مجلة جامعة دمشق للعلوم الطبية المجلد: (40) العدد: 4 (2024) الصفحات: (1-16)

التطعيم بالغشاء الأمنيوسي كاسلوب جديد في معالجة العيوب الظهارية المستديمة

محفوظ مصطفى البشير[1*]، رنا عمران [2]، رزق الله رزق[3]، محمد عمار العدوي[4]، براء قبيسي[5]

1*مدير بحوث في قسم تكنولوجيا الإشعاع، هيئة الطاقة الذرية السورية. ascientific9@aec.org.sy

2 مديرة مشفى العيون الجراحي في مدينة دمشق.

3 طبيب مختص في مشفى العيون الجراحي في مدينة دمشق.

4 عضو هيئة فنية في هيئة الطاقة الذرية.

5 طبيب مختص في مشفى العيون الجراحي في مدينة دمشق.

الملخص:

تستعمل طعوم الغشاء الأمنيوسي البشري Human amniotic membrane (HAM) في معالجة العديد من الاعتلالات التي تصيب السطح الخارجي للعين، من خلال الاستفادة من الخصائص الفعالة التي تتمتع فيها هذه الأغشية. وكان الهدف من هذه الدراسة اختبار تاثير الغشاء الأمنيوسي البشري الجاف المنتج محليا في قسم تكنولوجيا الإشعاع في هيئة الطاقة الذرية السورية بمسمى الأمنيوغرافت في معالجة العيوب الظهارية المستديمة والغير قابلة للشفاء Non-healing persistent epithelial defects (NH, PEDs). وتم انجاز العمل في هذه الدراسة على ثلاث حالات إصابة بعيوب ظهارية مستديمة وغير قابلة للشفاء في مشفى العيون الجراحي في مدينة دمشق. بعد ان تم اجراء الإختبارات السريرية العينة للمرضى وتحديد درجة التضرر الظهاري في قرنية العين، حيث بينت نتائج هذه الإختبارات إصابة المرضى الثلاث بعيوب ظهارية مستديمة بالرغم من العلاج الذي تم اخضاعهم له والذي استمر لفترة زمنية طويلة، وعليه فقد تقرر تنفيذ التطعيم بالأمنيوغرافت. نفذ العمل الجراحي بتغطية كامل الجزء المصاب من سطح العين بعدة طبقات من الأمنيوغرافت. أشارت نتائج الاختبارات السريرية، ونتائج تتبع تطور الوضع الصحي للمصاب، الى وجود تحسن ملحوظ في الحالة الصحية للمرضى الثلاث بدلالة المؤشرات المدروسة والمتمثلة في تراجع مساحة الجزء المصاب بعد مرور أسبوع على العلاج، والمثول الى الشفاء التام بعد مرور شهر على تطبيق طعوم الأمنيوغرافت، مع عدم ملاحظة اي انتكاس أو تدهور في الحالة الصحيه للمرضى الثلاث خلال فترة المتابعة التي استمرت لثلاثة أشهر بعد العلاج. وعليه يمكن الاستنتاج بامكانية استعمال الأمنيوغرافت في معالجة العيوب المستديمة والغير قابلة للشفاء والتي خضعت لمعالجات تقليدية خلال فترات زمنية طويلة .

الكلمات المفتاحية: العيوب الظهارية المستديمة، الأمنيوغرافت، معالجة طويلة الامد.

تاريخ الإيداع: 2024/1/8 تاريخ القبول: 2024/7/24

حقوق النشر: جامعة دمشق – سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب **CC BY-NC-SA**

ISSN: 2789-7214 (online)

http://journal.damascusuniversity.edu.sy

Amniotic Membrane Transplantation as a Treatment for Persistent Corneal Defects

Mahfouz Mustafa Al-Bachir[1], Rana Omran[2], Rizk allah Rizk[3], Mohammad Ammar Al-Adawi[4], Baraa Kubaisi[5]

[1]*Syrian Atomic Energy Commission, Damascus, Syria ascientific9@aec.org.sy
[2]Eye Surgical Hospital, Damascus, Syria
[3] Eye Surgical Hospital, Damascus, Syria
[4] Syrian Atomic Energy Commission, Damascus, Syria
[5]specialist doctors in the Eye Surgical Hospital in Damascus.

Abstract:

The use of human amniotic membrane (HAM) has been suggested to manage various ocular surface diseases for its effective properties. The aim of this study was to investigate the effect of dried AmniGraft as Syrian product transplantation (DAG-SY-T) for Non-healing, persistent epithelial defects (NH-PED). The study included 3 patients that were assigned to DAG-SY-T in Damascus Eye Surgical Hospital, The patients underwent a comprehensive ocular examination, visual acuity, epithelial defect; The main outcome measures were healing response of PED after longstanding ocular surgeries, and time to heal after application of DAG-SY-T. Visual acuity improved significantly in all patients after DAG-SY-T treatment. One week later the defect was reduced. During the 3 months follow-up, no recurrence was observed. DAG-SY-T can be easily applied in the clinical setting and has demonstrated its efficiency as a new tool to treat PEDs after longstanding ocular surgeries.

Key Words: Persistent Epithelial Defects, Amnio Graft, Longstanding Ocular Surgeries.

Submitted: 8/1/2024 Accepted:24/7/2024
Copyright: Damascus University Syria.
The authors retain copyright under CC BY-NC-SA

المقدمة Introduction:

تعد الاعتلالات العينية بما في ذلك الإصابات diseases والعيوب Defects والأضرار Injuries التي تصيب القرنية Corneal، حسب معطيات منظمة الصحة العالمية World health organization (WHO) أحد الاسباب التي قد ينتج عنها حدوث قصر في النظر، وانخفاض في حدة الرؤية Visual acuity، ويصل في بعض الأحيان الى حد فقد البصر Blindness (Hristova *et al.*, 2021). وتتسبب عيوب وأضرار القرنية بفقد البصر عند عدد يتراوح بين 1.5 و2.0 مليون شخص سنويا (Brzheskaya and Somov, 2018). وتحدث العيوب الظهارية المستديمه والغير ماثلة للشفاء Non-healing, persistent epithelial defects (NH-PEDs) عند الفشل في إعادة تشكل الظهارة Re-epithelialization حتى بعد مرور فتره زمنيه طويله من المعالجة النظامية التي تستمر عادة لمدة تتراوح بين 10 و14 يوما (Mimouni et al 2021). وتصنف العيوب الظهارية المستديمه والغير ماثلة للشفاء كحالة نادرة Rare condition نسبيا عند المقارنة مع بقية الحالات الأخرى المالوفة ويقدرعدد المصابين في هذه الحالة النادرة في بلد كالولايات المتحدة الامريكية بأقل من 200.000 إصابة في العام (Wirostko *et al.*, 2015). تعد معالجة حالات الإصابة بالعيوب الظهارية المستديمه والغير ماثلة للشفاء من التحديات Challanging التي تواجه المختصين في هذا المجال باعتبارها من الحالات التي تحتاج الى مراقبة دقيقة ومتابعة طويلة Longer follow-up (Maqsood *et al.*, 2021).

