

*République Algérienne démocratique et Populaire*

*Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*

*Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie*

*Département des Sciences Biologiques de l'Environnement*

*Spécialité Biologie Animale*

Réf : .....

**Mémoire de Fin de Cycle**

En vue de l'Obtention du Diplôme de Master en Biologie Animale

## **Thème**

*Utilisation de la vitamine E et la vitamine C pour la conservation  
de la cornée du lapin*

*Présenté par :*

**ZIDANE Loubna & MESSAOUDI Yousra**

*Soutenu le :30 Juin 2024*

**Le jury :**

<b>Mr IGUER-OUADA Amokrane</b>	Professeur	Président
<b>Mr KHELLOUF Allaeddine</b>	MAB	Encadreur
<b>Mme AMOKRANE/TALBI Asma</b>	MAA	Examinatrice

**Année universitaire : 2023/2024**

# Remerciement

*Toute gratitude est adressée à Dieu pour l'achèvement de ce parcours académique. Ses bénédictions et sa guidance ont permis de surmonter les défis et de réussir. C'est grâce à sa sagesse et à sa force que ce succès a été possible. Cette réussite est dédiée à sa bienveillance divine.*

*En cette occasion spéciale de la fin de nos études, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à Mr le promoteur **Mr KHELLOUF ALLAEDINE**, pour votre guidance et votre soutien inestimables. Votre expertise, votre patience et vos encouragements ont été des éléments clés dans notre réussite, Vous avez su nous inspirer et nous motiver à donner le meilleur de nous-mêmes.*

*Je tiens à exprimer ma plus profonde gratitude envers chacun des membres du jury qui a participé à l'évaluation de mon travail. À **Mr IGUER-OUADA Amokrane**, le président, je vous remercie pour votre leadership éclairé et votre direction experte tout au long de ce processus. À **Mme AMOKRANE/TALBI Asma**, l'examinatrice, je vous remercie pour votre attention minutieuse et votre précieuse contribution à l'analyse de mon travail.*

*Nous remercions toute l'équipe du laboratoire associé en Ecosystème Marins et Aquacoles de la faculté SNV, pour la disponibilité et l'aide apportée.*

*Je tiens à exprimer ma sincère gratitude à la clinique **IKZERA** à Bejaïa pour avoir généreusement mis à notre disposition ses installations et équipements, nous permettant ainsi d'examiner et de travailler en toute liberté. Un merci spécial au **Dr MAUCHE** pour sa générosité et sa confiance en nous, en nous offrant l'accès à son équipement médical de manière désintéressée. Son soutien inestimable a grandement facilité notre travail. Un remerciement chaleureux également au **Dr AMINE** pour son aide précieuse lors de l'examen de la cornée. Votre expertise et votre assistance ont été d'une valeur inestimable pour notre projet.*

*Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à toutes les personnes qui nous ont apporté leur aide et leur soutien tout au long de ce projet. Votre générosité, votre expertise et votre encouragement ont été essentiels à notre réussite. Merci du fond du cœur pour votre précieuse contribution.*

**« Grand merci à tous »**

# **DEDICACE**

*Je dédie ce travail à mes chers et respectueux parents :*

## **A Ma Mère :**

*À toi qui m'as donné la vie, aucune dédicace ne saurait exprimer pleinement mon respect, mon amour éternel et ma gratitude infinie pour les sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et mon bien-être. Ton soutien indéfectible, ta sagesse et ton amour inconditionnel ont été les piliers de ma réussite. Merci d'avoir cru en moi et de m'avoir accompagné à chaque étape de ce parcours. Ce travail est dédié à toi, avec toute mon affection et ma reconnaissance.*

## **A MON PERE :**

*Ce travail est dédié à mon père, celui qui a toujours été un exemple de dévouement, de persévérance et de sacrifice. Tout au long de ma vie, il m'a enseigné les principes et les valeurs qui m'ont donné la force et le courage de faire face aux défis. Son engagement et son amour indéfectible ont été une source constante d'inspiration. Merci, papa, pour tout ce que tu as fait pour moi et pour avoir toujours cru en mes capacités. Ce succès est autant le tien que le mien.*

*À mes frères **Mourad et Yazid**, à mes sœurs **Dalila, Kahina et Katiya**, qui m'ont soutenu inlassablement, ainsi qu'à mes cousines **Céline et Sintia**, et à mes cousins **Redha et Aziz**. À toute ma famille, en particulier ma tante **Ghania**, dont l'amour et le soutien ont été essentiels. À mes amis **Amine, Hani**, ...et à tous ceux qui me sont chers. À tous les membres des familles portant les noms "**Zidane**" et "**Douadi**".*

*Merci à chacun de vous pour votre présence, votre encouragement et votre soutien constant tout au long de ce parcours. Votre amour et vos paroles réconfortantes ont été une source inestimable de motivation et de force. Ce travail est dédié à vous tous, avec toute ma gratitude et mon affection.*

*À mon cher fiancé **Ferhat**, qui illumines chaque jour de ma vie de ton amour et de ta présence réconfortante. Merci d'être mon roc, mon soutien inébranlable et mon partenaire dans tous les défis. Ta gentillesse, ta tendresse et ton soutien inconditionnel sont une source constante de bonheur et d'inspiration. Ce travail est dédié à toi, en signe de gratitude et d'amour pour tout ce que tu es et tout ce que tu représentes dans ma vie.*

*À ma binôme **Yousra**, qui as été bien plus qu'une simple partenaire de travail, une véritable amie. Je te remercie sincèrement pour ton soutien indéfectible, ta patience et ta compréhension tout au long de ce parcours. Ta collaboration et ton encouragement ont été essentiels à notre réussite commune. Ce travail est autant le fruit de nos efforts conjoints que de notre amitié.*

*Loulou*

# **DEDICACE**

*Avec toute ma reconnaissance et mon amour, je dédie ce travail :*

## **À ma chère mère et à mon cher père,**

*Pour votre amour inconditionnel, votre soutien indéfectible et vos encouragements constants. Vous avez toujours cru en moi, même dans les moments les plus difficiles, et c'est grâce à vous que j'ai pu réaliser ce projet. Vous êtes mes piliers, mes guides et mes sources d'inspiration.*

## **À mes sœurs adorées, Fahima, Soraya et Fouzia,**

*Votre chaleur, vos encouragements et votre présence rassurante ont été essentiels tout au long de ce parcours. **Fouzia**, un merci spécial à toi, à ton mari **Abdenour**, et à vos deux merveilleux enfants, **Anis** et **Assil** Votre affection et votre soutien m'ont apporté une grande force et beaucoup de bonheur.*

## **À mes frères, Hocine et Massinissa,**

*Pour votre camaraderie, votre soutien inébranlable et vos conseils avisés. Vous avez été mes compagnons de route et vos encouragements m'ont permis de persévérer et de surmonter tous les obstacles.*

## **À mon grand-père bien-aimé,**

*Pour ta sagesse, tes histoires inspirantes et ton amour incommensurable. Tu as été une source de motivation et de courage pour moi, et je te suis infiniment reconnaissant. Ta présence constante et ton amour ont été une véritable bénédiction dans ma vie.*

## **À mes tantes et oncles,**

*Pour vos encouragements et votre soutien précieux. À mes cousines, **Safia** et **Naima**, Pour votre amitié, et à ma chère amie **Samira**, Votre présence m'a apporté beaucoup de joie et de réconfort.*

## **À tous ceux qui me sont chers, À tous les membres de la famille **Messaoudi**,**

*Pour votre amour inébranlable, votre soutien constant.*

*Chacun de vous a contribué d'une manière précieuse à l'accomplissement de ce projet, et je vous en suis profondément reconnaissant.*

*Avec toute ma gratitude et mon affection sincère, je vous dédie ce travail.*

## **À ma chère binôme **Loubna**,**

*Pour ta présence constante, ton soutien infaillible et ta collaboration exceptionnelle tout au long de ce chemin. Merci pour ton dévouement, ta patience et ta persévérance, qui ont été essentiels à la réussite de ce projet. Ton amitié et ta confiance m'ont donné la force et la motivation nécessaires pour avancer. Avec toute mon affection, ma gratitude et mon respect, je te dédie ce travail, symbole de notre partenariat et de notre réussite commune.*

*Yousra*

# Liste des abréviations

**µg** : Microgramme

**µm** : Micromètre

**ADN** : Acide désoxyribonucléique

**ATP** : Adénosine triphosphate

**BMO** : Banque mondiale d'organe

**CAT** : Catalase

**CCE** : Cellule endothéliale cornéenne

**Cs** : Cryosérum

**DMSO** : Diméthylsulfoxyde

**FECD** : Dystrophie cornéenne endothéliale de Fuchs

**GAGs** : Glycosaminoglycane

**GPX** : Glutathion peroxydase

**GSH** : Glutathion réduit

**H** : Heur

**HEPES** : Acide N-hydroxyéthylpipérazine-N-éthane-sulfonique

**KHz** : Kilohertz

**Mbar** : Millibar

**MDA** : Malondialdéhyde

**M-K** : **McC**arey-Kaufman

**mL**: Millilitre

**Mm** : Millimètre

**mmHg** : Millimètre de mercure

**MOsm/Kg** : Milliosmolarité par Kilogramme

**Nm** : Nanomètre

**PEG** : Polyéthylène glycol

**Ph** : Potentiel hydro génique

**PRK** : Photo-kératocomieRéfractife

**ROS (ERO)** : Espèces Réactives de l'Oxygène

**SOD** : Superoxyde dismutase

**SVCT** : Sodium vitamine C transport

**TBA** : Acide thiobarbiturique

**TBARS** : Substance réactive à l'acide thiobarbiturique

**TCA** : Acide trichloracétique

**Tr/min** : Tours par minute

**UV** : Ultraviolet

**Vit C** : Vitamine C

**Vit E** : Vitamine E

# Liste des figures

<b>Figure 1:</b> paupière inférieur & paupière supérieure (Photo : Arie Van Praag).....	4
<b>Figure 2:</b> coupe schématique de l'œil d'un lapin( <a href="https://veterinairelescorfolands.com/#!generalite_anatomie-de-l-oeil">https://veterinairelescorfolands.com/#!generalite_anatomie-de-l-oeil</a> ) .....	5
<b>Figure 3:</b> Schéma du système lacrymal ( <a href="https://larmealoeil.wikeo.net">https://larmealoeil.wikeo.net</a> ) .....	6
<b>Figure 4:</b> la structure de la cornée (Par Gary Heiting cornée).....	8
<b>Figure 5:</b> Schéma représentant l'épithélium cornéen (Amatu et al., 2023) .....	9
<b>Figure 6:</b> histologie de la cornée chez l'homme et le lapin (MARIÈVE GIROUX, 2004) ...	10
<b>Figure 7:</b> Microstructure du stroma cornéen observé par une microscopie électronique à balayage. ....	12
<b>Figure 8:</b> L'observation de la membrane de Descemet chez le lapin adulte au microscope électronique de transmission .....	13
<b>Figure 9:</b> Couche endothélium cornéen, cellule endothéliale. (Photo : endothélium cornéen).....	14
<b>Figure 10:</b> le processus de vision.....	15
<b>Figure 11:</b> Kératite interstitielle opacité stromale centrale.....	23
<b>Figure 12:</b> image représente le sommet du cône d'œil normale et œil avec kératocône	24
<b>Figure 13:</b> Schéma d'une cornée normale (gauche) et d'une dystrophie de Fuchs décompensée avec un œdème de cornée (droite). (« Combined Cataract/DSEK/DMEK », 2017) .....	26
<b>Figure 14:</b> la lampe a fente .....	26
<b>Figure 15:</b> la topographie.....	27
<b>Figure 16:</b> la pachymétrie.....	27
<b>Figure 17:</b> le microscope spéculaire.....	28
<b>Figure 18:</b> Formule chimique de la Molécule d'alpha tocophérol (vitamine E). ....	35
<b>Figure 19:</b> Structure chimique de la vitamine C (acide ascorbique C6H8O6).....	36
<b>Figure 20:</b> la synergie entre vitamine E et vitamine C.....	36
<b>Figure 21:</b> la structure chimique du polyéthylène glycol (PEG).....	37
<b>Figure 22:</b> Tête frais d'un lapin (photo personnelle).....	39
<b>Figure 23:</b> techniques de prélèvement de la cornée (photos personnelle).....	41
<b>Figure 24:</b> techniques de prélèvement de globe oculaire (photos personnelle).....	42
<b>Figure 25:</b> complexation PEG-vitE par rotavapeur (photo personnelle) .....	43
<b>Figure 26:</b> Mesure des réactifs nécessaire pour le milieu de base (photos personnelles) .....	43
<b>Figure 27:</b> Prendre la valeur du pH.....	44
<b>Figure 28:</b> conservation des globes oculaire (A) et des cornées (B) dans les milieux de conservation avec et sans traitement.....	45
<b>Figure 29:</b> test microscopique de la cornée avec microscopie spéculaire.....	46
<b>Figure 30:</b> les différentes étapes du test TBARS pour l'évaluation de la peroxydation lipidique de la cornée.....	48
<b>Figure 31:</b> Les étapes de la confection des coupes histologique de la cornée.....	50

<b>Figure 32:</b> L'observation macroscopique de l'opacité de la cornée après la conservation dans deux milieux différents.....	52
<b>Figure 33:</b> examen de cornée a la lampe à fente.....	53
<b>Figure 34:</b> Epaisseur de la cornée de lapin dans les deux milieux, celui du contrôle et du traitement PEG-VitE+VitC.....	54
<b>Figure 35:</b> examen de la corné avant la conservation avec le microscope spéculaire.....	55
<b>Figure 36:</b> Examen de la cornée avec le microscope spéculaire après conservation de 04 jours à 04°C.....	55
<b>Figure 37:</b> coupe histologique d'une cornée du lapin après la conservation dans deux milieux déférents : milieu de base (A et B), milieu du traitement PEG-VitE+VitC (C et D). .....	56
<b>Figure 38:</b> Concentration des MDA de la cornée de lapin dans les deux milieux milieu de base et PEG-VitE+VitC après 04 jours de conservation à 04°C.....	57

# Liste des tableaux

<b>Tableau I :</b> comparaison entre les caractéristiques de la cornée humaine et de celle du lapin. .	17
<b>Tableau II:</b> l'échelle d'opacité.....	45
<b>Tableau III:</b> Le degré d'opacité de la cornée après la conservation. ....	52

# Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

**Introduction ..... 1**

**Chapitre I : anatomie de la cornée chez le lapin**

**1. Anatomie de l'œil : ..... 4**

1.1. Les paupières : ..... 4

1.2. Le globe oculaire : ..... 5

1.3. Film lacrymal : ..... 6

**2. L'anatomie de la cornée : ..... 7**

2.1. L'épithélium : ..... 8

2.2. Membrane de Bowman : ..... 9

2.3. Stroma : ..... 11

2.4. Membrane de Descemet : ..... 12

2.5. Endothélium : ..... 13

**3. Physiologie de la cornée : ..... 14**

3.1. Le pouvoir optique : ..... 14

3.2. La transparence : ..... 16

**4. La différence entre la cornée d'un lapin et celle de l'humaine : ..... 17**

**5. La greffe de la cornée : ..... 18**

5.1. Historique : ..... 18

5.2. Techniques chirurgicales et indication des greffes de cornée : ..... 18

5.3. Conservation des greffons cornéens : ..... 18

5.3.1. Techniques de conservation des greffons cornéens : ..... 19

6.3.1.1. Conservation hypothermique en chambre humide : ..... 19

6.3.1.2. Conservation cornéenne avec milieu de conservation : ..... 19

6.3.1.3. Conservation cornéenne par organoculture : ..... 19

6.3.1.4. La conservation de la cornée à long terme : cryoconservation et vitrification : .. 20

**7. La composition des milieux de conservation : ..... 21**

**Chapitre II : Les maladies cornéennes**

**1. Les maladies de la cornée : ..... 23**

1.1.	Les kératites interstitielles :	23
1.2.	Le kératocône :	24
1.3.	Dystrophie de Fuchs :	25
<b>2.</b>	<b>Examinassions de la cornée :</b>	<b>26</b>
2.1.	La lampe a fente :	26
2.2.	La topographie cornéenne :	27
2.3.	Pachymétrie :	27
2.4.	Microscope spéculaire :	28

### Chapitre III : Effet du stress oxydatif sur la cornée

<b>1.</b>	<b>Mécanismes du stress oxydatif sur la cornée :</b>	<b>30</b>
1.1.	Définition :	30
1.2.	Implication physiologique des radicaux libre :	30
1.3.	Les facteurs déclencheurs du stress oxydatif et types de ROS :	30
1.3.1.	L'anion superoxyde $O_2^-$ :	31
1.3.2.	Le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) :	31
1.3.3.	Le radical hydroxyle (HO) :	32
1.4.	Les implications du stress oxydatif dans les dommages cellulaires :	32
1.4.1.	La peroxydation lipidique des membranes :	32
1.4.2.	La modification oxydative au niveau des protéines :	32
1.4.3.	La fragmentation d'ADN :	33
<b>2.</b>	<b>Le système antioxydant :</b>	<b>33</b>
2.1.	Antioxydant enzymatique :	33
2.1.1.	Le superoxyde dismutase (SOD) :	33
2.1.2.	La catalase :	33
2.1.3.	Le glutathion peroxydase :	34
2.2.	Antioxydant non enzymatique :	34
2.2.1.	Vitamine E ( $\alpha$ -tocophérol) :	34
2.2.2.	Vitamine C (Acide ascorbique) :	35
2.3.	La synergie entre la vitamine E et la vitamine C :	36
<b>3.</b>	<b>Solubilisation de la vitamine E par le polyéthylène glycol « PEG » :</b>	<b>37</b>

### Matériel et méthodes

<b>1.</b>	<b>Collecte du la cornée :</b>	<b>39</b>
1.1.	Matériel de collecte :	39

1.1.1.	Matériel biologique :	39
1.1.2.	Matériel technique :	39
<b>2.</b>	<b>Techniques de prélèvements de la cornée :</b>	<b>40</b>
2.1.	Prélèvement de la cornée (kératectomie) (Fig. 23) :	40
2.3.	Prélèvement de globe oculaire (inoculation) : (Fig. 24) :	41
<b>3.</b>	<b>Préparation de la dispersion vitamine E– PolyEthylène Glycol (Fig. 25) :</b>	<b>42</b>
<b>4.</b>	<b>Préparation des milieux de conservation :</b>	<b>43</b>
4.1.	Préparation de milieu de base :	43
4.2.	Préparation du milieu de traitements (milieu de base + vitamine E-PEG + vitamine C) :	44
<b>5.</b>	<b>La conservation de la cornée :</b>	<b>45</b>
<b>6.</b>	<b>Examen de la cornée :</b>	<b>45</b>
6.1.	Examen macroscopique :	45
6.2.	Examens cliniques :	45
<b>7.</b>	<b>La peroxydation lipidique :</b>	<b>46</b>
7.1.	La préparation de la solution TTH :	46
7.2.	Méthode de dosage des malondialdéhydes :	46
<b>8.</b>	<b>Coupe histologique :</b>	<b>49</b>
<b>Résultats et Discussion</b>		
	<b>Résultats :</b>	<b>52</b>
<b>1.</b>	<b>Examen macroscopique :</b>	<b>52</b>
<b>2.</b>	<b>La lampe a fente :</b>	<b>53</b>
<b>3.</b>	<b>Pachymétrie :</b>	<b>54</b>
<b>4.</b>	<b>Microscopie spéculaire :</b>	<b>55</b>
<b>5.</b>	<b>La coupe histologique :</b>	<b>56</b>
<b>6.</b>	<b>Stress oxydatif :</b>	<b>57</b>
	<b>Discussions :</b>	<b>58</b>
	<b>Conclusion :</b>	<b>60</b>
	<b>Référence bibliographique :</b>	<b>63</b>
	<b>Annexes :</b>	<b>72</b>
	<b>Résumé</b>	



# **Introduction**

### **Introduction :**

La cornée est un tissu avasculaire et transparent qui forme la fenêtre du globe oculaire. Entourée par la sclère, reconnaissable à sa couleur blanche, la cornée se distingue comme l'une des structures les plus densément innervées et sensibles de l'organisme. La cornée est constituée de cinq couches : l'épithélium, la couche de Bowman, le stroma, la membrane de Descemet et l'endothélium. Elle est riche en terminaisons nerveuses libres, ce qui lui confère une sensibilité exceptionnelle aux stimuli externes, tels que les corps étrangers. (Yang et al., 2018).

La kératoplastie, ou greffe de cornée, consiste à remplacer une portion endommagée de la cornée par une cornée saine provenant d'un donneur décédé. Selon les données de la Banque mondiale d'organes (BMO), environ 185 000 kératoplasties sont réalisées annuellement à l'échelle mondiale, mais ces chiffres peuvent fluctuer d'une année à l'autre (Gain et al., 2016). En Algérie, le nombre de greffes de cornée varie chaque année. Par exemple, en 2018, environ 416 greffes de cornée ont été réalisées, tandis qu'en 2017, ce nombre était de 217, et en 2016, 352 greffes ont été effectuées (Amrouni, 2019). La greffe de cornée revêt une importance capitale car elle permet de restaurer la vision et de prévenir la cécité chez les personnes atteintes de maladies cornéennes sévères telles que le kératocône, les cicatrices cornéennes ou les affections de la surface oculaire (Whitcher et al., 2001).

Il est crucial de préserver la viabilité des couches cellulaires de la cornée pour assurer le succès de la plupart des greffes de cornée. Une conservation efficace de la viabilité des cornées simplifie la gestion et la fourniture de tissus pour les transplantations, ce qui augmente les chances de succès des greffes en garantissant la sécurité et l'efficacité des greffons (Armitage, 2008). Le stockage hypothermique à 2-8 °C est largement utilisé dans la conservation du greffon (Armitage, 2011). Cependant, la conservation à des températures basses induit une augmentation progressive de la perte cellulaire endothéliale au fil du temps. En outre, cette méthode de conservation conduit à des altérations morphologiques au niveau cellulaire, à un œdème cornéen accru, ainsi qu'à des modifications du pléomorphisme et du polymégathisme endothélial. Cette température relativement élevée par rapport à la cryoconservation favorise également la génération de radicaux libres et de composés oxydants. Ces entités réactives ont le potentiel de causer des dommages aux cellules endothéliales, perturbant ainsi leur fonctionnalité et contribuant ainsi à la perte cellulaire. Il a été démontré que les radicaux libres d'oxygène peuvent altérer le fonctionnement du mécanisme de la pompe endothéliale, entraînant un gonflement de la cornée, atténuant donc la transparence de la cornée (Lux-neuwirth & Millar, 1990).

La vitamine E et la vitamine C, connues également sous le nom de  $\alpha$ -tocophérol et acide ascorbique respectivement, sont des antioxydants très puissants. Elles interviennent dans différents processus métaboliques et jouent un rôle essentiel contre les dommages causés par les radicaux libres. Cependant, des questions subsistent quant

## Introduction

à leur efficacité et à leurs avantages potentiels dans la conservation de la cornée de lapin à basse température.

Notre objectif est donc d'explorer les effets des vitamines E et C dans la conservation de la cornée de lapin à 04°C, en se basant sur les paramètres de la viabilité et la structure des cellules endothéliales, la transparence et l'épaisseur de la cornée, ainsi que le statut oxydatif des cellules cornéennes.

