

**T.C.**  
**SAĞLIK BAKANLIĞI**  
**ANKARA EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ**  
**Şef: Op. Dr. Sunay DUMAN**

**KORNEA HASTALIKLARINA BAĞLI**  
**PERFORASYONLARDA AMNİYON MEMBRAN**  
**TRANSPLANTASYONU**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Hande Hüsniye KARAGÜZEL**

**ANKARA/2004**

## İÇİNDEKİLER

<i>Özet</i>	
GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
KORNEA PATOLOJİLERİNİN SINIFLANDIRILMASI .....	3
STERİL KORNEA ÜLSERİ YAPAN NEDENLER .....	3
STERİL KORNEA ÜLSERİ VE PERFORASYONDA TEDAVİ.....	9
AMNİYON MEMBRANININ ÖZELLİKLERİ.....	18
AMNİYON MEMBRANININ HAZIRLANMASI .....	23
CERRAHİ TEKNİK .....	23
GEREÇ VE YÖNTEM.....	33
BULGULAR.....	35
TARTIŞMA .....	41
KAYNAKLAR.....	49

## Özet

### Kornea Hastalarına Bağlı Perforasyonlarda Amniyon Membran Transplantasyonu

**Amaç:** Kornea hastalıklarına bağlı perforasyonlarda, glob bütünlüğünün korunmasında Amniotik Membran Transplantasyonunun (AMT) etkilerini araştırmaktır.

**Gereç ve yöntem :**2001-2004 yılları arasında Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi kornea bölümüne başvuran travmatik olmayan kornea hastalıklarına bağlı perforasyonu olan 28 hasta çalışmaya alındı.Travmatik olmayan kornea hastalıklarına bağlı perforasyonu olan bu hastalarda donör bulunamadığı için , PKP yapılamayıp, amnion membran transplantasyonu yapıldı.

**Sonuç:** AMT, kalıcı veya rekonsbrüksiyon öncesi geçici olarak travma lik olmayan kornea perforasyonunun tedavisinde etkili bir metottur. Özellikle penetian kerotoplastının yeterince yaygın olmayışı, her zaman donör korneanın bulunamayıp bu olgularda alternatif rehabilitasyon yöntemlerinde arayışı arttırmaktadır. İnflame gözlerde, gözyaşı yetersizliği olan gözlerde ve alkali yanık olan gözlerde başarı, düşük olmasına rağmen tekrarlayan operasyonlarla peribrasyon kontrol altına alınabilmektedir. Önümüzdeki yıllarda kurulacak olan amniyon bankaları aracılığı ile yöntemin daha da yaygınlaşabileceğim düşünmekleyiz.

## Abstract

### Amniotic Membrane Transplantation In Perforation Due To Cornea Diseases

**Purpose:** to investigate the effects of amniotic membrane transplantation (AMT) on the preservation of glob integrity in perforation due to corneal diseases.

**Material and method :**twenty-eight patients with non traumatic corneal perforation who were admitted to the corneal section of Ankara Education and research hospital between 2001 and 2004 were included in this study.Since the donor was not found in these patients with perforation due to non traumatic corneal diseases , amniion membrane transplantation was performed.

**Conclusion:** AMT is an effective method for the treatment of non-traumatic corneal perforationknmm temporarily before permanent or reconstructive surgery. In particular, the lack of penetrating kerethoplastosis is not common enough, increasing the search for alternative treatment methods in these cases, which can not always be found donor cornea. Although success is low, peribration can be controlled by repeated operations in inflaming eyes, tear-proof eyes and alkaline burns. We expect the method to be more widespread through amniyon banks to be established in the coming years.

## GİRİŞ VE AMAÇ

Kornea perforasyonu ve desmatosel birçok inflamatuvar veya enfeksiyöz nedenler sonrası gelişebilir. Kısa dönemde tedavide amaç; aköz sızıntısını engellemek, perfore alana tektonik destek sağlamak, perforasyona neden olan etkeni yok edene kadar ön segmentin daha fazla harap olmasını engellemektir (1-3). Tedavide kullanılacak yöntemler: doku yapıştırıcıları, bandaj kontakt lens, penetran veya lameller keratoplasti, yama greftler veya konjonktiva flepleridir (4-5). Ne yazık ki; bu tedavi yöntemleri; birçok komplikasyona neden olur. İnflamasyona veya enfeksiyona sekonder olarak gelişen perforasyonlarda glob bütünlüğünü sağlamak için yapılan penetran keratoplasti operasyonu sonrası; sineşi, glokom, üveit ve greft yetmezliği gibi komplikasyonlarla karşılaşılabilir (4-5). Lameller keratoplasti yeterli olmayıp, aköz sızıntısına neden olabilir. Hatta bazen donör kornea ile alıcı kornea arasında da bir kamara olacak şekilde çift kamara oluşumuna neden olabilir. Doku yapıştırıcıları, geçici etkilidirler. Penetran keratoplasti beklerken geçici tedavi amacıyla kullanılabilirler. Ayrıca yapıştırıcı toksisitesi sonucu doku inflamasyonu oluşabilir. Bu prosedürler, sadece tektonik amaçlı kullanılırlar (4-5). Örneğin; inflamasyonda romatoid artrit ve nörotrofik keratopatide gelişen desmatoselde veya perforasyona neden olan ciddi gözyaşı eksikliğinde tedavi edici özellik göstermezler. Bu durumlarda devam eden doku yıkımı greftte incelmeye veya doku yapıştırıcılarının yerinden çıkmasına neden olabilir (6-7).

