

Corneal Graft after Cultivated Oral Mucosal Epithelial Transplantation for Visual Rehabilitation in Chemical Burn

Baradaran-Rafii AR, MD; Delfazayebaher S, MD; Aghdami N, PhD; Baradaran-Rafii G, BS; Roshandel D, MD; Taghiabadi E, MS; Bamdad S, MD; Masoudi A, MD*

Ocular Tissue Engineering Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

* Corresponding author: ali_m0304@yahoo.com

Purpose: To evaluate result of Corneal graft (PKP) after cultivated oral mucosal epithelial transplantation (COMET) in patients with chemical burn.

Methods: In this prospective interventional nonrandomized case series, optical PKP was performed after successful COMET for visual rehabilitation in patients with severe stromal opacity. Main outcome measures were clarity of the corneal graft, visual acuity improvement, and corneal graft survival.

Results: Fourteen eyes of 14 patients with successful COMET were included. Overall, PKP was performed 7.6 ± 1.3 months (6-9 months) after COMET. The mean follow-up period was 28.2 ± 8 months (14-40 months, median 30 months). The time for complete epithelial healing was 7 days in all eyes. There was no epithelial defect in 13 eyes at the final examination. The corneal surface had been covered by a transparent epithelium without significant neovascularization. Bacterial keratitis developed in 1 eye due to persistent epithelial defect, which was healed with vascularization. Best-corrected visual acuity increased from 2.67 ± 0.08 LogMAR preoperatively to 0.64 ± 0.27 LogMAR after PKP ($P < .001$). Four patients had Endothelial rejection that successfully managed by systemic and topical steroids. Overall and rejection-free graft survival rates were 92.9 and 69.2%, respectively.

Conclusion: PKP is a good choice for visual rehabilitation in chemical burn with bilateral total LSCD and severe stromal opacity that underwent successful COMET.

Keywords: Chemical Burn, Cultivated Oral Mucosal Epithelial Transplantation, Limbal Stem Cell Deficiency, Corneal Graft

- Bina J Ophthalmol 2017; 23 (1): 41-48.

پیوند قرنیه بعد از پیوند اپیتلیوم مخاط دهانی کشت داده شده برای بازتوانی بینایی در سوختگی شیمیایی

دکتر علیرضا برادران رفیعی^۱، دکتر سیامک دلفزای باهر^۲، دکتر ناصر اقدمی^۳، غزاله برادران رفیعی^۴، دکتر دانیال روشندل^۵، احسان تقی آبادی^۶، دکتر شهرام بامداد^۷ و دکتر علی مسعودی^{۸*}

هدف: ارزیابی نتایج پیوند قرنیه بعد از پیوند اپیتلیوم مخاط دهانی کشت داده شده (Cultivated Oral Mucosal Epithelial Transplantation: COMET) در بیماران با سوختگی شیمیایی.

روش پژوهش: در این مطالعه گزارش موارد مداخله‌ای آینده‌نگر، پیوند قرنیه بعد از COMET موفق برای بهبود بینایی در بیماران با کدورت شدید استرومای قرنیه صورت گرفت. نتیجه نهایی، ارزیابی شفافیت پیوند قرنیه، بهبود حدت بینایی و بقای پیوند قرنیه بود.

یافته‌ها: چهارده چشم از چهارده بیمار با COMET موفق، برای ورود به مطالعه انتخاب شدند. پیوند قرنیه PKP 7.6 ± 1.3 ماه (۶-۹ ماه) بعد از COMET صورت گرفت. میانگین دوره پی‌گیری، 28.2 ± 8 ماه (۱۴-۴۰ ماه، میانه ۳۰ ماه) و زمان لازم برای بهبود کامل اپیتلیوم در تمام چشم‌ها، ۷ روز بود. در آخرین معاینه، در ۱۳ چشم نقص اپیتلیوم وجود نداشت. سطح قرنیه توسط اپیتلیوم شفاف بدون نورگزایی (نتوواسکولاریزاسیون) واضح پوشیده شده بود. کراتیت باکتریایی در یک چشم به علت نقص اپیتلیوم پایدار ایجاد شد که با واسکولاریزاسیون بهبود یافت. حدت بینایی اصلاح شده از 2.67 ± 0.08 لوگمار قبل از

عمل به 0.27 ± 0.64 لوگمار بعد از PKP افزایش یافت ($P < 0.001$). چهار چشم رد پیوند اندوتلیال داشتند که با مصرف استروئید موضعی و سیستمیک به طور موفق آمیز درمان شدند. میزان بقای پیوند به طور کلی و بدون رد پیوند به ترتیب ۹۲/۹ درصد و ۶۹/۲ درصد بود.

نتیجه گیری: پیوند قرنیه یک انتخاب مناسب برای بازتوانی بینایی در سوختگی شیمیایی با نقص سلول‌های بنیادی دوطرفه کامل و کدورت استرومای شدید که تحت COMET موفق قرار گرفته‌اند، می‌باشد.

کلمات کلیدی: پیوند اپی‌تلیوم مخاط دهانی کشت‌داده‌شده- پیوند قرنیه- سوختگی شیمیایی- نقص سلول‌های بنیادی لیمبال

• مجله چشم پزشکی بینا ۱۳۹۶؛ دوره ۲۳، شماره ۱: ۴۸-۴۱.