يطبق عالميا عدة وسائل علاجية غير جراحية Non-surgical modalities في التعامل مع العيوب الظهارية المستديمه والغير ماثلة للشفاء بما في ذلك استعمال العدسات اللاصقة Contact lens، وتحسين السطح الخارجي للعين Optimization of ocular surface، والتدميع الاصطناعي Artiffical tears، والاغلاق المحكم للعين Punctualoccludes، وترقيع العين Eye patching، واستعمال الشبكات الموضعية الصلبة Tarsorrhaphy sclera contact lenses، واستعمال السينيجيرمين Cengermin (Ljubimov and Saghizadeh, 2015)

تعد خيارات المعالجة الجراحية Surgical treatment بما في ذلك استعمال الغشاء الأمنيوسي البشري Human amniotic membrane (HAM) وزرع الخلايا الجذعية القرنية Corneal stem cell transplantat من الخيارات الحديثة والفعالة المتداولة في معالجة العيوب الظهارية المستديمه والغير ماثلة للشفاء (Katzman and Jeng, 2014). يتمتع الغشاء الأمنيوسي البشري ببنية شبه شفافه Semi-transparent، والغشاء الأمنيوسي هو الكيس الذي يحيط بالجنين، ويعد جزء من المشيمة Placenta، ويتوضع في جزئها الداخلي وتتراوح سماكته بين 0.02 و0.05 مم (Hazarika *et al.*, 2021). ويتكون الغشاء الأمنيوسي من طبقة احادية من الخلايا الظهارية Epithelialcells ملتصقة بغشاء قاعدي Basement membrane مكون من خلايا ميزاشيمية Mesenchyme cells (Soltan Dallal *et al.*, 2021). يشار في الأدبيات العلمية العالمية الى الفوائد الطبية لإستعمال طعوم الغشاء الأمنيوسي البشري، وإمكانية الاستفادة من الخصائص التي يتمتع فيها بنجاح في معالجة العديد من الاعتلالات والاصابات Diseases الطبية (Hofmann *et al.*, 2021). تم البدء باستعمال الغشاء الأمنيوسي البشري عالميا في معالجة الإصابات العينية لأول مرة في عام 1940، وتتوارد الاخبار في الادبيات العلمية، منذ ذلك التاريخ حول إستعمال هذا المنتج والمستحضر المفيد في معالجة الاعتلالات والاصابات العينة Ocular diseases المختلفة (Gheorghe et all., 2016).

ويتوفر في الادبيات العلمية العديد من التقارير التي وثقت اختبار امكانية استعمال طعوم الغشاء الأمنيوسي البشري في معالجة الاعتلالات التي تصيب السطح الخارجي للعين (Maqsood *et al.*, 2021; Ocular surface diseases Sacchetti *et al.*, 2022)

وفي يومنا هذا فقد تم اعتماد إستعمال طعوم الغشاء الأمنيوسي البشري كاسلوب جديد في معالجة الاعتلالات العينية المختلفة بما في ذلك معالجة العيوب الظهارية المستديمه والغير ماثلة للشفاء (Remigio and Leonidas, 2019; Tonti, 2019; Miffin and Mortensen 2018). وأشارت نتائج الإختبارات السريرية Clinical examination المنفذة في العديد من الدراسات العلمية الى أن نسبة نجاح معالجة الاعتلالات العينية باستعمال زرعات من طعوم الغشاء الأمنيوسي البشري قد وصلت الى مستوى شفاء تجاوز الـ 76% من مجمل الحالات المعالجة (Baylis *et al.*, 2011). وبالرغم من ذلك فقد بقي موضوع استعمال طعوم الغشاء الأمنيوسي في معالجة الاعتلالات العينية المختلفة، ووضع اجرائات علاجية Culture protocol لهذا الاستعمال قيد البحث والتمحيص (Hristova *et al.*, 2021). وعليه فان هذه الدراسة هي الأولى من نوعها في اختبار كفاءة Efficiency، وسلامة Safety استعمال طعوم الغشاء الأمنيوسي البشري المحضر محليا بمسمى الأمنيوغرافت في معالجة الاعتلالات العينية، وهدفت هذه الدراسة الى إختبار الفاعلية الطبية لاستعمال طعوم الغشاء الأمنيوسي البشري المحضر محليا بمسمى (الامنيوغرات) والمعقم بأشعة غاما في قسم تكنولوجيا الإشعاع في هيئة الطاقة الذرية السورية، في التئام العيوب لظهارية المستديمه والغير ماثلة للشفاء حتى بعد إستعمال معالجات جراحية لفترات زمنية طويلة في سورية.

المواد وطريقة العمل Materials and Methods:

تصميم الدراسة وإختيار المرضى
Study design and patients selection

صممت هذه الدراسة لمعالجة حالات الإصابة بعيوب ظهارية مستديمة وغير ماثلة للشفاء (NH-BEDs) في مشفى العيون الجراحي في مدينة دمشق في نهاية عام 2021. نفذت هذه الدراسة على ثلاثة مرضى يعانون من عيوب ظهارية مستديمة وغير ماثلة للشفاء (NH-BEDs) ناتجة عن التهاب القرنية Karatitis أو التعرض لاضرار كيميائية Chemical njuries أو إعتلال القرنية الفقاعيBullous keratopathy، أو الإصابة بقرحة مورينس (قرحة سعية مزمنة) Mooren,s ulcer. وتم تدوين المعلومات الشخصية والبيانات الخاصة بالوضع الصحي لكل مريض في سجل خاص مع التركيز على الجزء المرتبط بعلاج الحاله المرضية موضوع الدراسة، كما تم اجراء الفحوص الإعتيادية الخاصة بالحالة الصحية للعين.

البيان الاخلاقي Ethics statement:

طبق في هذه الدراسة بيان معتمد كإجراء من قبل لجنة أخلاقيات البحث العلمي في هيئة الطاقة الذرية السورية، وتم الحصول على موافقة من قبل كل مريض مشارك في هذه الدراسة قبل المباشرة بالتنفيذ. وتم تنفيذ هذه الدراسة وفقا لما ورد في الدليل المقترح في تصريح هلسنكي الصادر عن الإتحاد الطبي العالمي Helsinki declaration of the world medical association، وتم الحصول على تصريح خطي من المريض، بعد إستكمال وصف الحالة وتحديد الية التدخل وتثبيت الهدف من هذه الدراسة.

