

**COMMENT DIFFÉRENTES SOLUTIONS DE LAVAGE  
INFLUENCENT-ELLES LE PROCESSUS DE CICATRISATION  
DE LA CORNÉE APRÈS BRÛLURE OCULAIRE ?  
CONDITIONNEMENT ÉLÉMENTAIRE DE LA CORNÉE  
PAR APPLICATION PROLONGÉE DE GOUTTES OCULAIRES**

S. Langefeld, W. Aschenbrenner, A. Scherer, M. Reim et N.F. Schrage

**AFFILIATIONS :**

Universitätsaugenklinik der RWTH Aachen

Pauwelstrasse 30,

FRG 52057 Aachen

Tel. 0049 241 8088224

Fax. 0049 241 8888438

**ADRESSER LA CORRESPONDANCE À :**

Dr. Stéphanie Langefeld

Universitätsaugenklinik der RWTH Aachen

Pauwelstrasse 30,

FRG 52057 Aachen

Tel. 0049 241 8088224

Fax. 0049 241 8888438

## **Résumé :**

But de l'étude : Après une brûlure oculaire un traitement efficace par irrigation est crucial pour le processus de cicatrisation de l'oeil endommagé. La solution de lavage doit être choisie en fonction de sa capacité de neutralisation chimique, de sa biocompatibilité et de son ajustement à l'environnement physiologique de la cornée. Au cours d'un traitement prolongé par lavage, l'influence de la solution d'irrigation est particulièrement importante. Au cours de cette étude nous montrerons que l'effet tampon lui-même ne suffit pas.

Matériel et méthodes : Après avoir été brûlé avec 1 N de NaOH pendant 30 secondes, l'oeil de 24 lapins a été irrigué soit avec une solution salée à 0,9 % soit avec un tampon phosphate ou de la Diphotérine®. Des mesures du pH de la cornée et de la chambre antérieure ont été pratiquées au cours de la première étape de l'expérimentation. Dans la seconde étape le traitement par lavage a été poursuivi à l'aide d'un tampon phosphate ou d'une solution salée à 0,9% appliqués trois fois par jour pendant 16 jours. Une évaluation clinique a été pratiquée chaque jour pendant l'expérimentation. Après 16 jours la composition élémentaire de la cornée a été évaluée à l'aide d'une analyse aux Rayons X par dispersion d'énergie (EDXA).

Résultats : après 16 jours la cornée des 8 lapins traités par irrigation avec un tampon phosphate était entièrement calcifiée. Du point de vue clinique l'opacification de la cornée avait déjà été observée après deux jours de traitement. Les mesures EDXA ont confirmé la calcification.

Une accumulation de sodium et de chlore a été observée après irrigation par une solution salée à 0,9%. La concentration de soufre a diminué après les deux traitements.

Conclusion : le pouvoir du tampon phosphate et de la Diphotérine® sont similaires. Mais l'irrigation par un tampon phosphate provoque une calcification de la cornée. Des observations cliniques sur les brûlures oculaires de patients ont confirmé ces résultats. Les modifications électrolytiques observées après les deux types d'irrigation démontrent la puissance chimique de ces solutions sur une cornée dénudée. Il est nécessaire de mettre au point une solution d'irrigation adaptée à la physiologie du stroma de la cornée. Jusqu'à présent l'irrigation par Diphotérine® semble avoir eu un effet bénéfique. De nouvelles études sont nécessaires en ce qui concerne l'irrigation à long terme avec Diphotérine®.

## **Introduction**

Les brûlures oculaires à l'alcali nécessitent un traitement d'urgence rapide et efficace. La pratique clinique montre que le temps écoulé entre l'accident et le premier lavage de l'oeil joue un rôle important dans la guérison de la cornée. La dilution de l'agent de brûlure par irrigation avec de l'eau du robinet n'est pas suffisante. Des recherches ont montré que des solutions tampon ont un effet positif supplémentaire sur le développement du pH à la fois de la cornée et de la chambre antérieure<sup>1</sup>. La plupart des solutions d'irrigation, par ex. le tampon phosphate, sont également utilisées pour le traitement prolongé des yeux brûlés. Le fait que le tampon phosphate ou une autre solution de lavage utilisée en pratique clinique, par ex. une solution salée sanguine isotonique, ait un effet négatif après utilisation prolongée sur une cornée dénudée n'avait jamais été testé systématiquement auparavant.

Il faut prendre en compte le fait que l'irrigation est pratiquée sur une cornée dénudée qui n'est plus capable de restaurer l'équilibre ionique. L'effet d'une irrigation continue avec une grande quantité d'électrolytes doit être considérable. De plus aucun effort n'a été fait afin d'adapter ces solutions à l'environnement ionique du stroma de la cornée comme cela a été fait pour le sang. Cela entraîne d'importants effets osmotiques qui doivent d'une certaine manière modifier les conditions de cicatrisation de la cornée.

Nous avons recherché dans cette étude si les composants ioniques de ces solutions de lavage (tampon phosphate, solution salée) ont ou non un effet sur le processus de cicatrisation de la cornée.

## **Matériels et méthodes**

Trois solutions de lavage différentes ont été testées au cours d'une étude en double aveugle :

1. Solution de NaCl à 0,9% "isotonique" et stérile
2. Tampon phosphate "isotonique" et stérile (Isogutt®)
3. Diphotérine®/Previn®.

Au cours de la première étape le pH cornéen et aqueux ont été mesurés après brûlure à l'alcali et irrigation par les trois différentes solutions mentionnées ci-dessus. Sous anesthésie générale profonde l'oeil droit de 18 lapins a été brûlé avec 5 ml de NaOH 1 N pendant 30 secondes. La brûlure a été appliquée dans un cylindre de Plexiglas recouvrant la cornée et 1 mm du limbe. L'alcali a été retiré après 30 secondes. Après lavage immédiat avec 150 ml de solution pendant 5 minutes la mesure du pH a été répétée pour la surface de la cornée comme pour l'humeur aqueuse.

