

Clinical Outcomes after Deep Anterior Lamellar Keratoplasty Using Fresh versus Cryopreserved Corneal Tissues

Javadi MA, MD; Feizi S, MD*; Javadi F, MD; Rezaei Kanavi M, MD; Ghasemi H, MD; Karimdzani S, MD; Mirbabaei F, MD

Ophthalmic Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

* Corresponding Author: sepehrfeizi@yahoo.com

Purpose: To compare visual acuity, refraction, and complications following deep anterior lamellar keratoplasty (DALK) using cryopreserved donor corneas to outcomes following penetrating keratoplasty (PK) and DALK using fresh donor grafts in keratoconus patients.

Methods: In this retrospective, comparative, interventional case series, 61 of 61 patients with moderate to advanced keratoconus who underwent corneal transplantation between March 2010 and December 2010 were enrolled. PK was performed conventionally and DALK was performed using the big-bubble technique yielding a bared Descemet's membrane for all cases. DALK used either fresh or cryopreserved corneal tissues as donor grafts. Best corrected visual acuity (BCVA), refractive error, and keratometry readings, as well as postoperative complications were compared between the study groups.

Results: Eighteen (29.5%) eyes underwent PK (group 1), 28 (45.9%) eyes received DALK using a fresh corneal graft (group 2), and 15 (24.6%) eyes had DALK using a cryopreserved graft (group 3). Mean follow-up period was 20.2±4.7 months in group 1, 19.4±3.5 months in group 2, and 20.3±5.0 months in group 3 (P=0.65). Final mean BCVA was 0.14±0.08 logMAR, 0.17±0.11 logMAR, and 0.20±0.09 logMAR, respectively (P=0.22). Final spherical equivalent refraction was -1.49±2.05 D, -3.56±4.38 D, and -2.53±3.02 D, respectively (P=0.16). All study groups were comparable in terms of postoperative complications such as persistent epithelial defects and suture-related complications. The rate of non-endothelial graft rejections was significantly lower in group 3 than in groups 1 and 2 (P=0.03).

Conclusion: Cryopreserved corneal tissues can successfully substitute for fresh grafts in DALK performed using the big-bubble technique to treat keratoconus.

Keywords: Cryopreserved Donor, Penetrating Keratoplasty, Deep Anterior Lamellar Keratoplasty, Big-Bubble Technique, Keratoconus

• Bina J Ophthalmol 2015; 20 (2): 145-154.

Received: 5 January 2014

Accepted: 22 June 2014

گزارش نتایج بالینی پیوند قرنیه لایه‌ای عمیق قدامی با استفاده از قرنیه دهنده تازه و منجمد شده

دکتر محمدعلی جوادی^۱، دکتر سپهر فیضی^۲، دکتر فاطمه جوادی^۳، دکتر مزگان رضایی کنوی^۴، دکتر حسن قاسمی^۵، دکتر ستاره کریم‌دیزانی^۶ و دکتر فیروز میربابایی^۷

هدف: مقایسه حدت بینایی، عیب انکساری و عوارض عمل پیوند قرنیه لایه‌ای عمیق قدامی (Deep Anterior Lamellar Keratoplasty; DALK) با استفاده از قرنیه دهنده منجمد و نتایج و عوارض عمل پیوند قرنیه نافذ (Penetrating Keratoplasty; PK) و عمل DALK با استفاده از قرنیه دهنده تازه در بیماران مبتلا به قوزقرنیه.

روش پژوهش: این مطالعه به صورت گزارش گروهی مداخله‌ای، گذشته‌نگر و مقایسه‌ای بر روی ۶۱ چشم از ۶۱ بیمار مبتلا به قوزقرنیه متوسط تا پیشرفته که در فاصله زمانی اسفند ۱۳۸۸ تا آذر ۱۳۸۹ تحت عمل پیوند قرنیه قرار گرفته بودند، صورت پذیرفت. PK به روش مرسوم و DALK با روش حباب بزرگ هوا که منجر به غشای دسمه برهنه در همه نمونه‌ها شد، انجام گردید. در عمل DALK، از هر دو بافت قرنیه دهنده تازه و منجمد شده استفاده شد. پیامدهای بالینی شامل بهترین حدت

بینایی اصلاح‌شده (BCVA)، عیب انکساری، نتایج کراتومتري و عوارض بعد از عمل بين گروه‌های مورد مطالعه مقایسه گردید. یافته‌ها: هجده چشم (۲۹/۵ درصد) تحت عمل PK (گروه ۱)، ۲۸ چشم (۴۵/۹ درصد) تحت عمل DALK با استفاده از بافت قرنیه تازه (گروه ۲) و ۱۵ چشم (۲۴/۶ درصد) تحت عمل DALK با استفاده از بافت قرنیه منجمد شده (گروه ۳) قرار گرفتند. میانگین طول مدت پی‌گیری بیماران ۲۰/۲±۴/۷ ماه در گروه ۱، ۱۹/۴±۳/۵ ماه در گروه ۲ و ۲۰/۳±۵/۰ ماه در گروه ۳ بود (P=۰/۶۵). در آخرین معاینه بعد از عمل، میانگین بهترین حدت بینایی اصلاح‌شده (BCVA) بر حسب لوگمار برابر با ۰/۱۴±۰/۰۸، ۰/۱۷±۰/۱۱ و ۰/۲۰±۰/۰۹ در گروه‌های اول تا سوم بود (P=۰/۲۲). معادل‌کروی عیب انکساری نیز بر حسب دیوپتر به ترتیب برابر با ۱/۴۹±۲/۰۵، -۳/۵۶±۴/۳۸ و -۲/۵۳±۳/۰۲ بود (P=۰/۱۶). نتایج هر سه گروه از نظر عوارض بعد از عمل از جمله نقص دائمی اپی‌تلیوم و عوارض مرتبط با بخیه قابل مقایسه بود. در گروه سوم، میزان رد پیوند غیرآندوتلیومی به صورت معناداری کم‌تر از گروه‌های اول و دوم بود (P=۰/۰۳). نتیجه‌گیری: قرنیه دهنده منجمد شده می‌تواند جایگزین مناسبی برای قرنیه‌های تازه جهت درمان قوزقرنیه به روش DALK با روش حباب بزرگ هوا باشد.

• مجله چشم‌پزشکی بینا ۱۳۹۳؛ دوره ۲۰، شماره ۲: ۱۵۴-۱۴۵.

• پاسخ‌گو: دکتر سپهر فیضی (e-mail: sepehrfeizi@yahoo.com)

دریافت مقاله: ۱۵ دی ۱۳۹۲

تایید مقاله: ۱ تیر ۱۳۹۳

- ۱- استاد- چشم‌پزشک- دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
- ۲- استادیار- چشم‌پزشک- دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
- ۳- پزشک عمومی- پژوهشگر
- ۴- دانشیار- چشم‌پزشک- دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
- ۵- دانشیار- چشم‌پزشک- دانشگاه علوم پزشکی شاهد
- ۶- دستیار چشم‌پزشکی- دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
- ۷- چشم‌پزشک- دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

تهران- پاسداران- بوستان نهم- خیابان پایدارفرد (خیابان امیر ابراهیمی)- پلاک ۲۳- مرکز تحقیقات چشم

مقدمه

نیاز برای پیوند می‌باشد. این در حالی است که در بعضی از ایام سال به علت بالا بودن تقاضا برای دریافت قرنیه، بانک چشم قادر به برطرف کردن این نیاز نمی‌باشد. در این راستا بانک چشم ایران اقدام به منجمد نمودن قرنیه‌های اهدایی در زمان وفور و استفاده از آن‌ها در مواقع نیاز نموده است.