الإختبارات المنفذة Examinations:

أجرايت مجموعة من الإختبارات السريرية العينية والمتضمنة تحديد حدة البصر Visual acuity، وانجز إختبار المصباح الشقي Slit lamp examination لتحديد درجة تضرر ظهارة القرنية Corneal epithelial defect ببعدين وبمقياس ميلي متري مثبت على المصباح الشقي، وتم تنفيذ إختبار تحديد نقص التروية Limbal ischemia، وحالة الملتحمة Conjunctival involvment من حيث وجود تحلل ونخر موضعي Necrosis، أو وجود ترسبات جيرية Lime deposits، وتم تقييم الفيلم الناتج عن الدمع Tear film assessment بإختبار سشيرمر Schirmer test مع التخدير With anesthesia وبدون تخدير، ونفذ إختبار قعر العين Fundus وإنجاز كافة الإختبارات الممكنة والمتاحة في المشفى. وتم تقدير مساحة الجزء المصاب بالتقرح ودرجة الإرتشاح infiltration وعمقه. وتم تنفيذ الحقن Syringing، وقياس ضغط العين رقميا Digital tonometry، وتم أخذ خزعة قرنية Corneal scrapings من عمق وحواف منطقة التقرح، وتم اعتماد المؤشرات التالية قبل وبعد عملية زرع الغشاء الأمنيوسي (الأمنيوغرافت). 1. شدة الالم Pain 2. الإحتقان Congestion 3. أفضل تصحيح في حدة الرؤية Best corrected visual acuty 4. حجم التقرح 5. عمق التجويف الامامي Anterior chamber depth 6. واستجابة الحجرة (التجويف) الأمامية Anterior chamber reaction

تحضير الأمنيوغرافت Amnio-Graft preperation

تم تحضير طعوم الغشاء الأمنيوسي البشري الجاف والمعقم بالأشعة (الأمنيوغرافت) في وحدة إنتاج الطعوم في قسم تكنولوجيا الإشعاع في هيئة الطاقة الذرية السورية، من غشاء أمنيوسي خام تم قطفة من مشيمة ناتجة عن ولادة قيصرية في إحدى المشافي العامة، بعد التحري عن الأم المانح للتأكد من خلوها من أي محدد من محددات التبرع بشكل عام، وعدم إصابتها بأي مرض من الأمراض المعدية، أو حملها لأي عامل يمكن أن يتسبب في نقل أي مرض من الأمراض المعدية، المحتمل إنتقالها مع الجزء المتبرع فيه، والمتمثلة في فيروس نقص المناعة (الأيدز) Human immunodeficiency virus (HIV) وفيروسات التهاب الكبد Hepatitis viruses، وبعد الحصول على موافقة الأم المانح للغشاء الأمنيوسي الخام (Herndon and Branski, 2017; Loeffelbein *et al.*, 2014; Phillips and Morales, 2003). تم تحضير الأمنيوغرافت وتغليفة ومن ثم تعقيمه بجرعة إشعاعية قدرها 35 كيلو غري من أشعة غاما الصادرة عن النظير المشع كوبالت 60 حسب معأيير ضبط الجودة المعتمدة من قبل اللجنة الوطنية لطعوم الغشاء الأمنيوسي، والموثقة في مكتب ضمان الجودة في هيئة الطاقة الذرية السورية، ووفقا للطرائق المعيارية المدونة في المراجع العلمية، والمعتمدة من قبل المنظمات الدولية ذات الصلة، والمعمول فيها في الدول الأكثر تطورا (Phillips and Morales, 2003; IAEA, 2002; IAEA, 2007).

الخطة العلاجية المطبقة Proposed treatment plan

تم تنفيذ العمل بالخطوات المدونة في الإجراء الخاص بمعالجة الاعتلالات العينية بطعوم الأمنيوغرافت المعتمد من قبل اللجنة الوطنية لطعوم الغشاء الأمنيوسي والموثق في مكتب ضمان الجودة في هيئة الطاقة الذرية السورية. حيث تم إنجاز عملية زرع طعوم الأمنيوغرافت في مشفى العيون الجراحي في دمشق ضمن شروط نظيفة وعقيمة، بعد تزويد المريض بكافة المعلومات والحصول منه على تعهد شخصي بقبول المعالجة بهذه الطعوم. حيث استخدم في تنفيذ العمل الجراحي طعوم من الغشاء الأمنيوسي الجاف والمعقم (الأمنيوغرافت) من الحجم الصغير 2 X

2 سم المحضر في وحدة إنتاج طعوم الغشاء الأمنيوسي في قسم تكنولوجيا الاشعاع في هيئة الطاقة الذرية السورية. حيث تم زرع الأمنيوغرافت بعدة طبقات بعد تجفيف قاعدة القرنية Corneal bed وإزالة الحواف الظهارية الطرفيه Peripheral rolled epithelial edges، ومن ثم لصق الغشاء الأمنيوسي بخيوط جراحية ووضع عدسة لاصقة فوق الطعم، ومتابعة مراقبة ضغط العين لمدة 24 ساعة لضمان التصاق محكم لطعم الأمنيوغرافت. ليتم بعدها متابعة تحسن الحالة الصحية للمريض لمدة ثلاثة أشهر بعد انجاز العملية.

النتائج Results:

الحالة الاولى Case 1:

عرض الحالة Case presentation: الحالة الاولى المختبره هي لشاب بعمر 56 عام وصل الى قسم الاسعاف في المشفى وبعد إجراء الإختبارات السريرية اللازمة تبين انه مصاب بعيوب ظهارية مستديمه وغير متماثلة للشفاء في العين اليسرى، وسبق ان خضع Undergone لعمل جراحي معقد Complicated مع محفظة خلفية Posterior ونواة ساقطة Dropped nucleus في العين اليسرى. وبعد مرور شهر على ذلك فقد خضع لعملية استئصال الزجاجية الخلفية Posterior vitrectomy باستخدام زيت السيلكون Silicon oil.

تشخيص الحالة Diagnosis:

بينت نتائج التشخيص والإختبارات السريرية المنفذة بعد يوم واحد على المراجعة ان أفضل درجات الرؤية لديه حسب مقياس سنيلين Snellen scale هي من مرتبة OD= 0.15 و OS= 0.05 وبعد مرور شهر فقد تم ملاحظة إنتشار في الضرر في النسيج الظهاري بمساحة قدرها حوالي 3 mm X 5، وحتى تاريخ المراجعة، فقد كان مستمرا في إستعمال قطرة الستيرويد Steroid drop التي قدمت له كوصفة طبية من قبل فريق العمل الطبي. وبعد هذا التاريخ فقد تم التوصية بالحد من إستخدام هذه القطرة وتقليل المستخدم منها. وتم وصف التدميع الصنعي Artifical tear بتواتر والتوصية بترميم الجزء المصاب. وبعد مرور اسبوعين على المعالجة لم يلاحظ أي تغير في العيب الظهاري. وتم اختبار إمكانية إستخدام ضماد لاصق مع مضاد حيوي موضعي ودموع صنعية لمدة أربعة أسابيع أخرى وجميع هذه المحاولات بائة بالفشل.

التدخل Intervention: عند هذه اللحظة الحرجة من التشخيص فقد تم إتخاذ القرار الإستشاري الطبي المتضمن ضرورة تنفيذ عملية زرع لطعوم الغشاء الأمنيوسي البشري الجاف والمعقم (الأمنيوغرافت). على أن تتم عملية تطبيق الغشاء الأمنيوسي بعدة طبقات. وتم فعلا تنفيذ العملية الموصى فيها بعد تجفيف قاعدة القرنية وإزالة الحواف الظهارية المحيطة بالمركز ومن ثم مد الغشاء الأمنيوسي وتثبيته بخياطة جراحية ومن ثم تدعيمه بعدسة لاصقة

المخرجات Outcome: بعد مرور أسبوع على تطبيق طعم الأمنيوغرافت فقد لوحظ وجود تحسن تمثل في تراجع في مساحة الضرر او العيب الظهاري، وبعد مرور ثلاثة أسابيع على زرع الطعم فقد تم إزالة الضماد والعدسة اللاصقة والقطب الجراحية. وبينت نتائج الإختبار باللمبة المتوهجة الوصول الى درجة شفاء كامل في ظهارة القرنية مع بقاء بعض الغباش (الضبابية) والندب والتي كانت موجودة أصلا قبل إجراء العمل الجراحي (الشكل 1). وخلال فترة المتابعة التي استمرت لمدة ثلاثة أشهر لم يلاحظ وجود أي انتكاس في الحالة المرضية عند الشخص المصاب.

