השתלת קרום השפיר במחלות משטח העין

ד"ר אבי סלומון
יחידת הקרנית, מחלקת עיניים מרכז רפואי הדסה, עין כרם, ובית הספר לרפואה של האוניברסיטה העברית בירושלים

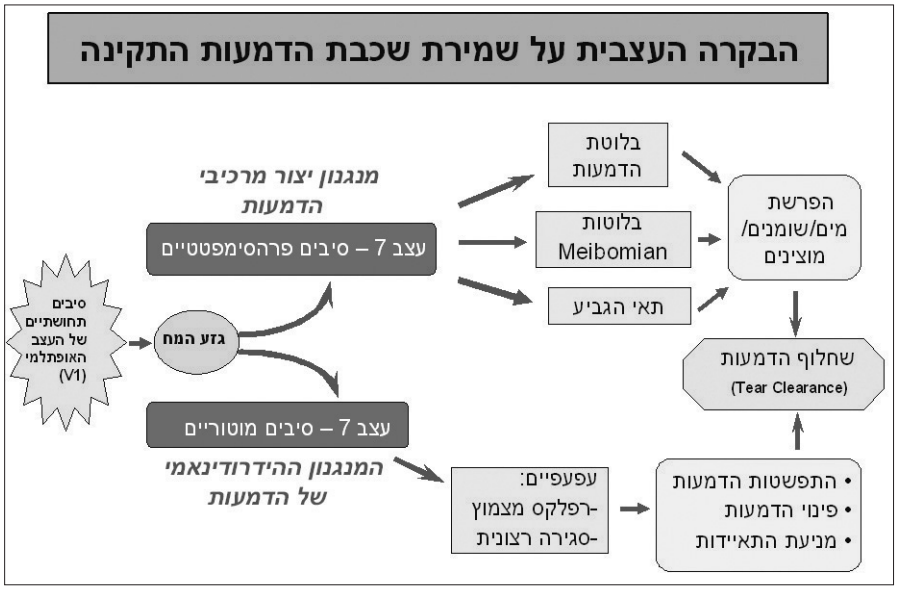
מטרת סקירה זו היא להציג את אחד המרכיבים הכירורגיים בשחזור משטח העין החיצוני – השימוש בקרום השפיר, אשר נכנס בשנים האחרונות למגוון רחב של התוויות במחלות שונות של משטח העין. הסקירה תכלול סיכום של הפיזיולוגיה התקינה של משטח העין החיצוני, תיאור הפתולוגיה הנוצרת בעקבות נזק לאחד מן המרכיבים של משטח העין (תאי אב בגובלת, נוזל הדמעות), תציג את מנגנוני הפעולה הבסיסיים של קרום השפיר, העקרונות הכירורגיים בשימוש בפעולה זו, והשימושים הקליניים השונים שבהם מבוצעת השתלת קרום השפיר, לבד או בצירוף עם פעולות נוספות.

התפקוד התקין של משטח העין הבריא

משטח העין החיצוני (Ocular Surface) הוא האזור הכולל את לחמית העפעפיים, לחמית גלגל העין ואת הקרנית. זהו אזור מצופה אפיתל, שגבולותיו הם קצות העפעף העליון והתחתון, מקום שם נמצא הגבול שבין אפיתל משטח העין ובין עור העפעפיים.

מבחינה היסטולוגית נחלק האפיתל של משטח העין לשני סוגים השונים זה מזה: האפיתל המצפה את הלחמית (כולל את לחמית העפעפיים ואת לחמית גלגל העין), והאפיתל המצפה את הקרנית. את האפיתל של משטח העין מצפה שכבה דקה של נוזל הדמעות (tear film). לשכבה זו חשיבות רבה בתפקוד התקין של משטח העין. פגיעה באחד מהמרכיבים הללו של משטח העין, האפיתל או הדמעות, היא המנגנון הבסיסי של מחלות שונות של משטח העין. מחלות אלו כוללות קשת רחבה של מצבים, החל במצב קל של גירוי לא ספציפי של העין, דרך תסמונות העין היבשה (dry eye syndrome), וכלה במצבים קשים של הרס משטח העין, כגון כוויה כימית.

יחסי הגומלין שבין האפיתל ובין נוזל הדמעות מאפשרים את תפקודו התקין של משטח העין, וחיוניים לראיה הטובה ולקיום ההגנה החיצונית בפני זיהומים (1). נוזל הדמעות מכיל מרכיב שומני המופרש על ידי בלוטות מייבום (Meibomian gland) הנמצאות בעפעפיים; מים המופרשים על ידי בלוטת הדמעות ומוצינים המופרשים על ידי תאי גביע (goblet cells) המצויים באפיתל הלחמית. תכונותיו המיוחדות של נוזל הדמעות מאפשרות לו להתפרש כשכבה דקה ויציבה על פני כל משטח העין החיצון, בסיוע מנגנון המצמוץ של העפעפיים. לפיכך קיומה של שכבת דמעות יציבה תלוי הן בתקינותם של המרכיבים האנטומיים של משטח העין, המשתתפים בייצור מרכיביה הרבים, והן בתפקוד התקין של העפעפיים.

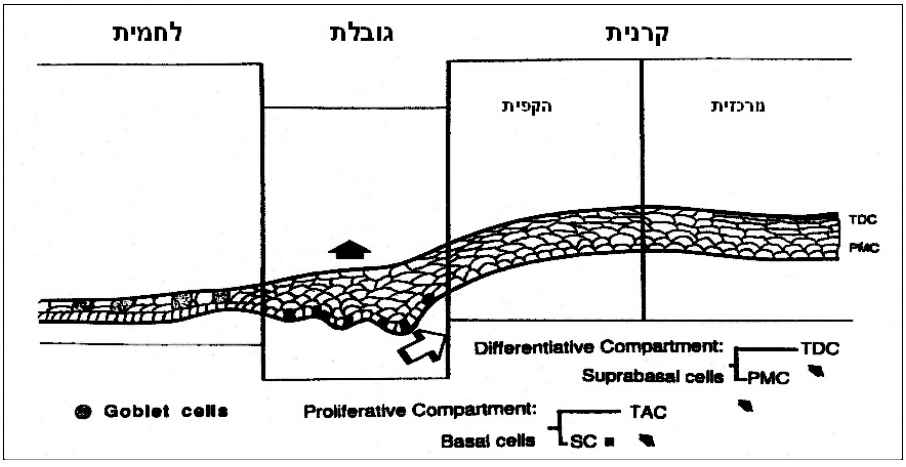


תמונה 1: *המסלולים העצביים המפקחים על שמירת ייצור ושחלוף הדמעות במשטח העין*

מערכת ייצור הדמעות ופיזור נוזל הדמעות על משטח העין מנוהלים על ידי קשת רפלקס (**תמונה 1**) המורכבת מחלק תחושתי (הענף הראשון של העצב הטריגמינלי – המקבל סיבי עצב תחושתיים מן הלחמית והקרנית) ומחלק מוטורי (עצב הפנים – סיבים מוטוריים המאפשרים מצמוץ וסגירת עפעפיים רצונית) ופרהסימפטטי (הפרשת המרכיב המימי של הדמעות).

לאפיתל של משטח העין שתי תכונות המייחדות אותו מסוגי אפיתל אחרים והמאפשרות קיום משטח עין רטוב באופן קבוע. התכונה הראשונה היא היעדר קראטין. תאי האפיתל של הלחמית והקרנית מבטאים קראטינים אחרים מאלה של האפידרמיס המייצר בדרך כלל קראטין (2–4). נוסף על כך תאי האפיתל של הלחמית והקרנית מבטאים מוצינים על פני הממברנה שלהם, המסייעים בתאחיזה של נוזל הדמעות אל פני התא (6,5).