Perforasyonlarda son yıllarda bir alternatif tedavide yüzeyin Amniyotik Membran Transplantasyonu (AMT) ile rekonstrüksiyonudur. Tıpta ilk kez Davis, 1910 yılında amniyon membranını deri naklinde kullandığını rapor etmiştir. Oftalmolojide ise AMT ilk kez 1940'da Rötth tarafından konjonktiva defektlerinde ve kornea

yüzeyinin yeniden oluşturulmasında kullanılmıştır. Sorsby ve Symons 1946'da konjonktivanın kimyasal yanıklarında ve sembleferon da AMT kullanmıştır. Battle ve Perdomo 1990'ların başında oküler yüzey bozukluklarında AMT kullanımını yeniden başlatmışlardır. Daha sonra Kim ve Tseng tavşanlarda kornea epitelini kazıma ve limbal lameller keratektomiden sonra uygulanan saklanmış amniyon membranının kornea yüzeyinin tekrar oluşmasını kolaylaştırdığını göstermişlerdir. Son zamanlarda AMT kimyasal yanıklar, ileri evre oküler sikatrisyel pemfigoid, Stevens-Johnson sendromu, pterijum eksizyonu, steril kornea ülserleri, persistan epitel defektleri ve semptomatik büllöz keratopatide kullanılmaktadır.

Amniyotik membran plasentanın en iç tabakasıdır. İnce bir bazal membran ve avasküler stroma içerir. Son yıllarda birçok oküler yüzey hastalıklarında başarılı bir şekilde rekonstrüksiyonda kullanılmaktadır. Çalışmalar, AMT'nin epitalizasyonu hızlandırdığını, inflamasyonu, vaskülarizasyonu ve skar oluşumunu azalttığını göstermektedir.

Bu çalışmanın amacı; kornea hastalıklarına bağlı perforasyonlarda, glob bütünlüğünün korunmasında Amniotik Membran Transplantasyonunun (AMT) etkilerini araştırmaktır.

## GENEL BİLGİLER

### STERİL KORNEA ÜLSERİ YAPAN OKÜLER YÜZEY HASTALIKLARI

1. Oküler sikatrisyel pemfigoid
2. Stevens- Johnson sendromu (SJS)
3. Kimyasal yanıklar
4. Kuru göz
5. Vitamin yetmezlikleri (A ve C)
6. Nörotrofik keratopati
7. Ekspozur keratopati
8. Persistan epitel defekti yapan hastalıklar

**1- Oküler sikatrisyel pemfigoid:** Deri ve muköz membranlarda skarlaşma ile sonuçlanan, tekrarlayıcı büll ve veziküllerin oluştuğu ilerleyici, nadir bir hastalıktır(1). Bazal membrandaki hücre yüzey antijenine karşı oluşan otoantikorlara bağlı tip II (sitotoksik) reaksiyondur. Pilocarpin, timolol, epinefrin gibi topikal ajanlarca da benzer klinik tablo oluşabilir (Pseudopemfigoid) (9-10).

Zamanla oluşan büllerin patlamasıyla hastalık için karakteristik olan subepitelyal fibrozis oluşur. Skarlaşmayı takiben konjonktiva goblet hücreleri ve fornikslerin kapanması sonucu kuru göz oluşur. Entropiyon ve trikiasis gelişince korneada ülserleşme görülür. Bu hastalarda immünite kontrol altında olmadıkça göz ve gözdışı herhangi bir cerrahi girişim, hastalığın aktive olmasına neden olur.

**2-Stevens-Johnson Sendromu (Eritema Multiforme Majör):** Akut, ilerleyici olmayan deri ve muköz membranların eroziv tutulumunun olduğu bir hastalıktır. Hastalık 6 hafta kadar sürer. Histopatolojisinde vaskülit ve/veya

perivaskülit bulunmaktadır (2). Tip III hipersensitivite reaksiyonudur. Mycoplasma pneumonia, herpes simpleks virüs (HSV), sülfonamidler, penisilin gibi ilaçlar hastalığa neden olabilen antijenler arasındadır. Zamanla oluşan büllerin patlaması sonucu ülserasyon ve skatris oluşur. Skarlaşma sembleferon ve kapak anomalilerine neden olur. Konjonktivadaki hasarlanma ve kapak bozuklukları kuru göz ve korneada ülserleşmeye neden olur.

**3- Alkali ve kimyasal yanıklar:** Hafif irritasyondan epitel yüzeyinde tam harabiyet, kornea opasifikasyonu, vizyon kaybı ve nadiren gözün kaybına kadar gidebilen sık karşılaşılan bir problemdir (3). Sorumlu kimyasal ajanlar sıvı, katı ve toz olabilir. Kimyasal yanıklar sıklıkla dezenfektanlar, çözücüler ve yakıcı kimyasallar nedeniyle olur. Alkaliler arasında; amonyak, kostik soda ve kireç kalsiyum, asitler arasında; sülfirik asit ve hidroklorik asit en sık karşılaşılanlardır. Sorumlu kimyasal ajanın tespiti kimyasal hasarın şiddetinin pH, miktar, temas süresi ve toksisite içeriğine bağlı olmasından dolayı önemlidir (5). Kuvvetli alkali ve asitlerde hasarlanma şiddeti artar. Alkali solüsyonların hasarlayıcı etkisi, yüksek reaktif hidrojen ve hidroksil iyonlarının doku içindeki konsantrasyonunu etkin bir şekilde değiştirme özelliğinden kaynaklanır. Asit solüsyonlar ise içerdiği hidrojen iyonu ile pH değişikliği yaparak hasar oluşturur.