الحالة الثانية Case 2

عرض الحالة Case presentation: الحالة الثانية المختبره لرجل بالغ بعمر 46 عام، مشخص حالته الصحية مسبقا بانفصال الشبكية الناتج عن صدمه حادة في عينه اليسرى تعرض لها منذ شهرين، وسبق أن خضع لعمل جراحي لاستئصال الزجاجية الخلفية باستخدام زيت السيلكون. وبعد مرور عشرة أيام على العملية فقد اشتكى من وجود تمزق والم شديد في العين اليسرى.

تشخيص الحالة Diagnosis: بينت نتائج التشخيص و الإختبارات السريرية المنفذه بعد يوم واحد على المراجعة ان افضل درجات الرؤية لديه حسب مقياس سنيلين هي من مرتبة OD= 0.7 وبمعيار اصبع اليد Counting finger OS= 1 m ، وبينت نتائج الفحص الطبي للعين اليسرى وجود ضرر في النسيج الظهاري بمساحة قدرها حوالي 6 X 2.5 mm، وبينت نتائج الإختبارات السريرية المنفذة أن ضغط العين Eye pressure testing طبيعي، وحتى هذه اللحظة فقد تم وصف الدمع الصنعي المتكرر والتوصية بترميم الجزء المصاب. وبعد مرور أربعة أسابيع على المعالجة لم يلاحظ أي تغير في العيب الظهاري.

التدخل Intervention: بعد فشل عمليات المعالجة السابقة فقد تم التوصية باستعمال طعوم الأمنيوغرافت. حيث تم تنفيذ عملية زرع الطعم ضمن جو نظيف وعقيم بعد تجفيف قاعدة القرنية وازالة الحواف الظهارية المحيطة بالمركز ومن ثم مد الغشاء الأمنيوسي (الأمنيوغرافت) وتثبيته بخياطة جراحية ومن ثم تدعيمه بعدسة لاصقة كما هو موضح في الشكل 2.

المخرجات Outcome: بعد مرور اسبوع على تطبيق طعم الغشاء الأمنيوسي البشري الجاف (الأمنيوغرافت) فقد لوحظ وجود تراجع في مساحة الجزء المتضرر من العين بنسبة تصل الى 50%، وبعد مرور أربعة اسابيع على العلاج بالأمنيوغرافت فقد تم إزالة الضماد والعدسة اللاصقة والقطب الجراحية. وبينت نتائج الإختبار باللمبة المتوهجة الوصول الى درجة شفاء كامل في ظهارة القرنية. وخلال فترة المتابعة التي استمرت لمدة ثلاثة أشهر لم يلاحظ وجود أي انتكاس في الحالة المرضية (الشكل 2)

الشكل (1): العيب الظهاري المستديم قبل زرع طعم الغشاء الأمنيوسي الجاف والمعقم بالأشعة (الأمنيوغرافت).

الشكل (2): العيب الظهاري المستديم مغطى بعدة طبقات من طعم الغشاء الأمنيوسي الجاف والمعقم بالاشعة (الأمنيوغرافت).

الحالة الثالثة Case 3:

عرض الحالة Case presentation: الحالة الثالثة المختبره، هي لامراة مسنة بعمر 75 عام، تشتكي من نقص تدريجي في الرؤية الثنائية، ومشخصة الحالة بانسداد وتعتيم تام في عدسة العين. وسبق أن أجري لها عملية جراحة السادة الإضافية المعقدة مع تمزق الكبسولة الخلفية وفقدان الجسم الزجاجي لعينها اليمنى. وتم اجراء عملية استئصال الزجاجية أأمامية ولم يتم زرع عدسة داخل العين. وبعد مرور شهرين على ذلك فقد أجرت عمل جراحي ثاني وتم خلال العملية زرع عدسة داخل العين في الاخدود الهدبي. وبعد مرور اسبوع راجعت المشفى بحالة إسعافية تشكو من الم شديد في عينها اليمنى.

تشخيص الحالة Diagnosis: بينت نتائج التشخيص والإختبارات السريرية ان أفضل درجات الرؤية لديها بحركة يدوية Hand movement لتقدير الـ OD وحسب مقياس سنيلين هي من مرتبة 0.1 =OS، وبينت نتائج الفحص الطبي وجود ضرر قي النسيج الظهاري بمساحة قدرها حوالي 5.5 X 3.0 mm، وتم وصف الدمع الصنعي والمضادات الحيوية الموضعية والتي لم تحدث أي تغير أو تحسن ملحوظ في حجم ضرر الظهارة حتى بعد مرور 3 أسابيع على المعالجة.

التدخل Intervention: كانت الخطوة التالية في العلاج هو استخدام طعوم الغشاء الأمنيوسي (الأمنيوغرافت). حيث تم تنفيذ العملية ضمن جو نظيف وعقيم بعد تجفيف قاعدة القرنية وإزالة الحواف الظهارية المحيطة بالمركز ومن ثم مد الأمنيوغرافت وتثبيته بخياطة جراحية ومن ثم تدعيمه بعدسة لاصقة.

المخرجات Outcome: بعد مرور اسبوع على تطبيق طعم الأمنيوغرافت فقد لوحظ وجود تراجع في ابعاد المنطقة المصابة، وبعد مرور أربعة اسابيع على العلاج بالأمنيوغرافت فقد تم إزالة الضماد والعدسة اللاصقة والقطب الجراحية. وبينت نتائج الإختبار باللمبة المتوهجة الوصول الى درجة شفاء كامل في ظهارة القرنية. وخلال فترة المتابعة التي استمرت لمدة ثلاثة أشهر لم يلاحظ وجود أي انتكاس في الحالة المرضية.