Dans la seconde étape une étude en double aveugle a été réalisée. Les yeux de 24 lapins ont été brûlés avec du NaOH 1 N pendant 30 secondes. Immédiatement après la brûlure une irrigation a été pratiquée avec 150 ml de chacune des trois solutions mentionnées ci-dessus pendant 5 minutes. Au cours des 16 jours suivants chacun des yeux des 8 lapins a été lavé trois fois par jour avec 160 ml de la manière suivante :

- 8 lapins avec du tampon phosphate pour la première irrigation et le traitement prolongé
- 8 lapins avec une solution salée à 0,9% pour la première irrigation et le traitement prolongé
- 8 lapins avec de la Diphotérine® pour la première irrigation et une solution salée en traitement prolongé.

Une évaluation clinique des yeux a été pratiquée tous les jours. Après 16 jours les yeux ont été énucléés et la cornée a été congelée dans de l'azote liquide entre deux blocs de métal prérefroidis. Des préparations pour microscopie en REM et évaluation histologique ont été faites. L'ensemble de l'expérimentation animale a été pratiqué selon les directives de la déclaration d'Helsinki et les lois locales de la République Fédérale d'Allemagne.

On a pratiqué sur les tissus congelés une analyse de dispersion de l'énergie aux rayons X afin de déterminer la composition élémentaire des différentes couches de la cornée. Une quantification a été possible après mesure de calibre<sup>2</sup>.

## Résultats

### Mesures du pH :

L'irrigation avec 250 ml de solution salée ne diminue pas beaucoup le pH de la cornée ni de l'humeur aqueuse. Des solutions tampon, comme le tampon phosphate ou la Diphotérine® diminuent le pH jusqu'à 7,5 sur la cornée et 9,5 dans l'humeur aqueuse (figure 1/2).

Après irrigation prolongée des calcifications complètes de la cornée ont été observées dans tous les cas parmi le groupe recevant une irrigation par tampon phosphate. L'opacification est apparue le second jour de l'irrigation (figure 3). La calcification a été confirmée par analyses EDX qui ont montré une concentration élevée en P et en Ca (figure 4). La figure 5 montre un gradient de calcifications de l'épithélium avec d'importantes accumulations de Ca/P vers la membrane de Descemet où aucune élévation de la concentration de Ca/P n'a été décelée.

Comme le groupe Diphotérine® subissait un lavage avec une solution salée à 0,9%, après la première irrigation aucune différence significative avec le groupe "solution salée seule" n'a été observée ni du point de vue clinique ni à l'analyse EDX. Il n'y a eu que des érosions un peu plus importantes dans le groupe Diphotérine®, mais la différence n'était pas significative du point de vue clinique. Le sodium et le chlore se sont accumulés essentiellement dans les couches supérieures de la cornée (figure 6/7).

Par rapport à la composition minérale normale de la cornée de lapin saine ou brûlée (8 jours après la brûlure), une perte de soufre a été décelée pour tous les groupes irrigués (figure 8). Cette différence est hautement significative dans tous les groupes. Les faibles concentrations en soufre ne sont pas limitées à une partie de la cornée mais on peut les observer sur toutes les couches de la cornée.

## Discussion

Les mesures du pH ont montré qu'une neutralisation a été atteinte sur la surface de la cornée après irrigation avec une solution tampon Diphotérine®/Previn® ou Isogutt®. La solution salée a eu un effet moins important. Dans l'humeur aqueuse aucune neutralisation n'a été observée avec la solution salée. Le stroma était trop résistant par rapport au pouvoir de tampon du tampon phosphate ou de la Diphotérine®. Dans d'autres études utilisant une brûlure moins importante la solution tampon a été capable d'abaisser le pH jusqu'à 7,4<sup>1</sup>.

Au cours de la seconde étape les effets d'une irrigation à long terme avec une solution tampon ou une solution salée à 0,9% ont été évalués en clinique et au moyen d'une analyse EDX. Les calcifications provoquées par la solution tampon phosphate sont dues à un excès d'ions Ca dans le liquide lacrymal et d'ions P dérivés de la solution tampon<sup>3</sup>. La minéralisation est favorisée par la matrice extracellulaire détruite<sup>4</sup>. La localisation aux couches supérieures de la cornée apporte la preuve de cette pathogenèse dans la cornée : les couches supérieures étant en contact avec le liquide lacrymal et la solution tampon, sont calcifiées en premier lieu. Des calcifications plus profondes pourraient survenir par diffusion des ions Ca et P.

L'irrigation avec une solution salée à 0,9% entraîne une accumulation de sodium et de chlore. Green<sup>5</sup> a décrit une altération des sites de liaison des glycosaminoglycanes après digestion du stroma cornéen. Ces sites de liaison modifiés sont capables de capturer les ions sodium accumulés au cours d'irrigations répétées. Les fortes concentrations dans les couches épithéliales montrent qu'un effet de diffusion pourrait être impliqué.

La diminution du soufre dans toutes les couches des cornées examinées montre clairement l'influence négative d'une irrigation prolongée avec une solution inadéquate. La figure 8 montre que dans la cornée brûlée de lapin (8 jours après la brûlure) sans irrigation la concentration de soufre n'est pas significativement différente de celle dans les cornées saines<sup>6</sup>. Ce n'est qu'après la première irrigation que les molécules de soufre ont été éliminées de la cornée par lavage. Il semble qu'une brûlure à l'alcali provoque une altération chimique des molécules de liaison du soufre comme les collagènes et les protéoglycanes. Cette altération augmente la perte de soufre après irrigation. Mais si le soufre disparaît, alors les acides aminés, les protéoglycanes et d'autres composantes de cette substance fondamentale sont également perdues. Sans soufre et sans les autres molécules fondamentales aucune régénération de la structure lamellaire de la cornée n'est possible.

## Résumé

Dans cette étude un traumatisme très important a été infligé aux yeux de lapins, qui ne correspond pas aux brûlures observées en pratique clinique. On n'espérait aucune cicatrisation des cornées brûlées. Il était cependant très facile de distinguer l'influence négative de toute irrigation prolongée. Pour le groupe tampon phosphate, par exemple, l'influence du phosphate sur la cornée dénudée s'exprime par une calcification complète et une érosion prolongée. Dans le groupe solution salée une influence sur la composition minérale du stroma de la cornée a été prouvée par analyse EDX. Une influence négative sur le processus de cicatrisation est très vraisemblable dans tous les cas. En présence de calcifications, aucune fermeture de l'épithélium n'est possible. Le patient est aveugle. Dans tous les cas d'irrigation l'élimination du soufre par lavage empêche la guérison de la substance fondamentale du stroma cornéen, car le soufre est le principal composant des glycosaminoglycanes et des collagènes<sup>7</sup>. L'accumulation d'ions comme le sodium ou le chlore entraîne un déséquilibre du processus d'hydratation de la cornée. La reconstitution de glycosaminoglycanes et de collagènes sera également perturbée par ce fait.