از آن‌جا که روش DALK امکان استفاده از بافت‌های فاقد سلول را فراهم نموده است، بانک چشم ایران به منظور کاهش از دست رفتن بافت‌های با کیفیت مطلوب و افزایش دسترسی به بافت‌های پیوندی، درصد منجمد نمودن قرنیه‌های مازاد است.

نگهداری طولانی‌مدت قرنیه در ابتدا به منظور محافظت سلول‌های اندوتلیوم زنده از آسیب ناشی از انجماد معرفی شد.^۱ اما در مطالعات بعدی نشان داده شد که ذخیره‌سازی بلندمدت قرنیه به روش لیوفیلیزاسیون و یا دهیدراتاسیون شیمیایی به کمک گلیسرین منجر به از دست رفتن اپی‌تلیوم، کراتوسیت‌ها و آندوتلیوم شده و تنها ماتریکس کلاژنی استروما جهت پیوند قرنیه باقی خواهد ماند^{۱۰،۱۱}.

پیوند قرنیه لایه‌ای عمیق قدامی (Deep Anterior Lamellar Keratoplasty; DALK) با حفظ آندوتلیوم گیرنده، به صورت انتخابی لایه‌های غیرطبیعی استرومای قرنیه را با بافت سالم جایگزین نموده و خطر رد پیوند آندوتلیومی را حذف می‌نماید.^۱ DALK اثر کمی بر روی شمارش سلولی آندوتلیوم دارد^۲ و در برخی مطالعات پیامدهای بینایی و انکساری پس از DALK با پیوند قرنیه نافذ (Penetrating Keratoplasty; PK) قابل مقایسه گزارش شده است^{۳،۴،۶}. هم‌چنین، بسیاری از عوارض حین عمل باز از جمله چسبندگی قدامی، خونریزی اکسپالسیو و اندوفتالمیت^۷ را برطرف نموده و هم‌چنین موجب افزایش مقاومت چشم در برابر ضربه می‌شود.^۸ به علاوه در این روش، نیاز کم‌تری به بافت دهنده با کیفیت خوب می‌باشد که این مسئله در کشورهایی که با کمبود قرنیه‌های دهنده مواجه‌اند، حائز اهمیت است.^۹ در برخی از ماه‌های سال، درخواست بافت قرنیه کم می‌شود و میزان دریافت قرنیه‌های دهنده توسط بانک چشم جمهوری اسلامی ایران بیش از حد مورد

تاکنون مطالعه‌ای جهت بررسی نتایج استفاده از بافت‌های قرنیه منجمد بدون استفاده از مواد محافظ از انجماد (Cryoprotectants) انجام نشده است و هیچ مطالعه مقایسه‌ای برای مشخص کردن مناسب بودن این روش جهت تهیه بافت برای DALK وجود ندارد. این مطالعه، به منظور ارزیابی پیامدهای بینایی، انکساری و عوارض عمل DALK با استفاده از قرنیه منجمد شده و مقایسه آن با نتایج حاصل از عمل PK و DALK با استفاده از بافت‌های تازه بر روی گروهی از بیماران مبتلا به قوزقرنیه صورت گرفته است.

روش پژوهش

در این مطالعه مقایسه‌ای گذشته‌نگر، بیماران مبتلا به قوزقرنیه که طی اسفند ۱۳۸۸ تا آذر ۱۳۸۹ تحت عمل جراحی DALK به روش حباب بزرگ و یا PK قرار گرفته بودند، از نظر اطلاعات جمعیت‌شناسی، بهترین حدت بینایی اصلاح شده (BCVA) و عیب انکساری قبل و پس از عمل، روش پیوند قرنیه، نوع بافت دهنده، زمان و تعداد واکنش رد پیوند، شفافیت پیوند و عوارض عمل مورد بررسی قرار گرفتند. پیوند قرنیه به روش DALK در تمامی موارد منجر به ایجاد غشای دسمه برهنه (DM) شد. تشخیص قوزقرنیه بر اساس یافته‌های بالینی اسلیت‌لمپ (اکتازی قرنیه، نازک شدگی استروما، حلقه فلیشر و استریای وگت) داده شد و توسط کراتومتری و توپوگرافی تأیید گردید.

معیارهای ورود به مطالعه شامل قوزقرنیه متوسط (کراتومتری متوسط ۴۷ تا ۵۲ دیوپتر) تا پیش‌رفته (کراتومتری متوسط بیش از ۵۲ دیوپتر یا کراتومتری غیرقابل اندازه‌گیری) به همراه عیب انکساری غیرقابل اصلاح با عینک، عدم تحمل لنز تماسی سخت نفوذپذیر (RGP) یا عدم موفقیت در تجویز لنز تماسی بود. از دیگر معیارهای ورود به مطالعه، حداقل مدت زمان پی‌گیری ۱۲ ماه پس از عمل بود.

معیارهای خروج از مطالعه شامل وجود سایر بیماری‌های چشمی مانند آب مروارید، بیماری‌های شبکیه، گلوکوم و کونژنکتیویت بهاره (Vernal Keratoconjunctivitis; VKC) فعال بود. همچنین بیمارانی که تحت پی‌گیری منظم قرار نگرفتند نیز از مطالعه خارج شدند. ناتوانی در بدست آوردن غشای دسمه برهنه حین عمل DALK نیز منجر به خروج بیماران از مطالعه گردید. موافقت کمیته اخلاق (IRB) جهت استفاده از اطلاعات پرونده بیماران اخذ شد.

قبل از عمل، معاینه کامل چشم‌پزشکی شامل اندازه‌گیری

حدت بینایی اصلاح نشده (UCVA)، تعیین عیوب انکساری (در صورت امکان)، دید اصلاح شده با عینک یا لنز سخت نفوذپذیر به کمک تابلوی اسنلن (BCVA)، بیومیکروسکوپی اسلیت‌لمپ، اندازه‌گیری فشار داخل چشم با تونومتر، معاینه ته چشم با مردمک متسع و توپوگرافی قرنیه با استفاده از (TMS-1 Topographic Modeling System, version 1.61, Computed Anatomy Inc. New York, USA) صورت گرفت.

معاینات بعد از عمل شامل اندازه‌گیری UCVA، BCVA، عیب انکساری آشکار، کراتومتری متوسط و آستیگمات کراتومتری، در ماه‌های ۱، ۳، ۶ و حداقل ۱۲ ماه بعد از عمل (زمانی که تمامی بخیه‌ها برداشته شد) انجام گرفت. علاوه بر این، عوارض حین و بعد از عمل، واکنش‌های رد پیوند و شفافیت پیوند نیز ثبت شد.