תכונה חשובה נוספת של משטח העין היא הימצאותם של תאי־אב המהווים מקור לתאי האפיתל של הקרנית. אזור חשוב במשטח העין, בעל חשיבות רבה בשמירת משטח העין הבריא, הוא אזור הגובלת (limbus), הנמצא בהיקף הקרנית, בגבול עם הלחמית (**תמונה 2**). מחקרים בסיסיים וקליניים רבים הצביעו על קיומם של תאי־אב בגובלת, המשמשים מקור קבוע ליצור המתמיד של תאי אפיתל בקרנית (7). תאים אלה מתאפיינים בקצב חלוקה איטי ובמשך חיים ארוך. על ידי יצירה קבועה של תאי אפיתל הקרנית, הם מונעים חדירת אפיתל הלחמית אל תוך הקרנית, וזאת על ידי יצירת לחץ גדילה מהשכבה הבסאלית של הגובלת כלפי השכבות החיצוניות של אפיתל הקרנית וכלפי מרכז הקרנית (ראה חיצים בתמונה 2). תאי האב של הקרנית הופכים, תוך התמיינותם וצמיחתם כלפי מרכז הקרנית, לתאי־מעבר (TAC, transient amplifying cells) בעלי קצב חלוקה מהיר יותר ומשך חיים קצר. תאי המעבר ממשיכים להתמיין לתאים פוסט־מיטוטיים (PMC) ולתאי אפיתל ממוינים סופית (TDC), שהם התאים המאכלסים את השכבות השטחיות במרכז הקרנית (**תמונה 2**). קיומם של תאי המעבר בשכבות הבסאליות בקרנית המרכזית במצבים של חוסר תאי־אב יכול לשמר באופן זמני את תפקודו התקין של האפיתל. מיקומם של תאי־האב של אפיתל הלחמית אינו ברור, אך סוברים כי הם נמצאים באזורים רבים ובמיוחד בפורניקס (אזור המעבר בין לחמית העפעפיים ולחמית גלגל העין) (8).



SC = Stem Cells, TAC = Transient Amplifying Cells, PMC = Post Mitotic Cells, TDC = Terminally Differentiated Cells

***תמונה 2** אזור הגובלת עם מיקום תאי האב של אפיתל הקרנית, וגראדינט הדיפרנציאציה של תאי האפיתל כלפי מרכז הקרנית*

תהליכי הרס משטח העין

נזק אנטומי או תפקודי לאחד מן המרכיבים שנסקרו לעיל, יכול להתבטא במגוון מצבים ומחלות של משטח העין החיצון. האבחנה ההיסטולוגית של פגיעה במשטח העין נקבעת על ידי impression cytology. בשיטה זו ניתן לזהות שני סוגים עיקריים של פגיעה במשטח העין:

1. **Squamous metaplasia** – הסוג הראשון מתאפיין בהחלפת האפיתל התקין של הקרנית, שהוא אפיתל לא קראטיני,

באפיתל קראטיני, תהליך הנקרא squamous metaplasia (9). תהליך זה מלווה בהרס תאי הגביע בלחמית, המייצרים את אחד המרכיבים של נוזל הדמעות. squamous metaplasia של משטח העין יכולה להיגרם על ידי חוסר יציבות של נוזל הדמעות (10), או מחוסר ויטמין A, או להיות משנית למצבים של הצטלקות משטח העין, כגון כוויות כימיות, תסמונת סטיבנס־ג'ונסון, או ocular cicatricial Pemphigoid. הסיבה להיווצרות squamous metaplasia במצבים אלו אינה ברורה, אך היא כרוכה בתהליך דלקתי קשה של הסטרומה של הקרנית, או באבדן כלי־הדם בעקבות הצטלקות. הטיפול הקיים במצבים אלו הוא מוגבל, ופרט למתן ויטמין A במקרים שבהם הוא חסר, או מתן טיפול המדכא את המערכת החיסונית בפמפיגואיד פעיל, אין טיפול תרופתי יעיל לסוג זה של נזק למשטח העין.

2. **Conjunctivalization** – הסוג השני של פגם במשטח העין מתבטא בחדירת רקמת הלחמית אל הקרנית, תוך החלפת אפיתל הקרנית התקין באפיתל של הלחמית. תהליך זה הוא תוצאה של כשל תאי־האב של גובלת הקרנית (limbal stem-cell deficiency) (11). מחלות של הקרנית שבהן קיים כשל־הגובלת, מתאפיינות בדרגות שונות של חדירת אפיתל הלחמית לקרנית (conjunctivalization), פלישת כלי־דם אל תוך הקרנית, דלקת כרונית, אפיתל בלתי סדיר המתאפיין בארוזיות חוזרות ובכיבים מתמשכים, הרס קרום־הבסיס של הקרנית וצמיחת רקמה פיברוטית. כתוצאה מתהליכים אלו, לוקים חולים בכשל־הגובלת בפוטופוביה קשה וירידה בחדות הראייה. חולים אלו אינם מועמדים להשתלת קרנית רגילה, מאחר שחוסר בתאי־אב ליצירת אפיתל תקין, הדרוש לכיסוי השתל, הימצאות כלי־דם בקרנית, ומצב דלקתי מתמיד, יגרמו לדחיית השתל במרבית החולים (7).

חסר תאי־אב בגובלת נתגלה במספר מחלות בקרנית, שאותן ניתן לחלק לשתי קבוצות (**טבלה 1**). הקבוצה הראשונה מכילה מחלות בהן נגרם הרס ישיר של אוכלוסיית תאי־אב משני לגורם חיצוני. גורם זה ניתן להגדרה ברורה, לפי האנמנזה. בקבוצה זו נכללות כוויות כימיות ותרמיות, תסמונת סטיבנס־ג'ונסון, ניתוחים מרובים או טיפולים בצריבה קרה (cryotherapy) באזור הגובלת, טיפולים ב־5FU, שימוש ממושך בעדשות מגע או זיהום חיידקי קשה. הניתוח במצבים אלו הוא השתלת תאי אב בגובלת (13,12). שתל כזה הוא אוטלוגי או אלוגני. השתלה אוטלוגית של תאי אב (autologous limbal stem-cell transplantation) היא מוצלחת ביותר בשחזור משטח העין, במיוחד במצבים של חוסר תאי אב חד־עיני (כמו בכוויה כימית), שבהם ניתן ליטול רקמת גובלת מן העין הבריאה (14–17). במצבים שבהם חסר תאי האב בגובלת הוא נרחב או דו־עיני, דרוש שתל אלוגני מתרומת קרוב משפחה בעל HLA תואם (18,17,14), או מתרומת נפטר לא תואם (19–21). כדי למנוע את דחיית השתל

טבלה 1: מחלות משטח העין עם חסר תאי־אב בגובלת (limbal stem cell deficiency)

קבוצה א' – אובדן תאי אב כתוצאה מנזק ישיר לתאים
כוויות כימיות או תרמיות
תסמונת סטיבנס־ג'ונסון
ניתוחים מרובים באיזור הגובלת
טיפולים ב־5FU
שימוש בעדשות מגע
זיהום קשה של הקרנית
טיפול קרינתי

קבוצה ב' – פגם בסביבת הסטרומה בגובלת
Aniridia
Multiple Endocrine Deficiency
קרנית נוירוטרופית
דלקת או כיבים היקפיים בקרנית
דלקת הגובלת
Pterygium
אידיופתי

האלוגני, דרושה נטילת משלב של תרופות נוגדות דחיה לצמיתות, כגון ציקלוספורין A ומיקופנולאט מופטיל.

הקבוצה השנייה של מחלות חסר תאי־אב בגובלת (**טבלה 1**), מתאפיינת באבדן הדרגתי של תפקוד תאי־האב, אך ללא אנמנזה מוגדרת של גורם חיצוני ברור. הסברה היא שהליקוי בתפקוד תאי האב נגרם בשל שינוי כלשהוא בסביבה המידית שלהם, כלומר, בסטרומה או בפיברובלאסטים של הגובלת. מחלות אלו כוללות Aniridia, דלקת הקרנית הקשורה ב־multiple endocrine deficiency, קרנית נוירוטרופית, תהליכים דלקתיים וכיבים בהיקף הקרנית, דלקת הגובלת ו־pterygium. כיוון שתהליך אבדן תאי האב הוא הדרגתי, ובשלבים הראשונים מרכז הקרנית עדיין מכיל את תאי המעבר המסוגלים להתחלק (transient amplifying cells), הטיפול בתחילה הוא שמרני, ומטרתו להאט את קצב הנזק (**טבלה 2**). האופי האיטי של אבדן אוכלוסיית תאי האב הוא כנראה תוצאה של תהליך פתולוגי בסטרומה של הגובלת, הגורם לפגיעה משנית בתאי האב, הזקוקים לסביבה בריאה לתפקודם התקין. בסופו של דבר, דרושה גם במצבים אלו השתלת רקמת גובלת, בד"כ ממקור אלוגני.