En cas de remplacement sanguin l'isotonicité du substitut est indispensable pour des raisons osmotiques. Ceci doit être le cas pour l'irrigation d'une cornée dénudée ainsi que pour accélérer le dégonflement du stroma et améliorer le processus de cicatrisation de la cornée. Il est nécessaire de mettre au point une solution isotonique de la cornée ou une solution cicatrisante contenant les éléments et les molécules nécessaires à la restructuration stromale.

Jusqu'à présent on ne s'est jamais posé de questions à propos de l'utilisation à long terme d'une solution salée ou tampon phosphate, cette dernière étant à la base de nombreux collyres. Pourtant de nombreux cas de calcification ont été observés à Aix la Chapelle<sup>8</sup> après utilisation prolongée de collyres à base de tampon phosphate, particulièrement après des brûlures oculaires, ce qui a conduit à se demander si certaines solutions appliquées en permanence sur une surface cornéenne dénudée ne pourraient pas avoir une influence sur la composition minérale et le processus de cicatrisation des blessures cornéennes. Il faut postuler que même dans les collyres l'agent tampon doit être adapté aux besoins élémentaires de la cornée.

## **Légendes :**

Fig 1 : Mesures du pH de la surface cornéenne après une brûlure de 30 secondes avec 1 mole de NaOH, suivie d'une irrigation de 5 minutes avec 250 ml de trois solutions différentes. Il existe des différences considérables dans les pH atteints. La solution salée en particulier n'est absolument pas suffisante.

Fig 2 : Mesures du pH de la surface cornéenne après une brûlure de 30 secondes avec 1 mole de NaOH, suivie d'une irrigation de 5 minutes avec 250 ml de trois solutions différentes. Il existe des différences considérables dans les pH atteints. La solution salée en particulier n'est absolument pas suffisante. Il existe un écart-type plus important avec la Diphotérine<sup>®</sup>, qui atteint cependant un bon pH de 9,5.

Fig. 3 : Calcification de la cornée (planimétrique, en pourcentage de la surface cornéenne totale). Isogutt provoque des calcifications importantes. Avec Diphotérine<sup>®</sup>/Previn<sup>®</sup> quelques surfaces blanchâtres apparaissent, qui pourraient bien s'avérer calcifiées.

Fig. 4 Eléments de la cornée après une brûlure suivie par un lavage pendant 16 jours. La solution tampon phosphate entraîne des dépôts de phosphore et de calcium dans le stroma de la cornée brûlée.

Fig. 5 : Distribution du phosphore sur la cornée après une brûlure suivie par un lavage pendant 16 jours. La solution tampon phosphate entraîne des dépôts de phosphore dans toutes les couches de la cornée brûlée.

Fig. 6 : Distribution du sodium sur la cornée après une brûlure suivie par un lavage pendant 16 jours. La solution salée entraîne des dépôts salins dans toutes les couches de la cornée brûlée avec un gradient vers l'endothélium.

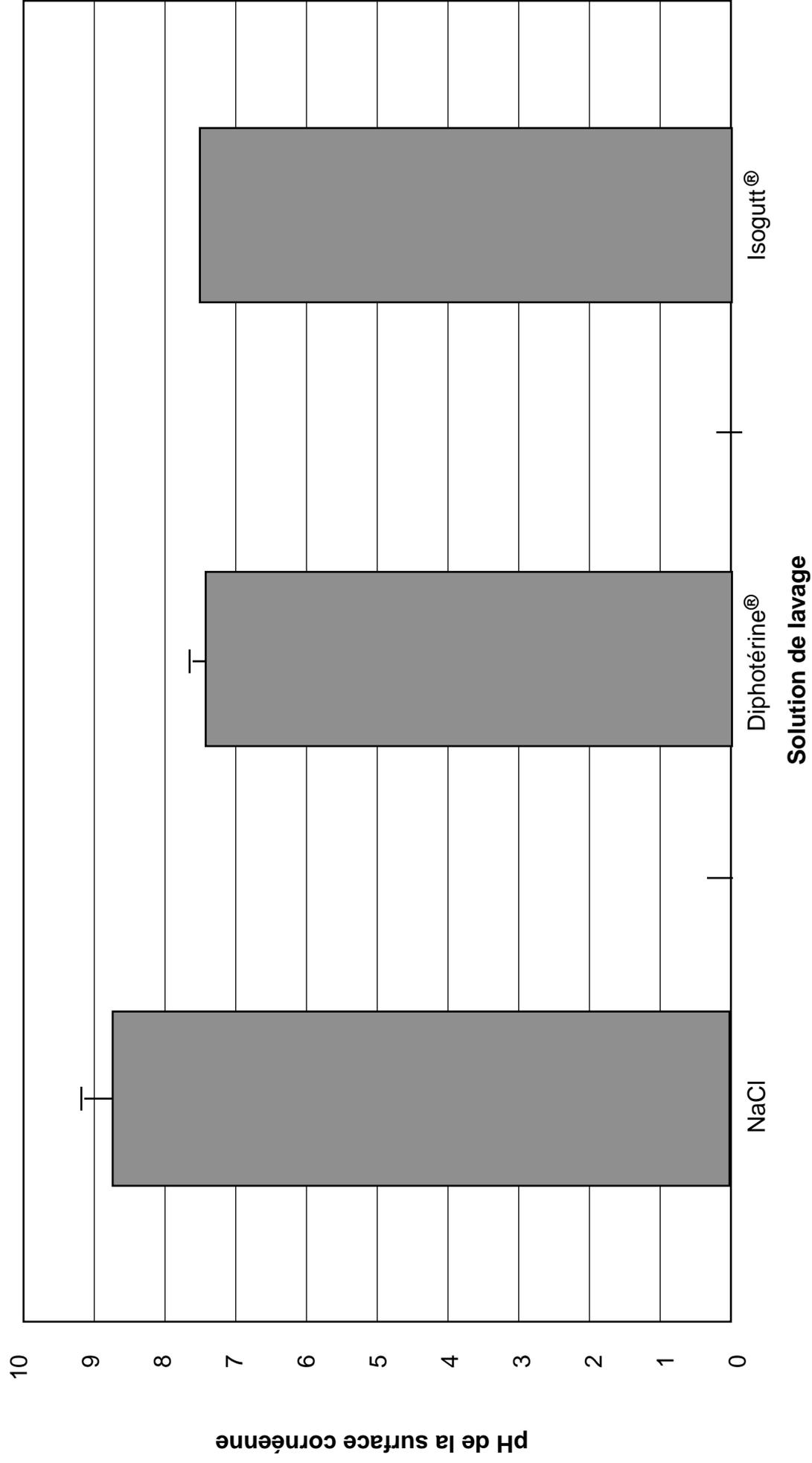
Fig. 7 : Distribution du chlore sur la cornée après une brûlure suivie par un lavage pendant 16 jours. Le gradient vers l'endothélium est remarquable.

