CHAPITRE 2

Cornée

2.1. EMBRYOLOGIE DE LA CORNÉE

J.-L. BOURGES

L'étude de l'embryologie oculaire renseigne sur l'origine des feuillets qui composent les différentes couches de la cornée. Connaître l'origine embryonnaire des couches cornéennes permet d'appréhender sainement la physiologie de ce tissu et de comprendre mieux le mécanisme de certaines de ses affections.

Il existe quatre feuillets embryologiques : l'épiblaste (futur ectoderme), le mésoblaste (futur mésenchyme) et le neuroblaste (futur neuroectoderme), auxquels s'ajoute plus tardivement un feuillet supplémentaire, le feuillet ectomésenchymateux issu des crêtes neurales.

Dès la 3e semaine suivant le dernier jour des menstruations, s'organise la neurulation avec formation de la plaque neurale, sorte d'épaississement ectodermique induit par les facteurs BMP (*bone morphogenic protein*) et GDF (*growth differentiation factor*). Celui-ci se plisse, puis se creuse en gouttière neurale le long d'un axe rostrocaudal médian. À partir des cellules issues de cette zone, se formera tout le système nerveux central et périphérique. Les rebords de la gouttière fusionnent ensuite, avec deux conséquences tissulaires :

- les cellules des rebords de la crête neurale perdent leur cohésion en fusionnant. Elles engendrent le quatrième feuillet cellulaire de la crête neurale, les cellules ectomésenchymateuses issues de la crête neurale (CEMCN) (fig. 2-1) ;
- le tube neural pluristratifié est créé par la fermeture de la gouttière (voir fig. 2-1). Il se régionalise ensuite en prosencéphale, mésencéphale, rhombencéphale et future moelle épinière.

La première structure oculaire est la plaque cristallinienne, ou « placode optique » (mais ce dernier terme peut se confondre avec celui de « placode otique » à l'origine de l'oreille interne), d'origine ectodermique, induite en vis-à-vis interne de la gouttière optique au niveau du prosencéphale.

À partir de la 4e semaine embryonnaire se creuse latéralement une invagination ectodermique, la fossette cristallinienne. En regard s'évagine, depuis le tube neural, la vésicule optique (fig. 2-2). Tandis que l'invagination cristallinienne s'internalise dans le mésenchyme primitif en s'individualisant à la 5e semaine en vésicule cristallinienne, la vésicule optique progresse autour

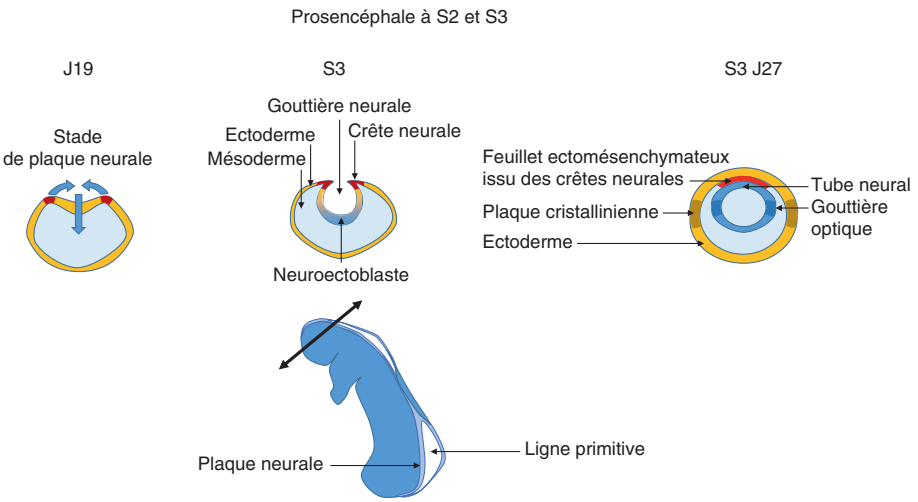


Fig. 2-1 ***Évolution entre la 2e et 3e semaine du dernier jour des menstruations.***
On observe la formation des futures structures neurologiques dont l'extrémité rostrale sera le prosencéphale. Jaune : feuillet ectoblastique puis ectodermique ; bleu : feuillet mésoblastique puis mésenchymateux (clair) et neuroectodermique (foncé) ; rouge : crêtes neurales et feuillet ectomésenchymateux issu des crêtes neurales.

La Cornée en 3D : dégénérescences, dystrophies et déformations
© 2025 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés, y compris ceux relatifs à la fouille de textes et de données, à l'entraînement de l'intelligence artificielle et aux technologies similaires

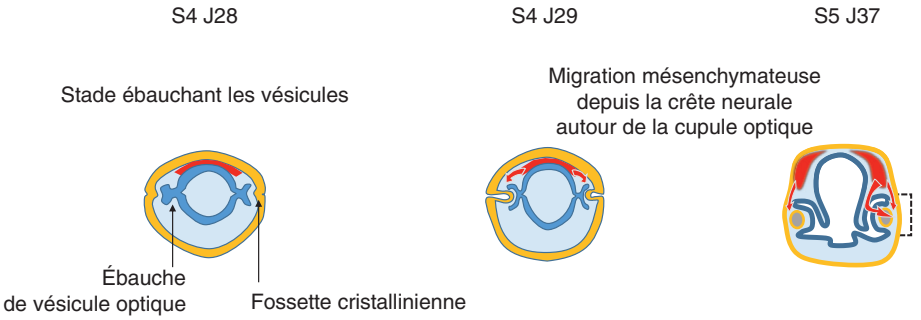


Fig. 2-2 ***Développement oculaire au cours des 4e et 5e semaines (S) embryonnaires et jours (J) correspondants.***

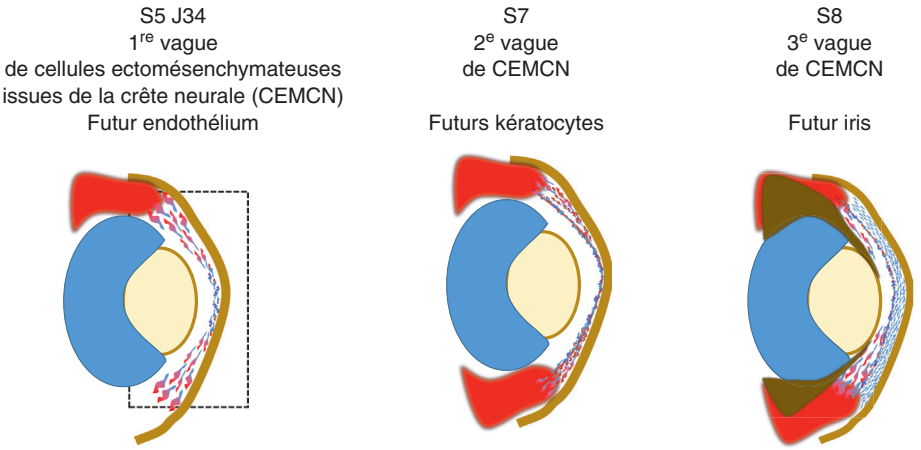


Fig. 2-3 ***Formation de la cornée (cellules bleues) et de l'iris (marron) par les vagues successives de cellules ectomésenchymateuses issues de la crête neurale (CEMCN, feuillet rouge/cellules rouges et bleues).***

d'elle, pour l'entourer partiellement sous forme d'une cupule optique. La cupule optique est composée de deux couches de feuillet neuroectodermique et reliée au télencéphale par le pédicule optique, futur nerf optique.

À ce moment, on observe une fine zone de mésenchyme primitif entre le feuillet ectodermique cristallinien et l'ectoderme en regard, constituée de collagène orthogonal produit par les cellules ectodermiques. Cette zone permettra la formation des futures cornée et chambre antérieure (voir fig. 2-2, pointillés noirs) [1]. Le feuillet tissulaire composé de cellules issues des crêtes neurales (CEMCN) migre autour des cupules optiques à la disparition de N-CAM (*neural-cell adhesion molecule*) et de cadhérines jusque-là produites par le tube neural. On observe qu'elles expriment alors HNK-1 (*human natural killer-1 ; neuronal carbohydrate epitope*) et le facteur de transcription Sox. La production de TGF-β (*transforming growth factor* β) favorise la dissémination de ces CEMCN, en permettant à leurs intégrines membranaires de lier les fibronectine et laminine de la matrice mésenchymateuse primitive pour qu'elles puissent migrer. La future formation de la cornée, comme les autres structures oculaires préexistantes, est fondamentalement liée à l'expression des gènes *Pax-6* et *Sox*, régulée par les facteurs FGF2 (*fibroblast growth factor 2*), TGF-β1, TGF-β2, et BMP7 [2, 3].

Au 37e jour embryonnaire, une première vague de CEMCN progresse entre l'ectoderme et la vésicule cristallinienne (fig. 2-3) pour former le futur endothélium cornéen [4, 5]. Au contact interne de l'ectoderme jusqu'au 49e jour de gestation, ces CEMCN s'organisent initialement en une couche cuboïde pluristratifiée. Par la suite, les molécules N-CAM et les cadhérines sont à nouveau exprimées par le mésenchyme périoculaire. Cela stoppe le mouvement cellulaire, organisant leurs jonctions serrées.

À la 7e semaine, une seconde vague de CEMCN progresse entre cette couche pré-endothéliale et l'ectoderme pré-épithélial dans le stroma primitif [6–8]. Ces cellules, qui seront les futurs kératocytes, expriment à l'origine la protéine wnt-1, mais pas le kératocan [7]. Au fur et à mesure, elles s'organisent dans la matrice mésenchymateuse du méso-stroma en quatre à cinq couches interconnectées entre elles vers 7 semaines et demie. Elles commencent à exprimer certaines cytokératines. Elles produisent le stroma secondaire mature dont elles occupent environ 20 %, en organisant les amas collagéniques en lamelles.

Progressivement, la monocouche pré-endothéliale issue de la première vague évolue en couche monocellulaire à partir de la 8e semaine gestationnelle, modulée par TGF-β1 et 2. À ce moment survient une troisième vague de CEMCN. Celle-ci est à l'origine du futur tissu irien. Au 3e mois embryonnaire, le mésostroma évolue en stroma, dans lequel les kératocytes sont mieux organisés, en 25 à 30 couches environ. La couche endothéliale produit du collagène et constitue la portion embryonnaire de la membrane de Descemet sur sa face stromale. L'innervation cornéenne se constitue à partir du 5e mois, avec la formation d'un anneau nerveux péricornéen, sous l'influence des neurotrophines *nerve growth factor* (NGF), *brain-derived neurotrophic factor* (BDNF), *neurotrophins* (NT)-3 et NT-4 [9, 10]. Les BMP permettent le développement d'un contingent neurovégétatif cornéen [11, 12]. Une cornée embryonnaire possède toutes les structures d'une cornée mature à partir du 7e mois de gestation, aux trois quarts de sa taille adulte. Si l'aire cornéenne continue d'évoluer par la suite, l'épaisseur des structures cornéennes est peu différente à la naissance et à l'âge adulte (tableau 2-1).

Tableau 2-1 – Épaisseur des structures cornéennes à la naissance (d'après [13]).

Couche tissulaire cornéenne	Épaisseur à la naissance
Épithélium	50 µm
Bowman	10 µm
Stroma	450 µm
Membrane de Descemet	4 µm
Endothélium	5 µm

Points forts

- La cornée dérive de deux feuillets embryonnaires distincts, l'ectoderme et le mésoderme, ainsi que d'un feuillet hybride dérivé de l'ectoderme et du neuroectoderme : les cellules issues des crêtes neurales.
- Cela contribue à la physiologie complexe de la cornée et à la variété de ses pathologies.

2.2. Épithélium cornéen et membrane basale

N. Iglicki, E. Gabison

Épithélium cornéen

L'épithélium cornéen est un épithélium pavimenteux stratifié non kératinisé et avasculaire, constitué de cinq à sept couches de cellules relativement uniformes. Il atteint une épaisseur moyenne de 53 µm, représentant environ 10 % de l'épaisseur totale de la cornée. La durée de vie moyenne des cellules épithéliales est estimée entre 5 et 10 jours.

Fonctions de l'épithélium cornéen

L'épithélium cornéen joue un rôle central dans la vision, sa transparence résultant de l'homogénéité de l'indice de réfraction de toutes les cellules qui le composent. L'expression des kératines 3 et 12 par l'ensemble des cellules épithéliales différenciées semble jouer un rôle essentiel dans le maintien de cette transparence épithéliale [14].

L'épithélium a également une fonction primordiale en tant que barrière physique, notamment grâce aux jonctions serrées présentes au niveau apicolatéral des cellules les plus externes de l'épithélium cornéen. La cohésion des cellules épithéliales entre elles structure le tissu épithélial et empêche toute invasion externe (larmes, pathogènes) de pénétrer l'espace intercellulaire. L'épithélium cornéen possède également une capacité de résistance aux rayonnements ultraviolets (UV). L'épithélium cornéen partage un grand nombre de similitude avec l'épiderme. Ainsi, une exposition aiguë aux UV peut provoquer une photokératite, analogue à un coup de soleil. Quant à l'exposition chronique aux UV, comme sur la peau, celle-ci peut entraîner le développement d'une tumeur maligne au niveau de la surface oculaire, en particulier au niveau du limbe, et des lésions au niveau du stroma antérieur et de l'endothélium de la cornée. Cependant, et cette fois ci à la différence de l'épiderme, la probabilité de développer une tumeur maligne au niveau de la surface oculaire est près de 50 000 fois moins probable que de développer un cancer cutané non mélanome. Ces observations suggèrent que l'épithélium cornéen résiste à la carcinogenèse induite par les UV [15].

L'épithélium cornéen joue un grand rôle en préservant le caractère avasculaire de la cornée. En physiologie, lors de l'homéostasie cornéenne, il protège le stroma cornéen des effets du VEGF (*vascular endothelial growth factor*), facteur de croissance vasculaire, en produisant son récepteur soluble, ce qui favorise sa dégradation. Lors de la cicatrisation physiologique, d'autres molécules produites par l'épithélium inhibent l'angiogenèse, notamment le PEDF (*pigment epithelial-derived factor*), ou certains fragments de type angiostatine dérivé du plasminogène.

En physiologie, l'épithélium cornéen joue un rôle trophique majeur de soutien des cellules stromales sous-jacentes. Lors de la cicatrisation pathologique, un retard de sa cicatrisation favorise l'expression dérégulée de protéases favorisant la fonte stromale. Un retard de maturation de sa membrane basale sera aussi responsable de la production par les cellules épithéliales de molécules, dont le TGF (*transforming growth factor*), favorisant la fibrose stromale.

Structure de l'épithélium cornéen

En plus de la présence des kératines 3 et 12 dans toutes les cellules épithéliales cornéennes différenciées, toutes les cellules de l'épithélium cornéen possèdent des jonctions adhérentes ou *zonula adherens*. Ces jonctions spécifiques, impliquées dans l'adhésion cellule-cellule, la polarité cellulaire et la régulation du transport paracellulaire, sont constituées de cadhérines reliées aux faisceaux d'actine sur leur face latérale.

Cependant, on peut distinguer trois types de cellules au sein de l'épithélium cornéen : les cellules superficielles, les cellules intermédiaires ou « à ailes » [16] et les cellules basales.

Cellules superficielles

Les cellules superficielles sont composées de deux à trois couches de cellules aplaties et polygonales, les plus différenciées de l'épithélium. Leur diamètre est de 40 à 60 µm et leur épaisseur est de 2 à 6 µm. Les cellules les plus externes de cette couche, les plus matures, possèdent sur leur face apicale des microvillosités et des microplis qui augmentent la surface de contact et donc les échanges avec le film lacrymal. Ces cellules contiennent de nombreux filaments de kératine 3 et 12, des granules de glycogène abondants, et un appareil de Golgi bien développé associé à de nombreuses vésicules. Les cellules les plus profondes de

cette couche épithéliale ont un noyau allongé. Cette couche est recouverte au niveau apical par une structure appelée glycocalyx, qui détermine la frontière entre l'épithélium et les larmes. Le glycocalyx est une structure de 100 à 500 nm d'épaisseur, constituée en grande partie de glycoprotéines transmembranaires appelées mucines, dont les plus abondantes au niveau cornéen sont MUC1, MUC4 et MUC16. Ces mucines jouent le rôle de colonne vertébrale au sein du glycocalyx. La galectine-3 relie les mucines entre elles, participant ainsi au maillage fin du glycocalyx. Le glycocalyx joue un rôle essentiel dans la lubrification, l'hydratation et la fonction barrière épithéliale [17].

Au niveau apicolatéral des cellules superficielles, les jonctions étanches (*tight junctions*) ou jonctions imperméables, dites *zonula occludens*, assurent l'étanchéité de la barrière épithéliale en empêchant le passage des molécules ainsi que de potentiels pathogènes en supprimant la formation d'espaces intercellulaires. Ces jonctions sont formées par un ensemble de protéines transmembranaires (claudines, occludines, JAM, etc.) connectées aux filaments d'actine par l'intermédiaire de protéines adaptatrices de la *zonula occludens* telles que ZO-1 ou PAR. Les jonctions serrées apparaissent comme des points de contact d'apposition étroite, ou *kissing points*, où les deux bicouches lipidiques sont indiscernables l'une de l'autre.

CELLULES INTERMÉDIAIRES

Les cellules intermédiaires, ou «à ailes» [16], représentent également deux à trois couches de la partie centrale de l'épithélium. Leur forme polygonale avec une face antérieure convexe et une face postérieure concave rappelle une aile. Elles font la transition entre les cellules basales et superficielles. Ces cellules contiennent de nombreux filaments de kératine et un appareil de Golgi particulièrement développé.

La formation de plaques d'adhérence ou de liaisons d'ancrage organisées de façon ponctuelle ou ceinturant, assurant la cohésion mécanique des cellules, est rendue possible grâce aux desmosomes. Les desmosomes sont des structures en forme de disque d'environ 0,1 à 0,5 µm de diamètre et 0,1 µm d'épaisseur, composées d'une plaque desmosomale constituée de plakoglobine et de desmoplakines. Les desmosomes assurent les liaisons intercellulaires via des molécules transmembranaires de la superfamille des cadhérines et sont le point d'ancrage du cytosquelette, notamment des filaments de kératine, très abondants au niveau des cellules intermédiaires.

CELLULES BASALES

Les cellules basales forment une unique couche de cellules cylindriques ou en colonne à la base de l'épithélium. Ces cellules mesurent environ 18 µm de hauteur pour 10 µm de largeur. Leur noyau est ovalaire, et leur cytoplasme contient de nombreux filaments de kératine 3 et 12, ainsi que les kératines 5 et 14 [18].

Les cellules basales sont capables de mitoses et donnent naissance aux cellules intermédiaires et superficielles. Elles présentent de manière abondante, sur leur face latérale, des jonctions communicantes (*gap junctions*) permettant le passage de petites molécules d'une cellule à l'autre. Les jonctions communicantes sont constituées d'un assemblage de canaux (connexons) qui traversent les membranes des cellules adjacentes. Chaque connexon est un hexamère de connexines transmembranaires formant un canal hydrophile d'environ 2 nm de diamètre. Ces jonctions jouent un rôle essentiel dans la communication intercellulaire et la différenciation (fig. 2-4) [19].

Les cellules basales épithéliales sont en contact direct avec la membrane basale et forment avec cette dernière des adhésions focales. Ces structures permettent l'adhérence de la couche épithéliale à la matrice extracellulaire (MEC), ainsi que la transmission des forces mécaniques et des signaux de régulation entre la MEC et le feuillet épithélial. Les adhésions focales dans les cellules épithéliales basales sont principalement composées d'intégrines α3β1 et α2β1. Ces intégrines servent d'intermédiaires transmembranaires entre les composantes de la MEC, telles que la fibronectine, la laminine et les collagènes, et les protéines de liaison intracellulaires, notamment la taline, la paxilline, les kinases d'adhésion focale (FAK) et la vinculine (VCL). Ces protéines de liaison intracellulaires sont impliquées dans les voies de signalisation régulant la survie et la migration cellulaire. De plus, les points d'adhésion focale sont connectés aux filaments d'actine, établissant un réseau structural essentiel pour la transmission des forces et des signaux à l'intérieur de la cellule.

Outre les adhésions focales, le feuillet épithélial est solidement ancré au stroma grâce à un système hémidesmosomal. Ce système permet l'attachement des fibres d'ancrage, garantissant une stabilité structurale essentielle.

Les hémidesmosomes (HD) cornéens, semblables à ceux présents dans la peau, sont de type I. Au niveau cytoplasmique, ces HD contiennent des plakines, notamment l'antigène pemphigoïde bulleux 230 (BP230) et la plectine, qui interagissent directement avec les filaments de kératine. Les intégrines α6β4 et le collagène XVII constituent les éléments transmembranaires de cette structure, établissant une liaison entre les composantes cytoplasmiques et la laminine-332 au niveau de la membrane basale.

En plus de leur rôle dans l'ancrage, les cellules basales épithéliales jouent un rôle prédominant dans la sécrétion des constituants de la membrane basale, notamment le collagène de type IV et la laminine, contribuant ainsi à la maintenance et à la fonctionnalité de la membrane basale. Dans le cas de la cornée, le complexe formé par les hémidesmosomes, les fibrilles d'ancrage et les filaments d'ancrage est appelé complexe d'ancrage. Ce complexe établit un lien structurel ininterrompu entre le cytosquelette intracellulaire, constitué de filaments intermédiaires de kératine de la cellule épithéliale basale, et le stroma sous-jacent.