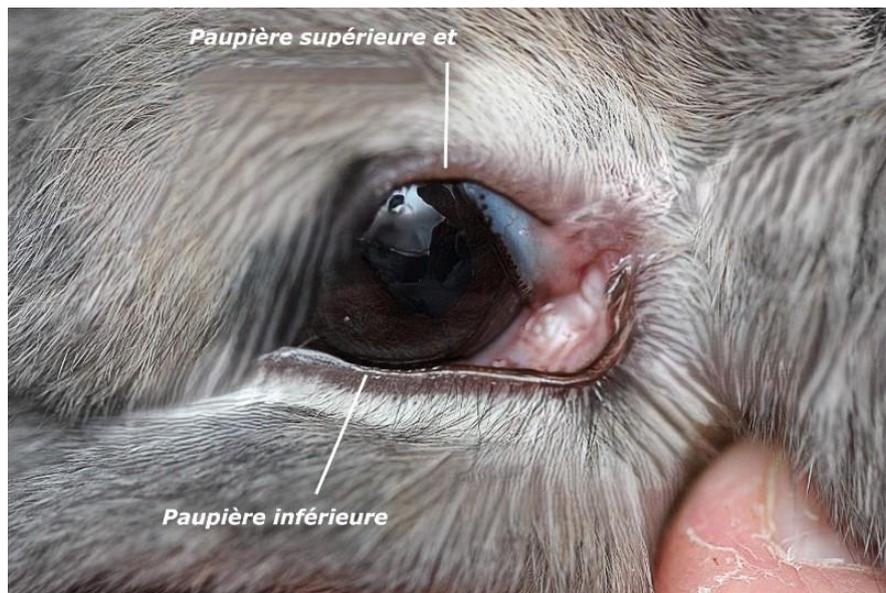
# **Chapitre I : anatomie de la cornée chez le lapin**

## 1. Anatomie de l'œil :

### 1.1. Les paupières :

Les yeux du lapin se trouvent sur le côté de la face, ce qui lui permet de voir avec un angle de 360°. Cette physiologie est propre aux animaux de proie et leur permet de détecter tout mouvement ou déplacement de prédateur pendant le crépuscule et la nuit. Les yeux sont grands et élevés. La surface exposée à l'extérieur constitue donc près de 25 % de la surface de l'œil dont principalement la cornée (Esther van, 2021).

Le lapereau ouvre ses paupières à l'âge de dix jours. La fente palpébrale est large chez le lapin et l'œil est latéral. De longs cils dont les follicules sont profonds et sont présents sur la moitié latérale de la paupière supérieure et sur la moitié médiale de la paupière inférieure (Fig. 1). Il y a entre 40 et 50 glandes du tarse<sup>1</sup> dans chaque paupière(Philippe, 2002).



**Figure 1:**paupière inférieur & paupière supérieure (Photo : Arie Van Praag)

---

<sup>1</sup>**La glande de tarse :** est une petite glande sébacée située sur le bord libre de la paupière, près de la racine des cils. Elle sécrète un liquide huileux qui aide à lubrifier et à protéger l'œil en empêchant l'évaporation excessive des larmes.

## 1.2. Le globe oculaire :

Le lapin possède un globe oculaire d'une forme sphérique dont le diamètre antéropostérieur se situe entre 16 et 17 mm. Les traumatismes sont particulièrement fréquents dans ce globe, en particulier chez le lapin nain, qui possède de grands yeux évidents(Philippe, 2002).

La paroi du globe oculaire du lapin est constituée de trois tuniques,

- La tunique fibreuse, constituée de la sclérotique blanche et de la cornée, maintient la forme de l'œil. Elle est équipée de multiples ouvertures par lesquelles les artères, les veines, les nerfs et la fibre optique passent.

- La structure pigmentée de l'iris, du corps ciliaire et de la choroïde est appelée la tunique uvéale ou uvée.

- La rétine, constituant la tunique vasculaire de l'œil, transforme la stimulation lumineuse en influx nerveux (Fig. 2)(Esther van, 2021).

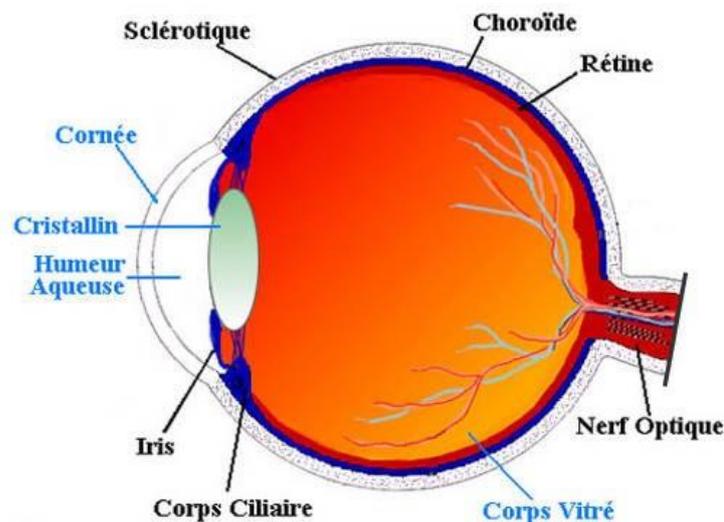


Figure 2: coupe schématique de l'œil d'un lapin([https://veterinairelescorfolands.com/#!generalite\\_anatomie-de-l-oeil](https://veterinairelescorfolands.com/#!generalite_anatomie-de-l-oeil))

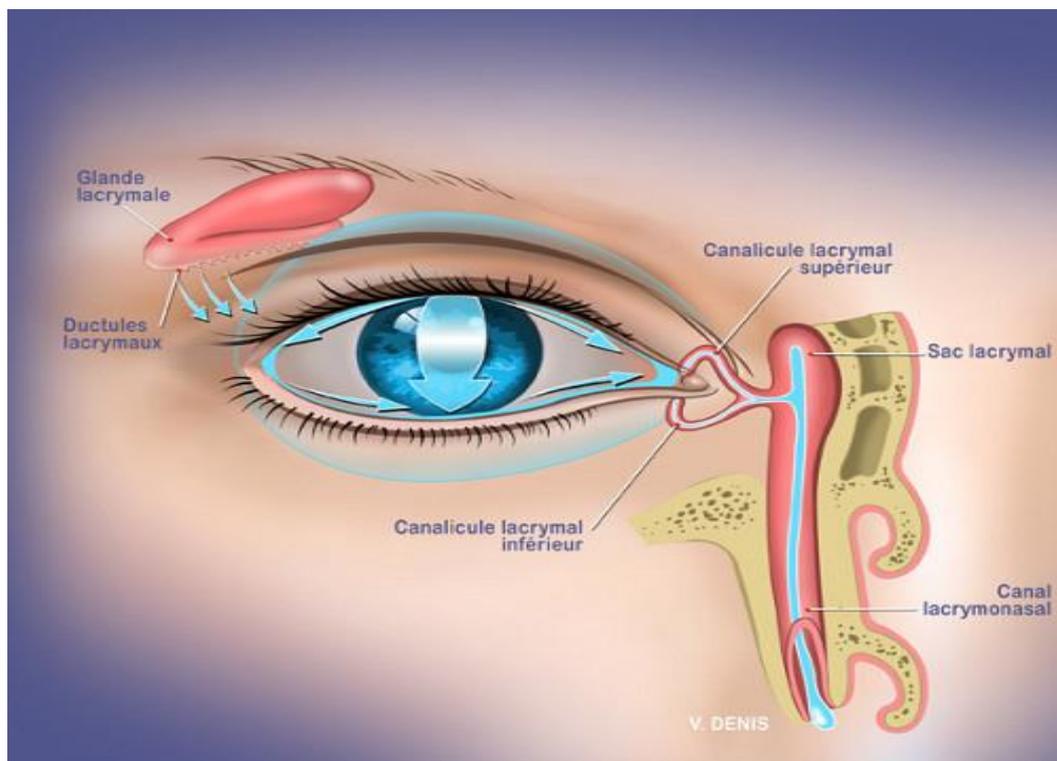
### 1.3. Film lacrymal :

Le film lacrymal, se trouve à la surface de la cornée et joue de nombreux rôles essentiels au bon fonctionnement et à la santé de l'œil. Il remplit différentes fonctions, à savoir :

- L'oxygénation des cellules épithéliales et du stroma.
- Une protection immunitaire qui joue un rôle antimicrobien
- Le nettoyage et l'élimination des corps étrangers et des cellules desquamées de la cornée.

Le système lacrymal comprend les appendices de l'œil qui produisent et évacuent le film lacrymal. Le cycle de vie de ce dernier comprend plusieurs étapes (Fig. 3) :

- La sécrétion par les glandes lacrymales ;
- La méthode de distribution et d'étalement adéquate par le clignement des paupières,
- l'élimination par évaporation (10 %) ou drainage par le canal lacrymo-nasal (90 %) (Maëlis, 2021).



**Figure 3:** Schéma du système lacrymal (<https://larmealoeil.wikeo.net>)

## 2. L'anatomie de la cornée :

La cornée est un tissu avasculaire transparent, convexe, plus mince au centre par rapport aux périphéries. Elle constitue la partie antérieure de la paroi du globe oculaire, en contact direct avec l'extérieur par l'intermédiaire du film lacrymale tandis que la partie postérieure de la cornée est immergée dans l'eau de la chambre antérieure de l'œil appelé l'humeur aqueuse (**Léah Duclos, 2023**).

La structure particulière de la cornée redirige les rayons de lumière, ces rayons seront finement focalisés à travers le cristallin qui convergent sur la rétine, où elle provoque une impulsion nerveuse tout au long du nerf optique jusqu'au cerveau (**Shoham et al., 2008**).

La cornée est entourée par la sclère qui est la structure blanche de l'œil. Le limbe, région de transition entre la cornée et la sclère, est caractérisé par une vascularisation importante et est un site de production des cellules souches épithéliales.

Vu son emplacement, la cornée est exposée à plusieurs risques, dont les agressions extérieures accidentelles (chimiques, mécaniques, infectieuses, physiques) ou chirurgicales (photo-kératectomie réfractive)<sup>2</sup> peuvent modifier la transparence de la cornée et la régularité de la surface cornéoconjonctivale<sup>3</sup> (**Chiambaretta et al., 2004**).

La cornée est constituée de plusieurs éléments tels que des protéines (principalement du collagène), des protéoglycanes, des enzymes, des ions, du glucose, des métabolites, mais essentiellement d'eau à 80% (**Maëlis, 2021**).

Une coupe histologique de la cornée de l'avant vers l'arrière présente les éléments suivants (Fig. 4) :

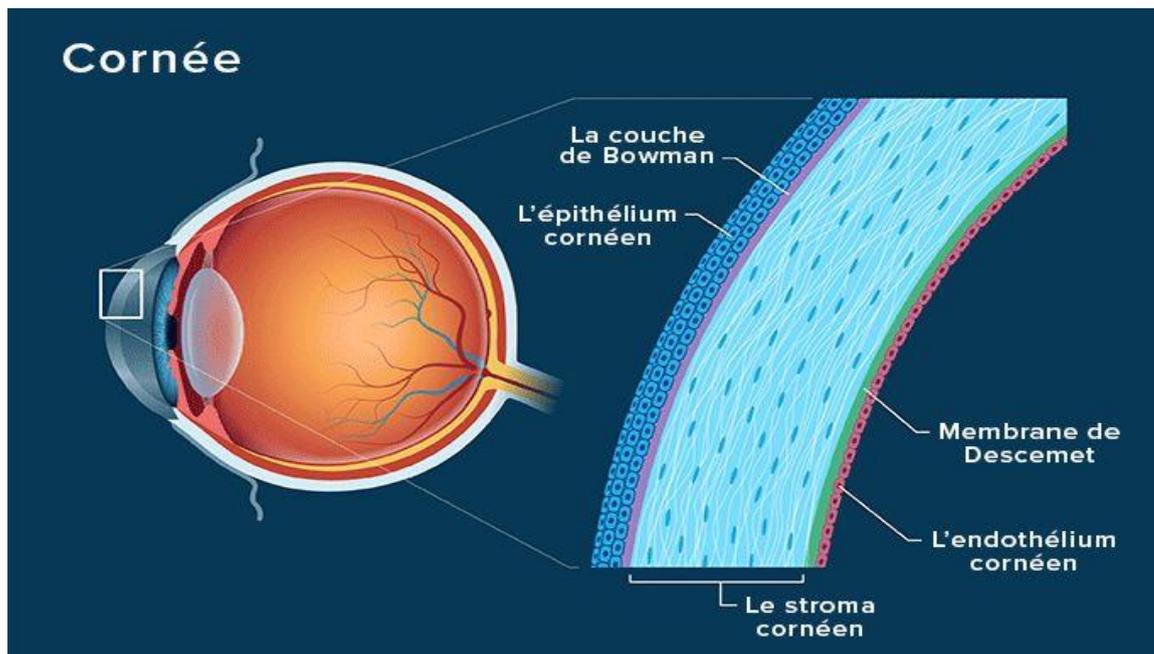
- L'épithélium
- La membrane de Bowman,
- Le stroma
- La membrane de Descemet.

L'endothélium

---

<sup>2</sup>**La photo-kératectomie réfractive (PRK)** : est une intervention chirurgicale qui permet de rectifier les différences de réfraction de l'œil comme la myopie, l'hypermétropie et l'astigmatisme.

<sup>3</sup>**La cornéoconjonctivite** : est une inflammation simultanée de la cornée et de la conjonctive de l'œil, souvent causée par des infections, des allergies ou d'autres irritations.



**Figure 4:** la structure de la cornée (Par Gary Heiting cornée)

## 2.1. L'épithélium :

L'épithélium cornéen est le premier niveau de cellules de la cornée. Chez le lapin l'épithélium est d'une épaisseur de 30 à 40  $\mu\text{m}$  constitué de quatre à six couches de cellules épithéliales stratifiées non kératinisées<sup>4</sup>, maintenu ensemble par le complexe de jonctions serrées<sup>5</sup>, cela aide à empêcher la pénétration du film lacrymal ou la pénétration d'agents pathogènes dans les couches plus profondes de la cornée. On distingue trois catégories de cellules en fonction de leur position dans l'épithélium, les cellules superficielles, suprabasales et basales (Fig. 5)(Pascale, 2018).

Les deux ou trois premières couches constituent les cellules superficielles. La structure de ces cellules est aplatie, de forme polygonale et elles présentent de petites prolongations cellulaires, appelées microvillosités, à leur surface finale(Jirsova, 2017).

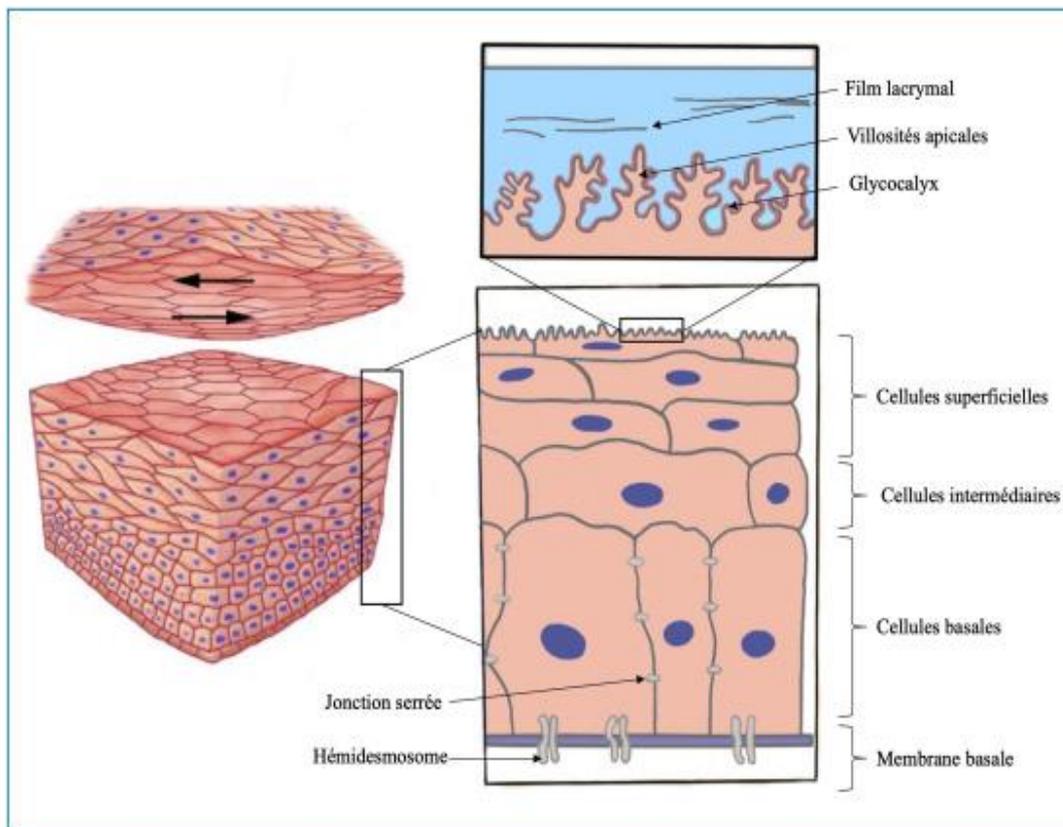
---

<sup>4</sup>**Les tissus épithéliaux non kératinisés :** sont ceux qui ne sont pas étiqetinisés, ne s'attachent pas à la surface de la peau ou des muqueuses et sont souvent localisés dans des zones où une surface lisse et humide.

<sup>5</sup>**Les jonctions serrées :** sont essentielles pour assurer l'intégrité et la polarité des tissus épithéliaux. Elles bloquent le passage non sélectif des substances tout en favorisant le transport sélectif des molécules et des ions.

Deux à trois couches de cellules suprabasales, également connues sous le nom de cellules ailées, se trouvent sous les cellules épithéliales superficielles. Ces cellules, moins aplaties que les cellules superficielles. La partie la plus profonde de l'épithélium cornéen est constituée d'une seule couche de cellules basales cuboïdes.

Les cellules basales ont une fonction mitotique. Ces cellules sont d'ailleurs à l'origine des cellules suprabasales et superficielles. Les cellules basales sont connectées à la membrane et au stroma sous-jacent grâce aux hémidesmosomes<sup>6</sup>(Pascale, 2018).



**Figure 5:** Schéma représentant l'épithélium cornéen (Amatu et al., 2023)

## 2.2. Membrane de Bowman :

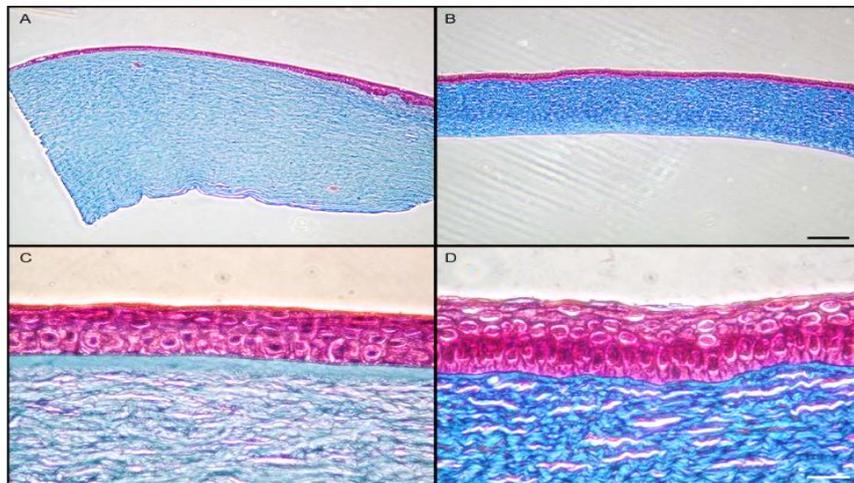
La couche de Bowman est une couche de collagène spécifique qui ne se répare pas après une blessure. Dépourvue de cellules, sauf les axones nerveux qui s'étendent vers l'épithélium. En microscopie électronique, elle se présente sous la forme d'un composite feutré de fibres de collagène strié<sup>7</sup>, orientées de façon aléatoire et dispersées dans une

<sup>6</sup>**Hémidesmosomes :** sont des structures cellulaires situées en jonction épithéliale, qui jouent le rôle de points d'ancrage entre les épithéliales et la membrane basale, ce qui renforce l'adhésion des épithéliales à la membrane basale.

<sup>7</sup>**Composite feutré de fibres de collagène strié :** un tissu où les fibres de collagène se disposent de façon dense et homogène, avec une structure ordonnée ou striée.

matrice amorphe<sup>8</sup>. La face antérieure de la couche de Bowman est entourée de la lame dense de la membrane basale de l'épithélium, tandis que la face postérieure de la couche de Bowman est entourée des fibres de collagène striées du stroma sous-jacent. **(Gandhi & Jain, 2015).**

La couche de Bowman ne joue pas un rôle important dans la stabilité mécanique de la cornée. C'est une couche acellulaire du stroma antérieur trouvée dans la cornée des humains, de la plupart des autres primates, des poulets et de certaines autres espèces. Cependant, de nombreuses autres espèces, notamment le chien, le loup, le chat, le tigre et le lion, n'ont pas de couche de Bowman **(Wilson, 2023)**. Chez le lapin (South Kill", Milton, New Zealand), la présence ou l'absence de la membrane de Bowman dans la cornée est une question controversée, tandis que certaines recherches affirment sa présence et sa visibilité, d'autres affirment son absence **(Subasinghe et al., 2021), (MARIÈVE GIROUX, 2004 ; Wilson, 2023)**.



**Figure 6:** histologie de la cornée chez l'homme et le lapin **(MARIÈVE GIROUX, 2004)**

- La cornée humaine (A et élargie en C) est plus épaisse et plus rigide que la cornée de lapin (B élargie en D). Sur les agrandissements, la membrane de Bowman est visible sous l'épithélium de la cornée humaine (C) (flèche), et absente de la cornée de lapin (D) **(MARIÈVE GIROUX, 2004)**.

---

<sup>8</sup>**Une matrice amorphe** : Il s'agit de l'élément gélatineux ou gelé qui occupe l'espace entre les cellules et assure un soutien structural aux cellules qui composent cette membrane.

### 2.3. Stroma :

Le stroma est constitué d'une matrice extracellulaire, de fibrocytes ou kératocytes et de fibres nerveuses, représentant 90 % de l'épaisseur de la cornée. Les cellules ne représentent que 1 à 2% du total. Les molécules de collagène du stroma se structurent en fibres qui se superposent entre 250 et 300 lamelles. Les lamelles s'étendent de limbe en limbe sans interruption(**Maurice, 1957**).

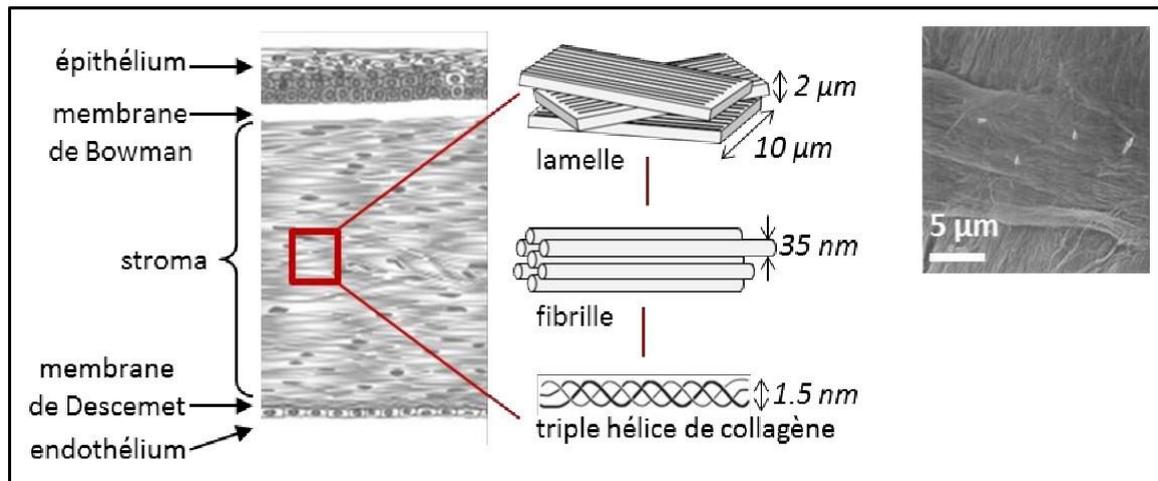
Environ 60 % des fibres sont orientées orthogonalement<sup>9</sup> au centre de la cornée et 40 % obliquement (Fig. 7). À la périphérie cornéenne, ces directions orthogonales préférentielles sont encore plus marquées et diffèrent également du stroma antérieur (lamelles très enlacées) au stroma postérieur (lamelle plus lâche) (**Anne-Sophie, 2018**).