• پاسخ‌گو: دکتر علی مسعودی (email: ali_m0304@yahoo.com)

- ۱- استاد- چشم‌پزشک- مرکز تحقیقات مهندسی بافت چشم- دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی- تهران- ایران
 - ۲- چشم‌پزشک- دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی- تهران- ایران
 - ۳- دکترای سلول درمانی- موسسه سلول درمانی پژوهشگاه رویان- تهران- ایران
 - ۴- دانشجوی کارشناسی- دانشگاه تهران- تهران- ایران
 - ۵- استادیار- چشم‌پزشک- مرکز تحقیقات مهندسی بافت چشم- دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی- تهران- ایران
 - ۶- کارشناس ارشد- موسسه سلول درمانی پژوهشگاه رویان- تهران- ایران
 - ۷- دانشیار- چشم‌پزشک- مرکز تحقیقات چشم پوستچی- دانشگاه علوم پزشکی شیراز- فارس- ایران
 - ۸- استادیار- چشم‌پزشک- دانشگاه علوم پزشکی ارومیه- آذربایجان غربی- ایران
- ✉ تهران- پاسداران- بوستان نهم- خیابان پایدارفرد (خیابان امیر ابراهیمی)- پلاک ۲۳- مرکز تحقیقات مهندسی بافت چشم

مقدمه

به تازگی در LSCD کامل دوطرفه، روش درمان دیگری معرفی شده که پیوند ورقه‌های سلول‌های بنیادی کشت داده شده‌ای است که از منابع سلولی خود فرد حاصل می‌شود.^۱ سلول‌های اپی‌تلیوم مخاط دهان به علت خاصیت زایایی و دارا بودن فنوتیپ شبیه سلول‌های اپی‌تلیال قرنیه، توجه ویژه‌ای را به عنوان منبع سلولی به خود جلب کرده‌اند.^۲ گزارش‌هایی از درمان موفقیت‌آمیز برای LSCD کامل دوطرفه با استفاده از پیوند سلول‌های کشت داده شده اپی‌تلیوم مخاط دهان بر روی ورقه‌های غشای آمینوتیک انسانی ارائه شده است.^۳ برتری اصلی این روش، عدم نیاز به درمان سرکوب‌کننده ایمنی بعد از عمل می‌باشد.

به علت کدورت شدید قرنیه در این بیماران، پیوند قرنیه اپتیکیال غیرقابل اجتناب می‌باشد. Inatomi و همکاران^۴ نتایج موفقیت‌آمیزی از بازسازی سطح چشم به وسیله پیوند قرنیه بعد از COMET را گزارش کرده‌اند. بر اساس دانش ما، این اولین گزارش از نتایج پیوند قرنیه در تعداد قابل توجهی از موارد با COMET موفقیت‌آمیز می‌باشد.

روش پژوهش

در این "گزارش موارد" مداخله‌ای، بیماران با LSCD کامل

امروزه پیوند سلول‌های بنیادی لیمبال (Limbal Stem Cell Transplantation: LSCT) درمان استاندارد برای کمبود سلول‌های بنیادی (Limbal Stem Cell Deficiency: LSCD) محسوب می‌شود.^۱ در LSCD کامل یک‌طرفه، پیوند اتولوگ از بافت لیمبوس به دست آمده از چشم سالم مقابل (Conjunctival Limbal Autograft: CLAU) روش درمان استاندارد طلایی می‌باشد.^۲ پیشرفت‌های اخیر در روش‌های کشت سلولی منجر به پیدایش روش‌های کم‌تر تهاجمی مثل پیوند سلول‌های اپی‌تلیال کشت داده شده لیمبوس (Cultivated Limbal Epithelial Transplantation: CLET) شده است.^۳ در LSCD کامل دوطرفه، شایع‌ترین روش جراحی آلوگرافت کراتولیمبال (Keratolimbal Allograft Transplantation: KLAL) و (Living-related Conjunctival Limbal Allograft: Lr-CLAL) می‌باشد.^۴ اگرچه این روش‌ها در بازتوانی بینایی و ساختاری آناتومیک در این گونه چشم‌ها موثر هستند، ولی خطر بالای رد پیوند ایمونولوژیک به صورت حاد و مزمن وجود دارد که درمان طولانی‌مدت با داروهای تضعیف‌کننده سیستم ایمنی (ایمونوساپرسیو) را ضروری می‌سازد.^۵ استفاده از داروهای ذکرشده عوارض زیادی همچون عفونت، سرطان و سایر عوارض سیستمیک را به همراه دارد.^۶

یک دندانپزشک متخصص، یک بیوپسی کوچک از مخاط دهان پشت لب تحت بی حسی موضعی برداشته می شد و نمونه به روی Human Amniotic Membrane (HAM) خالی به مدت ۲-۳ هفته کشت داده می شد تا این که سلول ها به طور کامل به صورت پیوسته به هم در آیند. در تمام موارد به وسیله ارزیابی ایمونوهیستوشیمی مارکرهای سطح سلولی، موفقیت آزمایشگاهی کشت تایید می شد. P۶۳ (به عنوان مارکر سلول زایایی) و K۳/۱۲ (به عنوان مارکر تمایز سلول های اپی تلیال) در سلول های اپی تلیال دهانی کشت داده شده قبل و بعد از airlifting بروز می کرد. سلول های اپی تلیالی مخاط دهانی کشت شده که روی سطح پرده آمینوتیک بود، در سطح چشم پیوند شده و در روی لیمبوس و ۳ میلی متر خلف آن به وسیله بخیه ۱۰-۰ نایلون Tangenital Running، ثابت می شد. در پایان جراحی، یک لنز تماسی پانسمانی روی قرنیه گذاشته و لترال تارسورافی صورت می گرفت.

پیوند تمام ضخامت اپتیکال

۶-۹ ماه بعد از COMET در بیماران با اپی تلیوم قرنیه پایدار و حدت بینایی کم در اثر کدورت استرومای قرنیه، پیوند PKP اپتیکال استاندارد انجام می شد. به خاطر درگیری سطح چشم برای پیوند، قرنیه های دهنده با کیفیت بسیار خوب و اپی تلیوم سالم از بانک چشم دریافت می گردید. قرنیه گیرنده با ترفاین ۷ میلی متر و قرنیه دهنده با پانچ ۷/۵ میلی متر آماده می شد. قرنیه دهنده به وسیله ۱۶ بخیه جداگانه با نخ نایلون ۱۰-۰ به روی گیرنده ثابت می گردید. در نهایت یک لنز تماسی درمانی با DK (coopervision N.Y. U.S.A) بالا بر روی قرنیه قرار داده می شد.

