

پیوند سلول‌های فیبروبلاست کشت داده شده روی پرده آمیون جهت درمان دفورمیتی دست در بیماران اپیدرمولیزیس بولوزا

دکتر کمال سید فروتن*، دکتر محمد ابراهیمی**، دکتر ناصر اقدمی***، دکتر زهرا عروجی****

نازیلا سادات سید فروتن*****

چکیده:

زمینه و هدف: اپیدرمولیزیس بولوزا یک بیماری ژنتیکی است که دارای سه نوع می‌باشد؛ سیمپلکس، دیستروفیک و جانکشال. این بیماری با جداشدگی آسان اپیدرم از درم مشخص می‌گردد. در این بیماری پوست، دهان، دندان، مری، دستگاه تناسلی، نواحی پرینه و سایر ارگان‌ها درگیر می‌باشند. درگیری دست باعث دفورمیتی شدید (Mitten Hand یا دست بسته شده) می‌گردد. درمان انجام شده برای این بیماران، شامل استفاده از گرافت خود بیمار، اپلی گرافت، کراتینوسیت‌ها، پرده آمیون و غیره می‌باشد، با توجه به اثرات قابل توجه و خوب فیبروبلاست و پرده آمیون در ترمیم زخم، در این مطالعه جهت درمان این بیماران از هر دوی آنها برای پوشش دست‌ها پس از جراحی استفاده کردیم.

مواد و روش‌ها: این مطالعه که از نوع کارآزمایی بالینی است روی ۱۰ بیمار اپیدرمولیزیس بولوز در محدوده سنی ۵ تا ۲۲ سال در بیمارستان حضرت فاطمه (س) و به مدت ۲ سال انجام شد. بیماران به ۲ گروه تقسیم شدند که در یک گروه از پرده آمیون تنها و گروه دوم از پرده آمیون همراه با فیبروبلاست استفاده شد، با استفاده از نمونه پوست از پشت گوش بیمار، فیبروبلاست جدا گردیده، کشت داده شد و به پرده آمیون منتقل گردید. پس از جراحی دست و باز کردن انگشتان و کف دست و گذاشتن سیم کرشتر، جهت پوشش دست آنها در گروه اول از پرده آمیون و در گروه دوم از پرده آمیون همراه با فیبروبلاست استفاده شد. سپس ۲ گروه از نظر وضعیت ترمیم زخم، گرفتن گرافت، مدت زمان ترمیم زخم، تعداد پرده آمیون استفاده شده، مدت بستری در بیمارستان، تعداد عمل جراحی و همچنین حرکات کلی مفاصل انگشتان در فواصل ۱ و ۳ ماهه و ۶ ماهه پیگیری شدند.

یافته‌ها: با مقایسه ۲ گروه کاملاً مشخص شد، کیفیت ترمیم زخم، میزان گرفتن گرافت در گروه استفاده از فیبروبلاست بسیار بهتر و قابل توجه‌تر از گروه بدون استفاده از آن و مدت زمان ترمیم زخم و مدت زمان بستری در بیمارستان و تعداد عمل جراحی انجام شده در گروه استفاده از فیبروبلاست بسیار کمتر از پرده آمیون تنها بود.

نتیجه‌گیری: جهت درمان، اپیدرمولیزیس بولوزا، روش‌های مختلف درمانی به جز درمان حمایتی وجود دارد که از جمله استفاده از گرافت پوستی از خود بیمار، اپلی گرافت، کراتینوسیت، بیوبران، پرده آمیون می‌باشد که با توجه به خواص بسیار مفید و قابل توجه پرده آمیون و فیبروبلاست‌ها در ترمیم زخم، از ترکیب هر دو درمان استفاده شد که آثار و فواید قابل توجهی در ترمیم زخم داشت.