למרות הניסיון שנצבר בהשתלת תאי אב של הגובלת בעשר השנים האחרונות, קיימות מספר בעיות בשיטה זו. השתלה אוטולוגית עלולה לסכן בעתיד את העין הבריאה, כפי שנצפה בניסויי חיה (23,22). נוסף על כך הדגימו ניסויי חיה סיכון מוגבר לדחיית השתל האוטולוגי בנוכחות דלקת כרונית של הסטרומה. (24) עובדה זו מסבירה את ההצלחה הנמוכה הכרוכה בהשתלה אוטולוגית לכוויה כימית בקרנית המבוצעת בשלב החד שלאחר הפגיעה, כשעדיין קיים תהליך דלקתי פעיל בקרנית (15). סכנת הדחייה גדולה עוד יותר בשתלים האלוגניים, וזאת אף בטיפול קבוע בציקלוספורין A (25).

נוסף על המחלות שתוארו לעיל, שבהן נגרם נזק בקרנית או בלחמית משנית לתהליך פתולוגי, ייתכן נזק במשטח העין גם לאחר כריתת שאת מהלחמית או הקרנית כגון CIN או conjunctival melanosis. כאשר נוצר פגם גדול בלחמית או בקרנית לאחר כריתת נגע גדול, תהליך הריפוי של הפגם באפיתל מסתיים ברוב המנותחים ביצירת רקמה צלקתית, שיכולה להתבטא בעין אדומה וגרויה במקרים קלים, ועד הופעת הדבקויות והגבלה בתנועתיות העין, במקרים קשים. מניעת סוג זה של ריפוי מחייבת השתלה אוטולוגית של לחמית לכיסוי אזור כריתת הנגע. אולם בחולים שבהם הנגע הנכרת גדול, לא ניתן להשתמש בשיטה זו, ודרוש קרום בסיס ממקור אחר, שיאפשר צמיחת האפיתל על פניו, תוך מיעוט הסיכון להצטלקות ודלקת.

טבלה 2: עקרונות הטיפול הרפואי והניתוחי בחסר תאי־אב

I חסר חלקי או מוקדי של תאי־אב בגובלת, מרכז הקרנית שמור

1. מניעת נזק נוסף בתאי האב ובתאי המעבר:
   הימנעות ממתן תרופות העלולות להזיק לאפיתל, ומניתוחים הפוגעים בתאי המעבר במרכז הקרנית.
   טיפול מקומי בסטרואידים ללא חומרי שימור, תחליפי דמעות, עדשת מגע טיפולית
2. עידוד הצמיחה של תאי האב ותאי המעבר הנותרים:
   כריתה ניתוחית של רקמת לחמית החודרת לקרנית.
   השתלת קרום השפיר ככיסוי זמני של הקרנית.

II חסר נרחב של תאי אב, עם מעורבות שטחית של הקרנית

השתלת קרום השפיר עם השתלת גובלת אלוגנית מתרומת נפטר או מקרוב משפחה, תוך מתן קבוע של אימונוספורסיה.
השתלת קרום השפיר עם השתלת גובלת אוטולוגית (מהעין הבריאה) – כאשר הפגיעה חד־עינית

III חסר נרחב וקשה של תאי אב, עם מעורבות עמוקה של הקרנית

בשלב ראשון – השתלת קרום השפיר לשיקום סביבת הסטרומה של הגובלת
בשלב השני – השתלת גובלת אלוגנית מתרומת נפטר או מקרוב משפחה, עם השתלת קרנית, תוך מתן קבוע של אימונוסופרסיה

השתלת קרום השפיר

מהו קרום השפיר?

קרום השפיר (amniotic membrane, amnion) הוא השכבה הפנימית ביותר בשיליה, זו הפונה אל העובר. קרום זה מהווה את

השכבה האחרונה המגינה על העובר בפני גורמים דלקתיים או אימונולוגיים שמקורם באם. זהו קרום שקוף, המכיל שכבת תאי אפיתל, שכבה עבה של קרום־בסיס (basement membrane), וסטרומה החסרה כלי דם (**תמונה 3**). תכונות אלו הופכות אותו למתאים ביותר להשתלה באזורים בהם קרום הבסיס המקורי נפגע. בשנים האחרונות הצטבר מידע רב ממחקרים בסיסיים וקליניים ברפואת עיניים על תכונותיו של קרום השפיר כגורם הנוגד דלקת, נוגד צלקת ויצירת כלי דם חדשים, וכן על יכולתו לשמש מצע לצמיחת תאי האפיתל של הקרנית והלחמית, ולשמר ולהגדיל את אוכלוסיית תאי האב בגובלת.

רקע היסטורי

השתלת קרום השפיר דווחה בעבר במצבים שבהם היה צורך בשחזור של איבר או רקמה (26). התיעוד הראשון על שימוש בקרום השפיר הוא מ־1910, לכיסוי כיבים וכוויות בעור. בשנים 1935–1937 השתמשו בקרום השפיר לשחזור הלידן. בין השנים 1941 ו־1948 השתמש Kubani (26) בקרום שפיר "חי" בחולים עם כוויות, פצעי עור מחמת פגיעות, וב־enterocutaneous fistula. קרום השפיר שעבר עיבוד ושימור תואר לראשונה ב־1940 על ידי Chao (26) לשחזור הקשית, עצבים הקפיים, ולתיקון גידים. באותה שנה תיאר de Rotth (27) את השימוש הראשון ברקמת השיליה ברפואת עיניים לתיקון symblepharon, ודיווח על הצלחה בחולה אחד מתוך שישה חולים. ככל הנראה נבע כשלונו מאופן הכנת הרקמה, ומכך שכלל גם את הכוריון בשתל. זו היתה הסיבה שאחרים לא נדרשו לשיטה זו. ב־1941 תיאר Brown (28) טיפול מוצלח בכוויה קשה בעין באמצעות השתלת קרום צפק של ארנבת. בהסתמכם על ניסיון זה השתמשו Sorsby וחבריו (30,29) בבריטניה בשנים 1946 ו־1947 בקרום השפיר ככיסוי זמני לטיפול בשלב החד של כוויות כימיות בעין, ודיווחו על הצלחה רבה בטיפול זה. מסיבות לא ברורות, נעלם קרום השפיר מן הדיווחים בספרות הרפואית עד 1973, בה דיווחו Telford וחב' (26) על שורה ארוכה של שימושים בקרום השפיר לכיסוי כוויות ופצעי עור בעובי מלא, להחלפת הצפק באגן, לכיסוי משטחים חשופים בהשתלות עור מסוג pedicle graft, לריפוי כיבי עור שאינם מתרפאים בחולי סוכרת, לכיסוי חוסר רקמה לאחר כריתת הלשון, לכיסוי omphalocele, ולמניעת הדבקויות בין העוצבות לאחר פגיעות ראש.

ב־1995, בעקבות שורה ארוכה של ניסיונות בסיסיים וקליניים, הוכנס מחדש השימוש בקרום השפיר לרפואת עיניים על ידי Kim ו־Tseng (31), למגוון רחב של מחלות משטח העין החיצון. מאז דווחו התוויות שונות להשתלת קרום השפיר ברפואת עיניים, במידה רבה של הצלחה, על ידי מספר קבוצות חוקרים במרכזים שונים בעולם.