L'entretien de l'épithélium cornéen adulte est un processus dynamique et essentiel pour une vision normale, théorisé en 1983 par R.A. Thoft et J. Friend. Le maintien de l'intégrité épithéliale est régulé par trois phénomènes indépendants : la prolifération des cellules basales épithéliales, la migration centripète des

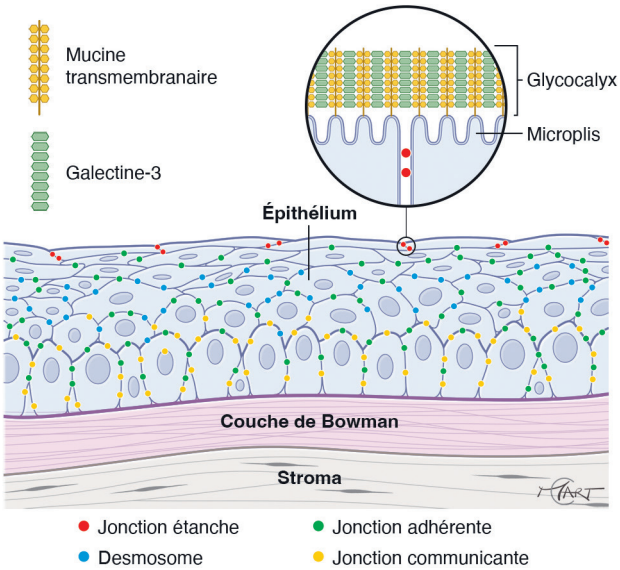


Fig. 2-4 ***Schéma représentant les composantes de la barrière épithéliale de la surface oculaire.***
Source : dessin de Cyrille Martinet, d'après Mantelli et al. [19].

cellules périphériques et la perte de cellules épithéliales à la surface du tissu. Selon l'hypothèse conventionnelle, les cellules souches épithéliales limbiques produisent des cellules amplificatrices transitoires qui migrent de manière centripète depuis la région limbique vers la cornée, traversant les couches basales et intermédiaires jusqu'aux couches stratifiées externes, et sont finalement éliminées de la surface du tissu [20].

Cependant, d'autres théories sur le renouvellement de l'épithélium cornéen ont opposé puis complété la théorie de Thoft et al. [20] présentée précédemment. La migration centripète de cellules épithéliales du limbe vers le centre de la cornée a par exemple été contredite par Majo et al. qui suggéraient que les cellules basales épithéliales disposaient de propriétés similaires de renouvellement et de différenciation au centre comme en périphérie [21]. Des études très élégantes sur cornées de souris transgéniques dont les cellules épithéliales disposaient de marqueurs fluorescents liées à leur prolifération et à leur différenciation ont pu mettre en évidence des compartiments spécialisés de cellules immatures au niveau du limbe. Ainsi, chez la souris, les cellules souches épithéliales sont compartimentées : quiescentes au niveau du limbe «externe», et actives au niveau du limbe «interne». Le rôle de la «niche» de ces cellules a été redéfini, confirmant le rôle essentiel du stroma sous-jacent avancé par Majo et al. [21]. Les spécificités de cette niche sont nombreuses tant au niveau de la structure de la MEC, de son innervation et de sa constitution en cellules mésenchymateuses et inflammatoires (fig. 2-5) [22, 23].

Membrane basale

La membrane basale sépare de manière continue les cellules épithéliales basales de la couche de Bowman, formant une ultrastructure plus large appelée zone de la membrane basale (ZMB). Cette zone est composée des hémidesmosomes (HD), de la *lamina lucida* supérieure, de la *lamina lucida* inférieure, de la *lamina densa* et de la *sublamina densa*, cette dernière étant la région la plus élevée du stroma.

Les membranes basales sont des matrices extracellulaires spécialisées dont le rôle primordial est d'ancrer les cellules qu'elles soutiennent aux structures sous-jacentes. Elles jouent également un rôle crucial dans les processus de polarisation, de migration, de différenciation, ainsi que dans le maintien du phénotype différencié des cellules associées, notamment via leurs effets sur le cytosquelette. De plus, elles peuvent contrôler des fonctions cellulaires en se liant et en modulant l'activation, la localisation et les concentrations de certains facteurs de croissance et de cytokines.

En microscopie électronique, la membrane basale se divise en deux structures distinctes : la *lamina lucida*, transparente aux électrons, qui constitue la partie supérieure de la membrane basale, et la *lamina densa*, dense aux électrons, correspondant à la partie profonde de la membrane basale.

La membrane basale de l'épithélium cornéen est constituée de quatre composantes principales : les collagènes, les laminines,

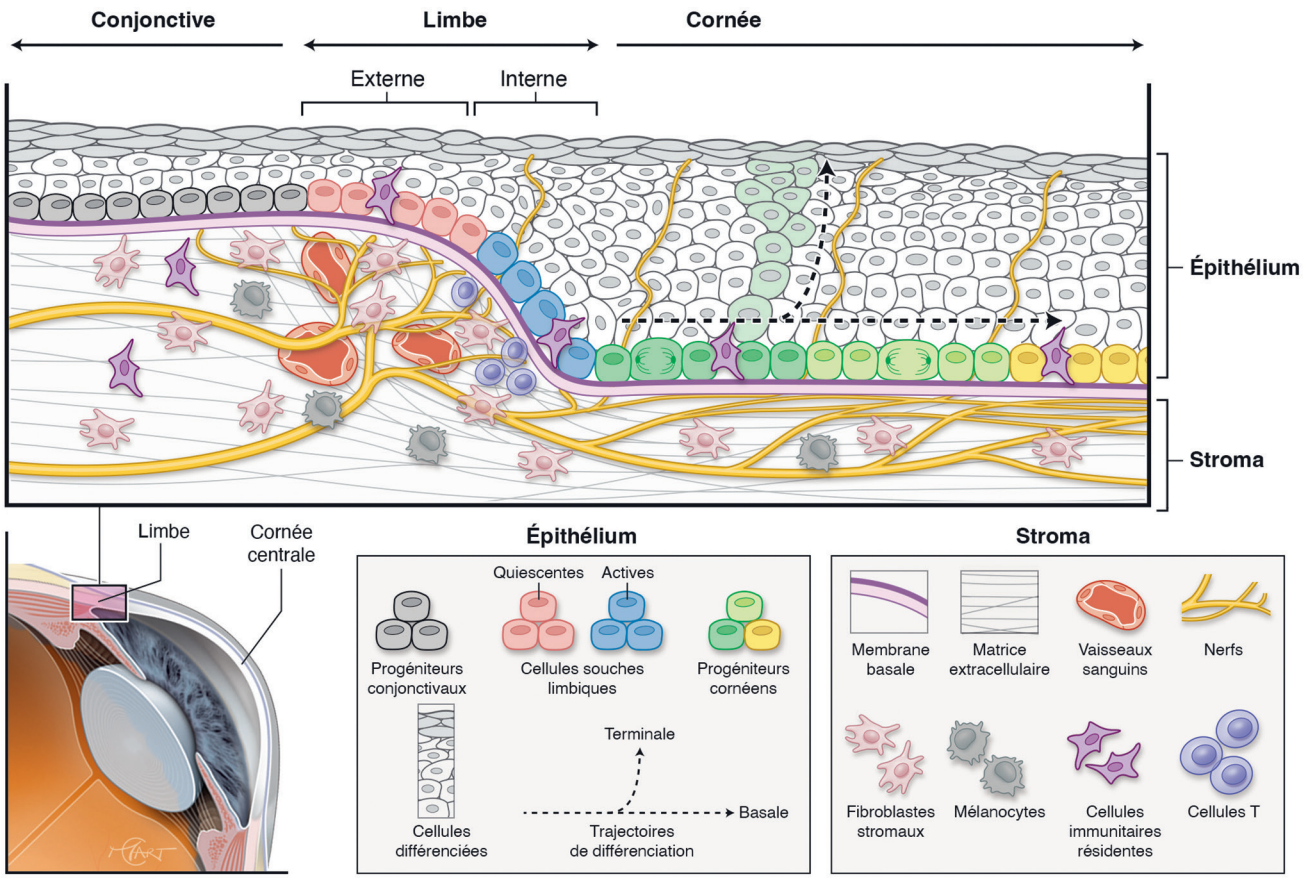


Fig. 2-5 ***Schéma récapitulatif du renouvellement de l'épithélium.***
Les cellules souches et les progéniteurs sont dans la couche basale de l'épithélium stratifié. Il existe deux populations distinctes de cellules souches dans la niche limbique : les cellules quiescentes, dans le limbe externe, qui peuvent être activées après une importante lésion, et les cellules souches du limbe interne directement actives. Une fois sorties du limbe, les cellules souches dérivent de manière centripète tout en continuant à proliférer. Les cellules de la couche basale peuvent ensuite s'engager dans une différenciation terminale pour reconstituer les cellules qui se détachent de la surface épithéliale. Cette différenciation est d'autant plus forte au centre de la cornée. Le stroma influence également l'activité et le destin des cellules souches épithéliales.
Source : dessin de Cyrille Martinet, d'après Thomasy et al. [23].

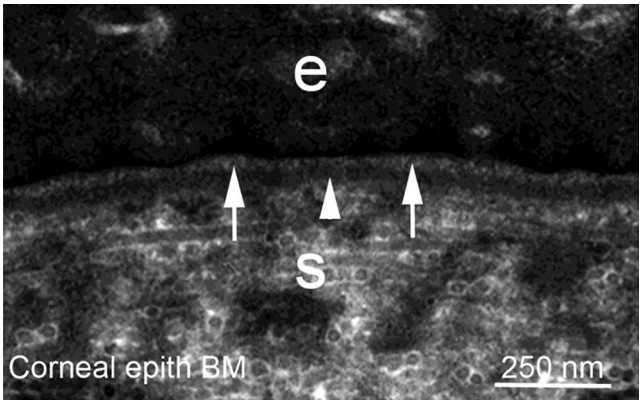


Fig. 2-6 ***Microscopie électronique à balayage d'une membrane basale épithéliale de la cornée centrale du lapin.***
Flèches latérales pointant la *lamina lucida*. La tête de flèche centrale pointe la *lamina densa*. « e » indique la localisation de l'épithélium et « s » celle du stroma.
Source : Saikia P, Medeiros CS, Thangavadivel S, Wilson SE. Basement membranes in the cornea and other organs that commonly develop fibrosis. Cell Tissue Res 2018; 374(3) : 439-53.

les protéoglycanes héparane sulfates (HSPG) et les nidogènes. D'autres composantes, telles que la fibronectine et les matrilines, sont également présentes en moindres proportions (fig. 2-6) [24].

■ COMPOSITION ET STRUCTURES

COLLAGÈNES

Les collagènes jouent un rôle essentiel dans la structure et la fonction de la membrane basale de l'épithélium cornéen.

- *Collagène IV isoforme α3-α6.* Spécifique de la cornée centrale, ce collagène se lie au nidogène-1 et au nidogène-2, aux HSPG agrin et perlecan, et à de nombreuses autres composantes. Présent dès la 8e semaine de gestation et tout au long de la vie, le collagène IV est une composante native de la membrane basale épithéliale impliquée dans le développement, l'entretien et la cicatrisation des plaies de la cornée. Il favorise la migration et l'adhésion des cellules épithéliales cornéenne [25].
- *Collagène VII.* Ce collagène permet l'ancrage de l'épithélium au stroma. Assemblé en fibres, il constitue la principale composante des fibres d'ancrage. Ces fibres se lient en amont avec la laminine-332 au niveau de la *lamina densa*, traversent la couche de Bowman et s'étendent jusqu'au stroma sous-jacent.
- *Collagène XVII.* Impliqué dans la composition des hémidesmosomes, il interagit avec la chaîne β3 de la laminine-332, soutenant ainsi la liaison aux cellules épithéliales.
- *Autres collagènes.* Des collagènes d'importance mineure, tels que les collagènes XII, XV et XVIII, ont également été identifiés dans la membrane basale cornéenne, contribuant à sa complexité et à ses diverses fonctions [26].

LAMININES

Les laminines sont les éléments non collagéniques les plus abondants dans la membrane basale. Ce sont des glycoprotéines hétérotrimériques composées de trois chaînes : α, β et γ. Elles jouent un rôle crucial dans le développement des tissus, et leurs anomalies peuvent profondément affecter le tissu cornéen. Les laminines sont essentielles pour l'assemblage de la membrane basale et interagissent avec les réseaux de collagènes via les nidogènes et d'autres molécules de la MEC.

Les laminines sont principalement responsables de l'organisation initiale de la membrane basale, s'auto-assemblant sans l'aide d'autres composantes de cette structure. Dans la cornée, on retrouve plusieurs types de laminines : les laminines 211 (laminine 2), 332 (laminine 5). Produites par les cellules épithéliales, elles contribuent à la formation du complexe d'ancrage en se liant aux fibres de collagène VII et à l'intégrine α6β4 des hémidesmosomes. Les laminines 411 (laminine 8) et 511 (laminine 10) sont produites par les kératocytes.

Les cellules épithéliales cornéennes adhèrent aux laminines de la membrane basale épithéliale principalement par l'intermédiaire des intégrines.

PERLECAN

Le perlecan est le HSPG le plus abondant au sein de la membrane basale. Cette protéine complexe à domaines multiples joue un rôle crucial dans diverses fonctions biologiques. Le perlecan interagit avec plusieurs composantes de la membrane basale impliquées dans la prolifération cellulaire et l'adhésion, y compris la laminine, ainsi qu'avec le récepteur des LDL, le facteur de croissance épidermique (*epidermal growth factor* [EGF]) et la molécule d'adhésion des cellules neurales (N-CAM).

Il régule également divers facteurs de croissance, tels que le facteur de croissance des fibroblastes (FGF), les protéines morphogéniques osseuses (BMP), le facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGF), les facteurs de croissance endothéliaux vasculaires (VEGF), le facteur de croissance transformant β-1 (TGF-β1) et les facteurs de croissance analogues à l'insuline (IGF).

NIDOGÈNE 1 ET 2

Les nidogènes sont des glycoprotéines sulfatées majeures de la membrane basale, constituées de trois domaines globulaires. Ils jouent un rôle crucial en tant que protéines de liaison, stabilisant la membrane basale grâce à leur forte affinité pour la laminine et le collagène IV.

Contrairement à la laminine et au collagène IV, les nidogènes et le perlecan forment des polymères irréguliers. Ils interagissent avec diverses structures, telles que la laminine et le collagène IV, ainsi qu'entre eux, en raison de leurs multiples sites de liaison.

■ FONCTION D'ANCRAGE

La zone de membrane basale (ZMB) est traversée par un complexe multiprotéique essentiel à l'adhésion du feuillet épithélial au stroma, garantissant ainsi l'intégrité du tissu. Ce complexe d'ancrage comprend les hémidesmosomes, où l'intégrine α6β4, une protéine transmembranaire cruciale, relie les cellules épithéliales à la laminine 332 dans la *lamina lucida*. Dans la *lamina densa*, la laminine 332 interagit avec le domaine NC1 des molécules de collagène VII, qui se lie ensuite aux fibres de collagène IV. Ces dernières, à leur tour, interagissent avec la laminine par l'intermédiaire du nidogène. Enfin, au niveau du stroma, l'ancrage est complété par l'attachement des fibres de collagène VII aux fibres de collagène I du stroma. La maturation de la membrane basale est un phénomène long et complexe qui est à l'origine de pathologies telles que les syndromes d'érosions récidivantes, ou des processus de fibroses stromales.

L'absence de la membrane basale a des conséquences significatives, notamment en perturbant la fonction barrière contre certains facteurs sécrétés par les cellules épithéliales. En l'absence de cette membrane, des facteurs tels que le TGF-β et le PDGF peuvent pénétrer dans le stroma cornéen, stimulant l'expression d'α-SMA (*smooth muscle actin*), de la vimentine et de la desmine, ce qui entraîne la différenciation des fibroblastes stromaux en

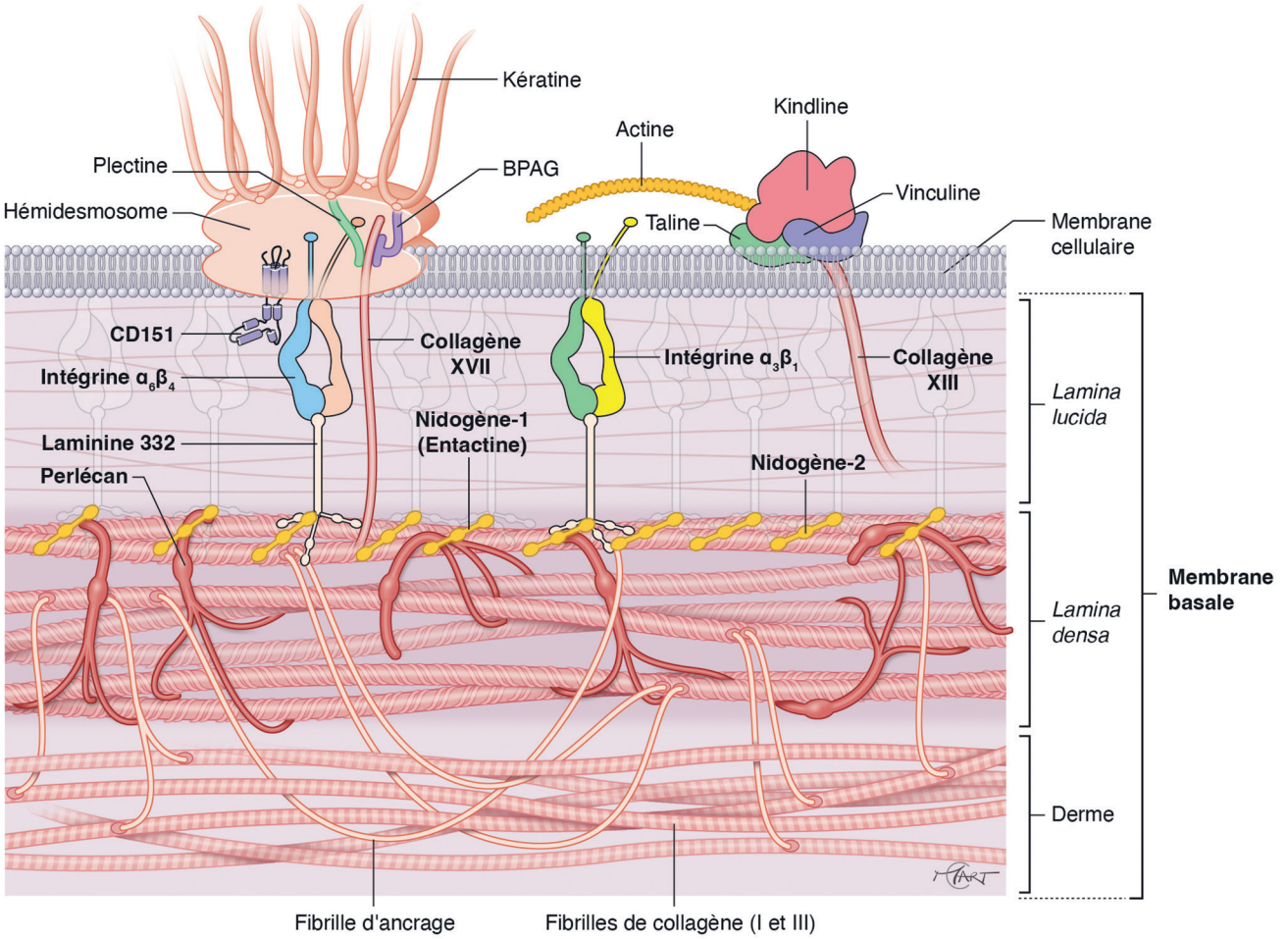


Fig. 2-7 ***Schéma synthétisant les principales composantes de la zone de la membrane basale.***
Source : dessin de Cyrille Martinet, d'après Saikia et al. 2018 [28].

myofibroblastes. Cette altération de la membrane basale affecte directement la formation du *haze* cornéen. La transparence de la cornée peut être restaurée lorsque la membrane basale retrouve son intégrité, notamment par l'inhibition du TGF-β. En cas de dommage à la membrane basale, une augmentation de la production de fibronectine déclenche le processus de réparation, qui peut nécessiter jusqu'à 6 semaines pour s'achever (fig. 2-7) [24].

RÔLES DE LA MEMBRANE BASALE CORNÉENNE

La membrane basale joue un rôle essentiel dans l'organisation tissulaire en assurant l'ancrage de l'épithélium au stroma. Elle régule également les facteurs de croissance et les cytokines, contribuant ainsi à la communication bidirectionnelle entre la MEC et les cellules. Cette communication est facilitée par les signaux biophysiques et les voies de mécanotransduction, notamment via l'interaction entre les intégrines épithéliales et les lamininines. Ces interactions influencent divers aspects des cellules sous-jacentes, y compris leurs polarité, forme, migration, prolifération, différenciation et survie.

De plus, la membrane basale sert de barrière moléculaire contre des facteurs de croissance et de différenciation tels que le TGF-β et le PDGF. En régulant la diffusion de ces facteurs, elle module leur impact sur l'activité cellulaire et la composition du tissu stromal sous-jacent. La membrane basale joue un rôle essentiel dans le maintien des interactions épithéliostromales en physiologie ; son retard de maturation lors de la cicatrisation est associé à des complications fibreuses, néovasculaires voire infectieuses.

Au cours de la cicatrisation d'une plaie cornéenne épithéliostromale physiologique, les kératocytes de la zone sous-épithéliale meurent par apoptose, ce qui sépare les cellules du compartiment épithélial des cellules stromales. Une transformation des fibroblastes en myofibroblastes favorise la repopulation de la zone lésée par les cellules stromales. Cette transformation est contemporaine de la destruction de la membrane basale épithéliale ; sa maturation est normalement associée à la disparition des myofibroblastes.

Points forts

- L'épithélium cornéen est un épithélium pavimenteux stratifié non kératinisé composé de deux à trois couches de cellules superficielles, de deux à trois couches de cellules intermédiaires et d'une couche unique de cellules basales.
- L'épithélium cornéen joue un rôle de barrière physique, de résistance aux rayonnements ultraviolets et préserve le caractère avasculaire de la cornée.
- La membrane basale de l'épithélium cornéen assure l'ancrage de l'épithélium au stroma. Un retard de maturation lors de la cicatrisation est associé à des complications fibreuses, néovasculaires voire infectieuses.