المناقشة Discussion:

ليس بخافي على أحد أن معالجة بعض الاضرار والعيوب والاعتلالات العينية، ومنها على سبيل المثال لا الحصر الإصابة بالعيوب الظهارية المستديمه والغير ماثلة للشفاء Non-healing, persistent epithelial defects (NH-PEDs) والتي سبق وان خضع المصابين فيها الى عمليات جراحية متكررة خلال فترات زمنية طويلة من المسائل التي تحتاج الى التدخل الطبي العاجل لتجاوز التداعيات الصحية والنفسية التي يمكن ان يعاني منها الشخص المصاب والمجتمع الذي يعيش فيه (أهله وذويه) (Hristova *et al.*, 2021). يعتمد عدة اجراءات علاجية من أجل معالجة العيوب الظهارية المستديمه والغير ماثلة للشفاء منها على سبيل المثال: التدميع الإصطناعي المتكرر Frequent artifical tears، وترقيع العين Eye pach، ورفو الترص Tarsorrhaphy، وقطرات مصل العين الذاتي Autologgous serum eye drops، والتطبيق النموذجي للخلايا الجذعية ذاتية المنشأ Autologous limbal stem cells (Mimouni *et al.*, 2021). ويتم تنفيذ هذه المعالجات المطبقة منفردة أحيانا ومركبة أحيانا أخرى، والذي يقود بدور الى الإستنتاج بعدم فاعلية هذه المعالجات، وعدم ناجعية استعمالها، والتداعيات السلبية التي يمكن ان تنتج عن المعالجات المستمرة لفترات زمنية طويلة الأمد على الوضع النفسي والصحي للمريض ومايترتب على الشخص المصاب من تداعيات صحية على المريض والمتمثلة بإحتمال إنخفاض حدة البصر كنتيجة للمضاعفات الخطيرة التي ترافق هذا التدخل

العلاجي المركب والمتكرر (Maqsood *et al.*, 2021; Vaidyanathan *et al.*, 2019).

تعد المعالجة باستخدام طعوم الغشاء الأمنيوسي البشري Human Amniotic Membrane (HAM) أحد الخيارات المطروحة في معالجة هذه الحالات المرضية المعندة والمستعصية على العلاج (Korittum *et al.*, 2019; Monteiror *et al.*, 2019). واعتمد استعمال طعوم الغشاء الأمنيوسي البشري عالميا كنموذج عياري ذهبي Gold Standard في معالجة الإعتلالات التي تصيب سطح العين بما في ذلك العيوب الظهارية المستديمه والغير ماثلة للشفاء (Schuerch *et al.*, 2020). ومازال موضوع طعوم الغشاء الأمنيوسي البشري موضع إهتمام عالمي في البحث والتطوير لاعتماد بروتوكولات علاجية جديدة يمكن بتطبيقها الحصول على نتائج إستشفائية متميزة (Fernandez-Buengafa *et al.*, 2018)

تم في هذه الدراسة عرض خبرتنا ونتائج تجاربنا المنفذة على ثلاث مرضى في وضع حرج من حيث الإصابة بالعيوب الظهارية المستديمه والغير ماثلة للشفاء، وعدم استجابتهم للعلاج بالوسائل التقليدية المتبعة والتي طبقت عليهم لفترات زمنية طويلة. حيث كان خيارنا الأخير استعمال طعوم الأمنيوغرافت المنتج في قسم تكنولوجيا الاشعاع في هيئة الطاقة الذرية السورية، وكان الهدف من كل ذلك هو اختبار فاعلية زرع هذه الطعوم في معالجة الحالات المدروسة والمستعصية على العلاج التقليدي. نفذت عمليات زرع الأمنيوغرافت بعدة طبقات تماشيا مع درجة تطور الإصابة. حيث انجزت عملية الزرع حسب البروتوكول المطبق في المشفى والذي روعي في اعدادة تطبيق أجراءات التصنيع الجيدة Good manufactory practics (GPP)، واجراءات المعالجة الجيدة Good processory practics (GPP)، وتم اقراره من قبل اللجنة الوطنية لطعوم الغشاء الأمنيوسي وتم اعتماده اصولا كوثيقة من وثائق نظام الجودة الموثقة اصولا في مكتب ضمان الجودة في هيئة الطاقة الذرية السورية. حيث بينت نتائج الإختبارات السريرية والمتابعة الدورية المنفذة في هذه الدراسة مثول الحالات المدروسة للشفاء بدلالة انحسار مساحة الجزء المصاب من الظهارة كنتيجة لاستخدام طعوم الغشاء الأمنيوسي البشري (الأمنيوغرافت). وسجل تحسن في حدة الرويا عند المرضى الثلاث موضوع الدراسة، وتماثل جميعهم للشفاء الكامل مع مرور الزمن. وبمتابعة الوضع الصحي لكل منهم ولمدة وصلت حتى ثلاثة أشهر لم يلاحظ وجود أي انتكاس في الحالة الصحية لاي من المرضى الثلاث موضوع الدراسة. ولم يلاحظ وجود أي أثار جانبية لاستخدام الأمنيوغرافت عند أي شخص منهم. ويمكن تفسير هذه النتائج باعتماد ما ورد من نتائج مدونة في دراسات حديثة أشير فيها الى احتواء الغشاء الأمنيوسي البشري على عدة عوامل مشجعة على التئام الجروح الظهارية (Chen *et al.*, 2000; Msika and Bourges, 2021). ويستشف مما ورد في الادبيات العلمية وجود ميزة فريدة للغشاء الأمنيوسي البشري الممكن إستخدامه في ترميم العين، تتمثل في إحتوائه على كمية معقولة من مزيج من عوامل النمو Mixture of growth factors، و قدرته على تشكيل خلايا الظهارة Epithelialization، وخفض شدة الالتهاب Inflammation reduction، وامتلاكه خصائص مضادة لتوليد الاوعية Anti-angiogenic properties، وفاعليته كمضاد ميكروبي Antimicrobial، ومضاد لتشكل الندب Antiscarring، وعدم إمتلاكة لخصوصية الاستمناع Immunogenicity (Chen *et al.*, 2021; Zeleznik *et al*, 2021).

وبمقارنة النتائج التي تم التوصل اليها من قبل فريق عملنا فقد أشير في غير مكان وبأعمال منفذه من قبل مجموعات عمل

أخرى (2021) Karahan *et al* الى ان الظهارة عند مجموعة من المرضى المختبرين والذي وصل عددهم الى 21 مريض مصاب بالعيوب الظهارية المستديمه والغير ماثلة للشفاء ممن تمت معالجتهم بالغشاء الأمنيوسي البشري، قد مثل معظمهم للشفاء التام بعد مرور 6 أشهر على زرع الطعوم ومتابعة العلاج. وبالتوازي والتناغم مع ذلك فقد سجل نتائج إيجابية أيضا في قدرة الغشاء الأمنيوسي البشري على معالجة الحالات المصابة بعيوب ظهارية مستديمة غير قابلة للشفاء (Saleem and Bokhari, 2022). وسجل نتائج إيجابية مماثلة في فاعلية وسلامة استعمال الغشاء الأمنيوسي البشري في معالجة العيوب الظهارية المزمنة والغير قابلة للعلاج (Mimouni *et al.*, 2021). واشير في هذا السياق الى وجود نتائج إيجابية في إمكانية إستخدام تقانة البروكيرا ProKera في معالجة العيوب الظهارية المستديمة والغير قابلة للشفاء. حيث تبين أنه وبعد مرور 25 يوم على العلاج فان 25% فقط من الحالات المعالجة بقي لديها أثار من عيوب الظهارة.

