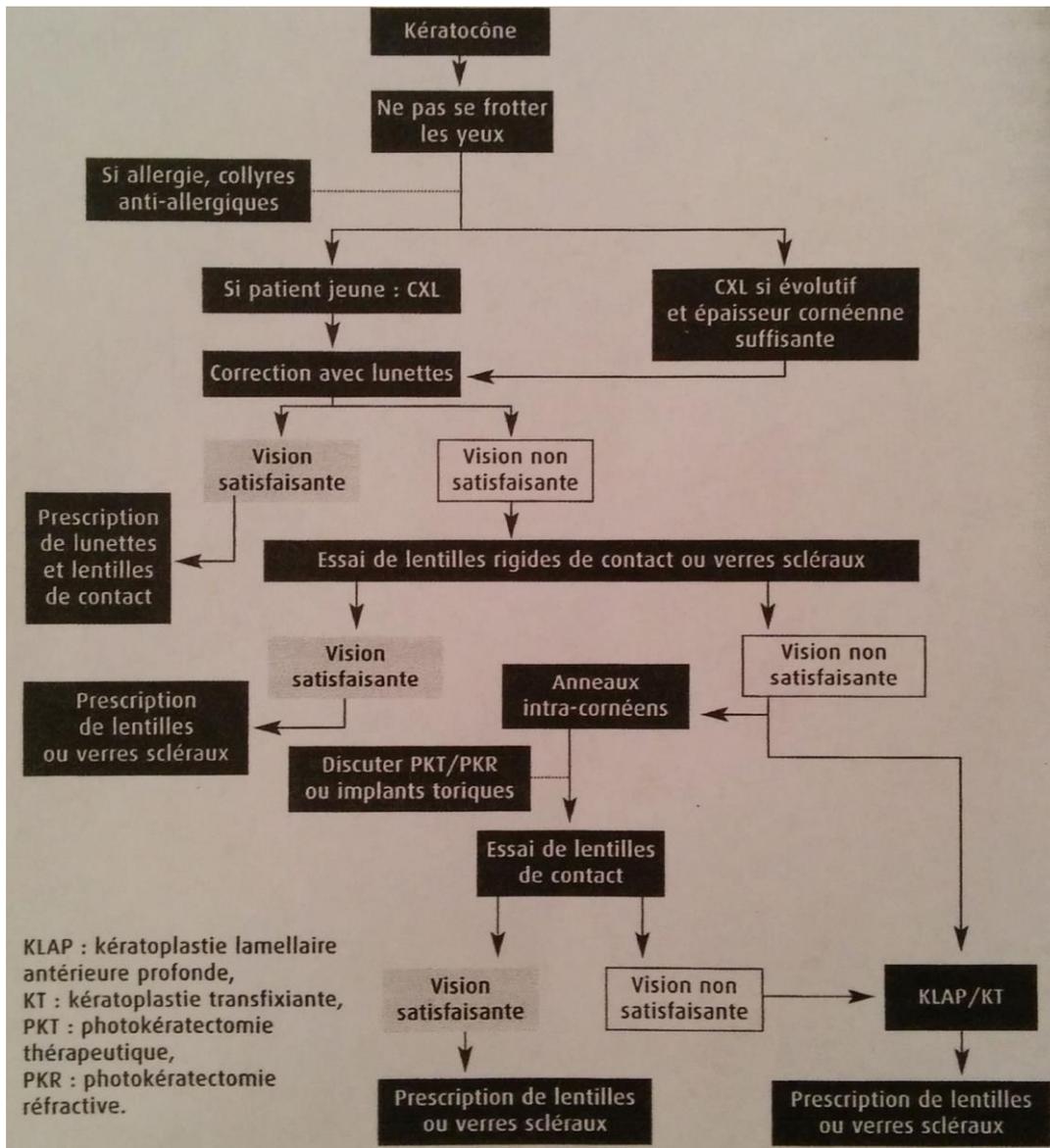


Figure 10 : Gomes JAP, Tan D, Rapuano CJ, Belin MW, Ambrósio R, Guell JL, et al. Global consensus on keratoconus and ectatic diseases. Cornea. 2015 Apr;34(4):359–69. (72)

II. CROSS-LINKING DU COLLAGÈNE CORNÉEN

A. Principes généraux

Le terme de « cross-linking » signifie « réticulation ». Il désigne en terme scientifique la formation de liaisons chimiques entre des protéines ou d'autres molécules après radiation, chaleur ou pression d'un tissu. Cette réticulation nécessite un substrat, un apport énergétique et du temps. Elle se produit naturellement dans différents tissus contenant notamment du collagène tels que la peau, les vaisseaux, le cartilage, la cornée et participe à la rigidité de ces tissus. Elle peut être modifiée par certains facteurs comme l'âge (73), le diabète, le tabac ou l'exposition solaire. Chez les diabétiques, il existe une réaction naturelle de cross-linking non enzymatique dans la cornée entraînant une faible progression des ectasies cornéennes (74).

La stratégie du cross-linking du collagène cornéen a ainsi été développée pour « rigidifier » la cornée et donc stabiliser l'évolution du kératocône. Ce traitement a été développé initialement par l'équipe du Pr Seiler (1) en 1998. En 2003, les premiers résultats du cross-linking du collagène sur des patients porteurs de kératocône furent publiés (2).

Cette technique consiste en une photopolymérisation (pontage biochimique photo-induit) des fibrilles de collagène dans le stroma cornéen avec formation de ponts intra et inter-fibrillaires (75). Le traitement repose sur l'action combinée de la riboflavine et des ultraviolets A (UV-A).

B. But du cross-linking dans le kératocône

Le cross-linking est actuellement le seul traitement agissant directement sur la cause présumée du kératocône, c'est à dire l'instabilité stromale par altération de l'arrangement des lamelles de collagène (43). Cette instabilité pourrait être due en partie à la diminution du nombre de ponts entre ces lamelles.

Le but du cross-linking dans le kératocône est de « rigidifier » la cornée en créant des ponts entre les lamelles de collagène. Cela permet d'empêcher la déformation cornéenne afin de stopper l'évolution de la maladie et donc d'éviter une nouvelle détérioration de l'acuité visuelle.

Les principaux effets biomécaniques décrits sont : une augmentation de la rigidité stromale principalement au niveau des 200 µm antérieurs, une diminution de la capacité de déformation, une augmentation de la résistance à la rupture et un ralentissement de l'amincissement cornéen (76).

C. Biochimie du cross-linking

Le cross-linking se produit de façon physiologique dans l'organisme humain. Cette réaction est responsable du vieillissement des tissus.

Il existe trois types de cross-linking au niveau de la cornée:

- La réaction de Maillard (cross-linking naturel) responsable du vieillissement physiologique de la cornée (77)
- Le cross-linking pathologique chez les diabétiques lié à l'hyperglycation (74)
- Le cross-linking provoqué, photo-oxydatif, utilisé pour stabiliser le kératocône

Le cross-linking provoqué est photo-induit. Les UV-A sont utilisés comme catalyseur et la riboflavine (vitamine B2) est utilisée comme photosensibilisant. La technique consiste à accélérer la réaction physiologique de cross-linking du collagène. L'interaction UV-A et riboflavine va être à l'origine de la formation de radicaux libres oxygénés qui vont induire la formation d'une liaison covalente entre les terminaisons hydro-carbonées des fibrilles de collagène (Figure 11) (78).

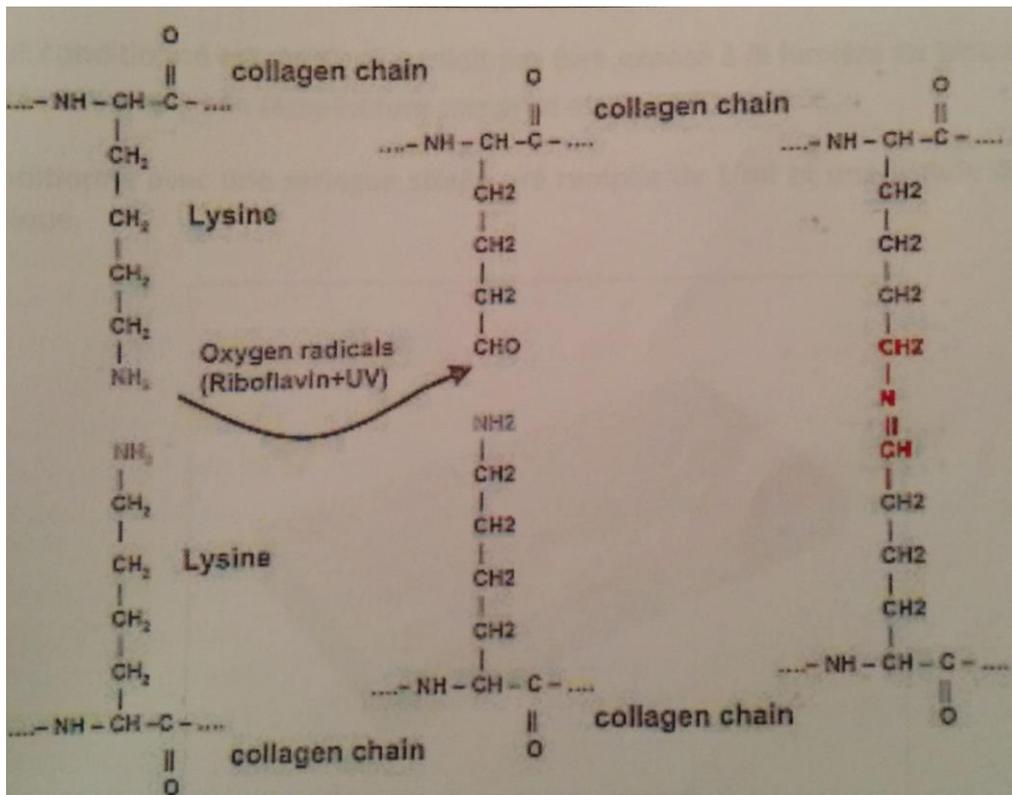


Figure 11 : Formation du pont covalent entre les fibres de collagène. Avery NC, Bailey AJ. The effects of the Maillard reaction on the physical properties and cell interactions of collagen. Pathol Biol (Paris). 2006 Sep;54(7):387–95. (77)

Ce cross-linking photo-oxydatif est bien adapté au traitement du kératocône car il peut être appliqué sur une surface bien déterminée et respecte la transparence cornéenne. La riboflavine protège les structures oculaires postérieures (cristallin, rétine) en interagissant avec les UV, ce qui stoppe leur pénétration à travers la cornée.

D. Matériel

1. La riboflavine

La riboflavine ou vitamine B2 est un dérivé de l'isoalloxazine (flavine), substitué en C5 par un sucre (ribose).

Elle est non toxique, biocompatible, présente naturellement dans de nombreux aliments (viande, poisson, laitages, champignons ...) et utilisée comme colorant alimentaire.

Elle joue deux rôles très importants dans le traitement par cross-linking du collagène cornéen : un rôle photosensibilisant permettant la formation de cross-links et un rôle de filtre UV protégeant les structures endo-oculaires.

Elle n'est pas détruite par la chaleur mais décomposée par la lumière, notamment les UV-A avec deux pics d'absorption : à 365 nm et à 430 nm.

Sous l'effet des UV-A, elle va permettre le transfert d'électrons qui va entraîner la transformation de l'oxygène moléculaire en radicaux libres (radical peroxyde O_2^{2-} , superoxyde O_2^- , ion oxyde O^{2-}), qui eux-mêmes vont créer des liaisons covalentes entre les lysines du collagène stromal (Figure 12).

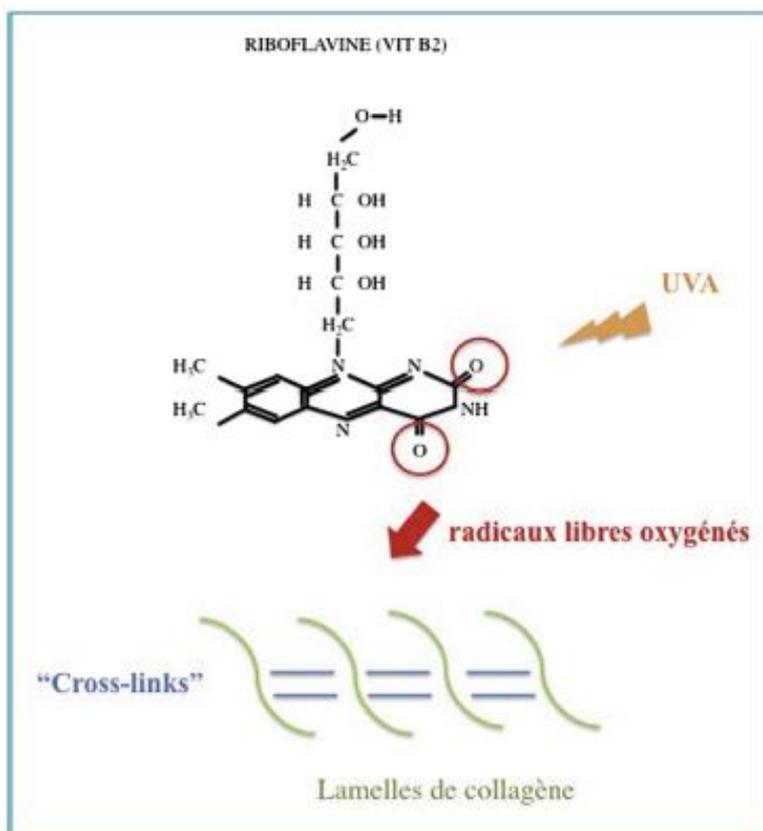


Figure 12 : Représentation schématique de l'induction photochimique de crosslinks - Jouve L, Borderie V, Temstet C, Labbé A, Trinh L, Sandali O, et al. Le crosslinking du collagène dans le kératocône. Journal Français d'Ophtalmologie. 2015 May;38(5):445–62. (79)

Une pénétration suffisante de riboflavine dans le stroma est nécessaire pour avoir un effet biomécanique maximum et pour protéger les structures endo-oculaires. Cette pénétration est limitée par l'épithélium qui, avec ses *tight-junctions*, forme une barrière difficilement franchissable (80). Ainsi une désépithélialisation est recommandée avant l'application de riboflavine (81). Celle-ci est ensuite instillée toutes les 2 minutes pendant 30 minutes afin de garantir une concentration stromale suffisante.

La concentration en riboflavine est maximale dans le stroma antérieur et diminue dans les couches plus profondes (82).

Une concentration de 0,1% de riboflavine a été choisie pour les cornées de plus de 400 μm . L'effet biomécanique de la riboflavine est indépendant de sa concentration si elle va de 0,015 à 0,5 % et son rôle photoprotecteur est plus important avec une faible concentration. Le dosage à 0,1% est donc un compromis entre efficacité et sécurité (83,84).

Le Ricrolin® est la solution ophtalmique utilisée dans notre service pour la réalisation des cross-linkings (Figure 13). Elle est constituée de 0,1% de Riboflavine (0,127g pour 100 ml), de 20g de Dextran T500 pour 100ml, et d'excipients comme le phosphate monosodique dihydraté, le phosphate disodique dihydraté, le chlorure de sodium et de l'eau purifiée. La solution est conservée dans une seringue pré-remplie stérile et doit être conservée à l'abri de la lumière. Cette solution est commercialisée par les laboratoires Horus Pharma et fabriquée par Sooft Italia Srl.



Figure 13 : solution de Ricrolin®

2. Les UV-A

La longueur d'onde recommandée pour les UV-A est de 365 nm, ce qui correspond à l'un des pics d'absorption maximale de la riboflavine. Les radiations à 365 nm délivrent plus d'énergie qu'à 430 nm (2^{ème} pic d'absorption maximale de riboflavine) donc permettent un meilleur effet du cross-linking (1).