2.3. Couche de Bowman et stroma cornéen

N. Iglicki, E. Gabison

Couche de Bowman

La couche de Bowman est une structure cornéenne acellulaire, mesurant 8 à 14 µm d'épaisseur, située immédiatement après la membrane basale épithéliale et avant le stroma. La couche de Bowman ne possède pas de capacité régénérative au cours de la cicatrisation cornéenne.

Elle est constituée d'une condensation de fibrilles de collagène, de 20 à 25 nm (ce qui représente environ 50 % à 66 % du diamètre des fibrilles du stroma plus profond), disposées de manière entrelacée et aléatoire, ainsi que de protéoglycanes. La surface antérieure de la couche de Bowman est lisse, tandis que la surface postérieure fusionne avec les lamelles de collagène hautement organisées du stroma. Le collagène de type I est la principale composante de cette couche, bien que les collagènes de types III, V et XII soient également présents. Cette couche est traversée par des fibres d'ancrage composées de collagène VII.

La couche de Bowman ne constitue pas une membrane individualisée, mais une zone de transition vers le stroma sous-jacent, sans agir comme une barrière significative pour le passage des protéines de taille moyenne à grande. Son rôle fonctionnel précis reste à clarifier ; il a été suggéré qu'elle pourrait être superflue pour la fonction cornéenne humaine, compte tenu de l'absence de complications chez les patients ayant subi une photokératectomie réfractive (PKR) et donc ne possédant plus cette couche.

Il a été proposé que la couche de Bowman joue un rôle dans le maintien de la forme de la cornée. Dans le contexte du kératocône, pathologie où des vergetures et des interruptions de cette couche sont observées, cette hypothèse a été testée par des transplantations de couches de Bowman, qui ont donné des résultats mitigés [27].

Le rôle de la couche de Bowman a été proposé dans la prévention des fontes stromales aseptiques liées aux retards de cicatrisation. Au cours de la cicatrisation physiologique, la maturation de la membrane basale épithéliale contribue à la disparition des myofibroblastes au profit d'un phénotype quiescent des cellules de la zone sous-épithéliale. En cas de retard de cicatrisation, l'absence de membrane basale permet aux myofibroblastes qui recolonisent le stroma lésé d'interagir directement avec les cellules épithéliales. Ces interactions épithéliostromales directes (IESD) favorisent la formation de myofibroblastes « de lyse » et la synthèse dérégulée de protéases de la famille des métalloprotéinases. Les espèces présentant une couche de Bowman seraient plus protégées de ces IESD, celle-ci représentant une zone « tampon » prévenant la formation des myofibroblastes de lyse. Il est intéressant de noter que la couche de Bowman est conservée dans de nombreuses espèces et est particulièrement épaisse chez les espèces aux cornées fines. Chez le caméléon, dont la cornée est de 100 µm, la couche de Bowman représente 30 % de son épaisseur [28].

Chez l'homme, la couche de Bowman commence à se former entre la 13e et la 19e semaine de gestation. Lors du développement embryonnaire, elle apparaît sous l'épithélium cornéen après la deuxième vague de migration de mésenchyme entre l'épithélium et l'endothélium lors de la formation du stroma. Pour certains, il s'agirait d'un reliquat vestigial de mésostroma acellulaire compacté sous l'épithélium lors de la deuxième vague de migration (fig. 2-8) [29, 30].

Stroma cornéen

Le stroma cornéen représente environ 400 µm d'épaisseur, soit 90 % de la structure totale de la cornée. Son organisation précise, caractérisée par l'agencement rigoureux des fibrilles de collagène en lamelles, est essentielle au maintien des propriétés uniques du stroma, telles que la transparence, la forme, la résistance mécanique et l'absence de vascularisation.

Le stroma est constitué principalement d'un réseau de kératocytes, responsables de la synthèse de la matrice extracellulaire (MEC), où le collagène joue un rôle central. Les fibrilles de collagène produites par ces kératocytes sont homogènes, de petit diamètre et rigoureusement organisées, ce qui confère à la structure sa transparence. Ces fibrilles s'assemblent en fibres, qui elles-mêmes se structurent en lamelles. Les lamelles stromales, de dimensions variables (allant de 0,5 à 250 µm de largeur et jusqu'à 2,5 µm d'épaisseur), sont disposées perpendiculairement les unes aux autres, formant un réseau orthogonal sophistiqué, indispensable à l'intégrité fonctionnelle de la cornée.

Cependant, des différences structurelles existent entre le stroma antérieur et postérieur, qui se traduisent par des variations fonctionnelles. Le stroma antérieur possède des lamelles avec une densité de tassement plus élevée et fortement entrelacées [31, 32] s'insérant dans la couche de Bowman. Au niveau médian, les lamelles du stroma restent aussi étroitement entre-

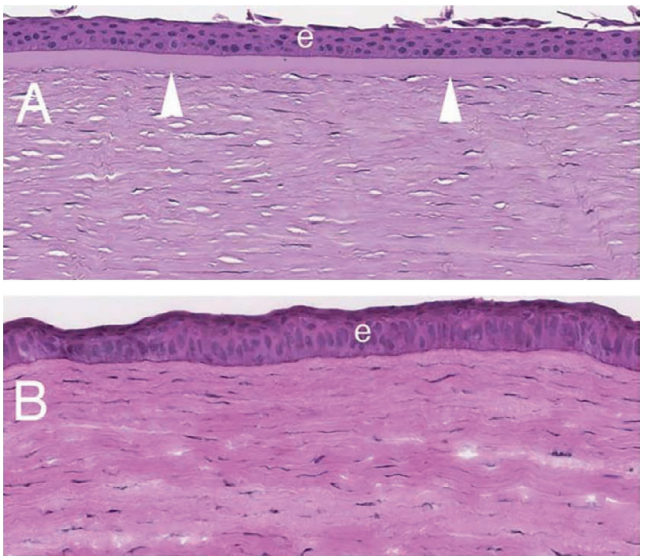


Fig. 2-8 ***Coloration hématoxyline éosine d'une cornée humaine (a) avec couche de Bowman (têtes de flèche) et d'une cornée de lapin (b) sans couche de Bowman. ×200.***
Source : Wilson SE. Bowman's layer in the cornea- structure and function and regeneration. Exp Eye Res 2020 ; 195 : 108033.

lacées. En revanche, dans le stroma postérieur de la cornée centrale, les lamelles sont plus hydratées, moins entrelacées, et présentent un espacement interfibrillaire accru [32], se superposant les unes aux autres, formant des couches. Cette différence d'organisation engendre des variations dans l'indice de réfraction entre les régions antérieure et postérieure du stroma, le stroma antérieur possédant un indice de réfraction plus élevé que son homologue postérieur [32].

CELLULES STROMALES

KÉRATOCYTES

Les kératocytes, ou fibrocytes cornéens, sont les principales cellules du stroma cornéen, représentant moins de 10 % du tissu stromal. Ces cellules quiescentes jouent un rôle central dans la régulation des processus d'assemblage et de structuration des fibrilles et des lamelles de collagène, essentiels à l'intégrité et à la fonction du stroma. Les kératocytes possèdent une morphologie dendritique qui facilite des contacts intercellulaires étendus, formant un réseau organisé au sein des lamelles de collagène. Leur corps cellulaire compact minimise la diffusion lumineuse, et des jonctions communicantes (*gap junctions*) assurent la coordination intercellulaire. Cette organisation en réseau permet aux kératocytes de réguler de manière optimale le renouvellement et l'assemblage de la MEC à travers l'ensemble du stroma. Ils interviennent dans la synthèse des composantes principales de la MEC, telles que les collagènes, les protéoglycanes et les métalloprotéinases matricielles, contribuant ainsi à maintenir l'équilibre et la structure de la cornée.

Sur le plan moléculaire, les kératocytes expriment des protéines telles que le kératocane, les cristallines, qui contribuent à maintenir la transparence cornéenne en réduisant la diffusion lumineuse [33], ainsi que le marqueur de surface CD34. Lorsqu'une cicatrice se forme dans la cornée, un changement significatif de la morphologie et des marqueurs des kératocytes est observé : ils perdent leur forme dendritique ainsi que l'expression du kératocane, du CD34 et des cristallines [33]. Ce phénomène est associé à une transition phénotypique vers un état de fibroblastes activés. Ces fibroblastes peuvent à leur tour se différencier en myofibroblastes hautement contractiles, caractérisés par une surexpression des faisceaux d'actine.

Le renouvellement des kératocytes est assuré par des cellules souches pluripotentes localisées à la périphérie de la cornée, plus précisément au niveau de la région antérieure du limbe. Ces cellules souches mésenchymateuses, essentielles à l'homéostasie et à la régénération des tissus cornéens, migrent et se différencient en kératocytes pour remplacer les cellules stromales endommagées ou sénescentes.

CELLULES TRANSITOIRES DE L'IMMUNITÉ

D'autres types cellulaires sont également présents dans le stroma cornéen, notamment des cellules transitoires dérivées de la moelle osseuse, telles que les macrophages et les cellules dendritiques. Ces dernières constituent une population hétérogène aux fonctions immunitaires essentielles, notamment en raison de leur capacité de présenter des antigènes spécifiques. Les cellules dendritiques, ubiquitaires dans les tissus, y compris dans la cornée, jouent un rôle central dans l'orchestration des réponses immunitaires, intervenant dans des processus tels que la pathogenèse des allergies oculaires, la réponse à l'infection et la régulation de la cicatrisation des plaies.

Plus récemment, une implication des lymphocytes T a été suggérée dans la régulation du caractère quiescent des cellules souches limbiques au niveau de leur « niche stromale » [34].

MATRICE EXTRACELLULAIRE STROMALE

La structure organisée et précise de la MEC du stroma est cruciale pour assurer la transparence cornéenne et maintenir la forme générale du tissu. Cette transparence repose en grande partie sur l'empilement ordonné de fibrilles de collagène homogènes de petit diamètre, nettement plus fines que dans la plupart des autres tissus conjonctifs, ce qui constitue un facteur clé de cette propriété optique. La distance interfibrillaire, inférieure à la moitié de la longueur d'onde de la lumière, confie au stroma cornéen une structure semi-cristalline. Ces fibres sont principalement constituées de collagène de type I, et, dans une moindre mesure, de collagène de types V et XI. Cependant, cette organisation ainsi que d'autres propriétés stromales résultent de l'interaction de plusieurs types de collagènes fibrillaires ou associés aux fibrilles (collagènes III, V, XI, XII et XIV). En complément, d'autres collagènes, tels que ceux de types VI et VII, sont également présents dans le stroma. Les protéoglycanes exprimés dans ce tissu, notamment la décorine, le biglycane, le lumican, le kératocan et la fibromoduline, jouent un rôle essentiel dans la régulation de l'organisation des fibrilles de collagène.

COLLAGÈNES

Collagènes fibrillaires (collagènes de types I, III, V et XI)

Le collagène de type I est la protéine la plus abondante du stroma cornéen et constitue la majeure partie des fibrilles de collagène. Les collagènes de types V et XI, bien que présents en quantités moindres, jouent un rôle essentiel dans la régulation de l'assemblage des fibrilles de collagène I. Le collagène de type V représente 10 % à 20 % des collagènes fibrillaires dans le stroma, tandis que le collagène XI est principalement détecté au cours du développement embryonnaire, avec une présence plus limitée à l'âge adulte. Ces collagènes mineurs influencent directement le processus d'assemblage des fibrilles. Concernant le collagène III, bien que ce collagène soit rarement observé dans le tissu cornéen non lésé [35, 36], il est fortement exprimé lors de la réponse fibreuse à une lésion.

Les fibrilles de collagène, d'un diamètre variant entre 25 et 35 nm, sont synthétisées sous forme de procollagènes avant d'être assemblées en fibrilles striées, caractérisées par une périodicité de 67 nm [37]. Ce processus d'assemblage est régulé par le clivage enzymatique des propeptides. Une fois ce clivage effectué, les molécules de collagène s'auto-assemblent en réseaux décalés longitudinalement, générant une structure de chevauchement qui aboutit à ce motif périodique (fig. 2-9a) [37]. Cette disposition en lamelles perpendiculaires dont les dimensions sont inférieures à la moitié de la longueur d'onde de la lumière, combinée avec un indice de réfraction identique à celui de la substance fondamentale, confère au stroma sa transparence unique. L'organisation et la structure des fibrilles de collagène représentent ainsi la caractéristique la plus distinctive du stroma cornéen.

La molécule de collagène I mesure environ 300 nm de longueur pour un diamètre de 1,5 nm. Lors de l'assemblage des fibrilles, les molécules de collagène adoptent un arrangement décalé, créant un espacement régulier de 67 nm, inférieur à la longueur d'onde de la lumière visible, contribuant ainsi à la transparence cornéenne. Les collagènes de types V et XI s'associent aux autres collagènes fibrillaires grâce à une distribution spécifique des acides aminés qui génère des forces électrostatiques et hydrophobes, facilitant ainsi leur assemblage côte à côte pour former des fibrilles hétérotypiques (fig. 2-9b) [37]. Le

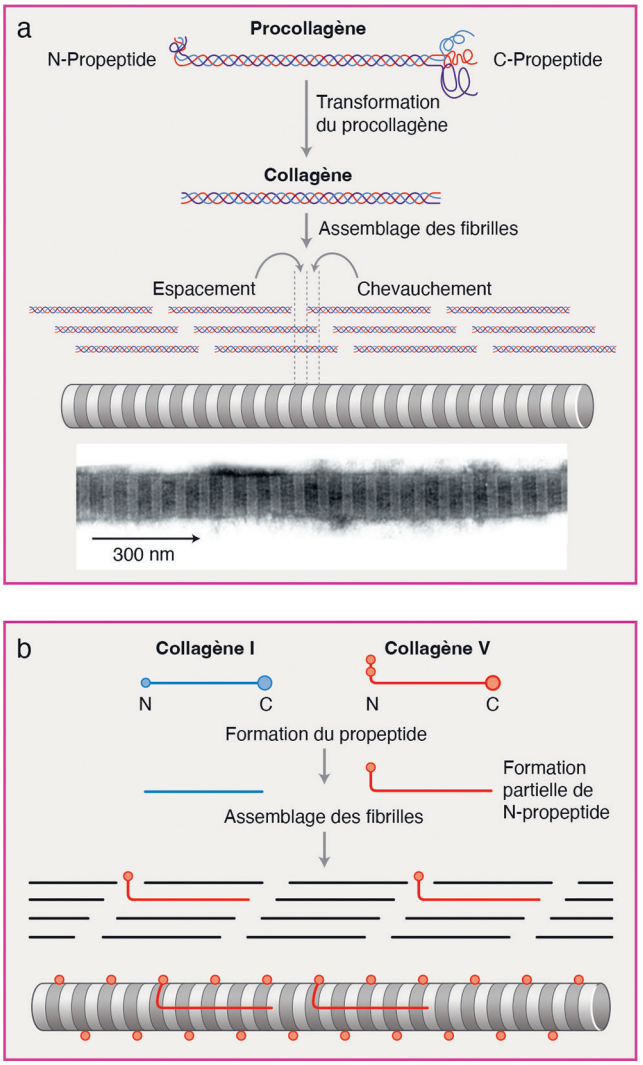


Fig. 2-9 ***Schéma de l'assemblage des fibrilles de collagène.*** **a.** Schéma de l'assemblage des fibrilles de collagène I et image de microscopie électronique d'une fibrille de collagène présentant un motif alternant espacement (clair) et chevauchement (foncé) caractéristique des fibrilles cornéennes. **b.** Schéma de la formation des fibrilles hétérotypiques du stroma cornéen.
Source : dessin de Cyrille Martinet, d'après Espana et al. [37].

domaine N-terminal des collagènes régulateurs, qui ne peut pas s'intégrer dans l'organisation hélicoïdale des autres collagènes, se projette à la surface des fibrilles, créant ainsi des irrégularités dans l'alignement des molécules de collagène. Ces irrégularités augmentent à mesure que plus de collagène régulateur s'incorpore dans la structure fibrillaire. À ce stade, les liaisons électrostatiques et hydrophobes ne sont plus suffisamment fortes pour stabiliser l'ajout de nouvelles molécules de collagène, ce qui arrête l'extension des fibrilles. La proportion de collagènes régulateurs a donc un rôle important dans la régulation du diamètre des fibrilles de collagène dans le stroma cornéen, influençant indirectement non seulement la structure fibrillaire, mais aussi la transparence de la cornée, un élément essentiel à son fonctionnement optique.

Collagènes associés aux fibrilles (collagènes XII et XIV)

Les collagènes associés aux fibrilles ne s'assemblent pas en fibrilles, mais interagissent avec celles-ci. Parmi les collagènes associés aux fibrilles les plus abondamment exprimés dans le stroma cornéen, on trouve les collagènes de types XII et XIV. Ces derniers ne forment pas de structures fibrillaires, mais plutôt des réseaux dont les fonctions ne demeurent pas complètement comprises. Ces collagènes jouent un rôle crucial dans la régulation de l'organisation de la matrice extracellulaire et du comportement cellulaire au sein des fibrilles et dans l'espace interfibrillaire. Par exemple, le collagène XII contribue à stabiliser le diamètre et l'espacement des fibrilles [38]. En absence de collagène XII, le développement des lamelles stromales est altéré, entraînant une désorganisation généralisée de l'architecture lamellaire et stromale [38]. Ainsi, le collagène XII apparaît comme un acteur clé dans l'établissement de l'organisation hiérarchique du stroma, régulant et stabilisant la formation des lamelles. Dans le contexte cornéen, il est observé une régulation à la hausse du collagène XII lors des lésions stromales, et sa présence dans les stromas cicatriciels suggère un rôle significatif dans le remodelage et la régénération du stroma [39].

Autres collagènes (collagènes VI et VII)

Le collagène VI est un constituant omniprésent des tissus conjonctifs, largement exprimé dans le stroma cornéen. Il s'agit d'un collagène non fibrillaire, jouant un rôle essentiel dans la médiation des interactions cellule-matrice et matrice-matrice. Le collagène VI interagit avec un large éventail de molécules extracellulaires, notamment les collagènes I, II, IV et XIV, ainsi que la glycoprotéine associée aux microfibrilles (MAGP-1), le perlécan, la décorine, le biglycane, l'acide hyaluronique, l'héparine, la fibronectine, et les kératocytes via leurs intégrines [40]. Ce collagène contribue à l'architecture du tissu, et favorise également l'adhésion et la migration des kératocytes [41].

Par ailleurs, le stroma représente la zone d'attache terminale des fibres d'ancrage composées de collagène VII qui proviennent de la *lamina densa* et traversent la couche de Bowman. Au sein du stroma, les fibres d'ancrage de collagènes VII forment un réseau en boucles, permettant de piéger les fibres de collagène fibrillaires.

SUBSTANCE FONDAMENTALE

La substance fondamentale constitue la MEC qui occupe l'espace entre les cellules et les fibres de collagène. Elle joue un rôle crucial dans le maintien de la transparence et d'autres fonctions du stroma. Cette matrice est principalement composée d'eau, de glycoprotéines et de protéoglycanes, des macromolécules constituées d'un noyau protéique central auquel sont fixées des chaînes de glycosaminoglycanes (GAG), de type kératane sulfate ou chondroïtine sulfate.

Les protéoglycanes régulent l'assemblage des fibrilles de collagène. Ils interviennent de manière déterminante dans la maturation des fibrilles, en se liant aux surfaces fibrillaires. Les fibrilles stromales nouvellement formées sont intégrées dans la matrice, où elles sont stabilisées par des interactions avec ces protéoglycanes [42–44]. Ces derniers, liés aux fibrilles, contrôlent leur agencement, assurant ainsi une croissance ordonnée des fibrilles stromales matures. Cette régulation précise de l'assemblage par les protéoglycanes est essentielle au maintien de la transparence du stroma.

Les principaux protéoglycanes du stroma incluent la décorine, le biglycane, le lumican, le kératocan, la fibromoduline et l'ostéoglycine. Ces molécules jouent le rôle de chef d'orchestre tissulaires, influençant la croissance cellulaire, modulant les facteurs de croissance et liant l'eau via leurs chaînes de GAG.

Le biglycane, un protéoglycane sécrété, interagit avec de nombreuses composantes de la MEC stromale, notamment les collagènes de type I [45]. Le lumican, principalement localisé

dans le stroma postérieur, est impliqué dans la régulation de la transparence cornéenne. En effet, dans les cornées déficientes en lumican, une cornée initialement transparente devient progressivement trouble après la naissance, avec une altération de la structure lamellaire dans l'ensemble du stroma, caractérisée par des fibrilles désorganisées [46]. Cela suggère également un rôle du lumican dans la régulation de la transparence cornéenne lors de la maturation postnatale, et souligne sa fonction clé dans la fibrillogenèse [36].

L'hydratation du stroma est contrôlée par un équilibre délicat entre les GAG et la pression osmotique. Ce contrôle de l'hydratation est indispensable au maintien de l'organisation régulière des fibrilles de collagène.

Points forts

- La couche de Bowman mesure 8 à 14 µm d'épaisseur, située entre la membrane basale épithéliale et le stroma. Son rôle fonctionnel précis reste à clarifier.
- Le stroma cornéen se caractérise par l'agencement rigoureux des fibrilles de collagène en lamelles.
- Le stroma cornéen est essentiel au maintien des propriétés uniques du stroma, telles que la transparence, la forme, la résistance mécanique et l'absence de vascularisation.

2.4. Endothélium cornéen

Z. He, P. Gain, G. Thuret

Introduction

L'endothélium cornéen est composé d'une seule couche de cellules hexagonales recouvrant toute la surface interne de la cornée. Sa fonction principale est de maintenir l'état de déturgescence (relativement déshydraté) du stroma cornéen en agissant comme une pompe à eau, ce qui est essentiel pour l'organisation régulière des fibres de collagène du stroma, assurant ainsi la transparence de la cornée.

