

pooperacyjnej rogówek w oczach eksperymentalnych (z hrEGF) w porównaniu z kontrolnymi. Zaznaczało się to już wcześniej, zaledwie po 3 tygodniach od zabiegu, i utrzymywało do końca eksperymentu. Tego rodzaju wyniki pozwalają wnioskować o przyspieszającym działaniu hrEGF na wgajanie się płatką oraz na zmniejszenie się powstawania niezborności pooperacyjnej. Jest to niewątpliwie korzystne klinicznie działanie hrEGF dla końcowego rezultatu przeszczepu rogówki.

#### Wnioski

Wyniki badań jednoznacznie wskazują na przyspieszający gojenie rany rogówki efekt hrEGF. Naskórkowy czynnik wzrostu zastosowany w niskich stężeniach wyraźnie przyspieszał gojenie się rany, jak również powodował zwiększenie siły zrOSTu. Wyższe stężenia hrEGF nie miały tak wyraźnego wpływu przyspieszającego gojenie się rany rogówki. Potwierdzały to obserwacje osiągnięte w poprzednich badaniach doświadczalnych i klinicznych nad hrEGF (2-5). Czynnik ten przyspiesza gojenie się rany rogówki, działając selektywnie w wąskich granicach tolerancji. Obecnie prowadzimy drugą – kliniczną część badań, używając empirycznie ustalonych dawek hrEGF w leczeniu grupy chorych.

#### Piśmiennictwo

1. Brazell R.K., Stem M.E., Aquavella J.V., Beuerman R.W., Baird L.: *Human recombinant epidermal growth factor*

*experimental corneal wound healing*. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 1991, 32, 336-340.

2. Cohen S.: *Isolation of mouse submaxillary gland protein accelerating incisor eruption and eyelid opening in the new-born animals*. J. Biol. Chem., 1962, 237, 1555-1559.
3. Kitazawa T., Kinoshita S., Fujita K., Araki K., Wannabe H., Ohashi Y., Manabe R.: *The mechanism of accelerated corneal epithelial healing by human epidermal growth factor*. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 1990, 31, 1773-1778.
4. Mathers W.D., Sherman M., Fryczkowski A.W., Jester J.V.: *Dose-dependent effects of epidermal growth factor on corneal wound healing*. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 1989, 30, 2403-2406.
5. McDonald M.B., Kaufman H.E., Gordon J.F., EGF Study Group: *Results of a double masked perspective multicenter trial of human recombinant growth factor after epikeratophakia in humans*. Arch. Ophthalmol., 1996, 114, 568-573.
6. Ohashi Y., Motokura M., Kinoshita Y., Mano T., Watanabe H., Kinoshita S., Manobe R., Oshiden K., Yanaiharu C.: *Presence of epidermal growth factor in human tears*. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 1989, 30, 1879-1882.
7. Smith R.S., Smith L.A., Rich L., Weimar V.: *Effects of growth factors on corneal wound healing*. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 1981, 20, 222-228.
8. Starkey R.H., Cohen S., Orth D.N.: *Epidermal growth factor: identification of a new hormone in human urine*. Science, 1975, 189, 800-806.

Praca wpłynęła do Redakcji 10 października 1999 r. (801)

## Prace oryginalne

Klinika Oczna 1999, 101 (6): 417-421  
ISSN 0023-2157 Indeks 362 646

## Zastosowanie przeszczepów błony owodniowej w leczeniu schorzeń rogówki

### Application of amniotic membrane transplantation in severe corneal diseases

Ewa Rakowska<sup>1</sup>, Zbigniew Zagórski<sup>1,2</sup>, Agnieszka Kardaszewska<sup>1,2</sup>, Daniela Durakiewicz<sup>2</sup>

**Purpose:** To present our experience with the amniotic membrane transplantation in severe corneal diseases.

**Material and methods:** In 1998 amniotic membrane transplantation was applied in 18 eyes (17 patients) with severe and persistent corneal diseases. The indications were as follows: perforated corneal ulcer – 9 eyes, persistent non-perforated corneal ulcer – 4 cases, recurrent transplant disease – 2 eyes, 1 patient with Sjögren syndrome and 1 with keratolysis in the course of ulcerative colitis. Amniotic membrane was prepared in the International Eye Bank of Lublin from human placenta after elective caesarean section according to the standard protocol.