واژه‌های کلیدی: اپیدرمولیزیس بولوزا، پرده آمیون، فیبروبلاست

نویسنده پاسخگو: دکتر کمال سید فروتن

تلفن: ۸۸۷۱۲۲۲

Email: k_sforootan@Yahoo.com

* دانشیار گروه جراحی پلاستیک و ترمیمی، بیمارستان حضرت فاطمه، دانشگاه علوم پزشکی تهران

** دستیار گروه جراحی پلاستیک و ترمیمی، بیمارستان حضرت فاطمه، دانشگاه علوم پزشکی تهران

*** ایمونولوژیست، مسئول مرکز سلول درمانی رویان

**** پزشک عمومی، مسئول کلینیک پوست رویان

***** محقق مرکز تحقیقات علوم پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پزشکی تهران

تاریخ وصول: ۱۳۹۰/۱۰/۰۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۰۶/۰۲

زمینه و هدف

اپیدرمولیزیس بولوزا [Epidermolysis bullosa (EB)] یک بیماری ژنتیکی است، که با جدا شدگی ساده و آسان لایه اپیدرم از درم مشخص می‌شود و در اثر موتاسیون در ژن‌های پروتئین‌های آنکور کننده که عمل آنها پایدار کردن غشای پایه پوست و غشاهای مخاطی است، ایجاد می‌شود. در واقع اختلال در همی‌دسموزوم‌ها و عملکرد فیلامنت‌های اصلی است. پوست این بیماران نازک و ضعیف بوده و با کوچکترین سایش یا مالشی دچار زخم می‌شوند.^۱

در اپیدرمولیزیس بولوزا، تاول‌ها فقط محدود به سطوح خارجی پوست نیست بلکه سطوح مخاط داخلی مثل مری، دهان، روده‌ها و دستگاه تنفس و تناسلی را هم ممکن است درگیر کند. عمده‌ترین فرم‌های آن شامل: سیمپلکس، جانکشنال و دیستروفیک است. در نوع سیمپلکس، معمولاً لایه خارجی اپیدرم درگیر است در حالی که در نوع دیستروفیک یا جانکشنال غشاء پایه محل اتصال اپیدرم به درم گرفتار است.^۲

اگر چه نوع سیمپلکس اپیدرمال شایع‌ترین است، ولی اغلب بدون اسکار یا دفورمیتی بهبود می‌یابند.

در حالی که دو نوع دیگر باعث دفورمیتی‌های اشکار بالینی و موربیدیتی‌های زیاد در تمام نواحی بدن بخصوص در دست‌ها می‌گردد به طوری که دست بیماران حالت Mitten Hand (دست بسته شده) پیدا کرده و عملکرد ندارد. درمان این بیماران بیشتر جنبه حمایتی جهت جلوگیری از ایجاد تاول و زخم و مراقبت جهت ترمیم زخم و جلوگیری از عفونت و سایر عوارض دارد. درمان در دست‌ها در بیماران اپیدرمولیزیس بولوزا شامل جدا کردن کونترکچر دست‌ها و سین داکتیلی (Syndactyly) بیماران و سپس پوشش آن با پوست خود بیمار یا اپلی‌گرافت یا سایر پوست‌های مصنوعی بوده است.^۲

ما در این مطالعه سعی کرده‌ایم با توجه به خواص بسیار خوب غشاء آمنیون و همچنین فیبروبلاست‌ها، جهت درمان و پوشش زخم‌های دست‌های این بیماران پس از جراحی از غشاء آمنیون غنی شده با فیبروبلاست استفاده کنیم.

غشاء آمنیوکوریونیک یک غشاء محدودی است که جنین را احاطه می‌کند و داخلی‌ترین لایه آن پرده آمنیون است، پرده آمنیون [Amniotic Membran (AM)] از یک لایه اپیتلیال منفرد و یک غشاء پایه ضخیم و استرومای آواسکولار تشکیل شده است سلول‌های مشتق از پرده آمنیون مزایای سلول‌های

بنیادی را دارد. پرده آمنیون عروق خونی و عصب ندارد و تغذیه آن مستقیماً از طریق دیفیوژن می‌باشد. از لایه‌های متراکم، فیبروبلاست، لایه میانی با کلاژن‌های از تیپ یک تا شش تشکیل شده است. در مطالعات مختلف بیان شده که پرده آمنیون سالم و دارای سلول‌های اپیتلیال دارای سطوح بالایی از FGF, KGF, HGF, EGF می‌باشد که در لایه اپیتلیال آن قرار دارند، اکنون از پرده آمنیون در قسمت‌های مختلف از جمله دیفکت‌های اپیتلیال مقاوم به درمان، سوختگی‌ها به خصوص سوختگی‌های شیمیایی، سندرم استیونس جانسون، استفاده می‌شود.^۳

در واقع پرده آمنیون یک اسکافولد بسیار خوبی برای بسیاری از سلول‌های می‌باشد.