Dans le domaine microscopique, le diamètre des fibres de collagène (de 22,5 à 35 nm) et l'espacement des fibrilles de collagène entre elles sont régulières (57 nm en Centro-cornéen et en moyenne jusqu'à 67 nm au niveau limbique), ce qui garantit la transparence cornéenne.

Les kératocytes se présentent sous forme de feuillets denses entre les lamelles de collagène, ce qui leur permet de produire des protéines structurales et régulatrices. La cornée possède la plupart de ses caractéristiques (solidité, stabilité de forme et transparence) grâce au stroma, qui est responsable de ses diverses propriétés anatomiques, biochimiques et biomécaniques (**Anne-Sophie, 2018**).

---

<sup>9</sup>**Orthogonalement** : indiquent que les fibres sont positionnées à un angle de 90 degrés par rapport au centre cornéen, ce qui suggère qu'elles sont alignées perpendiculairement ou transversalement.



**Figure 7:** Microstructure du stroma cornéen observé par une microscopie électronique à balayage.

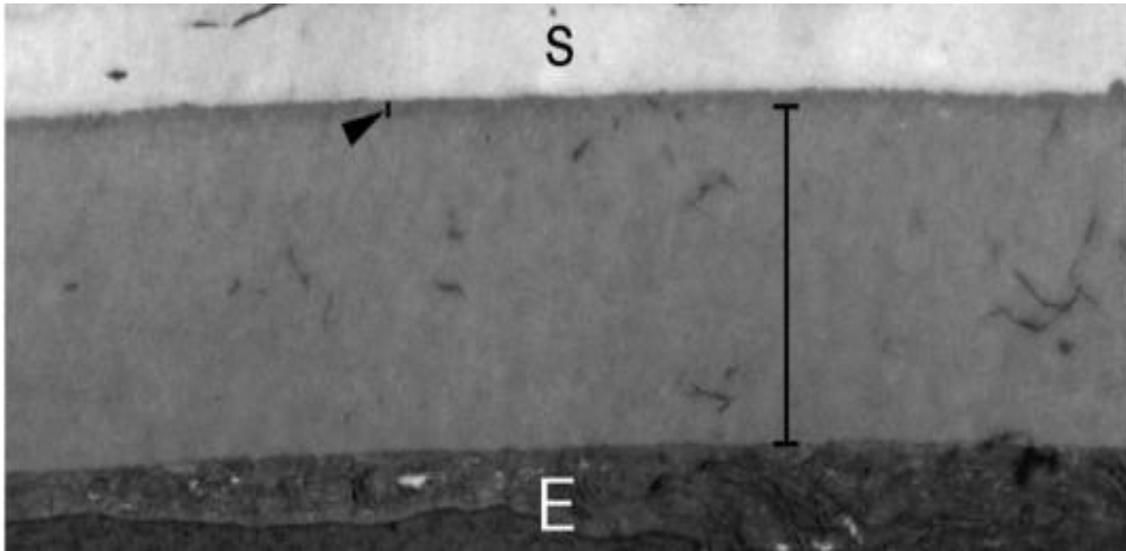
#### 2.4. Membrane de Descemet :

La membrane de Descemet est mince et lisse au centre de la cornée, mais devient plus épaisse et présente des irrégularités en périphérie (Anne-Sophie, 2018).

Cette membrane est composée de deux couches qui présentent des structures différentes. Les fibrilles de collagène forment la couche antérieure en formant un treillis avec des bandes à des intervalles de 110 nm. La présence de cette couche facilite la fixation de la membrane Descemet au stroma. En microscopie électronique, la couche postérieure sans bande est granuleuse (Fig. 8). Au fil du temps, cette couche augmente, contrairement à la couche précédente qui cesse de se développer à la naissance (Méthot, 2023).

La membrane de Descemet contient des éléments collagéniques et d'autres non collagéniques, dont les quatre principaux sont : les laminines, le collagène de type IV, les nidogènes et la perlécane.

La membrane de Descemet a un rôle crucial dans la construction et l'équilibre de la cornée, ainsi que dans la préservation de sa transparence. L'endothélium est fixé par la membrane de Descemet à la cornée, tout en autorisant en même temps l'entrée de nutriments et de macromolécules dans le stroma cornéen. (De Oliveira & Wilson, 2020).



**Figure 8:** L'observation de la membrane de Descemet chez le lapin adulte au microscope électronique de transmission

\* montre une couche antérieure striée, avec une petite accolade verticale et un triangle fléché. On remarque également une couche postérieure plus épaisse et non striée, représentée par une accolade très élevée. La lettre "S" correspond au stroma, tandis que la lettre "E" représente une cellule endothéliale (De Oliveira & Wilson, 2020).

## 2.5. Endothélium :

Sur la face interne de la cornée, on trouve l'endothélium qui est composé d'une seule assise cellulaire formant un pavé de cellules aplaties de forme hexagonale avec une épaisseur de 5 $\mu$ m (Fig. 9), (MARIÈVE GIROUX, 2004).

Elles présentent des microvillosités et des pores à leur surface, tandis que leurs parois latérales s'entrecroisent. De plus, elles sont riches en organites tels que les mitochondries, un noyau bien développé, différentes formes de jonctions et des ribosomes, ce qui témoigne de leur activité métabolique intense(Léah Duclos, 2023).

L'endothélium est chargé de maintenir le niveau d'hydratation de la cornée et donc sa transparence, car le niveau d'hydratation de la cornée maintient la distance entre les fibres de collagène constante. En l'absence d'endothélium, l'eau de l'humeur aqueuse pénètre dans la cornée et entraîne un œdème du stroma. Cette protection mécanique est assurée par des pompes Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> et à l'anhydrase carbonique, Ce dispositif de transport génère un gradient qui facilite le transfert de l'eau du stroma par osmose.(MARIÈVE GIROUX, 2004).

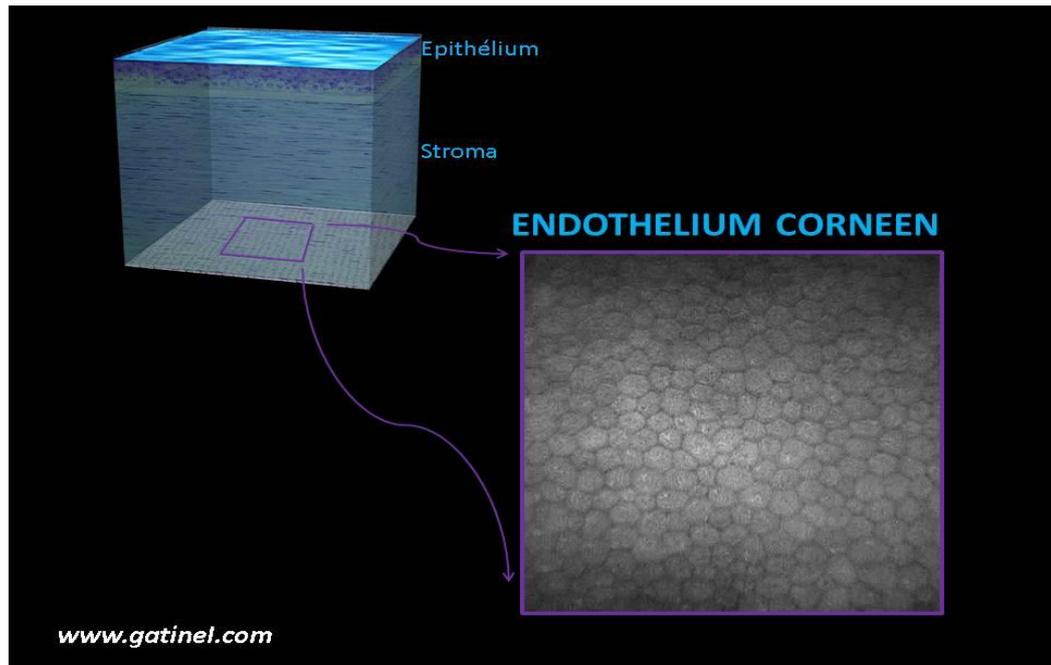


Figure 9: Couche endothélium cornéen, cellule endothéliale. (Photo : endothélium cornéen)

### 3. Physiologie de la cornée :

#### 3.1. Le pouvoir optique :

La vision est un système complexe qui peut être très simplement comparé à un appareil photo. La pupille située au centre de l'œil (orifice noir) agit comme un diaphragme (myosis et mydriase) et le cristallin effectue la mise au point grâce à son élasticité de manière similaire à celle d'un objectif d'appareil photo. Les images sont projetées sur la pellicule photo, tandis que pour l'œil, c'est la rétine, qui se trouve au fond de l'œil (gilles, 2001).

Afin de percevoir, l'œil transmet au cerveau les données lumineuses qu'il reçoit. En effet, la lumière reçue est convertie par la rétine en impulsions électriques que le cerveau transforme en images : c'est le processus de vision (Fig. 10). Le cerveau est donc responsable de la vision, tandis que l'œil et ses systèmes annexes sont des organes intermédiaires qui permettent d'atteindre le résultat final : voir.

Lorsque les longueurs d'onde sont comprises entre 300 et 2500 nm, la cornée transmet plus de 85% de la lumière incidente. Une partie importante de la Lumière Incidente est perdue, principalement en raison d'un phénomène de diffusion, tandis qu'une autre partie est réfléchi, ce qui permet d'aborder les études en microscopie spécifique (Remington, 2012).

La cornée représente les deux niveaux du pouvoir réfractif de l'œil, tandis que le cristallin représente le reste. La réfraction de la cornée est influencée par son rayon de courbure et par l'indice réfractif des différents milieux que la lumière traverse. La

cornée a un indice de réfraction de 1,377. En moyenne, les couches antérieure et postérieure ont des pouvoirs réfractifs de 48,6 dioptries et de -6,8 dioptries respectivement.(Akram, 2012)

La réfraction de la cornée est la faculté de dévier la lumière qui la traverse. Sa courbure a une influence sur cette capacité. Une courbure plus marquée, ou une cornée plus convexe, aura une capacité de focalisation accrue. On peut superposer le centre optique de la cornée au centre de l'image pupillaire à travers la cornée. La partie la plus bombée de la cornée est le vertex, qui correspond habituellement au centre optique.(gilles, 2001)

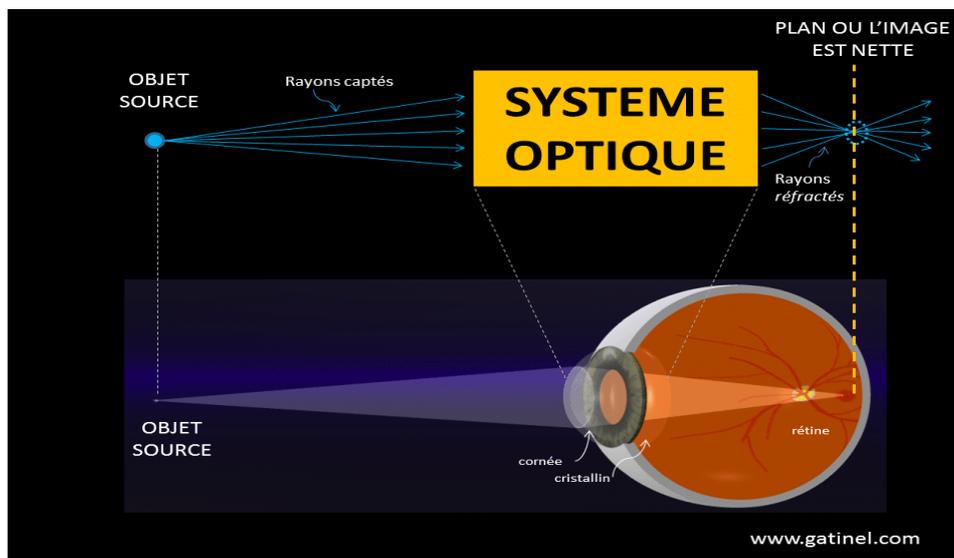


Figure 10: le processus de vision

### 3.2. La transparence :

Le principal caractère de la cornée est la transparence, Plusieurs éléments influencent cette fonction :

Les fibres de collagène ont une structure spécifique, avec une distance constante entre elles (équidistante) avec un diamètre moyen, elles réfractent une partie de la lumière qui les traverse. Cela signifie qu'elles modifient la direction de la lumière, En réfractant environ la moitié de la longueur d'onde de la lumière visible, les fibres de collagène aident à focaliser la lumière sur la rétine pour former des images nettes. La transparence du stroma diminue lorsque le diamètre des fibres de collagène ou la distance entre les fibres changent(**Meek & Knupp, 2015**).

Le niveau d'hydratation de la cornée influence sa clarté. En général, elle est composée de 80% d'eau, ce qui dépend de différents éléments tels que la pompe endothéliale, la barrière épithéliale, la pression à l'intérieur de l'œil et celle du stroma. Lorsqu'ils sont hydratés, les glycosaminoglycanes<sup>10</sup> du stroma, très hydrophiles, se repoussent les uns les autres en raison de leur charge négative, ce qui crée une pression qui restreint l'entrée d'eau dans le stroma. Cette hydratation est influencée par une pression de gonflement d'environ 50 mmHg et la pression intraoculaire. Quand la pression intraoculaire augmente considérablement, à environ 50 mmHg, cela entraîne un déséquilibre de forces, ce qui entraîne un œdème(**Jirsova, 2017**).

Enfin, il est probable que l'absence de vascularisation et la faible densité cellulaire jouent également un rôle dans la transparence de la cornée. La transparence coréenne peut être altérée ou totalement perdue en raison de modifications de l'architecture stromale causées par un processus cicatriciel (traumatisme physique, infectieux ou maladie dégénérative (kératocône, dystrophie...), de variations de l'hydratation stromale causées par une pathologie de la surface oculaire, un dysfonctionnement de la pompe endothéliale ou une hyperpression(**gilles, 2001**).

---

<sup>10</sup>**Les glycosaminoglycanes (GAGs) du stroma**, sont des protéines qui possèdent des chaînes latérales de GAGs, jouent un rôle essentiel dans la consolidation et l'hydratation du stroma.

#### 4. La différence entre la cornée d'un lapin et celle de l'humaine :

**Tableau I :** comparaison entre les caractéristiques de la cornée humaine et de celle du lapin.

	<b>Cornée humaine</b>	<b>Cornée d'un lapin</b>	<b>Référence</b>
<b>Nombre de couche de la cornée</b>	La cornée humaine est composée de cinq couches différentes : l'endothélium, la membrane de Descemet, le stroma, la membrane de Bowman et l'épithélium.	Les parties de la cornée de lapin sont identiques à celles de la cornée humaine, à l'exception de la membrane de Bowman, qui n'existe pas chez le lapin (l'endothélium, la membrane de Descemet, le stroma, et l'épithélium).	<b>(Giroux, 2004)</b>
<b>L'Épaisseur</b>	La cornée humaine est plus épaisse et plus rigide, environ <b>650-700</b> microns en périphérie	La cornée du lapin est plus mince et plus souple, varie de 300 à 400 $\mu\text{m}$	<b>(Giroux, 2004),(des professionnels, 2021)</b>
<b>La densité du plexus neural stromale</b>	La densité du plexus neural stromale chez l'homme est moins que celle de lapin	Plus grande	<b>(Ojeda et al., 2001)</b>
<b>La capacité de prolifération limitée des CEC</b>	Difficile de les inciter à proliférer et à se régénérer	Ont une capacité proliférative marquée	<b>(Pei et al., 2021)</b>
<b>Diamètre vertical et le diamètre horizontal</b>	Le diamètre vertical est compris entre 10 et 11 mm et le diamètre horizontal	Le diamètre vertical 15 mm Et environ de 13,5 à 15 mm diamètres horizontaux	<b>(Loiseau et al., 2023) (Dr. Damien Gatinel, 2023)</b>
<b>Rayon de courbure</b>	Varie 7.8 mm	Varie de 7 à 7,5 cm	<b>(Philippe, 2002) (Dr. Damien Gatinel, 2023)</b>
<b>La surface oculaire</b>	Seulement 7%	Environ 25% de surface oculaire	<b>(Philippe, 2002)</b>

## **5. La greffe de la cornée :**

### **5.1. Historique :**

Le concept de greffe de cornée est le premier à être mentionné par Erasmus Darwin en 1796 dans son *Zoonomia*. En 1824, Franz Reisinger invente le mot *kératoplastie* et, il est le premier à concevoir chez l'homme le remplacement de la cornée opaque par une cornée animale transparente. Les tentatives de xénogreffes<sup>11</sup> sont réitérées au 19<sup>e</sup> siècle et Richard Kissam effectue une *kératoplastie humaine* en 1838 à partir d'une cornée porcine. La première greffe lamellaire réussie à partir d'une cornée humaine est reportée en 1886 par Von Hippel. Par ailleurs, la première greffe cornéenne de pleine épaisseur est attribuée à l'ophtalmologiste allemand Edouard Zirm, réalisée en 1906 à partir de l'œil énucléé d'un jeune garçon. **(Anne-Sophie, 2018).**

Toutefois, James Biger a réalisé la première greffe de cornée vétérinaire en 1837 sur une gazelle de compagnie. **(Léah Duclos, 2023)**

### **5.2. Techniques chirurgicales et indication des greffes de cornée :**

L'intervention chirurgicale de *kératoplastie* est définie comme une transplantation de cornée, elle consiste à substituer un disque central de la cornée, atteinte d'anomalie par un disque cornéen sain du même diamètre. **(Léah Duclos, 2023)**

Il existe différentes techniques selon lesquelles l'épaisseur cornéenne est complètement remplacée (*kératoplastie transfixiante*) ou seulement une lamelle (*kératoplastie lamellaire*). Selon la couche tissulaire affectée, une *kératoplastie lamellaire* peut être antérieure (pathologies du stroma avec un endothélium sain) ou postérieure (pathologies endothéliales avec un stroma sain).

Les principales indications des greffes de cornée observées sont, le *kératocône* (déformation conique progressive de la cornée, souvent bilatérale), une dystrophie endothéliale primitive (*dystrophie de Fuchs*), *kératites infectieuses* (y compris herpétiques), les dystrophies endothéliales secondaires (après chirurgie de la cataracte des années 80, après traumatique, après chirurgie de myopie avec implant intraoculaire,...) et autres dystrophies cornéennes stromales héréditaires, blessures (plaies, brûlures chimiques) **(Anne-Sophie, 2018).**

### **5.3. Conservation des greffons cornéens :**

La conservation des greffons se fait au niveau des banques de cornées autorisées qui visent principalement à la préservation et au maintien de la viabilité de la cornée, la vérification de la qualité et de la stérilité du greffon, ainsi que la gestion des tests sérologiques du donneur.

---

<sup>11</sup>**Xénogreffes** : sont des greffes d'organes, de tissus ou de cellules entre des individus de diverses espèces.

Les prélèvements se font par énucléation où ils sont rigoureusement décontaminés, puis la cornée est disséquée avec une collerette sclérale de 2 à 3 mm.(Anne-Sophie, 2018)

### 5.3.1. Techniques de conservation des greffons cornéens :

Il y a 4 techniques de conservation classées selon leur durée :

- i) Conservation à court terme en chambre humide et milieu M-K (2 à 4 jours),
- ii) Conservation cornéenne avec milieu K-Sol
- iii) Milieu à long terme, par organoculture (jusqu'à 5 semaines),
- iv) Milieu a très long terme, cryoconservation (durée illimité).

#### 6.3.1.1. Conservation hypothermique en chambre humide :

La première description de cette méthode a été faite en 1935 par Filatov en utilisant des yeux de cadavres. Après l'énucléation, les yeux sont posés, cornés vers le haut dans un flacon de verre, sur une compresse remplie de sérum salée et d'antibiotiques. Les globes sont ensuite maintenus à une température de 4°C pendant une durée maximale de 24 heures.

Cette méthode a été employée pendant des décennies et continue d'être utilisée dans certains pays, mais a été principalement négligée en raison de sa conservation très courte en raison d'une dégradation rapide de l'endothélium. La détérioration endothéliale est associée à l'accumulation de déchets métaboliques après le décès dans la chambre antérieure. C'est pourquoi le concept d'excision de la cornée a été développé(Anne-Sophie, 2018).

#### 6.3.1.2. Conservation cornéenne avec milieu de conservation :

C'est un milieu de préservation de la cornée utilisée pour le stockage réfrigéré des tissus donateurs, qui peut maintenir des cornées vivantes et utilisables pour une kératoplastie pénétrante pendant au moins deux semaines(Capella et al., 1965).

Les milieux de conservations continent généralement 2,5 % de sulfate de chondroïtine dans un milieu de culture cellulaire (TC 199) avec 100 µg de gentamicine par millilitre, et un tampon HEPES en quantités plus importantes que celles utilisées dans le milieu modifié McCarey-Kaufman. Un tampon de bicarbonate s'est avéré insuffisant dans les études initiales." L'osmolalité de la solution finale est d'environ 310 mOsm, et le pH est de 7,4(Kaufman et al., 1985).

#### 6.3.1.3. Conservation cornéenne par organoculture :

La culture des organes est aujourd'hui la méthode la plus répandue de stockage cornéen à long terme en Europe. Contrairement à d'autres approches de conservation cornéenne à court terme, cette méthode permet la préparation de matériaux de greffe de qualité supérieure. La technique assure la préservation de l'intégrité endothéliale et

permet une conservation prolongée, mais la durée optimale recommandée est de 5 semaines(**Szaflik et al., 2000**).

L'Organoculture favorise la stimulation de l'activité métabolique cellulaire. On maintient la cornée dans l'étuve (air pur) à une température ambiante proche de la température physiologique de la cornée in vivo (31 à 37°). Ces milieux comprennent une solution nutritive (milieu essentiel minimum de Dulbecco), du sérum de veau fœtal à 2%, des tampons, des antioxydants, des antibiotiques et des antifongiques, ainsi qu'un indicateur coloré de changement de pH (rouge phénol)(**Anne-Sophie, 2018**).

Les défis persistants concernant la réduction de l'œdème cornéen et l'amélioration de la viabilité des cellules endothéliales pour garantir la transparence de la greffe n'ont pas encore été résolus. L'application d'une quarantaine de deux semaines et l'incorporation de pénicilline et de streptomycine ont considérablement diminué la contamination bactérienne et fongique (**Szaflik et al., 2000**).

#### 6.3.1.4. La conservation de la cornée à long terme : cryoconservation et vitrification :

En 1954, Eastcott et ses collègues ont décrit le premier succès de greffe de cornée réalisée à partir d'une cornée congelée et préservée dans une solution d'alcool et de carboglace après un prétraitement dans une solution contenant 15% de glycérol(**Eastcott et al., 1954**).

Cette méthode implique la conservation de la cornée vitrifiée ou dans une solution contenant un cryoprotecteur tel que le DMSO (diméthylsulfoxyde), le dextran ou le CS (cryosérum), dans une cuve d'azote liquide à une température de -196 °C.

La congélation est réalisée selon un programme de descente progressive de la température (2 °C par minute jusqu'à -14 °C, suivi d'un transfert de chaleur entraînant une remontée en température à -9 °C, puis 3 °C par minute jusqu'à -80 °C), après une cryoprotection par des bains de concentration croissante en DMSO (2 %, 4 %, 6 % puis 7,5 %) et sucrose (2,5 %, 5 %, 7,5 % puis 10 %) à +4 °C. La décongélation est effectuée à l'aide d'un bain-marie et suivie d'une dilution du cryoprotecteur.

La cryoconservation peut être employée pour préserver l'architecture du tissu cornéen, notamment les lamelles de collagène, sans nécessairement conserver la viabilité cellulaire. Cette méthode permet d'avoir en permanence des greffons cornéens disponibles pour des greffes architectoniques, qui pourraient être utilisés en cas d'urgence(**Anne-Sophie, 2018a**).