Alkali yanıkların içerisinde en ağır hasarı oluşturanlar amonyak ve kostik soda olup, en sık karşılaştığımız kireç yanığı şans eseri en hafif alkali yanık tablosu oluşturan kimyasaldır. Yine benzer şekilde en sık karşılaşılan sülfirik asit yanıklarında eşlik eden başka bir patoloji olmadıkça tedavi prognozu ve son görme keskinliği yüz güldürücüdür (3-4).

Kuvvetli alkali ajanlar doku pH'ını arttırarak hücre membranındaki serbest yağ

asitlerini sabunlaştırır ve hücre hasarına neden olur. Daha da ilerleyerek ön kameraya da geçer ve yoğun inflamasyona neden olur. Yüzey epiteli hasarlanınca alkali solüsyonlar kornea stromasına kolayca penetre olarak, proteoglikan ve kollajen fibrillerini harap eder. Ayrıca kollajenin sentezinde de azalma olur. Bu durum kollajen sentezi için gerekli askorbik asidi konsantre ederek aköz içine salan silyer cismin harabiyeti sonucunda meydana gelir. Proteoglikan hidrasyonu ile kornea saydamlığı bozulur, kollajen fibrillerinin hidrasyonu ile de fibriller kısalır ve kalınlaşır. Kollajen için koruyucu olan proteoglikan kaybı, kollajenin enzimatik yıkılma eğilimini artırır.

Sağlam kornea epiteli, stromadaki keratositlerce üretilen tip I kollajenazı inhibe eden sitokinleri salgılayarak uygunsuz kollajen üretimini engellemiş olur. Kornea stroma devamlılığı ve yenilenmesinden birincil olarak keratositler sorumludur. Stroma hasarını takiben keratositler fibroblastik aktivite kazanırlar ve 1-14 gün içinde hasarlı bölgeye göç ederler. Kimyasal hasarı takiben tip I kollajenaz sentezi 7-56 günde maksimuma ulaşır. Ancak alkali yanık sonrası askorbik asit eksikliğine bağlı kollajen sentezi bozulunca kornea ülserasyonu ve perforasyonu gelişebilir (14-19).

Asit maddeler ise temasdaki dokuda proteinlerin birikmesine ve denatüre olmasına neden olur. Bu birikim bariyer etkisi yaparak asidin daha derinlere inmesine engel olur. Asit yanıklarda stroma ve daha alt dokular genelde hasar görmez.

Yanığı takiben 12-24 saat sonra periferik korneada polimorf nüveli lökositler ve mononükleer lökositlerin infiltrasyonu görülür. Bu hücreler fagositoz ve degranülasyon aktiviteleri gösterir ve kollajenaz gibi enzimleri salgırlar. Kollajen molekülünün parçalanmasında matriks metalloproteinazları hız belirleyicidir. Kimyasal yanık ciddi ise 7. günde ikinci dalga inflamasyon hücre infiltrasyonu başlar ve onarım ile yıkımın en fazla olduğu 14-21. günde maksimuma ulaşır. Epitel defektinin veya nekrotik

konjonktiva dokusunun varlığı devam ettiği sürece infiltrasyon da devam eder. Onun için nekrotik konjonktiva dokusunun uzaklaştırılması ve ilk dalga infiltrasyonun tedavisi önemlidir. Böylece ikinci dalga infiltrasyonu ve dolayısıyla ülserasyon engellenecektir.

Thoft ve arkadaşlarının yaptığı bir sınıflamaya göre yüzey hasarı 4 basamakta değerlendirilmiştir (5):

Grade 1: Konjonktiva da hiperemi ve diffüz yüzeysel punktat keratopati

Grade 2: Konjonktiva da hiperemi ve kısmi kornea epitel kaybı

Grade 3: Konjonktiva da hiperemi, tam kornea epitel kaybı ve/veya limbal nekroz

Grade 4: Tam kornea epitel kaybı ve % 50' den fazla perilimbal nekroz

**4- Kuru göz:** Gözde rahatsızlık semptomlarının eşlik ettiği ve kapaklar arası oküler yüzeyde zarara neden olan aşırı gözyaşı buharlaşması veya eksikliğine bağlı gözyaşı hastalığıdır (6). Gözyaşı eksikliğine neden olan hastalıklar non-Sjögren ve Sjögren olarak 2'ye ayrılır. Non-Sjögren'de doğumsal hipoplastik gland, Riley-Day sendromu, gözyaşı bezine infiltrasyon yapan hastalıklar, sensoryal kornea duyu kaybı, konjonktivanın skatrizan hastalıkları ve bazı ilaçlar nedeniyle kuru göz olur. Sjögren sendromunda ise ağız kuruluğunun eşlik ettiği ve sistemik immün veya bağ doku hastalığının katılmadığı (primer) veya katıldığı (sekonder) bir klinik durum vardır. Sjögren sendromunda gözyaşı eksikliği non-Sjögren'dekine göre daha şiddetlidir.

Gözyaşında buharlaşmanın fazla olduğu durumlarda ise genelde göz dışı bir hastalık mevcuttur. Blepharitis, Meibomian bezi hastalığı ve eksojor en önemli

nedenleridir. Meibomian bezi kanallarının ağızları tıkanınca buharlaşmaya bağlı gözyaşı osmolaritesi artar. Bu durum "yalancı kuru göz" olarak da adlandırılır (88). Konjonktivada inflamasyon yapan hastalıklarda goblet hücre kaybına bağlı olarak müsin azalır. Bu hastalıklara skarlaşma da eşlik edebildiği için beraberinde gözyaşı bezlerinin ağızlarında kapanmaya bağlı aköz yetersizliği mevcuttur.