הכנת קרום השפיר ושימורו

ההכנה של קרום השפיר למטרת השתלה באדם כוללת מספר שלבים. קרום השפיר מופרד מהשיליה, המתקבלת באופן סטירילי במהלך נתוח קיסרי (**תמונה 4**), עובר ניקוי באמצעות תמיסת מלח פיזיולוגית המכילה חומרים אנטי־מיקרוביאליים, מועבר על גבי

טבלה 3: מנגנוני פעולה בסיסיים וקליניים של קרום השפיר

מנגנוני פעולה בסיסיים
הארכת משך החיים והשבטיות של תאי אב אפיתליאליים
תמיכה בהתמיינותם של תאי אפיתל בלחמית
תמיכה בהתמיינותם של תאי הגביע בלחמית, בשילוב עם פיברובלאסטים של הלחמית
עיכוב תאי דלקת על ידי apoptosis
עיכוב פרוטיאזות
דיכוי TGF-β ודיכוי התמיינות הפיברובלאסטים למיופיברובלאסטים
מנגנוני פעולה קליניים
זירוז צמיחת האפיתל התקין
שמירת הפנוטיפ התקין של תאי האפיתל
הפחתת הדלקת
הפחתת צמיחת כלי דם חדשים
הפחתת ההצטלקות

נייר ניטרו־צלולוזה המשמש כנשא, כשצד קרום הבסיס פונה כלפי מעלה, ומשומר ב־ 80 מעלות צלזיוס בנוזל שימור המכיל גליצרול ו־DMEM ביחס נפח 1:1. בדיקות דם נערכות לתורמת בכדי לשלול נוכחות HCV, HBV, HIV ועגבת.

מנגנון הפעולה של קרום השפיר בשחזור משטח העין (טבלה 3)

להבנת אופן הפעולה של קרום השפיר, יש להתייחס לשני צדדיו. לקרום שני צדדים: צד קרום הבסיס (הצד הפונה אל העובר) וצד הסטרומה (הצד הפונה אל שיכבת הכוריון בשיליה). צד קרום הבסיס מצופה תאי אפיתל ברקמה הטריה, אך אלו מתים במהלך תהליך השימור, ונופלים לאחר השתלתם באדם.

קרום השפיר משמש בראש ובראשונה כקרום בסיס (basement membrane) שעליו יכולים תאי אפיתל לגדול, להתחלק ולהתמיין באופן תקין. קרום הבסיס של קרום השפיר מהווה מצע טבעי לתמיכה וצמיחה של תאי אב אפיתליאליים, על ידי הארכת טווח החיים ותמיכה ביכולת השבטיות (clonogenicity) שלהם (32).

טבלה 4: התוויות להשתלת קרום השפיר

לשחזור הלחמית

פטיריגיום

שחזור הלחמית הבולברית לאחר כריתת גידולים או צלקות

תיקון symblepharon

תיקון conjunctivochalasis

תיקון בועית סינון דולפת לאחר טרבקולקטומיה

חלופה לשתל לחמית אוטולוגי

חלופה לשתל רירית הפה

לשחזור הקרנית

פגמי אפיתל מתמשכים עם או ללא התכייבות

כיבים עמוקים, דסמטוצל, פרפורציה קטנה לא טראומטיות בבסיס כיב עמוק

חסר חלקי של תאי־אב

חסר מלא של תאי־אב (משולב עם השתלת גובלת), כמו כויות כימיות, תסמונת סטיבנס־ג'ונסון

Bullous keratopathy סימפטומטית עם ארוזיות חוזרות, כאשר אין פוטנציאל ראייה

Band keratopathy

תכונה זו מאפשרת אפיתליזציה על גב שתל קרום השפיר בפיגמי אפיתל קבועים של הקרנית עם התכייבות (33), וכן מאפשרת את הגדלת אוכלוסיית תאי האב הקיימת ואת אוכלוסיית תאי המעבר (transient amplifying cells) בקרנית במצבים של כשל תאי־אב בגובלת (34). כמו כן מאפשר קרום השפיר התמיינות של תאי אפיתל הלחמית, וגורם להגדלת אוכלוסיית תאי־הגביע בלחמית (35,32). לפיכך במצבים שבהם אנו מעוניינים בצמיחת אפיתל משטח העין לכיסוי אזורים של פגמי אפיתל (כגון לאחר כריתת פטיריגיום, או לריפוי אירוזיות חוזרות בקרנית) – יונח קרום השפיר כשצד קרום הבסיס פונה למעלה, כדי לאפשר צמיחת האפיתל עליו.

צדו השני של קרום השפיר – צד הסטרומה, הוא בעל תכונות מיוחדות, המקנות לקרום השפעה נוגדת צלקת (anti-fibrotic), נוגדת דלקת ונוגדת יצירת כלי דם חדשים. במחקרים קליניים נמצא, כי השתלת קרום השפיר לשחזור משטח העין מפחיתה משמעותית התהוות צלקות, לאחר כריתת שאתות בלחמית, שחרור הדבקויות וכריתת צלקות ישנות (37,36), ולאחר כריתת פטיריגיום (39,38). הבסיס המולקולרי לתכונה נוגדת הצלקת של קרום השפיר הוא ביכולתו לדכא את התבטאות הגן ל־TGF-b בפיברובלאסטים של הקרנית והגובלת, המתורבתים על קרום השפיר (40). תכונה זו באה לידי ביטוי בעיקר כאשר הפיברובלאסטים נמצאים במגע עם הצד הסטרומאלי של קרום השפיר, אך גם כאשר אין מגע ישיר עם התאים, עובדה המרמזת על קיומו של גורם קבוע בקרום בצד גורם מסיס המשתחרר ומשפיע על תאים שאינם במגע אתו. ייתכן שגורמי צמיחה שונים, הנמצאים בקרום השפיר אחראיים על תכונה זו (41).

בנוסף לתכונה נוגדת־הצטלקות, לקרום השפיר תכונות נוגדות דלקת, כפי שנצפה לאחר השתלתו בחולים עם פגמי אפיתל מתמשכים, לשחזור הלחמית, או לאחר כריתת פטיריגיום (36–39). באזור שבו

הושתל קרום השפיר, חלה הפחתה ניכרת במאפיינים של פעילות דלקתית, לאמור, הפחתה בגודש בכלי־הדם ובבצקת הרקמה. ואכן, צד הסטרומה של קרום השפיר יכול לגרום לתהליך מהיר של אפופטוזיס בתאי דלקת (43,42). כמו כן הוא מכיל מעכבי פרוטיאזות (44).

שימושים קליניים בקרום השפיר לשחזור משטח העין

כיצד להשתמש בקרום השפיר?

קיימות שתי דרכים לשימוש בקרום השפיר:

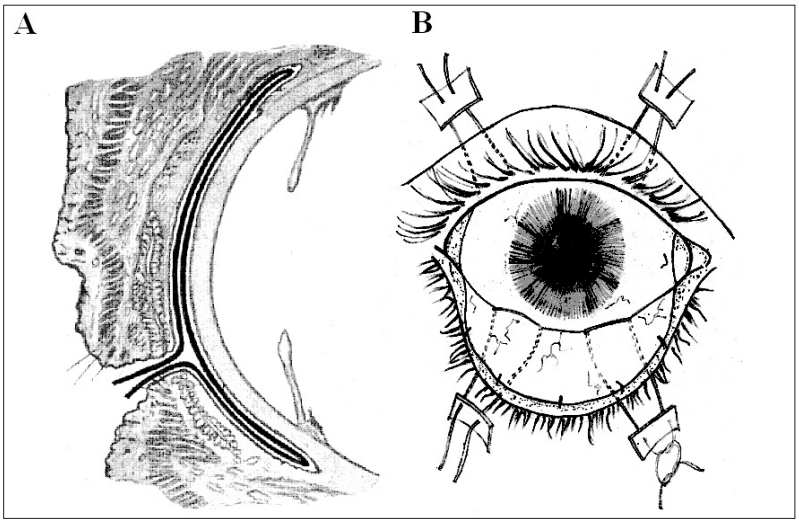
1. שימוש כשכבת ציפוי זמנית (patch, overlay) – במקרה זה קרום השפיר נתפר על גבי כל הקרנית או על כל משטח העין. האינדיקציות: כיבים שטחיים לא מתרפאים בקרנית, או בשלב האקוטי שלאחר כוויות כימיות (**תמונה 5**). המטרה כאן היא לגרום להשפעה נוגדת־דלקת, ולאפשר לתאי האפיתל הקיימים בקרנית לגדול תחת קרום השפיר, בסביבה נטולת גירויים דלקתיים. קרום השפיר מהווה במקרה זה מעין עדשת־מגע "חיה". הקרום מתמוסס או מתקלף מאליו תוך שבוע עד שבועיים, כאשר אפיתל הקרנית צומח תחתיו, או בשל התפרקותו על ידי הקולאגנאזות המופרשות על ידי תאי דלקת.
2. שימוש כשתל (graft, inlay) – כאן הקרום מושתל מקומית בתוך כיב עמוק בקרנית (**תמונה 7,6**), או באזור כריתת נגע לחמיתי. שימוש נוסף הוא בניתוח להשתלת גובלת אלוגנית, ניתוח בו נתפר הקרום על גבי הסטרומה החשופה, ועליו נתפר הלימבוס האלוגני. המטרה כאן היא לשמש מצע שעליו יצמחו תאי אפיתל. במצב זה רקמת קרום השפיר נשארת כחלק מרקמת המאכסן.