Même si des réussites ont été documentées avec cette méthode à la fois à court terme et à long terme (jusqu'à 16 ans), Cette méthode induit une importante perte de cellules endothéliales tant lors de la congélation que de la décongélation, et elle présente également des défis en termes de manipulation des tissus fragiles, ce qui explique sa faible utilisation. Les répercussions de la cryoconservation sur l'endothélium cornéen sont significatives : elles incluent une perte cellulaire substantielle, la formation de

cellules multinucléées, des ruptures entre l'endothélium et la membrane de Descemet, ainsi qu'un polymorphisme et un pléomorphisme endothélial sévères, aboutissant à une cytolyse(Ruusuvaara, 1979).

## 7. La composition des milieux de conservation :

La composition des milieux de conservation est cruciale pour assurer la viabilité et la fonctionnalité des tissus biologiques. Chaque composant contribue à des aspects spécifiques ;

- **Dextran T-500**, une macromolécule rendant le milieu hyperosmolaire et permettant ainsi de réduire l'œdème stromale induit par la conservation(Anne-Sophie, 2018).
- **Le sulfate de chondroïtine**, est perçu comme l'élément essentiel pour prolonger la durée de stockage à une température de 4°C. Il est probable qu'il joue un rôle essentiel dans le système redox intracellulaire en tant qu'antioxydant, stabilisateur de la membrane et facteur de croissance, il améliore considérablement la viabilité de l'endothélium(Szaflik et al., 2000).
- **Les antibiotiques**, par exemples La pénicilline, la gentamicine et la streptomycine permettent une diminution significative de la contamination bactérienne et fongique(Szaflik et al., 2000).
- **Tampons**, tels que HEPES (acide N-hydroxyéthylpipérazine-N-éthane-sulfonique) bicarbonate, phosphate, histidine et tryptophane été efficaces pour maintenir la viabilité endothéliale et mieux stabiliser le pH(Wilson, 2023).
- **Les acides aminés**, glutamique, succinique, aspartique ou  $\alpha$  céto glutarique sont responsables de la production d'ATP en milieu anaérobie par la transamination mitochondriale des acides aminés(Pradeau et al., 2008).
- **Les polyéthylènes glycols (PEG)**, protègent contre l'œdème cellulaire en raison de leurs propriétés oncotiques, améliorant la tolérance immunologique du greffon en masquant les sites antigéniques(Pradeau et al., 2008).
- **Les antioxydants**, préservent les cellules en neutralisant les radicaux libres, les molécules instables et en prévenant les maladies prématurées ou chroniques en protégeant les cellules des dommages oxydatifs tel que la vitamine C, la vitamine E et la vitamine A(Álvarez-Barríos et al., 2021).
- **Potentiel hydro génique (pH)**,Le pH doit être compris entre 7,2 et 7,4, mais la croissance peut se produire entre 6,6 et 7,8(Hasany & Basu, 1987).
- **L'osmolarité**, La croissance cellulaire peut varier entre 290 et 330 mOsm /kg(Hasany & Basu, 1987).

# **Chapitre II : Les maladies cornéennes**

## 1. Les maladies de la cornée :

### 1.1. Les kératites interstitielles :

Les kératites interstitielles, également appelées kératites stromales, sont caractérisées par une inflammation non ulcéreuse et non suppurative plus ou moins vascularisée au niveau de la paroi cornéenne (Fig. 11)(Creisson et al., 2004).

Elles se manifestent cliniquement par une infiltration cellulaire et une néovascularisation du stroma sans atteinte directe de l'épithélium et de l'endothélium cornéen. Ces kératites peuvent entraîner une diminution significative de l'acuité visuelle. Ces affections se manifestent dans le cadre d'une maladie infectieuse ou systémique et requièrent un diagnostic précoce avec une analyse étiologique et un traitement approprié afin d'améliorer le pronostic visuel. Pour l'instant, il est primordial de prendre en compte une cause virale et notamment herpétique. Les deux phases de l'atteinte sont une phase aiguë inflammatoire et une phase tardive cicatricielle.

La kératite interstitielle est causée par une réponse immunitaire à des antigènes extérieurs (bactériens, parasitaires, viraux) ou par une réponse auto-immune sans infection active de la cornée. L'analyse microscopique révèle une présence de lymphocytes localisés ou diffusés, accompagnée d'un œdème du stroma.

Au stade cicatriciel, selon le bilan fonctionnel, les greffes de cornée sont indiquées (kératoplasties transfixiantes et lamellaires) (Gauthier & Delbosc, 2012).



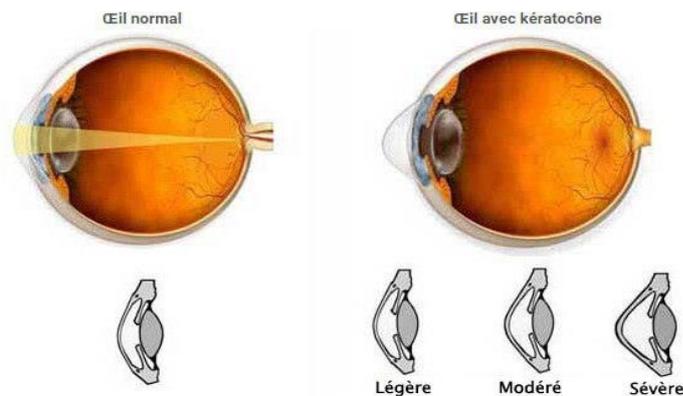
**Figure 11:** Kératite interstitielle opacité stromale centrale

## 1.2. Le kératocône :

Le kératocône est une affection oculaire non inflammatoire qui se développe lentement, se manifestant par une diminution et une saillie de la cornée. La kératocône est souvent observé à l'adolescence et peut provoquer une distorsion significative de la vision(Fournié et al., 2013).

L'astigmatisme irrégulier est principalement responsable de la perception d'images fantômes (polyopie monoculaire) ; il est généralement accompagné d'une myopie liée à l'allongement de l'axe antéro-postérieur du globe. La diminution de la vision peut être amplifiée par la présence d'opacités au sommet du cône, principalement due à l'amincissement et à l'étirement de la cornée, qui entraîne des ruptures tissulaires ou parfois des lésions cornéennes(Arne & Fournié, 2011).

Le diagnostic peut être basé sur des symptômes cliniques à un stade avancé de la maladie, que ce soit par la déformation cornéenne visible à la biomicroscopie ou par l'existence d'opacités au sommet du cône (Fig. 12). Les techniques topographiques permettent le diagnostic avant ces stades extrêmes, en étudiant la forme des faces antérieure et postérieure de la cornée et en mesurant ponctuellement les rayons de courbure. Le kératocône est généralement caractérisé par une augmentation localisée de la courbure de la cornée, généralement dans sa moitié inférieure(Colin & Simonpoli, 2005).



**Figure 12:** image représente le sommet du cône d'œil normale et œil avec kératocône

Le stade évolutif du kératocône est caractérisé par différentes classifications basées sur l'importance de l'augmentation du rayon de courbure, l'amincissement cornéen et la présence d'éventuelles opacités (classifications d'Amsler et de Krumeich)(**Krumeich et al., 1998**).

Lors des premiers stades de l'affection, les lunettes de vue peuvent être assez efficaces pour compenser un astigmatisme modéré. Quand l'astigmatisme devient plus prononcé, une intervention chirurgicale est nécessaire faisant appel à une greffe transfixiante ou lamellaire de la cornée(**Saad et al., 2020**).

### **1.3. Dystrophie de Fuchs :**

La dystrophie cornéenne endothéliale de Fuchs (FECD) est une affection de la cornée qui altère le rôle de l'endothélium, ce qui entraîne des pertes de vision.(**Spector, 2000**).

La maladie se manifeste par une diminution rapide des cellules endothéliales et la formation des guttatas (Fig. 1 3), des excroissances de matrice extracellulaire. L'endothélium cornéen perd son intégrité, ce qui entraîne des infiltrations de liquide dans le stroma, résultant à leur tour une diminution de la transparence de la cornée. Les origines de la FECD sont encore mal connues. Cependant, il y a des preuves d'un lien entre les mitochondries et le stress oxydatif.(**Shoham et al., 2008a**)

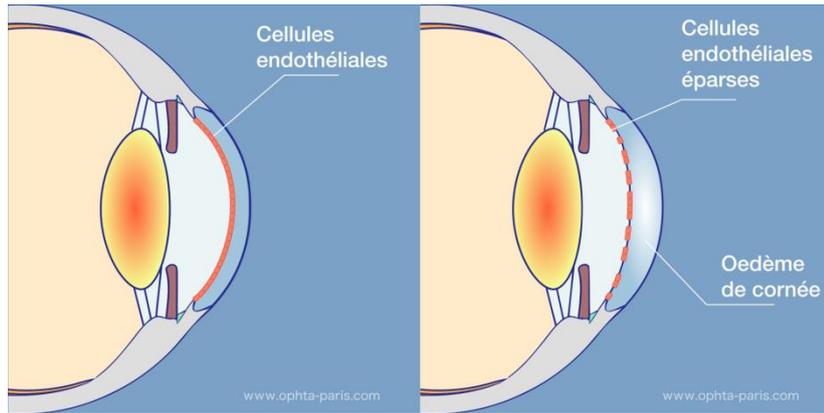
La dystrophie endothéliale de Fuchs (FECD) se divise en quatre stades cliniques distincts :

**Stade 1 :** Bien qu'initialement sans symptômes, ce stade se caractérise par l'apparition de guttata et un épaissement de la membrane de Descemet.

**Stade 2 :** À ce stade, une perte de vision sans douleur se manifeste, s'aggravant souvent au réveil. Des altérations dans la taille et la forme des cellules sont également observées en raison d'une diminution de leur densité.

**Stade 3 :** La perte de cellules progresse, entraînant une défaillance de la fonction barrière et de pompage. Cela conduit à des œdèmes importants, aggravant la perte de vision. Ces œdèmes entraînent également la formation de bulles ou vésicules cornéennes sur l'épithélium cornéen, provoquant des douleurs lorsqu'elles éclatent.

**Stade 4 :** Malgré une aggravation continue de la perte de vision, la douleur diminue progressivement car les bulles sont remplacées par du tissu cicatriciel à l'épithélium. De plus, une vascularisation de l'endothélium peut être observée. La transplantation de cornée est le seul traitement curatif pour la FECD(**Méthot, 2023**).



**Figure 13:** Schéma d'une cornée normale (gauche) et d'une dystrophie de Fuchs décompensée avec un œdème de cornée (droite). (« **Combined Cataract/DSEK/DMEK** », 2017)

## 2. Examinations de la cornée :

### 2.1. La lampe à fente :

La lampe à fente se compose de deux éléments principaux : la biomicroscopie, qui est un microscope binoculaire offrant des agrandissements jusqu'à  $\times 40$  ou même  $\times 80$ , et la source lumineuse, munie d'une fente ajustable en taille (en largeur et en hauteur) et de filtres généralement utilisés avec des colorants(Lachkar, 2007).

L'examen de la cornée à la lampe à fente se déroule selon deux modes d'éclairage : direct et indirect. En mode direct, un faisceau lumineux éclaire directement la zone examinée, d'abord de manière diffuse sur toute la cornée puis de façon concentrée sur une zone spécifique. En revanche, le mode indirect projette le faisceau lumineux sur une surface secondaire (comme l'iris ou le cristallin), qui réfléchit ensuite la lumière vers la zone à examiner, ou sur une zone adjacente, la lumière se diffusant ensuite à travers le tissu jusqu'à la région examinée. Ce mode permet de mesurer la profondeur des tissus, de détecter d'éventuelles anomalies et d'observer les variations d'épaisseur de la cornée, facilitant ainsi l'analyse des différentes couches cornéennes. Un fort grossissement offre même la possibilité d'observer les cellules endothéliales(Chiambaretta et al., 2004).



**Figure 14:** la lampe à fente

## 2.2. La topographie cornéenne :

La topographie cornéenne est examinée à l'aide de la vidéokératoscopie, une technique informatique évoluée de la photokératoscopie à disque de Placido (**Chiambaretta et al., 2004**).

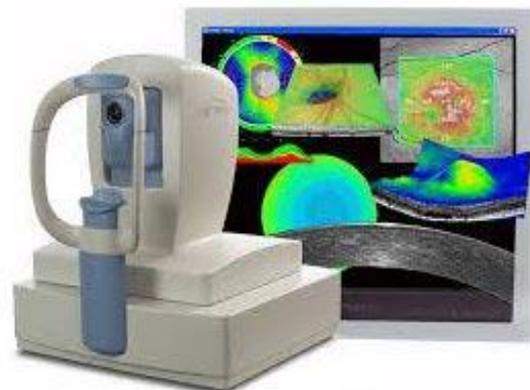
Cette procédure permet d'évaluer et d'analyser la structure de la cornée. Son principe repose sur la projection et l'analyse d'un faisceau lumineux réfléchi directement sur la cornée ou balayant sa surface, ce qui permet d'étudier en détail son relief et sa courbure(**Ghemame et al., 2019**).



**Figure 15:** la topographie

## 2.3. Pachymétrie :

La pachymétrie, qui désigne la mesure de l'épaisseur cornéenne, représente un indicateur critique de l'état physiologique de ce tissu, étant donné qu'elle est tributaire du bon fonctionnement des cellules endothéliales. Les méthodes pour mesurer l'épaisseur cornéenne sont diverses. La pachymétrie automatisée peut être réalisée à l'aide d'une sonde à ultrasons ou d'un OCT (Optical Coherence Tomography = tomographie à cohérence optique) du segment antérieur.(**Ghemame et al., 2019**).



**Figure 16:** la pachymétrie

## 2.4. Microscope spéculaire :

La microscopie spéculaire est actuellement la méthode privilégiée pour examiner l'endothélium cornéen. Cette technique implique l'analyse des cellules endothéliales à travers la lumière réfléchie par celles-ci. Elle offre une évaluation qualitative et quantitative de l'endothélium, pouvant être utilisée à des fins diagnostiques, prédictives ou de suivi(Alice, 2014).



**Figure 17:** le microscope spéculaire

# **Chapitre III : Effet du stress oxydatif sur la cornée**

## **1. Mécanismes du stress oxydatif sur la cornée :**

Toutes les structures de l'œil sont touchées par le stress oxydatif, notamment ses barrières naturelles antioxydants constituées par la cornée et la sclère antérieure, le cristallin et la rétine(Álvarez-Barrios et al., 2021).

Le stress oxydatif est présent dans la cornée en raison de l'exposition à la lumière, qui constitue une importante source d'espèces réactives de l'oxygène (ROS). De plus, les cellules endothéliales cornéennes (CCE) sont riches en mitochondries, qui représentent une source potentielle de production de superoxyde. L'oxydation des lipides mitochondriaux, des protéines et de l'ADN mitochondrial peut entraîner des lésions cellulaires. Ces caractéristiques rendent l'endothélium cornéen particulièrement sensible au stress oxydatif(Liu et al., 2011).

### **1.1. Définition :**

Le stress oxydatif désigne une altération cellulaire induite par des niveaux d'oxydations très élevés, causée soit par une production excessive de radicaux libres, soit par une diminution de la capacité de défense antioxydante (V.POITOUT, 2008) Le stress oxydatif est donc défini comme une perturbation de l'équilibre entre les oxydants et les antioxydants en faveur des premiers(Burton & Jauniaux, 2011).

### **1.2. Implication physiologique des radicaux libre :**

Ces dernières années, une explosion de connaissances a mis en évidence le rôle des radicaux libres et du stress oxydatif dans pratiquement tous les aspects de la biologie et de la médecine, le stress oxydatif est non seulement reconnu comme une voie commune cruciale conduisant au dysfonctionnement de la cellule menant jusqu'à sa mort, mais également comme une cible importante pour l'intervention thérapeutique. La cornée en raison de son exposition aux rayons UV et à une tension d'oxygène élevée, nécessite des défenses antioxydantes solides pour maintenir son intégrité(Shoham et al., 2008b).

### **1.3. Les facteurs déclencheurs du stress oxydatif et types de ROS :**

La production de radicaux libres est favorisée par la formation de diverses espèces réactives de l'oxygène (ROS), telles que L'anion superoxyde  $O_2^-$ , le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et les radicaux hydroxyles (HO), qui sont responsables du stress oxydatif. Ces radicaux libres qui contiennent de l'oxygène sont issus du métabolisme normal de l'oxygène et jouent un rôle crucial dans la signalisation cellulaire et l'équilibre(Álvarez-Barrios et al., 2021).

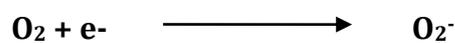
Lors de la conservation in vitro des tissus, comme la cornée du lapin, la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) est causée par des sources telles que les mitochondries, certaines enzymes (NADPH oxydase, xanthine oxydase, cytochrome P450) et des réactions chimiques non enzymatiques. Ce stress oxydatif résulte d'un

déséquilibre entre la production de ROS et les défenses antioxydants, entraînant des dommages à l'ADN, la peroxydation des lipides, la dénaturation des protéines et la mort cellulaire. Pour atténuer ces effets, l'ajout d'antioxydants (comme les vitamines C et E), l'optimisation des conditions de conservation et la supplémentation en nutriments sont des stratégies efficaces. **(Organisciak & Vaughan, 2010)**

Les sources externes de radicaux libres (ROS) incluent l'exposition aux rayons UV, les infections virales, les substances chimiques agressives et la prise de médicaments. Les rayons UV, qui sont l'un des principaux activateurs de la production de ROS dans la cornée et qui provoquent des dommages oxydatifs importante, sont constitués d'un spectre de longueurs d'onde variées. Bien que la cornée absorbe les rayons UVC et la plupart des UVB(**Álvarez-Barrios et al., 2021**).

### 1.3.1. L'anion superoxyde $O_2^-$ :

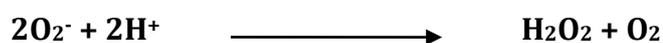
L'anion superoxyde ( $O_2^-$ ) est un oxygène réduit et est le précurseur de la plupart des autres ROS(**Méthot, 2023**).Le superoxyde ( $O_2^-$ ) est le radical oxygéné le plus courant, les mitochondries en étant la principale source. Le transfert d'électrons via les enzymes respiratoires est inefficace et le transfert d'électrons sur l'oxygène moléculaire, en particulier les complexes I et III, conduit à la formation d' $O_2^-$ . Dans des conditions normales, 2 % de l'oxygène est converti en  $O_2^-$  dans les mitochondries, l' $O_2^-$  étant imperméable à la membrane(**Burton & Jauniaux, 2011**).



Les antioxydants, qui sont des systèmes de défense, régulent la dégradation de ces radicaux en fonction du taux de radicaux présents. La production des radicaux superoxydes est donc contrôlée par des métalloenzymes, les superoxydes dismutases (SOD), qui sont responsables de leur transformation en peroxyde d'hydrogène,  $H_2O_2$ (**Migdal & Serres, 2011**).

### 1.3.2. Le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) :

Le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), également appelé eau oxygénée ou dioxyde de dihydrogène, est hautement soluble dans l'eau et peut facilement traverser les membranes biologiques. Cela peut entraîner la dégradation des protéines, la libération de  $Fe^{3+}$ , l'oxydation de l'ADN, l'oxydation des lipides et l'inactivation des enzymes. Bien qu'il soit impliqué dans la signalisation intra et intercellulaire, à des concentrations élevées, il devient toxique en raison de la production de radicaux libres oxygénés (ROS). La formation de  $H_2O_2$  se produit par des réactions de Fenton avec des ions métalliques(**Wadman & Candeias, 1996**).



### 1.3.3. Le radical hydroxyle (HO) :

Le radical hydroxyle ( $^{\circ}\text{OH}$ ) est extrêmement réactif, il se produit soit par la dégradation du peroxyde d'hydrogène en présence de métaux de transition sous leur forme réduite soit selon la réaction dite Haber. Le fer peut également catalyser la transformation de l'anion superoxyde en présence de peroxyde d'hydrogène avec production de radical hydroxyle. Le radical hydroxyle ( $\text{HO}^{\cdot}$ ) joue un rôle initiateur dans l'auto-oxydation lipidique (Martínez-Cayuela, 1995).



## 1.4. Les implications du stress oxydatif dans les dommages cellulaires :

Un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et la capacité des systèmes antioxydants entraîne un stress oxydatif conduisant aux dommages cellulaires, tels que la peroxydation lipidique des membranes, des modifications oxydatives au niveau des protéines et la fragmentation d'ADN. (Cejka & Cejkova, 2015).

### 1.4.1. La peroxydation lipidique des membranes :

Durant le stress oxydatif, les espèces réactives de l'oxygène peuvent également endommager les lipides, en particulier les acides gras polyinsaturés présents dans les phospholipides des membranes. Les effets de la peroxydation lipidique sont variés, allant de la réorganisation et de l'agglomération des phospholipides à la réduction de la fluidité membranaire, pouvant même conduire à la dissolution des compartiments cellulaires (Perez Martinez et al., 2000).

### 1.4.2. La modification oxydative au niveau des protéines :

Lorsqu'il y a du stress oxydatif, les protéines peuvent changer à cause des métaux de transition ou des radicaux libres. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) peuvent endommager diverses parties des protéines, y compris leurs groupes sulfhydryles<sup>12</sup> (Lapointe et al., 2005).

Les tyrosines, qui font partie des protéines, peuvent aussi être affectées par les espèces réactives de l'oxygène. De plus, quand une protéine est attaquée par ces espèces, on observe souvent la formation de dérivés carbonylés. C'est pourquoi ces derniers sont souvent utilisés pour évaluer l'impact des espèces réactives de l'oxygène sur les protéines (Emond et al., 2004). L'oxydation des protéines peut causer plusieurs

---

<sup>12</sup> Les groupes sulfhydryles sont des groupements fonctionnels présents dans les molécules organiques, en particulier les protéines. Ces groupes consistent en un atome de soufre lié à un atome d'hydrogène (-SH) et sont souvent désignés sous le nom de groupes thiol. Les groupes sulfhydryles sont importants car ils peuvent former des liaisons covalentes avec d'autres groupes sulfhydryles, ce qui contribue à stabiliser la structure des protéines en formant des ponts disulfures

dysfonctionnements, tels que la formation de ponts disulfures supplémentaires, des altérations dans l'activité enzymatique, et des perturbations dans le processus de transport à travers les membranes(Jablonka-Shariff & Olson, 2000).

Cependant, l'oxydation des acides aminés des protéines est habituellement causée par le radical hydroxyle, bien qu'elle puisse aussi être induite par le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ). Ces altérations peuvent affecter soit la chaîne principale de carbone soit les chaînes latérales des acides aminés, ce qui peut entraîner la déformation de la structure et/ou de la fonction d'une protéine(Berlett & Stadtman, 1997).

#### **1.4.3. La fragmentation d'ADN :**

La plus part des dommages causés par le stress au niveau de l'ADN concernant les espèces réactives de l'oxygène. Elles peuvent lui induire de nombreuses modifications covalentes telles que des lésions aux bases nucléotidiques (purines et pyrimidines), des cassures de brins, des pontages (cross-links) inter et intra brin(Sorg, 2004)

## **2. Le système antioxydant :**

Afin d'éviter les dommages du stress oxydatif, la cellule dispose d'un système de protection antioxydant. On définit les antioxydants comme une substance qui, à une concentration faible, retarde ou empêche l'oxydation d'un substrat(Méthot, 2023) Toutes les cellules possèdent un système de défense antioxydant varié, comprenant des molécules enzymatiques et non enzymatiques(Álvarez-Barrios et al., 2021).

### **2.1. Antioxydant enzymatique :**

Les antioxydants enzymatiques sont classés en trois grandes catégories: le superoxyde dismutase (SOD), la catalase et le glutathion peroxydase(Méthot, 2023).

#### **2.1.1. Le superoxyde dismutase (SOD) :**

Le superoxyde dismutase (SOD) favorise la transformation de l'anion superoxyde ( $O_2\cdot^-$ ) en peroxyde d'hydrogène radicalaire ( $H_2O_2$ ), qui présente une influence réduite. La SOD est le seul antioxydant capable de réagir avec l'anion superoxyde, ce qui en fait l'antioxydant primaire le plus important dans le système de défense antioxydant de la cornée. Trois isoformes de SOD sont présentes chez l'homme, ont été identifiées dans l'épithélium, le stroma et l'endothélium cornéens : SOD1, SOD2 et SOD3, qui se différencient par leur localisation (SOD1 dans le cytosol, SOD2 dans les mitochondries et SOD3 dans l'espace extracellulaire) et leurs cofacteurs (SOD1 et SOD3 utilisent le cuivre et le zinc, SOD2 le manganèse)(Álvarez-Barrios et al., 2021).