Hastalık semptomları günün sonlarına doğru buharlaşmaya bağlı azalmış gözyaşı nedeniyle belirginleşir. Sürtünmeye bağlı yabancı cisim hissi, batma ve gözyaşı kırıncılık indeksi azalmasına bağlı fotofobi en sık semptomlarıdır.

**5-Vitamin yetmezlikleri:** A vitamininin az veya fazla alınmasına, C vitaminin de az alınmasına bağlı oluşur. A vitamin azlığı sistemik protein üretimini azaltarak gözyaşı üretimini azaltır (7). Gözyaşında özellikle mukustaki azlık, konjonktivada kserozis yapar. Zamanla kornea ve konjonktivada keratinizasyon olur. Bulbar konjonktivada triangüler alanda tipik Bitot lekeleri görülür. Önce niktolopsi gelişir, daha sonra oküler yüzeyde kuruma olur. Sonunda kornea ülserine ve nekroza gider.

C vitamini ribozomal kollajen sentezinde prolin ve lizinin hidrosilasyonunda kofaktör olarak etki gösterir. Bu mekanizmanın bozulması bozuk kollajen üretimine neden olur. Kollajen sentezi bozulması stromal yara iyileşmesinde bozulma oluşturur. Alkali yanıklar lokal C vitamini eksikliği olarak değerlendirilebilir.

**6- Nörotrofik keratitis:** Trigeminal nükleustan korneaya kadar olan 5. sinirin lezyonlarında, korneanın normal duyusu ve trofik uyarısı kesintiye uğrayarak kornea yüzeyinde nörotrofik ülserasyonla sonuçlanır (8). Trofik ülserasyon, kornea epitelinin azalmış turn-over ve refleks gözyaşı oluşumu nedeniyle bozulmuş tamir mekanizmasından kaynaklanır. Adrenerjik uyarı cAMP'i arttırarak mitozis

inhibisyonu, kolinerjik uyarı da cGMP'i arttırarak turn-over'da artışa neden olur. İki uyarı arasındaki dengenin bozulması ülserasyon oluşturur. Epitel hücrelerinin yapısındaki bozukluk gözyaşının stabil olmasını önleyerek oküler yüzeyde kuruma meydana getirir ve ülserasyona katkıda bulunur.

Hastalık travma, toksisite, tümör ve infeksiyonlara bağlı meydana gelir. En büyük grubu oluşturan infeksiyonlar içinde herpes zoster virüs (HZV) ve HSV en önemlileridir. Hastalık ilerleyici ve kötü prognozludur. Zamanla keratit, stromal melting ve perforasyona kadar giden büyük epitel defektleri oluşur. Kornea ülserasyonu santral veya alt parasantral alanda oval şekildedir.

**7- Ekspoju keratopati:** Her göz kırpmada kapaklarca korneaya yeterli gözyaşı film tabakası dağılımının olmaması nedeniyle olur. Yedinci sinir felci, kapak anomalileri, koma durumları, proptozis, ektropiyon ve skatrizan hastalıklara bağlı olarak oluşur. Klinikte genellikle korneanın alt 1/3'ünü tutan başlangıçta keratopati sonra ülserasyon, melting ve perforasyon görülür. Gözyaşının açıkta kalmaya bağlı buharlaşması ve düzgün dağılamaması hastalığın oluşmasında etkindir. Korneanın alt kısmının tutulumu Bell fenomeni nedeniyle korneanın yukarı dışa bakması nedeniyledir.

**8- İnatçı Epitelyal Defektler (İED):** Yoğun tedavi çabalarına karşın santral veya parasantral alanda kronik, iyileşmeyen epitel defekti ile karakterizedir. Altta yatan çeşitli hastalıklardan en sık karşılaşılanları :

- Herpetik kornea hastalıkları (HSV,HZV)
- Kimyasal yanıklar
- Gecikmiş cerrahi sonrası epitel iyileşmesi
- Tekrarlayıcı kornea erozyonları

- Kuru göz sendromları
- Nöroparalitik keratopatiler
- Prezarvan içeren topikal ilaçlar

Aşırı inflamasyon veya normal iyileşme cevaplarında yetersizlik olunca, epitel hasarları, sonunda steril persistan kornea ülseri gelişir (9). Onun için alttaki nedenin erken tanı ve uygun medikal tedavisi, istenmeyen inflamasyonu baskılamada veya doku iyileşmesini arttırmada, kornea epitel defektleri ve ülserlerinin tedavisinde önemlidir (9-10).

Sıklıkla altta belirgin stromal inflamasyonun olabildiği kabarık, rulo kenarlı epitelin yuvarlak ve oval bir alanı çevrelediği görülür. Defektler genellikle Bell fenomeninin üst korneayı koruması ve temasa en açık bölge olduğu için alt ve alt-nazal bölgeleri tutma eğilimlidir. Sıklıkla; HSV, HZV, keratoplasti veya katarakt ekstraksiyonuna bağlı kornea anestezi veya hipoestezi de eşlik eder. Normal konjonktival floranın bir üyesi olan staphylococcus aureus'un infeksiyon oluşturma riski bu vakalarda fazladır. Keratokonjunktivitis sicca'da da karşılaşıldığından bu yönde de hastanın değerlendirilmesi gerekmektedir.