Fig. 8 : Distribution du soufre sur la cornée après une brûlure suivie par un lavage pendant 16 jours. La perte de soufre est considérable avec toutes les solutions de lavage.

## Références :

- 1 Laux U, Roth HW, Krey H, Steinhardt B Die Wasserstoffionenkonzentration des Kammerwassers nach Alkaliverätzungen der Hornhaut und deren therapeutische Beeinflußbarkeit. Eine tierexperimentelle Studie Albrecht v. Graefes Arch Klin. Exp. Ophthalmol. 1975, 195, 1, 33-40.
- 2 Schrage NF, Benz K, Beaujaen P, Burchard WG, Reim M : a simple empirical calibration of energy dispersive X-ray analysis on the cornea. Scanning Microscopy 1993, 7(3) : 881-888.
- 3 Schrage NF : Chemische Elemente in der Hornhaut. Analytik und Experimente zur Lokalthherapie am Auge. Habilitationsschrift RWTH Aachen, 1997.
- 4 Schanne FAX, Kane AB, Young EE, Faber JL : Calcium dependence of toxic cell death : A final common pathway. Science 1979, 206 (9).
- 5 Green KK, Downs S, Bowman K : Stromal sodium binding after glycosaminoglycan digestion. Invest Ophthalmol 1976, 15 (6) : 484-486.
- 6 von Fischern T : Die elementare Zusammensetzung gesunder und schwer verätzter Kaninchenhornhäute. Untersuchungen im Rasterelektronenmikroskop mit der energiedispersiven Röntgenanalyse (EDXA). Promotion RWTH Aachen 1993.
- 7 Langefeld S, Reim M, Redbrake C, Schrage NF : The corneal stroma : An inhomogenous structure. Graef Arch Clin Exp Ophthalmol (in press).
- 8 Huige WMM, Beekhuis WH, Rijneveld WH, Schrage N, Remeijer L : Unusual deposits in the superficial corneal stroma following combined use of topical corticosteroids and beta blocking medication. Doc Ophthalmol 1991, 78 (3-4) : 169-175.