#### **2.1.2. La catalase :**

Ce sont principalement des enzymes présentes dans les peroxysomes qui catalysent la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau ( $H_2O$ ) et en oxygène ( $O_2$ ). (Birben et al., 2012)

La catalase est une enzyme contenant du fer que l'on trouve dans les peroxysomes et les globules rouges. Chez les humains, la catalase est composée de quatre parties. Chaque partie à un groupe spécial contenant du fer dans son centre actif, qui est dans un état appelé  $Fe^{+3}$ . Son rôle est de décomposer le peroxyde d'hydrogène, une substance potentiellement dangereuse car elle peut produire facilement des radicaux hydroxyles lorsqu'il y a des traces de fer autour. La catalase, ainsi que la GSH-Px, sont importantes dans la défense contre les espèces réactives de l'oxygène (ROS) en aidant à transformer le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) en eau ( $H_2O$ ).**(Xu et al., 2022)**.

### **2.1.3. Le glutathion peroxydase :**

La glutathion peroxydase (GPx) est une sélénoprotéine catalyse la même réaction que CAT, réduisant  $H_2O_2$  en  $H_2O$ , en utilisant le glutathion réduit (GSH) comme donneur d'électrons.**(Cabrera & Chihuailaf, 2011)**.

GPX présente huit formes différentes, comprenant cinq sélénoprotéines (GPX1-4 et GPX6). Les trois enzymes qui sont autonomes du sélénium sont influencées par la chimie des thiols, avec GPX1 étant la plus présente et la plus abondante**(Lei et al., 2016)**.

Dans la surface oculaire, six isoformes de GPX sont présentes, dont GPX1 et GPX4 sont plus présentes que GPX3 dans la sclérotique. En analysant l'expression de GPX et de CAT dans l'œil, il apparaît que GPX, plutôt que CAT, peut principalement décomposer les antioxydants  $H_2O_2$  dans la cornée et la sclère**(Álvarez-Barrios et al., 2021)**.

## **2.2. Antioxydant non enzymatique :**

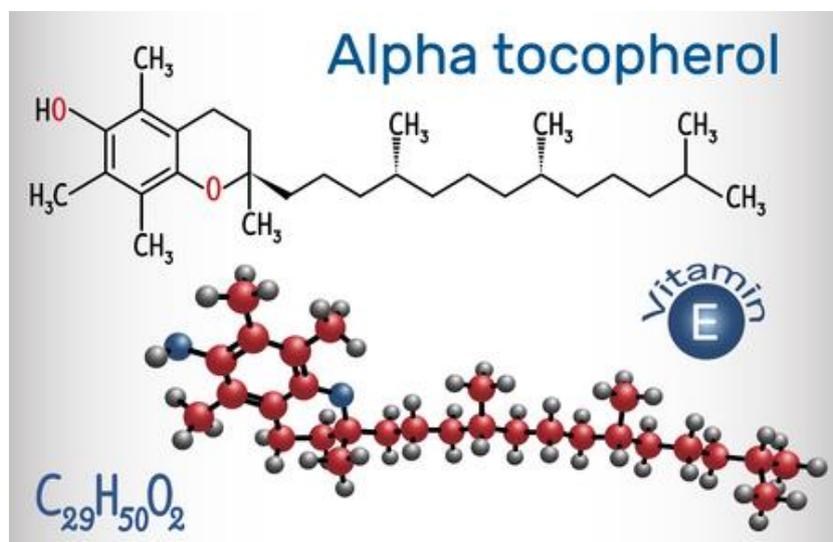
Les défenses non enzymatiques sont présentes également au niveau de la cellule, parmi ces antioxydants, l'ascorbate (vitamine C) et l' $\alpha$ -tocophérol (vitamine E), connus pour leur puissant pouvoir antioxydant. l'ascorbate étant nécessaire pour restituer l' $\alpha$ -tocophérol, ces deux composés agissent en synergie**(Burton & Jauniaux, 2011)**.

### **2.2.1. Vitamine E ( $\alpha$ -tocophérol) :**

En 1922, Evans et Bishop ont découvert la vitamine E et depuis des décennies, on étudie ses nombreuses fonctions physiologiques, y compris ses propriétés antioxydantes. L'importance de la vitamine E parmi les lipides solubles réside dans sa capacité à se déplacer de manière efficace à travers les membranes cellulaires et à se localiser dans les zones riches en graisses de l'organisme, telles que les membranes cellulaires et les tissus adipeux. Grâce à cette position, il est en mesure de préserver les lipides de l'oxydation, ce qui est essentiel pour préserver l'intégrité des membranes cellulaires et prévenir les dommages oxydatifs dans l'ensemble de l'organisme.**(Miyazawa et al., 2019)**

La vitamine E ( $\alpha$ -tocophérol) joue un rôle essentiel en tant qu'antioxydant protecteur des membranes dans tous les tissus, elle est perçue comme la première barrière de protection contre la peroxydation lipidique et les radicaux oxygénés**(Bilgihan et al., 2000)**.

Il est rapporté que la présence de vitamines E permet de préserver les cellules endothéliales contre les agressions du stress oxydatif (Serra et al., 2014). Elle agit in vivo et in vitro en neutralisant les radicaux libres.(Goudable & Favier, 1997).



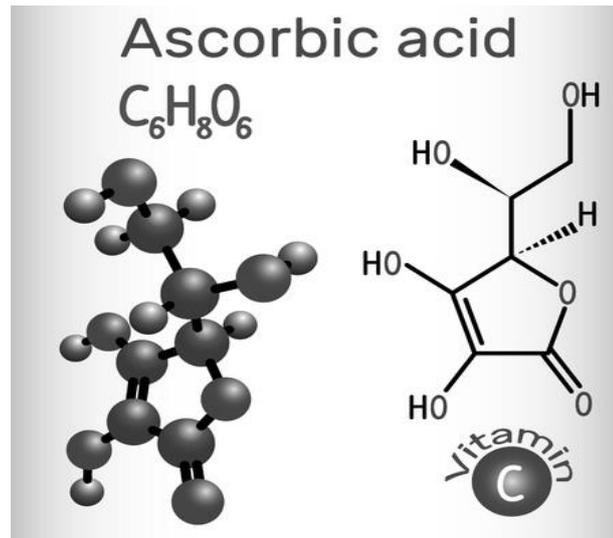
**Figure 18:** Formule chimique de la Molécule d'alpha tocophérol (vitamine E).

### 2.2.2. Vitamine C (Acide ascorbique) :

La vitamine C, également connue sous le nom d'acide ascorbique, est une vitamine soluble dans l'eau essentielle dans diverses réactions métaboliques, la synthèse du collagène, la réponse immunitaire aux infections, favorisant la guérison et facilitant l'assimilation alimentaire. Présente sous forme réduite d'acide ascorbique, et sous forme oxydée d'acide ascorbique, qui permet la libération d'électrons et joue un rôle dans diverses réactions oxydatives(Buxeraud & Faure, 2021).

La vitamine C est un antioxydant puissant qui protège contre différentes affections, incluant les déséquilibres oxydatifs provoqués par diverses raisons dans la cornée. (Gujral et al., 2020)

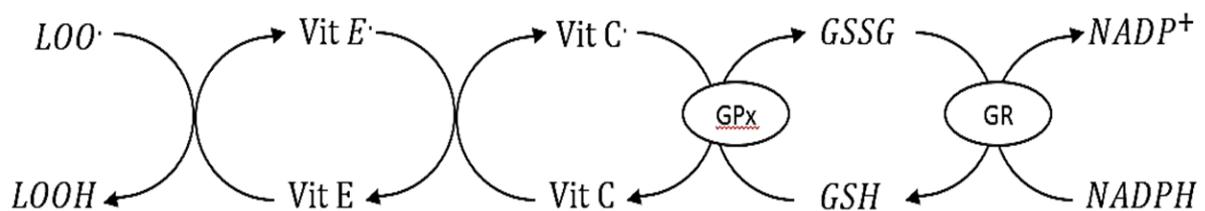
La vitamine C à un effet protecteur dans la réparation des lésions cornéennes et elle joue un rôle essentiel dans le bon fonctionnement de l'épithélium cornéen (Chen et al., 2017). Le mécanisme de transport actif de la vitamine C dans la cornée est le SVCT (sodium vitamine C transport) qui permet de la transporter du plasma vers l'humeur aqueuse, en passant par l'iris et le corps ciliaire. Serra et al. Ont démontrés le rôle protecteur de la vitamine C avec d'autres antioxydants (A, E) sur les cellules endothéliales de la cornée contre les dommages oxydatifs causé essentiellement par le fer qui peut agir comme un catalyseur de réactions produisant des espèces réactives de l'oxygène (ROS) .(Serra et al., 2014).



**Figure 19:** Structure chimique de la vitamine C (acide ascorbique  $C_6H_8O_6$ ).

### 2.3. La synergie entre la vitamine E et la vitamine C :

La synergie entre la vitamine E et la vitamine C repose sur leurs rôles complémentaires en tant qu'antioxydants. La vitamine E, un antioxydant liposoluble, protège les membranes cellulaires des dommages oxydatifs en neutralisant les radicaux libres, tandis que la vitamine C, un antioxydant hydrosoluble, neutralise les radicaux libres dans les milieux aqueux et joue un rôle crucial dans la synthèse du collagène. Une des principales synergies est la capacité de la vitamine C à régénérer la vitamine E oxydée, prolongeant ainsi son efficacité antioxydante. Ensemble, elles offrent une protection renforcée contre les dommages oxydatifs et aident à réduire l'inflammation, assurant ainsi une couverture antioxydante plus complète et bénéfique pour la santé. (Strain&Mulholland, 1992)



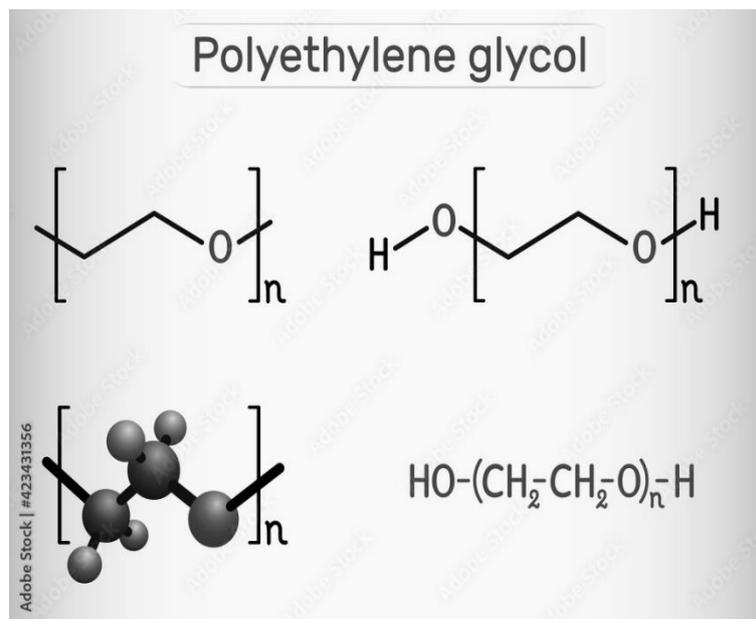
**Figure 20:** la synergie entre vitamine E et vitamine C

### 3. Solubilisation de la vitamine E par le polyéthylène glycol « PEG » :

Le polyéthylène glycol, est un polymère linéaire composé d'oxyde d'éthylène avec une finition hydroxyle. Les chaînes les plus longues sont également connues sous le nom d'oxyde de polyéthylène (Fig. 18). : HO-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O) CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-OH.

Le poids moléculaire de cette molécule varie en fonction du nombre de groupes d'oxyde d'éthylène. En général, on trouve du PEG commercialisé avec des poids moléculaires variant de 200 à 35 000daltons.

Le PEG est une substance synthétique, non toxique et non immunogène<sup>13</sup>, qui est actuellement utilisée dans de multiples domaines, tels que les industries agroalimentaires, biologiques et pharmaceutiques(**Giraud et al., 2014**). Sa polarité élevée accroît sa capacité à être hydrophile et à interagir avec les médicaments hydrophobes, ce qui est une caractéristique essentielle pour la solubilisation. Il est donc extrêmement soluble dans différents solvants organiques et inorganiques (**D'souza &Shegokar, 2016**).



**Figure 21:** la structure chimique du polyéthylène glycol (PEG)

<sup>13</sup>Les immunogènes peuvent être des agents infectieux tels que les bactéries, les virus, les parasites, mais aussi des substances non infectieuses telles que les protéines étrangères, les toxines, les allergènes, etc. En déclenchant une réponse immunitaire, les immunogènes activent le système immunitaire de l'organisme pour reconnaître et éliminer la substance étrangère ou potentiellement nocive.

# **Matériel et méthodes**

## 1. Collecte du la cornée :

### 1.1. Matériel de collecte :

#### 1.1.1. Matériel biologique :

Nous avons réalisé notre étude en analysant la cornée de 06 lapins qui pèsent entre 2 à 4 Kg. Les têtes de lapin proviennent d'un cuniculiculteur installé à Aokas. Le délai entre le sacrifice des lapins et l'utilisation des cornées n'a pas dépassé 2 heures (Fig. 22).



**Figure 22:** Tête frais d'un lapin (photo personnelle)

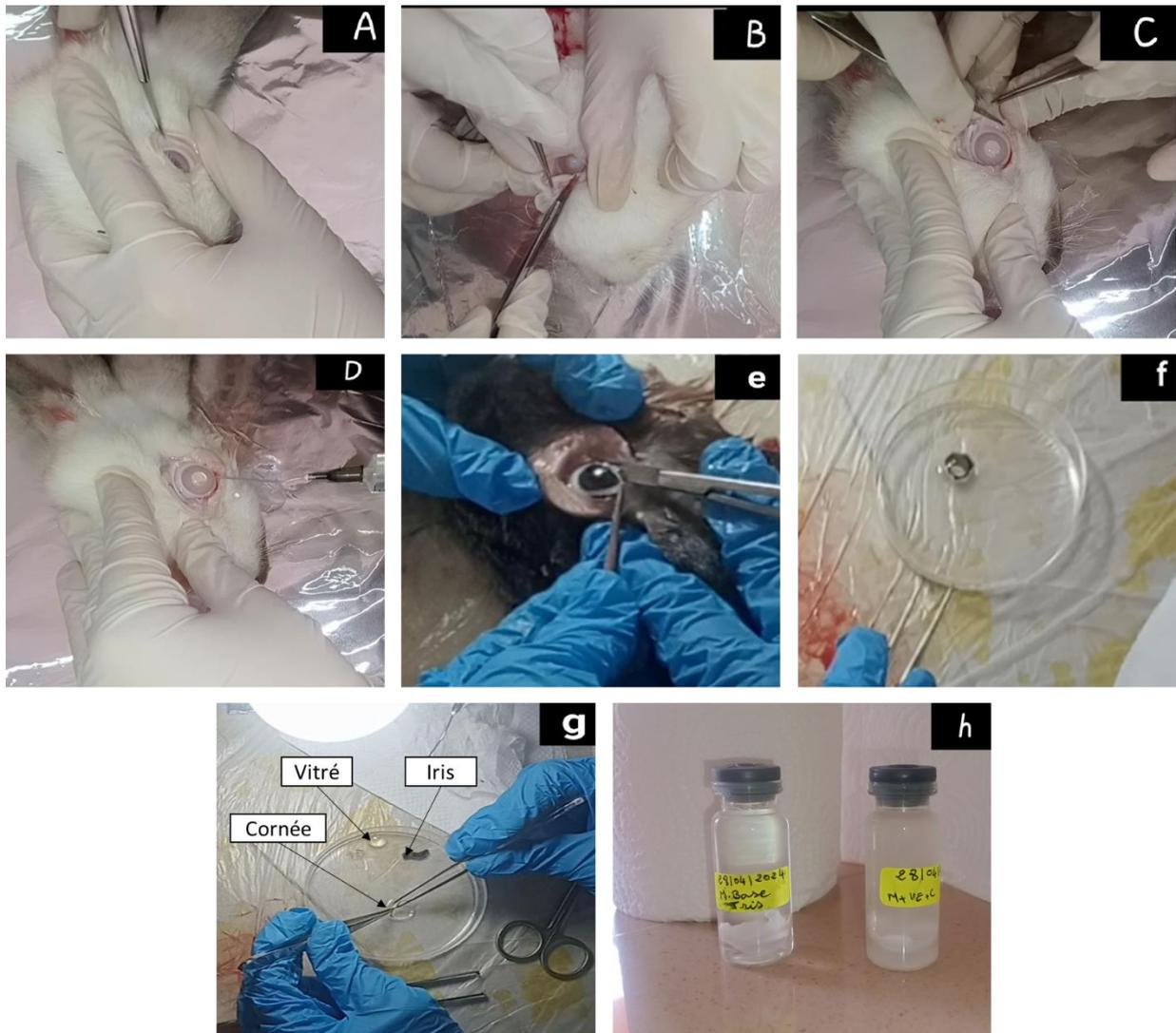
#### 1.1.2. Matériel technique :

- Seringues
- Gants
- Papier Aluminium
- Papier absorbant
- Trousse de dissection
- Alcool chirurgical
- Flacons en verre de 50 ml
- Balance
- Embouts
- Tubes secs
- Barreaux magnétiques
- Rota vapeur
- Centrifugeuse
- Spectrophotomètre
- Bain marine 95°C
- Sonicateur
- Agitateur
- Boite de pétrie

## **2. Techniques de prélèvements de la cornée :**

### **2.1. Prélèvement de la cornée (kératectomie) (Fig. 23) :**

- a)** Réaliser une incision au niveau des paupières à l'aide d'un bistouri. Cette procédure est effectuée pour ouvrir et élargir l'espace autour des yeux, ce qui permet une manipulation plus facile et libre,
- b)** Procéder à l'excision de la caroncule de l'œil à l'aide d'un ciseau, en veillant à ne pas toucher la cornée.
- c)** Réaliser une perforation de la sclère à une distance de 3 mm de la cornée à l'aide d'un bistouri,
- d)** Hydrater régulièrement la cornée avec une solution de NaCl à l'aide d'une seringue afin de prévenir sa sécheresse,
- e)** Pratiquer une découpe précise de la sclère à l'aide de ciseaux, en évitant tout contact avec la cornée,
- f)** Déposer la cornée dans une boîte de Pétri contenant une solution de NaCl.
- g)** À l'aide d'une pince chirurgicale, retirer l'iris et le corps vitré, puis rincer soigneusement la cornée avec une solution de NaCl pour éliminer les poils de lapin.
- h)** Immerger directement la cornée dans un flacon en verre de 20 ml contenant un milieu de conservation.

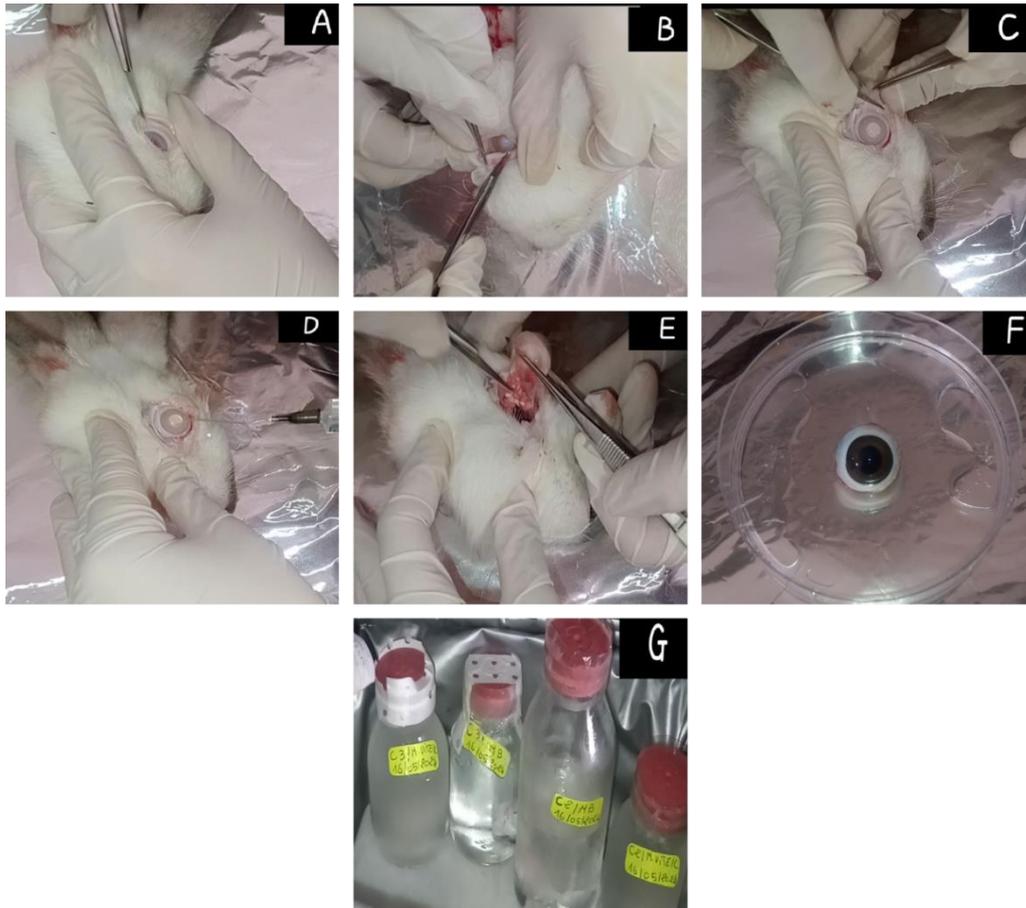


**Figure 23:** techniques de prélèvement de la cornée (photos personnelle)

### **2.3. Prélèvement de globe oculaire (inoculation) : (Fig. 24) :**

Les étapes A, B, C, et D de la kératectomie sont répétées pour libérer de l'espace et de garder l'hydratation de l'œil afin de procéder à l'énucléation

- E.** Procéder à la transection du nerf optique, séparant ainsi les connexions nerveuses entre l'œil et le cerveau,
- F.** Récupérer le globe oculaire dans une boîte de Pétri imbibée d'une solution saline de chlorure de sodium, dans le but de le rincer soigneusement et d'éliminer les éventuels résidus de poils de lapin,
- G.** Enfin, submerger le globe oculaire directement dans un flacon en verre de 50 ml contenant un milieu de conservation.



**Figure 24:** techniques de prélèvement de globe oculaire (photos personnelle)

### **3. Préparation de la dispersion vitamine E– PolyEthylène Glycol (Fig. 25) :**

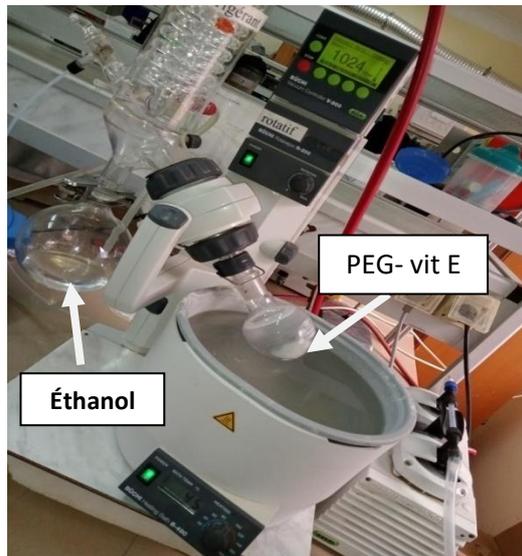
Pour cette association, nous avons suivi une proportion de 10% de vitamine E pour 90% de PEG6000. Nous avons utilisé donc 0,4 g de vitamine E et 3,6 g de PEG6000 dans 100 ml d'éthanol pur.