روش عمل

همه موارد پیوند قرنیه توسط یک جراح باتجربه سگمان قدیمی (م.ع.ج) با بیهوشی عمومی انجام شد. برای انجام PK، قرنیه بیمار با استفاده از تریفاین مکشی بارون (Katena, Denville, NJ, USA) تا سوراخ شدن قرنیه بریده شد. اندازه تریفاین گیرنده بر اساس قطر عمودی قرنیه (VCD) در نظر گرفته شد: در صورتی که VCD کم‌تر از ۱۰/۵ میلی‌متر بود تریفاین ۷/۷۵ میلی‌متری و اگر VCD مساوی یا بیش‌تر از ۱۰/۵ میلی‌متر بود، تریفاین ۸ میلی‌متری انتخاب شد. بافت قرنیه دهنده از سطح آندوتلیوم به وسیله پانچ بارون به اندازه ۰/۲۵ میلی‌متر بیش‌تر از اندازه قرنیه گیرنده بریده شد. سپس بافت به بستر گیرنده بخیه زده شد.

DALK با استفاده از روش حباب بزرگ هوا انجام گرفت که قبلاً شرح داده شده است^{۱۲}. اندازه تریفاین گیرنده و دهنده مشابه حالتی که برای PK توضیح داده شد، انتخاب گردید. قبل از زدن بخیه، غشای دسمه و آندوتلیوم قرنیه دهنده به آرامی توسط فورسپس و یا اسفنج خشک سلولزی برداشته شد.

در تمامی گروه‌ها، قرنیه دهنده به روش بخیه ترکیبی شامل ۸ بخیه جدا و یک بخیه پیوسته ۱۶ بایتی با نخ نایلون ۱۰/۰ (Sharpoint, Angiotech, USA) به چشم گیرنده بخیه زده شد. حین بخیه زدن، سعی بر این بود تا ۹۰ درصد ضخامت قرنیه بیمار و قرنیه دهنده در بخیه‌ها درگیر گردد. حین عمل، کشش بخیه‌ها به کمک کراتوسکوپی دستی تنظیم شد. آماده سازی بافت دهنده:

همه موارد قرنیه‌های پیوندی از بانک چشم مرکزی ایران تهیه گردید. پیش‌نیازهای همه قرنیه‌های اهدایی شامل زمان مرگ تا

تحلیل آماری

اطلاعات حاصل از مطالعه با استفاده از نرم افزار آماری SPSS ویرایش ۱۷ (SPSS Inc. Chicago, USA) مورد تحلیل قرار گرفت. بر اساس یافته‌های آزمون توزیع طبیعی Kolmogorov-Smirnov و نمودار Q-Q، از ANOVA یک‌طرفه یا آزمون Kruskal-Wallis به منظور مقایسه نتایج کمی بین گروه‌های مطالعه استفاده شد. تاثیر مقایسه‌های مکرر با استفاده از روش Bonferroni خنثی گردید. برای مقایسه متغیرهای کیفی از آزمون دقیق فیشر و کای مربع استفاده شد. P کم‌تر از ۰/۰۵ به عنوان سطح معنادار آماری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در مجموع، ۶۱ چشم از ۶۱ بیمار مبتلا به قوزقرنیه در فاصله زمانی اسفند ۱۳۸۸ تا آذر ۱۳۸۹ تحت عمل پیوند قرنیه قرار گرفتند: روی هجده چشم (۲۹/۵ درصد) عمل PK (گروه ۱)، ۲۸ چشم (۴۵/۹ درصد) عمل DALK با استفاده از بافت قرنیه تازه (گروه ۲) و ۱۵ چشم (۲۴/۶ درصد) به روش DALK با استفاده از بافت قرنیه منجمد (گروه ۳) انجام شد. میانگین سنی در زمان عمل ۲۶/۳±۹/۵ (۱۵-۴۵) سال در گروه اول، ۲۷/۳±۷/۴ (۱۶-۴۱) سال در گروه دوم و ۲۶/۵±۸/۷ (۱۸-۴۷) سال در گروه سوم بود (P=۰/۵۶). متوسط دوره پی‌گیری بعد از پیوند ۲۰/۲±۴/۷ ماه در گروه ۱، ۱۹/۴±۳/۵ ماه در گروه ۲ و ۲۰/۳±۵/۰ ماه در گروه ۳ بود (P=۰/۶۵). جدول ۱، اطلاعات بیماران و جزئیات عمل را در گروه‌های مورد مطالعه نشان می‌دهد. گروه‌های مطالعه از نظر سن، BCVA قبل از عمل، کراتومتری متوسط و آستیگمات کراتومتری قبل از عمل، شدت قوزقرنیه، اندازه تریفاین قرنیه دهنده و گیرنده، طول مدت درمان با استروئید و فاصله زمانی از جراحی تا برداشتن کامل بخیه‌ها مشابه بودند. کراتوکنژنکتیویت بهاره در گروه ۱ شایع‌تر از گروه ۲ و ۳ بود. (به ترتیب P=۰/۰۲ و P<۰/۰۰۱) در حالی که در گروه‌های ۲ و ۳ این بیماری قابل مقایسه بود (P=۰/۰۸). علاوه بر این بخیه‌ها در گروه PK نسبت به گروه‌های ۲ و ۳ زودتر برداشته شد (به ترتیب P<۰/۰۰۱ و P=۰/۰۳) ولی این اختلاف بین دو گروه DALK معنادار نبود (P=۰/۱۲).

نگهداری کم‌تر از ۴۸ ساعت، معاینه طبیعی با دستگاه اسلیت‌لمپ و نتیجه منفی آزمایشات سرولوژیک بود. در این مطالعه، از دو نوع قرنیه اهدایی استفاده گردید: ۱- قرنیه اهدایی تازه نگهداری شده در دمای ۴°C در محلول Optisol-GS Preservative; (Optisol-GS, Chiron Vision, Irvine, CA) برای همه موارد PK و بخشی از موارد DALK-۲. قرنیه‌های اهدایی منجمد ذخیره شده به صورت گلوب کامل در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد که برای بخش دیگری از موارد DALK مورد استفاده قرار گرفت. در روز عمل، گلوب منجمد در دمای اتاق از حالت انجماد خارج شده و سپس به صورت بریده شده (Sclerocorneal Ring) در محلول Optisol-GS یا چشم کامل توزیع گردید. علت استفاده از قرنیه‌های منجمد، عدم دسترسی به بافت تازه در زمان جراحی بود.

سیر بعد از عمل

معاینات پی‌گیری روزهای ۱، ۳، ۷ و ۳۰ و ماه‌های ۳، ۶ و ۱۲ و حداقل ۳ ماه بعد از برداشتن کامل بخیه‌ها و پس از آن هر ۶ ماه صورت گرفت. پس از عمل، قطره کلرامفنیکل هر ۶ ساعت برای ۳۰ روز و قطره بتامتازون ۰/۱ درصد هر ۶ ساعت که طی ۴ تا ۶ ماه کاهش یافت (و سپس قطع شد)، تجویز گردید. در صورت لزوم، کلرور سدیم هایپرتونیک ۵ درصد موضعی جهت کاهش ادم بافت و کراتیت رشته‌ای و لوبریکانت جهت تسریع بهبود نقص اپی‌تلیوم قرنیه تجویز شد. در موارد وجود نقص دایم اپی‌تلیوم، از لنز تماسی (OmniFlex, Hydrion, UK) با یا بدون دوختن موقت پلک برای درمان استفاده گردید. واکنش‌های حاد رد پیوند با قطره بتامتازون ۰/۱ درصد چشمی که با دوز هر یک ساعت ظرف یک هفته تجویز شد و به آهستگی بسته به پاسخ درمانی در عرض چند هفته کاهش داده شد و گاه پردنیزولون خوراکی با دوز ۱ mm/kg به مدت یک هفته درمان شد.