La dose totale d'énergie délivrée par les UV-A recommandée est de 5,4 J/cm²

Le protocole conventionnel recommande une irradiation de 30 minutes à 3 mW/cm². Le protocole accéléré utilise des UV-A à 10 mW/cm² pendant 9 minutes. Les deux protocoles délivrent une dose totale d'énergie de 5,4 J/cm².

Le diamètre d'irradiation est de 8 mm, à 5 cm de distance, pour une protection maximale du limbe, de la sclère et de la conjonctive.

Les UV-A utilisés dans le cross-linking ne semblent pas dangereux pour l'endothélium, le cristallin et la rétine. Effectivement, une exposition journalière aux UV-A de 1 mW/cm² sans protection est autorisée par les autorités de santé, ce qui correspond à une exposition de l'endothélium à une intensité lumineuse de 0,65 mW/cm² (85). Dans le cross-linking conventionnel, l'intensité lumineuse atteignant l'endothélium est de 0,18 mW/cm² ce qui est inférieur à la dose recommandée (86). Aucune atteinte rétinienne ou cristallinienne n'a été décrite dans la littérature.

Dans notre service, l'appareil utilisé pour émettre les rayons UV-A est la lampe CBM X Linker (Figure 14). Ce dispositif est un appareil électromédical fabriqué et conçu par la société CSO Ophtalmic. Il comprend une source lumineuse à diodes capable d'émettre des UV-A avec une longueur d'onde de 370 nm, diaphragmable, avec un point de fixation, un système de collimation et une télécaméra incorporée dans la tête optique.



Figure 14 : Lampe CBM X Linker

Il existe deux modèles :

- Vega CBM X Linker avec une puissance d'irradiation à 3 mW adaptée aux procédures de cross-linking conventionnel et trans-épithélial avec une phase d'irradiation qui dure 30 minutes.
- Vega CBM X Linker avec une puissance d'irradiation à 10 mW adaptée aux procédures de cross-linking accéléré et de cross-linking par iontophorèse avec une phase d'irradiation qui dure 9 minutes.

E. Les différents protocoles de cross-linking

1. Préparation du patient

Quel que soit le protocole utilisé, le traitement est réalisé au bloc opératoire, en conditions stériles.

Le patient reçoit, 1 heure avant et 30 minutes avant le début de la procédure, une goutte de pilocarpine 2% afin de protéger les structures endo-oculaires des UV-A.

L'anesthésie est topique.

Le patient est en décubitus dorsal.

2. Le protocole standard ou classique

Il s'agit du protocole de référence dans toutes les études parues sur le cross-linking (2,87–89). C'est le premier à avoir montré son efficacité à moyen terme sur la stabilisation du kératocône.

Une goutte de lidocaïne est instillée dans l'œil à traiter. Un blépharostat est ensuite installé.

La première étape consiste en une **désépithélialisation** des 8 mm centraux sous microscope afin de permettre une meilleure pénétration intra-cornéenne de la riboflavine. Un collyre à la cocaïne peut être imprégné pendant environ 10 secondes sur la cornée juste avant pour aider cette désépithélialisation. On ré-instille ensuite une goutte de lidocaïne puis on passe à la phase suivante.

La deuxième étape ou **phase d'imprégnation de la Riboflavine** consiste à appliquer du Ricrolin® sur la cornée toutes les 2 minutes pendant 30 minutes

La troisième étape est la **phase d'irradiation**. La tête optique de la lampe UV Vega CBM X Linker avec puissance d'irradiation à 3 mW/cm² est placée au dessus du patient et il faut l'aligner pour obtenir une mise au point précise. Cela est possible grâce à un système de focalisation par un spot. L'irradiation peut alors débuter. Celle-ci dure 30 minutes. Pendant l'irradiation, une goutte de Ricrolin® est instillée toutes les 5 minutes (Figure 15).



Figure 15 : imprégnation cornéenne de riboflavine (90)

En fin de procédure, la surface oculaire est nettoyée à l'aide de sérum physiologique, une goutte d'antibiotique est instillée et une lentille pansement est mise en place jusqu'à ré-épithélialisation (en général 3 jours).

Le traitement post-opératoire comprend un antibiotique local pendant 5 jours, un corticoïde local pendant 15 jours et des agents mouillants pendant 1 mois.

3. Le protocole accéléré

Avec le temps, de nouvelles machines ont été développées pour diminuer le temps d'irradiation de la cornée. Le but étant d'arriver à des procédures moins longues et une exposition moindre aux UV-A. D'après la loi de Bunsen Roscoe, il est théoriquement possible de diminuer le temps d'exposition aux UV-A en augmentant la puissance d'irradiation, tant que la dose totale délivrée reste de $5,4\text{J}/\text{cm}^2$ (91).

Une étude ex vivo sur des yeux de porc a étudié la réponse à différents traitements UV-A de 3 à $90\text{ mW}/\text{cm}^2$ pour une durée d'irradiation de 30 minutes à 1 minute respectivement (5). Le gain en rigidité cornéenne était observé jusqu'à une intensité d'UV-A de $45\text{ mW}/\text{cm}^2$ (irradiation de 2 minutes) mais diminuait pour des intensités supérieures avec durée d'irradiation adaptée pour conserver la même énergie délivrée (Figure 16) . La durée étant certainement trop courte pour que la réaction oxygénée se produise.

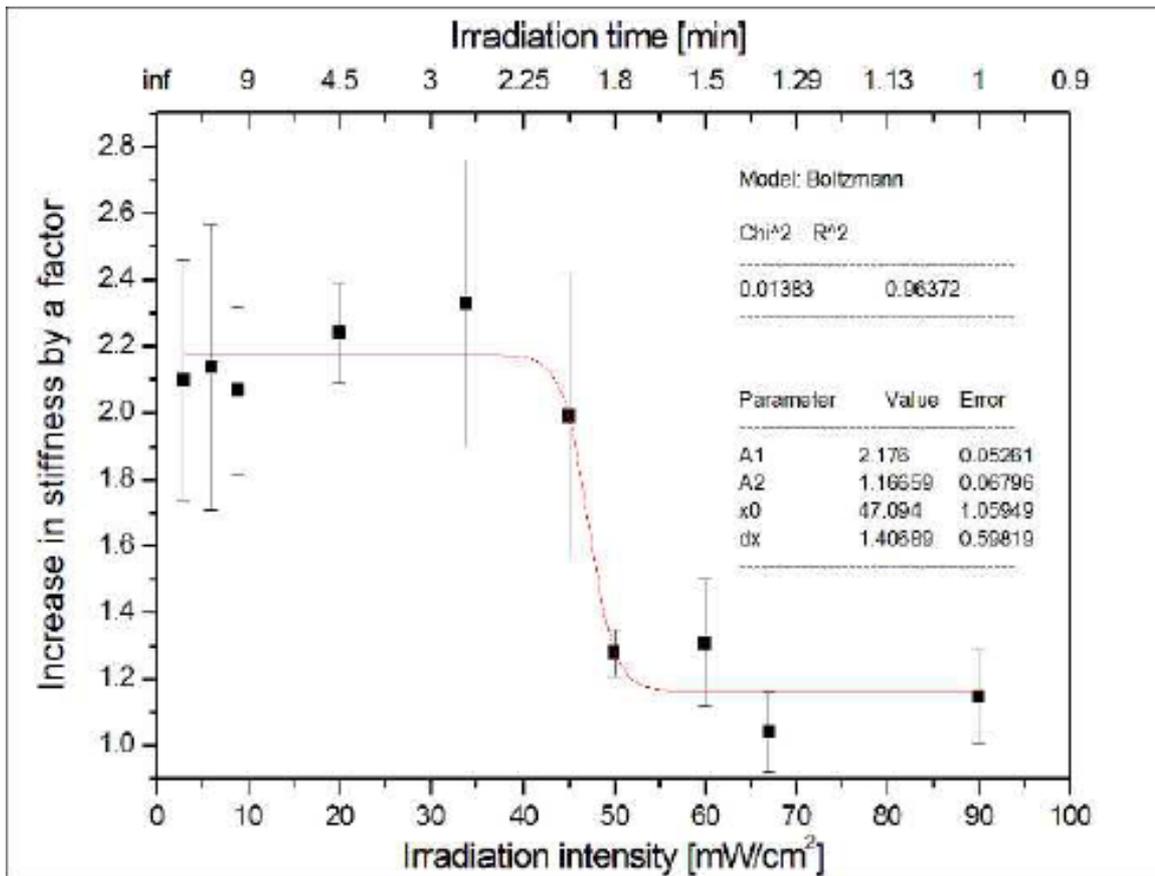


Figure 16 : Wernli J, Schumacher S, Spoerl E, Mrochen M. The efficacy of corneal cross-linking shows a sudden decrease with very high intensity UV light and short treatment time. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2013 Feb;54(2):1176–80. (5)

Ainsi, en pratique, plusieurs protocoles accélérés sont réalisés, sans réel protocole standardisé concernant la durée de traitement idéale. Les plus souvent rencontrés sont : 9 mW/cm², 10 min ; 10 mW/cm², 9 min ; 18 mW/cm², 5 min ; 30 mW/cm², 3 min (13–18,20,92).

Le protocole accéléré que nous réalisons dans le service et dans le cadre de cette étude est le suivant : phase de **désépithélialisation** et **d'imprégnation à la riboflavine** identique au protocole classique, **phase d'irradiation** avec une lampe UV Vega CBM X Linker avec puissance d'irradiation de 10 mW/cm² pendant 9 minutes. La fin de procédure et le traitement post-opératoire sont identiques au protocole classique.

Ce protocole a été étudié par l'équipe de Schumacher et al. sur des cornées de porc (3). La rigidité cornéenne était équivalente à celle obtenue après protocole

classique. Les études cliniques qui ont été réalisées chez l'homme semblent également aller dans ce sens (14,19,20).

D'autres protocoles accélérés, plus rapides et avec des doses d'irradiation plus importantes, ont également été testés.

Les études cliniques comparant cross-linking conventionnel et accéléré utilisent des protocoles accélérés très variables ce qui les rend plus difficiles à analyser (13,15–18).

4. Le protocole trans-épithélial

Le principe du protocole trans-épithélial (TE) est d'éviter une désépithélialisation. Cela permet ainsi de diminuer les douleurs et la baisse d'acuité visuelle post-opératoires immédiates, de diminuer le risque d'infection post-opératoire et de réaliser un cross-linking chez des patients ayant une pachymétrie inférieure à 400 μm en pré-opératoire (ce qui contre-indique un cross-linking conventionnel ou accéléré).

Le principal problème avec ce traitement est la barrière que constitue l'épithélium cornéen à l'absorption de Riboflavine. Ainsi, le principe est d'utiliser des molécules capables de rendre l'épithélium perméable sans le retirer, comme l'EDTA et le trométamol.

Une solution de Riboflavine spéciale est donc utilisée dans ce protocole : il s'agit du Ricrolin TE[®] contenant de la riboflavine à 0,1%, du Dextran, de l'EDTA et du Trométamol. La **phase d'imprégnation au Ricrolin TE[®]** dure 30 minutes avec une instillation toutes les 2 minutes, puis la **phase d'irradiation** est identique au protocole conventionnel. La fin de procédure et le traitement post-opératoire sont identiques au protocole conventionnel sauf la pose de lentille pansement qui n'a pas besoin d'être effectuée étant donné l'absence de désépithélialisation.

Concernant l'efficacité de ce protocole, les résultats de petites séries publiées sur un recul court sont variables. Une étude prospective sur 26 yeux avec un recul de 2 ans a constaté une amélioration pendant les 6 premiers mois puis une aggravation à 2 ans de la kératométrie (93). Une étude réalisée au CHRU de Lille portant sur 24 patients retrouvait une efficacité similaire des deux traitements à un an, mais il existait un biais de recrutement puisque les patients traités par cross-

linking trans-épithélial avaient tous un keratocône avancé avec une pachymétrie < 400 μm (94).

5. Le protocole iontophorèse

La iontophorèse est une nouvelle technique, non invasive, utilisée pour faire pénétrer la Riboflavine dans la cornée en l'absence de désépithélialisation. Elle utilise un courant électrique pour faire passer des molécules chargées électriquement. La Riboflavine a un faible poids moléculaire et est chargée négativement.

Le protocole consiste à placer la Riboflavine à 0,1% dans le matériel de iontophorèse, c'est à dire dans un anneau de succion posé sur la cornée, rempli de Riboflavine et connecté à un courant électrique de 1 mA par deux électrodes (une électrode cornéenne et une électrode de retour collée sur le front). Cette phase d'imprégnation dure 5 minutes. Ensuite la phase d'irradiation aux UV-A dure 9 minutes avec une puissance de 10 mW/cm². La fin de l'intervention et le traitement post-opératoire sont identiques au protocole conventionnel, sauf la mise en place de lentille pansement qui n'est pas nécessaire.

Actuellement, il existe peu de publications sur l'efficacité de cette technique.

F. Les effets du cross-linking

1. In vitro

Il n'y a pas eu de mise en évidence directe, par coloration ou microscopie, des ponts créés entre les lamelles de collagène dans les cornées traitées par cross-linking. Cependant, il a été montré des signes indirects, tels qu'une augmentation de la rigidité des cornées animales traitées (95). Une augmentation de 12% de l'épaisseur des fibres de collagène du stroma antérieur a été retrouvée sur des cornées de porc traitées (75). La formation de ponts se ferait dans les 200-250 μm antérieurs et serait moins importante dans le stroma postérieur (96). Cela

s'expliquerait par le fait que la Riboflavine pénètre essentiellement dans le stroma antérieur et l'absorption des UV-A se ferait donc majoritairement dans cette partie.

2. Chez l'homme

Topographie cornéenne

De nombreuses études ont été réalisées chez l'homme pour évaluer l'efficacité du cross-linking conventionnel dans le traitement du kératocône. Toutes retrouvaient une diminution ou stabilisation du Kmax à un an de manière significative et une amélioration fréquente de l'acuité visuelle après traitement (2,87–89,97–99).

OCT de segment antérieur

Cet examen permet de mettre en évidence en post-opératoire, une ligne hyper-réfléctive stromale, nommée ligne de démarcation. Cette ligne a été observée d'abord par Seiler et Hafezi en biomicroscopie à une profondeur de 300 μm environ, quelques semaines après traitement par cross-linking conventionnel (100). Cette ligne a ensuite été décrite en OCT de segment antérieur par Doors et al. à une profondeur de 320 μm environ (101). Elle correspond à la limite en profondeur de l'apoptose kératocytaire. Il s'agit d'une modification réfléchive et réfractive de la cornée traitée par rapport à la cornée sous-jacente. Elle serait donc un témoin indirect de la profondeur du traitement. D'après les données de la littérature, elle est observée majoritairement à un mois post-opératoire.

L'OCT de segment antérieur post-opératoire permet aussi d'observer le haze cornéen transitoire, fréquent après cross-linking.

Microscopie confocale in vivo (HRT)

Cet examen retrouve, lors du premier mois après traitement par cross-linking conventionnel, une apoptose kératocytaire au niveau du stroma, avec œdème hyper-réfléctif allant du stroma antérieur jusqu'à 250-300 μm de profondeur (102). Il a été observé également un amincissement épithélial au sommet du cône (103) et une

diminution des nerfs sous-épithéliaux avec diminution de la sensibilité cornéenne totale (104) mais sans altération apparente du break up time ni de la sécrétion basale des larmes (105).

Le haze cornéen apparaît comme hyper réfléchif. Cela correspond à l'activation des kératocytes en fibroblastes (61).

A partir du 2^{ème} mois post-opératoire, on peut observer des kératocytes activés entourés d'une matrice extra-cellulaire hyper-réfléctive repeuplant le stroma antérieur. La régénération des kératocytes se ferait 2 à 3 mois après traitement par cross-linking conventionnel et s'arrêterait vers 6 mois (106).

Il n'existe pas de perte de densité cellulaire au niveau de l'endothélium (61,62).