Dans un bécher recouvert d'aluminium pour éviter la photo-dégradation, nous avons mélangé le PEG et la vitamine E avec de l'éthanol. Nous avons ensuite laissé le mélange sous agitation pendant 2h jusqu'à ce que la solution soit homogène.

#### **➤ Evaporation :**

- Transférer le mélange PEG-vitamine E dans un ballon.
- Placer le ballon contenant le mélange sur le support du rota-vapeur,
- Régler les paramètres du rota-vapeur, tels que la température à 45° C, une rotation du ballon adéquate et une pression à 1024 mbar,
- Attendre jusqu'à évaporation totale de l'éthanol et que le complexe PEG-vit E soit complètement sec,

- Gratter soigneusement les parois intérieures du ballon pour récupérer le complexe PEG-vit E sous forme de cristaux.



**Figure 25:** complexation PEG-vitE par rotavapeur (photo personnelle)

## 4. Préparation des milieux de conservation :

### 4.1. Préparation de milieu de base :

Pour préparer la solution tampon, dans une fiole de 500 ml, mesurer avec précision les quantités nécessaires des réactifs suivants :

- Acide citrique = 6,9 g
- Fructose = 5g
- Hydroxymethyl aminomethane (Tris) = 12,1 g
- Eau distillée



**Figure 26:** Mesure des réactifs nécessaire pour le milieu de base (photos personnelles)

- a) Ajouter les réactifs mesurés dans une fiole jaugée de 500 ml, ajouter une quantité d'eau distillée en agitant jusqu'à dissolution complète de la solution, enlever le barreau magnétique et ajuster au trait de jauge avec de l'eau distillée.
- b) S'assurer du le pH de la solution en utilisant un pH-mètre (ph= 7,02).
- c) Verser la solution tampon dans un flacon propre et la conserver dans des conditions adaptées pour une utilisation ultérieure (T= 2° a 8°).



**Figure 27:** Prendre la valeur du pH

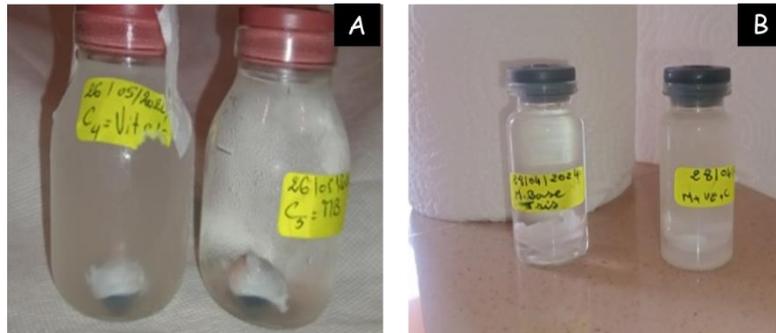
#### **4.2. Préparation du milieu de traitements (milieu de base + vitamine E-PEG + vitamine C) :**

Pour préparer la solution de traitement de 250 ml de tris, mesurer avec précision la quantité nécessaire des produits suivants :

- Vitamine E+PEG = 0,5g
  - Vitamine C= 0,025g
  - Tris = 250 ml
- 
- Dans une fiole jaugée de 250 ml, ajouter les réactifs mesurés et compléter le volume avec le milieu de base préalablement préparé.
  - Laisser le mélange sous agitation jusqu'à ce que la solution soit homogène.

## 5. La conservation de la cornée :

Juste après la collecte de la cornée ou du globe oculaire, les échantillons sont conservés dans les deux solutions de conservation, milieu de base avec et sans traitement (PEG-VitE+VitC) (Fig. 28). Ces échantillons sont conservés pendant 4 jours à une température de 4°C.



**Figure 28:** conservation des globes oculaire (A) et des cornées (B) dans les milieux de conservation avec et sans traitement

## 6. Examen de la cornée :

### 6.1. Examen macroscopique :

Pour examiner la transparence de la cornée avant et après la conservation, on a utilisé une échelle d'opacité à 3 niveaux pour évaluer le degré d'opacité. Les niveaux d'opacité sont les suivants :

**Tableau II:** l'échelle d'opacité

Niveau	Degré d'opacité
1 /3	Transparence totale
2/3	Légère opacité
3/3	Opaque

### 6.2.Examens cliniques :

Après conservation à 4°C pendant quatre jours, l'examen clinique de la cornée est effectué en utilisant différentes méthodes microscopiques, dont : la lampe à fente, la topographie, la pachymétrie et le microscope spéculaire.

Pour se faire, Le globe oculaire était soigneusement fixé sur une plaque à fond noir à l'aide d'épingles, placées délicatement sur les muscles oculomoteurs. Cette fixation a été réalisée avec une grande précision afin de préserver l'intégrité structurelle,

évitant ainsi toute déformation de la cornée et de garantir une observation précise et un examen fiable.



**Figure 29:** test microscopique de la cornée avec microscopie spéculaire

## **7. La peroxydation lipidique :**

L'objectif de ce test est de calculer la concentration des malondialdéhydes (MDA) qui se trouvent dans les tissus cornéens et ceci après lavage, découpage et centrifugation de chaque échantillon.

### **7.1. La préparation de la solution TTH :**

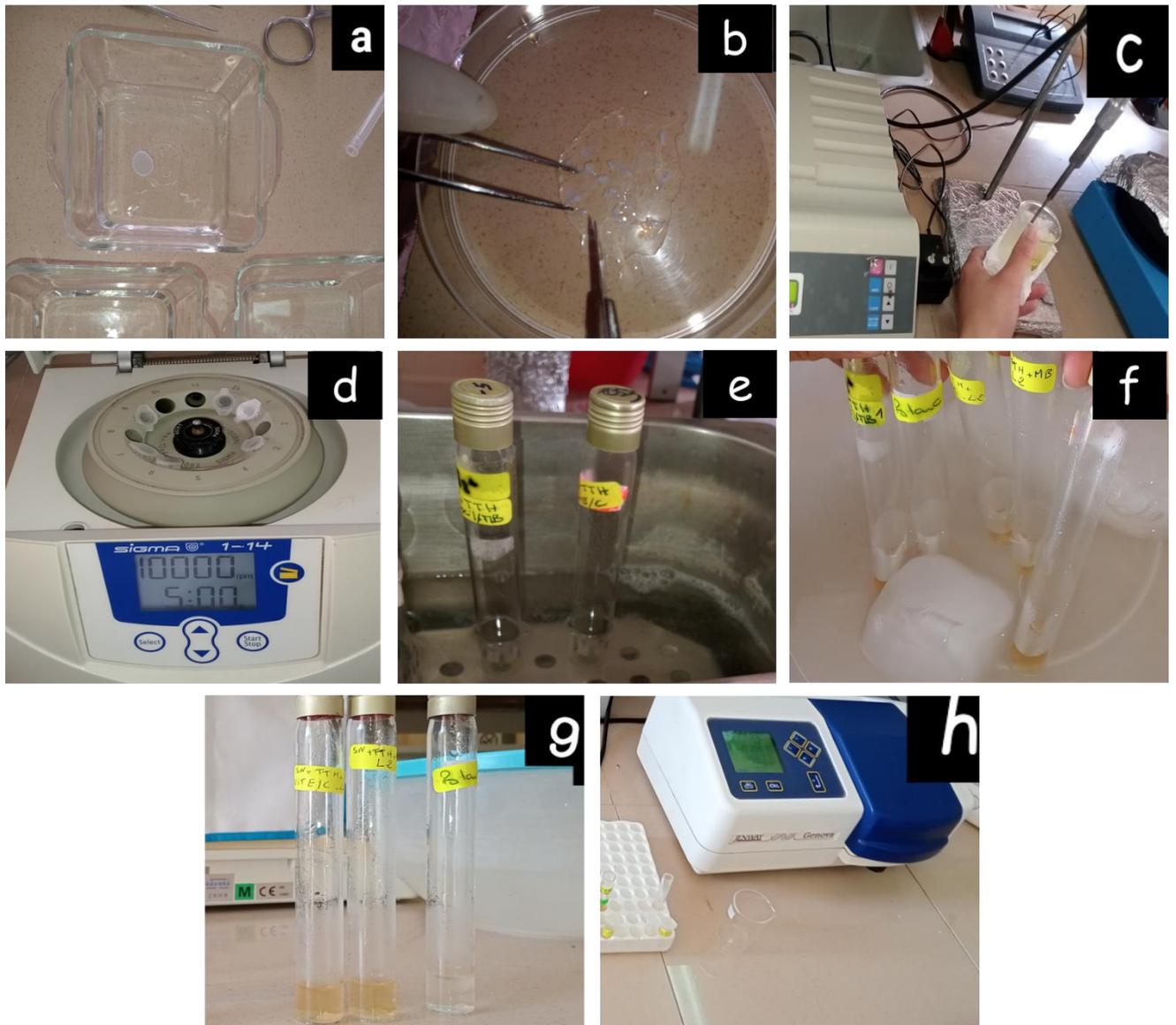
Une solution HCL (N=0,25) est préparé en mélangeant 4.41 ml de HCL (37%) à 95,59 ml d'eau distillé dans une éprouvette de 100 ml.

Dans une fiole jaugée de 100 ml, on met 0,375 g de TBA et 15 g TCA et on complète avec la solution HCL (N=0,25), la préparation est ensuite mise en agitation pendant 5 minutes. La solution TTH est conservée à -20°C dans des tubes de 10 ml (JOHN A. BUEG, 1978).

### **7.2. Méthode de dosage des malondialdéhydes :**

- a. Après analyse à l'aide de diverses techniques micro et macroscopiques, la cornée est retirée du globe oculaire, puis lavée avec une solution physiologique.
- b. Après découpage de la cornée dans une boîte de pétri, les petits morceaux sont récupérés dans un Eppendorf et remis en suspension avec 1ml d'eau distillée.

- c.** Les échantillons subissent une sonication pour la lyse cellulaire en immergeant la sonde du sonicateur dans la suspension. Réglée à une amplitude de 20 kHz, la sonication est répétée six fois dans un récipient de glace durant 15 secondes, avec des intervalles de 30 secondes.
- d.** Soumettre les Eppendorf à une centrifugation de 10 000 tr/min pendant 5 minutes.
- e.** Après la centrifugation, récupérer le surnageant avec une micropipette et le transférer dans des tubes en verre. Ajouter 2 ml de TTH à chaque échantillon, puis incubé à 95°C pendant 60 minutes pour induire la libération des MDA (malondialdéhyde).
- f.** Après 60 minutes d'incubation les tubes sont placés dans un bain d'eau glacée pendant 5 à 10 minutes. Cela permet d'interrompre rapidement toute réaction chimique et de stabiliser les échantillons pour les analyses ultérieures.
- g.** Une coloration rosâtre à jaunâtre est observée.
- h.** Les échantillons sont centrifugés à 10 000 tr/min pendant 5 minutes, puis le surnageant est récupéré dans des tubes secs. La teneur en malondialdéhyde (MDA) est ensuite mesurée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 532 nm.



**Figure 30:** les différentes étapes du test TBARS pour l'évaluation de la peroxydation lipidique de la cornée

## 8. Coupe histologique :

Après 4 jours de conservation de la cornée, nous avons procédé à la coupe histologique en suivant les étapes suivantes :

- A. Dissection de la cornée :** diviser chaque cornée provenant de chaque milieu en deux, puis déposer les fragments dans des cassettes avec une orientation horizontalement pour la première moitié et verticalement pour la deuxième.
- B. Fixation :** Les cassettes sont immergées dans un fixateur (le formol dilué à 10%), pour préserver la structure de la cornée et prévenir sa dégradation. La fixation rigidifie également le tissu, ce qui facilite sa manipulation.
- C. Déshydratation :** La cornée est déshydratée en la passant dans une bain de formol, série croissante de six bains d'alcool, trois bains de xylène et deux bains de paraffine cireux, via un appareil appelé automate de déshydratation.
- D. L'enrobage :** Une fois déshydratée, la cornée est immergée dans de la paraffine fondue. Cette saturation rend la cornée rigide et facile à découper en sections minces.
- E. Gélification :** Les blocs de paraffine contenant la cornée sont laissés à gélifier complètement au congélateur. La gélification rend la paraffine solide et stabilise le tissu imprégné.
- F. Microtomie :** Ensuite, à l'aide d'un microtome, des coupes fines (généralement de l'ordre de quelques micromètres d'épaisseur) sont réalisées sur le bloc de paraffine. Ces coupes sont ensuite étalées sur des lames de verre.
- G. Étuve :** Les lames de verre avec les sections de tissu sont placées dans une étuve (four de séchage) à une température modérée, généralement autour de 90°C, pendant environ une heure. C'est une étape essentielle pour garantir la qualité et la stabilité des coupes histologiques avant les étapes de coloration.
- H. Coloration :** Après une heure de séchage, les coupes sont prêtes pour la coloration avec des colorants histologiques, tels que l'hématoxyline (4 minutes) et l'éosine (3 minutes), en les rinçant à l'eau entre chaque application de colorant. Cette coloration permet de visualiser les différentes structures cellulaires et tissulaires sous le microscope.
- I. Montage :** Avant de passer au montage, les lames de verre contenant les coupes de cornée sont remises en étuve pendant 20 minutes. Ensuite, sous la hotte de travail, les lames sont recouvertes d'une lamelle de verre et fixées avec un milieu de montage (Eukitt) pour protéger les échantillons et les préparer à l'observation microscopique.



**Figure 31:** Les étapes de la confection des coupes histologique de la cornée

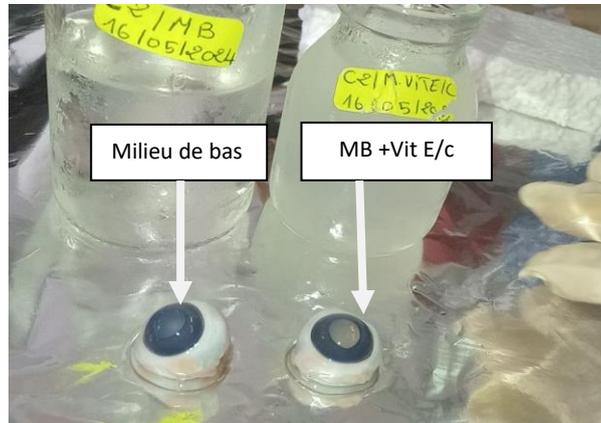
## 9. Etudes statistique :

Nous avons utilisé le logiciel de traitement des données « Stat-View 5.0. Abacus Concepts Inc., Berkeley, CA, USA » afin d'analyser et de discuter les résultats relatifs à l'épaisseur et à la concentration de MDA (malondialdéhyde) de la cornée.

# **Résultats et Discussion**

## Résultats :

### 1. Examen macroscopique :



**Figure 32:** L'observation macroscopique de l'opacité de la cornée après la conservation dans deux milieux différents

➤ Pour évaluer le degré d'opacité, nous avons utilisé une échelle à 5 niveaux. Voici les niveaux d'opacité obtenus pour ces résultats :

**Tableau III:** Le degré d'opacité de la cornée après la conservation.

	Milieu de base (tris) (MB)	Milieu de base + vitE/C (Traitement)
Lapin 1	3/3	2/3
Lapin 2	3/3	2/3
Lapin 3	3/3	2/3
Lapin 4	3/3	2/3
Lapin 5	2/3	3/3
Lapin 6	2/3	3/3

On observe que les quatre premières cornées présentent le même niveau d'opacité dans les deux milieux, MB et traitement. Pour ces quatre cornées, le milieu MB présente une opacité de 3/3 (opaque) et le traitement montre une légère opacité de 2/3.

En revanche, les deux dernières cornées se distinguent par des niveaux d'opacité différents. Dans le milieu MB, elles présentent une opacité de 2/3 (légère opacité), tandis que sous traitement, elles montrent une opacité de 3/3 (Opaque).

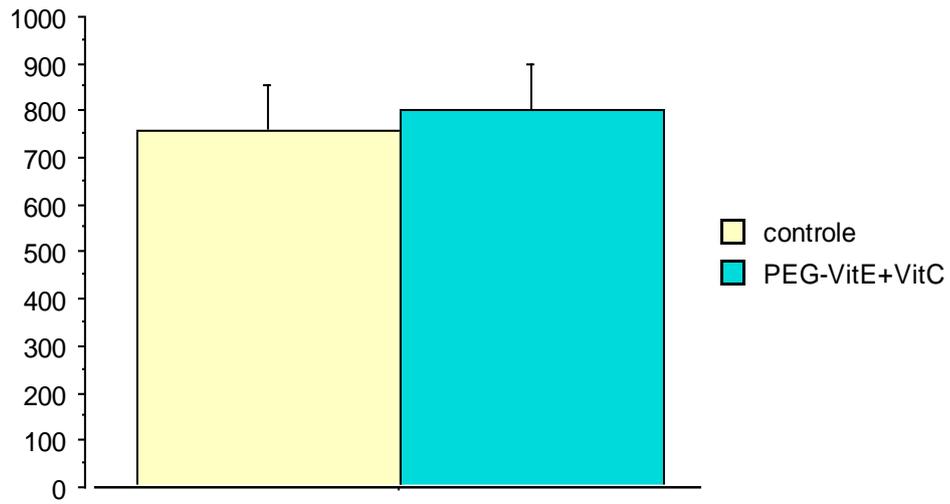
## 2. La lampe à fente :



**Figure 33:** examen de cornée a la lampe à fente

L'examen de la lampe à fente révèle que les couches de la cornée sont bien conservées. La structure des couches de la cornée reste intacte et bien préservée, que ce soit pour la cornée prélevé ou celle de l'œil inoculé dans les deux milieux de conservation.

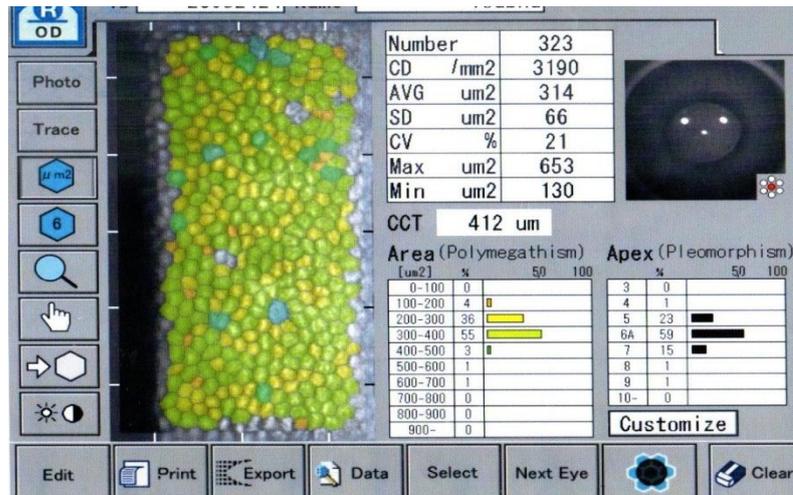
### 3. Pachymétrie :



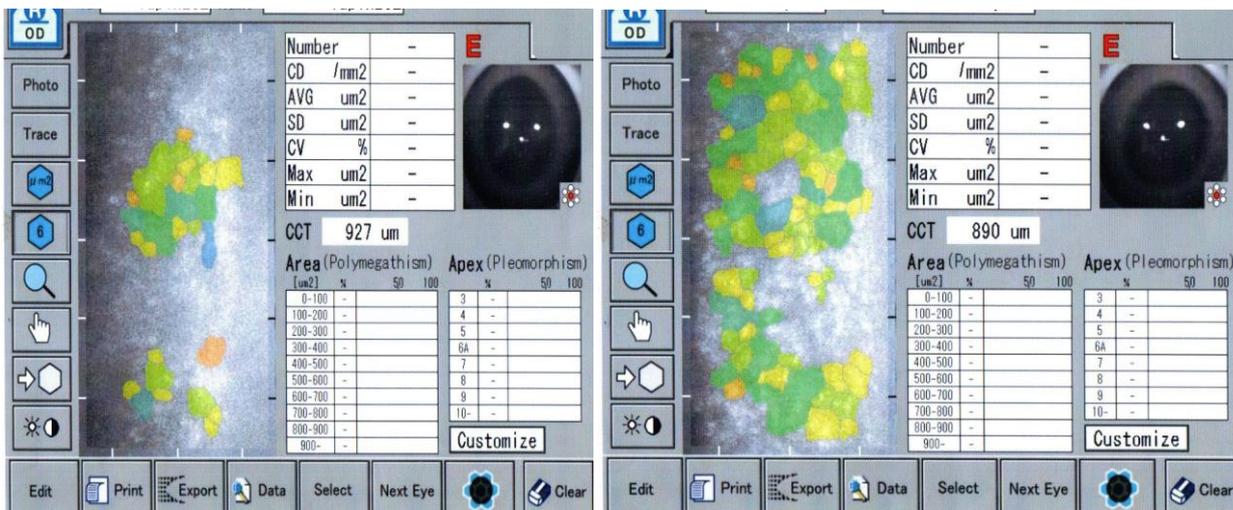
**Figure 34:** Epaisseur de la cornée de lapin dans les deux milieux, celui du contrôle et du traitement PEG-VitE+VitC.

Les résultats montrent qu'il n'y a pas de différence significative entre l'épaisseur de la cornée dans le milieu de contrôle et le milieu contenant PEG-vitamine E + vitamine C, avec  $757,05 \pm 95,8 \mu\text{m}$  et  $801,75 \pm 97,29 \mu\text{m}$  respectivement.

#### 4. Microscopie spéculaire :



**Figure 35:** examen de la corné avant la conservation avec le microscope spéculaire.



Examen avec le microscope spéculaire après la conservation dans le MB

Examen avec le microscope spéculaire après la conservation dans le traitement (PEG-VitE+VitC)

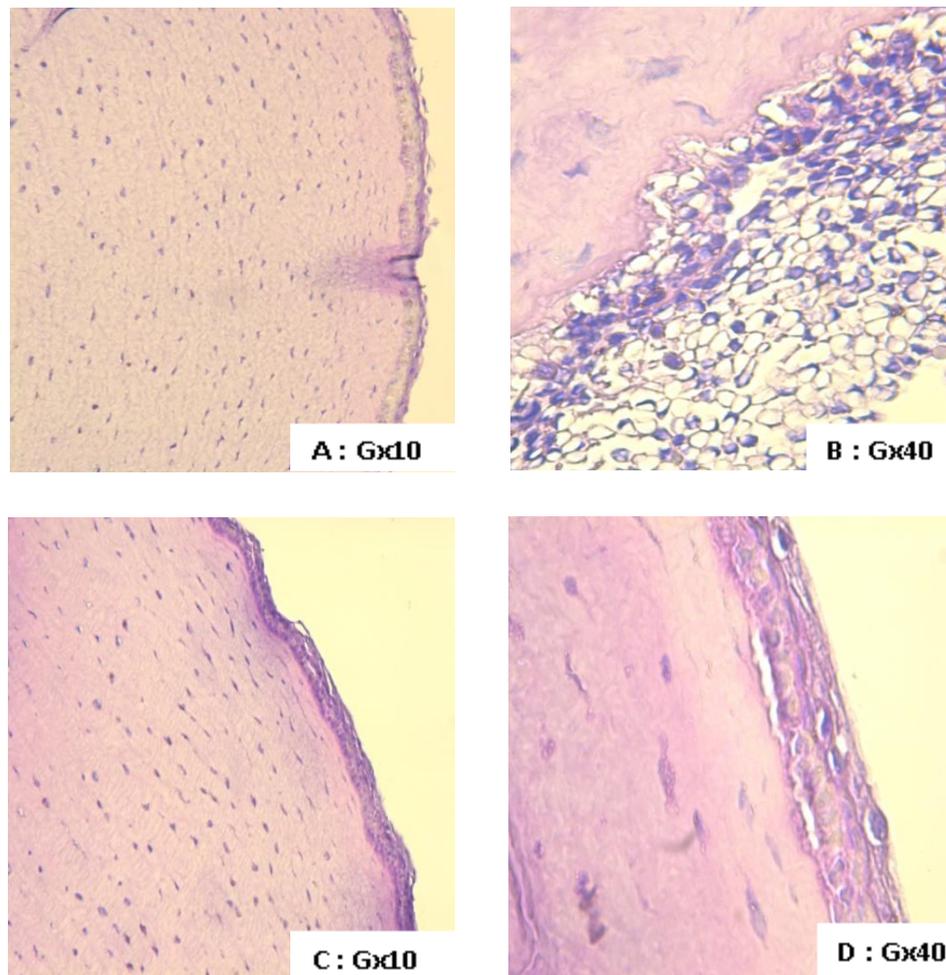
**Figure 36:** Examen de la cornée avec le microscope spéculaire après conservation de 04 jours à 04°C.