يعرف عن الغشاء الأمنيوسي غناه بالمكونات والمركبات الخاصة والمتميزة في فاعليتها كاللامينين Laminin والكولوجين Collagen التي تجعل منه منتجا مثاليا يمكن إستعماله في معالجة الأضرار التي تصيب سطح العين (Saleem and Bokhari, 2022). وهذه التركيبة المميزة والخصائص الفريدة التي يتمتع فيها الغشاء الأمنيوسي تجعل منه مادة اساسية ومصدرا جيدا يمكن إستعمالة في ترميم أي ضرر من خلال مساهمتة في معالجة هذه الاضرار ((Thiex *et al.* 2009. وأحد اهم المزايا الخاصة التي يتمتع فيها الغشاء الأمنيوسي والتي تخوله لان يكون مادة فعال في تحضير الطعوم هو تمتعة بالخصائص المضادة للالتهاب والتي تساهم بشكل كبير في خفض إحتمال رفض الطعم من قبل جسم المستقبل (Ramachandran *et al.* 2021). ويعزز هذا الإستنتاج ماتم التوصيل اليه من نتائج لمعالجة ثلاث حالات بالغشاء الأمنيوسي البشري (Gheorghe *et al.* 2016)، والتي كان من مخرجاتها الإستنتاج بان نسيج الغشاء الأمنيوسي بما يحتويه من مركبات وما يتمتع فيه من خصائص كان محفز جدا لهجرة الخلايا الظهارية والتصاقها. وتعود قدرة الغشاء الأمنيوسي على الإستشفاء الى البنية التشريحية لهذا الغشاء، والتي تحتوي على عدد كبير من الخلايا الظهارية والخلايا الجذعية وعلى خلايا التجمع الثانوي التي تشبه الى حد كبير بخصائصها الخلايا الجذعية، وتعود أيضا الى المكونات الأساسية الداخلة في تركيبه، والتي غالبيتها مواد فعالة Atcive materials وعوامل نمو Growth factors (Ultheim *et al.*, 2018) . يحفظ الغشاء الأمنيوسي بعدة طرق منها طريقة الحفظ والتخزين بالشكل الجاف. ومع ذلك لم يسجل اختلافات معنوية في تركيز عوامل النمو المختلفة بين الاغشية المحفوظة بالشكل الجاف Driedوتلك المحفوظة بالتبريد العميق Deep frozen لتبقى محافظة على شكلها الرطب (الطازج) .Fresh فالشكل الجاف للغشاء الأمنيوسي البشري يمكن حفظه بدرجة حرارة الغرفة لفترات زمنية طويلة نسبيا (Lacrorzana, 2020). وتجدر الاشارة الى أن الشكل الذي استخدم في هذه الدراسة هو الشكل الجاف من طعوم الغشاء الأمنيوسي. والذي اعتمد كطريقة نموذجية في تحضير الأمنيوغرافت.

عناصر القوة في هذه الدراسة Strength of the study:

بعد البحث والتمحيص في المتاح من مصادر المعلومات العلمية المحلية والإقليمية، فقد تبين لنا ان مثل هذه الحالات لم يسبق وأن درست محليا وإقليميا، وربما تكون الحالات المختبرة في هذه الدراسة من الحالات الأولى من نوعها التي تختبر وتنشر نتائجها محليا واقليميا في مجال إستعمال طعوم الغشاء

الأمنيوسي الجاف والمعقم بالأشعة (الأمنيوغرافت) في معالجة العيوب الظهارية المستديمه والغير ماثلة للشفاء. وعليه فإن لهذه الدراسة مجموعة من عناصر القوة، لعل من أهمها هو وضع قطار البحث في هذا المضمار على المسار الصحيح، مستهلين العمل بالمباشرة في صياغة واعتماد بروتوكول وطني لاستعمال طعوم الأمنيوغرافت كمنتج محلي في معالجة الاعتلالات العينية بشكل عام، ومعالجة العيوب والاعتلالات المستعصية على العلاج بشكل خاص. نقطة أخرى جديره بالاهتمام وهي تعزيز فكرة استعمال طعوم الغشاء الأمنيوسي الجاف بدلاً من الرطب، ويشار في الدراسات المنفذة سابقاً الى ترجيح إستعمال الغشاء الأمنيوسي الرطب بشكل مباشر دون معالجة. والحجة في ذلك سهولة إستعمال الغشاء الأمنيوسي بشكله الرطب، والاعتقاد بناجعية الاستشفاء كنتيجة لمحافظته على مجمل الخصائص التي يتمتع فيها، والتي كان يعتقد بانها ستنخفض او تزول عند إجراء أي معالجة إضافية بما في ذلك التجفيف (Al-Yousuf *et al.*, 2022). وفضلنا في هذه الدراسة إستعمال الشكل الجاف من الغشاء الأمنيوسي البشري الذي يسمح لنا إعادة الإختبارات العلاجية حتى بعد مرور 6 أشهر

إضافة لكل ذلك فان تجهيز طعوم الغشاء الأمنيوسي بالشكل الجاف سيسمح بإطالة فترة الصلاحية لتصل حتى 3 سنوات أو أكثر وبالتالي يمكن إستخدام كل جزء من أجزاء الغشاء وتقليل الفقد الذي ربما ينتج عن التحلل فيما لو تم تحضيره طازجا، وسهولة إستعماله التي لا تحتاج الا الى إضافة بضع قطرات من محلول سكري او ملحي (سيروم) لتعاد اليه مرونته، ويصبح في القوام كما لو كان طازجا وطريا. يضاف الى كل ذلك محافظة الشكل الجاف من الغشاء الأمنيوسي على مجمل الخصائص العلاجية التي يتمتع فيها شكله الطري، بدلالة النتائج التي تم التوصل اليها في هذه الدراسة وفي دراسات أخرى منفذه ضمن هذا المشروع الوطني.

ونقطة قوة أخرى في هذه الدراسة هو كونها ركزت على حالات من العيوب الظهارية المستديمة والغير قابلة للشفاء والتي رغم العلاجات التقليدية التي استمرت لفترات زمنية طويلة فلم ينتج عنها الشفاء المرجو. وعليه يمكن أن يكون إستعمال الأمنيوغرافت في طب العيون أسلوبا وتقانة واعدة في معالجة الحالات المستعصية على العلاج.

نقاط الضعف في هذه الدراسة (المحددات) Limitations of this study:

باستعراض المعوقات التي واجهت هذه الدراسة، يجب عدم إغفال حقيقة أن هذا العمل هو وحيد ويفتقد الى التكرارية المطلوبة للوصول الى درجة اليقين والاعتماد. ونفذ هذا العمل خلال فترة زمنية محدودة وقصيرة نسبيا (3 أشهر)، ويفتقد أيضا الى المتابعة للتحقق من ديمومة التاثير وناجعية العلاج. ولسوء الحظ فان المتابعة لفترات زمنية اطول لم يكن بالامر المتاح. وغياب حالة الشاهد غير المعالج بطعوم الغشاء الأمنيوسي هو أحد النقاط التي يمكن تسجيلها على هذا العمل. وهذه السلبية بعلاقة مع القيم الأخلاقية التي لاتسمح للطبيب المعالج بترك أي حالة إصابه بدون علاج كشاهد. ومع ذلك فان مقارنة النتائج التي تم الحصول عليها بإستعمال الأمنيوغرافت كتقانة جديدة مع النتائج التي تم الحصول عليها باستعمال تقانات تقليدية هو أحد التحديات التي واجهت العمل والذي ربما يعود الى عدم وجود طريقة علاج عيارية يمكن إعتمادها في المقارنة، والى صغر حجم العينة المدروسة. وعليه فهناك حاجة لمزيد من الدراسات التي يفترض أن يتم تنفيذها في هذا المجال قبل التوصية باعتماد هذا النموذج الجديد في المعالجة وطنيا. فضلا عن ذلك، فان الدراسات التي تجرى على عينات كبيرة

ولفترات زمنية طويلة هي الدراسات التي يمكن الاستفادة من نتائجها في إعتماد الطرق الجديدة في المعالجة.