## **STERİL KORNEA ÜLSERİ VE PERFORASYONDA TEDAVİ**

### **A. MEDİKAL TEDAVİ:**

- Suni gözyaşı
- Lubrikanlar
- Hipertonik Damla ve Pomadlar
- Anti-inflamatuar Ajanlar

Topikal kortikosteroidler

Nonsteroid anti-inflamatuar ajanlar

- Epitelyal Büyüme Faktörleri ve Diğer Büyüme Faktörleri
- Adezyon Molekülleri

Fibronektin

Laminin ve diğer bazal membran komponentleri

- Lipid Sekresyonunu Düzenleyerek Etki Eden Ajanlar-Tetrasiklin
- Terapötik Yumuşak Kontakt Lensler

### **B. CERRAHİ TEDAVİ:**

- Limbal Kök Hücre Transplantasyonu

Limbal otogreft veya allogreft transplantasyon keratoepitelyoplasti

- Konjonktival Kök Hücre Transplantasyonu

Konjonktival otogreft transplantasyon

- Amniyon Örtme

- Keratoplasti

Lameller keratoplasti

Penetran keratoplasti

### **Koruyucu ve Destekleyici Tedaviler**

İlk önce bu hastalıklara neden olan topikal ve sistemik ilaçların değiştirilmesi veya bırakılması gerekir. Özellikle prezervan madde olarak benzalkonyum klorid içeren ilaçların rejenere olan epitel varlığında kullanımı, epitelin ilerleyen kenarında sıkı bağlantıların kaybı, epitel stoplazmik aktivite azlığı ve sonuçta da epitelin soyulmasına neden olur. Topikal anestetik ilaçlar da epiteldeki normal yara iyileşmesi için akut safhada gerekli aktin demetlerini bozarak, epitel migrasyonunu ve bölünmesini bozar. Timolol, levabunolol gibi selektif olmayan beta blokerler; kornea duyarlılığını ve

konjonktival goblet hücre yoğunluğunu azaltarak, asetolazomid, antihistaminikler ve antikolinergikler de; aköz yapımını azaltarak kuru göze neden olurlar.

Teröpatik yumuşak bandaj kontakt lensler, kapakların kırpma hareketi nedeniyle oluşan süpürücü etkisine karşı bazal membrana zayıf yapışmış kornea epitelini korur. Sonuçta lökosit infiltrasyonu azalarak ve bazal membran rejenerasyonu artarak iyileşme olur. Yumuşak kontakt lensler hidrasyonlarını devam ettirmek için gözyaşı filminden su çekerek buharlaşan gözyaşı miktarını artırır ve osmolariteyi azaltır. Bu durum infeksiyon, kornea yüzey düzensizlikleri, ödem ve pannus oluşumuna neden olur.

Kimyasal yanıklarda epitele penetrasyonu azaltmak için bol su veya serum fizyolojik ile pH'ı normale getirinceye kadar yıkamak gerekir. Çünkü temastan hemen sonra özellikle alkali solüsyonlar ön kamaraya hemen ulaşabilirler. Eksternal pH normale getirilmişse 30 dakika ile 3 saat içinde aköz pH normal seviyeye ulaşır.

### **Medikal Tedaviler**

Serum fizyolojiğe ilave edilmiş sellüloz esterleri veya polivinil alkol sunni gözyaşı olarak kullanılır. Kayganlaştırıcı etkisini arttırmak için polimerler de katılmaktadır. Sunni gözyaşları gözyaşındaki eksiği gideremezler. Ancak, kornea hücre dökülmesi ve azalmış osmolariteyi iyileştirirler. Koruyucu madde içeren sunni gözyaşları yara iyileşme sorunu olanlarda kullanılmamalıdır. Daha sürekli etki etmek için 24 saat etkili, alt konjonktivaya yerleştirilen yavaş salımlı preparatlar (Lacrisert) kullanılır (11).

Farmakolojik olarak gözyaşı salınımını uyaran bazı ilaçlarda mevcuttur. Topikal siklosporin A, parasempatometik etkili pilokarpin bilinenler arasındadır. Mukolitik ajan olarak %10'luk asetilsistein topikal hazırlanarak kullanılabilir. Polimorfonükleer (PMNL) hücrelerin membranındaki  $Ca^{++}$  eksikliği hücrelerin degranülasyonunu inhibe

eder. Tetrasiklin ve sitrik asit gibi hücre dışı  $Ca^{++}$  çökelticileri, PMNL'lerce oluşturulan kollejenolizisin inhibisyonunda faydalıdır.

Topikal tretinoin (all-trans retinoik asit) şiddetli çok katlı epitel metaplazisi ve keratinizasyonun olduğu skatrisyel hastalıklarda faydalıdır. Etkisini konjonktiva ve kök hücrelerin fonksiyonu, epitel farklılaşması ve düzgün anatomiyi sağlayarak indirekt yoldan kornea epiteli iyileşmesini arttırarak gösterir (10-11). Fakat genel kullanımlarda elde edilmesi zor bir ilaçtır. Topikal ve derialtı askorbik asitin alkali yanıklar sonrası aköz humor içindeki azalan miktarı tekrar oluşturularak perforasyon ve kornea ülseri insidansında belirgin azalma sağlanır. Yara iyileşmesinde gerekli olan ve plazmaya göre aközde normalden 15-20 kat fazla bulunan askorbik asidin tedavide önemli bir yeri bulunmaktadır.