درمان بعد از عمل

بعد از عمل، پردنیزولون خوراکی ۱ mg/kg برای بیماران تجویز و طی ۱-۲ ماه به تدریج قطع (taper) می شد. قطره بتامتازون ۰/۱ درصد و کلرامفنیکل ۰/۵ درصد هر ۶ ساعت تجویز می گردید. قطره کلرامفنیکل بعد از بهبود کامل اپی تلیوم و بتامتازون طی ۲ ماه براساس التهاب سطح چشم به تدریج قطع می شد و پس از ۲ ماه، بتامتازون با قطره Loteprednol ۰/۵ درصد هر ۱۲ ساعت جایگزین می گردید. قطره تاکرولیموس هر ۶ ساعت، روز بعد از عمل شروع و طی یک سال به تدریج، قطع می شد. لوبریکاسیون شدید سطح چشم به وسیله قطره های اشک مصنوعی عاری از نگهدارنده (Artelac, B&L, NY, USA) و ژل لوبریکانت حفظ می شد.

دو طرفه به علت سوختگی شیمیایی که COMET موفقیت آمیز داشتند، به طور آینده نگر وارد مطالعه شدند. این تحقیق از بهمن ماه ۱۳۹۰ تا فروردین ماه ۱۳۹۷ در مرکز آموزشی پزشکی لبافی نژاد تهران و مطالعات آزمایشگاهی و تجربی در موسسه رویان انجام شد. موارد شامل تمام بیمارانی بود که به خاطر کدورت شدید قرنیه تحت عمل پیوند تمام ضخامت (Pentrating Keratoplasty: PKP) قرار گرفته و حداقل برای ۱۲ ماه پی گیری شدند. مراحل پژوهش به وسیله کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی و موسسه رویان مورد تایید قرار گرفت. فرم رضایت آگاهانه از همه بیماران اخذ شد. تمام جراحی ها توسط یک جراح صورت گرفت. معیارهای ورود به مطالعه، COMET موفقیت آمیز، عدم وجود سیمبلفارون بارز یا اختلالات اناتومیک پلک، وجود حداقل اشک رفلکسی (برای مثال چشم مرطوب)، عدم وجود التهاب سطح چشمی فعال و حداکثر دید اصلاح شده بعد از COMET برابر یا کم تر از ۲۰/۱۲۰ بود. COMET موفقیت آمیز از لحاظ بالینی با وجود اپی تلیوم نیمه شفاف روی سطح قرنیه و عدم وجود رگ زایی (واسکولاریزاسیون) سطحی در ۵ میلی متری مرکزی قرنیه تعریف شد. تولید اشک توسط تست شیرمر I ارزیابی گردید. مرطوب شدن حداقل ۵ میلی متر بدون استفاده از بی حسی و تحریک به عنوان تولید کافی اشک در نظر گرفته شد. پایداری سطح چشم، بهبود حدت بینایی و بقا پیوند قرنیه به عنوان نتیجه نهایی مطالعه ارزیابی گردید. شفافیت پیوند قرنیه، پیدایش رگ زایی قرنیه و عوارض دیگر نتایج ثانویه بود.

معاینه کامل چشم شامل اندازه گیری حدت بینایی، معاینه با اسلیت لمپ، اندازه گیری فشار چشم و معاینه شبکیه برای همه موارد انجام شد. اگر کدورت مدیای شدید مانع ارزیابی فوندوس بیمار می شد، اکوگرافی B-scan برای بیمار صورت می گرفت.

نبود نورگ زایی در ۵ میلی متری مرکز قرنیه به عنوان موفقیت در نظر گرفته شد. پیشروی رگ زایی به سمت ناحیه مرکزی قرنیه و پیدایش نقص اپی تلیوم پایدار (PED) به عنوان شکست تلقی گردید. رگ زایی پیوند قرنیه به وسیله تصویربرداری (فتوگرافی) ارزیابی و طبق روش Inatomi درجه بندی شد که درجه یک نشان دهنده رگ زایی محیطی، درجه ۲ رگ زایی محیطی و ناحیه Midperiphery، درجه ۳ شامل رگ زایی نسبی کل پیوند و درجه ۴ رگ زایی شدید سراسر پیوند بود.

COMET

COMET استاندارد به روشی که قبلاً توضیح داده شد، صورت گرفت. به طور خلاصه بعد از تایید وجود مخاط دهانی سالم توسط

یافته‌ها

مشخصات پایه‌ای و نتایج بالینی

۱۴ چشم از ۱۴ بیمار (۹ مرد، ۵ زن) با LSCD کامل دوطرفه که COMET موفقیت‌آمیز داشته‌اند، وارد مطالعه شدند. در تمام چشم‌ها، LSCD ثانویه به سوختگی شیمیایی بود (۷ اسید و ۷ باز). میانگین سن بیماران $12/6 \pm 38/9$ سال محاسبه شد (۷۵-۱۸ سال). میانگین BCVA قبل از عمل $2/67 \pm 0/08$ لوگمار بود (تمام موارد دید کم‌تر از ۲۰/۲۰۰). به علت کدورت شدید استرومای قرنیه ۹-۶ ماه بعد از COMET، پیوند تمام ضخامت قرنیه PKP انجام شد. میانگین زمان پی‌گیری $28/2 \pm 8$ ماه (۴۰-۱۴ ماه) با میانگین ۳۰ ماه بود (جدول ۱).

بیماران در روزهای ۱، ۳، ۷، ۱۴ و ۲۸، هر دو هفته تا ۳ ماه سپس هر ماه تا یک سال و سپس هر ۳ ماه معاینه می‌شدند. در هر معاینه، پی‌گیری تصویربرداری دیجیتال صورت می‌گرفت.