**Results:** In 7 eyes with perforated ulcers and 4 eyes with non-perforated ulcers prompt healing was observed. In 4 cases markedly improved visual acuity resulted from corneal clarification. In 1 eye perforation persisted in spite of amniotic membrane transplantation and keratoplasty was performed afterwards. In the case of keratolysis, amniotic membrane transplantation did not prevent corneal perforation which was closed successfully with autologous conjunctival flap. In 2 eyes with recurrent transplant disease amniotic membrane dissolved quickly after transplantation. In one case the state of the cornea improved. The second eye required retransplantation of the membrane. We observed that amniotic membrane dissolved more quickly in a vascularized bed.

**Conclusion:** Amniotic membrane transplantation may be considered a good alternative method for treating severe corneal disorders that are refractory to conventional treatment.

**Słowa kluczowe:** błona owodniowa, przeszczep, choroby rogówki

**Key words:** amniotic membrane, transplantation, corneal diseases

Błona owodniowa jest beznaczyniową, półprzezroczystą tkanką płodową tworzącą wewnętrzną część łożyska. Ze względu na dobrze rozwiniętą blaszkę podstawną znalazła zastosowanie kliniczne w leczeniu oparzeń, uporczywych owrzodzeń skóry oraz jako opatrunek dla trudno gojących się ran i przeszczepów skóry. Stwierdzono bowiem, że zawierająca kolagen typu III i IV oraz lamininę błona podstawna owodni stanowi

dobre podłoże dla odnawiającego się nabłonka (9). Błonę owodniową w okulistyce po raz pierwszy zastosował Filatow (1, 3, 4). W opracowanym przez niego lecnicznictwie tkankowym owodni w postaci homogenatu tkankowego wstrzykiwano choremu podspojówkowo lub domięśniowo w celu leczenia chorób zapalnych i zwyrodnieniowych, tak przedniego, jak i tylnego odcinka oka (3, 4, 8). W terapii tkankowej wszczepiano też płatki owodni lub łożyska pod spojówkę (3). Jak podaje Shimazaki w 1940 r. De Róth zastosował przeszczepy błony owodniowej w rekonstrukcji spojówki (9). Konserwowana błona owodniowa została wprowadzona do chirurgii okulistycznej w 1995 r. w celu rekonstrukcji powierzchni rogówki (6). Rok później pojawiło się doniesienie o korzystnych wynikach przeszczepów błony owodniowej w operacjach rekonstrukcyjnych powierzchni gałki ocznej (10). Te doniesienia zachęciły nas do wprowadzenia transplantacji błony owodniowej w naszej Klinice.

<sup>1</sup> Z Katedry Okulistyki im. prof. T. Krwawicza

<sup>1</sup> I Kliniki Chorób Oczu AM w Lublinie

Kierownik: *prof. dr hab. Zbigniew Zagórski*

<sup>2</sup> Z Międzynarodowego Banku Tkanek Oka w Lublinie

Kierownik: *prof. dr hab. Zbigniew Zagórski*

Adres do korespondencji (Reprint requests to):

Dr med. Ewa Rakowska  
I Kliniki Chorób Oczu AM  
ul. Chmielna 1  
20-079 Lublin

Celem niniejszej pracy było przedstawienie obserwacji i wyników związanych z zastosowaniem przeszczepów konserwowanej błony owodniowej w leczeniu ciężkich schorzeń rogówki, opornych na konwencjonalne leczenie.