Klinik ve labaratuvar çalışmalarında büyüme faktörleri, fibronektin ve retinoidlerin epitel migrasyonu, mitoz, adhezyon ve farklılaşmayı etkileyerek kornea epitel iyileşmesini arttırıcı etkisi olduğu gösterilmiştir (12-14). Büyüme faktörleri esas olarak mitojenik ajan olmasına rağmen, hücre-substrat yapışmasını arttırıcı hücre dışı matriks yapılarının üretimini uyararak yara iyileşmesini kolaylaştırır. Plazma ve hücre dışı matriks glikoproteini olarak fibronektin, hücre-substrat yapışması ve migrasyonunda önemli bir aracıdır. Topikal fibronektin göz damlaları HSV keratitisi, katarakt cerrahisi ve trofik keratit gibi persistan epitel defektlere eşlik eden birçok hastalıkta kornea epitel iyileşmesini etkin olarak arttırır (15). Fakat diğer taraftan fibronektin göz damalalarının kuru göz veya kornea alkali yanık sonrası oluşan epitel defektlerinin tedavisinde önemli bir faydası olmadığı da gösterilmiştir (16). Son yıllarda diyabetik hastalarda persistan epitel defekt ve nörotrofik keratopatiye bağlı yara iyileşme sorunlarında etken mekanizma aldoz redüktazı inhibe edecek yaklaşımlar da

denenmektedir.

İnflamatuvar cevabın olduğu durumlarda kortikosteroidler, PMNL fonksiyonlarını inhibe ederek, sonradan bu hücrelerce salınacak enzimlere bağlı oluşacak kornea stromal kollajen ve diğer destek yapılarının kaybolmasını önler. Özellikle kimyasal yanıklarda kollajen yapımının başladığı ilk 2 hafta kullanılması komplikasyonları önleme açısından önemlidir. İmmün sistemin etkili olduğu hastalıklarda siklofosfamid gibi sistemik immün baskılayıcıların da önemli bir yeri vardır.

### **Cerrahi Tedaviler**

Yara iyileşmesini azaltan kapaklar, kirpikler ve punktumlarda hastalık varsa düzeltilmesi gerekmektedir. Göz kapaklarının açık kalması durumunda kalıcı veya geçici tarsorafi, kirpiklerin oküler yüzeyi tahriş etmesi durumunda da elektrolizis veya kriyo uygulamaları yapılır. Gözyaşında ileri azlığın olduğu durumlarda punktumlara kalıcı veya geçici tıkama ile gözyaşı miktarı arttırılmaya çalışılır.

#### **1 - Doku Yapıştırıcıları**

Stromal erimenin erken devresinde doku yapıştırıcılarının uygulanması, sonrasında uygulanacak cerrahi yaklaşımlara ihtiyacı azaltır. Kornea ülserasyonu ve perforasyonunun tedavisinde doku yapıştırıcılarından özellikle butilsiyanoakrilat kullanılmaktadır. Ön kamara derinliği bozulmadan korneadaki yaradan sızdırmanın olduğu vakalarda konvansiyonel yaklaşımdan en az 3 gün fayda görülemediyse doku yapıştırıcıları kullanılır. Kornea perforasyonun 2-3 mm'den fazla olduğu vakalarda tercih edilmemelidir.

Yapıştırıcıların yara alanına inflamatuvar hücreler ve epitelin girişini önleyerek kornea incelmesini azalttıkları düşünülür. Altta oluşan yeni doku ve damarlanma ile

bütünlüğün sağlanması için gerekli antiproteaz ve besin temini sağlanır. Doku yapıştırıcılarının bakteriyostatik etkisinden dolayı infeksiyon varlığında da kullanılabilme avantajı vardır.

## **2 - Konjonktival Transplantasyon**

Tek gözde limbal hücrelerde hasarın olmadığı konjonktival inflamasyon veya skatrizasyona bağlı durumlarda yapılır. Bu girişimin temel amacı limbus yakınına yerleştirilen transdiferansiyon gösteren konjonktiva serbest flebinin skarlaşmış konjonktiva ve limbal epitel ile yer değiştirmesini sağlamaktır. Ancak, kök hücre kaybının fazla olduğu durumlarda konjonktiva epitelinin transdiferansiyon yapmayıp kendi karakterinde davrandığı da bildirilmiştir. Önceleri konjonktiva epitelinin kornea epiteline dönüşümünü savunan teorilere dayanılarak bu cerrahi uygulanmaktaydı. Artık böyle bir dönüşümün olmadığı bilindiğinden dolayı bu teknik terk edilmiştir (3). Operasyonda yüzeysel keratektomiye takiben 360°'e kadar geniş peritomi yapılır ve karşı gözden alınan 4 parça serbest konjonktiva flebi limbus yakınına suture edilir. Yedi ile 10 gün içinde keratektomize kornea serbest konjonktiva flebinden gelen epitelce kaplanır.

## **3 - Tenoplasti**

Özellikle ciddi kimyasal yanıklarda kullanılmıştır. Fornikslerde ilerletilecek yeterince sağlam konjonktiva bulunmadığı zaman tenonun ekvatoryel bölgeden itibaren künt diseksiyon ile ayrılması ve öne çekilerek limbusa ilerletilmesi ile yapılır. Bu şekilde ilerletilen tenon limbusa sıkıca temas edecek şekilde suture edilir. Burada amaç, doku oluşturulduktan sonra oküler yüzeyin birkaç ay sakinleşmesi ve limbusta sağlıklı bir epitel akümüasyonu sağlamaktır. Ancak fornikslerde düzleşme oluşturabilmesi nedeniyle serbest mukoza greftleri ile fornikslerin genişletilmesi gerekebilir.