שחזור הלחמית (טבלה 4)

על פי האמור לעיל, קרום השפיר יכול להוות מצע לצמיחת האפיתל, תוך שמירה על הפנוטיפ התקין שלו, והפחתת תהליכי הצטלקות, דלקת וצמיחת כלי דם חדשים. לכן ניתן להשתמש בו לשחזור משטח הלחמית, בעיקר לאחר כריתת נגעים שונים, תוך יצירת משתית וקרום בסיס תקינים, המאפשרים צמיחת אפיתל לחמית תקין. בשנים האחרונות דווחו מספר התוויות להשתלת קרום השפיר לכיסוי הפגם בלחמית לאחר כריתת פטיריגיום (45,39,38), conjunctival intraepithelial neoplasia ושאתות פיגמנטיות של הלחמית (36), לתיקון symblepharon (37) (**תמונה 8,9**) ולתיקון conjunctivochalasis (46). בעבודות אלו הושגה הצלחה ביצירת משטח לחמית תקין תוך מיעוט רקמה צלקתית. התנאי להצלחה הוא הספקת דם טובה לאזור הניתוח, ורקמת לחמית תקינה בשולי איזור הניתוח, ממנה יכול לצמוח אפיתל תקין ולכסות את קרום השפיר.
בניתוחים אלו מושתל קרום השפיר כשתל (inlay) באזור הפגם בלחמית, ושולי הלחמית נתפרים מעל קצוות הקרום.

שחזור הקרנית (טבלה 4)

שחזור הקרנית נדרש, כאמור לעיל, במצבים של כשל תאי האב בגובלת. הניתוח מבוסס על שילוב השתלת קרום השפיר עם השתלת



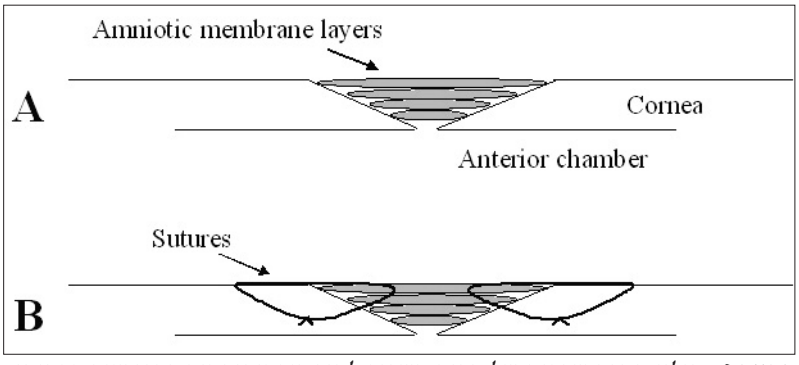
תמונה 5: *כיסוי כל משטח העין עם קרום השפיר בשלב האקוטי שלאחר כוויה כימית. קרום השפיר מכסה את הלחמית הטרסלית ואת כל הלחמית הבולברית והקרנית (A). תפרי עיגון לעור מצמידים את הקרום לצד הטרסלי של העפעפיים (B). על ידי כך נמנעות הדבקויות ויצירת סימבלפרון. הקרום מהווה מצע לפעולת הקולאגנאזות, לוכד תאי דלקת, ומאפשר התאוששות וצמיחת שרידי האפיתל בקרנית ובלחמית.*

תאי אב בגובלת (48,47,34). פעולה משולבת זו מאפשרת את שחזור הסטרומה החולה באזור הגובלת, על ידי קרום השפיר, במקביל לשיקום אוכלוסיית תאי האב. נוסף על כך ניתן להשתיל גם קרנית באותו הניתוח, או בניתוח מאוחר יותר. במצבים קלים של חסר חלקי של תאי אב, ניתן להסתפק בהשתלת קרום השפיר, ללא השתלת גובלת וללא השתלת קרנית. ההחלטה על מרכיבי הניתוח (השתלת קרום השפיר, גובלת וקרנית) תלויה במידת חסר תאי האב, ובעומק המעורבות של מרכז הקרנית (34) (**טבלה 2**).

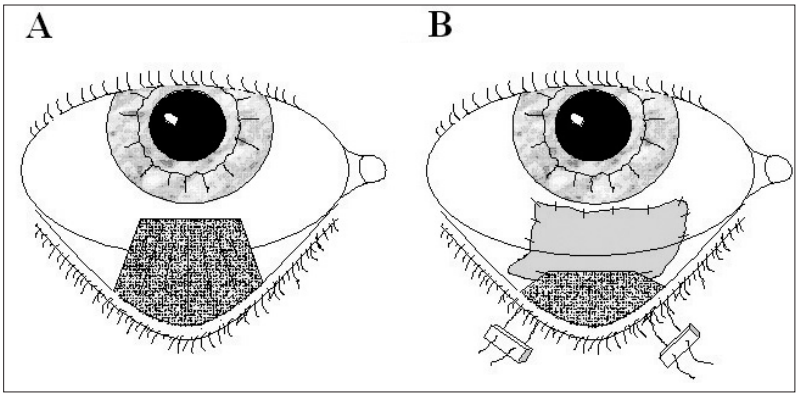
במקרים שבהם חסר תאי האב הוא חלקי (כלומר, קיים אזור של לימבוס תקין), ניתן להסתפק בהשתלת קרום השפיר בלבד, ללא השתלת הגובלת, ובכך לחסוך את הטיפול נוגד הדחיה בציקלוספורין, הניתן בדרך של קבע. נוסף על כך, כאשר קרום השפיר מושתל כשלב ראשון, לשיקום הסטרומה של הגובלת, כהכנה לשלב שני של השתלת תאי אב של הגובלת, שיעור הדחייה של רקמת הגובלת יורד משמעותית. זוהי תוצאה של דיכוי הדלקת בסטרומה של הגובלת על ידי קרום השפיר.

בחולים אשר להם כשל תאי האב מתקדם וקיימת מעורבות עמוקה של מרכז הקרנית, מבוצעת השתלת קרום השפיר, ועליו השתלה של רקמת גובלת (**טבלה 2**). לאחר ההשתלה דרוש טיפול נוגד דחייה בדרך של קבע. שיעור הדחייה במקרים אלו הוא גבוה.