Anatomie et histologie

L'endothélium (3–5 µm d'épaisseur) est composé de cellules endothéliales (CE) dont le pôle apical est en contact direct avec l'humeur aqueuse, tandis que leur pôle basal adhère à la membrane de Descemet (MD) (fig. 2-10c,d). Les CE sont caractérisées par leur morphologie hexagonale en vue de face (fig. 2-10a, b). L'endothélium cornéen humain forme une monocouche d'environ 300 000 CE plates et jointives, tapissant intégralement la face postérieure de la cornée jusqu'au trabéculum (fig. 2-11). Une zone de transition d'environ 50–150 µm de largeur peut se trouver entre le trabéculum et l'extrême périphérie de l'endothélium. Il a été suggéré que cette dernière pourrait être le lieu de régénération des CE à l'âge adulte [47] (fig. 2-11a-c).

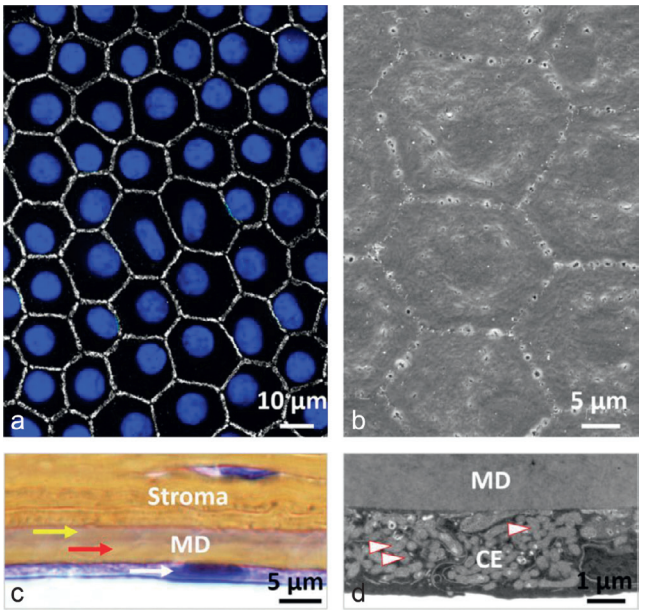


Fig. 2-10 ***Vue de face (a, b) et de profil (c, d) de l'endothélium cornéen par différentes techniques.***
La forme hexagonale des cellules endothéliales (CE) est mise en évidence par l'immunofluorescence (**a**, jonctions serrées représentées par ZO-1 en blanc, noyaux en bleu par DAPI) et par la microscopie électronique à balayage (**b**). **c.** Histologie de l'endothélium cornéen par coloration HES. La flèche jaune indique la couche embryonnaire de la membrane de Descemet (MD) ; la flèche rouge indique la couche postnatale, qui s'épaissit tout au long de la vie ; la flèche blanche indique le noyau (bleu foncé) d'une CE. **d.** Microscopie électronique à transmission (MET) d'une coupe ultrafine de l'endothélium cornéen. Les mitochondries (indiquées par des têtes de flèche) sont très riches dans le cytoplasme.

Complexe morphologique des cellules endothéliales

La caractéristique morphologique des CE est souvent décrite comme un « nid d'abeille » en raison de leur forme hexagonale révélée par la microscopie spéculaire, l'immunofluorescence des jonctions cellulaires ou la microscopie électronique à balayage (voir fig. 2-10a,b). Cependant, une morphologie irrégulière est aussi fréquemment observée lors de l'examen de la densité cellulaire endothéliale (DCE) dans les banques de cornées, après une préparation osmotique classique avec du NaCl à 0,9 %, ou dans les laboratoires après la coloration caractéristique des CE

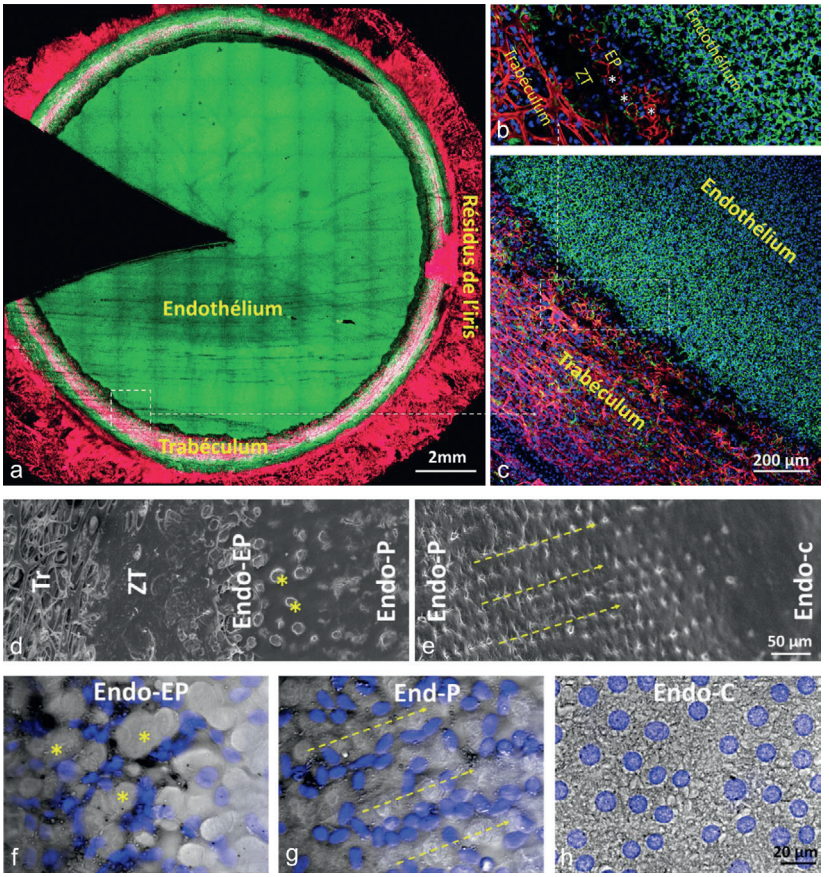


Fig. 2-11 ***Vue de face de l'intégralité de l'endothélium cornéen (a-c) et de la membrane de Descemet (d-h).***
a-c. L'immunofluorescence a été appliquée à une cornée humaine fraîche, non conservée. Les cellules endothéliales (CE) sont marquées en vert avec l'anticorps anti-CD166, tandis que la matrice extracellulaire du trabéculum est marquée en rouge avec l'anticorps anticollagène I. **b, c.** Les noyaux cellulaires apparaissent en bleu. **b.** L'image montre la zone de transition (ZT), une région d'environ 50-150 µm de large qui constitue une structure de transition entre l'endothélium et le trabéculum. L'extrême périphérie de l'endothélium cornéen, où la marque du CD166 est plus faible et où sont localisés les corps de Hassall-Henle (astérisque), a été suggérée comme une niche potentielle pour la régénération de l'endothélium cornéen chez l'adulte. **d-e.** La microscopie électronique à balayage montre les différentes textures de la surface de la membrane de Descemet (MD) en fonction de la localisation radiale (du centre à la périphérie). **f-h.** Les textures de la surface de la MD sont mises en évidence par contraste de phase (gris), avec les noyaux des CE colorés par le DAPI (bleu). La surface est si lisse que les motifs du cytoplasme des CE sont visibles sur la photo Endo-C. Les corps de Hassall-Henle sont indiqués par des astérisques jaunes. Les crêtes descemétiques, plus petites et moins hautes, forment souvent des lignes centripètes en périphérie. Ces lignes de sillons descemétiques sont indiquées par des flèches jaunes discontinues. Endo-EP, -P ou -C : extrême périphérie, périphérie ou centre de l'endothélium ; Tr : trabéculum ; ZT : zone de transition.

au rouge alizarine, ou par l'immunofluorescence de certaines protéines membranaires (voir fig. 2-11a-c).

La morphologie des CE s'avère plus complexe qu'une simple mosaïque de cellules en « nid d'abeille ». En 2016, nous avons proposé un modèle 3D de CE (fig. 2-12) [48]. L'organisation des CE diffère considérablement entre le pôle apical et le pôle basal : elle est hexagonale au pôle apical et devient de plus en plus irrégulière vers le pôle basal. Les jonctions cellulaires sont bien jointives aux deux pôles, mais des espaces peuvent être présents entre les membranes latérales des cellules voisines. L'augmentation de l'irrégularité de la membrane latérale vers le pôle basal permet aux CE d'avoir une plus grande surface membranaire latérale, où de nombreuses pompes ioniques sont localisées. Cela pourrait représenter une stratégie des CE pour renforcer leur fonction de « pompe à eau ».

Membrane de Descemet (MD)

La MD, qui constitue la membrane basale de l'endothélium cornéen, est formée par un ensemble de nombreuses protéines sécrétées par les CE. Plus de 1000 protéines différentes ont été identifiées grâce à la technique de protéomique par *shotgun* [49]. La protéomique quantitative par spectrométrie de masse révèle que la MD est principalement composée de la protéine TGFβI (*transforming growth factor beta-induced*), représentant environ 40 % de la masse totale, ainsi que de collagènes de différents types (par ordre d'importance : IV, VIII, I, II, V, XII, III) [50, 51]. Ces protéines ne sont pas distribuées de manière homogène à travers l'épaisseur de la MD. Bien que les laminines α5, β1 et γ1 représentent seulement 2,5 % des protéines totales de la MD, elles sont particulièrement concentrées sur la face endothéliale [50], soulignant ainsi leur rôle important dans l'interaction avec les CE. La composition de la matrice extracellulaire évolue avec l'âge et diffère chez les personnes atteintes de pathologies telles que la dystrophie endothéliale de Fuchs par rapport aux individus normaux [49].

En histologie, la MD se distingue en deux couches (voir fig. 2-10c). La partie antérieure, située près du stroma, est d'origine embryonnaire et a une épaisseur d'environ 2 µm, correspondant à celle observée à la naissance. La partie postérieure, proche des CE, s'épaissit au fil de la vie [52]. La MD est souvent divisée artificiellement en deux parties : le centre (8 mm correspondant au diamètre de la greffe de cornée) et la périphérie (un anneau de 2 mm). La terminaison de la MD correspond à la ligne de Schwalbe [47, 53], une ligne d'environ 50 à 150 µm de

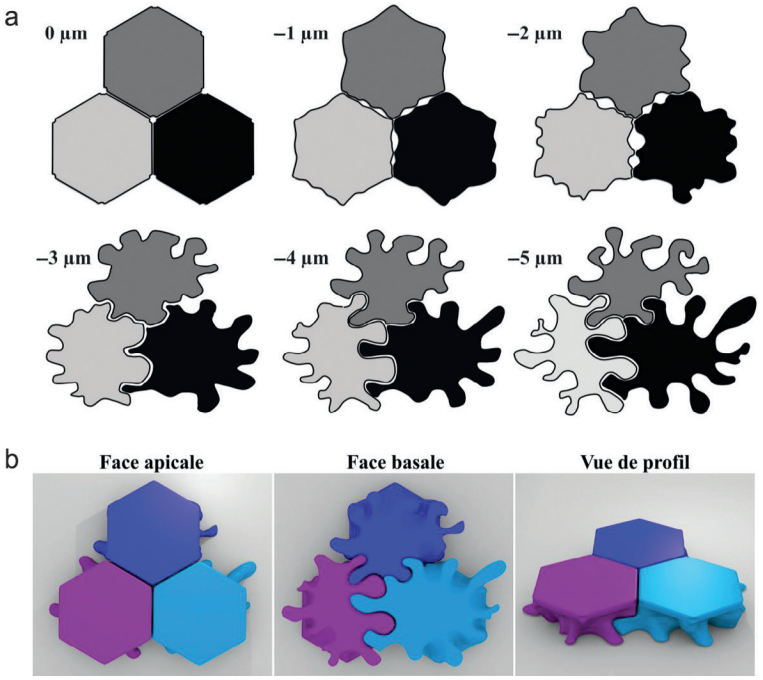


Fig. 2-12 ***Modèle 3D de cellule endothéliale (CE).***
a. Schéma illustrant les différentes coupes horizontales, du pôle apical au pôle basal de CE. **b.** Reconstruction 3D de trois CE voisines.

largeur qui marque la transition entre l'extrémité de la MD et le trabéculum, où les cellules sont peu nombreuses.

Dans la région périphérique, nous avons identifié deux zones particulières en axe radial, chacune associée à des structures spécifiques situées à l'extrémité de la MD. L'extrême périphérie est une zone d'environ 200 µm en moyenne (pouvant varier selon les individus), située à l'extrémité de la MD (voir fig. 2-11, Endo-EP). Dans cette zone, la MD est épaisse (11 µm en moyenne) et surtout irrégulière. Les caractéristiques de cette zone incluent la présence de nombreux corps de Hassall-Henle, qui sont des excroissances de la MD du côté endothélial. Ceux-ci ont souvent une forme ronde ou irrégulière avec un diamètre variant de quelques micromètres à plusieurs dizaines de micromètres et une hauteur de 2 à 5 µm. L'apparition des corps de Hassall-Henle semble liée à la sénescence [54]. Bien qu'ils ressemblent aux *guttae* observées dans la dystrophie endothéliale de Fuchs, leurs différences n'ont pas encore été bien étudiées. Les *guttae* typiques présentent souvent des formes arrondies avec une surface relativement lisse, tandis que les corps de Hassall-Henle ont généralement une forme plus irrégulière et une surface plus rugueuse. Les corps de Hassall-Henle sont souvent associés à une organisation spécifique des CE, qui forment fréquemment des amas autour d'eux et peuvent parfois s'organiser en deux couches (voir fig. 2-11, Endo-EP). Ces cellules présentent des caractéristiques de cellules souches et sont potentiellement prolifératives in vivo. Cette zone spécifique a été proposée comme une source cellulaire pour régénérer l'endothélium de manière lente et physiologique pendant l'âge adulte [47].

À la suite de l'extrême périphérie, définie par la présence des corps de Hassall-Henle, des zones radiaires peuvent se trouver à la suite, nommée «zones radiaires» (voir fig. 2-11, Endo-P). Dans ces zones, les excroissances de la MD se modifient et deviennent plus petites, plus allongées et moins hautes. Ces excroissances forment des reliefs radiaires centripètes. Cette organisation varie plus ou moins selon les individus et au sein d'une même cornée sur 360°. Nous avons observé cette structure chez 70 % des donneurs âgés, avec une longueur moyenne de 827 µm (de 350 à 1465 µm), rendant ces structures inaccessibles à la microscopie spéculaire, car situées trop en périphérie. Les CE dans ces zones radiaires forment des lignes centripètes, et la DCE est plus élevée dans ces zones radiaires qu'au centre. Ces zones ont été suggérées comme un site de migration centripète de CE régénérées à l'extrême périphérie de l'endothélium [47].

La MD présente une grande résistance mécanique et biologique. Avec les CE, elle peut être la seule structure à résister lors d'une nécrose stromale, formant ainsi un descemetocèle au fond d'un ulcère dit «préperforatif» (collagénoses, rosacée, ou plus rarement kératites infectieuses). La MD résiste également bien à la dissection lamellaire profonde, dite «prédescemétique», réalisée lors des kératoplasties lamellaires antérieures profondes, à condition d'éviter d'endommager la membrane avec un instrument contondant.

Densité cellulaire endothéliale (DCE)

La DCE, qui correspond au nombre de CE par millimètre carré (cellules/mm^2), est l'un des principaux critères utilisés pour évaluer la qualité de l'endothélium cornéen.

MÉTHODES DE MESURE

En clinique, la microscopie spéculaire est largement utilisée pour mesurer la DCE (fig. 2-13a). Le coefficient de variation (CV), reflétant l'hétérogénéité de la taille des cellules (un CV bas indiquant une taille homogène), et le pourcentage de cellules hexagonales (HEX) sont les deux autres critères secondaires permettant d'évaluer la qualité de l'endothélium cornéen. La lampe à fente avec réflexion spéculaire peut également fournir des informations sur la DCE. La microscopie confocale in vivo

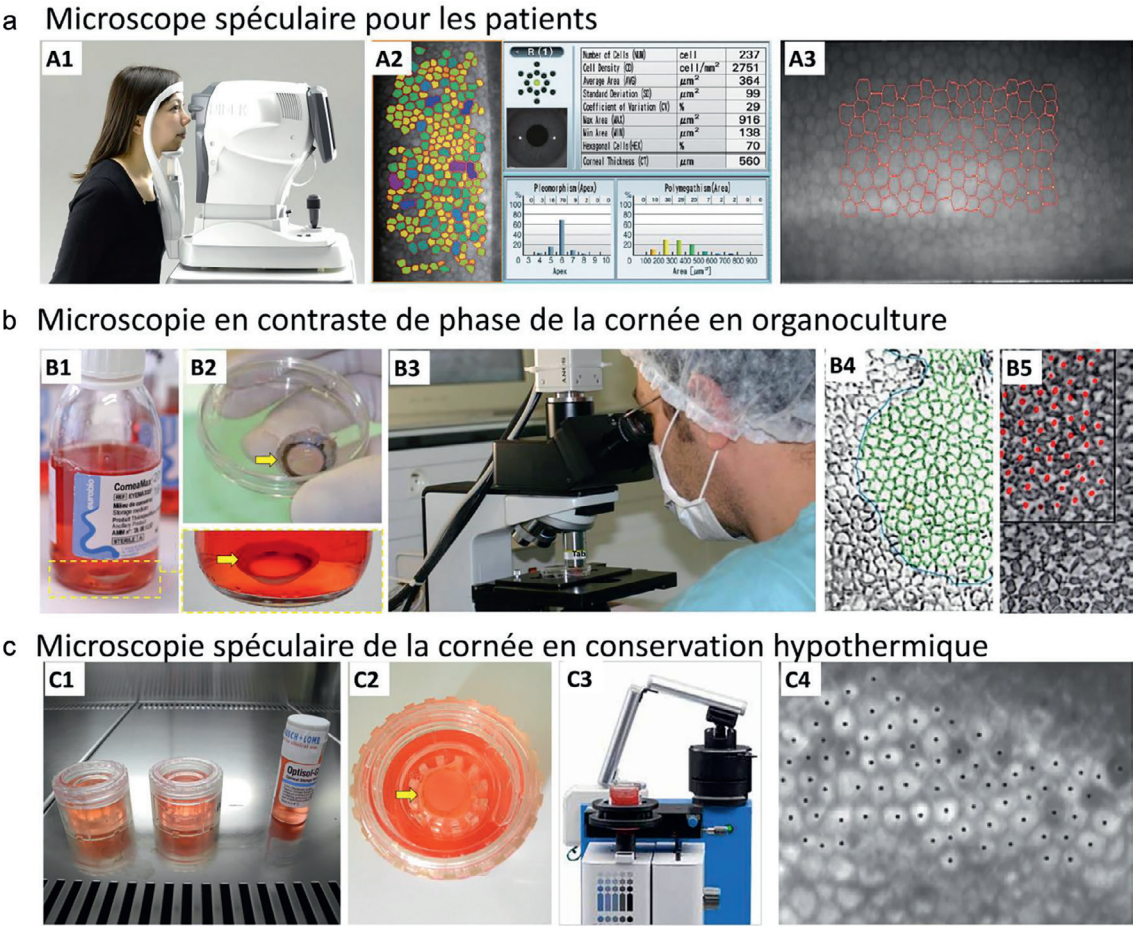


Fig. 2-13 ***Méthodes courantes de mesure de la densité cellulaire endothéliale (DCE) in vivo et ex vivo.***
a. Méthode la plus courante pour mesurer la DCE in vivo. La capture d'images de l'endothélium peut être réalisée par une méthode sans contact (**a1**). La DCE, le coefficient de variation (% CV) et le pourcentage de cellules hexagonales (HEX) sont calculés automatiquement ou semi-automatiquement par un logiciel fourni par l'appareil, qui délimite les contours cellulaires (**a2**, **a3**). **b, c.** Deux méthodes non destructives pour mesurer la DCE des cornées ex vivo en fonction des méthodes de conservation en banque de cornées. En organoculture (température de 31–34 °C pendant une période pouvant aller jusqu'à 5 semaines, **b1**), la cornée est retirée du milieu et les contours des CE (l'espace entre les membranes basolatérales de deux CE voisines) sont mis en évidence par la dilatation des cellules, en incubant l'endothélium avec une solution de NaCl à 0,9 % (**b2**). Plusieurs images de l'endothélium sont ensuite capturées à l'aide d'un microscope en contraste de phase (**b3**). Le comptage des contours cellulaires (**b4**) ou simplement le nombre de CE (**b5**) est réalisé de façon semi-automatique ou manuelle pour obtenir la DCE. Le CV et l'HEX peuvent également être calculés si les contours cellulaires sont tracés. En conservation hypothermique (2–8 °C pendant 7 à 14 jours) (**c1**), la cornée est placée dans une « chambre de visualisation cornéenne » sans dilatation (**c2**). L'imagerie est effectuée avec un microscope spéculaire (**c3**). La DCE est déterminée soit par comptage manuel (**c4**), soit semi-automatiquement en traçant les contours cellulaires.

offre des images de résolution histologique des différentes couches cornéennes.

Dans les banques de cornées, la DCE est le principal critère pour évaluer la qualité d'une cornée (fig. 2-13b,c). Le seuil de DCE est souvent fixé à 2000 cellules/mm^2, seules les cornées ayant une DCE supérieure ou égale à 2000 cellules/mm^2 étant qualifiées pour une greffe transfixiante ou endothéliale.

LA DCE CENTRALE ET SA VARIATION PHYSIOLOGIQUE

À l'état physiologique chez les adultes, la DCE centrale présente une variabilité interindividuelle importante, même au sein d'une même tranche d'âge, oscillant entre 2000 et 3500 cellules/mm^2, ce qui correspond à environ 250 000 à 450 000 cellules par cornée, soit une variation de près de 45 % [55]. La DCE est très similaire entre les cornées droite et gauche. Elle peut être influencée par la présence d'un diabète, mais elle n'est pas affectée par l'hypertension artérielle, le tabagisme ou l'exposition à la lumière naturelle. Le port de lentilles de contact peut modifier la morphologie des CE, mais n'altère pas leur nombre [56].