پس از عمل، آستیگمات کراتومتری به کمک برداشتن انتخابی بخیه‌های مجزا از ماه سوم آغاز شد و کشش بخیه ممتد در ماه دوم کاهش یافت. برداشتن بخیه‌های مجزا به صورت پیاپی با شروع از بخیه‌های محکم (که با استفاده از کراتومتری مشخص شد) آغاز گردید و تا رسیدن به میزان آستیگمات قابل قبول ادامه یافت. بخیه‌های باقی‌مانده در صورت ایجاد عوارضی مانند آبسه، شل شدن و یا ایجاد عروق جدید در مسیر بخیه‌ها برداشته می‌شدند.

جدول ۱- اطلاعات بیماران قبل و پس از عمل

میزان P	گروه ۳	گروه ۲	گروه ۱	متغیر
۰/۶۷	۶/۹	۸/۲۰	۷/۱۱	نسبت مرد به زن
۰/۹۹	۷/۸	۱۳/۱۵	۸/۱۰	نسبت راست به چپ
۰/۰۱	صفر	۱ (۳/۶)	۵ (۲۷/۸)	سابقه VKC
۰/۱۵	۱/۳۰±۰/۵۰	۱/۱۴±۰/۴۹	۱/۴۵±۰/۶۱	BCVA (لوگمار)
۰/۶۶	۵۳/۴۳±۳/۰۸	۵۳/۴۳±۳/۹۵	۵۵/۲۶±۳/۵۷	میانگین کراتومتری (دیوپتر)
۰/۴۸	۶/۲۵±۳/۵۵	۵/۳۷±۳/۱۴	۶/۵۲±۳/۰	آستیگماتیسم کراتومتریک
۰/۴۲	۱۲/۳	۲۳/۵	۱۷/۱	شدت قوز قرنیه (متوسط / شدید)
۰/۶۶	۷/۶۵±۰/۱۱	۷/۶۹±۰/۱۱	۷/۹۹±۰/۱۴	اندازه گیرنده (میلی‌متر)
۰/۶۶	۸/۲۰±۰/۱۱	۸/۲۱±۰/۱۱	۸/۲۴±۰/۱۴	اندازه دهنده (میلی‌متر)
۰/۳۵	۱۳۴/۹±۵۷/۳	۱۷۴/۹±۷۹/۶	۱۷۹/۷±۱۲۰/۵	مدت درمان با استروئید (روز)
۰/۰۲	۷/۶±۴/۲	۱۰/۴±۵/۷	۴/۲±۲/۲	فاصله زمانی بین جراحی و خروج اولیه بخیه (ماه)
۰/۵۴	۱۱/۹±۵/۴	۱۳/۶±۵/۴	۱۲/۵±۲/۱	فاصله زمانی بین جراحی و برداشتن تمام بخیه‌ها (ماه)

گروه ۱: بیماران تحت پیوند قرنیه نافذ

گروه ۲: بیماران تحت پیوند قرنیه لایه‌ای عمیق قدامی و با استفاده از قرنیه تازه

گروه ۳: بیماران تحت پیوند قرنیه لایه‌ای عمیق قدامی با استفاده از قرنیه منجمد

طولانی‌تر بود (۱۴۸-۴۴ روز). در تمامی گروه‌ها BCVA پس از عمل در مقایسه با قبل از عمل به صورت معناداری بهبود یافته بود ($P < 0.001$ برای تمام گروه‌ها).

جدول ۲، اطلاعات مربوط به قرنیه فرد دهنده را نشان می‌دهد. کیفیت قرنیه در گروه ۱ به صورت معناداری نسبت به گروه ۲ ($P = 0.03$) و گروه ۳ ($P < 0.001$) بالاتر بود. علاوه بر این، مدت زمان نگهداری بافت در گروه ۳ به صورت قابل ملاحظه‌ای

جدول ۲- اطلاعات مربوط به دهنده

میزان P	گروه ۳	گروه ۲	گروه ۱	اطلاعات فرد دهنده
۰/۰۶	۳۳/۶±۸/۴	۳۲/۹±۱۲/۵	۲۶/۱±۷/۵	سن (سال)
۰/۲۲	۱۳/۲	۱۸/۱۰	۱۴/۴	مرد/زن
<0/001	صفر	۲	۲	درجه پیوند عالی
	صفر	۱۲	۱۳	خیلی خوب
	صفر	۵	۳	خوب
	۱۵	۹	صفر	نسبتاً خوب
۰/۷۹	-	۳۰۰۴/۹±۳۸۰/۲	۳۰۴۷/۶±۳۹۴/۵	تراکم سلول‌های اندوتلیال
۰/۷۶				فاصله زمانی بین مرگ و آماده‌سازی
	۱۳	۲۵	۱۷	کم‌تر از ۲۴ ساعت
	۲	۳	۱	۲۴-۴۸ ساعت
<0/001	۸۱/۶±۲۸/۳	۲/۶±۱/۹	۱/۳±۰/۸	میانگین مدت زمان نگهداری (روز)

گروه ۱: بیماران تحت پیوند قرنیه نافذ

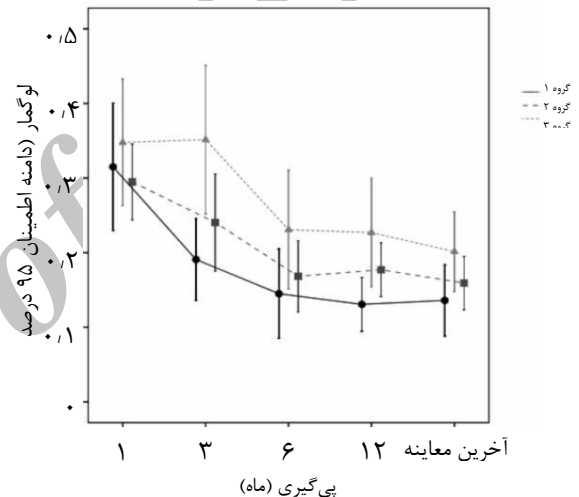
گروه ۲: بیماران تحت پیوند قرنیه لایه‌ای عمیق قدامی و با استفاده از قرنیه تازه

گروه ۳: بیماران تحت پیوند قرنیه لایه‌ای عمیق قدامی با استفاده از قرنیه منجمد

پس از عمل $UCVA \geq 20/40$ در ۴۴/۴ درصد چشم‌ها در گروه ۱، ۲۸/۶ درصد چشم‌ها در گروه ۲ و ۲۶/۷ درصد چشم‌ها در گروه ۳ بود ($P=0/85$). $BCVA \geq 20/40$ نیز به ترتیب در ۱۰۰ درصد، ۸۹/۳ درصد و ۹۲/۹ درصد در گروه‌های اول، دوم و سوم بود ($P=0/37$). جدول ۳ مقایسه پیامدهای انکساری بعد از عمل در آخرین معاینه بین سه گروه را نشان می‌دهد. در مقایسه با یافته‌های قبل از عمل، کراتومتری متوسط و آستیگمات کراتومتری بعد از عمل به صورت معناداری در همه گروه‌ها کاهش یافته بود ($P < 0/001$ برای تمام گروه‌ها).