G. Complications du cross-linking

Les principales complications décrites après cross-linking du collagène cornéen sont : le haze post-opératoire, les infections post-opératoires, la perte de cellules endothéliales et l'échec du traitement.

1. Haze cornéen

La présence d'un haze cornéen est fréquente après traitement par cross-linking. Il serait même le témoin de l'efficacité du traitement et la profondeur du haze correspondrait à la profondeur d'efficacité du traitement (107). Une étude mesurant le haze en biomicroscopie et densitométrie a permis d'évaluer l'histoire naturelle du haze cornéen après cross-linking conventionnel (108). Celui-ci est maximal à 1 mois avec une phase de plateau jusqu'à 3 mois puis une diminution progressive jusqu'à sa disparition à 1 an.

Il est rare qu'une cicatrice stromale se développe à la suite d'un haze.

Le haze est en général résolutif sous corticoïdes topiques.

2. Infections cornéennes

La survenue d'infection après traitement a été peu décrite mais constitue la complication la plus redoutable du cross-linking, pouvant être responsable d'une perte fonctionnelle majeure.

Les infections sont favorisées par la désépithélialisation qui offre une porte d'entrée à divers germes. Quelques rares cas de kératites bactériennes (109,110) et amibiennes avec perforation cornéenne (111) ont été rapportés. Une réactivation herpétique est possible aussi, contre-indiquant la réalisation de cross-linking chez les patients ayant un antécédent de kératite herpétique (112).

3. Atteinte endothéliale

Une toxicité endothéliale a été rapportée chez les patients ayant une pachymétrie fine inférieure à 400 μm et ayant été traités par cross-linking conventionnel (113). Voilà pourquoi le cross-linking est contre-indiqué pour des pachymétries inférieures à 400 μm .

4. Cicatrices stromales

L'étude rétrospective de Raiskup et al. a retrouvé des cicatrices stromales chez 8,6% des patients après traitement par cross-linking conventionnel (114). Une cornée fine et/ou très conique semblait être un facteur de risque de survenue de cette complication.

5. Nécrose stromale

Quelques rares cas de nécrose stromale ont été décrits (115,116). Aucun facteur prédisposant n'a été retrouvé. Chez un patient, l'instillation de diclofenac post-opératoire a été incriminé.

6. Echec du traitement

La plupart des études montrent une stabilisation du kératocône après cross-linking (117). L'équipe de Raisup-Wolf a retrouvé une stabilisation dans 98% des cas (87). De même pour l'équipe de Caporossi qui signale une stabilité du kératocône pour les 44 yeux étudiés (88).

Malgré cela, il arrive parfois que le traitement échoue et que l'ectasie progresse. Ainsi Koller et son équipe ont décrit la progression de 8 yeux sur 177 (7,6%).

Pour le moment, l'intérêt d'un re-traitement en cas d'échec n'a pas été prouvé (4).

H. Indications du cross-linking

Les indications du cross-linking concernent le kératocône évolutif.

La définition de progression du kératocône selon les principales études publiées sont :

- Une augmentation de la kératométrie maximale (K_{max}) ≥ 1 dioptrie sur 1 an
- Une augmentation du cylindre ≥ 1 dioptrie
- La nécessité de ré-adapter la lentille de contact
- Une baisse d'acuité visuelle

La modification documentée du K_{max} est le principal paramètre de progression utilisé, préférentiellement mesuré par topographie cornéenne, dans les mêmes conditions, de retrait de lentille notamment, et au mieux avec le même appareil pour la reproductibilité des mesures.

Une pachymétrie $< 400 \mu\text{m}$ contre-indique la réalisation du cross-linking.

Le kératocône chez l'enfant est connu pour être une forme plus agressive et évolutive que chez l'adulte. L'étude Siena a analysé 152 patients âgés entre 10 et 18

ans ayant bénéficié d'un cross-linking dans le cadre d'un kératocône évolutif. Les résultats montrent qu'il y a eu une amélioration fonctionnelle dans 80% des cas à 3 ans et une aggravation du kératocône chez 4,6% des patients. Cela traduisait l'agressivité de la maladie dans cette population. Ainsi le cross-linking serait très efficace chez les moins de 18 ans.

En raison du pronostic péjoratif de la maladie et du recours fréquent à une greffe de cornée lorsque le kératocône est découvert précocement, le consensus international est de traiter un enfant dès sa découverte en raison du risque important de progression rapide. En l'absence de traitement, la surveillance devra être rapprochée tous les 3 à 4 mois.

1. Autres applications du cross-linking

Le cross-linking peut être utilisé dans d'autres pathologies que le kératocône.

Il peut être utile pour les cas de dégénérescence marginale pellucide, d'ectasie post LASIK, de kératite infectieuse ou de kératopathie bulleuse.

MATERIELS ET METHODES

Il s'agissait d'une étude observationnelle rétrospective des patients ayant eu un kératocône évolutif traité par cross-linking dans le Service d'Ophtalmologie du CHRU de Lille entre Février 2010 et Septembre 2014.

A partir d'Avril 2014, les patients étaient traités par cross-linking accéléré. Avant cette période, ils étaient traités par cross-linking conventionnel.

Cette étude comparative étudiait l'efficacité à 1 an du protocole accéléré de cross-linking versus cross-linking conventionnel dans le traitement du kératocône évolutif.

Les deux groupes comparés étaient un groupe de « cas » ayant eu un cross-linking accéléré entre Avril 2014 et Septembre 2014 versus un groupe de « témoins » ayant eu un cross-linking classique entre Février 2010 et Avril 2014, appariés selon l'âge.

L'objectif de l'étude était de voir si le traitement préventif du kératocône évolutif par cross-linking accéléré était aussi efficace et sûr que le protocole standard.

I. OBJECTIFS

L'objectif principal était de comparer l'efficacité sur la variation du Kmax à 1 an, du cross-linking accéléré par rapport au cross-linking conventionnel (gold standard du traitement du kératocône évolutif).

Les objectifs secondaires étaient de suivre la variation du Kmax à 3 mois, 6 mois, un an du traitement, d'évaluer l'impact fonctionnel et l'évolution des cornées après ces différents protocoles (évolution de l'AV, de la pachymétrie, du comptage endothélial, du haze), d'évaluer la tolérance (douleur) et d'évaluer les modifications HRT et la profondeur de la ligne de démarcation à l'OCT, témoins indirects de l'efficacité du traitement.

II. LES SUJETS

La sélection de la population de l'étude s'est faite comme suit :

- Dans le groupe cross-linking classique nous avons recueilli les données des patients ayant été traités entre Février 2010 et Mars 2013. A partir d'Avril 2013, les patients ont été exclus d'emblée car la topographie de contrôle à 1 an n'était pas réalisée avec le même appareil qu'en pré-opératoire, ce qui pouvait entraîner un biais sur le critère de jugement principal (variation du Kmax). De même les dossiers de patients dont le suivi n'a pas pu être complet n'ont pas été retenus.
- Dans le groupe cross-linking accéléré nous avons recueilli les données des patients ayant été traités entre Avril 2014 et Septembre 2014. Les dossiers de patients dont le suivi n'a pas pu être complet n'ont pas été retenus.

A. Critères d'inclusion

- Présence d'un kératocône avéré évolutif, avec progression du Kmax > 1D en moins d'un an
- Kératocône de stade I, II et III de Krumeich (stade III retenu sur la kératométrie > 53D, avec pachymétrie > 400 μ m)
- Pachymétrie > 400 μ m
- Consentement recueilli
- Suivi possible
- Pas de contre-indication au cross-linking

B. Critères d'exclusion

- pachymétrie < 400 μ m
- opacités cornéennes
- antécédents de kératite herpétique

- sécheresse sévère
- infection cornéenne active
- maladie auto-immune
- grossesse ou allaitement
- pose d'anneaux intra cornéens
- greffe de cornée

C. Critères de non inclusion :

- suivi impossible
- suivi < 6 mois
- topographie de mauvaise qualité
- topographies non comparables (réalisées sur un appareil différent entre le début et la fin du suivi)
- topographie pré-opératoire datant de > 3 mois

2 groupes de 32 patients ont ainsi été formés :

- Groupe XLC : patients « témoins » c'est à dire ayant eu un cross-linking classique entre Février 2010 et avril 2014, appariés selon l'âge inférieur ou supérieur à 18 ans (appariement de fréquence)
- Groupe XLA : cross-linking accéléré (réalisé entre Avril 2014 et Septembre 2014)

III. LA METHODE

A. Déroulement de l'intervention

Quel que soit le protocole utilisé, le traitement était réalisé au bloc opératoire, en conditions stériles. Le patient recevait, 1 heure avant et 30 minutes avant le début de la procédure, une goutte de pilocarpine 2%. Une goutte de lidocaïne était instillée dans l'œil à traiter. Un blépharostat était ensuite installé.

Le cross-linking classique se déroulait comme suit (technique standard décrite par Wollensak et al) : ablation de l'épithélium, administration de riboflavine topique 0,1% (Ricrolin®) toutes les 2 minutes pendant 30 min pour une pénétration stromale, puis irradiation par UV-A à 3 mW/cm² pendant 30 minutes sur les 8 mm centraux. Pendant l'irradiation, une goutte de Ricrolin® était instillée toutes les 5 minutes. La durée totale de l'intervention était donc de 1 heure.

Le cross-linking accéléré se déroulait comme suit : ablation de l'épithélium, administration de riboflavine topique 0,1% (Ricrolin®) pendant 30 minutes (toutes les 2 minutes) pour une pénétration stromale puis irradiation par UV-A à 10 mW/cm² pendant 9 minutes sur les 8 mm centraux. Pendant l'irradiation, une goutte de Ricrolin® était instillée toutes les 2 minutes. La durée totale de l'intervention était donc de 39 min.

En fin de procédure, quel que soit le protocole utilisé, la surface oculaire était nettoyée à l'aide de sérum physiologique, une goutte d'antibiotique était instillée et une lentille pansement était mise en place jusqu'à ré-épithélialisation.

Le traitement post-opératoire comprenait un antibiotique local (Ofloxacine) pendant 5 jours, un corticoïde local (Dexaméthasone) pendant 15 jours et des agents mouillants en gel pendant 1 mois.

Les interventions étaient réalisées par 2 opérateurs expérimentés.

Des informations complètes sur la technique chirurgicale, les bénéfices attendus, les complications étaient données aux patients avant l'intervention.

Un consentement éclairé était remis en main propre aux patients majeurs et aux tuteurs légaux pour les mineurs.

B. Suivi

Il s'échelonnait sur un an.

7 consultations étaient réalisées tout au long du suivi dans les deux groupes : une consultation pré-opératoire, une consultation à 3 jours (J3) et 8 jours (J8) à la recherche de complications précoces et pour ablation de la lentille pansement, une consultation à 1 mois post opératoire (M1), à 3 mois post opératoire (M3), à 6 mois post opératoire (M6) et à 1 an post opératoire (A1).

Les examens réalisés étaient, selon les consultations (Tableau 1) : réfraction et kératométrie, meilleure acuité visuelle corrigée, examen en lampe à fente, analyse topographique (Orbscan II, Bausch et Lomb) avec étude du Kmax et du SimK (kératométrie simulée) dans les 3 mm centraux, pachymétrie ultrason, comptage endothélial par microscopie spéculaire, analyse de la cornée par microscopie confocale avec HRT II, OCT de cornée (OCT Cirrus HD-OCT Spectral Domain, Zeis). A J3 et J8, seul un examen en lampe à fente était réalisé.

	AV	Topographie	Pachymétrie US	Comptage endothélial	HRT	OCT cornée
Pré-opératoire	X	X	X	X	X	X
J3						
J8						
M1 post-opératoire	X	X			X	X
M3 post-opératoire	X	X			X	X
M6 post-opératoire	X	X				
1 an post-opératoire	X	X	X	X	X	

Tableau 1 : Suivi des patients traités

C. Critère de jugement principal

Il correspondait à la variation de la Kératométrie maximale centrale (Kmax), mesurée par topographie à 1 an post-opératoire. Le kératocône était considéré comme s'aggravant si la variation du Kmax (Δ Kmax) était > 1 D, s'améliorant si Δ Kmax > -1 D, stable si -1 D $\leq \Delta$ Kmax ≤ 1 D.

D. Critères secondaires

Il s'agissait de la variation de : l'AV (à J0, M3, M6, A1), du SimK (à J0, M3, M6, A1), de la pachymétrie (à J0, A1), du nombre de cellules endothéliales (à J0 et A1), de la durée de la douleur, de la durée du haze, de la profondeur de la ligne de démarcation en OCT (uniquement mesurée dans le groupe protocole accéléré).

IV. ANALYSE DES DONNEES

L'analyse statistique a été réalisée par l'équipe de biostatistique du CHRU de Lille. Elle a été réalisée grâce au logiciel SAS.

L'étude de la comparabilité initiale des groupes a été réalisée pour les paramètres : sexe, stade du kératocône, âge, mais aussi pour le Kmax, l'acuité visuelle, le comptage endothélial et la pachymétrie pré-opératoires. L'analyse statistique pour chaque paramètre est décrite dans le tableau 2.

Les résultats des âges sont exprimés en moyenne \pm déviation standard.

L'analyse statistique concernant le critère de jugement principal a été réalisée selon une méthode d'analyse de variance en mesures répétées.

L'analyse des critères secondaires était :

- Pour le SimK : analyse de variance en mesures répétées
- Pour l'acuité visuelle, la pachymétrie, le comptage endothélial : test de Wilcoxon par échantillon indépendant (effet temps) et test de Mann Whitney (effet groupe et effet temps*groupe)
- Pour la durée du haze et de la douleur : test de Mann Whitney

Une valeur de p inférieure à 0,05 était considérée comme statistiquement significative.

RESULTATS

I. CARACTERISTIQUES DES GROUPES

Nous avons inclus 64 yeux de 58 patients. 32 yeux dans le groupe cross-linking classique (XLC) et 32 yeux dans le groupe cross-linking accéléré (XLA). Nous avons réalisé un appariement de fréquence selon la classe d'âge des patients au moment du cross-linking, supérieure ou inférieure à 18 ans.

Entre Avril et Septembre 2014, 49 cross-linking accélérés ont été réalisés dans le service d'ophtalmologie du CHRU de Lille. Parmi les 49 yeux, 17 n'ont pas été inclus en raison d'un suivi insuffisant.

A. Descriptif général de la population :

Sur les 58 patients inclus, il y avait 42 hommes et 16 femmes soit respectivement 72% et 28% de la population.

20% des yeux étaient atteints d'un kératocône de stade 1 (classification de Krumeich), 39% présentaient un kératocône de stade 2, et 41% avaient un kératocône de stade 3.

Dans chaque groupe il y avait 6 yeux de patients mineurs et 26 yeux de patients majeurs. L'âge moyen de la population était de $22,7 \pm 6,1$ ans, l'âge médian était de 21 ans. Le patient le plus âgé avait 41 ans, le plus jeune avait 12 ans.

B. Comparabilité initiale des groupes :

Le groupe XLC était composé de 78% d'hommes et de 22% de femmes et le groupe XLA de 66% et 34%, respectivement. Il n'y avait pas de différence significative entre les groupes (Tableau 2).

L'âge moyen des patients du groupe XLC était de $21,9 \pm 5,7$ ans avec une médiane de 20,5 ans. Dans le groupe XLA il était de $23,6 \pm 6,4$ ans avec une médiane de 21 ans. L'âge moyen du groupe XLA était de $23,6 \pm 6,4$ ans avec une médiane de 22 ans. Les deux groupes n'étaient pas significativement différents (Tableau 2).

Concernant le stade du kératocône (classification de Krumeich), le groupe XLC comportait 13% de stade 1, 34% de stade 2 et 53% de stade 3. Le groupe XLA était composé de deux fois plus de stade 1 (28%), deux fois moins de stade 3 (28%) et 44% de stade 2. Une différence significative était retrouvée pour ce critère (Tableau 2).