تحلیل آماری

حدت بینایی برای تحلیل آماری تبدیل به لوگمار شد. لوگمار برای حدت بینایی‌های کم‌تر از ۲۰/۲۰۰ برای شمارش انگشتان، حرکت دست، درک نور و عدم درک نور به ترتیب ۲/۶، ۲/۷، ۲/۸ و ۲/۹ در نظر گرفته شد. داده‌ها با نرم افزار SPSS ویرایش ۲۱ تحلیل آماری شدند. برای ارزیابی بقای پیوند قرنیه، تحلیل کاپلان-مایر صورت گرفت. مقادیر ۰/۰۵ از لحاظ آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

جدول ۱- خلاصه مشخصات بیماران و نتایج بالینی

مورد	سن	جنس	چشم درگیر	علت	جراحی‌های قبلی	پی‌گیری (ماه)	دید قبل از عمل	دید در آخرین معاینه	عوارض
۱	۴۴	مرد	چپ	اسید	بستن پونکتوم	۴۰	CF	۲۰/۶۰	دفع پیوند و آب‌مرورید
۲	۴۱	مرد	راست	اسید	جراحی پلک	۳۸	CF	۲۰/۱۰۰	-
۳	۱۸	مرد	چپ	قلیا	جراحی پلک	۳۶	CF	۲۰/۵۰	-
۴	۳۵	مرد	راست	قلیا	-	۳۴	LP	۲۰/۲۰۰	دفع پیوند
۵	۷۵	زن	چپ	قلیا	پیوند قرنیه	۳۳	HM	۲۰/۲۰۰	-
۶	۴۶	مرد	چپ	اسید	بازسازی فورنیکس	۳۱	LP	۲۰/۲۰۰	شکست پیوند
۷	۳۵	مرد	چپ	اسید	تنوپلاستی	۳۱	CF	۲۰/۴۰	زخم اپی‌تلیالی قرنیه
۸	۴۲	زن	راست	قلیا	بازسازی فورنیکس	۲۹	CF	۲۰/۵۰	آب‌مرورید
۹	۳۳	زن	چپ	اسید	جراحی پلک	۲۷	CF	۲۰/۲۰۰	افزایش فشار چشم
۱۰	۲۸	مرد	چپ	قلیا	بازسازی فورنیکس	۲۴	LP	۲۰/۶۰	زخم اپی‌تلیالی، دفع پیوند
۱۱	۳۶	زن	راست	قلیا	-	۲۲	CF	۲۰/۴۰	افزایش فشار چشم
۱۲	۴۱	مرد	راست	اسید	تنوپلاستی	۱۹	HM	۲۰/۸۰	آب‌مرورید
۱۳	۳۳	زن	راست	اسید	جراحی پلک	۱۷	CF	۲۰/۶۰	زخم اپی‌تلیالی، دفع پیوند
۱۴	۲۸	مرد	چپ	قلیا	تنوپلاستی	۱۴	CF	۲۰/۱۰۰	-

معاینه، $0/64 \pm 0/27$ لوگمار ($P < 0/001$) بود. هیچ موردی از بدتر شدن BCVA وجود نداشت. به طور کلی میزان بقا پیوند قرنیه ۹۲/۹ درصد و بقا پیوند قرنیه بدون رد پیوند در ۲۴، ۱۲ و ۴۰ ماه به ترتیب ۷۶/۹، ۶۹/۲ و ۶۹/۲ درصد بود (تصویر ۱ A و B).

رگ‌زایی خفیف سطحی محیط قرنیه (درجه ۱) در بیش‌تر موارد ۱-۲ ماه بعد از جراحی شروع و ۳-۶ ماه بعد به حداکثر میزان خود می‌رسید. در طول پی‌گیری، ۴ چشم دچار حملاتی از رد اندوتلیال پیوند شدند که تحت درمان به وسیله کورتیکواستروئید موضعی و سیستمیک قرار گرفتند. در آخرین معاینه، همه پیوندها شفاف بودند. در دو چشم، افزایش فشار چشم مشاهده شد که هیچ‌کدام نیاز به جراحی گلوکوم نداشتند و فشار بالای چشم با تجویز قطره‌های تیمولول (یک چشم) و لاتاناپروست

روز اول بعد از عمل، نقص اپی‌تلیوم قرنیه (CED) با اندازه‌های مختلف مشاهده شد. با این حال در تمام چشم‌ها، ۷-۵ روز بعد از عمل اپی‌تلیالیزه شدن کامل سطح قرنیه رخ داد. در آخرین معاینه، ۱۳ چشم دارای سطحی پایدار و بدون نقص اپی‌تلیوم قرنیه بودند. سطح قرنیه توسط اپی‌تلیوم شفاف بدون نورگ‌زایی واضح پوشیده شده بود. نقص‌های کوچک اپی‌تلیوم، در ۳ چشم رخ داد که توسط اپی‌تلیوم مخاط دهانی مجاور ترمیم شد. در یک چشم (مورد شماره ۶) نقص پایدار اپی‌تلیوم قرنیه (PED) ایجاد شد که به دنبال آن ۳ ماه بعد از جراحی دچار کراتیت باکتریال شد. این بیمار به طور موفقیت‌آمیز با قطره‌های آنتی‌بیوتیک درمان شد و در نهایت با نورگ‌زایی پیوند، بهبودی حاصل شد. ۶ ماه بعد برای این بیمار، KLAL هم‌زمان با PKP صورت گرفت. میانگین BCVA در آخرین