**Fig. 1 - pH à la surface cornéenne après 5 minutes d'irrigation avec 250 ml, n=6**



**Fig. 2 - pH dans la chambre antérieure après 5 minutes d'irrigation avec 250 ml, n=6**

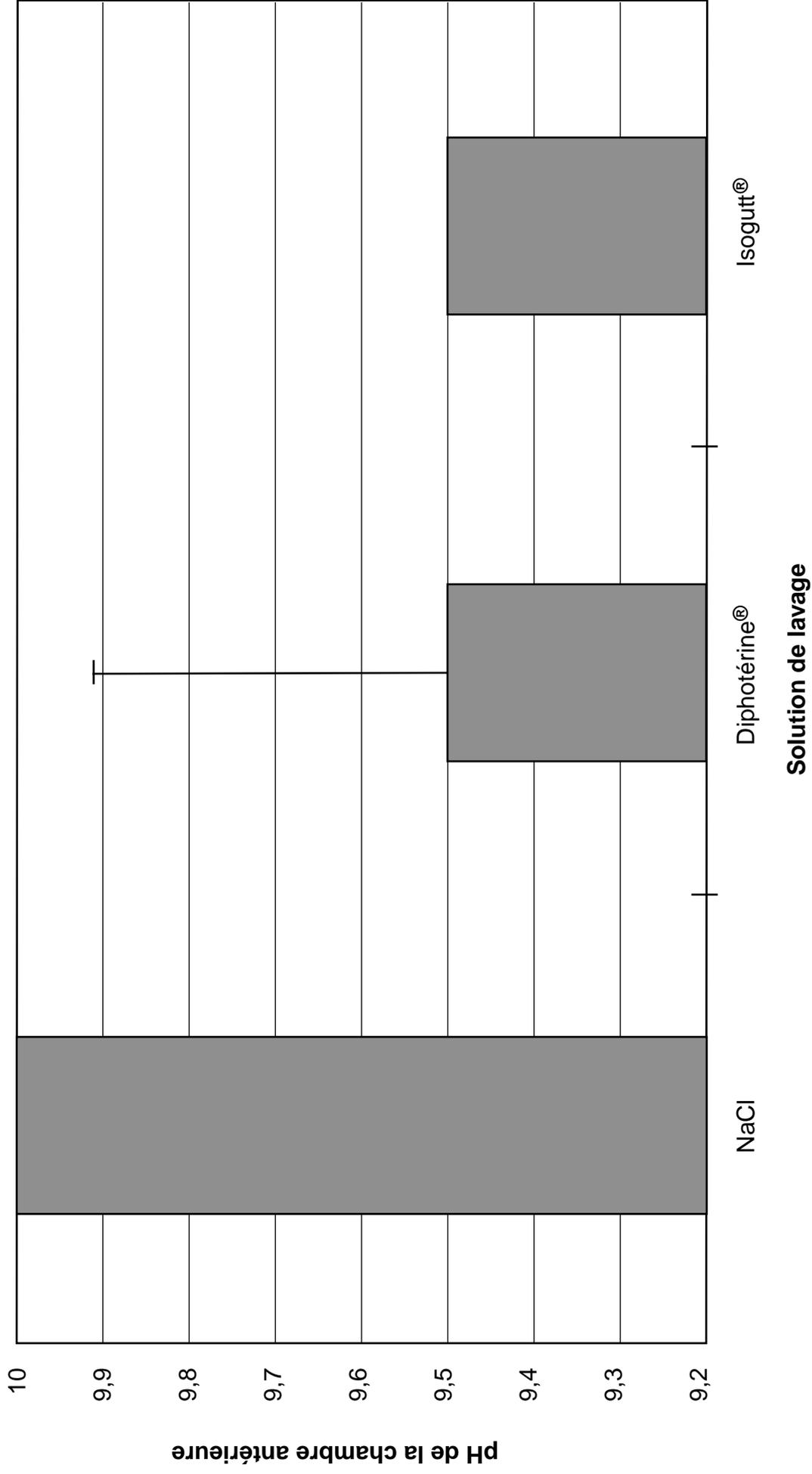
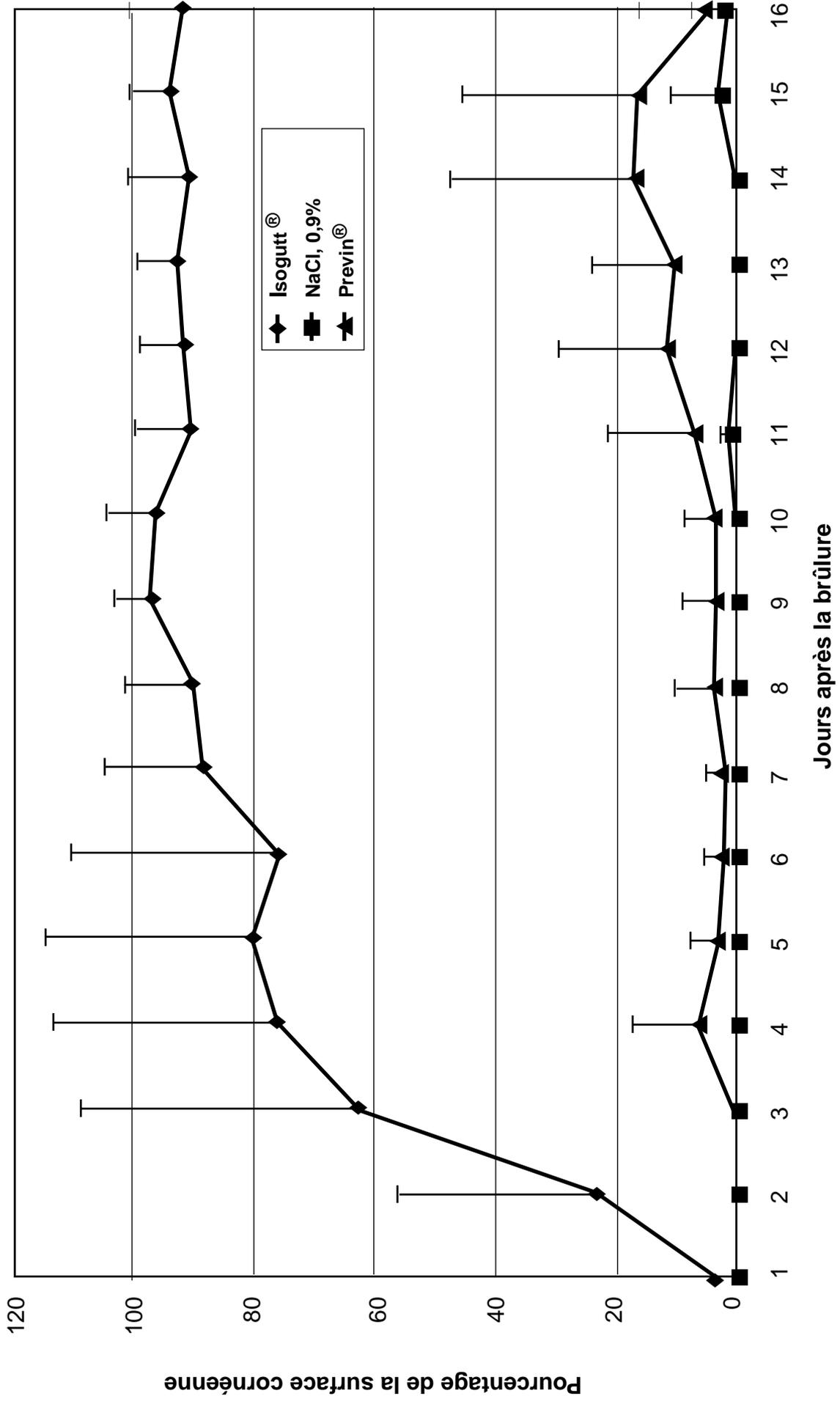
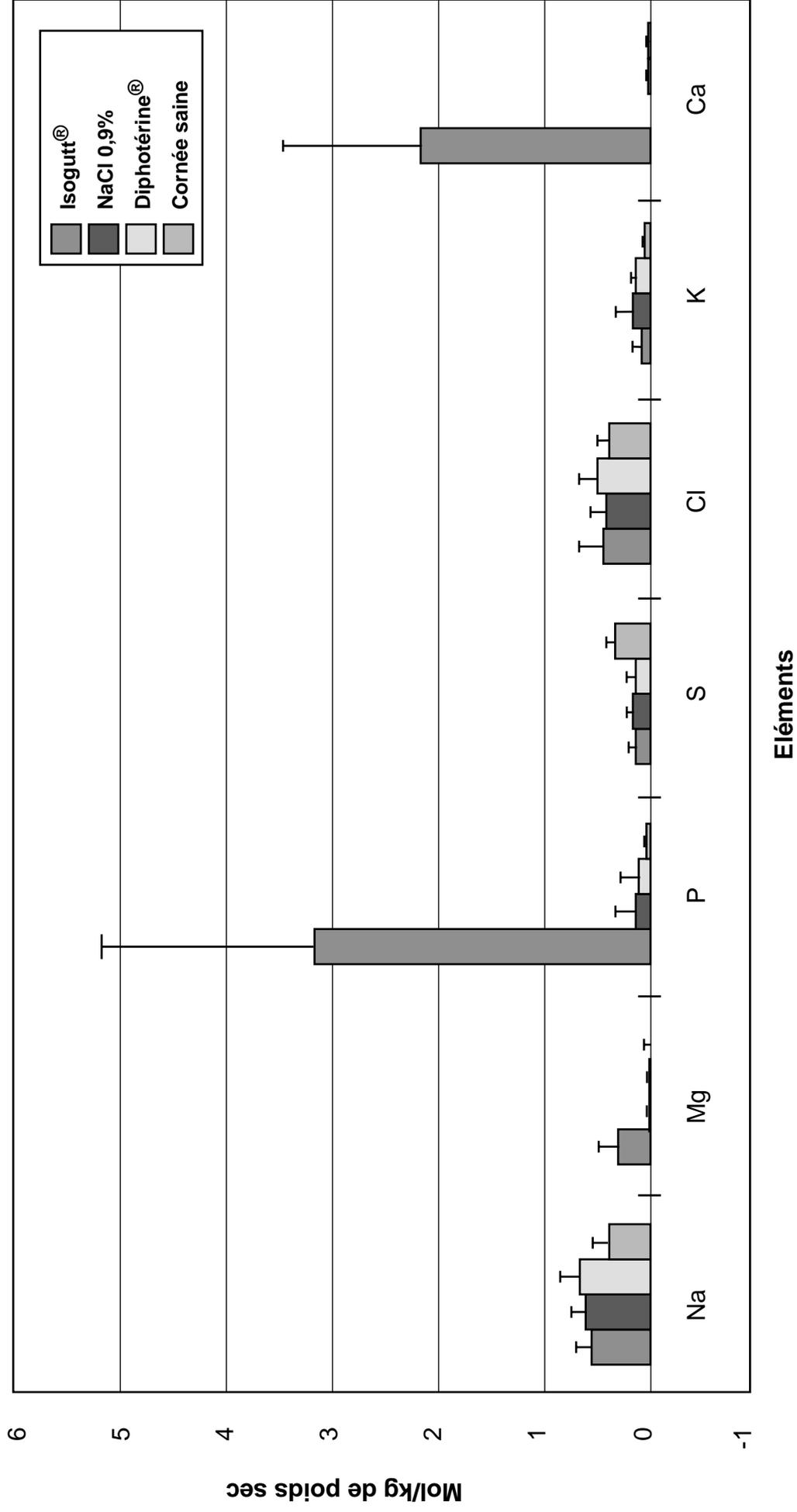