La valeur du Kmax pré-opératoire était en moyenne de $52,5 \pm 3,7$ D dans le groupe XLC et $50,6 \pm 4,2$ D dans le groupe XLA. Il n'existait pas de différence significative entre les groupes mais une tendance ($p=0,063$).

Il n'existait pas de différence significative d'acuité visuelle initiale entre les deux groupes (Tableau 2).

	XLC	XLA	valeur-p	test
âge (années) (min-max)	21,94 (12-34)	23,6 (14-41)	0,29	Student
sexe (H;F)	25 ; 7	21 ; 11	0,27	Chi 2
stade (1 ; 2 ; 3)	4 ; 11 ; 17	9 ; 14 ; 9	0,03	Chi 2 Mantel-Haenszel
AV pré-opératoire (dixième)	0,69	0,74	0,45	Mann Whitney
K max pré-opératoire (D)	52,5	50,6	0,06	Student
SimK pré-opératoire (D)	5,8	5,3	0,34	Student
pachymétrie pré-opératoire (micromètres)	466,7	471,8	0,67	Mann Whitney
comptage endothélial pré-opératoire (n cellules)	2642	2618	0,8	Student

Tableau 2 – Caractéristiques démographiques, cliniques et topographiques initiales des patients des groupes XLC et XLA

AV, acuité visuelle corrigée ; D, dioptrie ; F, femme ; H, homme ; Kmax, kératométrie maximale, SimK, kératométrie simulée

II. Efficacité du traitement

L'efficacité du traitement pour les deux groupes était définie par la stabilité ou la diminution de la kératométrie maximale (Kmax) à un an (Tableau 3). Le kératocône était considéré comme stable si la variation du Kmax ne dépassait pas une dioptrie à un an. L'amélioration était définie par une diminution du Kmax de plus d'une dioptrie à un an et l'aggravation par une augmentation du Kmax de plus d'une dioptrie à un an.

Fréquence	XLC	XLA	Total
Aggravation	3	2	5
Stabilité	14	22	36
Amélioration	15	8	23
Total	32	32	64

Tableau 3 : Variation du Kmax à 1 an : aggravation si $\Delta K_{max} > 1D$, amélioration si $\Delta K_{max} > -1D$, stabilité si $-1D \leq \Delta K_{max} \leq 1D$

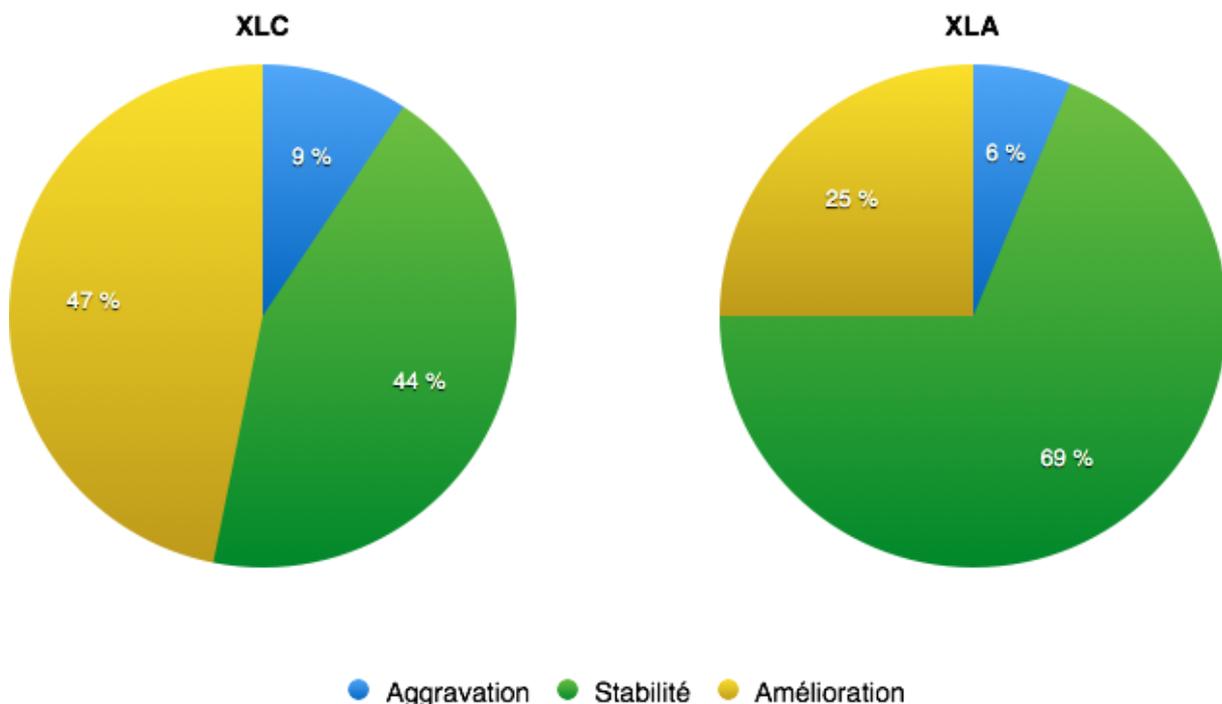


Figure 17 : Efficacité du traitement dans les deux groupes de patients

Le traitement XLC a été efficace pour 29 yeux alors que le traitement XLA l'a été pour 30 yeux soit une efficacité de 91 et 94%, respectivement. Trois yeux ont progressé dans le groupe XLC versus deux yeux dans le groupe XLA (Tableau 3).

Par contre, l'amélioration ($\Delta K_{max} > -1D$) était plus fréquente dans le groupe XLC que dans le groupe XLA (47% versus 25%) qui avait plus de patients stables (69% pour le XLA versus 44% pour le XLC) (Figure 17).

Dans chaque groupe, il existait une différence significative entre le K_{max} à J0 et le K_{max} à un an ($p=0,01$ dans le groupe XLC ; $p=0,02$ dans le groupe XLA). Cette différence correspondait à une diminution du K_{max} après traitement (Tableau 4).

Il n'y avait pas de différence significative d'évolution du K_{max} à 1 an entre les deux groupes ($p=0,21$, analyse de variance en mesure répétée).

III. Evolution du K max au cours du temps

Groupe	Temps	N Obs	N	Moyenne	DS	Min	Quartile inf	Médiane	Quartile sup	Max
XLC	0	32	32	52,52	3,73	45	49,65	53,20	55,10	58,20
	3	32	29	51,88	4,48	42,90	48,70	50,90	54,60	61
	6	32	26	51,90	3,80	44,80	49,20	51,95	54,20	61,30
	12	32	32	51,87	4,02	43,70	49,55	51,55	54,05	60,30
XLA	0	32	32	50,64	4,20	42,20	47,90	50,50	53,60	60,40
	3	32	31	50,17	4,04	41,70	47,60	49,90	52,60	58,70
	6	32	29	49,62	3,35	42,20	48,00	49,30	52,70	56,40
	12	32	32	50,02	3,74	42,50	47,45	49,80	53,00	57,80

Tableau 4 : Evolution du K_{max} des yeux des groupes XLC et XLA 3, 6 et 12 mois après le crosslinking - *N Obs*, nombre d'yeux inclus ; *N*, nombre d'yeux recueillis ; *DS*, déviation standard ; *Min*, valeur minimale ; *Quartile inf*, Quartile inférieur ; *Quartile sup*, Quartile supérieur ; *Max*, valeur maximale

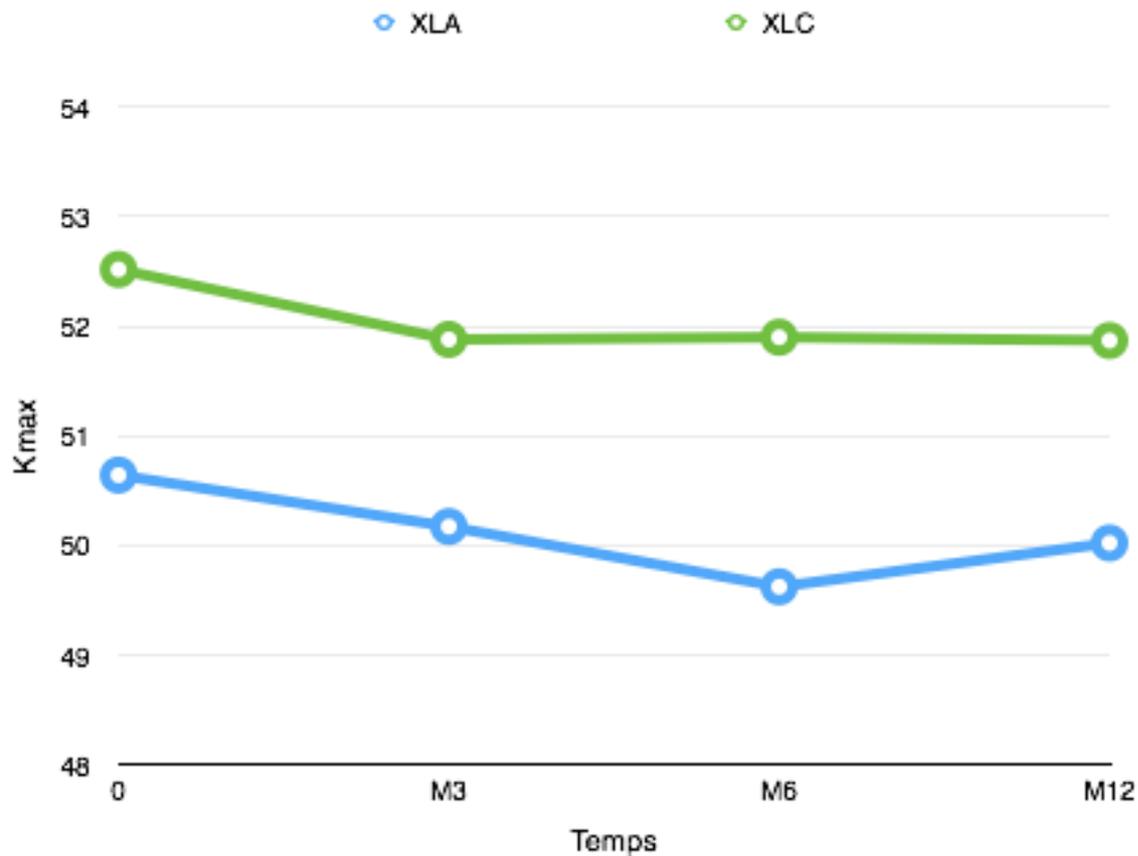


Figure 18 : Evolution des valeurs moyennes de Kmax après le cross-linking classique (vert) et accéléré (bleu)

La valeur moyenne du Kmax des yeux du groupe XLC était de 52,52 D en pré-opératoire et diminuait à 51,87 D un an après et les yeux du groupe XLA passaient d'une valeur de Kmax moyen de 50,64 D en pré-opératoire à 50,02D 1 an après (Tableau 4, Figure 18). Une analyse statistique a permis de montrer que cette évolution du Kmax était significative au temps 3 mois après le jour du cross-linking et ce quelque soit la technique utilisée ($p=0.011$ et $p=0.024$ pour les groupes XLC et XLA, respectivement). Ensuite et avec les deux techniques, il n'y avait plus d'évolution significative du Kmax, ni entre les temps 3 et 6 mois, ni entre les temps 6 et 12 mois, même s'il était à noter dans le groupe XLA une légère diminution du Kmax entre 3 et 6 mois et une légère augmentation entre 6 et 12 mois. A noter également que quelques valeurs de Kmax étaient manquantes aux temps 3 mois et 6 mois ($n=3$ et $n=6$ dans le groupe XLC et $n=1$ et $n=3$ dans le groupe XLA, respectivement) (Tableau 4).

IV. Evolution fonctionnelle : acuité visuelle

Groupe	Temps	N Obs	N	Moyenne	DS	Min	Quartile inf	Médiane	Quartile sup	Max
XLC	0	32	32	0,69	0,3	0,2	0,4	0,7	1	1
	3	32	28	0,65	0,3	0,1	0,4	0,6	1	1
	6	32	28	0,66	0,29	0,2	0,4	0,7	0,95	1
	12	32	32	0,73	0,27	0,2	0,5	0,8	1	1
XLA	0	32	32	0,74	0,27	0,2	0,5	0,8	1	1
	3	32	29	0,64	0,31	0,1	0,4	0,7	0,9	1
	6	32	30	0,66	0,25	0,2	0,5	0,7	0,8	1
	12	32	31	0,73	0,28	0,2	0,5	0,8	1	1

Tableau 5 : Evolution de l'acuité visuelle des yeux des groupes XLC et XLA 3, 6 et 12 mois après le crosslinking - *N Obs*, nombre d'yeux inclus ; *N*, nombre d'yeux recueillis ; *DS*, déviation standard ; *Min*, valeur minimale ; *Quartile inf*, Quartile inférieur ; *Quartile sup*, Quartile supérieur ; *Max*, valeur maximale

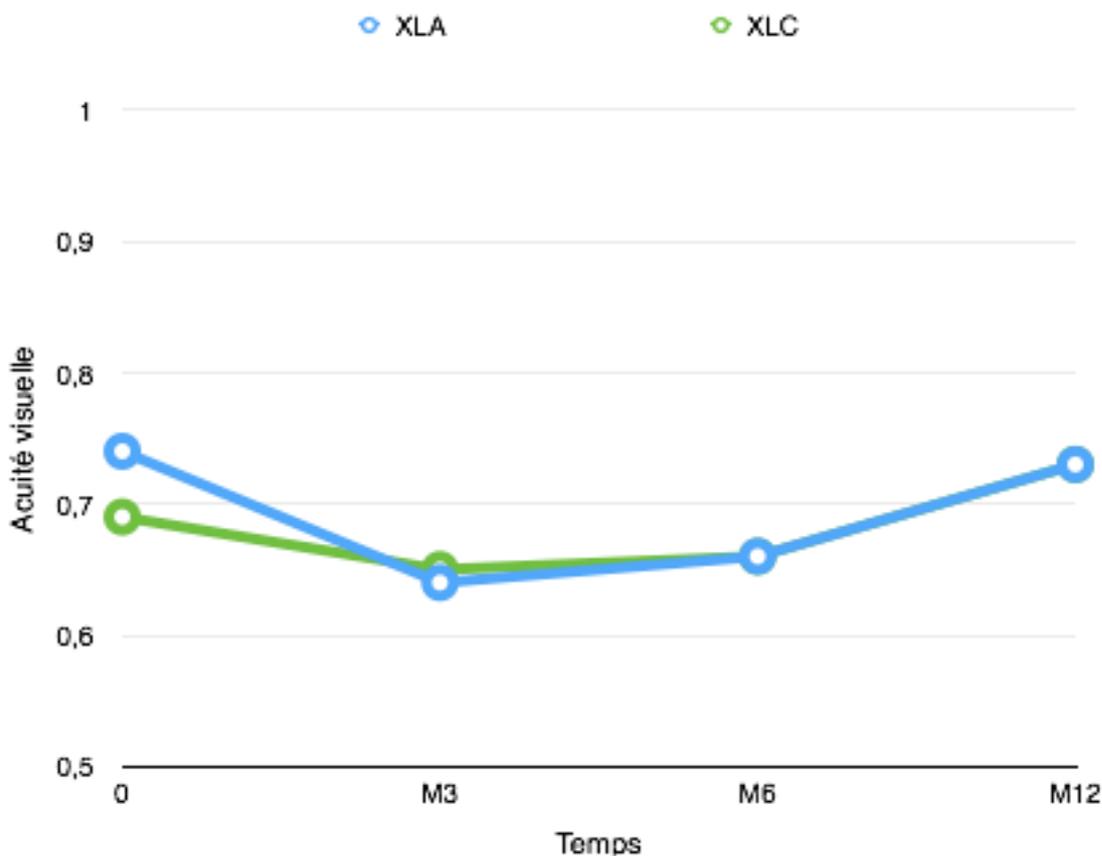


Figure 19 : Evolution des valeurs moyennes d'acuité visuelle après le crosslinking classique (vert) et accéléré (bleu).