گزارش موارد

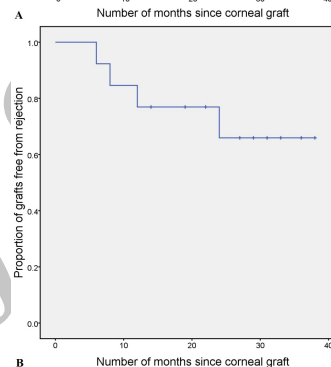
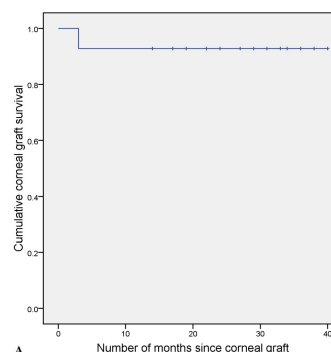
بیمار اول

مرد ۱۸ ساله با کدورت قرنیه دوطرفه به همراه کونژانکتیوالیزاسیون مراجعه کرده بود. تاریخچه‌ای از سوختگی شیمیایی درجه ۳ توسط قلیا همراه با ایسکمی ۳۰۰ درجه لیمبوس در چشم چپ از حدود ۴ ماه پیش وجود داشت. شش ماه پس از آسیب اولیه، COMET برای بیمار و دو هفته بعد از جراحی، اپی تلیالیزه شدن قرنیه به طور کامل صورت گرفت. شش ماه بعد، سطح قرنیه به صورت آرام با اپی تلیالیزه شدن پایدار بود. پس از آن به علت کدورت استرومای شدید برای بیمار، PKP صورت گرفت (تصویر ۲). در آخرین معاینه (۳۶ ماه بعد از پیوند قرنیه) قرنیه شفاف و پوشیده از اپی تلیوم نیمه شفاف و BCVA بیمار ۲۰/۵۰ بود.

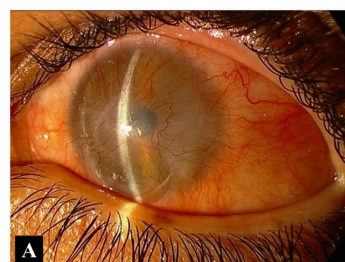
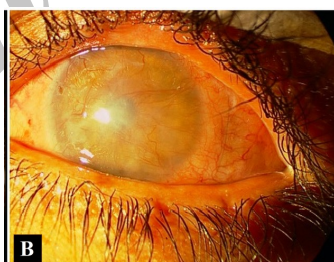
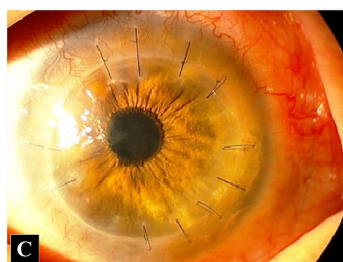
بیمار دوم

خانم ۳۶ ساله‌ای با سابقه سوختگی دوطرفه با مواد قلیایی چند سال قبل، مراجعه نمود (تصویر ۳). زمان مراجعه، هر دو قرنیه دچار رگ‌زایی، کدورت و رسوبات چربی بودند. حدت بینایی بیمار در حد شمارش انگشتان کاهش یافته بود. سطح چشم راست بیمار به وسیله COMET بازسازی و سپس PKP برای بیمار انجام شد. در آخرین معاینه سطح چشم پایدار، پیوند قرنیه شفاف با رگ‌زایی درجه ۱ محیطی و BCVA وی ۲۰/۴۰ بود.

۰/۵ درصد (یک چشم) کنترل شد. سه چشم بعد از جراحی PKP، دچار کاتاراکت PSC شدند که تحت جراحی کاتاراکت قرار گرفتند.



تصویر ۱- (A) بقای جمعی پیوند قرنیه پس از COMET. (B) نسبت پیوندهای بدون دفع، پس از COMET



تصویر ۲- (A) کونژانکتیوالیزاسیون و کدورت قرنیه پس از سوختگی شیمیایی. (B) سطح قرنیه شش ماه پس از COMET. (C) ظاهر قرنیه ۳۶ ماه بعد از پیوند قرنیه



تصویر ۳- (A) کدورت، کونژانکتیوالیزاسیون و نورگ‌زایی قرنیه قبل از COMET. (B) سطح چشم ۵ ماه بعد از COMET. (C) سطح چشم دو سال پس از پیوند قرنیه متعاقب COMET

بحث

در بیماران با LSCD کامل دوطرفه، از آنجایی که جراحی COMET نیاز به سرکوب سیستم ایمنی ندارد، یک درمان جانبی و جایگزین برای پیوند سلول‌های بنیادی می‌باشد. جراحی COMET می‌تواند سطح قرنیه را با یک لایه نسبتاً شفاف اپی‌تلیالیزه کند. با این حال مشابه سایر روش‌های LSCT در بیماران با کدورت شدید قرنیه، بهبود بینایی نیازمند پیوند قرنیه به دنبال COMET می‌باشد. ما دریافتیم که برای بهبود بینایی در این بیماران PKP می‌تواند یک روش موفق بعد از COMET باشد.

Nakamura و همکاران^{۱۱}، گزارش کردند ورقه‌های اپی‌تلیال مخاط دهانی کشت داده شده با مهندسی بافت در بازسازی مرحله ایجاد اسکار بیماری‌های شدید سطح چشم مفید است. هم‌چنین ذکر نمودند بیماری‌های شدید سطح چشم مانند پمفیگوئید سیکاتریسیل چشم (OCP)، سندرم استیونس جانسون (SJS) و سوختگی شیمیایی می‌توانند به طور موفقیت‌آمیز به وسیله پیوند ورقه‌های اپی‌تلیال مخاط دهانی اتولوگ کشت داده شده درمان شوند.