آستیگمات کراتومتری کم‌تر یا مساوی ۴ دیوپتر در ۸۲/۴ درصد چشم‌ها در گروه ۱، ۶۴/۳ درصد چشم‌ها در گروه ۲ و ۹۲/۹ درصد چشم‌ها در گروه ۳ مشاهده شد ($P=0/10$). گروه ۱، یافته‌های کراتومتری مسطح‌تری نسبت به گروه ۲ ($P < 0/001$) و گروه ۳ ($P=0/01$) داشت. با این وجود، هر دو گروه DALK، کراتومتری متوسط مشابهی را نشان دادند ($P=0/22$). نمودارهای ۲-۴ تغییرات در معادل کروی خطای انکساری، کراتومتری متوسط و آستیگمات کراتومتری طی مدت پی‌گیری را نمایش می‌دهند. در مرحله زودرس پس از عمل، آستیگمات بالا به صورت شایع در همه بیماران به ویژه در گروه PK مشاهده شد. با این وجود، آستیگماتیسیم با گذشت زمان و برداشتن انتخابی بخیه‌ها کاهش یافت. معادل کروی خطای انکساری و آستیگمات کراتومتری بین همه گروه‌ها در همه معاینات پی‌گیری قابل مقایسه بود.

میانگین BCVA نهایی بر حسب لوگمار در گروه اول $0/14 \pm 0/08$ (۰/۱۵ تا ۰/۳۰)، در گروه دوم $0/17 \pm 0/11$ (۰/۱۵ تا ۰/۵۲) و در گروه سوم $0/20 \pm 0/09$ (۰/۱۰ تا ۰/۴۰) بود ($P=0/22$). میانگین UCVA نیز بر حسب لوگمار به ترتیب $0/45 \pm 0/31$ (۰/۱۰ تا ۱/۰)، $0/77 \pm 0/54$ (۰/۱۰ تا ۱/۵۰) و $0/52 \pm 0/32$ (۰/۱۰ تا ۱/۰) بود ($P=0/09$). در تمام معاینات پی‌گیری پس از عمل، UCVA و BCVA بین گروه‌های مورد مطالعه قابل مقایسه بود. بعد از عمل، BCVA طی ۱-۳ ماه بهبود یافت و بعد از ۶ ماه در تمامی گروه‌ها ثابت گردید (تصویر ۱).



تصویر ۱- مقایسه تغییرات در بهترین حدت بینایی (BCVA) بر حسب لوگمار بین گروه‌های مطالعه ۱ ماه ($P=0/48$)، ۳ ماه ($P=0/07$)، ۶ ماه ($P=0/16$)، ۱۲ ماه ($P=0/13$) پس از عمل و در آخرین معاینه پی‌گیری ($P=0/22$).

جدول ۳- عیب انکساری و کراتومتری متوسط پس از عمل

متغیر	گروه ۱	گروه ۲	گروه ۳	میزان P
معادل کروی عیب انکساری (دیوپتر)	$-1/49 \pm 2/05$	$-3/56 \pm 4/38$	$-2/53 \pm 3/02$	۰/۱۶
میانگین کراتومتری	$43/27 \pm 1/78$	$46/19 \pm 3/39$	$45/15 \pm 2/03$	۰/۰۲
آستیگماتیسیم کراتومتری	$2/94 \pm 1/52$	$3/41 \pm 1/95$	$2/43 \pm 1/10$	۰/۲۸

گروه ۱: بیماران تحت پیوند قرنیه نافذ

گروه ۲: بیماران تحت پیوند قرنیه لایه‌ای عمیق قدامی و با استفاده از قرنیه تازه

گروه ۳: بیماران تحت پیوند قرنیه لایه‌ای عمیق قدامی با استفاده از قرنیه منجمد

کم‌تری داشت اما این اختلاف از نظر آماری معنادار نبود. با درمان مناسب به کمک لنز تماسی و یا دوختن موقتی بخش خارجی پلک‌ها، هیچ‌یک از موارد نقص دائمی اپی‌تلیوم منجر به شکست

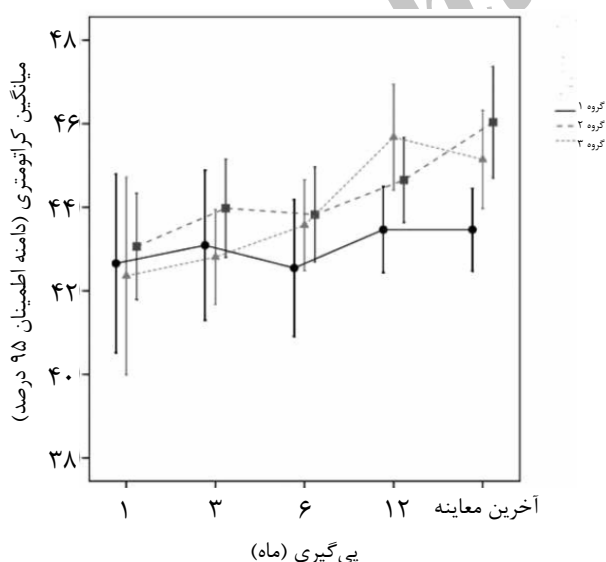
در این مطالعه، عوارض بعد از عمل بین گروه‌ها اختلاف معناداری نداشت (جدول ۴). نقص دائمی اپی‌تلیوم در گروه PK نسبت به گروه DALK (با استفاده از قرنیه تازه و منجمد) شیوع

گروه ۳، دچار یک نوبت واکنش رد پیوند غیر آندوتلیومی (تحت ساب اپی تلیومی) شدند ($P=0.03$). تنها یک چشم از گروه ۲، برای بار دوم، رد پیوند از نوع استرومایی را نیز داشت. همه موارد واکنش های رد پیوند با استفاده از قطره های بتامتازون ۰/۱ درصد چشمی که طی ۳-۶ هفته با توجه به پاسخ بالینی بیمار تجویز شد، درمان گردید. در آخرین معاینه پی گیری، هیچ موردی از شکست پیوند مشاهده نشد.