الإستنتاجات Conclusion:

بنتائج هذا العمل المتواضع، الذي يعتبر باكورة لمخرجات مشروع وطني معتمد أصولا، ومقدم له كل الرعاية والدعم من اعلى الجهات الوصائية. يمكن تثبيت بعض الإستنتاجات العامة والأولية والتي يمكن الاسترشاد فيها وتعزيزها بتنفيذ المزيد من مثل هذه الأعمال العلمية والطبية التي ربما تكون واعدة ومبشرة في مجال تطوير وتحسين الوضع الصحي وطنيا، وصولا الى سوية يمكن الركون اليها في الامن الصحي والتي من أهمها: امكانية إعتماد زرعات طعوم الغشاء الأمنيوسي البشري الجاف (الأمنيوغرافت) كتقانة حديثة يمكن إستخدامها في معالجة الاضطرابات العينية المستديمة والغير قابلة للشفاء. والتي لم تمثل للشفاء حتى بعد علاجها بالوسائل التقليدية المتبعة ولفترات زمنية طويلة، فضلا عن ذلك نوصي بإجراء المزيد من الدراسات في هذا المجال للوصول الى الإستنتاج الأكثر واقعية.

مساهمة معدي الورقة Authors contribution

د. محفوظ البشير (قسم تكنولوجيا الإشعاع – هيئة الطاقة الذرية السورية): المساهمة في وضع فكرة العمل من حيث تحضير الطعوم وإدخالها في التطبيق، وتوطين التقانة، وصياغة واعداد مشروع البحث، وكتابة الورقة العلمية وإعدادها حسب شروط النشر في المجلة، ومتابعة اجرائات نشر الورقة. باعتباره المشارك الأول في البحث الذي إشتقت منه هذه الورقة، ورئيس اللجنة الوطنية لطعوم الغشاء الأمنيوسي.

د. رنا عمران مديرة مشفى العيون الجراحي في مدينة دمشق: المساهمة في وضع فكرة العلاج بالأمنيوغرافت، والإشراف الطبي على مجمل الأعمال الطبية المنجزة في مشفى العيون الجراحي في مدينة دمشق من البداية وحتى مراحل الشفاء الكامل، وتزويد الكادر الطبي العامل في المشفى شعبة بكافة الإستشارات الطبية واتخاذ القرار النهائي في العلاج والاستشفاء، وإخراج النتائج بالأسلوب الذي عرضت فيه في هذه الورقة.

د. رزق الله رزق طبيب مختص في جراحة العيون في مشفى العيون الجراحي في مدينة دمشق: المساهمة في تنفيذ الأعمال الطبية المنجزة في مشفى جراحة العيون في مدينة دمشق، بما في ذلك الإختبارات السريرية، وتطبيق الأمنيوغرافت، ومتابعة الحالة حتى الشفاء الكامل، وتوثيق نتائجها.

د. براء قبيسي طبيب مختص في جراحة العيون في مشفى العيون الجراحي في مدينة دمشق: المساهمة في تنفيذ الأعمال الطبية المنجزة في مشفى جراحة العيون في مدينة دمشق، بما في ذلك الإختبارات السريرية، وتطبيق الأمنيوغرافت، ومتابعة الحالة حتى الشفاء الكامل، وتوثيق نتائجها.

ب. محمد عمار العدوي عضو هيئة فنية في قسم تكنولوجيا الاشعاع في هيئة الطاقة الذرية السورية: المساهمة في وضع فكرة تحضير طعوم الغشاء الأمنيوسي الجاف والمعقم بالأشعة (الأمنيوغرافت) في وحدة انتاج الطعوم المعدة لذلك وفقا لمتطلبات ضبط الجودة المعتمدة وتزويد مجموعة العمل بما تحتاجه من هذه الطعوم.

كلمة شكر Acknowledgements:

يتقدم المؤلفين بالشكر الجزيل للسيد الدكتور المدير العام لهيئة الطاقة الذرية السورية، ولفريق العمل في مشفى العيون الجراحي في مدينة دمشق، ولفريق العمل في وحدة إنتاج الأمنيوغرافت في قسم تكنولوجيا الإشعاع في هيئة الطاقة الذرية السورية على الجهد المبذول لإنجاز هذا العمل.

References:

1. Al-Yousuf N, Alsetri H, Farid E, Georg SM. (2022). Amniotic Membrane Transplantation an Experience of a Locally Prepared Tissue. Transplant Research and Risk Management.14: 7–19.
2. Baylis O, Figueiredo F, Henein C, Lako M, Ahmad S. (2011). 13 years of cultured limbal epithelial cell therapy: A review of the outcomes. J Cell Biochem. 112(4): 993–1002.
3. Brzheskaya IV, Somov EE. (2018). Clinical and etiological characteristic, classification and treatment of aseptic corneal ulcers. Ophthalmology Journal. 11(1): 25-33. doi: 10.17816/OV11125-33.
4. Chen Z, Lao HY, Liang L. (2021). Update on the application of amniotic membrane in immune-related ocular surface diseases. Taiwan J Ophthalmol. 11(2): 132–140. doi: 10.4103/tjo.tjo_16_21
5. Chen HJ, Pires RTF, Tseng SCG. (2000). Amniotic membrane transplantation for severe neurotrophic corneal ulcers. Br J Ophthalmol., 84: 826–833.
6. Dua HS, Rahman I, Miri A, Said DG. (2010). Variations in amniotic membrane: Relevance for clinical applications. Br J Ophthalmol., 94: 963-4
7. Fernandez-Buenaga R, Aiello F, Zaher SS, Grixti A. Ahmad S. (2018). Twenty years of limbal epithelial therapy: an update on managing limbal stem cell deficiency.BMJ open opthalmol., 3(1): Doi: 10:1136/bmjohth-2018-000164.
8. Gheorghe A, Pop M, Burcea M, Serban, M. (2016). New clinical application of amniotic membrane transplant for ocular surface disease. Journal of Medicine and life., 9 (2): 177–179.
9. Gheorghe A, Rosoga AT, Mrini F, Vargau I, Gherghiceanu F. (2018). Various therapies for ocular surface diseases. Rom J Ophthalmol., 62 (1): 83- 87.
10. Hazarika M, Prajna NV, Senthilkumari S. (2021). Drug reservoir function of voriconazole impregnated human amniotic membrane: An in vitro study. Indian J Ophthalmol., 69: 1068-72.
11. Herndon DN, Branski LK. (2017). Contemporary Methods Allowing for Safe and Convenient Use of Amniotic Membrane as a Biologic Wound Dressing for Burns. Ann Plast Surg., 78: S9–S10.
12. Hofmann N, Salz AK, Kleinhoff, K, Mohle N, Borget M, Diederhofen N. (202). AmnioClip-Plus as Sutureless Alternative to Amniotic Membrane Transplantation to Improve Healing of Ocular Surface Disorders. Transplantology 2021; 2: 425–432. https://doi.org/10.3390/ transplantology2040040
13. Hristova R, Zdravkov Y, Markov G, Borroni D, Alexander O, Petkova I. (2021). Comparison of amniotic membrane transplantation with and without cultured limbal epithelium for persistent corneal ulcers, Biotechnology & Biotechnological Equipment., 35(1): 739-745, DOI: 10.1080/13102818.2021.1924860.
14. IAEA. Code of Practice for the Radiation Sterilization of Tissue Allografts. IAEA, (2002) Vienna.
15. IAEA. Radiation Sterilization of Tissue Allografts: Requirements for Validation and Routine Control - A Code of Practice. International Atomic Energy Agency: (2007) Vienna, Austria, 2007.
16. Karahan M, Demirtas AA, Erdem S, Ava S, Hazar L, Dursun ME, Cinar Y, Keklikci U. (2021). Analysis of patients undergoing amniotic membrane transplantation at a tertiary referral hospital. Eur Eye Res. 2021; 1: 64-68.
17. Katzman LR, Jeng BH. (2014). Management strategies for persistent epithelial defects of the cornea. Saudi J Ophthalmol., 28(3): 168–172.
18. Korittum AS, Kassem MM, Adel A, Gaith AA, El-Habashi N. (2019). Effect of Human Amniotic Membrane Transplantation in Reconstruction of Canine Corneal Wound. Alex. J Vet Sci., 60 (2).
19. Lacorzana J. (2020). Amniotic membrane, clinical applications and tissue engineering. Review of its ophthalmic use. Arch Soc Esp Oftalmol (Engl Ed)., 95:15–23.