### Materiał i metodyka

W I Klinice Chorób Oczu AM w Lublinie w okresie od 25.02.1998 r. do 18.11.1998 r. przeszczepiono błonę owodniową u 17 pacjentów (18 oczu) z ciężkimi, nawracającymi schorzeniami rogówki. Średni wiek chorych wynosił 54,7 roku (zakres=21-80 lat). Czas obserwacji po operacji wynosił od 2 tygodni do 9 miesięcy, średnio – 4,7 miesiąca. Operacje przeszczepienia błony owodniowej wykonano z powodu: perforacji rogówki (9 oczu), uporczywego, jądowego owrzodzenia rogówki bez perforacji (4 oczu), nawracającej choroby przeszczepu z niegójącymi się ubytkami nabłonka w przeszczepie (2 oczu), zespołu Sjögrena (2 oczu), rozmiękania rogówki w przebiegu wrzodziejącego zapalenia jelita grubego (1 oko). Wskazania do operacji przedstawiono w tabeli I.

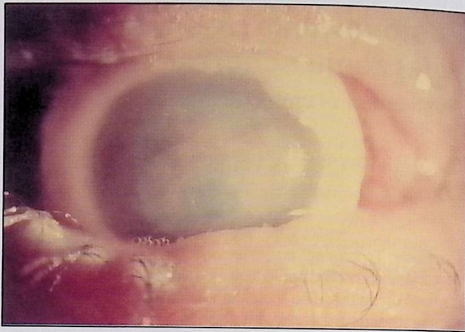
Tabela I: Wskazania do przeszczepu błony owodniowej  
Table I: Indications for amniotic membrane transplantation

Choroba rogówki Corneal disease	Liczba oczu Number of eyes (n=18)
Perforacja rogówki w przebiegu: Corneal perforation in the course of:	n=9
– zapalenia wirusowego rogówki (HSV) herpetic keratitis	5
– zespołu Zinssera-Engmana-Cole'a Zinsser-Engman-Cole syndrome	1
– urazu przenikającego penetrating corneal trauma	1
– stanu po keratoplastyce (keratopathia bullosa) failed PKP due to bullous keratopathy	1
– owrzodzenia neurotroficznego neurotrophic ulceration	1
Niegójące się, jądowe owrzodzenia rogówki bez perforacji Persistent sterile non-perforated corneal ulcers	n=4
Nawrotowa choroba przeszczepu Recurrent transplant disease	n=2
Zespół Sjögrena Sjögren syndrome	n=2
Rozmiękanie rogówki w przebiegu wrzodziejącego zapalenia jelita grubego Keratolysis in the course of ulcerative colitis	n=1

Błonę owodniową otrzymywano z Lubelskiego Banku Tkanki Oka. Była ona pobierana z łożyska ludzkiego od młodych zdrowych kobiet, które były poddane planowemu cięciu cesarskiemu. Przed pobraniem łożyska dawczyniom pobierano krew na badania w kierunku HIV, HBV, HCV oraz kiły. Po wykluczeniu powyższych schorzeń pobierano łożysko na sali operacyjnej w trakcie zabiegu cięcia. Błonę przygotowywano do przeszczepu zgodnie z standardowym protokołem (Kim i Tseng, 1995, z modyfikacją własną) (6, 10). Preparaty

owodni przechowywano na podłożu Dulbecco's Modified Eagle Medium z glicerolem (1:1) w temperaturze -20°C, a w ostatnim okresie -80°C.

Technika operacyjna: w znieczuleniu miejscowym po wycięciu trepanem płatka odpowiedniej wielkości naszywano konserwowaną błonę owodniową na rogówkę w miejscu chorobowo zmienionym. Płatek mocowano do podłoża szwami pojedynczymi. W przypadkach głębokich owrzodzeń najpierw wypełniano ubytek w żrbie rogówki błoną owodniową, a następnie pokrywano powierzchnię rogówki drugim fragmentem w postaci płatka. Niekiedy przeszczep zabezpieczano, naszywając na niego rogówkę dawcy lub zakładając soczewkę kontaktową. Szwamy usuwano po 10-14 dniach.