De façon générale, et pour les yeux des groupes XLC et XLA, l'acuité visuelle avait tendance à diminuer au cours des 3 mois post-opératoire et à remonter ensuite pour récupérer son niveau initial un an après l'intervention (Figure 19).

Quelque soit le temps après le cross-linking il n'existait pas de différence significative entre l'acuité visuelle des yeux des groupes XLC et XLA (test de Mann Whitney) (Tableau 5).

V. Evolution de la kératométrie simulée

Groupe	Temps	N Obs	N	Moyenne	DS	Min	Quartile inf	Médiane	Quartile sup	Max
XLC	0	32	32	5,76	2,11	2,4	4,35	5,4	7,2	11,4
	3	32	29	5,66	2,50	1,4	4,1	5,2	7,1	14
	6	32	26	5,35	1,86	2,3	4,2	5,1	6,6	9,4
	12	32	31	5,50	2,17	1,7	4	5,2	7	10
XLA	0	32	32	5,27	1,98	2,1	3,4	5,55	7	8,8
	3	32	31	5,27	2	2	3,7	5,1	6,9	9
	6	32	29	4,78	2	0,7	3,6	4,6	6,4	9
	12	32	32	5,30	2,69	1,2	3,35	4,8	6,45	14,9

Tableau 6 : Evolution de la kératométrie simulée des yeux des groupes XLC et XLA 3, 6 et 12 mois après le crosslinking - *N Obs*, nombre d'yeux inclus ; *N*, nombre d'yeux recueillis ; *DS*, déviation standard ; *Min*, valeur minimale ; *Quartile inf*, Quartile inférieur ; *Quartile sup*, Quartile supérieur ; *Max*, valeur maximale

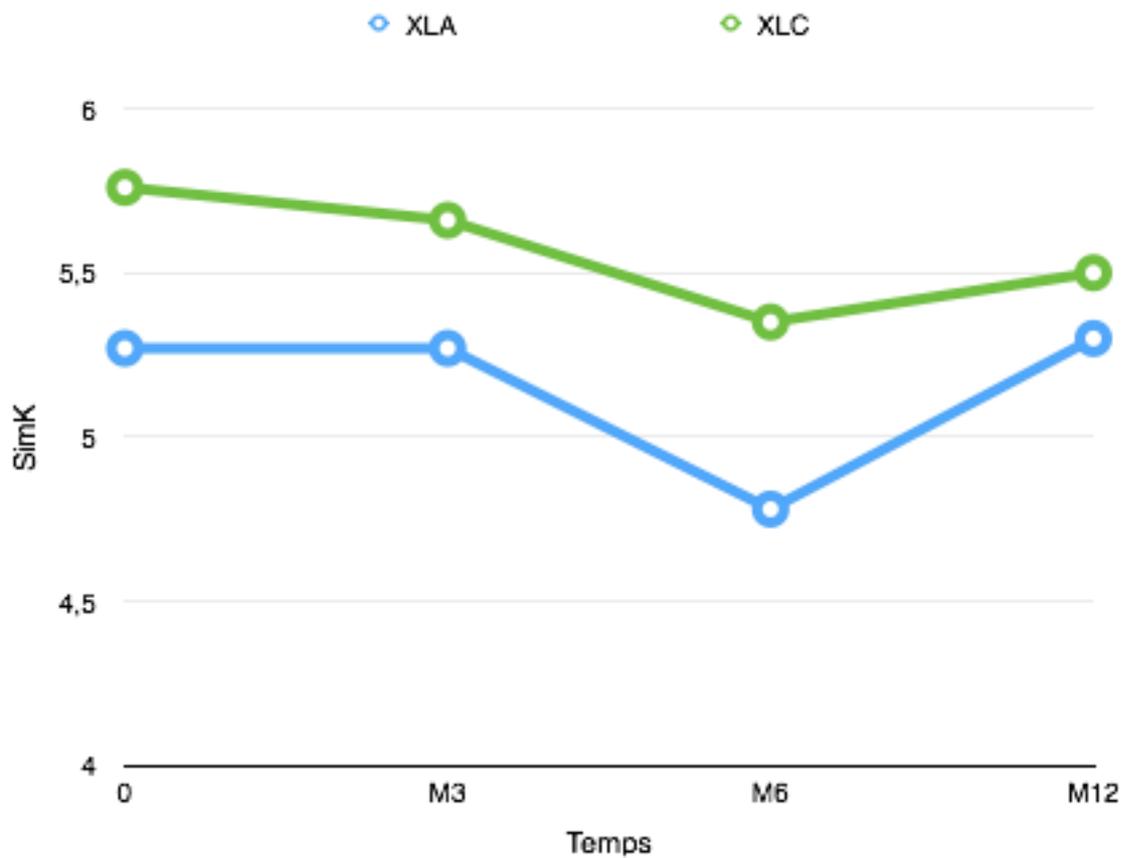


Figure 20 : Evolution des valeurs moyennes de kératométrie simulée après le crosslinking classique (vert) et accéléré (bleu).

La kératométrie simulée ou SimK correspond à l'astigmatisme simulé cornéen dans les 3 mm centraux. Une légère baisse des valeurs moyennes de SimK était observée 6 mois après le cross-linking classique et accéléré (Figure 20).

Cependant il n'y avait pas d'effet significatif du temps ni de la technique utilisée sur ce paramètre ($p = 0,11$ et $p=0,5$ respectivement) (Tableau 6).

VI. Evolution de la pachymétrie mesurée par ultrasons

Groupe	Temps	N Obs	N	Moyenne	DS	Min	Quartile inf	Médiane	Quartile sup	Max
XLC	0	32	32	466,7	31,23	415	450	462,5	471,5	581
	12	32	19	476,7	39,31	410	450	468	517	543
XLA	0	32	32	471,8	44,36	403	437,5	470	503	560
	12	32	31	468,2	34,78	414	444	465	495	532

Tableau 7: Evolution de la pachymétrie des yeux des groupes XLC et XLA 12 mois après le crosslinking - *N Obs*, nombre d'yeux inclus ; *N*, nombre d'yeux recueillis ; *DS*, déviation standard ; *Min*, valeur minimale ; *Quartile inf*, Quartile inférieur ; *Quartile sup*, Quartile supérieur ; *Max*, valeur maximale

Les valeurs de la pachymétrie du groupe XLA mesurée par ultrasons étaient comparables avant et 1 an après l'intervention (Tableau 7). Il n'y avait pas de différence significative entre les groupes de traitement ($p=0,39$).

Il manquait beaucoup de données pachymétriques à un an dans le groupe XLC.

VII. Le comptage des cellules endothéliales

Groupe	Temps	N Obs	N	Moyenne	DS	Min	Quartile inf	Médiane	Quartile sup	Max
XLC	0	32	31	2642	370,4	2100	2300	2500	2900	3400
	12	32	24	2665	389,6	1950	2300	2650	3000	3400
XLA	0	32	30	2618	357,7	1900	2400	2620	2800	3500
	12	32	28	2628	228,2	1996	2509	2694	2773	3075

Tableau 8: Evolution du nombre de cellules endothéliales dans la rétine des yeux des groupes XLC et XLA 12 mois après le crosslinking - *N Obs*, nombre d'yeux inclus ; *N*, nombre d'yeux recueillis ; *DS*, déviation standard ; *Min*, valeur minimale ; *Quartile inf*, Quartile inférieur ; *Quartile sup*, Quartile supérieur ; *Max*, valeur maximale

Le nombre moyen de cellules endothéliales dans la cornée était comparable avant et 12 mois après le crosslinking et ce quelle que soit la technique utilisée (Tableau 8).

Il n'existait pas de différence significative au niveau du comptage endothélial entre les deux groupes ($p=0,92$).

VIII. Analyse des modifications en microscopie confocale

A. Au niveau du stroma antérieur

	XLC	XLA
J0		
M1		
M3		
A1		

Tableau 9 : microscopie confocale du stroma antérieur avant et après cross-linking classique et accéléré chez deux de nos patients. (CHRU Lille)

Un mois après le traitement, nous observions un œdème stromal (lacunes) associé à un tissu hyperdense trabéculaire entourant les zones œdémateuses. Le stroma prenait un aspect en rayon de miel (Tableau 9, M1). Nous observions également une apoptose kératocytaire avec absence de kératocytes jusqu'à la profondeur de stroma traitée (profondeur d'imprégnation de la riboflavine).

En général, cette profondeur était observée entre 250 et 350 μm chez nos patients traités par cross-linking conventionnel et plutôt entre 150 et 250 μm après cross-linking accéléré. Ce niveau correspondrait à l'équivalent de la ligne de démarcation observée à l'OCT, soit à la profondeur d'efficacité du traitement (118).

A 3 mois post-opératoire, l'œdème stromal avait diminué et le renouvellement kératocytaire avait débuté. Effectivement, nous observions des kératocytes activés, avec un noyau kératocytaire apparent, entourés d'une matrice extra-cellulaire hyper-réfléctive repeuplant le stroma antérieur (Tableau 9, M3).

A un an, la densité kératocytaire était quasiment revenue à la normale. Il persistait un tissu extracellulaire dense (Tableau 9, A1).

Hormis la profondeur d'apoptose kératocytaire, l'effet du cross-linking observé sur le stroma antérieur était le même dans les deux groupes de traitement (Tableau 9).

B. Au niveau du stroma postérieur

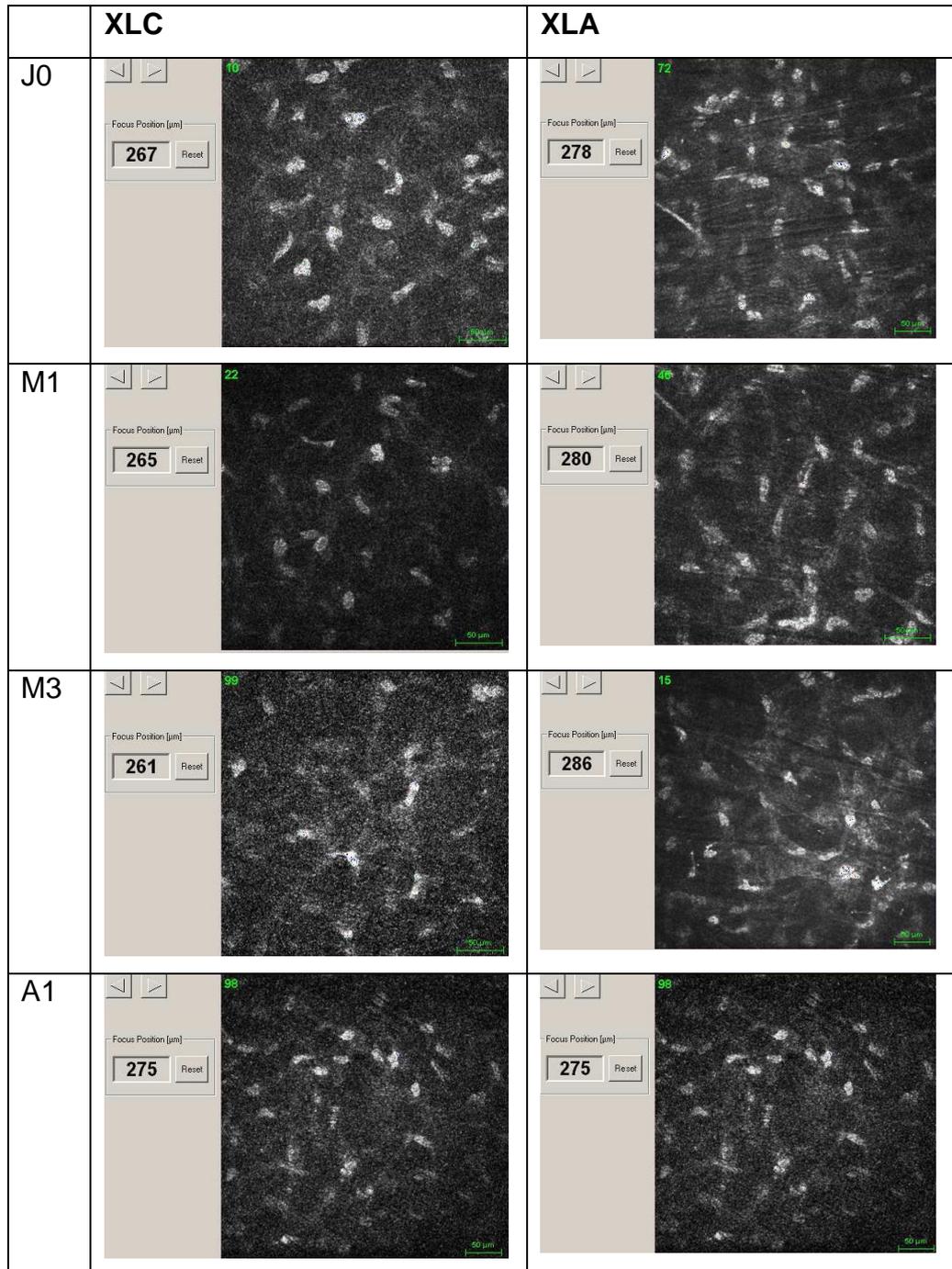


Tableau 10 : microscopie confocale du stroma profond avant et après cross-linking classique et accéléré chez deux de nos patients. (CHRU Lille)

Nous ne retrouvons pas d'effet du cross-linking sur le stroma postérieur, et ce dans les deux groupes de traitement (Tableau 10).

IX. Ligne de démarcation à l'OCT

Groupe	N Obs	N	Moyenne	DS	Min	Quartile inf	Médiane	Quartile sup	Max
XLA	32	22	203,5	44,48	132	172	198	232	288

Tableau 11 : Mesure de la profondeur de ligne de démarcation en μm dans le groupe XLA 1 mois après le crosslinking - *N Obs*, nombre d'yeux inclus ; *N*, nombre d'yeux recueillis ; *DS*, déviation standard ; *Min*, valeur minimale ; *Quartile inf*, Quartile inférieur ; *Quartile sup*, Quartile supérieur ; *Max*, valeur maximale

La profondeur moyenne de la ligne de démarcation mesurée dans le groupe XLA était de 203,5 μm . La profondeur de ligne allait de 132 μm au minimum à 288 μm au maximum (Tableau 11). La mesure n'a pas été réalisée dans le groupe XLC.

L'examen a été réalisé chez tous les patients XLA mais la ligne n'était pas observée chez 10 patients sur les 32.

La ligne était à chaque fois observée 1 mois après le traitement. A 3 mois post opératoire, il n'existait plus de ligne de démarcation.