Satake و همکاران^{۱۳}، مخاط دهانی را به دو روش کشت دادند. استفاده از پرده آمیون به عنوان لایه‌ای برای آماده کردن ورقه‌های اپی‌تلیوم و روش دوم، پیوند ورقه‌های سلول‌های اپی‌تلیال بدون ناقل که هر دو روش، نتایج خوبی در بازسازی سطح چشم به دست آوردند. در هر حال میزان بقای پیوند در گروه ورقه‌های بدون ناقل به طور بارزی بهتر از گروه ورقه‌های پرده آمیون بود. هم‌چنین COMET به طور موفقیت‌آمیز برای درمان نقص اپی‌تلیوم پایدار (PED) در SJS و OCP برای پایدار کردن سطح قرنیه و کاهش مرحله پایانی سیکاتریزان و کاهش دید استفاده شده است^{۱۴}.

در مطالعات موردی Inatomi و همکاران^{۱۵} استفاده دو مرحله‌ای COMET و PKP را برای درمان بیماران با LSCD کامل گزارش نمودند. آن‌ها بقا پیوند اپی‌تلیوم مخاط دهانی اکتوپیک را مستند نموده و نشان دادند که پیوند سلول‌های بنیادی مخاط دهانی اتولوگ از عوارض شایع اپی‌تلیال در قرنیه پیوند شده جلوگیری می‌کند^{۱۲}. بقای پیوند غشا مخاطی و یک پارچه شدن با سطح چشم نیاز به رگ‌زایی موفق بافتی دارد. هم‌چنین بقا پیوند اپی‌تلیوم مخاط گونه غیرکشت داده شده که به سطح چشم پیوند شده است به کانالیزه شدن مجدد عروق وابسته است و آن را تحریک می‌کند^{۱۶}. Gipson و همکاران، اپی‌تلیوم مخاط دهانی خرگوش را بعد از جدا کردن اپی‌تلیوم با استفاده از Dispase به سطح چشم پیوند زدند که پیوند آن‌ها باعث رگ‌زایی آشکار شد^{۱۷}.

به نظر می‌رسد در ورقه‌های اپی‌تلیوم بافت مخاط دهانی کشت داده شده، تمایل کمی به رگ‌زایی وجود دارد. این رگ‌زایی محدود، اثر محافظتی در سلول‌های زیای باقی‌مانده و خاصیت زیایی آن‌ها دارد^{۱۸}. یک علت می‌تواند عدم تعادل بین عوامل آنژیوژنیک مانند VEGF (عامل رشد اندوتلیال عروقی) و FGF (عامل رشد فیبروبلاست) و عوامل ضد آنژیوژنیک مثل ترموسپوندین باشد^{۱۳}. از طرف دیگر وسعت رگ‌زایی می‌تواند وابسته به علت زمینه‌ای باشد. ما در بعضی از بیماران، رگ‌زایی خفیف محیطی که باعث کاهش دید نمی‌شد را مشاهده نمودیم. ممکن است تمایل زیادی برای ایجاد رگ‌زایی در شرایط بعد از التهاب مانند SJS، OCP در مقایسه با شرایط غیرالتهابی مثل سوختگی شیمیایی وجود داشته باشد.

در این مطالعه، موفقیت بالینی COMET به صورت وجود اپی‌تلیوم شفاف روی سطح قرنیه و عدم رگ‌زایی سطحی در ۵ میلی‌متری مرکزی قرنیه تعریف شد. جلوگیری از پیشروی رگ‌زایی یکی از ویژگی‌های سلول‌های بنیادی لیمبوس قرنیه می‌باشد. موفقیت بالینی COMET به معنی اپی‌تلیالیزه شدن مداوم و پایدار قرنیه به وسیله سلول‌هایی با خاصیت بنیادی است. به نظر می‌رسد این حالت، از رگ‌زایی سطحی قرنیه جلوگیری نماید. رگ‌زایی سطحی محیطی اتفاقی است که به طور شایع در COMET موفق مشاهده می‌شود. این سلول‌های زیای کشت داده شده، ممکن است نتوانند همانند سلول‌های بنیادی لیمبوس قرنیه از پیشرفت رگ‌زایی سطحی قرنیه جلوگیری نمایند. از این رو، رگ‌زایی کامل سطح قرنیه به عنوان نقص سلول‌های بنیادی کشت داده شده در نظر گرفته می‌شود. این یافته‌های بالینی و فرضیات باید در مطالعات تجربی آینده مورد بررسی قرار گیرند.

همانند سایر انواع نقص سلول‌های بنیادی، موفقیت PKP اپتیکیال بعدی وابسته به موفقیت پیوند سلول‌های بنیادی قلبی می‌باشد. ما ۱۴ مورد PKP را در ۱۴ چشم بعد از COMET موفق به علت کدورت قرنیه انجام دادیم. در پایان پی‌گیری، ۱۳ چشم، پیوند شفاف با اپی‌تلیوم منظم نسبتاً شفاف داشتند. اگرچه نقص اپی‌تلیوم در همه چشم‌ها بعد از جراحی به طور کامل بهبود یافت، ۳ چشم از ۱۳ چشم طی پی‌گیری بعد از عمل دچار نقص اپی‌تلیوم شد. همه آن‌ها بدون رخداد مهمی با درمان‌های حمایتی بهبود یافتند. یک چشم (بیمار شماره ۶) دچار PED و کراتیت باکتریال ثانویه به عفونت استاف ائوروس مقاوم به متی‌سیلین شد که در نهایت با کونژانکتیوالیزاسیون قرنیه بهبود یافت. بیمار سابقه مصرف سیگار به مقدار زیاد را در تاریخچه ذکر کرد. هم‌چنین لبه

ویژه نوع کشت داده شده، موج سطحی کونژانکتیوالیزاسیون و رگ‌زایی به راحتی قابل ردیابی است. عدم حضور رگ‌زایی سطحی و کونژانکتیوالیزاسیون روی قرنیه پیوند شده بعد از COMET، یک نشانگر بالینی و مهم موفقیت است. با این حال مطالعات بیش‌تری برای تمایز بالینی بین اپی‌تلیوم ملتحمه از اپی‌تلیوم مخاط دهانی مورد نیاز می‌باشد. استفاده فراوان از اشک مصنوعی و پماد بدون ماده نگهدارنده برای موفقیت بالینی COMET ضروری است^{۱۴،۱۷}.