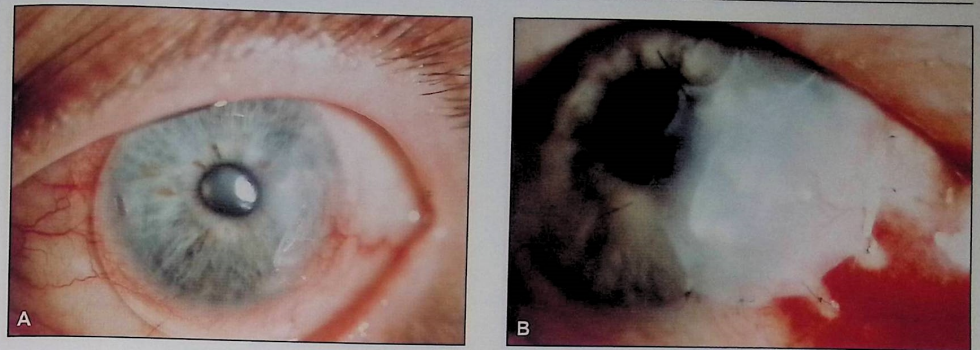
Ryc. 1. Przeszczep błony owodniowej zabezpieczony rogówką dawcy

Fig. 1. Amniotic membrane transplant covered with donor cornea

### Wyniki

W siedmiorgu oczach z perforacją rogówki oraz w czterech oczach z owrzodzeniami bez perforacji zaobserwowano szybkie gojenie się rogówki. W czterech przypadkach z tej grupy zanotowano również poprawę ostrości wzroku z powodu przejaśnienia się rogówki podczas gojenia.

U jednego chorego w grupie oczu z perforacją w związku z niepowodzeniem przeszczepu błony owodniowej wykonaliśmy ostatecznie keratoplastykę drążącą. W oku z perforacją w owrzodzeniu neurotroficznym przeszczep płatka owodni wykonano trzykrotnie z powodu nawracającego głębokiego owrzodzenia. Niestety, wynik pozostał niezadowolający. W dwójgu oczach z niegójącymi się ubytkami nabłonka w przebiegu choroby przeszczepu zaobserwowano szybkie rozpuszczanie się płatka owodni po operacji. W jednym przypadku stan przeszczepionej rogówki poprawił się. W drugim zaś przypadku najpierw ponownie naszyto owodnię, a potem w związku z niepowodzeniem leczenia wykonano keratoplastykę drążącą. U chorego z rozmiękaniem rogówki w przebiegu wrzodziejącego zapalenia jelita grubego przeszczepienie błony owodniowej nie zapobiegło obwodowej perforacji rogówki, która wygoiła się po zastosowaniu autologicznego przeszczepu spojówki. W sześciu przypadkach zaobserwowaliśmy szybką resorpcję błony owodniowej, średnio po



Ryc. 2. Perforacja rogówki w przebiegu brzeżnego zapalenia rogówki

A – przed zabiegiem  
B – 24 godziny po zabiegu  
C – 2 tygodnie po przeszczepie błony owodniowej

Fig. 2. Corneal perforation in the course of marginal keratitis

A – before surgery  
B – 24 h after surgery  
C – 2 weeks after amniotic membrane transplantation