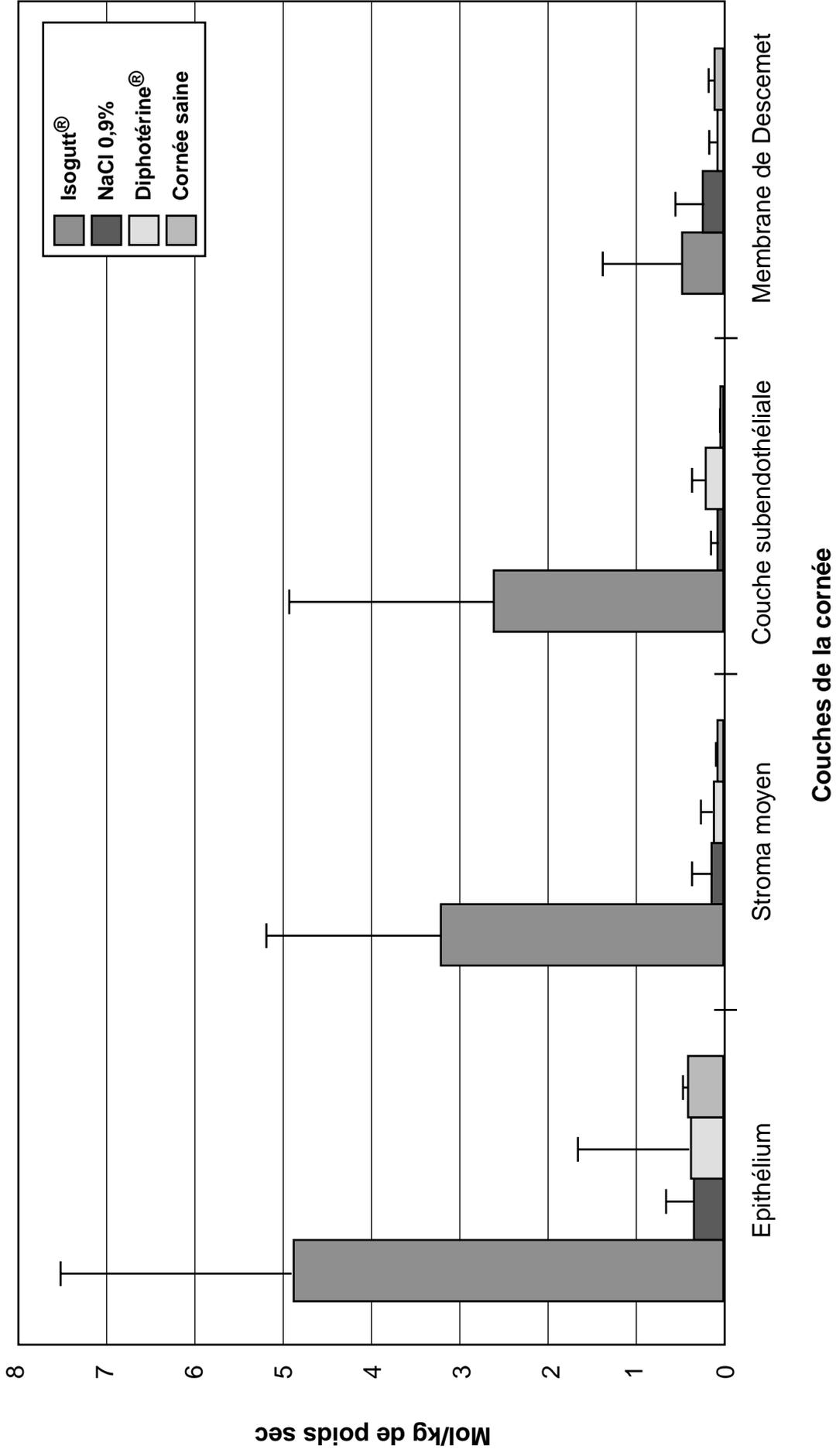
Fig. 3 - Opacification blanche de la cornée