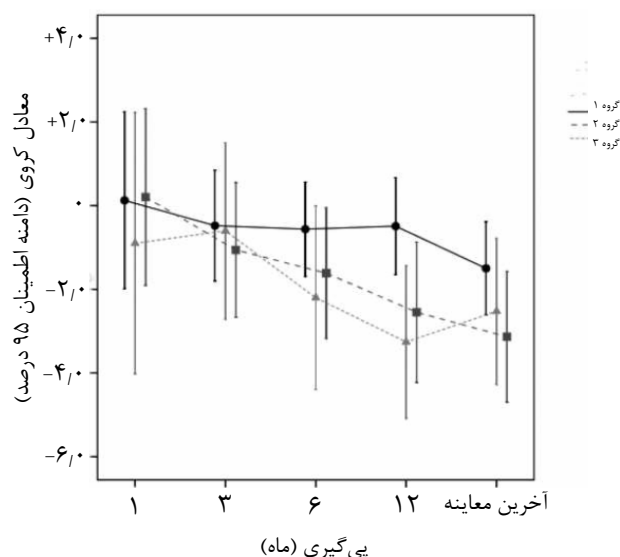
پیوند نشد. عوارض مرتبط با بخیه در گروه ۳ نسبت به گروه ۱ و ۲ بیش تر مشاهده شد ولی این اختلاف نیز از نظر آماری معنادار نبود. تمام گروه ها از لحاظ سایر عوارض از جمله آب مروارید و گلوکوم قابل مقایسه بودند. هیچ موردی از سوراخ شدن غشای دسمه و یا ایجاد اتاق قدامی کاذب در گروه DALK مشاهده نشد. میزان تمام انواع واکنش های رد پیوند در گروه PK، ۲۷/۸ درصد بود. طی دوره پی گیری، سه چشم (۱۶/۷ درصد) از گروه ۱، چهار چشم (۱۴/۳ درصد) از گروه ۲ و یک چشم (۶/۷ درصد) از

جدول ۴- عوارض مشاهده شده در هر گروه در طول مدت مطالعه

عوارض	گروه ۱ تعداد (درصد)	گروه ۲ تعداد (درصد)	گروه ۳ تعداد (درصد)	میزان P
نقص دایمی اپی تلیوم	۴ (۲۲/۲)	۱۳ (۴۶/۴)	۷ (۴۶/۷)	۰/۲۱
عوارض بخیه ها				۰/۰۹
آبسه	۲ (۱۱/۱)	۵ (۱۷/۹)	۵ (۳۳/۳)	
شل شدن	۳ (۱۶/۷)	۶ (۲۱/۴)	۵ (۳۳/۳)	
پارگی	صفر	۳ (۱۰/۷)	۲ (۱۳/۳)	
رگ زایی	صفر	۲ (۷/۱)	۱ (۶/۷)	
افزایش فشار داخل چشمی	۳ (۱۶/۷)	۵ (۱۷/۹)	۲ (۱۳/۳)	۰/۹۹
تشکیل آب مروارید	۲ (۱۱/۱)	۴ (۱۴/۳)	۲ (۱۳/۳)	۰/۹۹



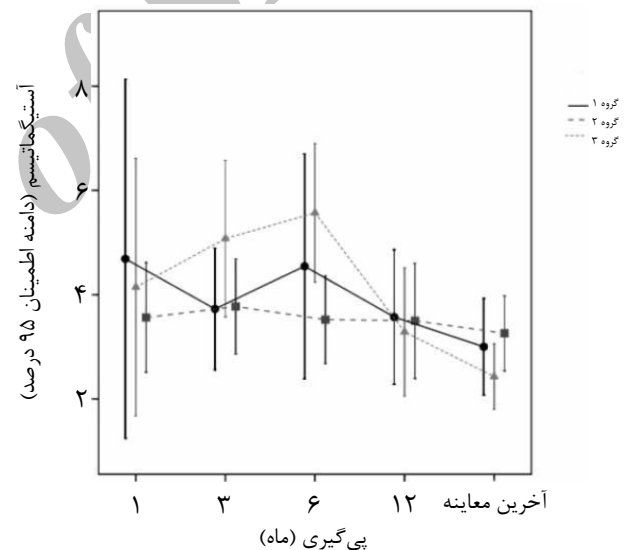
تصویر ۳- مقایسه تغییرات در کراتومتري متوسط بين گروه های مطالعه ۱ ماه ($P=0.081$)، ۳ ماه ($P=0.036$)، ۶ ماه ($P=0.035$)، ۱۲ ماه ($P=0.04$) پس از عمل و در آخرین معاینه پی گیری ($P=0.02$).



تصویر ۲- مقایسه تغییرات در معادل کروی عیب انکساری بين گروه های مطالعه ۱ ماه ($P=0.075$)، ۳ ماه ($P=0.086$)، ۶ ماه ($P=0.048$)، ۱۲ ماه ($P=0.09$) پس از عمل و در آخرین معاینه پی گیری ($P=0.016$).

بحث

روش جراحی پیوند لایه‌ای قرنیه امکان استفاده از بافت قرنیه فاقد سلول را فراهم نموده است. بنابراین، روش‌های نگهداری طولانی‌مدت بافت جهت افزایش دسترسی به بافت مجدداً مورد توجه قرار گرفته است.^{۱۰،۱۳} بانک چشم ایران یک سازمان توسعه یافته و خودکفا با برنامه جمع‌آوری موثر قرنیه‌ها و شبکه پخش سازمان یافته با قابلیت توانایی تهیه بافت قرنیه با کیفیت بالا می‌باشد. با این وجود، تقاضا برای بافت قرنیه تازه در پاره‌ای از ماه‌های سال کاهش می‌یابد و در نتیجه تعدادی قرنیه مازاد بر نیاز باقی می‌ماند. به همین منظور بانک چشم ایران اقدام به منجمد نمودن و ذخیره‌سازی قرنیه‌های اهدایی در زمان وفور و استفاده از آن‌ها در مواقع نیاز نموده است.



تصویر ۴- مقایسه تغییرات در آستیگمات کراتومتری بین گروه‌های مطالعه ۱ ماه ($P=0.65$)، ۳ ماه ($P=0.18$)، ۶ ماه ($P=0.07$)، ۱۲ ماه ($P=0.95$) پس از عمل و در آخرین معاینه پی‌گیری ($P=0.28$).

میزان بهبودی در BCVA و عیب انکساری در همه گروه‌ها قابل مقایسه بود که منطبق با نتایج گزارش شده توسط Chen و همکاران^{۱۰} می‌باشد.

همانند نتایج حاصل از عمل پیوند PK و DALK با استفاده از بافت‌های قرنیه تازه، میانگین BCVA نهایی پس از عمل در موارد پیوند شده با قرنیه منجمد برابر با $20/32$ بود و $20/40$ $BCVA \geq$ در $92/9$ درصد از بیماران مشاهده شد. این نتایج، با مشاهدات تعدادی از پژوهشگران که به بررسی پیامدهای عمل DALK با استفاده از قرنیه‌های نگهداری شده طولانی‌مدت پرداخته بودند، منطبق می‌باشد.^{۱۳،۱۵} با این حال سایر محققین^{۱۷،۱۴،۱۶،۱۰}، میزان کم‌تری از $20/40$ $BCVA \geq$ بعد از عمل را گزارش کردند که این امر می‌تواند ثانویه به انجام عمل پیوند قرنیه (کراتیت عفونی یا اسکار قدیمی قرنیه) در این مطالعات باشد. در مطالعات مذکور^{۱۷،۱۴،۱۶،۱۰} از برش دستی برای آماده‌سازی سطح گیرنده استفاده شد، در حالی که در مطالعه ما، غشای دسمه برهنه در همه موارد به دست آمد.