پرده آمنیون با کاهش دادن TGF- β باعث کاهش خطر فیبروز می‌گردد از دیگر خواص آن کاهش التهاب می‌باشد و بیان سیتوکین‌های پیش التهابی مثل IL-1 β , IL-1 α را مهار می‌کند. از طرفی با توجه به فراورده‌های آن خواص آنتی‌میکروبیال هم دارد و ایمنوژنیستی آن بسیار پایین است.^۴

سلول فیبروبلاست مهم‌ترین سلول بافت همبند می‌باشد که باعث تولید ماتریکس اکستراسلولار و کلاژن می‌گردد در واقع ECM (ماتریکس اکستراسلولار) قسمتی از بافت است که برای رشد و ترمیم زخم و فیبروز ضروری است، فیبروبلاست مهم‌ترین سلول فرایند ترمیم زخم به خصوص در فاز پرولیفراتیو می‌باشد، مسئول شروع آنژیوژنز و همچنین نقش مهمی در اپیتلیالیزاسیون و تشکیل کلاژن دارد، با توجه به خواص ذکر شده در مورد پرده آمنیون و فیبروبلاست و نقش مهم آنها در ترمیم زخم در این مقاله ما از اثر هر دوی آنها در ترمیم زخم استفاده کردیم.^۴

مواد و روش‌ها

این مطالعه روی ۱۰ بیمار اپیدرمولیزیس بولوزا انجام شد، بیماران در محدوده سنی ۵ تا ۲۲ سال بودند، ۷ نفر از بیماران مرد و ۳ نفر زن بودند که جهت درمان مشکلات دست خود مراجعه کرده بودند.

بیماران در این مطالعه به دو گروه تقسیم شدند، در یک گروه (۵ بیمار) پس از جراحی دست جهت پوشش زخم از پرده آمنیون تنها بدون فیبروبلاست استفاده شد، در گروه دوم (۵ بیمار) از پرده آمنیون با فیبروبلاست استفاده شد.

در گروه دوم نیز مانند گروه اول اقدامات جراحی انجام شد و سپس جهت پوشش دست بیماران از پرده آمینون آغشته به فیبروبلاست که تهیه آن ۳ هفته طول کشید، استفاده گردید.

در هر دو گروه، پانسمان بیمار ۵ روز بعد باز گردید و پس از باز کردن پانسمان از نظر ترمیم زخم، میزان گرفتن گرفتار، وضعیت زخم از نظر وجود عفونت و نکروز و سایر عوارض زخم ارزیابی گردید. فتوگرافی‌های از دستان بیماران در هر دو گروه تهیه گردید. درصد گرفتن گرفتار با کمک نرم افزار Image-j (روشی برای تعیین درصد عدم گرفتن گرفتار) در هر دو گروه مشخص شد، بعد از تهیه فتوگرافی قسمت‌هایی که گرفتار نگرفته بود، مجدداً در هر دو گروه با پرده آمینون ساده و پرده آمینون آغشته به فیبروبلاست پانسمان گردید. سپس دو گروه تا ترمیم کامل زخم‌ها تحت پیگیری قرار گرفتند و تعداد پرده آمینون استفاده شده، مدت بستری در بیمارستان، تعداد عمل جراحی و وضعیت زخم آنها هنگام ترخیص ثبت گردید که در جداول شماره ۱ و ۲ مشخص می‌باشد. بیماران همچنین از نظر میزان حرکت کلی مفاصل انگشتان (Total Rang of Motion)، قبل از عمل و پس از عمل جراحی تحت ارزیابی قرار گرفتند که در جدول شماره ۳ و ۴ مشخص می‌باشد.