**Fig. 4 - Composition élémentaire dans le stroma moyen**



**Fig. 5 - Concentrations de phosphore dans les différentes couches de la cornée**



**Fig. 6 - Sodium dans les différentes couches de la cornée**

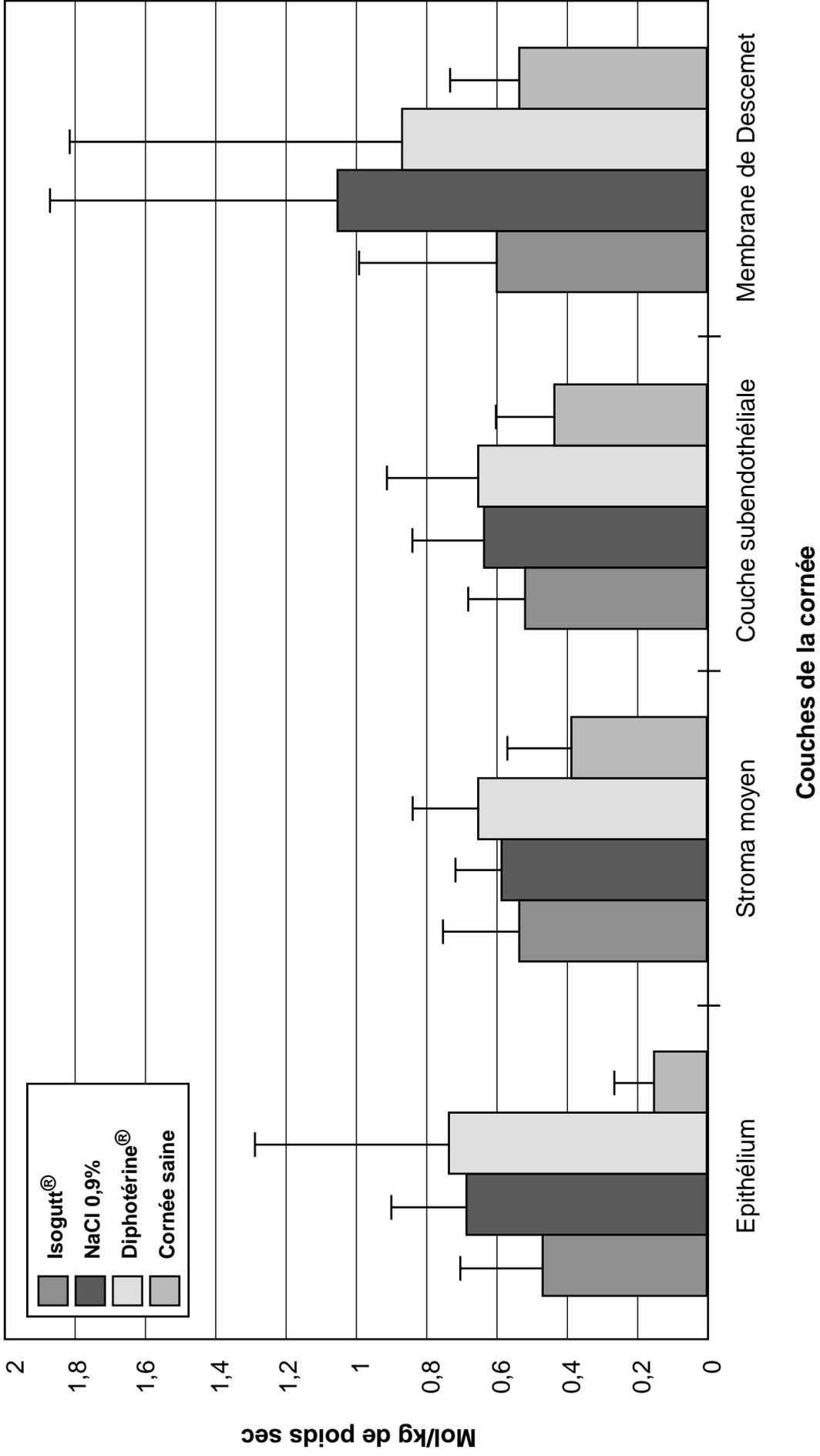