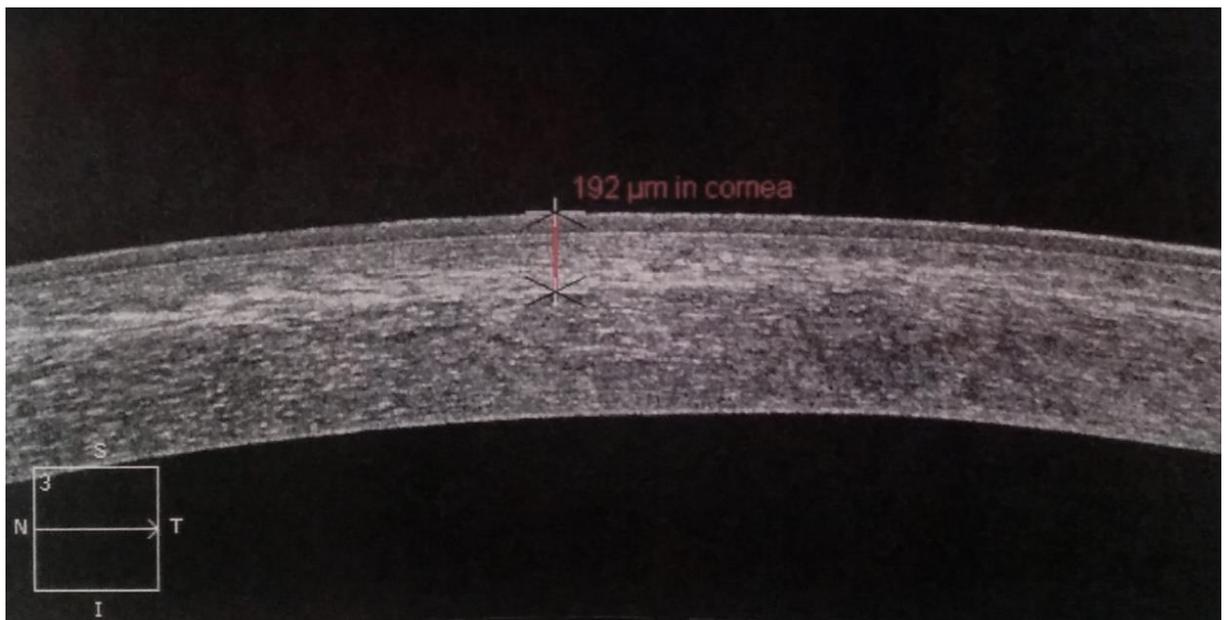


Figure 21 : ligne de démarcation visible à l'OCT. (CHRU Lille)

X. Complications

Groupe	Complication post op	N Obs	N	Moyenne	DS	Min	Quartile inf	Médiane	Quartile sup	Max
XLC	haze	32	32	57,25	75,24	3	8	30	90	360
	douleur	32	32	2,41	2,06	1	1	1	3	8
XLA	haze	32	32	29,5	45,03	3	5,5	8	30	180
	douleur	32	31	2,32	1,51	0	1	3	3	8

Tableau 12 : Complications post-opératoires dans les deux groupes : durée du haze cornéen et durée de la douleur post-opératoire (en jours) - *N Obs*, nombre d'yeux inclus ; *N*, nombre d'yeux recueillis ; *DS*, déviation standard ; *Min*, valeur minimale ; *Quartile inf*, Quartile inférieur ; *Quartile sup*, Quartile supérieur ; *Max*, valeur maximale

A. Haze

Dans le groupe XLA, le haze durait moins longtemps que dans le groupe XLC, soit en moyenne 29,5 jours et 57,25 jours respectivement. La durée maximale du haze cornéen chez les XLC était de 1 an et elle était de 6 mois chez les XLA. La médiane était de 30 jours pour le groupe XLC et 8 jours pour le groupe XLA (Tableau 12).

Il existait une différence significative sur la durée du haze entre les 2 groupes ($p=0,013$).

B. Douleur

En moyenne, la douleur post-opératoire était de 2,4 jours pour un XLC et de 2,3 jours pour un XLA (Tableau 12).

Il n'existait pas de différence significative sur la durée de la douleur post-opératoire entre les 2 groupes.

C. Autres

Dans le groupe XLC, nous avons recueilli deux cas d'opacités post opératoires. Un cas avec une opacité centrale importante responsable d'une baisse d'acuité visuelle notable et un autre cas avec deux petites opacités sans baisse d'acuité visuelle. 3 patients avaient un haze très dense à 1 mois du traitement, ayant régressé sous anti-inflammatoires.

Dans le groupe XLA, nous avons recueilli un cas ayant présenté de fines opacités centrales avec baisse d'acuité visuelle modérée. 2 patients ont présenté un haze très dense à 1 mois du cross-linking, résolutif après traitement.

Il n'y a eu aucun cas d'infection cornéenne quel que soit le groupe de traitement.

DISCUSSION

De nombreuses expériences précliniques et études cliniques ont montré que la combinaison d'une irradiation aux UV-A et de la riboflavine était capable de cross-linker le collagène stromal de la cornée et était une procédure efficace pour ralentir la progression du kératocône. Dans la procédure conventionnelle décrite par Wollensak (2), l'œil traité par la riboflavine est irradié par une source de lumière à 365 nm à la dose de 3 mW/cm² pendant 30 minutes, ce qui correspond à une dose cumulée de 5.4 J/cm. Spoerl et al. ont démontré que cette intensité est bien inférieure à la limite provoquant des lésions sur l'endothélium cornéen, l'iris et la rétine (86).

La loi de réciprocité de Bunsen Roscoe ayant démontré que l'effet du cross-linking dépendait de l'énergie des UV-A absorbée et que leur effet biologique était proportionnel à l'énergie totale délivrée aux tissus (3,5,91), des tentatives ont été faites pour augmenter l'intensité des UV-A et réduire le temps d'exposition tout en gardant la dose cumulative en dessous des seuils de sécurité. Ces protocoles ont été appelés « cross-linking accélérés » car ils permettaient une réduction de la durée de la procédure (5).

Des études chez le porc in vivo avec des irradiations entre 3 et 90 mW/cm² allant de 30 minutes à 1 minute respectivement, ont montré que des irradiations jusqu'à 45 mW/cm² pendant 2 minutes produisaient des cornées plus rigides que des cornées contrôles non traitées (5). Une étude clinique comparant 21 patients traités avec un protocole accéléré (7mW/cm² pendant 15 min) dans un œil et un protocole standard dans l'autre œil, n'a montré aucune progression du kératocône pour l'ensemble des yeux traités (13). Une autre étude de 23 patients subissant un cross-linking encore plus rapide (9 mW/cm² pendant 10 minutes) a également montré des résultats favorables et une sécurité endothéliale 6 mois après l'intervention (9). Plus récemment, une étude prospective randomisée a comparé le protocole standard avec plusieurs protocoles accélérés (19). Après 12 mois de suivi, de meilleurs résultats visuels, réfractifs et topographiques ont été trouvés avec les protocoles 3 mW/cm²-30 minutes (conventionnel), 9 mW/cm²-10 minutes et 18 mW/cm²-5 minutes par rapport au protocole 30 mW /cm²-3 minutes. Ces résultats suggèrent que, chez

l'homme, un ratio efficacité/sécurité maximal n'est obtenu que si l'irradiation est inférieure à 20 mW/cm² et dure au moins 5 minutes.

Dans le Service d'Ophtalmologie du CHU de Lille, le protocole accéléré a été réalisé avec une irradiation de 10 mW/cm² pendant 9 minutes depuis Avril 2014. Nous avons comparé dans cette étude rétrospective si ce protocole accéléré donnait des résultats équivalents au protocole conventionnel pratiqué dans le Service auparavant (3 mW/cm² pendant 30 minutes) et aux résultats décrits dans la littérature avec des irradiations équivalentes.

Dans notre étude, il existait une variabilité initiale des groupes en termes de Kmax, SimK, acuité visuelle, pachymétrie et comptage endothélial, qui est restée constante au cours du suivi.

Le traitement conventionnel et le traitement accéléré ont eu après 1 an de suivi, une efficacité équivalente, de 91 et 94%, respectivement, en terme de diminution de Kmax. Des études qui comparaient des protocoles similaires ont rapporté des résultats équivalents (14,19,20). Cependant dans notre étude, le groupe XLC ayant subi l'irradiation standard comportait plus de patients améliorés en terme de Kmax (diminution de plus d'1 D) que le groupe XLA qui lui comprenait plus de patients stables ($-1D \leq \Delta K_{max} \leq 1D$).

Dans chaque groupe de traitement, il existait une baisse significative du Kmax à un an ($p=0,01$ pour le XLC et $p=0,02$ pour le XLA) et il n'y avait pas de différence statistiquement significative entre les deux groupes ($p>0,05$). Il est intéressant de noter que la diminution du Kmax devenait significative dès 3 mois, et ce, quel que soit le protocole utilisé. Nous n'avons pas retrouvé d'études décrivant cet effet précoce à 3 mois car les auteurs n'étudiaient l'effet qu'à partir de 6 mois ou un an. L'équipe de Shetty rapportait un effet topographique déjà significatif à 6 mois dans les deux groupes (19). L'équipe de Ng, elle, retrouvait une diminution du Kmax à un an avec le protocole conventionnel, alors que celui-ci était stable dans le groupe accéléré, mais sans différence significative entre les groupes (20).

Concernant l'évolution de l'acuité visuelle, notre étude montrait une légère baisse à 3 mois dans les 2 groupes (de 0,4/10^{ème} dans le groupe XLC et de 1/10^{ème}

dans le groupe XLA), qui s'améliorait à 6 mois et à un an pour revenir à un niveau équivalent à celui mesuré en pré-opératoire. La baisse initiale de l'acuité visuelle pourrait être expliquée par les phénomènes de haze cornéen. Dans les études comparables, l'acuité visuelle à 6 mois et à un an était, soit stable comme la nôtre, soit légèrement améliorée et comme dans notre étude, aucune différence significative n'était retrouvée entre les deux protocoles (14,19,20).

Concernant l'évolution de la kératométrie simulée dans les 3 mm centraux (SimK), malgré une légère baisse des valeurs moyennes 6 mois après le protocole classique et accéléré, nous n'avons pas trouvé d'effet significatif du temps et de la technique sur ce paramètre. Cette mesure qui reflète l'astigmatisme central des patients n'évoluait pas différemment selon le protocole.

Dans notre étude, l'épaisseur cornéenne mesurée par ultrasons n'évoluait pas significativement à 1 an et ce quel que soit le groupe. Ce résultat était similaire dans les études appliquant le même protocole accéléré (14,20) sauf dans une étude, qui retrouvait une diminution significative de la pachymétrie à un an, plus importante dans le groupe traité par protocole classique (19). Le protocole accéléré ne constitue donc pas a priori un risque plus important d'amincissement cornéen post-opératoire que le protocole classique.

Nous n'avons recueilli aucun dommage significatif sur les cellules endothéliales quel que soit le groupe considéré, ce qui est concordant avec les études comparant cross-linking classique et accéléré.

Concernant la durée du haze post-opératoire, il était significativement plus durable pour les patients traités par cross-linking standard que par cross-linking accéléré. Nous n'avons pas retrouvé d'études ayant recueilli ce paramètre. Ce résultat est à prendre en compte avec prudence en raison du recueil plutôt approximatif car rétrospectif et examinateur dépendant. Un recueil standardisé de la durée mais aussi de l'importance du haze serait nécessaire dans de futures études pour plus de précision.

La durée de la douleur post-opératoire était recueillie selon les observations notées dans le dossier et était donc approximative. L'intensité de la douleur n'étant pas recueillie sur le moment, nous n'avons pas pu l'analyser, or c'est un élément important à prendre en compte. Dans le cadre d'une étude prospective, un questionnaire pourrait être remis aux patients pour que ce paramètre soit analysable de façon fiable. D'après nos données, il n'y avait pas de différence concernant la durée de la douleur post-opératoire selon le protocole utilisé.

La ligne de démarcation observée après cross-linking est une ligne hyper réfléchive stromale correspondant à la limite en profondeur des kératocytes apoptotiques. Il s'agit d'une modification réfléchive et réfractive de la cornée traitée par rapport à la cornée sous-jacente. Il s'agit donc d'une mesure indirecte de la zone stromale la plus profonde traitée (100).

Dans notre étude, nous n'avons mesuré la ligne de démarcation à l'OCT que chez les patients ayant eu le protocole accéléré de cross-linking car nous n'avons commencé à réaliser cet examen systématiquement qu'en Avril 2014. Cette ligne a été observée 1 mois après l'opération et avait disparu à 3 mois. La profondeur moyenne de la ligne était de 203,5 μm . Les études ayant utilisé un protocole accéléré similaire au notre (19,20,119) retrouvaient des profondeurs comparables allant de 200 μm à 300 μm . Avec le protocole classique, ces études rapportaient une profondeur de ligne de démarcation entre 240 et 380 μm suggérant que le protocole classique provoquait l'apoptose des kératocytes dans des couches un peu plus profondes du stroma. Parmi ces études, l'équipe de Kymionis (119) et l'équipe de Ng (20) trouvaient une différence significative selon le protocole utilisé. Seule l'équipe de Shetty (19) ne trouvait pas de différence entre les deux groupes.

Concernant les études ayant utilisé des protocoles accélérés avec irradiation plus intense et moins longue (30 mW/cm^2 -3min) (118,120,121), celles-ci retrouvaient toutes une ligne significativement moins profonde.

Une autre étude, réalisée par l'équipe de Kymionis, avec un protocole accéléré modifié qui durait 14 minutes au lieu de 10 minutes (9 mW/cm^2) (122) et qui utilisait donc une énergie totale supérieure à 5,4 J/cm^2 , ne montrait pas de différence de profondeur de ligne de démarcation avec le groupe conventionnel. Ce résultat pourrait s'expliquer par la théorie de l'oxygène-dépendance. Comme le cross-linking est une réaction photo-oxydative, il nécessite de l'oxygène pour la

formation de liaisons covalentes entre les fibres de collagène. Le fait de raccourcir la procédure pourrait entraîner un renouvellement en oxygène insuffisant au niveau de la cornée. Une étude *ex vivo* a montré que les effets du cross-linking accéléré (9mW/cm², 10 minutes) sur la cornée n'étaient relevés que lorsque l'intervention s'était passée dans une pièce avec un niveau normal en oxygène mais pas quand la même procédure était réalisée dans un environnement pauvre en oxygène (123).

Parmi les limites de notre étude, il y avait son caractère rétrospectif entraînant un biais de recueil, notamment sur les critères secondaires tels que le haze et la douleur. Il existait un certain nombre de données manquantes, sur les critères secondaires uniquement. De même, les examens cliniques et paracliniques étaient réalisés par des personnes différentes.

Deux opérateurs ont réalisé la procédure de cross-linking ce qui peut également constituer un biais.

Le faible nombre de patients constituait aussi une limite à cette étude. Nous n'avons pas pu inclure un nombre non négligeable de patients en raison d'un suivi insuffisant.

Concernant la comparabilité initiale des groupes, celle-ci était différente sur le stade de sévérité de la maladie ce qui constitue un biais de sélection. Les patients du groupe cross-linking classique étaient en moyenne à des stades plus avancés que les patients du groupe cross-linking accéléré. Cela vient du fait que nous n'avons pas apparié initialement les groupes selon le stade de la maladie car nous avons inclus les patients par ordre chronologique de réalisation de l'intervention. Nous avons trouvé dans la littérature une étude démontrant qu'un effet plus important du cross-linking, accéléré ou conventionnel, était observé chez les patients ayant un kératocône plus avancé (124,125). Malgré cela dans notre étude, l'efficacité du traitement par cross-linking accéléré est comparable au cross-linking classique alors que les patients sont à des stades moins avancés. Nous avons tout de même réalisé a posteriori un ajustement sur ce paramètre et les résultats statistiques étaient identiques.

CONCLUSION

Notre étude a montré que les protocoles conventionnel et accéléré étaient efficaces pour stabiliser la progression du kératocône à un an. De plus les effets des deux traitements apparaissaient rapidement dès 3 mois.

Cependant, le Kmax était plus souvent amélioré (diminution du Kmax > 1D) dans le groupe traité conventionnellement, indiquant que la méthode conventionnelle demeure la référence.

Les résultats de la méthode accélérée sont suffisamment significatifs pour la considérer comme une méthode efficace qui peut remplacer le cross-linking conventionnel. De plus elle semble raccourcir les effets secondaires de type haze cornéen.

Des études plus importantes en nombre et en durée devront consolider ces données.