جهت تهیه فیبروبلاست که به صورت اتولوگ تهیه شد، ابتدا نمونه‌ای از پوست بیمار از پشت گوش برداشته شد، در محیط مخصوص قرار داده شد و پس از اقدامات لازم از جمله تخلیص و پاساژ آنها فیبروبلاست جدا گردید، کشت داده شد، سپس ۱۵ - ۲۰ میلیون سلول روی پرده آمینون منتقل گردید و جهت پوشش زخم دست بیماران گروه دوم پس از جراحی از آن استفاده شد.

تمام بیماران بصورت بیهوشی عمومی تحت عمل جراحی قرار گرفتند، در گروه اول پس از بیهوش کردن بیمار و اقدامات استریل، ابتدا کلیه کونتراکچر انگشتان و کف دست و بین انگشتان باز شد، سینداکتیلی انگشتان آنها تا مفصل MCP (مفصل متاکارپوفالانژیال) باز شد، سپس سیم کرشتر در تمام انگشتان گذاشته شد، پس از هموستاز کافی و تهیه فتوگرافی جهت ترمیم و پوشش دست آنها از پرده آمینون که از جفت انسانی تهیه شده و آزمایشات لازم میکروبی و ویروسی روی آن انجام شده بود و منفی بود، استفاده شد. روی تمام انگشتان کف و پشت دست گذاشته شد، سپس پانسمان غیر چسبنده (گاز وازلین) گذاشته شد و بانداژ گردید.

جدول ۱- نتایج استفاده از پرده آمینون تنها در ترمیم زخم بیماران EB

بیمار	درصد گرفتن گرفتار در اولین پانسمان	درصد ترمیم زخم موقع ترخیص	تعداد پرده آمینون مصرفی	مدت بستری در بیمارستان (به روز)	تعداد عمل جراحی
۱	۶۳	۹۰	۴	۳۰	۶
۲	۵۳	۹۰	۳	۳۲	۷
۳	۵۵	۹۰	۴	۳۰	۷
۴	۵۲	۱۵	۴	۴۰	۷
۵	۶۳	۹۵	۵	۲۵	۶

جدول ۲- نتایج استفاده از پرده آمینون با فیبروبلاست در ترمیم زخم بیماران EB

بیمار	درصد گرفتن گرفتار در اولین پانسمان	درصد ترمیم زخم موقع ترخیص	تعداد پرده آمینون مصرفی	مدت بستری در بیمارستان (به روز)	تعداد عمل جراحی
۱	۹۳	۱۰۰	۱	۱۵	۲
۲	۹۵	۱۰۰	۱	۱۵	۲
۳	۹۳	۹۵	۱	۱۵	۲
۴	۹۶	۱۰۰	۲	۱۰	۳
۵	۹۰	۹۷	۲	۱۰	۳

جدول ۳- نتایج حرکت کلی مفاصل انگشتان دست در گروه استفاده از پرده آمیون تنها قبل از عمل و پس از عمل جراحی

بیمار	قبل از عمل (درصد)	بعد از عمل (درصد)
۱	<۱۰	۶۰
۲	<۱۰	۷۰
۳	<۱۰	۱۰
۴	۰	۷۰
۵	<۱۰	۷۵

جدول ۴- نتایج حرکت کلی مفاصل انگشتان دست در گروه استفاده از پرده آمیون با فیبروبلاست قبل از عمل و پس از عمل جراحی

بیمار	قبل از عمل (درصد)	بعد از عمل (درصد)
۱	<۱۰	۱۰
۲	<۱۰	۱۵
۳	<۱۰	۱۵
۴	<۱۰	۱۰
۵	<۱۰	۱۰

بیماران هر دو گروه تحت پیگیری ۱، ۳ و ۶ ماهه قرار گرفتند اطلاعات حاصل از این دو گروه پس از تهیه مقایسه با کمک آنالیز آماری ANOVA انجام گردید.