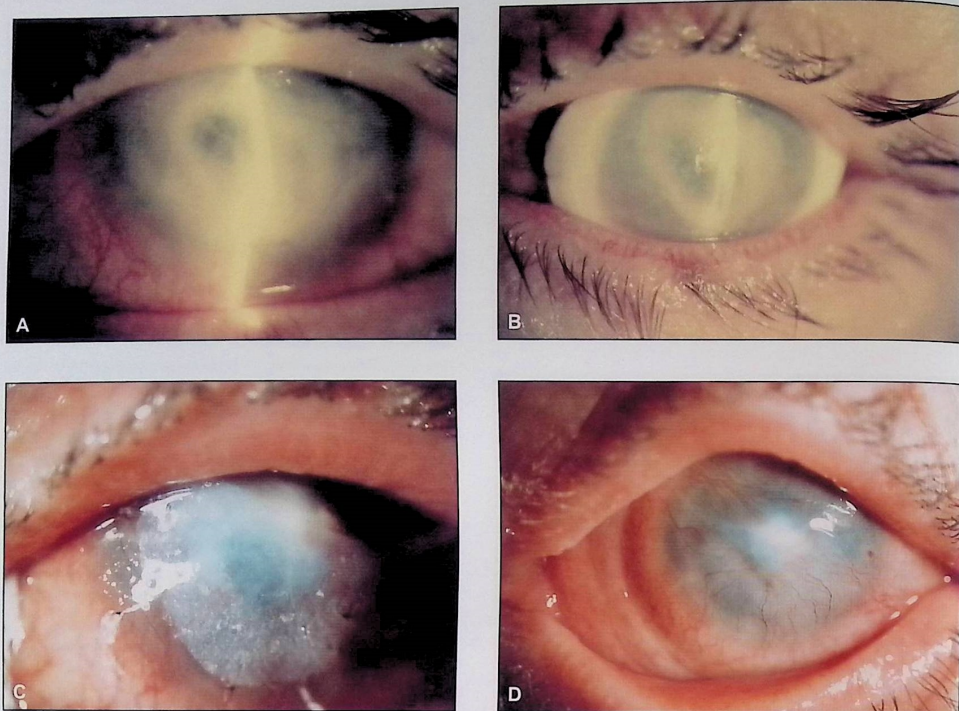


Ryc. 3. Głębokie jądowe owrzodzenie rogówki w przebiegu zespołu suchego oka, w wywiadzie reumatoidalne zapalenie stawów (rzs)

A – przed zabiegiem  
B – 24 godziny po zabiegu (nisza owrzodzenia wypełniona fragmentem błony owodniowej, na który naszyto drugą warstwę w postaci płatka)  
C – 6 miesięcy po zabiegu (w miejscu po owrzodzeniu niewielkie ściężczenie i przymglenie rogówki)

Fig. 3. Deep sterile ulcer in the course of KCS, rheumatoid arthritis in anamnesis

A – before surgery  
B – 24 h after surgery (stromal defect filled with amniotic membrane and covered with superficial amniotic membrane flap)  
C – 6 months after surgery (in place of previous ulcer thinning and hazy cornea)



Ryc. 4. Perforacja rogówki w przebiegu wieloletniego zapalenia wirusowego rogówki (HSV)  
 A – przed zabiegiem  
 B – 3. doba po zabiegu – przeszczep błony owodniowej zabezpieczony rogówką dawcy  
 C – po zdjęciu rogówki dawcy – zaznaczona resorpcja przeszczepionej owodni  
 D – 3 miesiące po zabiegu

Fig. 4. Corneal perforation in the course of herpetic keratitis  
 A – before surgery  
 B – 3rd day after surgery – amniotic membrane transplant covered with donor cornea  
 C – after donor cornea removal – marked resorption of the transplant  
 D – 3 months after surgery

7 dniach od operacji (zakres=4-21 dni). W tych oczach łoże przeszczepu było unaczynione.

W czworgu oczach w przypadku perforacji pourazowej, w nawracającej chorobie przeszczepu i w zespole Sjögrena (2 oczu) przeszczep wykonano dwukrotnie. W jednym oku – z perforacją w przebiegu owrodzenia neurotroficznego – trzykrotnie przeszczepiano natomiast owodnię.

#### Omówienie

Otrzymane wyniki potwierdzają obserwacje innych autorów, iż uporczywe i ciężkie schorzenia rogówki mogą być efektywnie leczone przeszczepami konserwowanej błony owodniowej (6, 7, 9). Postępowanie to można zastosować przed wykonaniem keratoplastyki drażącej czy warstwowej, które w takich przypadkach są zabiegami obciążonymi dużym ryzykiem niepowodzenia (7). Jak wykazano wcześniej w badaniach na zwierzętach, przeszczepy błony owodniowej dają 40% szansy na całkowite wygojenie rogówki wraz z przy-

wróceniem jej przejrzystości, nawet wówczas gdy cała powierzchnia rogówki została zniszczona (7).

Kluczową rolę w procesie gojenia uporczywych, często prowadzących do perforacji, owrodzeń rogówki pełni dobrze rozwinięta błona podstawna owodni wraz z jej beznacyniowym zrębem (7). Błaska podstawna ułatwia bowiem migrację komórek nabłonka, wspomaga adhezję komórek podstawnych i ich różnicowanie (5, 7). Badania prowadzone przez Boudreau i wsp. wykazały, że błona podstawna owodni bierze udział w zapobieganiu apoptozie komórek nabłonka (2). Klincznym efektem powyższych cech owodni jest szybkie gojenie się jałowych owrodzeń i perforacji rogówki pokrytych przeszczepami błony owodniowej, które obserwowaliśmy u naszych chorych.