حفظ رطوبت سطح چشم برای ترویج تکثیر سلول‌های اپی‌تلیال و پایداری آن‌ها لازم است^{۱۴}. ما از لنزهای تماسی درمانی نرم با نفوذپذیری بالا (DK) برای همه بیماران در پایان جراحی استفاده نمودیم.

بسیاری از بیماران با بیماری سطح چشم شدید (OSD) دچار درجاتی از خشکی چشم، کراتینیزاسیون سطح چشم و ناهنجاری‌های پلک می‌باشند. از این رو محافظت از آسیب فیزیکی به ویژه در زمان اولیه بعد از جراحی با استفاده از لنز تماسی می‌تواند سلول‌های اپی‌تلیال سست را از ضربه‌های فیزیکی و ریزش محافظت نماید. نفوذپذیری بالای لنزهای تماسی می‌تواند اکسیژن‌رسانی بافتی را افزایش دهد.

از آنجایی که در بسیاری از بیماران استرومای گیرنده، رگ‌زایی و سطح چشم دچار نقص می‌باشد، PKP بعد از COMET در این بیماران با سوختگی شیمیایی به عنوان پیوند با خطر بالا در نظر گرفته می‌شود. این موضوع می‌تواند پیوندها را مستعد حملات رد پیوند استرومال و اندوتلیال نماید. برای افزایش میزان موفقیت PKP اپتیکال، تشخیص آلونژیک به وسیله سیستم ایمنی میزبان باید به کم‌ترین مقدار برسد^{۱۲}. بقا پیوند بعد از PKP زمانی که چندین ماه بعد از پیوند سلول‌های بنیادی انجام می‌شود، بیش‌تر است^۷. ما برای کاهش خطر رد پیوند آلوگرافت، قطره تاکرولیموس تجویز نمودیم. رد پیوند اندوتلیال در ۴ (۲۸/۵ درصد) بیمار مشاهده شد که همه آن‌ها با کورتیکواستروئید موضعی و سیستمیک کنترل شدند.

هیچ موردی از شکست بعد از رد پیوند در بیماران ما وجود نداشت. اپی‌تلیوم مخاطی کشت داده شده اتولوگ که روی قرنیه را می‌پوشاند عاملی برای Allosensitization نیست بنابراین باعث افزایش خطر رد پیوند اپی‌تلیال بعد از COMET نمی‌شود. بیماران با سوختگی شیمیایی مشکلات سطح چشمی خاصی شامل خشکی چشم، التهاب، ناهنجاری لبه پلک و غیره دارند که ممکن است آن‌ها را مستعد به ریزش سلول‌ها و شکست نهایی پیوند نمایند. COMET ناموفق می‌تواند منجر به نقص اپی‌تلیوم دائم روی قرنیه

پلک فوقانی نسبتاً نامنظم بود. این دو عامل در کنار بهداشت پایین دهانی، باعث شکست پیوند شدند.

اپی‌تلیوم مخاط دهانی سالم و بهداشت مطلوب دهان برای کشت موفق و اپی‌تلیالیزه شدن بعدی سطح چشم ضروری است. بیماری‌های التهابی مثل SJS، به ویژه در مرحله حاد، OCP و مصرف سیگار ممکن است سلامت مخاط دهان را تحت‌تاثیر قرار دهند^{۱۳}. از این رو معاینه کامل دهان یک بخش ضروری برای ارزیابی کشت موفق و پیوند در این بیماران به شمار می‌رود.

توانایی تکثیر اپی‌تلیوم ملتحمه به طور نسبی کم می‌باشد^{۱۹}. طول عمر سلول‌های Transient Amplifying قرنیه (سلول‌هایی که در اپی‌تلیوم قرنیه حضور دارند و به سلول‌های اپی‌تلیوم تمایز پیدا می‌کنند) کم‌تر از یک سال و احتمالاً کم‌تر از ۳ ماه می‌باشد^{۱۹،۲۰}. بهبود نقص اپی‌تلیوم قرنیه و حفظ اپی‌تلیوم طبیعی روی قرنیه برای بیش از یک سال، نشان‌دهنده قابلیت حیات مداوم اپی‌تلیوم دهانی کشت داده شده پیوند شده است. به علت نقص سطح چشم در این بیماران، قرنیه‌های دهنده با کیفیت خیلی عالی با اپی‌تلیوم سالم برای پیوند انتخاب شدند. اپی‌تلیالیزه شدن اولیه پیوند بعد از PKP می‌تواند در نتیجه حضور و فعالیت سلول‌های زایای موجود در پیوند باشد. این سلول‌های اپی‌تلیوم در قرنیه دهنده مسئول شفافیت اپی‌تلیوم قرنیه طی هفته‌ها و ماه‌های اول می‌باشد. سلول‌های اپی‌تلیوم قرنیه به وسیله سلول‌های دهانی کشت داده شده جایگزین می‌شوند که ظاهر نیمه‌شفاف در اپی‌تلیوم ایجاد می‌کنند.

تقسیم‌بندی اپی‌تلیوم به نیمه‌شفاف و شفاف، ذهنی (subjective) بوده و براساس یافته‌های معاینه با اسلیت‌لمپ می‌باشد. ما طبیعت بیولوژیک واقعی این اپی‌تلیوم نیمه‌شفاف را بررسی نکردیم. این سلول‌ها می‌توانند سلول‌های قرنیه مانده و تکثیر شده اپی‌تلیوم مخاط دهان، اپی‌تلیوم ملتحمه پیش‌رونده روی قرنیه و یا تغییرات متاپلاستیک اپی‌تلیوم قرنیه پیوند شده باشند. بررسی طبیعت واقعی این سلول‌ها به وسیله بررسی‌های بافت‌شناسی Confocal Microscopic و Impression Cytology می‌تواند زمینه بررسی و مطالعات در آینده باشد. قضاوت بالینی درباره موفقیت COMET روی قرنیه به شدت آسیب دیده، دشوار است. اپی‌تلیوم پوشاننده قرنیه ناصاف، نامنظم و غیرشفاف و استروما دارای کدورت و رگ‌زایی می‌باشد. از این رو کنتراست نوری برای تشخیص موج آهسته پیش‌رونده کونژانکتیوالیزاسیون کافی نیست.