یافته‌ها

در این مطالعه میزان درصد ترمیم زخم، مدت ترمیم زخم، مدت زمان بستری در بیمارستان و تعداد پرده آمیون استفاده شده در هر دو گروه مقایسه شده‌اند، که نشان می‌دهد تمام مشخصه‌های گفته شده در گروهی که از فیبروبلاست استفاده شده بود خیلی بهتر و نتایج قابل توجه‌تری از گروه بدون فیبروبلاست داشت.

در گروه بدون فیبروبلاست مقدار متوسط گرفتن گرفت در ۵ بیمار ۵۷٪ بود و در گروه با فیبروبلاست در ۵ بیمار ۹۳٪ بود.

در گروه بدون فیبروبلاست تعداد جفت استفاده شده ۳-۵ تا بود و در گروه بدون فیبروبلاست ۱-۲ عدد بود، مدت بستری در بیمارستان در گروه اول بین ۳۰ تا ۴۰ روز و در گروه دوم بین ۱۰ تا ۱۵ روز بود. تعداد متوسط عمل جراحی در گروه اول بین ۶ تا ۷ بار و در گروه دوم ۲ تا ۳ بار بوده است که

از نظر آماری و آنالیز آماری P-value, t-test, ANOVA کمتر از ۰/۰۵ داشت.

از نظر میزان حرکات کلی انگشتان که توسط فرمول زیر محاسبه شد، متوسط حرکات کلی تمام انگشتان قبل از عمل بین ۰ تا ۱۰ درجه و بعد از عمل در گروه اول بین ۱۳۰ تا ۱۵۰ درجه و در گروه دوم بین ۱۴۰ تا ۱۷۰ درجه بوده است.

مجموع عملکرد مفاصل انگشتان دست - لگ اکستانسیون مفاصل انگشتان دست = میزان حرکت کلی مفاصل انگشتان^۵

با کمک فرمول بالا میزان کلی حرکات انگشتان در تمام انگشتان دست که قابل اندازه‌گیری بود، اندازه‌گیری شد، میانگین آنها برای هر بیمار محاسبه گردید و قبل از عمل و بعد از عمل ثبت شد. که میزان کلی حرکات مفاصل در گروه ۲ (با فیبروبلاست) بهتر از گروه اول بوده است، ولی از نظر آماری اختلاف قابل توجهی نداشته است ولی سایر متغیرها از نظر آماری اختلاف قابل توجهی با P-value کمتر از ۰/۰۵ داشته‌اند.

بحث و نتیجه‌گیری

ما در این مطالعه درمان جدیدی را جهت بیماران اپیدرمولیزیس بولوزا که با دفورمیتی شدید دست مراجعه کرده بودند، بیان کردیم. که نتایج حاصله هم نشان داد که اثر قابل توجهی در ترمیم زخم آنها داشته است. همان طور که بیان شد پرده آمیون خواص قابل توجهی از جمله ضد التهابی و ضد میکروبیال دارد، آنتی‌ژنیسته بسیار پائینی دارد و فاکتورهای بسیار مؤثری در رشد و ترمیم زخم دارد.

فیبروبلاست هم سلول بسیار مهمی در فرایند ترمیم زخم می‌باشد که باعث آنژیوژنز و اپیتلیالیزاسیون و تولید کلاژن و الاستین و (ماتریکس اکستراسلولار) می‌گردد. از خواص آن حتی به صورت سلول درمانی در خیلی از زخم‌ها جهت ترمیم استفاده شده است. (سوختگی، آکنه، اسکارها و ...)