در مطالعه حاضر انحنای قرنیه بلافاصله بعد از عمل پیوند، مسطح گردید و زمانی که هنوز بخیه‌ها در محل خود قرار داشتند، نتایج در همه گروه‌ها تا ۱۲ ماه مشابه هم بود. با این وجود، بعد از برداشتن بخیه‌ها، افزایش معناداری در کراتومتری متوسط در گروه DALK نسبت به گروه PK مشاهده شد. این جابه‌جایی به سمت قدام که به طور معناداری به میزان بیش‌تر پس از برداشتن بخیه در گروه DALK رخ داد ممکن است به خاطر پاسخ ترمیمی متفاوت بین دهنده و گیرنده باشد. پاسخ ترمیمی در سطح غشای دسمه پس از DALK ایجاد نمی‌شود که می‌تواند منجر به کاهش استحکام زخم و جابجایی به جلو قرنیه دهنده پس از برداشتن کامل بخیه‌ها شود.

آستیگمات قابل توجه بعد از عمل به صورت شایع، قبل از تنظیم بخیه‌ها مشاهده شد. با این وجود، میانگین آستیگمات کراتومتری در پایان دوره پی‌گیری و پس از برداشتن تمام بخیه‌ها در همه گروه‌ها کم‌تر از $3/5$ دیوپتر بود. این یافته، تاثیر برداشتن به موقع بخیه‌ها در کنترل آستیگمات بعد از عمل DALK را همانند عمل PK نشان می‌دهد. اگرچه در مطالعه ما آستیگمات نهایی در گروه قرنیه‌های منجمد نسبت به سایر گروه‌ها پایین‌تر بود، اما این اختلاف از نظر آماری معنادار نبود.

آستیگمات کراتومتری بعد از عمل بیش‌تر از 4 دیوپتر در $7/1$ درصد از موارد قرنیه‌های منجمد مشاهده شد که این میزان در سایر گزارشات بعد از عمل DALK با استفاده از قرنیه‌های تازه، 16

نتایج مطالعه اخیر نشان می‌دهد که در آخرین معاینه پی‌گیری تفاوت معناداری در حدت بینایی و معادل کروی عیب انکساری بین گروه‌های مورد مطالعه وجود ندارد و استفاده از قرنیه منجمد می‌تواند نتایج بالینی مشابهی با قرنیه تازه استفاده شده در پیوند PK و DALK ایجاد کند. این یافته‌ها با نتایج مطالعات پیشین که پیامدهای عمل DALK با استفاده از قرنیه‌های بدون سلول ذخیره شده به روش لیوفیلیزاسیون^{۱۳} یا انجماد به کمک گلیسرین را گزارش کردند، مطابقت دارد.^{۱۴،۱۰} علاوه بر این، در این مطالعه

همکاران^{۱۴} در مدت دو سال پی گیری بیماران پیوند شده به روش DALK با استفاده از قرنیه های منجمد شده به کمک گلیسرین با میانگین مدت ذخیره به ترتیب ۷/۸ و ۹/۶ ماه، هیچ موردی از واکنش رد پیوند را مشاهده نکردند.

با این وجود در مطالعه ما، یک چشم پیوند شده با قرنیه منجمد دچار واکنش رد پیوند از نوع ساب اپی تلیومی شد که مطرح کننده این است که روش به کار رفته در این مطالعه قادر به حذف همه موارد رد پیوند نمی باشد. این یافته می تواند مرتبط با زمان کوتاه تر نگهداری قرنیه ها (۲/۷ ماه) در این مطالعه در مقایسه با مطالعات صورت گرفته توسط Chen و همکاران^۱ و Li و همکاران^{۱۱} باشد. علاوه بر این، روش های مختلف نگهداری قرنیه می تواند اثرات مختلفی بر روی ویژگی های بافت قرنیه دهنده از جمله خاصیت آنتی ژنی آن داشته باشد.

یافته ها نشان داد که روش ذخیره قرنیه بکار رفته در این مطالعه، یک روش ساده و موثر برای نگهداری طولانی مدت قرنیه ها می باشد که نیازی به هیچ گونه لیوفیلیزاسیون، تراش و یا ترکیبات شیمیایی نداشته و موجب کاهش اقدامات مورد نیاز جهت پردازش بافت در بانک چشم می شود. با این وجود، نتایج این مطالعه باید با توجه به محدودیت هایش تفسیر گردد. اول اینکه مطالعه ما، تصادفی نبوده و گروه ها یکسان نبودند. به طور مثال، کراتوکنژنکتیویت بهاره در گروه PK نسبت به گروه DALK شایع تر بود. بنابراین، از این نتایج نمی توان چنین استنباط نمود که استفاده از قرنیه های منجمد در بیماران دارای مشکلات سطح چشم از جمله VKC کاملاً بی خطر می باشد. دوم، حجم نمونه در گروه قرنیه های منجمد کم بود. با حجم نمونه بیشتر، تفاوت در عوارض بعد از عمل میان این گروه و گروه پیوند شده با قرنیه های تازه می تواند از نظر آماری معنادار شود. سوم، همه موارد پیوند، توسط یک جراح با تجربه صورت گرفت که به سادگی می توانست مشکلات حین عمل مانند تریفاین نمودن و بخیه زدن بافت های متورم را برطرف نماید. اگرچه این ویژگی اعتبار داخلی مطالعه را افزایش می دهد، اما نتایج آن قابلیت تعمیم پذیری کمتری خواهد داشت. به عنوان مثال، برای جراحان کم تجربه ممکن است تنظیم کشش بخیه ها و یا به دست آوردن یک قرارگیری مناسب دهنده و گیرنده با استفاده از بافت قرنیه ضخیم و متورم دشوار باشد.

نتیجه گیری

بافت های قرنیه منجمد شده می توانند جایگزین مناسبی برای

درصد^{۱۸} و ۲۴/۶ درصد^{۱۹} بود. شاید علت این مشاهده این باشد که قرنیه های منجمد شده نسبت به قرنیه های تازه سفت تر هستند^{۱۴،۲۰} که این امر می تواند منجر به دقت بیشتر در بخیه زدن، قرارگیری بهتر محل تماس بافت دهنده و گیرنده و در نهایت کاهش آستیگماتیسم بعد از عمل شود.^{۲۰}

عوارضی از جمله نقص دایم اپی تلیوم و کراتیت رسته ای، به دنبال عمل پیوند قرنیه با استفاده از قرنیه های با کیفیت پایین تر مشاهده می شود^{۲۱،۲۲}. در مطالعه ما نیز نقص دایم اپی تلیوم و عوارض مرتبط با بخیه در گروه قرنیه منجمد بیشتر گزارش شد، اگرچه این اختلاف از نظر آماری معنادار نبود. نقص دایم اپی تلیوم در ۴۶/۷ درصد از موارد مشاهده شد که به سادگی با تجویز لنز تماسی نرم و دوختن موقت پلک ها برطرف گردید. این میزان در مطالعات مشابه، ۴/۶ درصد^{۱۶} و ۱۵/۴ درصد^{۱۰} گزارش شده است. سایر پژوهشگران، بهبود کامل اپی تلیوم پس از عمل پیوند با استفاده از قرنیه های نگهداری شده به مدت طولانی را ۳/۸^{۱۶} و ۵ روز^{۱۳} گزارش نمودند.