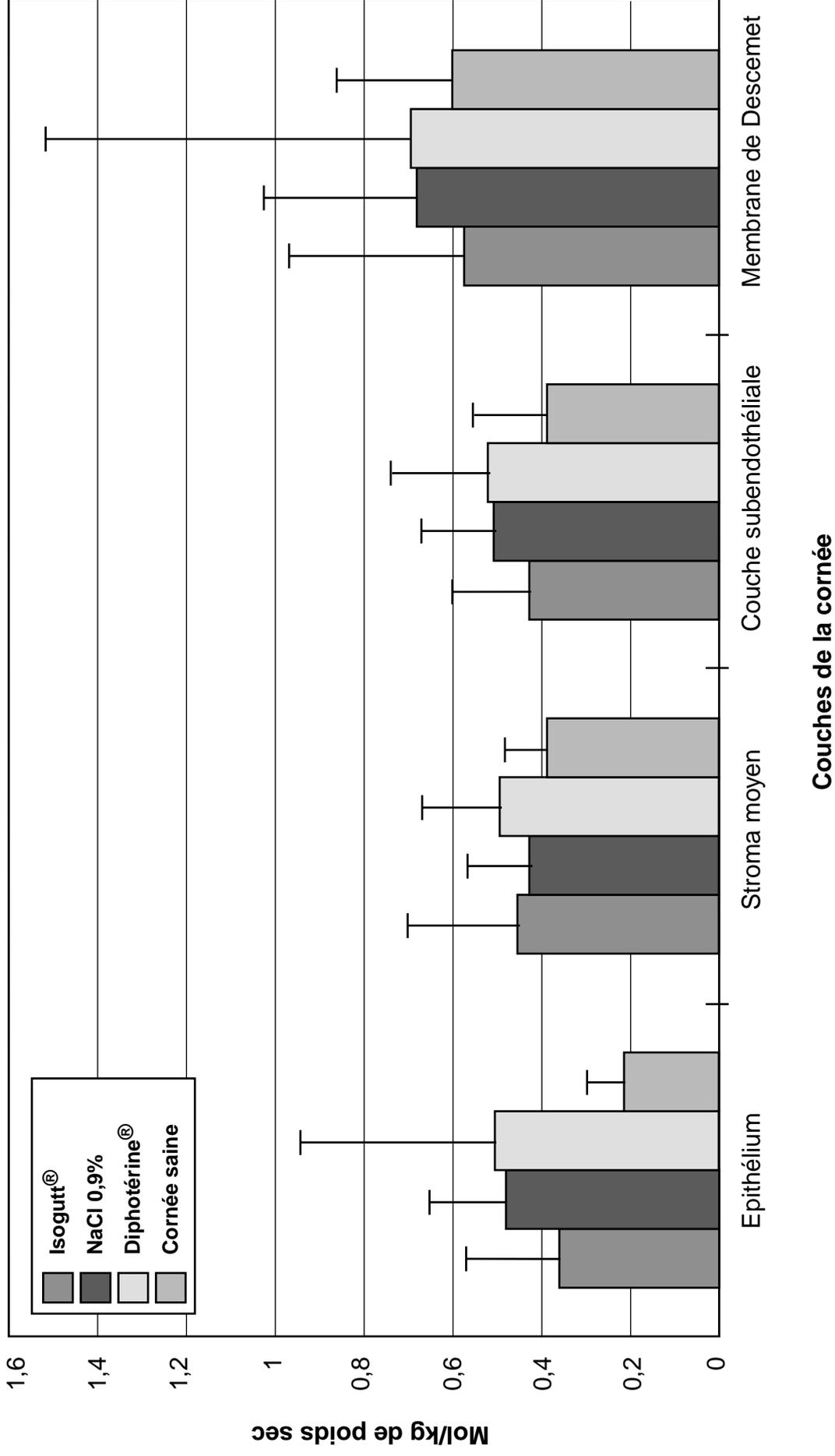
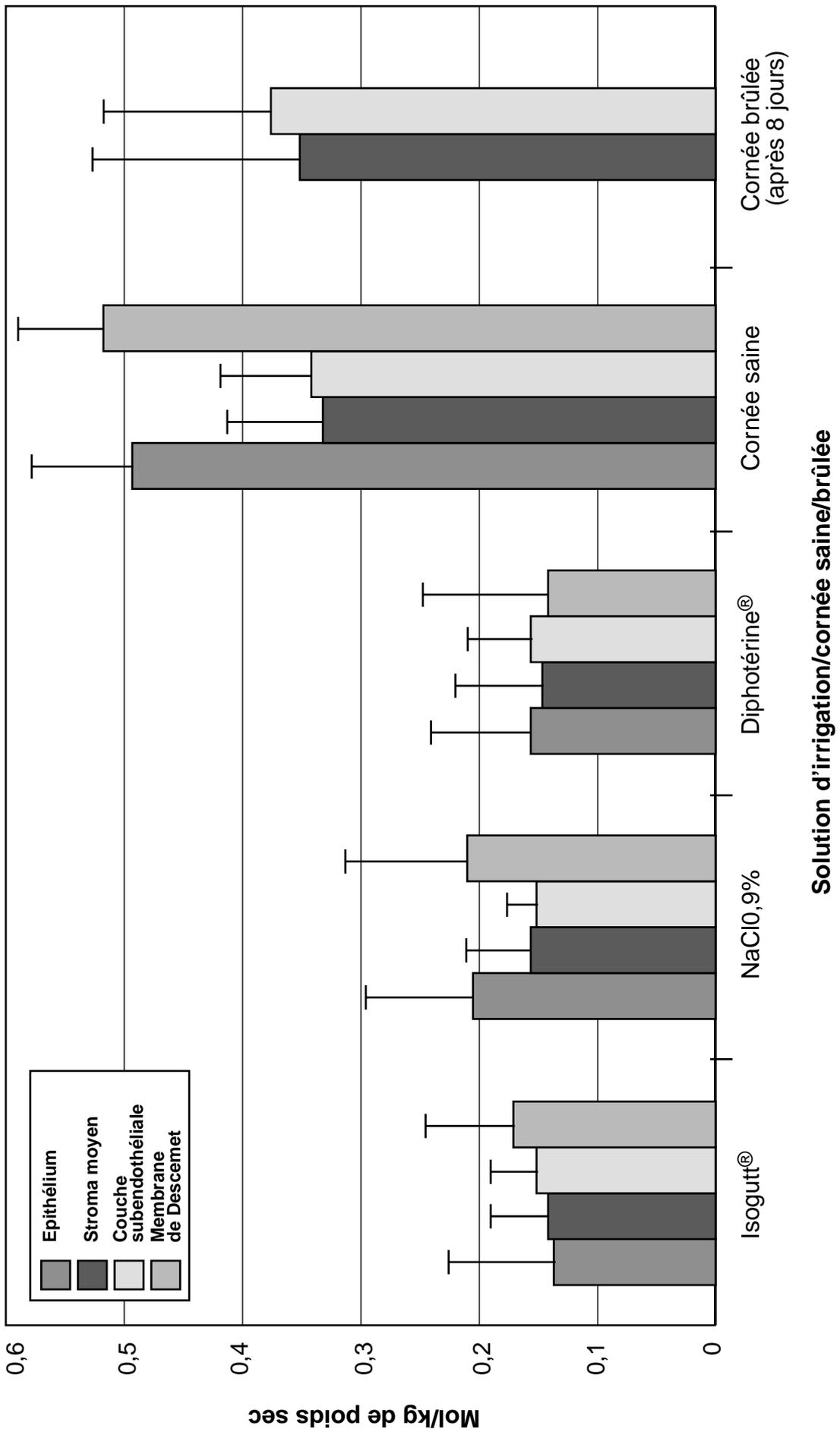


Fig. 7 - Chlore dans les différentes couches de la cornée



**Fig. 8 - Soufre dans les différentes couches de la cornée**



**Solution d'irrigation/cornée saine/brûlée**