درمان اپیدرمولیزیس بولوزا در حال حاضر با گرافت‌های مختلفی از جمله آلوژنیک، اتوگرافت، آپلی گرافت، بیوبران انجام می‌شود که در مطالعه‌ای که توسط آقای Worker و همکارانش در استرالیا انجام شده از گرافت‌های آلوژنیک استفاده کرده و با سایر درمان‌ها مقایسه شده که هر کدام نتایج و عوارض خاص خود را داشته‌اند.^۶

جهت درمان EB مطالعه‌ای که از پرده آمیون به همراه فیبروبلاست استفاده شده باشد تاکنون انجام نشده است، ولی در مطالعاتی که از پرده آمیون تنها در درمان زخم‌های مختلف

پرده آمنیون آغشته به فیبروبلاست انجام شد و بیماران تحت پیگیری ۱، ۳، ۶ ماهه قرار گرفتند، نتایج گروه استفاده از فیبروبلاست برتری قابل توجهی نسبت به گروه بدون استفاده از فیبروبلاست داشت. در پیگیری ۳ ماهه تفاوتی با یک ماهه نداشت.

در پیگیری ۶ ماهه در گروه بدون فیبروبلاست دو مورد زخم شدگی و عود مختصر داشتیم که به نظر ناشی از عدم همکاری بیمار در فرایند پس از جراحی و فیزیوتراپی بوده است.

در مجموع با توجه به نتایج حاصله مشخص شد که در گروه استفاده از فیبروبلاست، وضعیت ترمیم زخم و میزان حرکات کلی مفاصل انگشتان دست بسیار بهتر بوده و مدت بستری در بیمارستان، تعداد اعمال جراحی انجام شد. جهت ترمیم نهایی و تعداد پرده آمنیون استفاده شده نیز کمتر بوده است که نتیجه‌گیری شد که این پوشش می‌تواند روش خوبی جهت درمان بیماران EB جهت پوشش زخم‌های آنها باشد.

از جمله سوختگی‌ها استفاده شده اثر قابل توجهی در ترمیم آنها داشته است.^{۸،۷}

مطالعات دیگری به صورت Case-report نیز از فیبروبلاست تنها استفاده شده است که اثرات آن در ترمیم زخم قابل توجه بوده است.

در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۰ منتشر شد، اثرات استفاده از فیبروبلاست را در ترمیم زخم این بیماران بیان کرده و توضیح داده شده که در ترمیم زخم بیماران EB اثرات قابل توجهی دارد. ولی مطالعه‌ای مشابه و با این شکل تاکنون انجام نشده است.^{۹-۱۱}

بیماری EB در حال حاضر درمان قطعی ندارد و تمام درمان‌های گفته شده در مورد این بیماران جهت عوارض و کاهش موربیدیته آنها بوده است.

با توجه به این که دست این بیماران دچار دفورمیتی شدیدی می‌گردد و از آنجا که دست نقش مهمی در عملکرد بدن دارد، بیشتر مطالعات نیز جهت ترمیم و پوشش دستان انجام شده است، که در مطالعه ما که پس از جراحی دستان بیمار از



تصویر ۲- باز کردن انگشتان بیمار پس از جراحی و گذاشتن پرده آمنیون بدون فیبروبلاست



تصویر ۱- بیمار پسر بچه ۸ ساله قبل از عمل جراحی



تصویر ۴- پسر بچه ۱۰ ساله قبل از عمل جراحی



تصویر ۳- یک ماه بعد از جراحی (موقع ترخیص)



تصویر ۶- یک ماه پس از جراحی



تصویر ۵- دست بیمار پس از جراحی و گذاشتن پرده آمیون به همراه فیبروبلاست

Abstract:

Culture and Transplant of Autogenous Fibroblast on Amniotic Membrane for Treatment of Hand Deformity in Epidermolysis Bullosa

Seyed Forootan K. MD^{}, Ebrahimi M. MD^{**}, Aghdami N. MD^{***}, Orouji Z. MD^{****}*

*Seyed Forootan N. S. MD^{*****}*

(Received: 22 Dec 2011 Accepted: 23 Aug 2012)

Introduction & Objective: Epidermolysis bullosa is a genetic disease, belonging to mechanobullosa family, It has 3 types: simplex, junctional, and dystrophic, It is characterised by easy detachment of epidermis from dermis, and mouth, teeth, esophagus, perineal area and other organs are involved, hand involvement is very severe, and it leads to mitten hand. The treatments performed in these patients consist of using skin graft of the patient himself, apligraf, keratinocyte, amniotic membrane, etc. Considering the brilliant effects of amniotic membrane and fibroblast in wound healing, both of them are used for hand coverage after the surgery.