#### **4 - Keratoepitelyoplasti**

Cerrahi uygulama konjonktival transplantasyona benzer. Temel farklılık keratoepitelyoplastide; allojenik doku olarak kornea epiteli kullanılırken , konjonktiva transplantasyonunda; otolog konjonktiva epiteli kullanılması ve iki gözün de hasarlı olduğu olgularda uygulanmasıdır (5,51). Prensibi, göz bankasındaki donör gözlerden elde edilen kornea-limbal kenar veya periferik korneanın alıcı, çıplak periferik kornea yüzeyine yerleştirilmesinden sonraki 7-10 gün içinde alıcı korneayı kaplamasıdır. Ancak, sık karşılaşılan epitel reddi ve sonrasında alıcı konjonktival epitel ile yer değiştirme ve uygulamada karşılaşılan zorluklar nedeniyle bu teknik tercih edilmemiştir. Buna karşı donörün, subkonjonktival fibrovasküler dokunun limbal kısımdan ilerlemesine mekanik engel oluşturması da avantajıdır.

#### **5 - Konjonktival Flepler**

Görmenin birincil önemde olmadığı yapısal ve inflamatuvar kornea hastalıklarında etkilidir. İnfeksiyon ve perforasyonun varlığında kullanılmamalıdır. Daha çok kronik epitel ve stroma ülserleri ve ağrılı büllöz keratopati gibi durumlarda tercih edilir. Ön kamaranın görülmemesi ve ilaç penetrasyonuna engel oluşturması dezavantajıdır. Cerrahide üst limbus ve forniksdan başlayarak ayrılan konjonktival flep, 360° peritomiye takiben hasta bölgenin büyüklüğüne göre kısmi, iki pediküllü, ilerletici veya tam şekillerde uygulanır. Delinme ve buna bağlı flep gerilmesi en sık karşılaşılan komplikasyondur. Flebin basit olarak alınması altındaki korneada oluşan skarlaşma nedeniyle görmede iyileşme yapmaz. Konjonktival flep uygulaması limbal kök hücrelerine hasar verdiği için, flep alımıyla otolog limbal kök hücre nakli beraber uygulanmalıdır.

## **6 - Limbal Kök Hücre Transplantasyonu**

İlk defa 1989'da Kenyon ve Tseng tarafından şiddetli limbal kök hücre yetmezliğinde kullanılmıştır (17). Limbal kök hücreleri hastalık veya kaza ile hasarlanınca, kornea yüzeyi daha az saydam, düzensiz ve normal korneaya göre erozyon ve vaskülarizasyona daha yatkın konjonktiva epitelini ile kaplanır. Limbal kök hücre kaybı sıklıkla kimyasal yanıklar, uzun süreli kontakt lens kullanımı, çoklu cerrahi operasyonlar, büyük kornea yüzeyi hasarlanmaları, tekrarlayan inflamasyonlar veya konjonktiva altı 5-Fluorourasil injeksiyonu sonucu görülebilir.

Tam limbal kök hücre kaybı tek taraflı olunca diğer gözden otogreft, iki taraflı olunca allogreft limbal epitel nakli yapılır. Limbusun 2 mm gerisinden alınan limbal konjonktiva hasarlı bölgedeki limbusa nakledilir. Keratoplasti gerekli görülürse limbal nakli takiben en erken 1 yıl beklenmelidir. Son zamanlarda araştırması süren kültür limbal epitelin teknik olarak kolaylığına karşın pratikte değeri henüz gösterilememiştir. Epitel iyileşme ve etkinliğini arttırmak için AMT de beraber uygulanabilmektedir.

## **7 - Lameller veya Penetran Keratoplasti**

Tektonik veya tedavi edici amaçlı olarak yama greftlerle lameller tarzında, perforasyon tehdidi veya ilerleyici incelme durumunda da penetran tarzda yapılır. Belirgin inflamasyonun olduğu perforasyon tehdidi durumlarında PK'den önce doku yapıştırıcıları veya lameller keratoplasti denenmelidir. PK ile vizyon sonuçları lameller keratoplastide görülen yüzey arası opasifikasyonlara rastlanmaması nedeniyle daha iyidir. Yara iyileşmesinin yıllar alabileceği bazı inflamatuvar hastalıklarda (kimyasal yanıklar, skatrizan hastalıklar) keratoplasti skarlaşma safhasına kadar ertelenebilir. Beraberinde kapak anomalileri olan hastalıklarda epitelin korunması için PK sonrası yumuşak kontakt lensler takılmalıdır (18). Çoğunda inflamasyon zemini mevcut olduğu

için tek tek sütürasyon tercih edilmelidir.

### ***8-Keratoprotezler***

Ciddi kornea hasarına bağlı, kornea saydamlığının tamamen kaybolması sonucu gelişen görme kaybında, diğer cerrahi tekniklerden de yarar görme şansı olmayan hastalara keratoprotez az da olsa görme sağlayabilecek en son tedavi yöntemidir. Keratoplastiden fayda görmeyen veya fayda sağlanamayacak hastalar ve iki gözü de görmeyen hastalar endikasyonlar arasındadır. Keratoprotez optik silindir ve bunu destekleyip göze tespitini sağlayan bir kafes kısmından oluşmuştur. Ameliyat; kornea geniş olarak penetre edildikten sonra kalan kısmın stroması içine kafes kısmının konulması ve protez üzerinin otolog mukozal doku grefti ile kapatılması ile yapılır. Uzun vadede komplikasyon oranının yüksek olması dezavantajlarından biridir.