REFERENCES

1. Spoerl E, Huhle M, Seiler T. Induction of cross-links in corneal tissue. *Exp Eye Res.* 1998 Jan;66(1):97–103.
2. Wollensak G, Spoerl E, Seiler T. Riboflavin/ultraviolet-a-induced collagen crosslinking for the treatment of keratoconus. *Am J Ophthalmol.* 2003 May;135(5):620–7.
3. Schumacher S, Oeftiger L, Mrochen M. Equivalence of biomechanical changes induced by rapid and standard corneal cross-linking, using riboflavin and ultraviolet radiation. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011;52(12):9048–52.
4. Beshtawi IM, Akhtar R, Hillarby MC, O'Donnell C, Zhao X, Brahma A, et al. Biomechanical changes after repeated collagen cross-linking on human corneas assessed in vitro using scanning acoustic microscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2014 Mar;55(3):1549–54.
5. Wernli J, Schumacher S, Spoerl E, Mrochen M. The efficacy of corneal cross-linking shows a sudden decrease with very high intensity UV light and short treatment time. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013 Feb;54(2):1176–80.
6. Gatziofias Z, Richoz O, Brugnoli E, Hafezi F. Safety profile of high-fluence corneal collagen cross-linking for progressive keratoconus: preliminary results from a prospective cohort study. *J Refract Surg Thorofare NJ 1995.* 2013 Dec;29(12):846–8.
7. Kymionis GD, Grentzelos MA, Kankariya VP, Liakopoulos DA, Portaliou DM, Tsoulnaras KI, et al. Safety of high-intensity corneal collagen crosslinking. *J Cataract Refract Surg.* 2014 Aug;40(8):1337–40.
8. Elbaz U, Shen C, Lichtinger A, Zauberman NA, Goldich Y, Chan CC, et al. Accelerated (9-mW/cm²) corneal collagen crosslinking for keratoconus-A 1-year follow-up. *Cornea.* 2014 Aug;33(8):769–73.
9. Cınar Y, Cingü AK, Turkcü FM, Yüksel H, Sahin A, Yıldırım A, et al. Accelerated corneal collagen cross-linking for progressive keratoconus. *Cutan Ocul Toxicol.* 2014 Jun;33(2):168–71.
10. Mita M, Waring GO, Tomita M. High-irradiance accelerated collagen crosslinking for the treatment of keratoconus: six-month results. *J Cataract Refract Surg.* 2014 Jun;40(6):1032–40.
11. Shetty R, Nagaraja H, Jayadev C, Pahuja NK, Kurian Kummelil M, Nuijts RMMA. Accelerated corneal collagen cross-linking in pediatric patients: two-year follow-up results. *BioMed Res Int.* 2014;2014:894095.
12. Waszczykowska A, Jurowski P. Two-year accelerated corneal cross-linking outcome in patients with progressive keratoconus. *BioMed Res Int.* 2015;2015:325157.
13. Kanellopoulos AJ. Long term results of a prospective randomized bilateral eye comparison trial of higher fluence, shorter duration ultraviolet A radiation, and riboflavin collagen cross linking for progressive keratoconus. *Clin Ophthalmol Auckl NZ.* 2012;6:97–101.
14. Cınar Y, Cingü AK, Türkcü FM, Çınar T, Yüksel H, Özkurt ZG, et al. Comparison of accelerated and conventional corneal collagen cross-linking for progressive keratoconus. *Cutan Ocul Toxicol.* 2014 Sep;33(3):218–22.
15. Sherif AM. Accelerated versus conventional corneal collagen cross-linking in the treatment of mild keratoconus: a comparative study. *Clin Ophthalmol Auckl NZ.*

2014;8:1435–40.

16. Hashemi H, Fotouhi A, Mirafteb M, Bahramandy H, Seyedian MA, Amanzadeh K, et al. Short-term comparison of accelerated and standard methods of corneal collagen crosslinking. *J Cataract Refract Surg*. 2015 Mar;41(3):533–40.
17. Hashemian H, Jabbarvand M, Khodaparast M, Ameli K. Evaluation of corneal changes after conventional versus accelerated corneal cross-linking: a randomized controlled trial. *J Refract Surg Thorofare NJ* 1995. 2014 Dec;30(12):837–42.
18. Tomita M, Mita M, Huseynova T. Accelerated versus conventional corneal collagen crosslinking. *J Cataract Refract Surg*. 2014 Jun;40(6):1013–20.
19. Shetty R, Pahuja NK, Nuijts RMMA, Ajani A, Jayadev C, Sharma C, et al. Current Protocols of Corneal Collagen Cross-Linking: Visual, Refractive, and Tomographic Outcomes. *Am J Ophthalmol*. 2015 Aug;160(2):243–9.
20. Ng ALK, Chan TC, Cheng AC. Conventional versus accelerated corneal collagen cross-linking in the treatment of keratoconus. *Clin Experiment Ophthalmol*. 2015 Jul 3;
21. Krachmer JH, Feder RS, Belin MW. Keratoconus and related noninflammatory corneal thinning disorders. *Surv Ophthalmol*. 1984 Feb;28(4):293–322.
22. Rabinowitz YS. Keratoconus. *Surv Ophthalmol*. 1998 Feb;42(4):297–319.
23. Zadnik K, Steger-May K, Fink BA, Joslin CE, Nichols JJ, Rosenstiel CE, et al. Between-eye asymmetry in keratoconus. *Cornea*. 2002 Oct;21(7):671–9.
24. Chopra I, Jain AK. Between eye asymmetry in keratoconus in an Indian population. *Clin Exp Optom*. 2005 May;88(3):146–52.
25. Amsler M. Kératocône classique et kératocône fruste; arguments unitaires. *Ophthalmologica*. 1946;111(2-3):96–101.
26. Saini JS, Saroha V, Singh P, Sukhija JS, Jain AK. Keratoconus in Asian eyes at a tertiary eye care facility. *Clin Exp Optom*. 2004 Mar;87(2):97–101.
27. Sharma R, Titiyal JS, Prakash G, Sharma N, Tandon R, Vajpayee RB. Clinical profile and risk factors for keratoplasty and development of hydrops in north Indian patients with keratoconus. *Cornea*. 2009 May;28(4):367–70.
28. Ertan A, Muftuoglu O. Keratoconus clinical findings according to different age and gender groups. *Cornea*. 2008 Dec;27(10):1109–13.
29. Bisceglia L, De Bonis P, Pizzicoli C, Fischetti L, Laborante A, Di Perna M, et al. Linkage analysis in keratoconus: replication of locus 5q21.2 and identification of other suggestive Loci. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2009 Mar;50(3):1081–6.
30. Hughes AE, Dash DP, Jackson AJ, Frazer DG, Silvestri G. Familial keratoconus with cataract: linkage to the long arm of chromosome 15 and exclusion of candidate genes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2003 Dec;44(12):5063–6.
31. Rabinowitz YS, McDonnell PJ. Computer-assisted corneal topography in keratoconus. *Refract Corneal Surg*. 1989 Dec;5(6):400–8.
32. Gonzalez V, McDonnell PJ. Computer-assisted corneal topography in parents of patients with keratoconus. *Arch Ophthalmol Chic Ill* 1960. 1992 Oct;110(10):1413–4.
33. Salabert D, Cochener B, Mage F, Colin J. [Keratoconus and familial topographic corneal anomalies]. *J Fr Ophtalmol*. 1994;17(11):646–56.
34. Levy D, Hutchings H, Rouland JF, Guell J, Burillon C, Arné JL, et al. Videokeratographic anomalies in familial keratoconus. *Ophthalmology*. 2004 May;111(5):867–74.
35. Wang Y, Rabinowitz YS, Rotter JI, Yang H. Genetic epidemiological study of keratoconus: evidence for major gene determination. *Am J Med Genet*. 2000 Aug 28;93(5):403–9.

36. Dua HS, Faraj LA, Said DG, Gray T, Lowe J. Human corneal anatomy redefined: a novel pre-Descemet's layer (Dua's layer). *Ophthalmology*. 2013 Sep;120(9):1778–85.
37. Jeannine Narduzzi, Florence Malet. Rapport de la SFOALC 2015 : Le kératocône en 2015. Med-Line Editions.
38. Weed KH, MacEwen CJ, Cox A, McGhee CNJ. Quantitative analysis of corneal microstructure in keratoconus utilising in vivo confocal microscopy. *Eye Lond Engl*. 2007 May;21(5):614–23.
39. Sawaguchi S, Fukuchi T, Abe H, Kaiya T, Sugar J, Yue BY. Three-dimensional scanning electron microscopic study of keratoconus corneas. *Arch Ophthalmol Chic Ill 1960*. 1998 Jan;116(1):62–8.
40. Pouliquen Y, Graf B, de Kozak Y, Bisson J, Faure JP. [Morphological study of keratoconus]. *Arch Ophthalmol Rev Générale Ophthalmol*. 1970 Jul;30(6-7):497–532.
41. Ku JYF, Niederer RL, Patel DV, Sherwin T, McGhee CNJ. Laser scanning in vivo confocal analysis of keratocyte density in keratoconus. *Ophthalmology*. 2008 May;115(5):845–50.
42. Patel DV, Ku JYF, Johnson R, McGhee CNJ. Laser scanning in vivo confocal microscopy and quantitative aesthesiometry reveal decreased corneal innervation and sensation in keratoconus. *Eye Lond Engl*. 2009 Mar;23(3):586–92.
43. Meek KM, Tuft SJ, Huang Y, Gill PS, Hayes S, Newton RH, et al. Changes in collagen orientation and distribution in keratoconus corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2005 Jun;46(6):1948–56.
44. Morishige N, Wahlert AJ, Kenney MC, Brown DJ, Kawamoto K, Chikama T-I, et al. Second-harmonic imaging microscopy of normal human and keratoconus cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2007 Mar;48(3):1087–94.
45. Määttä M, Väisänen T, Väisänen M-R, Pihlajaniemi T, Tervo T. Altered expression of type XIII collagen in keratoconus and scarred human cornea: Increased expression in scarred cornea is associated with myofibroblast transformation. *Cornea*. 2006 May;25(4):448–53.
46. Määttä M, Heljasvaara R, Sormunen R, Pihlajaniemi T, Autio-Harmainen H, Tervo T. Differential expression of collagen types XVIII/endostatin and XV in normal, keratoconus, and scarred human corneas. *Cornea*. 2006 Apr;25(3):341–9.
47. Sawaguchi S, Yue BY, Chang I, Sugar J, Robin J. Proteoglycan molecules in keratoconus corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1991 May;32(6):1846–53.
48. Zhou L, Sawaguchi S, Twining SS, Sugar J, Feder RS, Yue BY. Expression of degradative enzymes and protease inhibitors in corneas with keratoconus. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1998 Jun;39(7):1117–24.
49. Sawaguchi S, Twining SS, Yue BY, Chang SH, Zhou X, Loushin G, et al. Alpha 2-macroglobulin levels in normal human and keratoconus corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1994 Nov;35(12):4008–14.
50. Sawaguchi S, Twining SS, Yue BY, Wilson PM, Sugar J, Chan SK. Alpha-1 proteinase inhibitor levels in keratoconus. *Exp Eye Res*. 1990 May;50(5):549–54.
51. Lema I, Sobrino T, Durán JA, Brea D, Díez-Feijoo E. Subclinical keratoconus and inflammatory molecules from tears. *Br J Ophthalmol*. 2009 Jun;93(6):820–4.
52. Héon E, Greenberg A, Kopp KK, Rootman D, Vincent AL, Billingsley G, et al. VSX1: a gene for posterior polymorphous dystrophy and keratoconus. *Hum Mol Genet*. 2002 May 1;11(9):1029–36.
53. Lu Y, Vitart V, Burdon KP, Khor CC, Bykhovskaya Y, Mirshahi A, et al. Genome-wide association analyses identify multiple loci associated with central corneal thickness and keratoconus. *Nat Genet*. 2013 Feb;45(2):155–63.

54. Lechner J, Porter LF, Rice A, Vitart V, Armstrong DJ, Schorderet DF, et al. Enrichment of pathogenic alleles in the brittle cornea gene, ZNF469, in keratoconus. *Hum Mol Genet.* 2014 Oct 15;23(20):5527–35.
55. Hao X-D, Chen P, Chen Z-L, Li S-X, Wang Y. Evaluating the Association between Keratoconus and Reported Genetic Loci in a Han Chinese Population. *Ophthalmic Genet.* 2015 Jun;36(2):132–6.
56. Macé M, Galiacy SD, Erraud A, Mejía JE, Etchevers H, Allouche M, et al. Comparative transcriptome and network biology analyses demonstrate antiproliferative and hyperapoptotic phenotypes in human keratoconus corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011 Aug;52(9):6181–91.
57. Joseph R, Srivastava OP, Pfister RR. Differential epithelial and stromal protein profiles in keratoconus and normal human corneas. *Exp Eye Res.* 2011 Apr;92(4):282–98.
58. Tachibana M, Adachi W, Kinoshita S, Kobayashi Y, Honma Y, Hiai H, et al. Androgen-dependent hereditary mouse keratoconus: linkage to an MHC region. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2002 Jan;43(1):51–7.
59. Parapuram SK, Huh K, Liu S, Leask A. Integrin $\beta 1$ is necessary for the maintenance of corneal structural integrity. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011;52(11):7799–806.
60. Tanabe T, Oshika T, Tomidokoro A, Amano S, Tanaka S, Kuroda T, et al. Standardized color-coded scales for anterior and posterior elevation maps of scanning slit corneal topography. *Ophthalmology.* 2002 Jul;109(7):1298–302.
61. Efron N, Hollingsworth JG. New perspectives on keratoconus as revealed by corneal confocal microscopy. *Clin Exp Optom.* 2008 Jan;91(1):34–55.
62. Mocan MC, Yilmaz PT, Irkec M, Orhan M. In vivo confocal microscopy for the evaluation of corneal microstructure in keratoconus. *Curr Eye Res.* 2008 Nov;33(11):933–9.
63. Sandali O, El Sanharawi M, Temstet C, Hamiche T, Galan A, Ghouali W, et al. Fourier-domain optical coherence tomography imaging in keratoconus: a corneal structural classification. *Ophthalmology.* 2013 Dec;120(12):2403–12.
64. Hay A, Rocher N, Dethorey G, Renard G, Bourges J-L. Le kératocône en images OCT haute résolution en domaine spectral. *J Fr Ophtalmol.* 2012 Oct;35(8):642–5.
65. Rabinowitz YS, Yang H, Brickman Y, Akkina J, Riley C, Rotter JI, et al. Videokeratography database of normal human corneas. *Br J Ophthalmol.* 1996 Jul;80(7):610–6.
66. Gatinel D, Colin J. Topographie cornéenne [Internet]. Issy-les-Moulineaux: Elsevier-Masson; 2011 [cited 2015 Sep 2]. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/book/9782294711343>
67. Fourni  P, Touboul D, Arn  J-L, Colin J, Malecaze F. Kératocône. *J Fr Ophtalmol.* 2013 Sep;36(7):618–26.
68. Colin J, Malet FJ. Intacs for the correction of keratoconus: two-year follow-up. *J Cataract Refract Surg.* 2007 Jan;33(1):69–74.
69. Ferrara G, Torquetti L, Ferrara P, Merayo-Llodes J. Intrastromal corneal ring segments: visual outcomes from a large case series. *Clin Experiment Ophthalmol.* 2012 Jul;40(5):433–9.
70. Ertan A, Kamburo lu G. Intacs implantation using a femtosecond laser for management of keratoconus: Comparison of 306 cases in different stages. *J Cataract Refract Surg.* 2008 Sep;34(9):1521–6.
71. Cheng YYY, Visser N, Schouten JS, Wijdh R-J, Pels E, van Cleynenbreugel