נוסף על טיפול במצבי כשל תאי אב, ניתן להשתמש בקרום השפיר כשתל או ככיסוי זמני למגוון מחלות הקרנית. בשימוש כשתל או ככיסוי זמני, יכול קרום השפיר לזרז החלמת כיבים מתמשכים בקרנית, כולל כיבים נוירוטרופיים (49,33). גישה זו טובה יותר מ־conjunctival flap או תפירת העפעפיים, בשל החזות הקוסמטית העדיפה. ניתן להשתמש בקרום השפיר כדי "למלא" אזור בקרנית שעבר תמס או התכייבות עמוקה, וזאת על ידי השתלת מספר שכבות זו על גבי זו בתוך כיב עמוק (**תמונה 7,6**) (51,50). שימוש חשוב נוסף בקרום השפיר הוא ב־bullous keratopathy סימפטומטית עם אפאקיה או פסאודופאקיה (**תמונה 10**). מדובר בחולים שבהם אין פוטנציאל לשיקום הראייה לאחר השתלת קרנית רגילה, והסובלים מארוזיות חוזרות בקרנית המתבטאות בכאב וגירוי מתמיד לעין. השתלת קרום השפיר מונעת את ההתכייבויות החוזרות ואת הכאב הכרוך בהן, ואת הסיכון בכיבים מזוהמים. במצב זה מושתל קרום השפיר במרכז הקרנית, כשצד קרום הבסיס פונה למעלה, ושולי הקרום נתפרים אל תוך כיס למלרי המבוצע בהיקף הקרנית. תאי אפיתל בריאים מהיקף הקרנית צומחים כלפי המרכז, ומצפים את קרום השפיר, המשמש בכך קרום בסיס בריא. ההיצמדות של תאי האפיתל אל קרום השפיר מאפשרת קיום



תמונה 6: *מילוי מספר שכבות של קרום השפיר לתוך כיב עמוק עם פרפורציה בבסיסו. הקרום מהווה תוספת קולאגן לאיזור של אובדן הרקמה בקרנית. כמו כן הקרום מהווה מצע, כשעל גבי השכבה השטחית יצמחו תאי אפיתל ויסגרו את הכיב*



תמונה 8: *שימוש בקרום השפיר לתיקון סימבלפרון. A – רקמת צלקת מחברת את הלחמית הטרסלית עם הלחמית הבולברית. B – רקמת הצלקת מופרדת תוך שימור האפיתל, ותפירתו לצד הטרסלי של העפעף. קרום השפיר מכסה את החסר שנוצר בצד הבולברי לאחר הפרדת הצלקת*

יציב של שכבת תאי אפיתל בריאה, ומניעה של ארוזיות חוזרות (52). דבר זה אינו מונע כמובן את קיומה של הבצקת בסטרומה של הקרנית, אך מונע את השפעתה על האפיתל.

לפני שניגשים לשיקום משטח העין באמצעות השתלת קרום השפיר והשתלת תאי אב, יש לטפל תחילה במנגנוני ההגנה של משטח העין, לאמור, העפעפיים והדמעות. טיפול זה כולל punctal occlusion, מתן טיפות המכילות סרום, ותיקון ניתוחי של העפעפיים ומנח הריסים. יובש קשה בעיניים, קרטיניזציה נרחבת ואיסכמיה של הסטרומה, הם בעיות קשות, הפוגמות בסיכוי הצלחת השיקום הניתוחי.

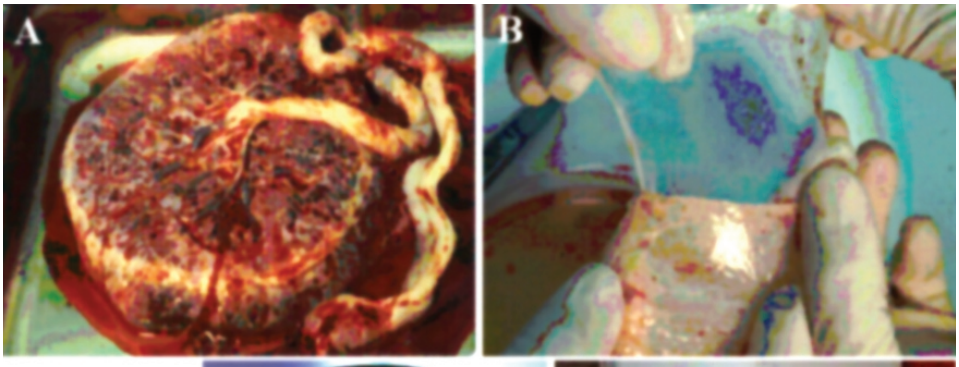
סיכום

השתלת קרום השפיר הפכה בשנים האחרונות לנדבך חשוב במגוון הניתוחים המבוצעים לשיקום משטח העין. במחקרים בסיסיים וקליניים הודגמו תכונות קרום השפיר כנוגד דלקת, נוגד צלקת ומונע יצירת כלי דם חדשים. קרום זה יכול לשמש כשתל, כשהוא מהווה מצע לצמיחת תאי אפיתל של משטח העין, או לשמש ככיסוי זמני, לשם יצירת סביבה מגינה, הדרושה לשיקום ולשימור תאי האב בגובלת ותאי מעבר במרכז הקרנית. השתלת קרום השפיר לבד, או בשילוב עם ניתוחים נוספים, כגון השתלת תאי־אב והשתלת קרנית, נמצאה יעילה בשיקום משטח העין החולה, בעיקר במחלות הקשורות בכשל תאי האב בגובלת. בעתיד, נועד לקרום השפיר תפקיד מרכזי בניסיון לשחזר את משטח העין על ידי "הנדסת רקמות" (tissue engineering) במעבדה. כיום ניתן ליטול דגימת רקמה מן הגובלת של העין הבריאה באותו מטופל, או מתורם קרוב משפחה, לגדלה בתרבית רקמה על גבי קרום השפיר במשך 2–3 שבועות ולהשתילה לאחר מכן על הקרנית. שיטה זו, הקרויה ex-vivo expansion of stem cells מאפשרת קרוב לוודאי להגדיל את אוכלוסיית תאי האב בתנאי מעבדה. ניתן גם לגדל באופן דומה תאי אב של הלחמית על גבי קרום השפיר, ו"ליצור" רקמת לחמית המורכבת מקרום בסיס ומתאי אפיתל. שיטות אלו ואחרות יאפשרו בעתיד ליצור תחליפי רקמה למחלות קשות של משטח העין, להן לא נמצא עד היום טיפול הולם.

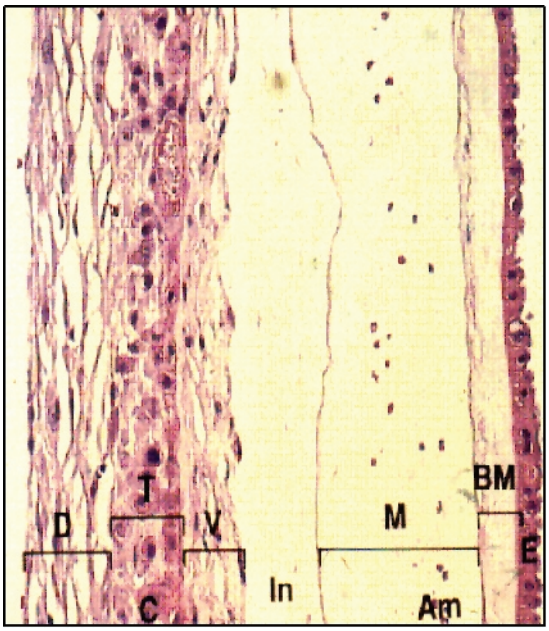
References

1. Tseng SCG, Tsubota K. Important concepts for treating ocular surface and tear disorders. Am J Ophthalmol 1997;124:825-835
2. Tseng SCG, Hatchell D, Tierney N, et al. Expression of specific keratin markers by rabbit corneal, conjunctival, and esophageal epithelia during vitamin A deficiency. J Cell Biol 1984;99:2279-2286
3. Moll R, Franke WW, Schiller DL, et al. The catalog of human cytokeratins. Patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. Cell 1982;31:11-24
4. Galvin S, Loomis C, Manabe M, et al. The major pathways of keratinocyte differentiation as defined by keratin expression, an overview. Adv Dermatol 1989;4:277-299
5. Inatomi T, Spurr-Michaud SJ, Tisdale AS, Gipson IK. Human corneal and conjunctival epithelia express MUC1 mucin. Invest Ophthalmol Vis Sci 1995;36:1818-1827
6. Price-Schiavi SA, Meller D, Jing X, et al. Sialomucin complex at the rat ocular surface: a new model for ocular surface protection. Biochem J 1998;335:457-463
7. Tseng SCG. Regulation and clinical implications of corneal epithelial stem cells. Mol Biol Rep 1996;23:47-58
8. Wei Z-G, Cotsarelis G, Sun T-T, Lavker RM. Label retaining cells are preferentially located in forniceal epithelium: Implications on conjunctival epithelial homeostasis. Invest Ophthalmol Vis Sci 1998;36:236-246
9. Tseng SCG. Staging of conjunctival squamous metaplasia by impression cytology. Ophthalmology 1985;92:728-733
10. Tseng SCG. Ocular surface changes in Sjogren's syndrome. In: Homma M, Sugai S, Tojo T, et al., eds. Sjogren's syndrome, State of the art, Proceedings of the Fourth International Symposium on Sjogren Syndrome. Amsterdam/New York: Kugler Publications, 1994
11. Puangsricharern V, Tseng SCG. Cytologic evidence of corneal diseases with limbal stem cell deficiency. Ophthalmology 1995;102:1476-1485
12. Holland EJ, Schwartz GS. The evolution of epithelial transplantation for severe ocular surface disease and a proposed classification system. Cornea 1996;15:549-556
13. Tseng SCG, Chen JJY, Huang AJW, et al. Classification of conjunctival surgeries for corneal disease based on stem cell concept. Ophthalmol Clin North Am 1990;3:595-610
14. Holland EJ. Epithelial transplantation for the management of severe ocular surface disease. Trans Am Ophthalmol Soc 1996;94:677-743