La DCE centrale diminue de façon non linéaire avec l'âge. À la fin de la gestation (40^e semaine), elle s'établit à 6200 cellules/mm^2 [57], puis diminue rapidement après la naissance, en lien avec la croissance de la cornée, atteignant 4000 cellules/mm^2 à la première année de vie, et 3700 cellules/mm^2 durant la deuxième année. Après l'âge de 2 ans, lorsque le diamètre cornéen devient définitif, le rythme de diminution de la DCE ralentit [58]. Murphy et al. ont rapporté une baisse annuelle de 0,56 % entre 2 et 98 ans [59], tandis que Bourne et al. ont observé une réduction de 0,6 % par an sur une période de 10 ans chez des individus âgés de 30 à 84 ans [60]. Le tableau 2-2 montre la DCE des adultes caucasiens selon les tranches d'âge de 10 ans. La perte de la DCE est estimée à 0,54 % par an. De son côté, Møller-Pedersen a noté une diminution de 2,9 % par an de la naissance jusqu'à 14 ans, puis de 0,3 % par an à l'âge adulte [61].

De manière générale, la diminution annuelle de la DCE à l'âge adulte est estimée entre 0,3 % et 0,7 %. En simulant de manière simplifiée une perte cellulaire linéaire de 0,5 % par an

Tableau 2-2 – La densité cellulaire endothéliale (DCE) des adultes caucasiens de différentes classes d'âge (d'après Galgauskas et al. [9])*.

Âge	n	DCE (cellules/mm²)
20–29	55	2931 ± 371 (2232, 3610)
30–39	45	2820 ± 203 (2353, 3279)
40–49	45	2660 ± 301 (2160, 3546)
50–59	55	2630 ± 306 (2062, 3571)
60–69	55	2518 ± 281 (2015, 3003)
70–79	55	2341 ± 167 (2062, 3762)
80–89	48	2222 ± 182 (2002, 2597)

* *n* indique le nombre d'yeux examinés ; la DCE est exprimée en moyenne ± écart type (minimale, maximale).

à partir d'une DCE initiale de 3000 cellules/mm² au début de l'âge adulte, il faudrait 360 ans pour atteindre le seuil critique de 500 cellules/mm².

DCE PÉRIPHÉRIQUE

Même avec un microscope spéculaire à contact, la visualisation des CE dans le dernier millimètre de la périphérie cornéenne reste difficile. En utilisant la technique de montage à plat sur des cornées humaines fraîches, il est possible d'observer l'intégralité des CE, du centre à la périphérie. Une zone radiaire dans le 1,5 dernier millimètre de la périphérie présente souvent une DCE plus élevée qu'au centre [47]. Cette zone est marquée par des sillons descémétiques centripètes et une organisation linéaire des noyaux cellulaires. La largeur de cette zone radiaire varie en moyenne de 350 à 1465 µm, avec une DCE particulièrement élevée (69 % plus élevée que celle de la zone suivante vers le centre) (fig. 2-14). Cette zone radiaire représente environ 10 % à 20 % de la surface endothéliale.

DÉCROISSANCE ANORMALE DE LA DCE

Outre le vieillissement, plusieurs facteurs peuvent influencer négativement la DCE, notamment le diabète, le tabagisme et certains traumatismes oculaires. Une chirurgie intraoculaire, comme l'opération de la cataracte, ou des affections oculaires aiguës, telles qu'un glaucome aigu, sont des causes fréquentes de diminution rapide de la DCE. Parmi les pathologies primaires, la dystrophie endothéliale de Fuchs est la principale responsable d'une perte accélérée de la DCE, entraînant à terme une décompensation cornéenne. Le port de lentilles de contact modifie la morphométrie des CE, notamment leur polymégathisme (ou pourcentage de CV) et polymorphisme (pourcentage d'HEX), mais ne semble pas affecter leur DCE [56].

Bien que la DCE soit un indicateur largement utilisé pour évaluer la santé cornéenne, il n'existe pas de droite de corrélation entre la DCE et la transparence cornéenne. Par exemple, une cornée avec 800 cellules/mm² peut rester aussi transparente qu'une cornée avec 3500 cellules/mm². Cela s'explique par la grande capacité d'adaptation de l'endothélium cornéen. Cependant, il existe un seuil critique en dessous duquel l'endothélium ne parvient plus à assurer son rôle de pompe régulant l'hydratation de la cornée. Ce seuil, qui dépend des pathologies sous-jacentes et du rythme de la perte cellulaire, est généralement situé entre 400 et 500 cellules/mm².

Capacité régénérative et réparation

In vivo, les CE adultes chez l'homme ne possèdent pas de capacité prolifératives suffisante pour une régénération clinique. Le mécanisme principal de la réparation consiste en la migration et l'élargissement des cellules voisines [62]. Cependant, il est possible qu'une petite population de CE périphériques conserve une activité proliférative, témoignant d'un vestige de l'embryogenèse.

CAPACITÉ PROLIFÉRATIVE IN VITRO

Les CE peuvent s'amplifier sans se transformer en cellules mésenchymateuses ou fibroblastes in vitro dans des conditions de culture artificielles. Après plus de 40 ans de tentatives de culture en masse, cette capacité est désormais exploitée pour produire une quantité et une qualité suffisantes de CE en vue de réaliser des thérapies cellulaires endothéliales [63]. La réussite de la culture primaire de CE repose sur deux ensembles d'éléments :

- *éléments environnementaux :* la présence de nombreux facteurs de croissance en forte concentration (8 % à 10 % de sérum de veau fœtal), l'utilisation d'un revêtement avec une matrice extracellulaire adaptée au lieu de la MD originale, l'ajout d'agents antioxydants dans le milieu de culture, le passage cellulaire qui libère les CE de l'inhibition de contact, etc. ;

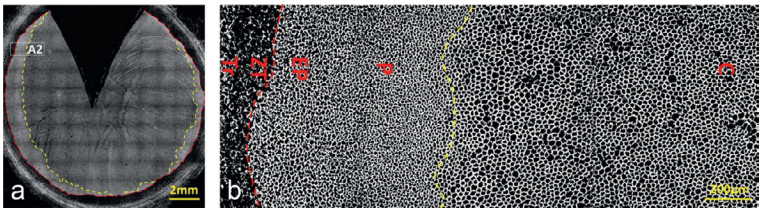


Fig. 2-14 ***La distribution des zones radiaires à la périphérie endothéliale est toujours associée à une densité cellulaire endothéliale (DCE) élevée et à une forme allongée des noyaux cellulaires.***
Immunofluorescence des membranes basolatérales des cellules endothéliales (CE) par CD166. **a.** Vue de la surface entière d'une cornée humaine fraîche. Les zones radiaires ainsi que les zones d'extrême périphérie de l'endothélium cornéen, encadrées entre les lignes rouges et jaunes, occupent environ 15 % de la surface totale de l'endothélium cornéen. **b.** Une zone périphérique contenant la zone radiaire est agrandie ici. C : centre ; EP : extrême périphérie ; P : périphérie (correspondant ici à la zone radiaire) ; Tr : trabéculum, ZT : zone de transition entre l'endothélium et le trabéculum.

• *agents chimiques :* ces agents interagissent directement avec les voies de signalisation intracellulaires. Ces travaux sont principalement menés par deux équipes japonaises : celle du Pr Kinoshita et celle des Pr Koizumi et Okumura. La molécule la plus connue est l'inhibiteur de la voie ROCK (inhibiteur de Rho-kinase) Y-27632 [64]. Cet inhibiteur protège les CE de l'apoptose induite par le stress pendant le passage cellulaire, favorise la prolifération des CE in vitro et améliore l'adhésion cellulaire. L'inhibiteur de P38-MAPK, tel que SB203580, favorise également la prolifération des CE in vitro [65, 66]. De plus, l'inhibiteur de TGF-β, tel que SB431542, inhibe la transition épithéliale-mésenchymateuse (TEnM). Une étude récente de notre équipe montre que l'effet prolifératif de SB203580 est supérieur à celui d'Y-27632, ce dernier ayant également un effet bénéfique dans l'inhibition de la TEnM [66]. Grâce à l'action combinée de SB203580 et SB431542, notre équipe a réussi à obtenir des cultures primaires de CE de qualité greffable à partir de donneurs âgés [67, 68].

Deux autres facteurs jouent un rôle important dans les caractéristiques de la cornée qui influencent les capacités prolifératives résiduelles des CE : l'âge et la localisation centrale ou périphérique des CE. Les CE provenant de donneurs jeunes sont plus faciles à faire proliférer in vitro sans dédifférenciation, et, jusqu'à présent, seules les CE de donneurs de moins de 35 ans ont été utilisées pour les essais de thérapie cellulaire endothéliale au Japon [63, 69]. Les CE provenant de la périphérie de la cornée présentent une capacité proliférative supérieure à celles du centre [47, 70, 71]. Cette différence, plus marquée chez les personnes âgées [72], est attribuée à la sénescence induite par le stress oxydant [73, 74]. De plus, cette différence de capacité proliférative peut s'expliquer par le nombre plus élevé de progéniteurs présents dans la périphérie [75].

RÉPARATION IN VIVO PAR MIGRATION ET ÉLARGISSEMENT DES CELLULES VOISINES

En raison du manque de capacité proliférative in vivo chez l'adulte, la réponse principale de l'endothélium à une perte graduelle de cellules liée au vieillissement, ainsi qu'à des blessures plus importantes implique généralement l'élargissement et la migration des cellules voisines pour couvrir la zone lésée [62]. La mosaïque endothéliale parfaite est composée de petites cellules hexagonales jointives de même taille. Pour former une barrière efficace contre la diffusion de l'eau dans le stroma, l'endothélium doit rester continu, sans interruption. Ainsi, lorsqu'un défaut local survient à la suite de la mort spontanée d'une CE qui desquame, l'espace laissé libre sur la MD est rapidement comblé par la migration et l'élargissement des cellules voisines, ce qui altère localement la régularité de la mosaïque (fig. 2-15). La répétition de cette séquence après chaque mort cellulaire liée au vieillissement explique l'augmentation progressive du polymorphisme et du polymégathisme.

MODÈLE HYPOTHÉTIQUE D'HOMÉOSTASIE DE L'ENDOTHÉLIUM CORNÉEN ADULTE

Les observations faites à différentes échelles (anatomiques, histologiques, cellulaires et subcellulaires) fournissent un ensemble d'indices en faveur d'une prolifération endothéliale lente mais continue à la périphérie de l'endothélium cornéen humain. Parmi ces indices, on note la DCE plus élevée à la périphérie cornéenne. De plus, l'expression de certains marqueurs de cellules souches et la découverte de CE en prolifération sur des cornées fraîches avec un très court délai post-mortem à l'extrême périphérie de l'endothélium cornéen soutiennent cette hypothèse [47]. Par ailleurs, le traitement efficace des dystrophies endothéliales de Fuchs par micro-descemétorhexis seul (*Descemet stripping only* [DSO] ou *Descemetorhexis without endothelial keratoplasty* [DWEK]), lorsqu'une réserve endothéliale périphérique est suffisante, pourrait éventuellement concerner des patients présentant une capacité proliférative périphérique supérieure. Dans ce contexte, l'utilisation de petites molécules, comme les inhibiteurs de la Rho-kinase, pour stimuler la migration et la prolifération des CE pourrait donner de bons résultats dans certains cas [76].

Cependant, l'hypothèse de l'existence d'une véritable population de cellules souches endothéliales reste incertaine. Une des caractéristiques essentielles des cellules souches est leur capacité d'autorégénération illimitée, contrairement aux progéniteurs, ainsi que leur maintien dans une niche spécifique, qui n'a pas

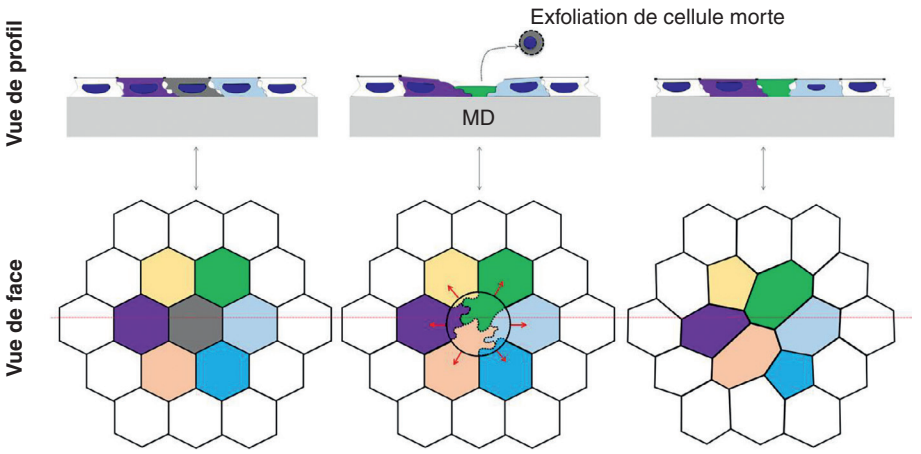


Fig. 2-15 ***Modèle de la réparation in vivo des cellules endothéliales (CE) par élargissement cellulaire, expliquant le polymégathisme et le polymorphisme.***
À gauche : état intact des CE ; au milieu : après la mort spontanée d'une CE au cours du vieillissement, la partie basale des CE voisines se mobilise pour recouvrir rapidement la membrane de Descemet exposée ; à droite : réparation complète avec reformation des jonctions cellulaires apicales ; les cellules voisines grandissent de manière hétérogène (polymégathisme) et certaines perdent leur forme hexagonale (polymorphisme).

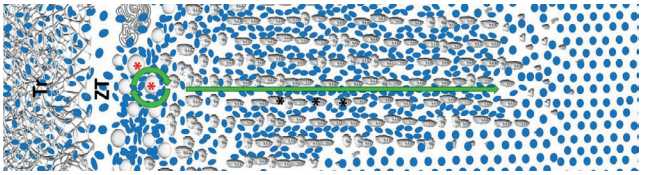


Fig. 2-16 ***Modèle hypothétique de l'homéostasie de l'endothélium cornéen adulte.***
Les cellules endothéliales (CE) s'organisent en amas cellulaires autour des corps de Hassall-Henle (astérisques rouges), situés à l'extrême périphérie de l'endothélium. Dans ces amas, les cellules présentent des caractéristiques de cellules souches/progénitrices et sont susceptibles de produire de nouvelles CE tout au long de la vie (indiqué par deux demi-flèches en arc de cercle). Les néocellules migrent ensuite de manière centripète et lente vers le centre. Pendant cette migration, un excès de dépôt de matrice extracellulaire par les néo-CE forme des sillons descemétiques (astérisques noirs). Les zones radiaires correspondent à ces néocellules périphériques, dont les noyaux en forme ovale s'organisent souvent en lignes centripètes (flèche verte) dans les sillons descemétiques. Tr : trabéculum ; ZT : zone de transition.

encore été formellement identifiée dans l'endothélium. Les amas de CE non différenciées autour des corps de Hassall-Henle sont les seules structures qui pourraient correspondre à des *clusters* de progéniteurs. Nous avons d'ailleurs identifié quelques cellules en division dans des cornées post-mortem examinées peu de temps après le décès [47].

Sur la base de ces observations, nous proposons un modèle d'homéostasie endothéliale chez l'adulte (fig. 2-16) : une sous-population de cellules progénitrices ou souches résiderait à l'extrême périphérie de l'endothélium, réparties de manière plus ou moins régulière sur 360°. Ces cellules se diviseraient asymétriquement, s'autorenouvelleraient et produiraient des CE immatures qui migreraient lentement vers le centre. Pendant cette migration, les CE immatures sécrètent davantage de matrice extracellulaire, expliquant l'épaississement descemétique périphérique, les corps de Hassall-Henle et les sillons radiaires sur la MD. La migration étant très lente et affectant une zone très périphérique (en moyenne 800 µm, allant de 350 à 1500 µm) chez les personnes âgées, elle n'est pas observable au microscope spéculaire. Les noyaux des CE s'organisent en lignes centripètes, avec une DCE plus élevée qu'au centre. Le centre de l'endothélium représenterait une région stable, probablement sans régénération cellulaire, ni dépôt de matrice extracellulaire irrégulière, garantissant la transparence de l'axe optique sans variations.

Points forts

- La densité cellulaire endothéliale (DCE), exprimée en nombre de cellules par millimètre carré (mm^2), est le principal critère pour évaluer la qualité de l'endothélium. Chez un adulte, elle varie entre 2000 et 3500 cellules/mm^2.
- L'endothélium n'est pas considéré comme régénératif in vivo chez l'homme, et la perte physiologique de cellules endothéliales (CE) cornéennes est d'environ 0,5 % par an. La réserve de CE permettrait à l'endothélium de rester fonctionnel pendant plus de 300 ans.
- Certaines pathologies primaires, comme la dystrophie endothéliale cornéenne de Fuchs, ou des pathologies secondaires, telles que la chirurgie de la cataracte, peuvent induire une perte accélérée de CE. Lorsque la DCE descend en dessous de 500 cellules/mm^2, l'endothélium ne peut plus assurer sa fonction de déturgescence du stroma cornéen, et la cornée devient œdémateuse et opaque.
- La seule thérapie efficace à ce jour est la greffe de cornée.

2.5. Innervation cornéenne

N. Bouheraoua, S. Begnaud, E. Koestel, E. Bizzari, Q. Rappeneau, V. Borderie, A. Chedotal

Introduction

La cornée est le tissu périphérique le plus densément innervé de l'organisme dont l'architecture complexe répond aux stimuli chimiques, thermiques et mécaniques environnants. La transmission rapide de l'information au système nerveux central ainsi qu'une réaction motrice et lacrymale adaptée assurent la préservation du dioptre cornéen et du globe oculaire et, *in fine*, de la vision. Les nerfs cornéens participent également à la régulation de l'inflammation locale par la libération de peptides et de neurotransmetteurs à partir de leurs terminaisons. Ils exercent divers effets « trophiques » et nutritifs pour l'activité métabolique épithéliale et la promotion de la cicatrisation. Ainsi, l'innervation est au cœur de l'homéostasie cornéenne et toute perturbation entraînera des symptômes allant de la diminution de la sensibilité oculaire sans lésion à la kératopathie neurotrophique ou la perforation cornéenne.

Anatomie et physiologie de l'innervation cornéenne

Architecture de l'innervation cornéenne

L'innervation est très dense au niveau de la cornée, ce qui en fait la surface épithéliale la plus densément innervée du corps [77]. De 30 à 60 troncs nerveux pénètrent de façon radiaire à la périphérie de la cornée au niveau du stroma moyen vers 300 à 350 µm de profondeur chez l'homme. Ils ont une orientation du limbe vers la cornée centrale et depuis le stroma moyen vers le stroma antérieur (fig. 2-17 et 2-18). Au sein du stroma, les faisceaux nerveux perdent leur gaine de myéline à 1 mm du

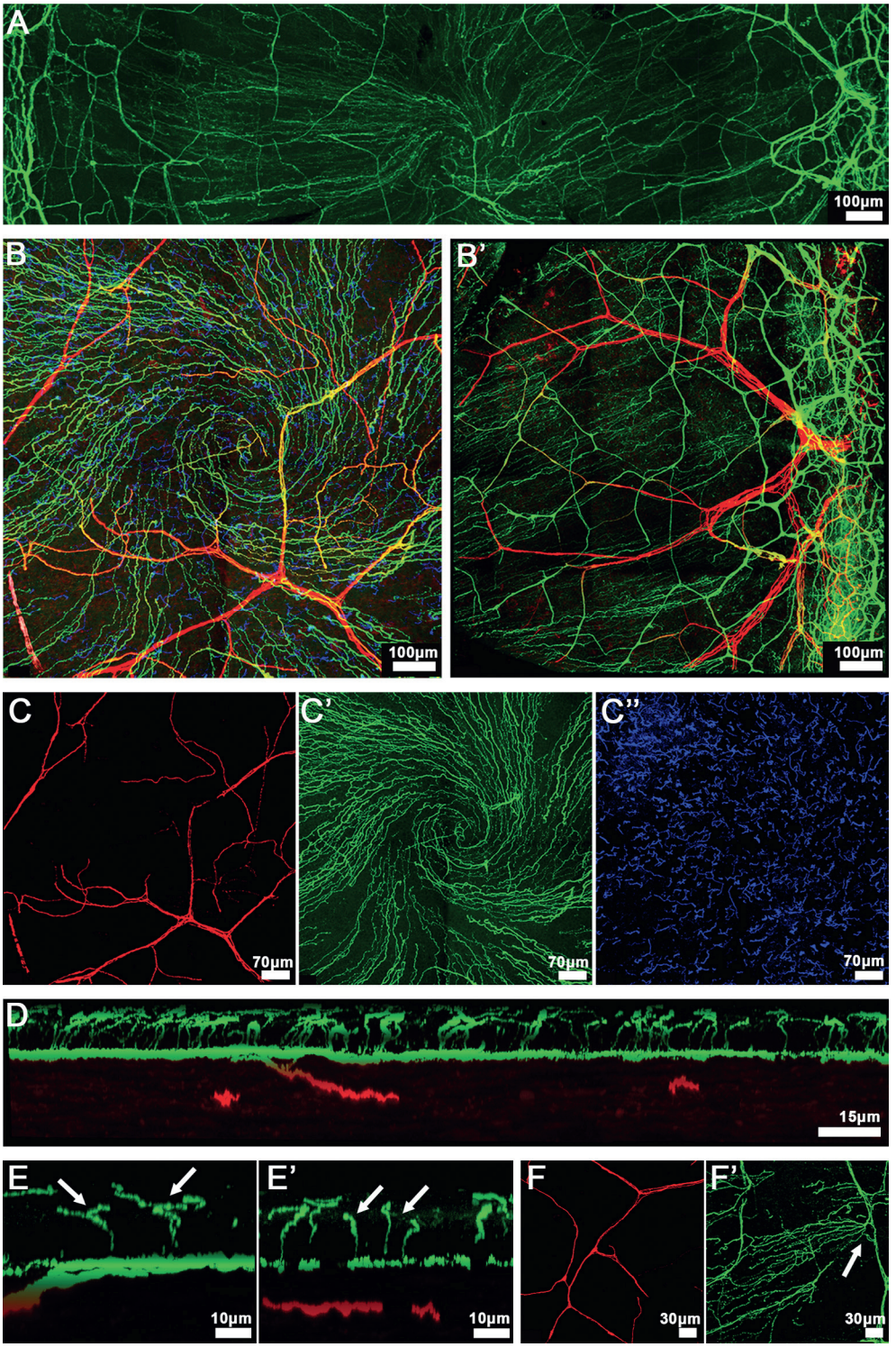


Fig. 2-17 ***Anatomie de l'innervation cornéenne chez la souris.***
Cornée de souris transgénique CGRP : GFP exprimant la GFP dans les fibres nociceptives peptidergiques. **a.** Projection de l'innervation cornéenne, du limbe au limbe. 10 ×. **b.** Cornée centrale, vue de face, après traitement couleur selon la profondeur, avec les troncs stromaux en rouge, le plexus sous-basal en vert et les terminaisons intraépithéliales en bleu. 40 ×. **b**′. Cornée périphérique, vue de face, après traitement couleur selon la profondeur avec les troncs stromaux en rouge et le plexus sous-basal et les terminaisons intraépithéliales en vert. 40 ×. **c-c**′′. Décomposition de l'image **b** montrant (**c**) les troncs du stroma (en rouge, **c**′), le plexus sous-basal formant la spirale centrale (en vert), et les terminaisons intraépithéliales (en bleu). 40 ×. **d.** Coupe transversale avec un tronc stromal (en rouge) donnant le plexus sous-basal et les terminaisons intraépithéliales (en vert). 40 ×. **e, e**′. Zoom en coupe transversale illustrant deux types de terminaisons intraépithéliales (flèches) : ramifiée (**e**) et directe (**e**′). 40 ×. **f.** Stroma cornéen avec les troncs nerveux ramifiés. **f**′. Faisceau de fibres du plexus sous-épithélial émergeant d'un même tronc stromal (flèche). 40 ×.