L'examen de la cornée avant conservation au microscope spéculaire a révélé une densité importante de cellules endothéliales de 3190/mm<sup>3</sup> (Fig. 35), ainsi qu'une épaisseur et une morphologie conformes aux normes chez le lapin.

Après avoir conservé la cornée d'un lapin dans deux milieux différents, l'un étant un milieu de base et l'autre un milieu de base enrichi en vitamines E et C, pendant quatre jours à une température de 04°C, on remarque une baisse de la densité des cellules

endothéliale. Cependant, le milieu enrichi en vitamines E et C a maintenu une densité plus élevée par rapport au milieu de base, gardant ainsi une viabilité élevée de cellules endothéliales (Fig. 36).

## 5. La coupe histologique :



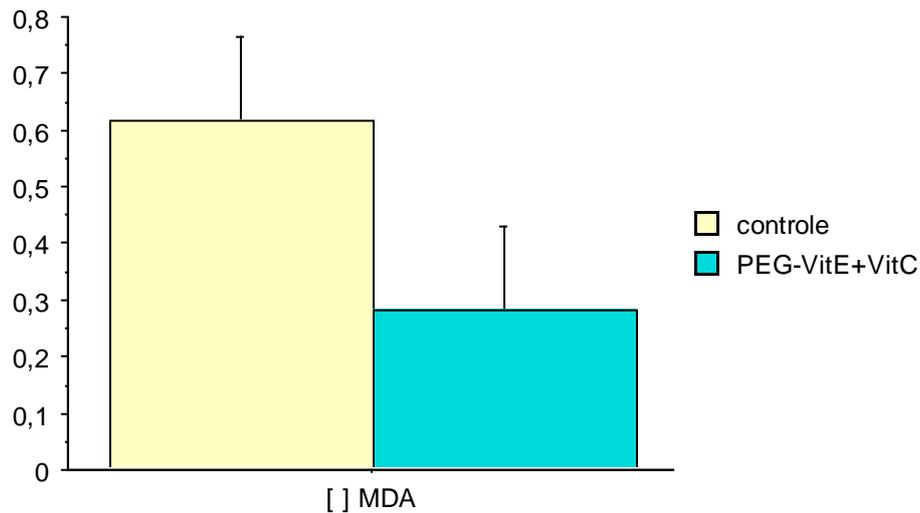
**Figure 37:** coupe histologique d'une cornée du lapin après la conservation dans deux milieux différents : milieu de base (A et B), milieu du traitement PEG-VitE+VitC (C et D).

Ces coupes histologiques permettent de révéler l'impact des deux milieux de conservation sur la structure histologique de la cornée de lapin, en mettant en évidence les différences dans l'intégrité et la préservation des couches épithéliale et stromale.

Dans le milieu de base (**A et B**), l'épithélium montre des signes de desquamation ou de perte de cohésion cellulaire, indiquant ainsi une possible détérioration ou altération des cellules. De manière similaire, le stroma présente une désorganisation marquée, accompagnée d'indications potentielles de dégradation de la matrice extracellulaire.

Par contre, dans le milieu de traitement (C et D), l'épithélium apparaît plus intact, avec une meilleure cohésion cellulaire et moins de signes de dégradation. Le stroma semble plus dense et organisé, indiquant une meilleure préservation des fibres de collagène et de la matrice extracellulaire.

## 6. Stress oxydatif :



**Figure 38:** Concentration des MDA de la cornée de lapin dans les deux milieu de base et PEG-VitE+VitC après 04 jours de conservation à 04°C.

La figure 38 montre la concentration de MDA dans la cornée conservée dans le milieu de base qui est de  $0,62 \pm 0,15$  nmol/ml. Alors qu'elle est nettement plus faible dans le milieu contenant PEG-VitE+VitC à une valeur de  $0,28 \pm 0,15$ .

## Discussions :

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'efficacité des vitamines E et C en tant qu'antioxydants dans la conservation de la cornée du lapin. Plus précisément, cette recherche vise à déterminer si l'incorporation de ces vitamines dans les solutions de conservation peut améliorer la viabilité cellulaire, la transparence et la peroxydation lipidique au cours du stockage de quatre jours à une température de 04°C.

Les résultats montrent qu'après quatre jours de conservation à une température de 04°C, une opacité accrue a été observée dans la plupart des expériences utilisant le milieu de contrôle (Tris) par rapport au milieu de traitement contenant PEG-VitE+VitC. L'examen au microscope spéculaire a révélé une plus grande densité de cellules endothéliales vivantes dans le milieu de traitement par rapport au milieu témoin (Tris). De plus, les coupes histologiques ont confirmé que les couches épithéliales et stromale étaient mieux conservées et préservées dans le milieu de traitement que dans le milieu Tris.

Les résultats du test de la peroxydation lipidique ont révélé également que la concentration en malondialdéhyde (MDA) est nettement plus faible dans le milieu contenant du PEG-VitE+VitC, comparé au milieu de contrôle. Cette faible de MDA, indique que le milieu du traitement est plus efficace pour minimiser l'oxydation lipidique dans la cornée de lapin conservée. Les propriétés antioxydants de la vitamine E et de la vitamine C semblent jouer un rôle crucial dans la protection contre le stress oxydatif **(Reddy et al., 1989)**.

Notre recherche a révélé que le milieu de traitement enrichi en PEG, vitamine E et vitamine C présente une efficacité supérieure dans la conservation des couches cornéennes comparé au milieu de base. Cela est probablement due au pouvoir antioxydant des deux vitamines ainsi que le phénomène de synergie entre elles, assurant une meilleure protection contre les attaques radicalaires **(Lux-Neuwirth & Millar, 1990 ; Trotta et al., 2023)**. Ces résultats suggèrent que l'utilisation de PEG, vitamine E et vitamine C pourrait être une stratégie efficace pour améliorer la conservation des cornées, réduisant ainsi les dommages cellulaires et favorisant la viabilité des tissus cornéens sur une période plus longue.

Il est important de noter que l'ajout de PEG, un polymère hydrophile, au milieu de conservation peut augmenter la pression osmotique, ce qui peut conduire à une absorption excessive d'eau par la cornée et à son gonflement. Ce phénomène de gonflement cornéen peut avoir des implications cliniques importantes, notamment en ce qui concerne la transparence et la fonctionnalité de la cornée après conservation **(Liaw & Robinson, 1992)**. Nos résultats montrent que l'épaisseur de la cornée dans le milieu enrichi en PEG, vitamine E et vitamine C est légèrement élevée à celle observée dans le milieu de contrôle. Cela est dû probablement à sa complexation avec la vitamine E et de ne pas utiliser le PEG seul.

La microscopie spéculaire a révélé une baisse importante de cellules endothéliales dans les deux milieux testés. Ces résultats suggèrent que le Tris pourrait ne pas être idéal pour la conservation de la cornée. Une avenue prometteuse pour de futures études serait de remplacer le Tris par une autre molécule tampon, tel que le HEPES, connue pour ses propriétés tampon plus stables à différentes températures et degrés de pH (**Good et al., 1966 ; Cho et al., 2023**) essentiel pour le maintien des cellules endothéliales. Il serait pertinent d'évaluer si le HEPES pourrait mieux préserver l'intégrité de la cornée en minimisant les variations de pH et en offrant ainsi une meilleure protection de la viabilité cellulaire et de l'intégrité cornéenne. De plus, l'utilisation d'autres antioxydants, tels que la vitamine A, reconnue pour ses propriétés antioxydantes et son rôle dans le maintien de la santé oculaire, pourrait être explorée pour améliorer de plus la protection de la cornée contre le stress oxydatif.

En conclusion, nos résultats démontrent l'efficacité supérieure du milieu de conservation enrichi en PEG-VitE+VitC dans la protection contre l'oxydation lipidique et la préservation des couches cornéennes. Les propriétés antioxydantes des vitamines E et C semblent jouer un rôle clé dans l'amélioration de la conservation cornéenne. Toutefois, il est essentiel de prendre en compte les effets potentiels de PEG sur la pression osmotique et l'épaisseur de la cornée, afin de maximiser les bénéfices tout en minimisant les risques associés à l'utilisation de ce milieu de conservation.

# **Conclusion**

## **Conclusion :**

La présente étude vise à évaluer l'efficacité de l'utilisation de la vitamine E et de la vitamine C dans la conservation de la cornée du lapin à 04°C. Nos résultats démontrent que l'ajout de ces antioxydants aux solutions de conservation peut améliorer la viabilité et la fonctionnalité des cellules cornéennes après une conservation de 04 jours.

En effet, les cornées traitées avec de la vitamine E et de la vitamine C ont montré une meilleure préservation des cellules endothéliales comparées aux cornées conservées dans le contrôle (tris). Cela suggère que ces vitamines possèdent des propriétés cytoprotectrices, grâce à leur capacités antioxydants qui est démontré par la baisse des taux de malondialdéhyde (MDA), indiquant une réduction des dommages oxydatifs aux membranes cellulaires, et contribuant ainsi à une meilleure préservation des cornées.

Les observations histologiques confirment ces résultats, montrant que l'ajout de vitamines E et C aux solutions de conservation des cornées du lapin offre une meilleure protection à la fois pour l'épithélium et le stroma essentielle pour le succès des transplantations cornéennes.

Les résultats de cette étude suggèrent que l'incorporation de vitamines E et C dans les milieux de conservation de la cornée pourrait représenter une avancée pour la Kératoplastie. L'amélioration de la viabilité et de la fonctionnalité des cornées conservées pourrait augmenter les taux de succès des transplantations, en prolongeant la durée de vie des greffons et réduisant les risques de rejet.

# **Références bibliographiques**

## Référence bibliographique :

Akram, H. (2012). *Construction d'un Atlas 3D numérique de la cornée humaine par recalage d'images*.

Montréal.

Alice, D. (2014). *Comparaison des techniques automatiques et manuelles ultrafines de préparation du greffon endothélial dans la dystrophie de Fuchs : Programme hospitalier de recherche clinique du CHU de Rouen. Résultats intermédiaires* [FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DE ROUEN]. <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01081519>

Álvarez-Barrios, A., Álvarez, L., García, M., Artime, E., Pereiro, R., & González-Iglesias, H. (2021).

Antioxidant Defenses in the Human Eye : A Focus on Metallothioneins. *Antioxidants*, 10(1), 89. <https://doi.org/10.3390/antiox10010089>

Amrouni, M. (2019, février 1). *Prés de 700 greffes d'organes et de tissus effectuées en 2018 en Algérie*. <https://www.algerie360.com/>

Anne-Sophie, G. (2018a). *Contribution à l'amélioration de la conservation cornéenne en bioréacteur* [Bourgogne Franche-Comté]. <https://theses.hal.science/tel-03224330>

Anne-Sophie, G. (2018b). *Contribution à l'amélioration de la conservation cornéenne en bioréacteur* [Bourgogne Franche-Comté]. <https://theses.hal.science/tel-03224330>

Armitage, W. J. (2008). Developments in Corneal Preservation. In T. Reinhard & F. Larkin (Éds.), *Cornea and External Eye Disease* (p. 101-114). Springer Berlin Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/978-3-540-33681-5\\_6](https://doi.org/10.1007/978-3-540-33681-5_6)

Armitage, W. J. (2011). Preservation of Human Cornea. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*, 38(2), 143-147. <https://doi.org/10.1159/000326632>

Arne, J. L., & Fournié, P. (2011). La plus commune des dystrophies cornéennes : Le kératocône. Peut-on éviter la greffe ? *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine*, 195(1), 113-129. [https://doi.org/10.1016/S0001-4079\(19\)32111-9](https://doi.org/10.1016/S0001-4079(19)32111-9)

- Berlett, B. S., & Stadtman, E. R. (1997). Protein Oxidation in Aging, Disease, and Oxidative Stress. *Journal of Biological Chemistry*, 272(33), 20313-20316.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.272.33.20313>
- Bilgihan, K., Ozdek, S., Ozoğul, C., Gurelik, G., Bilgihan, A., & Hasanreisoglu, B. (2000). Topical vitamin E and hydrocortisone acetate treatment after photorefractive keratectomy. *Eye*, 14(2), 231-237. <https://doi.org/10.1038/eye.2000.60>
- Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012). Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *World Allergy Organization Journal*, 5(1), 9-19.  
<https://doi.org/10.1097/WOX.0b013e3182439613>
- Burton, G. J., & Jauniaux, E. (2011). Oxidative stress. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 25(3), 287-299. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2010.10.016>
- Buxeraud, J., & Faure, S. (2021). La vitamine C. *Actualités Pharmaceutiques*, 60(604), S24-S26.  
<https://doi.org/10.1016/j.actpha.2021.01.025>
- Cabrera, M. P., & Chihuailaf, R. H. (2011). Antioxidants and the Integrity of Ocular Tissues. *Veterinary Medicine International*, 2011, 1-8. <https://doi.org/10.4061/2011/905153>
- Capella, J. A., Kaufman, H. E., & Robbins, J. E. (1965). Preservation of Viable Corneal Tissue. *Archives of Ophthalmology*, 74(5), 669-673. <https://doi.org/10.1001/archophth.1965.00970040671015>
- Cejka, C., & Cejkova, J. (2015). Oxidative Stress to the Cornea, Changes in Corneal Optical Properties, and Advances in Treatment of Corneal Oxidative Injuries. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2015, 1-10. <https://doi.org/10.1155/2015/591530>
- Chen, J., Lan, J., Liu, D., Backman, L. J., Zhang, W., Zhou, Q., & Danielson, P. (2017). Ascorbic Acid Promotes the Stemness of Corneal Epithelial Stem/Progenitor Cells and Accelerates Epithelial Wound Healing in the Cornea. *Stem Cells Translational Medicine*, 6(5), 1356-1365.  
<https://doi.org/10.1002/sctm.16-0441>

- Chiambaretta, F., Pilon, F., Rigal, D., & Gerard, M. (2004). Cornée : Méthodes d'examen et sémiologie. *EMC - Ophtalmologie*, 1(1), 1-16. [https://doi.org/10.1016/S0246-0343\(01\)00053-3](https://doi.org/10.1016/S0246-0343(01)00053-3)
- Cho, C.-C., Lin, C.-J., Huang, H.-H., Yang, W.-Z., Fei, C.-Y., Lin, H.-Y., Lee, M.-S., & Yuan, H. S. (2023). Mechanistic Insights into Harmine-Mediated Inhibition of Human DNA Methyltransferases and Prostate Cancer Cell Growth. *ACS Chemical Biology*, 18(6), 1335-1350. <https://doi.org/10.1021/acscchembio.3c00065>
- Colin, J., & Simonpoli, S. (2005). Le kératocône : Options chirurgicales actuelles. *Journal Français d'Ophtalmologie*, 28(2), 205-217. [https://doi.org/10.1016/S0181-5512\(05\)81045-9](https://doi.org/10.1016/S0181-5512(05)81045-9)
- Creisson, G., Salame, N., & Delbosc, B. (2004). Kératites interstitielles. *EMC - Ophtalmologie*, 1(2), 89-101. <https://doi.org/10.1016/j.emcop.2004.02.001>
- De Oliveira, R. C., & Wilson, S. E. (2020). Descemet's membrane development, structure, function and regeneration. *Experimental Eye Research*, 197, 108090. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2020.108090>
- des professionnels, de santé. (2021, septembre 2). *La pachymétrie*. <https://www.chu-Toulouse.fr>  
<https://www.chu-Toulouse.fr>
- Dr. Damien Gatinel, G. (2023, mai). *La cornée*. <https://www.gatinel.com/2023>  
<https://www.gatinel.com/2023/>
- Eastcott, H. H. G., Cross, A. G., Leigh, A. G., & North, D. P. (1954). PRESERVATION OF CORNEAL GRAFTS BY FREEZING. *The Lancet*, 263(6805), 237-239. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(54\)90879-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(54)90879-X)
- Emond, V., MacLaren, L. A., Kimmins, S., Arosh, J. A., Fortier, M. A., & Lambert, R. D. (2004). Expression of Cyclooxygenase-2 and Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor in the Endometrial Epithelium of the Cow Is Up-Regulated During Early Pregnancy and in Response to Intrauterine Infusions of Interferon- $\tau$ 1. *Biology of Reproduction*, 70(1), 54-64. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.103.018689>

- Esther van, P., Ph. D. (2021, septembre). *Pathologies et malformations des yeux chez le lapin*.  
MediRabbit.Com. <http://www.medirabbit.com>
- Fournié, P., Touboul, D., Arné, J.-L., Colin, J., & Malecaze, F. (2013). Kératocône. *Journal Français d'Ophthalmologie*, 36(7), 618-626. <https://doi.org/10.1016/j.jfo.2013.05.004>
- Gain, P., Jullienne, R., He, Z., Aldossary, M., Acquart, S., Cognasse, F., & Thuret, G. (2016). Global Survey of Corneal Transplantation and Eye Banking. *JAMA Ophthalmology*, 134(2), 167. <https://doi.org/10.1001/jamaophthalmol.2015.4776>
- Ghemame, M., Charpentier, P., & Mouriaux, F. (2019). Corneal topography in clinical practice. *Journal Français d'Ophthalmologie*, 42(10), e439-e451. <https://doi.org/10.1016/j.jfo.2019.09.001>
- gilles, renard. (2001). *La cornée* (scientifique et médicale Elsevier).
- Giraud, S., Codas, R., Hauet, T., Eugene, M., & Badet, L. (2014). Polyethylene glycols and organ protection against I/R injury. *Progrès En Urologie*, 24, S37-S43. [https://doi.org/10.1016/S1166-7087\(14\)70062-4](https://doi.org/10.1016/S1166-7087(14)70062-4)
- Giroux, T. (2004). *ÉTUDE DE LA GUÉRISON D'UNE DÉFICIENCE EN CELLULES SOUCHES DANS LA CORNÉE DE LAPIN À L'AIDE DE CELLULES ÉPITHÉLIALES CULTIVÉES SUR UN GEL DE FIBRINE [LAVAL QUÉBEC]*. <http://hdl.handle.net/20.500.11794/18730>
- Good, N. E., Winget, G. D., Winter, W., Connolly, T. N., Izawa, S., & Singh, R. M. M. (1966). Hydrogen Ion Buffers for Biological Research \*. *Biochemistry*, 5(2), 467-477. <https://doi.org/10.1021/bi00866a011>
- Goudable, J., & Favier, A. (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 11(2), 115-120. [https://doi.org/10.1016/S0985-0562\(97\)80058-1](https://doi.org/10.1016/S0985-0562(97)80058-1)
- Hasany, S. M., & Basu, P. K. (1987). Changes of MK medium during storage of human cornea. *British Journal of Ophthalmology*, 71(6), 477-483. <https://doi.org/10.1136/bjo.71.6.477>
- Jablonka-Shariff, A., & Olson, L. M. (2000). Nitric oxide is essential for optimal meiotic maturation of murine cumulus-oocyte complexes in vitro. *Molecular Reproduction and Development*, 55(4), 412-421. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2795\(200004\)55:4<412::AID-MRD9>3.0.CO;2-W](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2795(200004)55:4<412::AID-MRD9>3.0.CO;2-W)

- Jirsova, K. (2017). The Cornea, Anatomy and Function. In K. Jirsova, *Light and Specular Microscopy of the Cornea* (p. 1-21). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-48845-5\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-48845-5_1)
- JOHN A. BUEG. (1978). *Microsomal lipid peroxidation*.  
<https://www.researchgate.net/publication/235331183>
- Kaufman, H. E., Varnell, E. D., Kaufman, S., Beuerman, R. W., & Barron, B. A. (1985). K-Sol Corneal Preservation. *American Journal of Ophthalmology*, 100(2), 299-304.  
[https://doi.org/10.1016/0002-9394\(85\)90796-2](https://doi.org/10.1016/0002-9394(85)90796-2)
- Krumeich, J. H., Daniel, J., & Knülle, A. (1998). Live-epikeratophakia for keratoconus. *Journal of Cataract and Refractive Surgery*, 24(4), 456-463. [https://doi.org/10.1016/S0886-3350\(98\)80284-8](https://doi.org/10.1016/S0886-3350(98)80284-8)
- Lachkar, Y. (2007). Les points-clés de la clinique. *Journal Français d'Ophtalmologie*, 30(5), 39-42.  
[https://doi.org/10.1016/S0181-5512\(07\)89650-1](https://doi.org/10.1016/S0181-5512(07)89650-1)
- Lapointe, J., Kimmins, S., MacLaren, L. A., & Bilodeau, J.-F. (2005). Estrogen Selectively Up-Regulates the Phospholipid Hydroperoxide Glutathione Peroxidase in the Oviducts. *Endocrinology*, 146(6), 2583-2592. <https://doi.org/10.1210/en.2004-1373>
- Léah Duclos, I. (2023). *Actualités bibliographiques des kératoplasties chez les carnivores domestiques* [la Faculté de Médecine de Créteil (UPEC)]. <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04300516>
- Lei, X. G., Zhu, J.-H., Cheng, W.-H., Bao, Y., Ho, Y.-S., Reddi, A. R., Holmgren, A., & Arnér, E. S. J. (2016). Paradoxical Roles of Antioxidant Enzymes : Basic Mechanisms and Health Implications. *Physiological Reviews*, 96(1), 307-364.  
<https://doi.org/10.1152/physrev.00010.2014>
- Liaw, J., & Robinson, J. R. (1992). The effect of polyethylene glycol molecular weight on corneal transport and the related influence of penetration enhancers. *International Journal of Pharmaceutics*, 88(1-3), 125-140. [https://doi.org/10.1016/0378-5173\(92\)90309-P](https://doi.org/10.1016/0378-5173(92)90309-P)

- Liu, C., Ogando, D., & Bonanno, J. A. (2011). SOD2 contributes to anti-oxidative capacity in rabbit corneal endothelial cells. *Molecular Vision*, *17*, 2473-2481.
- Loiseau, A., Raïche-Marcoux, G., Maranda, C., Bertrand, N., & Boisselier, E. (2023). Animal Models in Eye Research : Focus on Corneal Pathologies. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(23), 16661. <https://doi.org/10.3390/ijms242316661>
- Lux-neuwirth, O., & Millar, T. J. (1990). Lipid soluble antioxidants preserve rabbit corneal cell function. *Current Eye Research*, *9*(2), 103-109. <https://doi.org/10.3109/02713689008995196>
- Maëlis, B. (2021). *Stratégies galéniques actuelles dans le développement de formes ophtalmiques : Application au syndrome de l'œil sec* [université de Bordeaux]. <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03545014>
- MARIÈVE GIROUX, T. (2004). *ÉTUDE DE LA GUÉRISON D'UNE DÉFICIENCE EN CELLULES SOUCHES DANS LA CORNÉE DE LAPIN À L'AIDE DE CELLULES ÉPITHÉLIALES CULTIVÉES SUR UN GEL DE FIBRINE* [UNIVERSITÉ LAVAL]. <http://hdl.handle.net/20.500.11794/18730>
- Martínez-Cayuela, M. (1995). Oxygen free radicals and human disease. *Biochimie*, *77*(3), 147-161. [https://doi.org/10.1016/0300-9084\(96\)88119-3](https://doi.org/10.1016/0300-9084(96)88119-3)
- Maurice, D. M. (1957). The structure and transparency of the cornea. *The Journal of Physiology*, *136*(2), 263-286. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1957.sp005758>
- Meek, K. M., & Knupp, C. (2015). Corneal structure and transparency. *Progress in Retinal and Eye Research*, *49*, 1-16. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2015.07.001>
- Méthot, S. (2023). *La dystrophie endothéliale cornéenne de Fuchs sous l'angle de la mitochondrie : Marqueur de progression et avenue de traitement* [LAVAL]. <http://hdl.handle.net/20.500.11794/123243>
- Migdal, C., & Serres, M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences*, *27*(4), 405-412. <https://doi.org/10.1051/medsci/2011274017>
- Miyazawa, T., Burdeos, G. C., Itaya, M., Nakagawa, K., & Miyazawa, T. (2019). Vitamin E : Regulatory Redox Interactions. *IUBMB Life*, *71*(4), 430-441. <https://doi.org/10.1002/iub.2008>