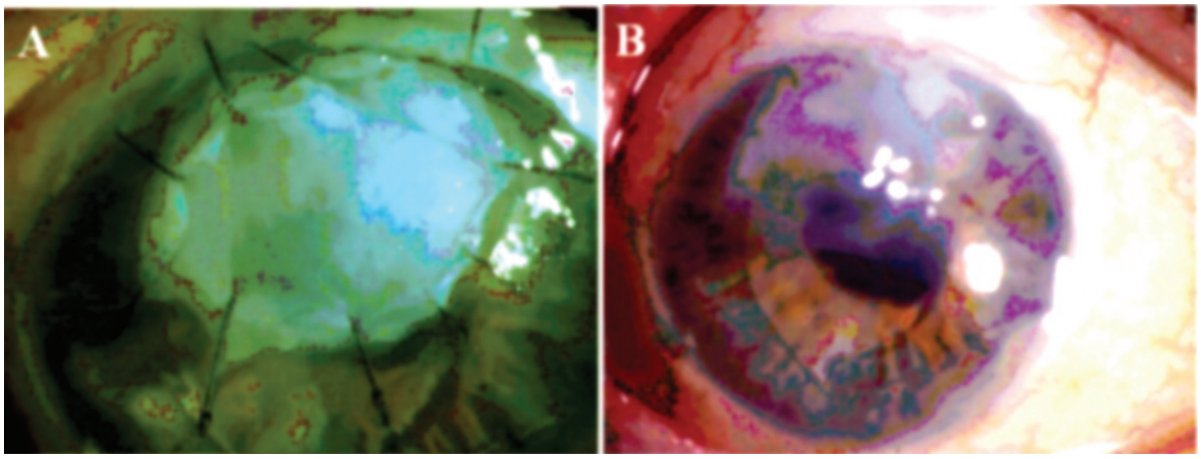
15. Kenyon KR, Tseng SCG. Limbal autograft transplantation for ocular surface disorders. Ophthalmology 1989;96:709-723
16. Kenyon KR. Limbal autograft transplantation for chemical and thermal burns. Dev Ophthalmol 1989;18:53-58
17. Tan DTH, Ficker LA , Buckley RJ. Limbal transplantation . Ophthalmology 1996;103:29-36
18. Kenyon KR, Rapoza PA. Limbal allograft transplantation for ocular surface disorders. Ophthalmology 1995;102(Suppl):101-102
19. Tsai RJF, Tseng SCG. Human allograft limbal transplantation for corneal surface reconstruction. Cornea 1994;13:389-400
20. Tsubota K, Toda I, Saito H, et al. Reconstruction of the corneal epithelium by limbal allograft transplantation for severe ocular surface disorders. Ophthalmology 1995;102:1486-1496
21. Theng JTS, Tan DTH . Combined penetrating keratoplasty and limbal allograft transplantation for severe corneal burns. Ophthalmic Surg Lasers 1997;28:765-768
22. Chen JJY, Tseng SCG. Corneal epithelial wound healing in partial limbal deficiency. Invest Ophthalmol Vis Sci 1990;31:1301-1314
23. Chen JJY, Tseng SCG. Abnormal corneal epithelial wound healing in partial thickness removal of limbal epithelium. Invest Ophthalmol Vis Sci 1991;32:2219-2233
24. Tsai RJF, Tseng SCG. Effect of stromal inflammation on the outcome of limbal transplantation for corneal surface reconstruction. Cornea 1995;14:439-449
25. Williams KA, Brereton HM, Aggarwal R, et al. Use of DNA polymorphisms and the polymerase chain reaction to examine the survival of a human limbal stem cell allograft. Am J Ophthalmol 1995;120:342-350
26. Trelford JD, Trelford-Sauder M. The amnion in surgery, past and present. Am J Obstet Gynecol 1979;134:833-845
27. de Rotth A. Plastic repair of conjunctival defects with fetal membrane. Arch Ophthalmol 1940;23:522-525
28. Brown AL. Lime burns of the eye: Use of rabbit peritoneum to prevent severe delayed effects. Arch Ophthalmol 1941;26:754-769
29. Sorsby A, Symons HM. Amniotic membrane grafts in caustic burns of the eye. Br J Ophthalmol 1946;30:337-345
30. Sorsby A, Haythorne J, Reed H. Further experience with amniotic membrane grafts in caustic burns of the eye. Br J Ophthalmol 1947;31:409-418
31. Kim JC, Tseng SCG. Transplantation of preserved human amniotic membrane for surface reconstruction in severely damaged rabbit corneas. Cornea 1995;14:473-484
32. Meller D, Tseng SCG. Conjunctival epithelial cell differentiation on amniotic membrane. Invest Ophthalmol Vis Sci 1999; 40:878-886
33. Lee S-H, Tseng SCG . Amniotic membrane transplantation for persistent epithelial defects with ulceration. Am J Ophthalmol 1997;123:303-312
34. Tseng SCG, Prabhasawat P, Barton K, et al. Amniotic membrane transplantation with or without limbal allografts for corneal surface reconstruction in patients with limbal stem cell deficiency. Arch Ophthalmol 1998;116:431-441
35. Prabhasawat P, Tseng SCG. Impression cytology study of epithelial phenotype of ocular surface reconstructed by preserved human amniotic membrane. Arch Ophthalmol 1997;115:1360-1367
36. Tseng SCG, Prabhasawat P, Lee S-H. Amniotic membrane transplantation for conjunctival surface reconstruction. Am J Ophthalmol 1997;124:765-774
37. Solomon A, Espana E, Tseng SCG. Amniotic Membrane Transplantation for reconstruction of conjunctival fornices. Ophthalmology 2003;110:93-100
38. Prabhasawat P, Barton K, Burkett G, Tseng SCG. Comparison of conjunctival autografts, amniotic membrane grafts and primary closure for pterygium excision. Ophthalmology 1997;104:974-985
39. Solomon A, Pires RTF, Tseng SCG. Amniotic membrane transplantation after extensive removal of primary and recurrent pterygia. Ophthalmology 2001;108:449-460
40. Tseng SCG, Li D-Q, Ma X. Suppression of Transforming Growth Factor isoforms, TGF-b receptor II, and myofibroblast differentiation in cultured human corneal and limbal fibroblasts by amniotic membrane matrix. J Cell Physiol 1999;179:325-335
41. Sato H, Shimazaki J, Shinozaki K, Tsubota K. Role of growth factors for ocular surface reconstruction after amniotic membrane transplantation. Invest.Ophthalmol.Vis.Sci. 39, S428. 1998
42. Kim JS, Kim JC, Na BK, et al. Amniotic membrane patching promotes healing and inhibits protease activity on wound healing following acute corneal alkali burns. Exp Eye Res 1998;70:329-337
43. Wang MX, Gray TB, Parks WC, et al. Corneal haze and apoptosis is reduced by amniotic membrane matrix in excimer laser photoablation in rabbits. J Cat Refract Surg 2001;27 :310-319
44. Na BK, Hwang JH, Kim JC, et al. Analysis of human amniotic membrane components as proteinase inhibitors for development of therapeutic agent of recalcitrant keratitis. Trophoblast Res 1999;13:459-466
45. Shimazaki J, Shinozaki N, Tsubota K. Transplantation of amniotic membrane and limbal autograft for patients with recurrent pterygium associated with symblepharon. Br J Ophthalmol 1998;82:235-240
46. Meller D, Maskin SL, Pires RTF, Tseng SCG. Amniotic membrane transplantation for symptomatic conjunctivochalasis refractory to medical treatments. Cornea 2000;19:796-803
47. 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
48. Tsubota K, Satake Y, Ohyama M, et al. Surgical reconstruction of the ocular surface in advanced ocular cicatricial pemphigoid and Stevens-Johnson syndrome. Am J Ophthalmol 1996; 122:38-52
49. Taylor RJ, Wang MX . Rate of re-epithelialization following amniotic membrane transplantation. Invest.Ophthalmol.Vis.Sci. 39, S1038. 1998
50. Kruse FE, Rohrschneider K, Vˆlcker HE. Multilayer amniotic membrane transplantation for reconstruction of deep corneal ulcers. Ophthalmology 1999;106:1504-1511
51. Solomon A, Meller D, Prabhasawat P, et al. Amniotic membrane grafts for non-traumatic corneal perforations, descemetoceles and deep ulcers. Ophthalmology 2001;109:694-703
52. Pires RTF, Tseng SCG, Prabhasawat P, et al. Amniotic membrane transplantation for symptomatic bullous keratopathy. Arch Ophthalmol 1999;117:1291-1297