کیفیت پایین و ادم قرنیه دهنده می تواند موجب افزایش میزان بروز عوارض مرتبط با بخیه از جمله تشکیل آبسه و شل شدن بخیه گردد. ادم قابل توجه بافت پیوند شده از ویژگی قرنیه های نگهداری شده به مدت طولانی می باشد که در مدت ۳ ماه پس از عمل برطرف می شود^{۱۰}. تجربه جراح نشان می دهد در صورتی که بافت منجمد شده دهنده به صورت گلوب کامل ارسال شود، شدت ادم قرنیه کم تر از زمانی است که به صورت حلقه بریده شده در محلول Optisol-GS ارسال گردد (تجربه جراح).

اگرچه DALK خطر رد پیوند از نوع آندوتلیومی را حذف نموده است، اما امکان وقوع سایر انواع رد پیوند (ساب اپی تلیومی و استرومای) وجود دارد^{۲۳،۲۴،۲۵} که می تواند منجر به تشکیل آبسه، ایجاد عروق جدید در بافت و حتی در صورت عدم درمان منجر به شکست پیوند گردد.^{۲۴} اجزاء سلولی بافت قرنیه تازه از جمله اپی تلیوم و کراتوسیت ها، منابع اصلی آنتی ژن های کمپلکس بافتی می باشند که می توانند منجر به فعال سازی مسیر غیرمستقیم واکنش رد ایمنی پیوند گردند. نگهداری طولانی مدت قرنیه به روش لیوفیلیزاسیون و انجماد به کمک گلیسرین موجب از دست رفتن سلول ها نظیر اپی تلیوم، کراتوسیت ها و سلول های عرضه کننده آنتی ژن شده و در نتیجه داربست زیستی فاقد سلول باقی می ماند^{۱۱}. به همین دلیل بافت های قرنیه فاقد سلول ممکن است منجر به کاهش قابل توجه یا حتی حذف بروز واکنش رد پیوند بعد از پیوند لایه ای گردد. Chen و همکاران^۱ و Li و

تا چه میزان نگهداری قرنیه به روش انجماد بدون استفاده از دهیدراتاسیون آن می‌تواند تعداد بافت دهنده را افزایش دهد، ضروری می‌باشد.

قرنیه‌های تازه جهت درمان بیماری قوزقرنیه به روش DALK با روش حباب بزرگ هوا باشد. با این وجود، انجام یک مطالعه مقایسه‌ای آینده‌نگر با حجم نمونه بیش‌تر به منظور تعیین این که

منابع

1. Terry MA. The evolution of lamellar grafting techniques over twenty-five years. *Cornea* 2000;19:611-616.
2. Morris E, Kirwan JF, Sujatha S, Rostron CK. Corneal endothelial specular microscopy following deep lamellar keratoplasty with lyophilised tissue. *Eye* 1998;12:619-622.
3. Funnell CL, Ball J, Noble BA. Comparative cohort study of the outcomes of deep lamellar keratoplasty and penetrating keratoplasty for keratoconus. *Eye* 2006;20:527-532.
4. Amayem AF, Hamdi IM, Hamdi MM. Refractive and visual outcomes of penetrating keratoplasty versus deep anterior lamellar keratoplasty with hydrodissection for treatment of keratoconus. *Cornea* 2013;32:e2-5.
5. Watson SL, Ramsay A, Dart JK, et al. Comparison of deep lamellar keratoplasty and penetrating keratoplasty in patients with keratoconus. *Ophthalmology* 2004;111:1676-1682.
6. Javadi MA, Feizi S, Yazdani S, Mirbabaee F. Deep anterior lamellar keratoplasty versus penetrating keratoplasty for keratoconus: a clinical trial. *Cornea* 2010;29:365-371.
7. Shimazaki J. The evolution of lamellar keratoplasty. *Curr Opin Ophthalmol* 2000;11:217-223.
8. Anwar M, Teichmann KD. Deep lamellar keratoplasty: surgical techniques for anterior lamellar keratoplasty with and without baring of Descemet's membrane. *Cornea* 2002;21:374-383.
9. Eastcott HH, Cross AG, Leigh AG, North DP. Preservation of corneal grafts by freezing. *Lancet* 1954;266:237-239.
10. Chen W, Lin Y, Zhang X, et al. Comparison of fresh corneal tissue versus glycerin-cryopreserved corneal tissue in deep anterior lamellar keratoplasty. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51:775-781.
11. Li J, Shi S, Zhang X, et al. Comparison of different methods of glycerol preservation for deep anterior lamellar keratoplasty eligible corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53:5675-5685.
12. Feizi S, Javadi MA, Jamali H, Mirbabaee F. Deep anterior lamellar keratoplasty in patients with keratoconus: big-bubble technique. *Cornea* 2010;29:177-182.
13. Farias R, Barbosa L, Lima A, et al. Deep anterior lamellar transplant using lyophilized and Optisol corneas in patients with keratoconus. *Cornea* 2008;27:1030-1036.
14. Li J, Yu L, Deng Z, et al. Deep anterior lamellar keratoplasty using acellular corneal tissue for prevention of allograft rejection in high-risk corneas. *Am J Ophthalmol* 2011;152:762-770.
15. Chau GK, Dilly SA, Sheard CE, Rostron CK. Deep lamellar keratoplasty on air with lyophilized tissue. *Br J Ophthalmol* 1992;76:646-650.
16. Coombes AG, Kirwan JF, Rostron CK. Deep lamellar keratoplasty with lyophilised tissue in the management of keratoconus. *Br J Ophthalmol* 2001;85:788-791.
17. Tayyib M, Sandford-Smith JH, Sheard CE, Rostron CK. Lamellar keratoplasty with lyophilized tissue for treatment of corneal scarring. *Refract Corneal Surg* 1993;9:140-142.
18. Fontana L, Parente G, Tassinari G. Clinical outcomes after deep anterior lamellar keratoplasty using the big-bubble technique in patients with keratoconus. *Am J Ophthalmol* 2007;143:117-124.
19. Noble BA, Agrawal A, Collins C, et al. Deep anterior lamellar keratoplasty (DALK): visual outcome and complications for a heterogeneous group of corneal pathologies. *Cornea* 2007;26:59-64.
20. Bonci P, Della Valle V, Bonci P, et al. Deep anterior lamellar keratoplasty with dehydrated, 4 C-stored, and rehydrated lenticules. *Eu J Ophthalmol* 2011;21:368-373.
21. Van Meter WS, Katz DG, White H, Gayheart R. Effect of death-to-preservation time on donor corneal epithelium. *Trans Am Ophthalmol Soc* 2005;103:209-222.
22. Kim T, Palay DA, Lynn M. Donor factors associated with epithelial defects after penetrating keratoplasty. *Cornea* 1996;15:451-456.
23. Watson SL, Tuft SJ, Dart JK. Patterns of rejection after deep lamellar keratoplasty. *Ophthalmology* 2006;113:556-560.
24. Williams KA, Hornsby NB, Bartlett CM, et al, eds. The Australian Corneal Graft Registry: 2004 Report. Adelaide: Snap Printing; 2004: 130-40, 175.