- H, et al. Endothelial cell loss and visual outcome of deep anterior lamellar keratoplasty versus penetrating keratoplasty: a randomized multicenter clinical trial. *Ophthalmology*. 2011 Feb;118(2):302–9.
72. Gomes JAP, Tan D, Rapuano CJ, Belin MW, Ambrósio R, Guell JL, et al. Global consensus on keratoconus and ectatic diseases. *Cornea*. 2015 Apr;34(4):359–69.
73. Elsheikh A, Wang D, Brown M, Rama P, Campanelli M, Pye D. Assessment of corneal biomechanical properties and their variation with age. *Curr Eye Res*. 2007 Jan;32(1):11–9.
74. Sady C, Khosrof S, Nagaraj R. Advanced Maillard reaction and crosslinking of corneal collagen in diabetes. *Biochem Biophys Res Commun*. 1995 Sep 25;214(3):793–7.
75. Wollensak G, Spoerl E, Seiler T. Stress-strain measurements of human and porcine corneas after riboflavin-ultraviolet-A-induced cross-linking. *J Cataract Refract Surg*. 2003 Sep;29(9):1780–5.
76. Wollensak G, Iomdina E. Long-term biomechanical properties of rabbit cornea after photodynamic collagen crosslinking. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 2009 Feb;87(1):48–51.
77. Avery NC, Bailey AJ. The effects of the Maillard reaction on the physical properties and cell interactions of collagen. *Pathol Biol (Paris)*. 2006 Sep;54(7):387–95.
78. Kamaev P, Friedman MD, Sherr E, Muller D. Photochemical kinetics of corneal cross-linking with riboflavin. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012 Apr;53(4):2360–7.
79. Jouve L, Borderie V, Temstet C, Labbé A, Trinh L, Sandali O, et al. Le crosslinking du collagène dans le kératocône. *J Fr Ophtalmol*. 2015 May;38(5):445–62.
80. Baiocchi S, Mazzotta C, Cerretani D, Caporossi T, Caporossi A. Corneal crosslinking: riboflavin concentration in corneal stroma exposed with and without epithelium. *J Cataract Refract Surg*. 2009 May;35(5):893–9.
81. Hayes S, O’Brart DP, Lamdin LS, Douth J, Samaras K, Marshall J, et al. Effect of complete epithelial debridement before riboflavin-ultraviolet-A corneal collagen crosslinking therapy. *J Cataract Refract Surg*. 2008 Apr;34(4):657–61.
82. Spoerl E, Raiskup F, Kampik D, Geerling G. Correlation between UV absorption and riboflavin concentration in different depths of the cornea in CXL. *Curr Eye Res*. 2010 Nov;35(11):1040–1; author reply 1042–3.
83. Wollensak G, Aurich H, Wirbelauer C, Sel S. Significance of the riboflavin film in corneal collagen crosslinking. *J Cataract Refract Surg*. 2010 Jan;36(1):114–20.
84. Iseli HP, Popp M, Seiler T, Spoerl E, Mrochen M. Laboratory measurement of the absorption coefficient of riboflavin for ultraviolet light (365 nm). *J Refract Surg Thorofare NJ* 1995. 2011 Mar;27(3):195–201.
85. Sliney D, Aron-Rosa D, DeLori F, Fankhauser F, Landry R, Mainster M, et al. Adjustment of guidelines for exposure of the eye to optical radiation from ocular instruments: statement from a task group of the International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection (ICNIRP). *Appl Opt*. 2005 Apr 10;44(11):2162–76.
86. Spoerl E, Mrochen M, Sliney D, Trokel S, Seiler T. Safety of UVA-riboflavin cross-linking of the cornea. *Cornea*. 2007 May;26(4):385–9.
87. Raiskup-Wolf F, Hoyer A, Spoerl E, Pillunat LE. Collagen crosslinking with riboflavin and ultraviolet-A light in keratoconus: long-term results. *J Cataract Refract Surg*. 2008 May;34(5):796–801.

88. Caporossi A, Mazzotta C, Baiocchi S, Caporossi T. Long-term results of riboflavin ultraviolet a corneal collagen cross-linking for keratoconus in Italy: the Siena eye cross study. *Am J Ophthalmol*. 2010 Apr;149(4):585–93.
89. Wittig-Silva C, Chan E, Islam FMA, Wu T, Whiting M, Snibson GR. A randomized, controlled trial of corneal collagen cross-linking in progressive keratoconus: three-year results. *Ophthalmology*. 2014 Apr;121(4):812–21.
90. Karamichos D, Hjortdal J. Keratoconus: tissue engineering and biomaterials. *J Funct Biomater*. 2014;5(3):111–34.
91. Brindley GS. The Bunsen-Roscoe law for the human eye at very short durations. *J Physiol*. 1952 Sep;118(1):135–9.
92. Konstantopoulos A, Mehta JS. Conventional versus accelerated collagen cross-linking for keratoconus. *Eye Contact Lens*. 2015 Mar;41(2):65–71.
93. Caporossi A, Mazzotta C, Paradiso AL, Baiocchi S, Marigliani D, Caporossi T. Transepithelial corneal collagen crosslinking for progressive keratoconus: 24-month clinical results. *J Cataract Refract Surg*. 2013 Aug;39(8):1157–63.
94. Ouamara Dalila. Efficacité à 1 an du crosslinking transépithélial versus crosslinking conventionnel: à propos de 24 cas de kératocônes évolutifs traités au CHRU de Lille. 2013.
95. Lanchares E, del Buey MA, Cristóbal JA, Lavilla L, Calvo B. Biomechanical property analysis after corneal collagen cross-linking in relation to ultraviolet A irradiation time. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol Albrecht Von Graefes Arch Für Klin Exp Ophthalmol*. 2011 Aug;249(8):1223–7.
96. Wollensak G, Wilsch M, Spoerl E, Seiler T. Collagen fiber diameter in the rabbit cornea after collagen crosslinking by riboflavin/UVA. *Cornea*. 2004 Jul;23(5):503–7.
97. Vinciguerra P, Albè E, Trazza S, Rosetta P, Vinciguerra R, Seiler T, et al. Refractive, topographic, tomographic, and aberrometric analysis of keratoconic eyes undergoing corneal cross-linking. *Ophthalmology*. 2009 Mar;116(3):369–78.
98. Asri D, Touboul D, Fournié P, Malet F, Garra C, Gallois A, et al. Corneal collagen crosslinking in progressive keratoconus: multicenter results from the French National Reference Center for Keratoconus. *J Cataract Refract Surg*. 2011 Dec;37(12):2137–43.
99. Ghanem RC, Santhiago MR, Berti T, Netto MV, Ghanem VC. Topographic, corneal wavefront, and refractive outcomes 2 years after collagen crosslinking for progressive keratoconus. *Cornea*. 2014 Jan;33(1):43–8.
100. Seiler T, Hafezi F. Corneal cross-linking-induced stromal demarcation line. *Cornea*. 2006 Oct;25(9):1057–9.
101. Doors M, Tahzib NG, Eggink FA, Berendschot TTJM, Webers CAB, Nuijts RMMA. Use of anterior segment optical coherence tomography to study corneal changes after collagen cross-linking. *Am J Ophthalmol*. 2009 Dec;148(6):844–51.e2.
102. Mazzotta C, Balestrazzi A, Traversi C, Baiocchi S, Caporossi T, Tommasi C, et al. Treatment of progressive keratoconus by riboflavin-UVA-induced cross-linking of corneal collagen: ultrastructural analysis by Heidelberg Retinal Tomograph II in vivo confocal microscopy in humans. *Cornea*. 2007 May;26(4):390–7.
103. Mazzotta C, Caporossi T, Denaro R, Bovone C, Sparano C, Paradiso A, et al. Morphological and functional correlations in riboflavin UV A corneal collagen cross-linking for keratoconus. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 2012 May;90(3):259–65.
104. Wasilewski D, Mello GHR, Moreira H. Impact of collagen crosslinking on corneal sensitivity in keratoconus patients. *Cornea*. 2013 Jul;32(7):899–902.
105. Kontadakis GA, Kymionis GD, Kankariya VP, Pallikaris AI. Effect of corneal

- collagen cross-linking on corneal innervation, corneal sensitivity, and tear function of patients with keratoconus. *Ophthalmology*. 2013 May;120(5):917–22.
106. Kymionis GD, Diakonis VF, Kalyvianaki M, Portaliou D, Siganos C, Kozobolis VP, et al. One-year follow-up of corneal confocal microscopy after corneal cross-linking in patients with post laser in situ keratomileusis ectasia and keratoconus. *Am J Ophthalmol*. 2009 May;147(5):774–8, 778.e1.
107. Koller T, Mrochen M, Seiler T. Complication and failure rates after corneal crosslinking. *J Cataract Refract Surg*. 2009 Aug;35(8):1358–62.
108. Greenstein SA, Fry KL, Bhatt J, Hersh PS. Natural history of corneal haze after collagen crosslinking for keratoconus and corneal ectasia: Scheimpflug and biomicroscopic analysis. *J Cataract Refract Surg*. 2010 Dec;36(12):2105–14.
109. Pollhammer M, Cursiefen C. Bacterial keratitis early after corneal crosslinking with riboflavin and ultraviolet-A. *J Cataract Refract Surg*. 2009 Mar;35(3):588–9.
110. Zamora KV, Males JJ. Polymicrobial keratitis after a collagen cross-linking procedure with postoperative use of a contact lens: a case report. *Cornea*. 2009 May;28(4):474–6.
111. Rama P, Di Matteo F, Matuska S, Paganoni G, Spinelli A. Acanthamoeba keratitis with perforation after corneal crosslinking and bandage contact lens use. *J Cataract Refract Surg*. 2009 Apr;35(4):788–91.
112. Kymionis GD, Portaliou DM, Bouzoukis DI, Suh LH, Pallikaris AI, Markomanolakis M, et al. Herpetic keratitis with iritis after corneal crosslinking with riboflavin and ultraviolet A for keratoconus. *J Cataract Refract Surg*. 2007 Nov;33(11):1982–4.
113. Bagga B, Pahuja S, Murthy S, Sangwan VS. Endothelial failure after collagen cross-linking with riboflavin and UV-A: case report with literature review. *Cornea*. 2012 Oct;31(10):1197–200.
114. Raiskup F, Hoyer A, Spoerl E. Permanent corneal haze after riboflavin-UVA-induced cross-linking in keratoconus. *J Refract Surg Thorofare NJ* 1995. 2009 Sep;25(9):S824–8.
115. Labiris G, Kaloghianni E, Koukoula S, Zissimopoulos A, Kozobolis VP. Corneal melting after collagen cross-linking for keratoconus: a case report. *J Med Case Reports*. 2011;5:152.
116. Gokhale NS, Vemuganti GK. Diclofenac-induced acute corneal melt after collagen crosslinking for keratoconus. *Cornea*. 2010 Jan;29(1):117–9.
117. O’Brart DPS, Kwong TQ, Patel P, McDonald RJ, O’Brart NA. Long-term follow-up of riboflavin/ultraviolet A (370 nm) corneal collagen cross-linking to halt the progression of keratoconus. *Br J Ophthalmol*. 2013 Apr;97(4):433–7.
118. Bouheraoua N, Jouve L, El Sanharawi M, Sandali O, Temstet C, Loriaut P, et al. Optical coherence tomography and confocal microscopy following three different protocols of corneal collagen-crosslinking in keratoconus. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014 Nov;55(11):7601–9.
119. Kymionis GD, Tsoulnaras KI, Grentzelos MA, Plaka AD, Mikropoulos DG, Liakopoulos DA, et al. Corneal stroma demarcation line after standard and high-intensity collagen crosslinking determined with anterior segment optical coherence tomography. *J Cataract Refract Surg*. 2014 May;40(5):736–40.
120. Touboul D, Efron N, Smadja D, Praud D, Malet F, Colin J. Corneal confocal microscopy following conventional, transepithelial, and accelerated corneal collagen cross-linking procedures for keratoconus. *J Refract Surg Thorofare NJ* 1995. 2012 Nov;28(11):769–76.
121. Ozgurhan EB, Sezgin Akcay BI, Yildirim Y, Karatas G, Kurt T, Demirok A.

- Evaluation of corneal stromal demarcation line after two different protocols of accelerated corneal collagen cross-linking procedures using anterior segment optical coherence tomography and confocal microscopy. *J Ophthalmol.* 2014;2014:981893.
122. Kymionis GD, Tsoulnaras KI, Grentzelos MA, Liakopoulos DA, Tsakalis NG, Blazaki SV, et al. Evaluation of corneal stromal demarcation line depth following standard and a modified-accelerated collagen cross-linking protocol. *Am J Ophthalmol.* 2014 Oct;158(4):671–5.e1.
123. Richoz O, Hammer A, Tabibian D, Gatzoufas Z, Hafezi F. The Biomechanical Effect of Corneal Collagen Cross-Linking (CXL) With Riboflavin and UV-A is Oxygen Dependent. *Transl Vis Sci Technol.* 2013 Nov;2(7):6.
124. Sloot F, Soeters N, van der Valk R, Tahzib NG. Effective corneal collagen crosslinking in advanced cases of progressive keratoconus. *J Cataract Refract Surg.* 2013 Aug;39(8):1141–5.
125. Chan TCY, Chow VWS, Jhanji V, Wong VWY. Different Topographic Response Between Mild to Moderate and Advanced Keratoconus After Accelerated Collagen Cross-linking. *Cornea.* 2015 Aug;34(8):922–7.

AUTEUR: Nom : Rupin

Prénom: Anaïs

Date de Soutenance: 25 Novembre 2015

Titre de la Thèse : Efficacité à 1 an du protocole accéléré de cross-linking versus cross-linking conventionnel dans le traitement du kératocône évolutif : à propos de 64 cas traités au CHRU de Lille

Thèse - Médecine - Lille 2015

Cadre de classement : DES Ophtalmologie

Mots-clés : kératocône, cross-linking, protocole accéléré, kératométrie maximale

RESUME :

TITRE : Efficacité à 1 an du protocole accéléré de cross-linking versus cross-linking conventionnel dans le traitement du kératocône évolutif : à propos de 64 cas traités au CHRU de Lille.

OBJECTIF : L'objectif de l'étude était de rechercher si le traitement du kératocône évolutif par cross-linking accéléré était aussi efficace et sûr que le protocole standard.

METHODE : Il s'agissait d'une étude comparative rétrospective de patients atteints de kératocônes évolutifs, traités par cross-linking conventionnel (XLC, 3mW/cm², 30 min) entre Février 2010 et Avril 2014 et par cross-linking accéléré (XLA, 10mW/cm², 9 min) entre Avril 2014 et Septembre 2014, au CHRU de Lille. Nous avons étudié les variations de l'acuité visuelle (AV), de la kératométrie maximale (Kmax), de la kératométrie simulée (SimK), de la pachymétrie et du comptage endothélial. La durée du haze et de la douleur post-opératoire était relevée. La ligne de démarcation à l'OCT était mesurée à un mois chez les patients ayant eu un cross-linking accéléré.

RESULTATS : Nous avons inclus 64 yeux de 58 patients. 32 « cas » traités par cross-linking accéléré et 32 « témoins » traités par cross-linking conventionnel. L'AV était stable dans les deux groupes. Le Kmax diminuait significativement quel que soit le groupe (XLC p=0,01; XLA p=0,02). Il n'y avait pas de différence significative entre les groupes sur le Kmax (p=0,21). Le SimK, la pachymétrie et le comptage endothélial étaient stables à un an dans les deux groupes, sans différence significative entre les groupes. Le haze post-opératoire durait significativement plus longtemps dans le groupe conventionnel que dans le groupe accéléré (p=0,013). La ligne de démarcation était mesurée en moyenne à 203,5 ± 44,5 µm à l'OCT dans le groupe accéléré.

CONCLUSION : Les protocoles conventionnel et accéléré étaient efficaces pour stabiliser la progression du kératocône à un an. Le protocole accéléré semblait raccourcir les effets secondaires de type haze cornéen.

Composition du Jury :

Président : Monsieur le Professeur Jean-Francois Rouland.

Assesseurs : Monsieur le Professeur Pierre Labalette, Monsieur le Professeur Claude-Alain Maurage, Madame le Docteur Françoise Ernould.