بعد از PKP در یک چشم با پیوند سلول‌های بنیادی قبلی (به

نتیجه گیری

در بسیاری از چشم‌ها با OSD شدید COMET می‌تواند باعث بازسازی سطح چشم به وسیله ایجاد اپی‌تلیوم سالم و پایدار شود. براساس دانش ما، این گزارش اولین مطالعه‌ای است که نتایج موفقیت بالینی طولانی‌مدت PKP به دنبال COMET برای بازسازی سطح چشم در درمان LSCD کامل دوطرفه ناشی از سوختگی شیمیایی در تعداد قابل توجهی از موارد را نشان داد.

پیوندی و پس از آن عوارض دیگری همچون نازک شدن قرنیه، سوراخ‌شدگی و اندوفتالمیت شود. به عبارت دیگر در COMET ناموفق، کونژانکتیوالیزسیون قرنیه نتیجه نهایی مطلوب خواهد بود. استفاده از لنز تماسی پانسمانی با نفوذپذیری بالا ممکن است از سایش مداوم لبه پلک فوقانی روی سطح چشم جلوگیری نموده و لوپریکاسیون سطح چشم را به وسیله پخش حداقل مقدار لازم از اشک چشم روی قرنیه افزایش دهد.

منابع

- Liang L, Sheha H, Li J, et al. Limbal stem cell transplantation: new progresses and challenges. *Eye* 2009;23:1946-1953.
- Nakamura T, Inatomi T, Sotozono C, et al. Successful primary culture and autologous transplantation of corneal limbal epithelial cells from minimal biopsy for unilateral severe ocular surface disease. *Acta Ophthalmol Scand* 2004;82:468-471.
- Pellegrini G, Traverso CE, Franzi AT, et al. Long-term restoration of damaged corneal surfaces with autologous cultivated corneal epithelium. *The Lancet* 1997;349:990-993.
- Espana E, Di Pascuale M, Grueterich M, et al. Keratolimbal allograft in corneal reconstruction. *Eye* 2004;18:406-417.
- Scocco C, Kwitko S, Rymer S, et al. HLA-matched living-related conjunctival limbal allograft for bilateral ocular surface disorders: long-term results. *Arq Bras Ophthalmol* 2008;71:781-787.
- Baradaran-Rafii A, Eslani M, Djalilian AR. Complications of keratolimbal allograft surgery. *Cornea* 2013;32:561-566.
- Solomon A, Ellies P, Anderson DF, et al. Long-term outcome of keratolimbal allograft with or without penetrating keratoplasty for total limbal stem cell deficiency. *Ophthalmology* 2002;109:1159-1166.
- Sehic A, Utheim OA, Ommundsen K, et al. Pre-Clinical Cell-Based Therapy for Limbal Stem Cell Deficiency. *J Funct Biomater* 2015;6:863-888.
- Gaddipati S, Muralidhar R, Sangwan VS, et al. Oral epithelial cells transplanted on to corneal surface tend to adapt to the ocular phenotype. *Indian J Ophthalmol* 2014;62:644-648.
- Nakamura T, Takeda K, Inatomi T, et al. Long-term results of autologous cultivated oral mucosal epithelial transplantation in the scar phase of severe ocular surface disorders. *Br J Ophthalmol* 2011;95:942-946.
- Prabhasawat P, Ekpo P, Uiprasertkul M, et al. Long-term result of autologous cultivated oral mucosal epithelial transplantation for severe ocular surface disease. *Cell Tissue Bank* 2016;17:491-503.
- Inatomi T, Nakamura T, Koizumi N, et al. Midterm results on ocular surface reconstruction using cultivated autologous oral mucosal epithelial transplantation. *Am J Ophthalmol* 2006;141:267-275.
- Satake Y, Yamaguchi T, Hirayama M, et al. Ocular surface reconstruction by cultivated epithelial sheet transplantation. *Cornea* 2014;33:S42-S46.
- Sotozono C, Inatomi T, Nakamura T, et al. Cultivated oral mucosal epithelial transplantation for persistent epithelial defect in severe ocular surface diseases with acute inflammatory activity. *Acta Ophthalmol* 2014;92:e447-e453.
- Inatomi T, Nakamura T, Kojyo M. Ocular surface reconstruction with combination of cultivated autologous oral mucosal epithelial transplantation and penetrating keratoplasty. *Am J Ophthalmol* 2006;142:757-764.
- Kim CY, Woo YJ, Lee SY, et al. Postoperative outcomes of anophthalmic socket reconstruction using an autologous buccal mucosa graft. *J Craniofac Surg* 2014;25:1171-1174.
- Gipson IK, Geggel HS, Spurr-Michaud SJ. Transplant of oral mucosal epithelium to rabbit ocular surface wounds in vivo. *Arch Ophthalmol* 1986;104:1529-1533.
- Soma T, Hayashi R, Sugiyama H, et al. Maintenance and distribution of epithelial stem/progenitor cells after corneal reconstruction using oral mucosal epithelial cell sheets. *PLoS one* 2014;9:e110987. doi: 10.1371/journal.pone.0110987.
- Kinoshita S, Friend J, Thoft RA. Sex chromatin of donor corneal epithelium in rabbits. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1981;21:434-441.
- Dohlman CH. On the fate of the corneal graft. *Acta Ophthalmol* 1957;35:286-302.