Materials & Methods: This study is a clinical trial on 10 patients with Epidermolysis bullosa with age within range of 5 to 30 years these patients were divided in 2 groups: one group using amniotic membranes only. The second group used amniotic membranes in combination with fibroblast. Skin samples from patient's of posterior auricle, and fibroblasts were isolated, and were cultured and transferred to amniotic membrane. Then after operation and releasing the palm and finger and placing the krischner wire, to cover their hands, of amniotic membrane was used in the first group and amniotic membranes with fibroblasts were used in the second group. Then the two groups were followed and compared regarding the status of wound healing, graft take success, wound healing time, the number amniotic membranes, duration of hospitalization, number of surgeries and of total range of movement in at intervals of 1, 3 and 6 months.

Results: Comparing the two groups, it become evident that the quality of wound healing, graft take rate, wound healing time were much better in fibroblastic group, and the duration of hospitalization and number of surgeries performed in the group using fibroblast and amniotic membranes was much smaller than group one which used amniotic membrane alone.

Conclusions: There is various methods of treatment for EB including taking Graft from the patient, and using apligraf grafts, keratinocyte Biobrane, and amniotic membranes. Because of useful and interesting properties of amniotic membranes and fibroblasts in wound healing, the combination of both was used for the treatment of EB and significant benefits and effects were found in wound healing.

Key Words: *Epidermolysis Bullosa, Amniotic Membrane, Fibroblast*

* Associate Professor of Plastic Surgery, Tehran University of Medical Sciences, Fatemeh Hospital, Tehran, Iran

** Resident of Plastic Surgery, Tehran University of Medical Sciences, Fatemeh Hospital, Tehran, Iran

*** Immunologist, Tehran, Iran

**** General Practitioner, Tehran, Iran

***** Researcher, Student Research Committee, Islamic Azad University of Medical Sciences Tehran Branch, Tehran, Iran

References:

1. Diaz, L.A., and Giudice, G.J end of the century over view of skin blisters, arch. Dermatol, 136: 106, 2000.
2. Schmidt, E., and Zillikens, D. Autoimmune and inherited subepidermal blistering diseases: Advances in the clinic and the laboratory. Adv. Dermatol, 16. 113, 2000.
3. Eisenberg. M., and lewelyn, D. surgical management of hands in children with recessive dystrophic epidermolysis bullosa: Use of allogeneic composite cultured skin grafts, Br. J. plast, surg, 5: 608, 1998.
4. Glicenstein, J. Mariani, D., and Haddad, R. the hand in recessive dystrophic epidermolysis bullosa, hand clin, 16. 637, 2000.
5. Fivenson, D, P. and falabella. A.F. the use of graftskin (Aoligraf) for treatment of epidermolysis bullosa. Wounds 12: 64A, 2000.
6. Verplamcke, P., Beele, H., Monstrey, s, and naeyaert, J.M. treatment of dystrophic epidermolysis bullosa. PLASTIC AND RECONSTRUCTIVE SURGERY, August 2003.
7. Branski LK, KULPG, Herdon DN (2007) Amniotic membrane as wound coverage: the effects of irradiation and different processing methods on growth factor content. J surg Res 137: 339.
8. Hennerbichler S, Reichl B, Rella (2007 a). The influence of various storage conditions on cell viability in amniotic membrane. Cell tissue Bank 8: 1-8.
9. Yon, W.F., Murrell, D.F. Fibroblast-based cell therapy strategy for recessive dystrophic Epiermolysis bullosa Dermatologic clinics, Volum 28, Issue 2, April 2010, 367-370.
10. Nagy, N, Almanni, N., tanaka. Possible mechanism underlying allogeneic fibroblast - therapy in Epiermolysis bullosa. J of dermatology. 131, 8 2011, 1771-1774.
11. Venugopall, ss; Yan, WF; Frew, First. Double - blind randomized clinical trial of intradermal allogeneic fibroblast therapy for sever Epiermolysis bullosa. J. Dermatology, 130. 2010.