20. Ljubimov AV and Saghizadeh M. (2015). Progress in corneal wound healing. Prog Retin Eye Res., 49: 17–45.
21. Maqsood S, Elsah K, Dhillon N, Soliman S, Laginaf M, Lodhia V, Lake D, Hamada S, Elalfy M. (2021). Management of Persistent Corneal Epithelial Defects with Human Amniotic Membrane-derived Dry Matrix. Clinical Ophthalmology., 15 2231–2238.
22. Mifflin MD, Mortensen XM. (2018). Intraoperative optical pachymetry in photorefractive keratectomy. J Cart Refract Surg., 45:495–500.
23. Mimouni M, Trinh T, Sorkin N, Cohen E, Santaella G, Rootman DS., Slomovic AR., Chan CC. (2021). Sutureless dehydrated amniotic membrane for persistent epithelial defects. European Journal of Ophthalmology., 00(0): 1-5. DOI: 10.1177/11206721211011354.
24. Monteiro BG, Loureiro RR, Cristovam PC, Covre JL, Gomes JÁ, Kerkis I. (2019). Amniotic membrane as a biological scaffold for dental pulp stem cell transplantation in ocular surface reconstruction. Arq Bras Oftalmol., 82 (1): 32-37.
25. Msika LC, Bourges JL. (2021). Amniotic Membrane Transplantation after Phototherapeutic Keratectomy: Postoperative Pain, Epithelial Healing and Visual Recovery Outcomes. J Surg 6: 1431 DOI: 10.29011/2575-9760.001431.
26. Pachigolla G, Prasher P, Di Pascuale MA, McCulley, JP., McHenry, JG., Mootha, VV. (2009). Evaluation of the role of ProKera in the management of ocular surface and orbital disorders. Eye Contact Lens., 35(4): 172–175.
27. Phillips GO, Morales PJ. (2003). The International Atomic Energy Agency (IAEA) Program in Radiation and Tissue Banking: Past, Present and Future. Cell Tissue Bank, 4: 69–76.
28. Ramachandran, C., Deshpande, P., Ortega, I., Sefat, F., McKean, R., Srivastava, M., MacNeil, S., Base, S., Sangwan, V.S. (2021). Proof-of- concept study of electrospun PLGA membrane in the treatment of limbal stem cell deficiency. BMJ Open Ophthalmology, 6: e000762. doi:10.1136/ bmjophth-2021-000762.
29. Remigio L, Leonidas T. (2019). Accelerated collagen cross-linking in the management of advanced Acanthamoeba keratitis. J Arq Bras Oftalmol., 8:103–106.
30. Sacchetti M, Komaiha C, Bruscolini A, Albanese GM, Marenco M, Gisoldi RAMC, Pocobelli, A., Lambiase, A. (2022). Long-term clinical outcome and satisfaction survey in patients with neurotrophic keratopathy after treatment with cenegermin eye drops or amniotic membrane transplantation. Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology., 260:917–925 https://doi.org/10.1007/s00417-021-05431-6.
31. Saleem T, Bokhari SA. (2022). Outcome of Amniotic Membrane Transplant in Persistent Corneal Epithelial Defects. Pak J Ophthalmol., 38 (1): 52-57. Doi: 10.36351/pjo. v38i1.1340.
32. Schuerch K, Baeriswyl A, Frueh BE, Tappeiner, C. (2020). Efficacy of amniotic membrane transplantation for the treatment of corneal ulcers. Cornea., 39(4):479–483.
33. Soltan Dallal MM, Nikkhahi F, Imeni SM, Molaei S, Hosseini SK, Kalafi Z, Yazdi SS, Mirzaei HMA. (2021). Amniotic Membrane Transplantation for Persistent Epithelial Defects and Ulceration due to Pseudomonas Keratitis in a Rabbit Model. J Ophthalmic Vis Res., 16:552–557.
34. Thiex NW, Chames MC, Loch-Caruso RK. (2009). Tissue-specific cytokine release from human extra-placental membranes stimulated by lipopolysaccharide in a two-compartment tissue culture system. Reprod Biol Endocrinol., 7:117. doi:10.1186/1477- 7827-7-117
35. Tonti E. (2019). Different graft thicknesses after Descemet stripping endothelial keratoplasty for bullous keratopathy in the two eyes of the same patient. Int Med Case Rep J., 55–59.

36. Ultheim TP, Utheim YS, Salvanos P, Jackson C, Schrader S, Greerling G, Sehic A. (2018). Altered versus unaltered amniotic membrane as a substracte for limbal eqithelial cells translational medicine. 7: 415-427. www. StemCellsTM.com.
37. Vaidyanathan U, Hopping GC, Liu HY, Somani AN, Ronquillo YC, Hoopes PC, Moshirfar M. (2019). Persistent Corneal Epithelial Defects: A Review Article. Med Hypothesis Discov Innov Ophthalmol. Autumn; 8(3): 163-176.
38. Wirostko B, Rafii M, Sullivan DA, Morelli J, Ding J. (2015). Novel therapy to treat corneal epithelial defects: a hypothesis with growth hormone. Ocul Surf., 13(3):204–12 e1. doi: 10.1016/j.jtos.2014.12.005.
39. Železnik RT, Tina S, Marjanca S, Erdani K. (2021). Antimicrobial activity of human fetal membranes: from biological function to clinical use. Front Bioeng Biotechnol., 9: 1–16.