limbe, ce qui permet de maintenir la transparence de la cornée ; ils gardent cependant un support de cellules de Schwann. En s'enfonçant dans la cornée, ils se ramifient pour former le plexus sous-épithélial à l'interface entre le stroma antérieur et la couche de Bowman. Des fibres pénètrent dans la couche de Bowman et s'étendent entre la couche de Bowman et la couche de cellules épithéliales basales pour former le plexus sous-basal. Au centre de la cornée, le plexus nerveux sous-basal converge

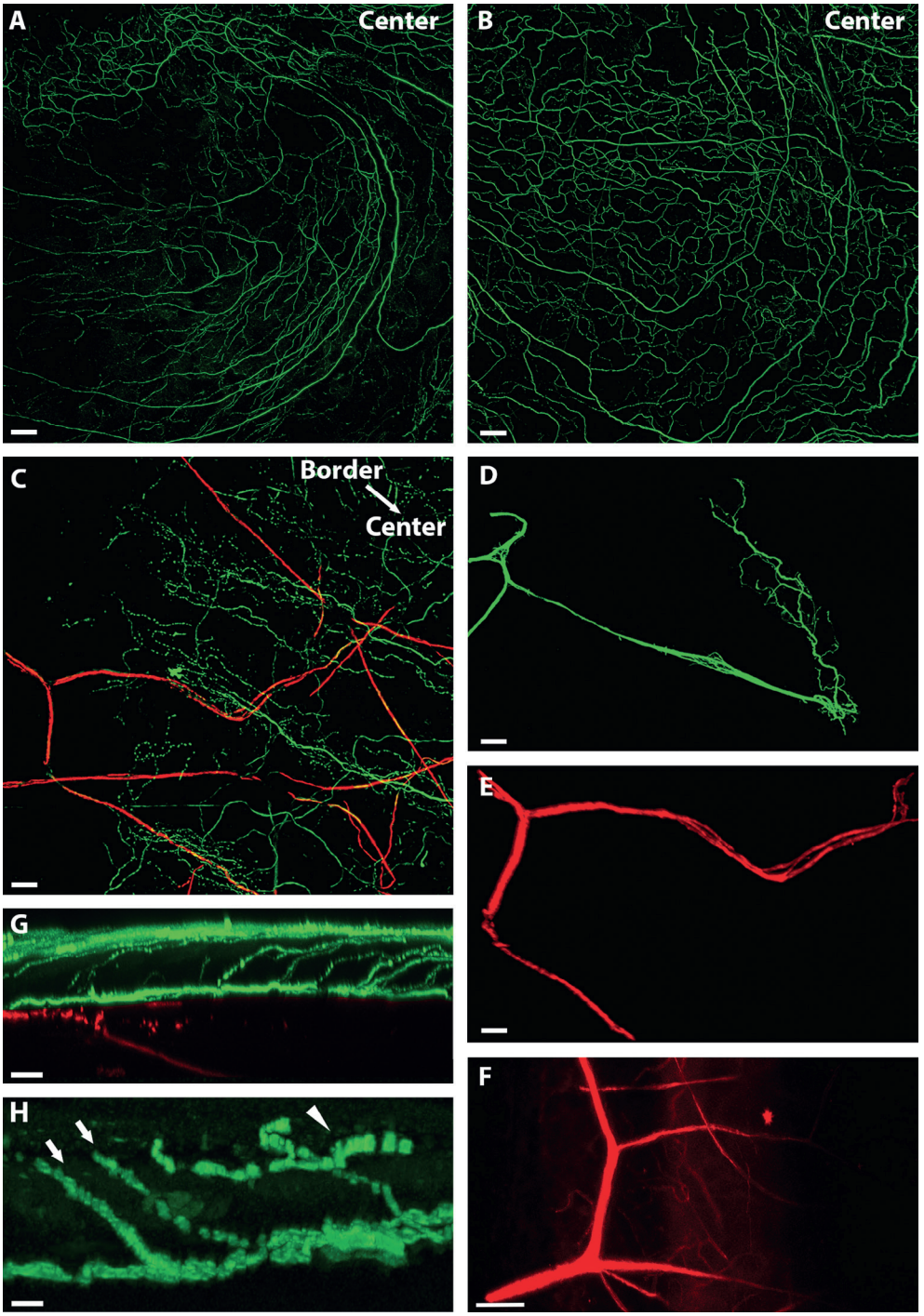


Fig. 2-18 ***Anatomie de l'innervation cornéenne chez l'homme.***
Cornée humaine immunomarquée par l'anti-β-III tubuline. **a, b.** Projection de deux zones centrales de la cornée humaine montrant l'organisation des nerfs cornéens (vert). Les nerfs s'organisent pour former une spirale en (**a**). Barre d'échelle : 50 µm. **c.** Projection d'une zone périphérique de la cornée humaine montrant des nerfs stromaux profonds (rouge) et le plexus sous-épithélial (vert). Barre d'échelle : 30 µm. **d.** Projection d'un faisceau de fibres du plexus sous-épithélial humain émergeant d'un tronc stromal (vert). Barre d'échelle : 30 µm. **e, f.** Projection d'un tronc nerveux stromal périphérique (rouge). Barre d'échelle : 30 µm. **g.** Coupe transversale montrant un tronc stromal (rouge) donnant naissance au plexus sous-basal et aux terminaisons intraépithéliales (vert). Barre d'échelle : 30 µm. **h.** Gros plan de la vue en coupe transversale illustrant deux types de terminaisons intraépithéliales : ramifiées (pointe de flèche) et simples (flèches). Barre d'échelle : 30 µm.

en spirale, dans le sens horaire ou anti-horaire, vers l'apex de la cornée [78–80]. Depuis le plexus sous-basal, des terminaisons nerveuses libres s'étendent vers l'épithélium cornéen superficiel. L'extrémité de ces fibres nerveuses superficielles est soit unique, soit ramifiée en deux à trois branches terminales.

Les études histologiques réalisées chez l'homme ont révélé que le plexus nerveux contient entre 5400 et 7200 fibres pour une surface de 90 mm^2. Ces fibres peuvent se diviser de nouveau en trois à sept axones individualisés, eux-mêmes pouvant donner 10 à 20 terminaisons libres. Ainsi, il y aurait approximativement 7000 nocicepteurs par mm^2. À ce titre, la cornée a une densité nerveuse 40 fois plus riche que la pulpe dentaire et 300 fois plus élevée que le derme [77].

ORGANISATION FONCTIONNELLE DE L'INNERVATION CORNÉENNE

L'innervation cornéenne est composée en très grande majorité de fibres sensitives et nociceptives (environ 90 %), partiellement de fibres sympathiques (5 à 10 %) et très modestement de fibres parasympathiques (3 à 5 %) [81].

FIBRES NOCICEPTIVES

Les fibres nerveuses nociceptives de la cornée sont principalement de type C (fibres non myélinisées) et Aδ (faiblement myélinisées). Ces fibres diffèrent par leurs propriétés électrophysiologiques : les fibres Aδ sont jusqu'à 7 fois plus rapides que les fibres C, de l'ordre de 2 à 15 m/s contre moins de 2 m/s respectivement. Par ailleurs, les fibres nociceptives se distinguent par la nature de leur stimulation : les mécanonocicepteurs, les récepteurs au froid et les fibres polymodales sensibles aux stimuli mécaniques, chimiques et à la chaleur [82] (fig. 2-19). Les fibres de type Aδ sont majoritairement constituées de mécanonocicepteurs dont les terminaisons sont moins ramifiées et moins superficielles, alors que les fibres de type C sont majoritairement représentées par des fibres polymodales ou sensibles au froid plus ramifiées et plus superficielles.

Mécanonocicepteurs

Les mécanonocicepteurs cornéens sont responsables de la sensation immédiate et aiguë de la douleur produite par le toucher ou le grattage de la surface cornéenne. Ils représentent environ 15 % à 20 % des fibres cornéennes périphériques. Ils répondent uniquement à de brèves stimulations mécaniques dont le seuil de stimulation est plus important que celui des récepteurs polymodaux. Le message douloureux est porté majoritairement par les fibres Aδ faiblement myélinisées, de diamètre moyen, avec une vitesse de conduction rapide. La protéine membranaire *Piezo2* (*Piezo-type mechanosensitive ion channel type 2*) est le marqueur moléculaire des mécanonocicepteurs.

Récepteurs au froid

Les récepteurs au froid sont des fibres de type Aδ et C qui représentent environ 10 % à 15 % de la population totale des fibres cornéennes. Ces fibres participent au réflexe de clignement spontané déclenché par le refroidissement lié à l'évaporation des larmes, constituant de véritables sentinelles de l'intégrité du film lacrymal. Ce sont des récepteurs capables de détecter de très faibles variations de température comprises entre 0 et 1 °C et sont également sensibles aux variations d'osmolarité de la surface oculaire. Ils expriment le canal ionique *TRPM8* (*transient receptor potential cation channel subfamily M member 8*) qui est activé par le froid ou le menthol. Les fibres nerveuses intra-épithéliales des récepteurs au froid présentent des terminaisons le plus souvent ramifiées. Certains marqueurs moléculaires permettent d'individualiser les récepteurs responsables de la sensation de froid-douloureux pour des températures inférieures à 10 °C de ceux responsables d'une sensation de froid-indolore à des températures plus modérées.

Nocicepteurs polymodaux

Les nocicepteurs polymodaux (fibres Aδ et C) répondent à des stimulations mécaniques, thermiques (température supérieure à 37 °C) ou chimiques (substances exogènes, médiateurs de l'inflammation, acidité à un pH compris entre 5 et 6,5). Ces récepteurs représentent la majorité des fibres cornéennes, soit environ 70 % de la population totale des fibres cornéennes.

Les fibres C des récepteurs polymodaux sécrètent des peptides nociceptifs comme la substance P ou le CGRP (*calcitonin gene-related peptide*). Lors d'une forte stimulation, leur activation continue malgré l'arrêt du stimulus, ce qui prolonge la sensation de douleur. Outre le CGRP, il est possible de les distinguer en fonction de l'expression de plusieurs récepteurs-canaux. Les canaux ASIC (*acid-sensing ion channel*) sont déclenchés par une acidification du pH de la surface oculaire inférieure à 6. Le récepteur *TRPV1* (*transient receptor potential vanilloid type 1*) est activé par des agents douloureux comme la capsaïcine, le pH

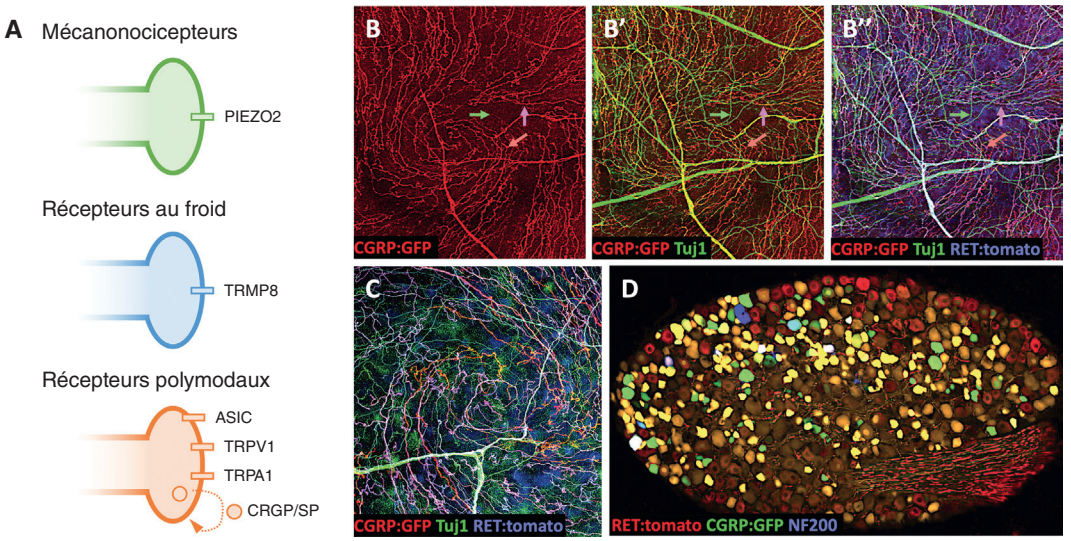


Fig. 2-19 ***Nocicepteurs et fibres nerveuses cornéennes chez la souris.***
a. Schéma des nocicepteurs cornéens. Les mécanonocicepteurs sont sensibles au toucher grâce à la protéine transmembranaire Piezo2. Les récepteurs au froid sont sensibles aux basses températures grâce à la protéine TRMP8. Les récepteurs polymodaux sont sensibles à de nombreux stimuli captés par les récepteurs ASIC, TRPV1, TRPA et par la sécrétion de CGRP et de substance P. **b-b**′′. L'innervation d'une cornée de souris transgénique RET : cre^{ER}; Rosa^{TdTomato}; CGRP : GFP avec immunomarquage de l'ensemble des nerfs exprimant la tubuline (anti-β-III tubuline) (10 ×). Le triple co-marquage de CGRP (rouge), de tubuline (vert) et *RET* (bleu) montre des fibres exprimant CGRP (flèche rouge), une co-expression de CGRP et *RET* (flèches magenta) ou l'absence d'expression de *RET* et de CGRP (flèche verte). 10 ×. **c.** Cornée centrale en haute résolution d'une souris transgénique de la même lignée que **b**′′. 40 ×. **d.** Section au cryostat de 20 µm du nerf trijumeau d'une souris transgénique de la même lignée que **b**′′ marquée par l'anticorps NF200 dirigé vers les fibres mécaniques. On distingue des noyaux exprimant CGRP seul (vert), *RET* seul (rouge), CGRP et *RET* (jaune), NF200 seul (bleu) ou les trois expressions de CGRP, *RET* et NF200 (blanc). 10 ×.

bas (pH < 6), la chaleur (> 42 °C) et l'hyperosmolarité. Le récepteur *TRPA1* (*transient receptor potential cation channel subfamily A member 1*) est activé par les températures très basses (< 10 °C), et par certains agents irritants comme la formaline, l'allyl-isothiocyanate (huile de moutarde), ou le gaz lacrymogène.

FIBRES DU SYSTÈME NERVEUX AUTONOME

Les fibres sympathiques cornéennes émergent du ganglion cervical supérieur et leur densité est extrêmement variable en fonction des espèces : rares chez les primates, elles représentent 15 % des fibres cornéennes chez les rats ou les chats. Elles se localisent principalement dans le stroma limbique à proximité des vaisseaux sanguins. Ces fibres cornéennes semblent prolonger l'innervation sympathique conjonctivale dont le rôle est la dilatation des vaisseaux conjonctivaux. La fonction des nerfs sympathiques cornéens dans une cornée avasculaire reste mal comprise [83, 84]. Des fibres parasympathiques ont été retrouvées dans le stroma périphérique de cornées de rat et de chats. Ce type d'innervation n'a pas été confirmé chez l'homme et leur fonction reste mal connue.

RÔLE LOCAL DES FIBRES NERVEUSES CORNÉENNES

Un rôle trophique procicatrisant

Les nerfs cornéens du système somatique, sympathique et parasympathique libèrent de nombreux neuropeptides qui exercent un rôle trophique sur l'épithélium cornéen [83, 84].

Les axones somatiques issus du ganglion trijumeau libèrent surtout de la substance P (SP) et du CGRP. Le CGRP, en synergie avec la SP, stimule la migration des cellules épithéliales après un traumatisme épithélial ; son rôle reste débattu. L'effet trophique de la SP est possible grâce à un effet synergique avec d'autres facteurs de croissance. Seule, la SP ne permet pas d'accélérer la cicatrisation de l'épithélium cornéen. Associée à l'EGF (*epidermal growth factor*) et l'IGF-1 (*insulin-like growth factor 1*), la SP facilite la migration des cellules épithéliales in vitro et accélère la cicatrisation. Associée au CGRP, la SP stimule la prolifération et la différenciation des cellules épithéliales. La concentration de SP est diminuée dans les larmes des patients présentant une hypoesthésie cornéenne.

Les axones issus du système sympathique sécrètent du neuropeptide Y (NPY) qui a un rôle anti-angiogénique, vasoconstricteur, procicatrisant, module la sensibilité aux stimuli cornéens et régule la sécrétion d'eau et d'électrolytes.

Les axones parasympathiques sécrètent du peptide vasoactif intestinal (*vasoactive intestinal peptide* [VIP]) et de la Met-enképhaline. Le VIP stimule la production de *nerve growth factor* (NGF) par les cellules épithéliales, mais n'influe pas sur la cicatrisation. La Met-enképhaline (ou *opioid growth factor* [OGF]) ralentit la croissance épithéliale.

Interactions entre l'innervation et l'inflammation

Les immunomarquages des axones et cellules immunitaires mettent en évidence les contacts étroits entre ces deux populations cellulaires (fig. 2-20). Les peptides SP et CGRP participent au déclenchement de la réaction inflammatoire au sein de l'épithélium cornéen lors d'un traumatisme cornéen ou d'une infection. Les nerfs ont un rôle immunomodulateur direct sur les cellules immunitaires. Inversement, le système immunitaire relâche des cytokines reconnues par les récepteurs des axones cornéens. L'inflammation aiguë peut permettre dans certaines

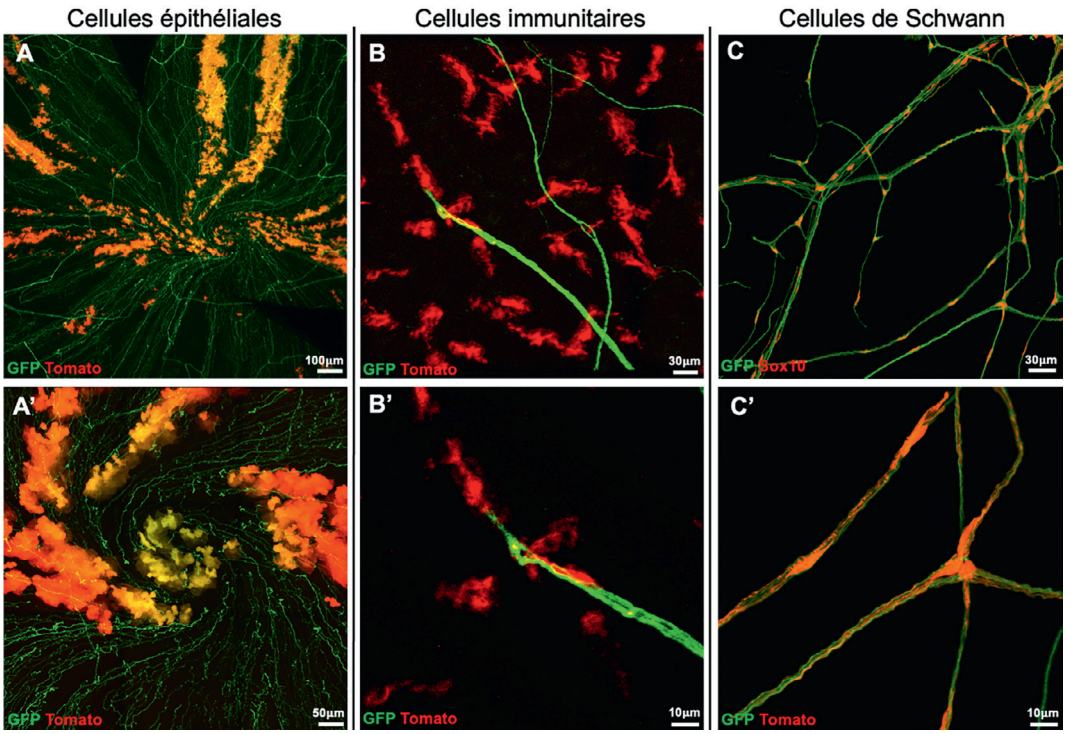


Fig. 2-20 ***Interactions étroites entre l'innervation cornéenne et trois populations cellulaires cornéennes.***
a. Cornée d'une souris KRT14 : cre^{ER} ; Rosa^{TdTomato} ; CGRP : GFP exprimant la GFP (en vert) dans les fibres peptidergiques et la Tomato (en rouge) dans certains clones de cellules épithéliales, montrant l'orientation centripète des fibres du plexus sous-basal et des clones de cellules épithéliales. 20 ×. **a**′. Zoom sur la zone centrale, avec le vortex formé par les fibres nerveuses et les cellules épithéliales. **b.** Stroma cornéen d'une souris Cx3cr1 : cre^{ER} ; Rosa^{TdTomato} ; CGRP : GFP, montrant la présence de cellules immunitaires (en rouge) dans le stroma, à proximité des troncs nerveux (en vert). 40 ×. **b**′. Zoom montrant le contact étroit de certaines cellules avec les nerfs cornéens. **c.** Stroma cornéen d'une souris Phox2b : cre ; Rosa^{TdTomato} ; CGRP : GFP après immunomarquage Anti-Sox10, marqueur nucléaire des cellules de Schwann (en rouge). 40 ×. **c**′. Zoom montrant les cellules de Schwann Tomato (en rouge) entre les fibres nerveuses des troncs nerveux.

situations de favoriser la régénération nerveuse grâce à la présence de certaines cytokines. Mais la densité nerveuse cornéenne peut également être réduite par l'inflammation chronique générée par la sécheresse oculaire ou certaines infections.