Ciekawym zjawiskiem jest zaobserwowane u czterech chorych przejaśnienie się pokrytej błoną rogówki z następującą poprawą ostrości wzroku w ciągu 3-4 miesięcy. Podobne obserwacje zanotowano w badaniach doświadczalnych na królikach (6). Rodzi się tu pytanie, czy błona owodniowa ulega swoistej reorgani-

zacji i wbudowaniu w zrąb rogówki, czy też zwykłej resorpcji. Wyjaśnienie tego procesu wymaga dalszych badań histologicznych.

Kolejnym interesującym nas zagadnieniem, niewyjaśnionym w piśmiennictwie, jest szybsza resorpcja błony owodniowej w unaczynionym łożu przeszczepu. W dwóch przypadkach mimo to doszło do całkowitego wygojenia rogówki (były to oczy z perforacją w przebiegu nawrotowego zapalenia opryszczkowego rogówki). Być może zgodnie z twierdzeniem Lee i Tsenga, błona owodniowa zawiera czynniki wzrostowe dla komórek nabłonka uwalniane podczas jej wchłaniania się (7). Dotychczas w *matrix* błony owodniowej wykryto czynniki wzrostu dla fibroblastów (FGF i TGF- $\beta$ ) (9). Ich obecność może przyspieszać gojenie się głębokich ubytków istoty właściwej rogówki po wypełnieniu ich fragmentem błony owodniowej.

W badanej grupie nie zaobserwowano odrzucania przeszczepów błony owodniowej. Jako materiał bezkomórkowy nie wykazuje ona bowiem właściwości immunogennych (brak ekspresji antygenów głównego układu zgodności tkankowej) (7, 9).

#### Wnioski

Przeszczep błony owodniowej może być dobrą alternatywą w leczeniu ciężkich schorzeń rogówki opornych na leczenie konwencjonalne.

#### Piśmiennictwo

1. Abramowicz I., Melanowski W.H.: *Prof. Władimir Petrovicz Filatow*. Klin. Oczna, 1957, 27, 105-108.
2. Boudreau N., Sympton C.J., Werb Z., Bissel M.J.: *Suppression of ICE and apoptosis in mammary epithelial cells by extracellular matrix*. Science, 1995, 267, 891-893.
3. Filatow W.P.: *Tkaniewowa terapia*. Seria III, vol. 32, 33, wyd. Znaniye, Moskwa, 1955, 11-13, 16-17.
4. Filatow W.P.: *Wozwraszenie zrieniya (stenogram wykładów)*. Zeszyt I, Wyd. Prawda, Moskwa, 1950, 11-15.
5. Khodadoust A.A., Silverstein A.M., Kenyon K.R., Dowling J.E.: *Adhesion of regenerating corneal epithelium: the role of basement membrane*. Am. J. Ophthalmol., 1968, 65, 339-348.
6. Kim J.C., Tseng S.C.G.: *Transplantation of preserved human amniotic membrane for surface reconstruction in severely damaged rabbit corneas*. Cornea, 1995, 14, 473-484.
7. Lee S.-H., Tseng S.C.G.: *Amniotic membrane transplantation for persistent epithelial defects with ulceration*. Am. J. Ophthalmol., 1997, 123, 303-312.
8. Riedl S.: *6-letnie doświadczenie w leczeniu tkankowym*. Klin. Oczna, 1957, 27, 117-120.
9. Shimazaki J., Yang H.-Y., Tsubota K.: *Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction in patients with chemical and thermal burns*. Ophthalmology, 1997, 104, 2068-2076.
10. Tseng S.C.G., Prabhasawat P., Lee S.-H.: *Amniotic membrane transplantation for conjunctival surface reconstruction*. Am. J. Ophthalmol., 1997, 124, 765-774

Praca wpłynęła do Redakcji 30 czerwca 1999 r. (783)