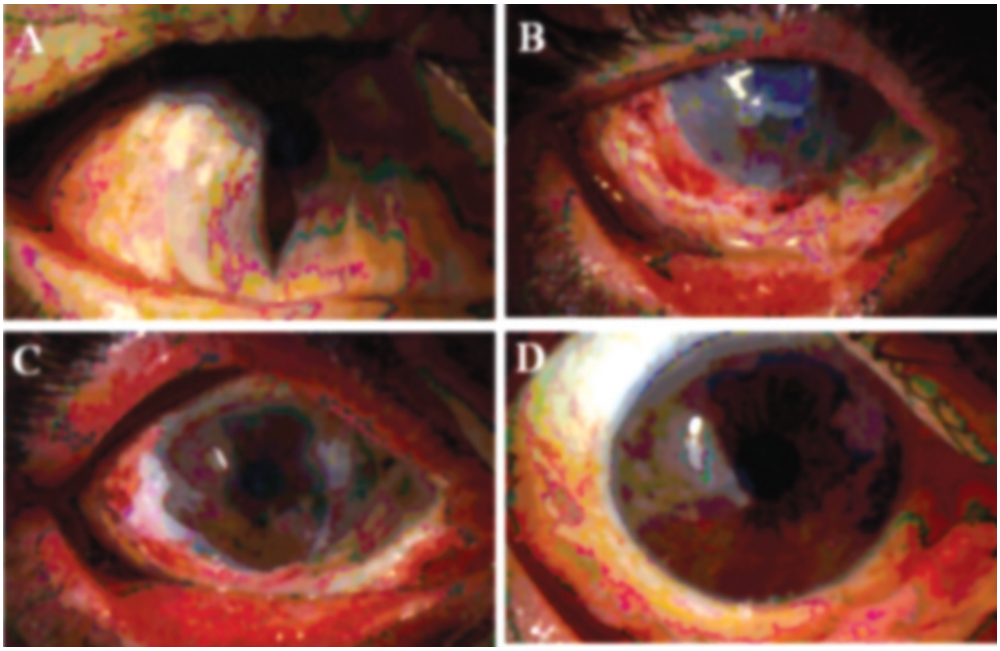
תמונה 4: *A – השיליה עם חבל הטבור מתקבלת באופן סטירילי לאחר נתוח קיסרי. B – קרום השפיר מופרד ידנית מן הכוריון. C – לאחר ניקוי קפדני, מוצמד הקרום על נייר נשא, וחתיכות בגדלים שונים מוכנסות לנוזל שימור ומוקפאות ב–80°C. D – במהלך הניתוח מוסר קרום השפיר מנייר הנשא. בדרך כלל צד הסטרומה צמוד לנייר הנשא*



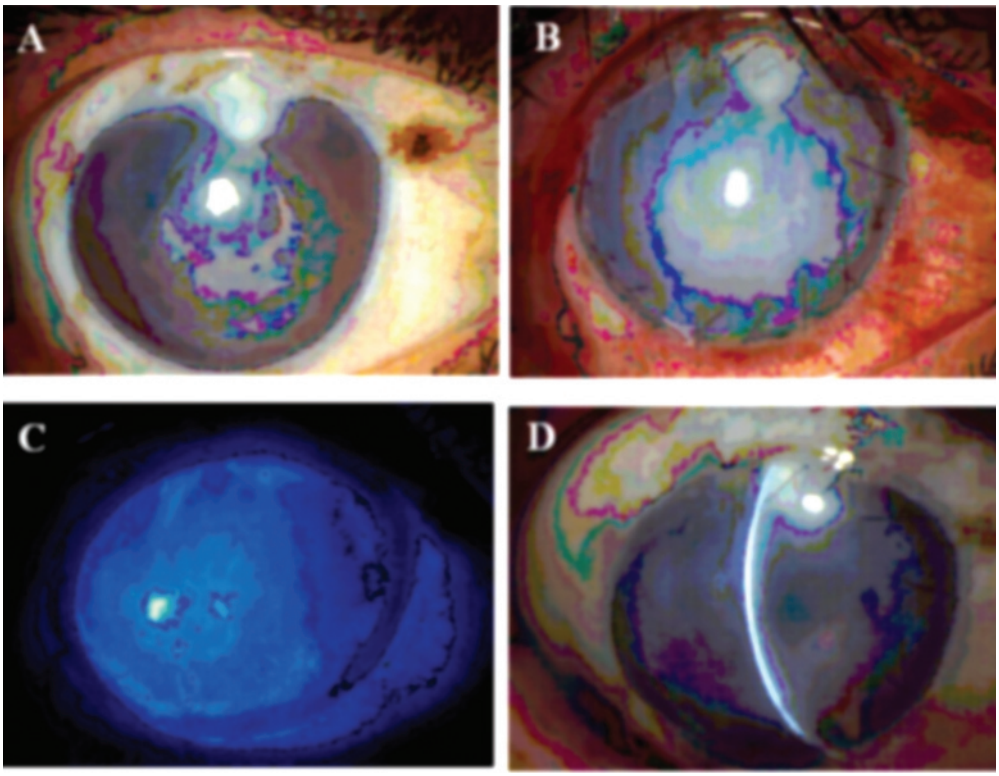
תמונה 3: *חתך היסטולוגי בשיליה. קרום השפיר (AM) מורכב מתאי אפיתל (E), קרום בסיס (BM), וסטרומה (M), והוא עוטף את שכבת הכוריון (C)*



תמונה 7:
A – שימוש בקרום שפיר כשתל למילוי כיב עמוק. יום לאחר הניתוח
B – שלושה חודשים לאחר הניתוח נראה משטח קרנית חלק עם אפיתליזציה מלאה



תמונה 9: *A – סימבלפרון נרחב ופטיריגיום חוזר לאחר שלושה ניתוחי פטיריגיום בעבר. B – יום לאחר הנתוח, קרום השפיר מכסה את הקרנית והפורניקס. C – לאחר שלושה שבועות הקרנית עוברת אפיתליזציה והקרום מתמוסס בחלקו. D – לאחר 14 חודשים, הקרנית שקופה ואין חזרה של רקמת הצלקת*



תמונה 10: *A - Pseudophakic Bullous Keratopathy עם כאבים וארוזיות חוזרות, ללא פוטנציאל ראיה. B – יום לאחר קילוף האפיתל ותפירת קרום השפיר לתוך כיס למלארי הקפי. C – לאחר שלושה שבועות נצפית אפיתליזציה מלאה על גבי שתל קרום השפיר תוך יצירת אפיתל קרנית יציב. D – ללאחר חודשיים הקרנית אומנם בצקתית, אך האפיתל מלא ויציב ללא בועיות וארוזיות חוזרות*