PROJECTION DE L'INFORMATION SENSITIVE VERS LE SYSTÈME NERVEUX CENTRAL

L'innervation sensitive de la surface oculaire provient pour 90 % d'axones périphériques des neurones primaires situés dans le ganglion homolatéral du trijumeau. Une faible partie, environ 5 %, provient des axones sympathiques et parasympathiques [83].

L'ensemble des stimuli mécaniques, thermiques et chimiques issus des nocicepteurs détaillés ci-dessus sont transmis aux troncs nerveux cornéens périphériques. Ces fibres se rejoignent pour former deux à trois nerfs ciliaires longs et cinq à six nerfs ciliaires courts qui émergent de la sclère à la partie postérieure du globe. Le long du nerf optique, ils se rejoignent pour former le ganglion ciliaire postérieur, d'où émerge le nerf nasociliaire qui rejoint la branche ophtalmique V1 du nerf trijumeau. La réunion des nerfs ophtalmique V1, maxillaire V2 et mandibulaire V3 forme le ganglion trijumeau qui reçoit les afférences sensitives de l'hémiface homolatérale incluant l'ensemble des modalités sensitives de la cornée. Le complexe sensitif du trijumeau parcourt le tronc cérébral de la partie caudale du pont jusqu'à la première cervicale (C1). Il se compose d'un noyau principal et d'un noyau spinal. Au sein du système nerveux central, c'est le premier relais des informations sensitives de la face et de la cornée.

Enfin, la stimulation cornéenne entraîne un message nerveux qui est transmis au thalamus et éventuellement au cortex. Les messages nociceptifs cornéens sont à l'origine de réflexes involontaires de clignement via une synapse avec le noyau moteur du nerf facial et de larmoiement via une synapse avec le noyau salivaire supérieur, ainsi que de comportements volontaires d'évitement qui contribuent à la protection de la cornée et du globe oculaire.

BOUCLES RÉFLEXES DE PROTECTION DE LA CORNÉE ET DU GLOBE

Il existe de nombreuses boucles réflexes de protection du globe dont le point de départ est visuel (via le nerf optique) ou sensitif (branche ophtalmique du nerf V). Modulés au sein du système nerveux central en fonction des afférences sensitives, les réflexes de clignement et de sécrétion lacrymale reposent sur l'intégrité de nerfs effecteurs. Contrairement aux réflexes monosynaptiques comme le réflexe rotulien, les réflexes d'origine cornéenne sont polysynaptiques et impliquent le tronc cérébral, les noyaux gris centraux ou le cortex cérébral (fig. 2-21). Les messages cornéens vont entraîner un double réflexe de clignement et d'hypersécrétion lacrymale [84–86].

Le réflexe de clignement de l'œil facilite la sécrétion des larmes, permet l'étalement du film lacrymal sur le segment antérieur et le protège de dommages potentiels. La stimulation des fibres cornéennes entraîne une impulsion nerveuse qui est relayée par le noyau du trijumeau et permet l'activation des motoneurones du noyau facial (VII), provoquant la contraction des muscles orbiculaires. Ce mécanisme se traduit par la fer-

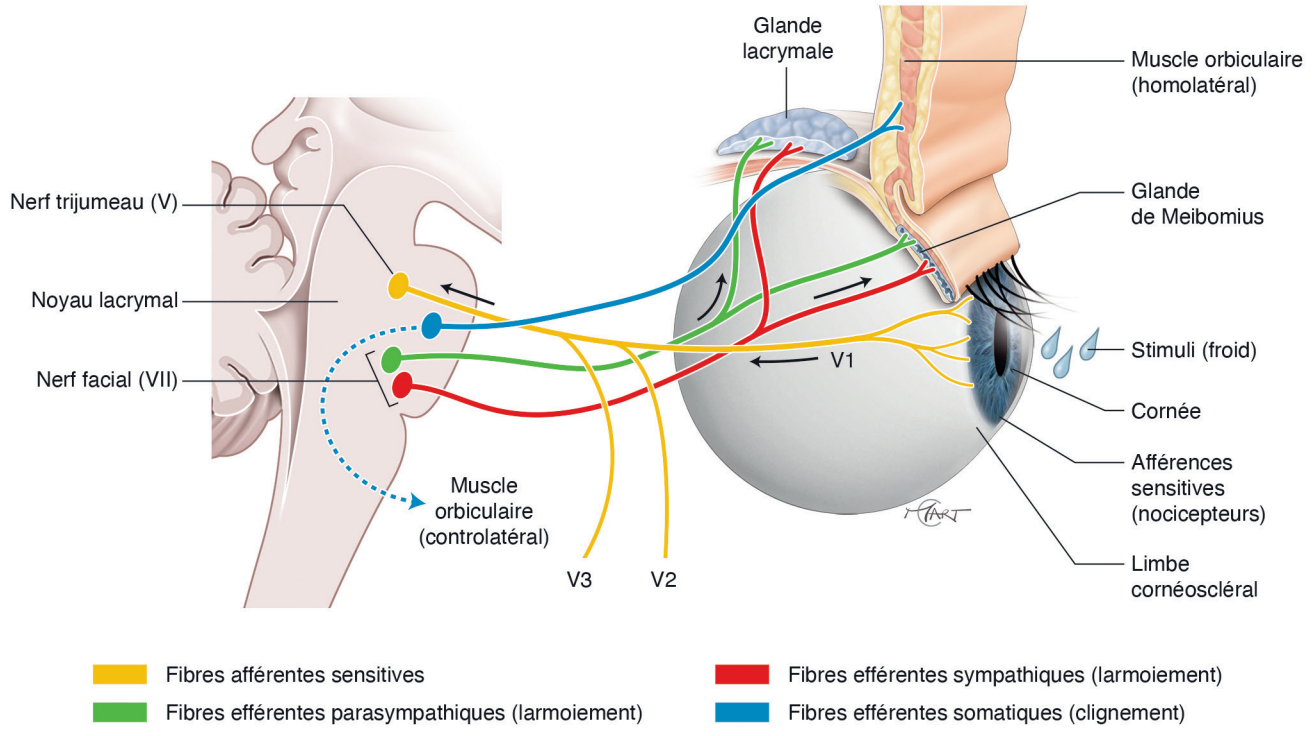


Fig. 2-21 ***Les arcs réflexes cornéens.***
Le message nociceptif généré par les stimuli cornéens est transmis par les nerfs ciliaires, puis par la branche ophtalmique du trijumeau jusqu'au noyau du nerf trijumeau (jaune). Le message est intégré au sein du tronc et génère un réflexe de clignement rapide via les fibres somatiques du nerf facial et le muscle orbiculaire homolatéral (bleu). Un réflexe de clignement plus lent passe par la moelle allongée avant de rejoindre le nerf facial et le muscle orbiculaire controlatéral. Le message nociceptif génère également une réponse de larmoiement aqueux et lipidique et mucinique via des fibres parasympathiques (vert) et sympathiques (rouge) qui innervent à la fois les glandes lacrymales, les glandes de Meibomius et les cellules caliciformes conjonctivales.
Source : dessin de Cyrille Martinet, d'après Labetoulle et al. [84].

meture des paupières et donc le réflexe de clignement. Deux types de réponses existent ; une réponse homolatérale rapide issue du pont (10 ms) et une réponse controlatérale plus lente dépendante de la moelle latérale (> 30 ms).

Le réflexe de larmoiement est responsable d'une hypersécrétion lacrymale déclenchée par les influx nerveux issus des fibres cornéennes polymodales et des fibres sensibles au froid. La production de larmes passe par l'activation des neurones parasympathiques du ganglion ptérygopalatin (nerf maxillaire V2) et du noyau salivaire supérieur (noyaux du nerf facial VII). Ceux-ci innervent les glandes lacrymales et les cellules caliciformes conjonctivales, et activent le réflexe de sécrétion lacrymale. Plusieurs glandes sont impliquées dans la production des larmes : la glande lacrymale principale et les glandes lacrymales secondaires produisent la phase aqueuse des larmes, alors que les glandes de Meibomius produisent la phase lipidique. Les cellules caliciformes produisent la phase mucinique.

Pathologie

L'innervation cornéenne est essentielle pour la préservation de l'intégrité du dioptre cornéen et du globe oculaire. D'une part, toute lésion de la cornée, du nerf V1, ou des voies réflexes est susceptible de porter atteinte à l'intégrité cornéenne. D'autre part, certaines pathologies systémiques ou cornéennes strictes sont responsables d'un remodelage des nerfs cornéens qui guide le clinicien dans son diagnostic.

KÉRATOPATHIE NEUROTROPHIQUE

La kératopathie neurotrophique (KN) est une atteinte cornéenne causée par une diminution ou une abolition de la sensibilité cornéenne. Cette perte de sensibilité entraîne une insuffisance de clignement, une réduction de la sécrétion lacrymale et des problèmes de cicatrisation épithéliale [87]. La KN se caractérise selon son stade par une kératite ponctuée superficielle, un défect épithélial (érosion sans perte de substance stromale), un ulcère (érosion avec perte de substance stromale) ou une perforation cornéenne (fig. 2-22).

La KN est le plus souvent secondaire à une kératite herpétique (HSV ou VZV), aux pathologies chroniques de la surface oculaire, aux chirurgies cornéennes, à l'atteinte iatrogène des toxiques en collyre ou après un laser rétinien, à l'atteinte traumatique ou chirurgicale du nerf trijumeau ainsi qu'aux déficits nerveux congénitaux ou acquis (diabète) [88, 89]. Un tiers des KN sont multifactorielles et 10 % sont idiopathiques [90].

L'objectif thérapeutique d'une KN est d'abord la cicatrisation épithéliale afin de limiter une surinfection ou une perforation cornéenne. Le traitement de première intention regroupe l'éviction des toxiques, les substituts lacrymaux, l'occlusion des méats lacrymaux et l'occlusion palpébrale nocturne. En deuxième intention, le clinicien peut proposer des collyres anti-inflammatoires (ciclosporine, corticoïdes), des collyres à base de sérum autologue ou de plasma enrichi en facteur de croissance, la pose d'une lentille pansement, d'une lentille sclérale ou l'induction d'un ptosis thérapeutique par injection de toxine botulique. Une KN sévère peut nécessiter une greffe de membrane amniotique en *inlay* ou *overlay*, une tarsorraphie ou

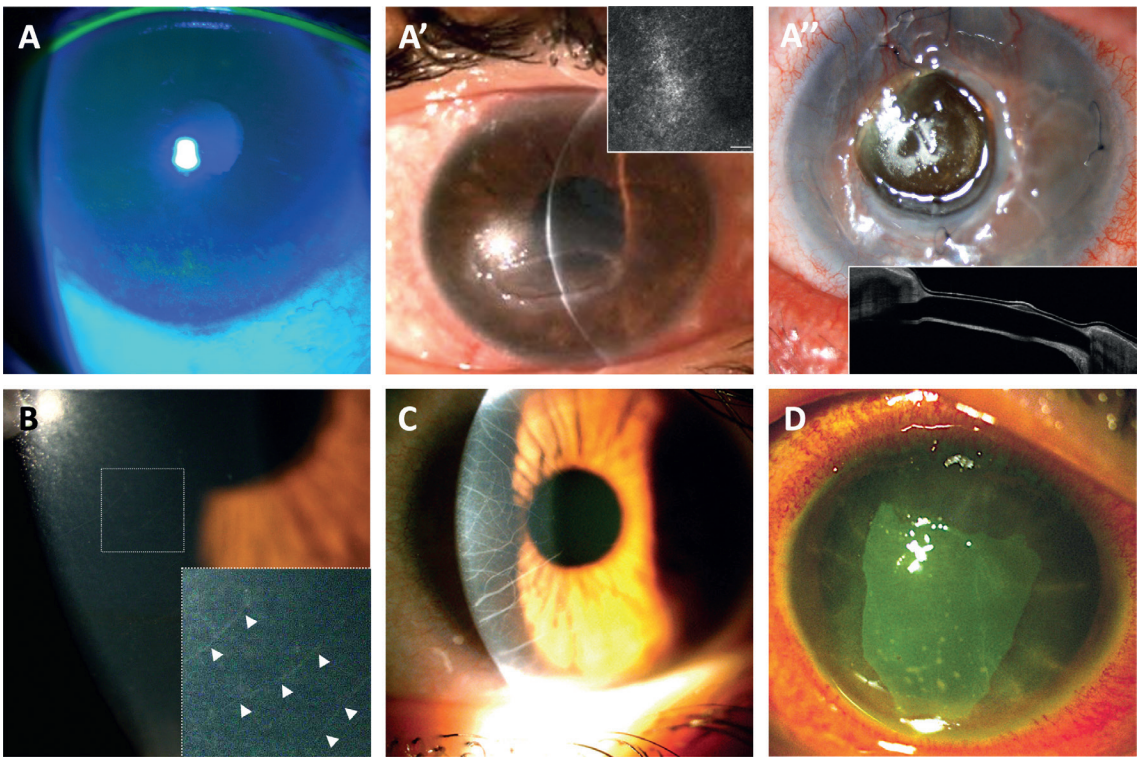


Fig. 2-22 ***L'innervation cornéenne en pratique : physiologie et pathologie.***
a-a''. Kératopathie neurotrophique. **a.** Kératite ponctuée superficielle d'un syndrome sec témoignant d'une réduction du réflexe de larmoiement. **a'.** Ulcère neurotrophique typique : perte de substance stromale à l'emporte-pièce de forme ovale à grand axe horizontal. La microscopie confocale in vivo retrouve une raréfaction de la densité nerveuse cornéenne (barre d'échelle : 50 µm). **a''.** Fonte stromale préperforative avec descemetocèle et coupe OCT correspondante. **b.** Kératocône avec des nerfs cornéens proéminents, anormalement visibles. **c.** Hypertrophie des nerfs cornéens chez un patient atteint d'une amylose primitive. **d.** Kératonévrite radiaire d'une kératite amibienne.

un recouvrement conjonctival. Certains patients peuvent bénéficier d'une neurotisation cornéenne [91, 92]. En cas de perforation, le comblement cornéen doit être organisé en urgence (colle cyanoacrylate, greffe de membrane amniotique, greffe bouchon), car le pronostic du globe oculaire est engagé.

SÉMIOLOGIE DES NERFS CORNÉENS EN PRATIQUE

En condition physiologique, les nerfs cornéens restent difficilement visibles en biomicroscopie à fort grossissement. Certaines pathologies systémiques ou cornéennes entraînent un remodelage des nerfs cornéens qui deviennent anormalement visibles ou, au contraire, se raréfient (voir fig. 2-22). Récemment développée pour la pratique clinique, la microscopie confocale in vivo (MCIV) permet à l'ophtalmologiste d'approfondir l'étude de l'innervation cornéenne (fig. 2-23). Les fibres nerveuses sont significativement plus tortueuses et plus rares après 40 ans [93].

PATHOLOGIES SYSTÉMIQUES ET NERFS CORNÉENS

En plus des nodules de Lisch iriens, la neurofibromatose se manifeste au niveau oculaire par des anomalies des cellules de Schwann qui entraînent une visualisation anormale des nerfs cornéens. La mutation du gène *RET* dans les néoplasies endocriniennes multiples entraîne une prolifération anormale de certains groupes de cellules glandulaires. Les nerfs cornéens sont anormalement visibles en raison de l'augmentation du nombre de fibres nerveuses par nerf. La lèpre est une pathologie infectieuse systémique, dont l'agent *Mycobacterium leprae* prolifère à proximité des nerfs cornéens supérotemporaux qui s'opacifient. L'hypoesthésie cornéenne peut être la première manifestation de cette maladie. L'ichtyose, la maladie de Refsum, la dysautonomie de Riley-Day et la protéinose lipoïde sont également des causes de nerfs cornéens anormalement visibles [94].

L'amylose primitive est une maladie systémique caractérisée par le dépôt de protéines amyloïdes anormales dans divers tissus, y compris les nerfs. Dans le cadre de cette affection, les nerfs cornéens peuvent présenter un aspect épaissi et irrégulier lors d'un examen à la lampe à fente ou à la microscopie confocale (voir fig. 2-22 et 2-23). Chez les patients diabétiques, la réduction de la densité nerveuse cornéenne est corrélée au risque de développer une neuropathie périphérique [95]. Dans la maladie d'Alzheimer, une diminution des nerfs cornéens visibles en MCIV est observée [96].

PATHOLOGIES CORNÉENNES ET NERFS CORNÉENS

Le kératocône est une pathologie ectasiante de la cornée dans laquelle les nerfs sont anormalement visibles, probablement en raison de l'hypertrophie des cellules de Schwann qui entourent les fibres nerveuses (voir fig. 2-22). La densité des nerfs cornéens diminue avec la sévérité du kératocône [97]. Les kératites à *Acanthamoeba* sont parfois accompagnées d'une kératonévrite radiaire visible en lampe à fente et en microscopie confocale (voir fig. 2-22 et 2-23).

La kératonévrite radiaire a également été décrite dans les kératites à *Pseudomonas*. Celle-ci s'explique par le tropisme nerveux des pathogènes. La dystrophie postérieure polymorphe est une anomalie héréditaire de la membrane de Descemet et de l'endothélium qui reste le plus souvent asymptomatique. En MCIV, les fibres du plexus sous-basal sont mieux visibles que chez des sujets sains [98].

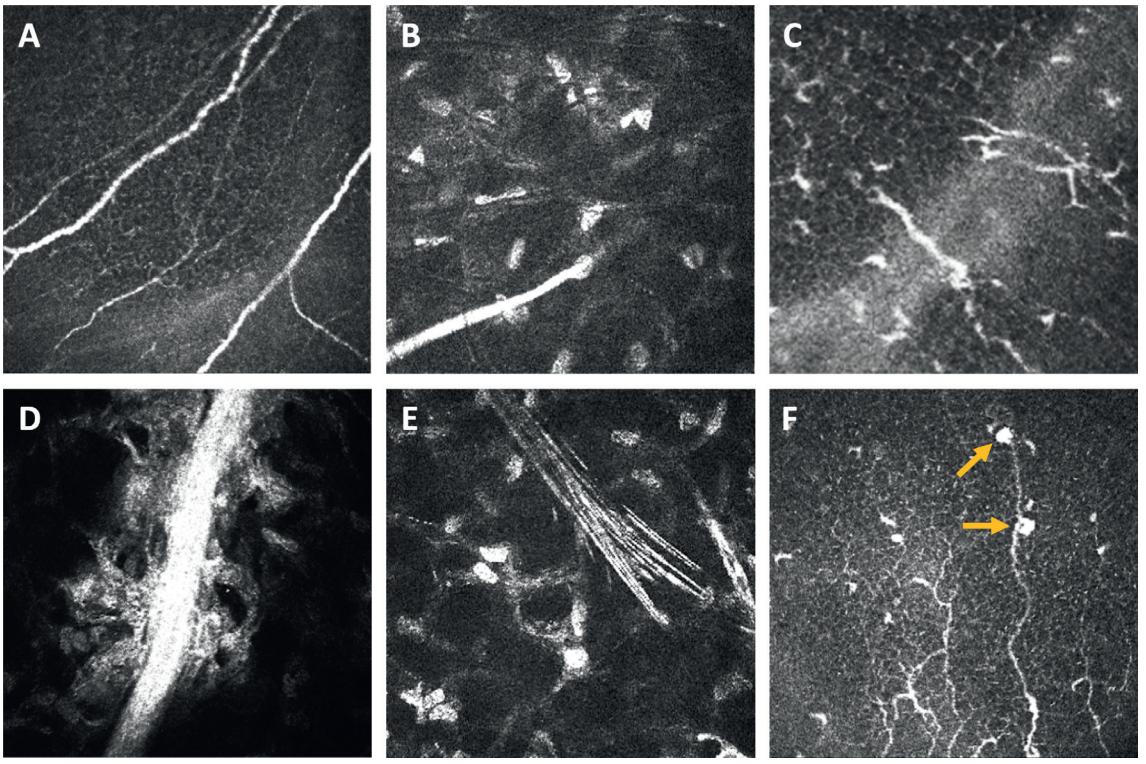


Fig. 2-23 ***Microscopie confocale in vivo : nerfs sains et pathologiques.***
a, b. Nerfs cornéens normaux dans le plexus sous-épithélial **(a)** et tronc nerveux intrastromal **(b)**. **c.** Élargissement d'un nerf cornéen chez un patient atteint de kératite amibienne, évocateur de kératonévrite radiaire. **d.** Hypertrophie d'un tronc intrastromal chez un patient atteint d'amylose primitive. Même patient que dans la fig. 2-22c. **e, f.** Défasciculation d'un nerf cornéen **(e)** et névromes **(f**, flèches) chez un patient souffrant de douleurs neuropathiques cornéennes après une chirurgie LASIK.