- Ojeda, J. L., Ventosa, J. A., & Piedra, S. (2001). The three-dimensional microanatomy of the rabbit and human cornea. A chemical and mechanical microdissection-SEM approach. *Journal of Anatomy*, 199(5), 567-576. <https://doi.org/10.1046/j.1469-7580.2001.19950567.x>
- Pascale, D. (2018). *Contribution de la kinase WNK1 à la guérison des plaies cornéennes* [université de laval]. 1276808148
- Pei, W., Chen, J., Wu, W., Wei, W., Yu, Y., & Feng, Y. (2021). Comparison of the rabbit and human corneal endothelial proteomes regarding proliferative capacity. *Experimental Eye Research*, 209, 108629. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2021.108629>
- Perez Martinez, S., Farina, M., Ogando, D., Ribeiro, M. L., Gimeno, M., & Franchi, A. M. (2000). Nitric oxide inhibits prostanoid synthesis in the rat oviduct. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids (PLEFA)*, 62(4), 239-242. <https://doi.org/10.1054/plef.2000.0149>
- Philippe, F. (2002). *L'œil et les pathologies oculaires chez le lapin domestique*. Paul-Sabatier de Toulouse.
- Pradeau, D., Stocco, J., & Chaumeil, J.-C. (2008). Solutions pour conservation d'organes et pour cardioplégie. Le rôle du pharmacien hospitalier. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 66(1), 1-18. <https://doi.org/10.1016/j.pharma.2007.11.001>
- Remington, L. A. (2012). Visual System. In *Clinical Anatomy and Physiology of the Visual System* (p. 1-9). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4377-1926-0.10001-3>
- Ruusuvaara, P. (1979). EFFECTS OF CORNEAL PRESERVATION, DONOR AGE, CADAVER TIME AND POSTOPERATIVE PERIOD ON THE GRAFT ENDOTHELIUM : A specular microscopic study. *Acta Ophthalmologica*, 57(5), 868-881. <https://doi.org/10.1111/j.1755-3768.1979.tb01854.x>
- Saad, S., Saad, R., Jouve, L., Kallel, S., Trinh, L., Goemaere, I., Borderie, V., & Bouheraoua, N. (2020). Corneal crosslinking in keratoconus management. *Journal Français d'Ophtalmologie*, 43(10), 1078-1095. <https://doi.org/10.1016/j.jfo.2020.07.002>

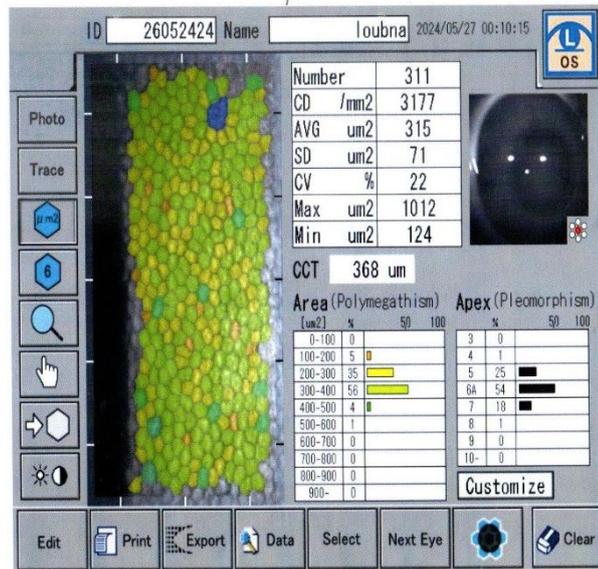
- Serra, H. M., Suárez, M. F., Espósito, E., & Urrets-Zavalía, J. A. (2014). Vitamin C Functions in the Cornea. In *Handbook of Nutrition, Diet and the Eye* (p. 311-320). Elsevier.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-401717-7.00031-9>
- Shoham, A., Hadziahmetovic, M., Dunaief, J. L., Mydlarski, M. B., & Schipper, H. M. (2008a). Oxidative stress in diseases of the human cornea. *Free Radical Biology and Medicine*, *45*(8), 1047-1055.  
<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2008.07.021>
- Shoham, A., Hadziahmetovic, M., Dunaief, J. L., Mydlarski, M. B., & Schipper, H. M. (2008b). Oxidative stress in diseases of the human cornea. *Free Radical Biology and Medicine*, *45*(8), 1047-1055.  
<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2008.07.021>
- Sorg, O. (2004). Oxidative stress : A theoretical model or a biological reality? *Comptes Rendus. Biologies*, *327*(7), 649-662. <https://doi.org/10.1016/j.crvi.2004.05.007>
- Spector, A. (2000). Review : Oxidative Stress and Disease. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*, *16*(2), 193-201. <https://doi.org/10.1089/jop.2000.16.193>
- Strain, J. J., & Mulholland, C. W. (1992). Vitamin C and vitamin E — synergistic interactions in vivo? In I. Emerit & B. Chance (Éds.), *Free Radicals and Aging* (p. 419-422). Birkhäuser Basel.  
[https://doi.org/10.1007/978-3-0348-7460-1\\_40](https://doi.org/10.1007/978-3-0348-7460-1_40)
- Subasinghe, S. K., Ogbuehi, K. C., Mitchell, L., & Dias, G. J. (2021). Animal model with structural similarity to human corneal collagen fibrillar arrangement. *Anatomical Science International*, *96*(2), 286-293. <https://doi.org/10.1007/s12565-020-00590-8>
- Szaflik, J., Liberek, I., & Brix, M. (2000). Corneal storage methods. *Transplantation Proceedings*, *32*(6), 1424-1425. [https://doi.org/10.1016/S0041-1345\(00\)01280-X](https://doi.org/10.1016/S0041-1345(00)01280-X)
- Trotta, M. C., Herman, H., Balta, C., Rosu, M., Ciceu, A., Mladin, B., Gesualdo, C., Lepre, C. C., Russo, M., Petrillo, F., Pieretti, G., Simonelli, F., Rossi, S., D'Amico, M., & Hermenean, A. (2023). Oral Administration of Vitamin D3 Prevents Corneal Damage in a Knock-Out Mouse Model of Sjögren's Syndrome. *Biomedicines*, *11*(2), 616.  
<https://doi.org/10.3390/biomedicines11020616>

- V. POITOUT, P. (2008). *STRESS OXYDATIF, INSULINOSECRETION, ET INSULINORESISTANCE*. University of Washington, Seattle, WA, USA.
- Wardman, P., & Candeias, L. P. (1996). Fenton chemistry : An introduction. *Radiation Research*, 145(5), 523-531.
- Whitcher, J. P., Srinivasan, M., & Upadhyay, M. P. (2001). Corneal blindness : A global perspective. *Bulletin of the World Health Organization*, 79(3), 214-221.
- Wilson, S. E. (2023). The Cornea : No Difference in the Wound Healing Response to Injury Related to Whether, or Not, There's a Bowman's Layer. *Biomolecules*, 13(5), 771.  
<https://doi.org/10.3390/biom13050771>
- Xu, D., Wu, L., Yao, H., & Zhao, L. (2022). Catalase-Like Nanozymes : Classification, Catalytic Mechanisms, and Their Applications. *Small*, 18(37), 2203400.  
<https://doi.org/10.1002/sml.202203400>
- Yang, A. Y., Chow, J., & Liu, J. (2018). Corneal Innervation and Sensation : The Eye and Beyond. *The Yale Journal of Biology and Medicine*, 91(1), 13-21.

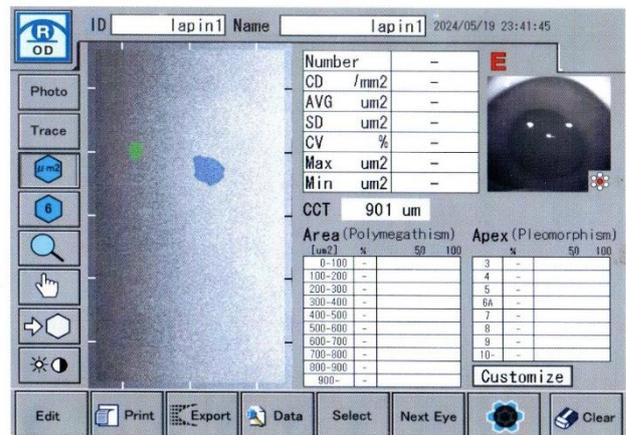
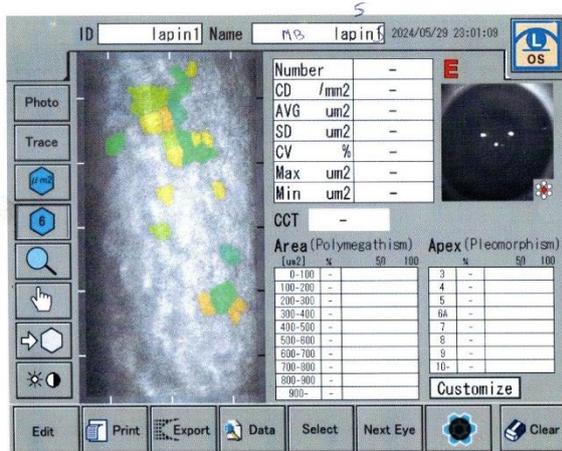
# **Annexes**

## Les résultats avec le microscope spéculaire :

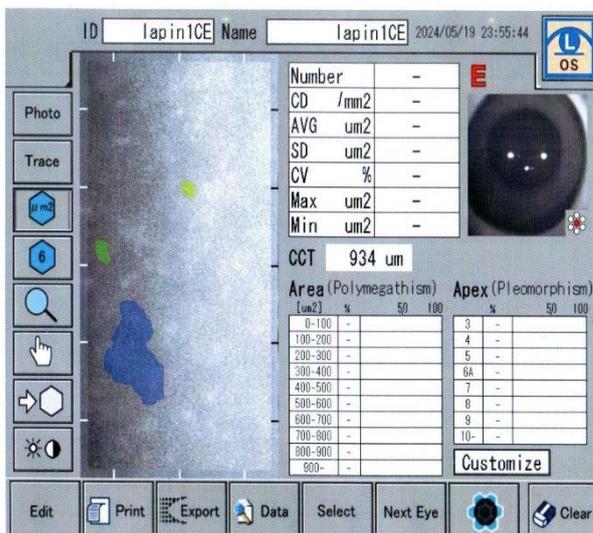
\*avant la conservation :



\*Après la conservation dans le milieu de base :

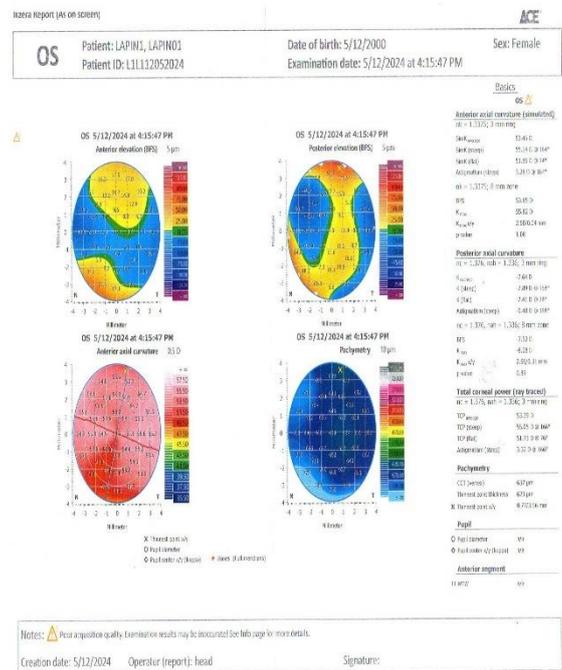
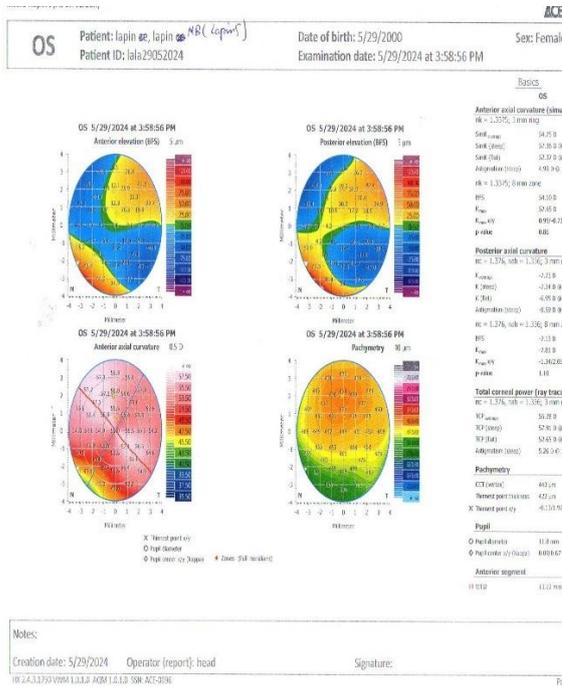


\*Après la conservation dans le milieu PEG-Vit E+ Vit C :

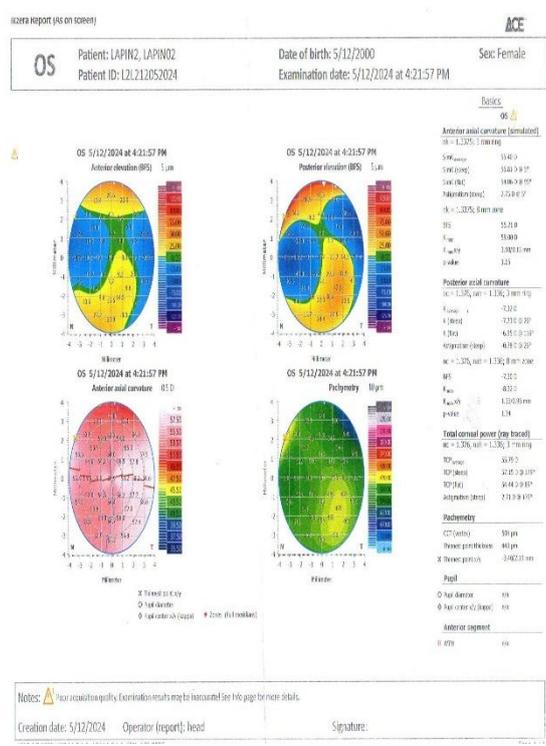
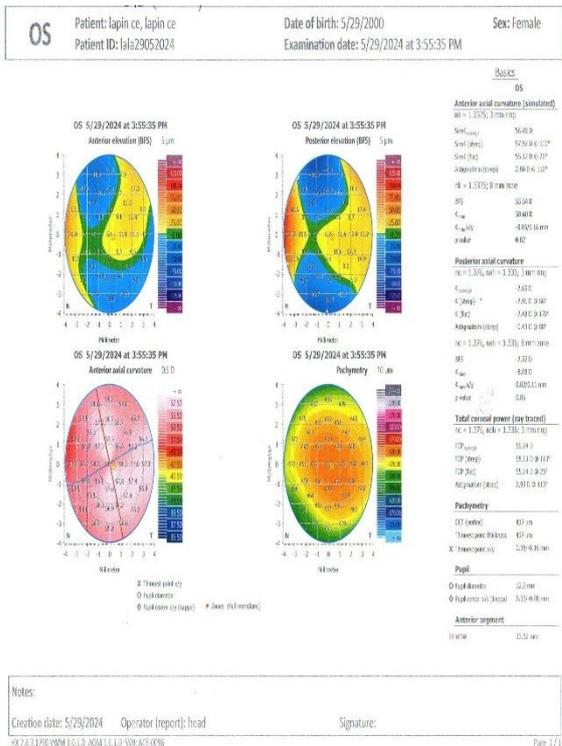


# Les examens avec la topographie :

\*après la conservation dans le milieu de base ;

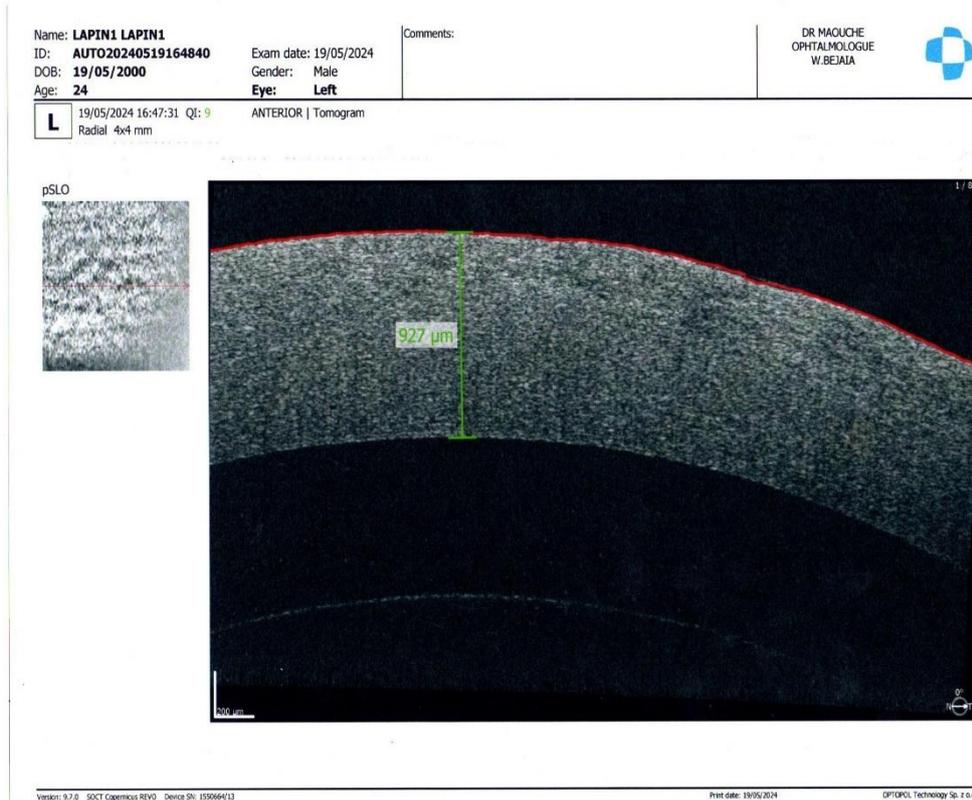


\*Après la conservation dans le milieu PEG-Vit E+ Vit C ;

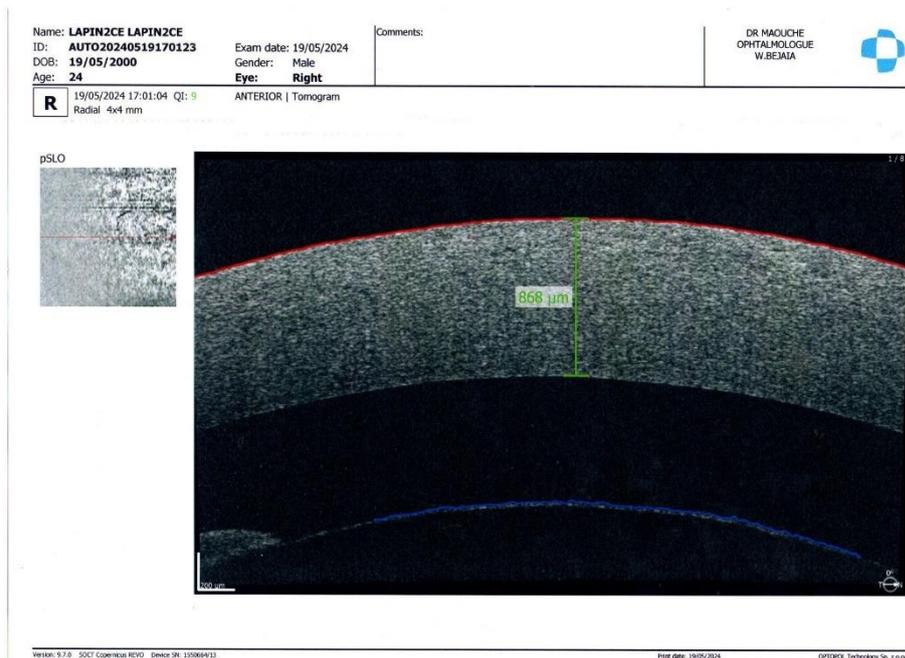


## Les examens avec la pachymétrie :

\*Après la conservation dans le milieu de base ;



\*Après la conservation dans le milieu PEG-Vit E + Vit C ;



## Résumé :

La réussite de la greffe de cornée dépend en grande partie des conditions de conservation des greffons cornéens. Parmi les facteurs clés d'une conservation optimale, est le milieu de conservation. Un milieu de conservation adéquat maintient l'intégrité structurelle et fonctionnelle de la cornée en protégeant ses différentes couches. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'impact des vitamines E et C sur la cornée de lapin après 04 jours de conservation à 04°C. Plusieurs paramètres tels que la viabilité des cellules endothéliales, la transparence et l'épaisseur de la cornée, ainsi que le statut oxydatif, ont été analysés afin d'évaluer l'état de la cornée après conservation. Les résultats indiquent que le milieu de traitement PEG-VitE+VitC améliore la préservation des cellules endothéliales, de l'épithélium et du stroma, grâce aux propriétés antioxydantes qui réduisent les dommages du stress oxydatif. Cette protection est essentielle pour optimiser les greffes cornéennes et minimiser les risques de rejet.

**Les mots clés :** La cornée du lapin, Vitamine E, Vitamine C, Conservation, stress oxydatif.

## Abstract:

The success of corneal transplantation largely depends on the preservation conditions of corneal grafts. Among the key factors for optimal preservation is the preservation medium. An adequate preservation medium maintains the structural and functional integrity of the cornea by protecting its various layers. The objective of this study is to evaluate the impact of vitamins E and C on the rabbit cornea after 4 days of preservation at 4°C. Several parameters such as endothelial cell viability, corneal transparency and thickness, as well as oxidative status, were analyzed to assess the state of the cornea after preservation. The results indicate that the PEG-VitE+VitC treatment medium improves the preservation of endothelial cells, epithelium, and stroma, thanks to antioxidant properties that reduce oxidative stress damage. This protection is essential to optimize corneal transplants and minimize the risk of rejection.

**Keywords:** Rabbit cornea, Vitamin E, Vitamin C, Preservation, Oxidative stress.

## ملخص:

يعتمد نجاح زراعة القرنية إلى حد كبير على ظروف تخزين ترقيع القرنية. من بين العوامل الرئيسية للحفاظ الأمثل هي بيئة الحفظ. تحافظ وسيلة الحفظ الكافية على السلامة الهيكلية والوظيفية للقرنية من خلال حماية طبقاتها المختلفة. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم تأثير الفيتامينات هـ و ج على قرنية الأرنب بعد 04 أيام من التخزين عند درجة حرارة 04 درجة مئوية. تم تحليل العديد من العوامل مثل صلاحية الخلايا البطانية، وشفافية القرنية وسمكها، وكذلك الحالة التأكسدية، من أجل تقييم حالة القرنية بعد الحفظ. تشير النتائج إلى أن وسط

PEG-VitE + VitC

يحسن الحفاظ على الخلايا البطانية والظهارة والسدى، وذلك بفضل خصائص مضادات الأكسدة التي تقلل من أضرار الإجهاد التأكسدي. تعتبر هذه الحماية ضرورية لتحسين عمليات زرع القرنية وتقليل خطر الرفض

**الكلمات المفتاحية:** قرنية الأرنب، فيتامين هـ، فيتامين ج، الحفظ، الإجهاد التأكسدي