ATTEINTES CORNÉENNES ET RARÉFACTION DES NERFS CORNÉENS

La sécheresse oculaire et l'utilisation de toxiques ou de collyres conservés au long cours entraînent une inflammation chronique de la surface oculaire et une raréfaction de l'innervation cornéenne sensitive qui est objectivée au niveau du plexus sous-basal en MCIV. La cornée devient moins sensible aux stimuli nociceptifs, et les réflexes de clignement et de sécrétion lacrymale sont moins efficaces [99]. Le cercle vicieux sécheresse-inflammation-dénervation-réduction du réflexe lacrymal doit être diagnostiqué et traité précocement.

Les techniques de chirurgie réfractive cornéenne reposent sur l'ablation d'une partie du stroma cornéen qui emporte l'innervation locale. Le syndrome sec induit est le plus souvent résolutif après une repousse nerveuse de 3 à 6 mois. Néanmoins, une repousse anormale peut provoquer des douleurs neuropathiques responsables d'une persistance de douleurs oculaires ou d'une sensation de sécheresse chronique. Chez ces patients, la microscopie confocale peut révéler une raréfaction de la densité nerveuse cornéenne, des nerfs défasciculés et la présence de névromes, caractérisés par l'élargissement des terminaisons des fibres nerveuses du plexus sous-basal (voir fig. 2-23) [100]. Ces névromes sont décrits dans d'autres pathologies de la surface oculaire comme la sécheresse oculaire sévère, les neuropathies diabétiques, les kératopathies neurotrophiques, la kératopathie bulleuse ou le syndrome de Gougerot-Sjögren. Les névromes sont aussi observés en l'absence de pathologie oculaire [101]. À ce jour, le traitement des névromes repose sur l'hydratation de la surface cornéenne et le sérum autologue voire d'autres thérapeutiques systémiques en cas de douleurs neuropathiques sévères et réfractaires.

Points forts

- L'intégrité du dioptre cornéen, du globe et de la fonction visuelle repose sur une innervation cornéenne dense et multimodale à l'origine des réflexes de clignement et de larmoiement.
- Toute anomalie de cette innervation entraîne rapidement des lésions cornéennes.
- Certaines pathologies systémiques entraînent un remaniement des fibres nerveuses cornéennes, ce qui implique l'ophtalmologiste dans leur dépistage et leur diagnostic.

Bibliographie

2.1. Embryologie de la cornée

[1] Lwigale PY. Corneal development : different cells from a common progenitor. Prog Mol Biol Transl Sci 2015;134:43–59.
[2] Collinson JM, Quinn JC, Hill RE, et al. The roles of Pax6 in the cornea, retina, and olfactory epithelium of the developing mouse embryo. Dev Biol 2003;255(2):303–12.
[3] Liu W, Lagutin OV, Mende M, et al. Six3 activation of Pax6 expression is essential for mammalian lens induction and specification. EMBO J 2006;25(22):5383–95.
[4] Gage PJ, Rhoades W, Prucka SK, et al. Fate maps of neural crest and mesoderm in the mammalian eye. Invest Ophthalmol Vis Sci 2005;46(11):4200–8.
[5] Zavala J, López Jaime GR, Rodríguez Barrientos CA, et al. Corneal endothelium : developmental strategies for regeneration. Eye 2013;27(5):579–88.
[6] Dhermy P. Embryologie de l'œil. In: Pouliquen Y, editor. Précis d'ophtalmologie. 2 éd. Paris: Masson; 1984. p. 637.
[7] Hay ED, Zuk A. Transformations between epithelium and mesenchyme : normal, pathological, and experimentally induced. Am J Kidney Dis 1995;26(4):678–90.
[8] Cvekl A, Tamm ER. Anterior eye development and ocular mesenchyme : new insights from mouse models and human diseases. Bioessays 2004;26(4):374–86.
[9] Kitano S. An embryological study on the human corneal nerves. Jpn J Ophthalmol 1957;1:48–55.
[10] Kubilus JK, Linsenmayer TF. Developmental corneal innervation : interactions between nerves and specialized apical corneal epithelial cells. Invest Ophthalmol Vis Sci 2010;51(2):782–9.
[11] Uusitalo H, Krootila K, Palkama A. Calcitonin gene-related peptide (CGRP) immunoreactive sensory nerves in the human and guinea pig uvea and cornea. Exp Eye Res 1989;48(4):467–75.
[12] Morikawa Y, Zehir A, Maska E, et al. BMP signaling regulates sympathetic nervous system development through Smad4-dependent and -independent pathways. Development 2009;136(21):3575–84.
[13] Dawson DG, Ubels JL, Edelhauser HF. Cornea and sclera. Adler's Physiology of the Eye 2011;11:71–130.

2.2. Épithélium cornéen et membrane basale

[14] Colabelli Gisoldi RA, Pocobelli A, Villani CM, et al. Evaluation of molecular markers in corneal regeneration by means of autologous cultures of limbal cells and keratoplasty. Cornea 2010;29(7):715–22.
[15] Bashir H, Seykora JT, Lee V. Invisible shield : Review of the corneal epithelium as a barrier to UV radiation, pathogens, and other environmental stimuli. J Ophthalmic Vis Res 2017;12(3):305–11.
[16] Archives d'anatomie microscopique. Gallica., 1898, https://gallica.bnf.fr/ark:/12148/bpt6k5430943n.
[17] Uchino Y. The ocular surface glycocalyx and its alteration in dry eye disease : A Review. Invest Ophthalmol Vis Sci 2018;59(14):DES157–62.
[18] Kao WW. Keratin expression by corneal and limbal stem cells during development. Exp Eye Res 2020;200, 108206.
[19] Mantelli F, Mauris J, Argüeso P. The ocular surface epithelial barrier and other mechanisms of mucosal protection : from allergy to infectious diseases. Curr Opin Allergy Clin Immunol 2013;13(5):563–8.
[20] Thoft RA, Friend J. The X, Y, Z hypothesis of corneal epithelial maintenance. Invest Ophthalmol Vis Sci 1983;24(10):1442–3.
[21] Majo F, Rochat A, Nicolas M, et al. Oligopotent stem cells are distributed throughout the mammalian ocular surface. Nature 2008;456(7219):250–4.
[22] Suanno G, Genna VG, Maurizi E, et al. Cell therapy in the cornea : The emerging role of microenvironment. Prog Retin Eye Res 2024;102, 101275.
[23] Thomasy SM, Leonard BC, Greiner MA, et al. Squishy matters – Corneal mechanobiology in health and disease. Prog Retin Eye Res 2024;99, 101234.
[24] Saikia P, Medeiros CS, Thangavadivel S, Wilson SE. Basement membranes in the cornea and other organs that commonly develop fibrosis. Cell Tissue Res 2018;374(3):439–53.
[25] Cameron JD, Skubitz AP, Furcht LT. Type IV collagen and corneal epithelial adhesion and migration. Effects of type IV collagen fragments and synthetic peptides on rabbit corneal epithelial cell adhesion and migration in vitro. Invest Ophthalmol Vis Sci 1991;32(10):2766–73.
[26] Torricelli AA, Singh V, Santhiago MR, Wilson SE. The corneal epithelial basement membrane : structure, function, and disease. Invest Ophthalmol Vis Sci 2013;54(9):6390–400.

2.3. Couche de Bowman et stroma cornéen

[27] De Clerck EEB, Bravetti GE, Kropp M, et al. Bowman layer transplantation for treating keratoconus-Preliminary indings. J Clin Med 2023;12(6):2402.
[28] Payrau P. La transparence de la cornée : les mécanismes de ses altérations. In: Payrau P, Pouliquen Y, Fauré JP, et al., editors. Rapport présenté à la Société Française d'Ophtalmologie le 9 mai; 1967.

[29] Gabison EE, Huet E, Baudouin C, Menashi S. Direct epithelial–stromal interaction in corneal wound healing : Role of EMMPRIN/CD147 in MMPs induction and beyond. Prog Retin Eye Res 2009;28(1):19–33.
[30] Wilson SE. Bowman's layer in the cornea- structure and function and regeneration. Exp Eye Res 2020;195, 108033.
[31] Bergmanson JP, Horne J, Doughty MJ, et al. Assessment of the number of lamellae in the central region of the normal human corneal stroma at the resolution of the transmission electron microscope. Eye Contact Lens 2005;31(6):281–7.
[32] Freund DE, McCally RL, Farrell RA, et al. Ultrastructure in anterior and posterior stroma of perfused human and rabbit corneas. Relation to transparency. Invest Ophthalmol Vis Sci 1995;36(8):1508–23.
[33] Jester JV. Corneal crystallins and the development of cellular transparency. Semin Cell Dev Biol 2008;19(2):82–93.
[34] Altshuler A, Amitai-Lange A, Tarazi N, et al. Discrete limbal epithelial stem cell populations mediate corneal homeostasis and wound healing. Cell Stem Cell 2021;28(7). 1248-61.e8.
[35] White J, Werkmeister JA, Ramshaw JA, Birk DE. Organization of fibrillar collagen in the human and bovine cornea : collagen types V and III. Connect Tissue Res 1997;36(3):165–74.
[36] Newsome DA, Gross J, Hassell JR. Human corneal stroma contains three distinct collagens. Invest Ophthalmol Vis Sci 1982;22(3):376–81.
[37] Espana EM, Birk DE. Composition, structure and function of the corneal stroma. Exp Eye Res 2020;198, 108137.
[38] Sun M, Zafrullah N, Devaux F, et al. Collagen XII is a regulator of corneal stroma structure and function. Invest Ophthalmol Vis Sci 2020;61(5):61.
[39] Massoudi D, Malecaze F, Soler V, et al. NC1 long and NC3 short splice variants of type XII collagen are overexpressed during corneal scarring. Invest Ophthalmol Vis Sci 2012;53(11):7246–56.
[40] Cescon M, Gattazzo F, Chen P, Bonaldo P. Collagen VI at a glance. J Cell Sci 2015;128(19):3525–31.
[41] Doane KJ, Ting WH, McLaughlin JS, Birk DE. Spatial and temporal variations in extracellular matrix of periocular and corneal regions during corneal stromal development. Exp Eye Res 1996;62(3):271–83.
[42] Chakravarti S, Magnuson T, Lass JH, et al. Lumican regulates collagen fibril assembly : skin fragility and corneal opacity in the absence of lumican. J Cell Biol 1998;141(5):1277–86.
[43] Chen S, Mienaltowski MJ, Birk DE. Regulation of corneal stroma extracellular matrix assembly. Exp Eye Res 2015;133:69–80.
[44] Zhang G, Chen S, Goldoni S, et al. Genetic evidence for the coordinated regulation of collagen fibrillogenesis in the cornea by decorin and biglycan. J Biol Chem 2009;284(13):8888–97.
[45] Hunzelmann N, Anders S, Sollberg S, et al. Co-ordinate induction of collagen type I and biglycan expression in keloids. Br J Dermatol 1996;135(3):394–9.
[46] Chakravarti S, Petroll WM, Hassell JR, et al. Corneal opacity in lumican-null mice : defects in collagen fibril structure and packing in the posterior stroma. Invest Ophthalmol Vis Sci 2000;41(11):3365–73.

2.4. Endothélium cornéen

[47] He Z, Campolmi N, Gain P, et al. Revisited microanatomy of the corneal endothelial periphery : new evidence for continuous centripetal migration of endothelial cells in humans. Stem Cells 2012;30(11):2523–34.
[48] He Z, Forest F, Gain P, et al. 3D map of the human corneal endothelial cell. Sci Rep 2016;6:29047.
[49] Nakagawa T, Okumura N, Ikegawa M, et al. Shotgun proteomics identification of proteins expressed in the Descemet's membrane of patients with Fuchs endothelial corneal dystrophy. Sci Rep 2023;13(1):10401.
[50] Halfter W, Moes S, Halfter K, et al. The human Descemet's membrane and lens capsule : Protein composition and biomechanical properties. Exp Eye Res 2020;201, 108326.
[51] Poulsen ET, Dyrlund TF, Runager K, et al. Proteomics of Fuchs' endothelial corneal dystrophy support that the extracellular matrix of Descemet's membrane is disordered. J Proteome Res 2014;13(11):4659–67.
[52] Murphy C, Alvarado J, Juster R. Prenatal and postnatal growth of the human Descemet's membrane. Invest Ophthalmol Vis Sci 1984;25:1402–15.
[53] Breazzano MP, Fikhman M, Abraham JL, Barker-Griffith AE. Analysis of Schwalbe's line (limbal smooth zone) by scanning electron microscopy and optical coherence tomography in human eye bank eyes. J Ophthalmic Vis Res 2013 ;8(1):9–16.
[54] Kotulak JC, Brungardt T. Age-related changes in the cornea. J Am Optom Assoc 1980 ;51(8):761–5.
[55] Galgauskas S, Norvydaite D, Krasauskaite D, et al. Age-related changes in corneal thickness and endothelial characteristics. Clin Interv Aging 2013 ;8:1445–50.
[56] Higa A, Sakai H, Sawaguchi S, et al. Corneal endothelial cell density and associated factors in a population-based study in Japan : the Kumejima study. Am J Ophthalmol 2010 ;149(5):794–9.
[57] Ko MK, Park WK, Lee JH, Chi JG. A histomorphometric study of corneal endothelial cells in normal human fetuses. Exp Eye Res 2001 ;72(4):403–9.
[58] Elbaz U, Mireskandari K, Tehrani N, et al. Corneal endothelial cell density in children : normative data from birth to 5 years old. Am J Ophthalmol 2017 ;173:134–8.
[59] Murphy C, Alvarado J, Juster R, Maglio M. Prenatal and postnatal cellularity of the human corneal endothelium. A quantitative histologic study. Invest Ophthalmol Vis Sci 1984 ;25(3):312–22.
[60] Bourne WM, Nelson LR, Hodge DO. Central corneal endothelial cell changes over a ten-year period. Invest Ophthalmol Vis Sci 1997 ;38(3):779–82.
[61] Møller-Pedersen T. A comparative study of human corneal keratocyte and endothelial cell density during aging. Cornea 1997 ;16(3):333–8.
[62] Honda H, Ogita Y, Higuchi S, Kani K. Cell movements in a living mammalian tissue : long-term observation of individual cells in wounded corneal endothelia of cats. J Morphol 1982 ;174(1):25–39.
[63] Kinoshita S, Koizumi N, Ueno M, et al. Injection of cultured cells with a ROCK Inhibitor for bullous keratopathy. N Engl J Med 2018 ;378(11):995–1003.
[64] Okumura N, Sakamoto Y, Fujii K, et al. Rho kinase inhibitor enables cell-based therapy for corneal endothelial dysfunction. Sci Rep 2016 ;6:26113.
[65] Hongo A, Okumura N, Nakahara M, et al. The Effect of a p38 mitogen-activated protein kinase inhibitor on cellular senescence of cultivated human corneal endothelial cells. Invest Ophthalmol Vis Sci 2017 ;58(9):3325–34.
[66] Aouimeur I, Sagnial T, Coulomb L, et al. Investigating the role of TGF-beta signaling pathways in human corneal endothelial cell primary culture. Cells 2023 ;12(12):1624.
[67] Crouzet E, He Z, Ben Moussa O, et al. Tissue engineered endothelial keratoplasty in rabbit : tips and tricks. Acta Ophthalmol 2022 ;100(6):690–9.
[68] He Z, Okumura N, Sato M, et al. Corneal endothelial cell therapy : feasibility of cell culture from corneas stored in organ culture. Cell Tissue Bank 2021 ;22(4):551–62.
[69] Toda M, Ueno M, Hiraga A, et al. Production of homogeneous cultured human corneal endothelial cells indispensable for innovative cell therapy. Invest Ophthalmol Vis Sci 2017 ;58(4):2011–20.
[70] Bednarz J, Rodokanaki-von Schrenck A, Engelmann K, et al. Different characteristics of endothelial cells from central and peripheral human cornea in primary culture and after subculture. In Vitro Cell Dev Biol Anim 1998 ;34(2):149–53.
[71] Patel SP, Bourne WM. Corneal endothelial cell proliferation : a function of cell density. Invest Ophthalmol Vis Sci 2009 ;50(6):2742–6.
[72] Konomi K, Zhu C, Harris D, Joyce NC. Comparison of the proliferative capacity of human corneal endothelial cells from the central and peripheral areas. Invest Ophthalmol Vis Sci 2005 ;46(11):4086–91.
[73] Konomi K, Joyce NC. Age and topographical comparison of telomere lengths in human corneal endothelial cells. Mol Vis 2007 ;13:1251–8.
[74] Mimura T, Joyce NC. Replication competence and senescence in central and peripheral human corneal endothelium. Invest Ophthalmol Vis Sci 2006 ;47(4):1387–96.

[75] Yamagami S, Yokoo S, Mimura T, et al. Distribution of precursors in human corneal stromal cells and endothelial cells. Ophthalmology 2007 ;114(3):433–9.
[76] Kinoshita S, Colby KA, Kruse FE. A close look at the clinical efficacy of Rho-Associated Protein Kinase Inhibitor eye drops for Fuchs endothelial corneal dystrophy. Cornea 2021 ;40(10):1225–8.

2.5. Innervation cornéenne

[77] Rózsa AJ, Beuerman RW. Density and organization of free nerve endings in the corneal epithelium of the rabbit. Pain 1982 ;14:105–20.
[78] Marfurt CF, Cox J, Deek S, Dvorscak L. Anatomy of the human corneal innervation. Experimental Eye Research 2010 ;90:478–92.
[79] Downie LE, Bandlitz S, Bergmanson JPG, et al. BCLA CLEAR - Anatomy and physiology of the anterior eye. Cont Lens Anterior Eye 2021 ;44:132–56.
[80] Badian RA, Lagali N. The inferocentral whorl region and its directional patterns in the corneal sub-basal nerve plexus : a review. Exp Eye Res 2024 ;109926.
[81] Müller LJ, Marfurt CF, Kruse F, Tervo TM. Corneal nerves : structure, contents and function. Exp Eye Res 2003 ;76:521–42.
[82] McKay TB, Seyed-Razavi Y, Ghezzi CE, et al. Corneal pain and experimental model development. Prog Retin Eye Res 2019 ;71:88–113.
[83] Al-Aqaba MA, Dhillon VK, Mohammed I, et al. Corneal nerves in health and disease. Prog Retinal Eye Res 2019 ;73, 100762.
[84] Labetoulle M, Baudouin C, Calonge M, et al. Role of corneal nerves in ocular surface homeostasis and disease. Acta Ophthalmol 2019 ;97:137–45.
[85] Hunyor AP. Reflexes and the eye. Aust NZ J Ophthalmol 1994 ;22:155–9.
[86] Valls-Sole J. Spontaneous, voluntary, and reflex blinking in clinical practice. J Clin Neurophysiol 2019 ;36:415–21.
[87] Dua HS, Said DG, Messmer EM, et al. Neurotrophic keratopathy. Prog Retin Eye Res 2018 ;66:107–31.
[88] NaPier E, Camacho M, McDevitt TF, Sweeney AR. Neurotrophic keratopathy : current challenges and future prospects. Ann Med 2022 ;54:666–73.
[89] Bouheraoua N, Hrarat L, Parsa CF, et al. Decreased corneal sensation and subbasal nerve density, and thinned corneal epithelium as a result of 360-degree laser retinopexy. Ophthalmology 2015 ;122:2095–102.
[90] Saad S, Abdelmassih Y, Saad R, et al. Neurotrophic keratitis : frequency, etiologies, clinical management and outcomes. Ocul Surf 2020 ;18:231–6.
[91] Saad S, Labani S, Goemaere I, et al. Corneal neurotization in the management of neurotrophic keratopathy : a review of the literature. J Fr Ophtalmol 2023 ;46:83–96.
[92] Terzis JK, Dryer MM, Bodner BI. Corneal neurotization : a novel solution to neurotrophic keratopathy. Plast Reconstr Surg 2009 ;123:112–20.
[93] Chirapapaisan C, Thongsuwan S, Chirapapaisan N, et al. Characteristics of corneal subbasal nerves in different age groups : an in vivo confocal microscopic analysis. OPTH 2021 ;15:3563–72.
[94] Kim SK, Dohlman CH. Causes of enlarged corneal nerves. Int Ophthalmol Clin 2001 ;41:13–23.
[95] Ponirakis G, Al-Janahi I, Elgassim E, et al. Sustained corneal nerve loss predicts the development of diabetic neuropathy in type 2 diabetes. Front Neurosci 2024 ;18:1393105.
[96] Gundogan AO, Oltulu R, Belviranli S, et al. Corneal innervation changes ın Alzheimer's : implications for sensory dysfunction. Int Ophthalmol 2024 ;44:270.
[97] Santodomingo-Rubido J, Carracedo G, Suzaki A, et al. An updated review. Cont Lens Anterior Eye 2022 ;45, 101559.
[98] Grupcheva CN, Chew GS, Edwards M, et al. Imaging posterior polymorphous corneal dystrophy by in vivo confocal microscopy. Clin Exper Ophthalmol 2001 ;29:256–9.
[99] Kaido M, Arita R, Mitsukura Y, et al. Variability of autonomic nerve activity in dry eye with decreased tear stability. PloS One 2022 ;17, e0276945.
[100] Moein HR, Akhlaq A, Dieckmann G, et al. Visualization of microneuromas by using in vivo confocal microscopy : an objective biomarker for the diagnosis of neuropathic corneal pain ? Ocul Surf 2020 ;18:651–6.
[101] Toh CJL, Liu C, Lee IXY, et al. Clinical associations of corneal neuromas with ocular surface diseases. Neur Regen Res 2024 ;19:140–7.