### ***9-Amniyon Membran Transplantasyonu***

Memeli embriyonları ekstra-embriyonik dokulardan kaynaklanan içi sıvı dolu bir kesede bulunur. Gününde bir gebelikte anneye ait hücrelerle temas halindeki dış kat veya koryon ve altındaki yoğun kollajenden oluşan mezenşime sıkıca yapışmış ekdoderm kaynaklı, tek katlı silindirik hücrelerin oluşturduğu iç kat veya amniyon membranından(AM) oluşan fetal membranlar vardır (19-20). AM; amniyon sıvısı ile doludur. AM epitel altındaki bazal membrana hücre uzantıları ve hemidesmozomlarla bağlanır. AM epitelinin kaplama, aktif sekresyon ve transport fonksiyonları mevcuttur. AM damarsız stromal içerik, korneadaki gibi tip IV ve V kollajen ve laminin içeren ve sürekli bazal membran ve tek katlı epitelden oluşmuş fetal membranın en iç kısmıdır (21-22). Antianjiyojenik, HLA doku antijeni içermeme, antibakteriyel ve antiadhezivite özelliklerine sahiptir (23). AM, anti-mikrobik özelliğini mikropların membrana yapışmasıyla göstermektedir (24). Amniyon epitel HLA sınıf I ve II antijenleri

içermemesi nedeniyle nakil sonrası immünolojik redde neden olmaz.

### **Amniyon Membranının Özellikleri:**

Amniyon membranı transplantasyonunun avantajları şu şekilde sıralanabilir:

Amniyotik membran, fetal membranların en içte yerleşmiş olanıdır; stromal matriksi avasküler yapıdadır, kalın ve süreklilik gösteren bir bazal membranı vardır (tip 4 ve 5 kollajen ve laminin içerir) ve tek sıralı bir epitele sahiptir (26-28). Bazal membran avaskülerdir ve anti-anjiyojeniktir. Anti-adesiv özellikleri vardır (29-30).

Bol bulunan, elde edilmesi kolay, ucuz ve saklanabilen bir materyaldir (32). Yaşayan doku şeklinde, kurutulmuş, dondurulmuş veya liyofize edilmiş şekilde kullanılabilir. Ancak istenmeyen allogreft rejeksiyonlarla karşılaşmamak için yaşayan doku şeklinde değil, preserve olarak kullanımı tavsiye edilmektedir. Eksi 80 derecede aylarca bozulmadan saklanabilir. Bir plasentadan bir defada 3x3 cm'lik her biri bir kullanımlık 25-30 adet amniyon membran parçası elde edilebildiği düşünüldüğünde oldukça ekonomik olduğu ortaya çıkmaktadır.

Amniyon membranı insan lökosit antijeni (HLA) içermez (33-34), bu nedenle immünolojik reaksiyon oluşturmaz (35). Amniyon membranının antijenitesi çok zayıftır. Çok çeşitli alanlarda kullanılmasına rağmen rejeksiyonu bildirilmemiştir. Akle ve ark.'ları ikisi multiple allojenik cilt grefti ile sensitize olmuş yedi kişide subkutanöz dokuya bir parça amniyon membran implante etmişler ve implantasyonu takip eden farklı zamanlarda implantasyon yapılan alanı tamamen eksize edip histopatolojik olarak incelemişlerdir (32,35). Olguların hiçbirinde akut rejeksiyona ait bulgu veya immünolojik herhangi bir reaksiyon saptanmamıştır. Olgulardan bir ay sonra alınan serum örnekleri in-vitro olarak kültüre edilmiş ve amniyotik hücrelerle tekrar karşılaştırılmış ve yapılan immünohistokimyasal çalışmalarda hiçbir örnekte

immünofloresans saptanmamıştır. Trelford ve ark.'larının çalışmaları da bu sonuçlarla uyumludur (32-37). Çalışma sonuçlarında amniyotik membran transplantasyonlarında hücrel ve humoral immün reaksiyon gelişmediğini bildirmişlerdir.

Amniyotik membranın bakteriyel çoğalmayı inhibe edici etkisi olduğu ve enfekte yaralarda iyileşmeyi hızlandırdığı gösterilmiş ve bu amaçla pek çok cerrahi alanda geniş uygulama alanı bulmuştur.

Amniyotik sıvının antibakteriyel özelliği iyi dokümente edilmiş ve pekçok potansiyel antibakteriyel faktörün varlığı gösterilmiştir (35-36). Galask ve Synder amniyon sıvısında bol miktarda lizozim, transferrin, 7S immünoglobulin,  $\beta$ 1c ve  $\beta$ 1a globulin gibi antimikrobiyal maddelerin var olduğunu göstermişlerdir (32). Amniyotik membranda ise henüz bu maddelerin varlığı gösterilememiştir. Amniyotik membranın antibakteriyel etki mekanizmasının açıklanabilmesi için çok çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Talmi ve ark.'ları bu amaçla amniyotik membran, kordondan ayrılmamış amniyotik membran ve omiderm (sentetik, inert, ince, saydam, poliüretan bazal membran) kullanılarak disk difüzyon tekniği ile kültürler hazırlanmış ve membranların beş bakteri türünün (koagulaz + stafilokok, E. Coli, Klebsiella Pnömonia, P. Aeroginoza ve Proteus Mirabilis) çoğalması üzerindeki etkileri incelemişler (32). Sonuçta, bakteriyel çoğalma inhibisyonunun sadece membranların altındaki alanda sınırlı kaldığını ve disk dışındaki alanlarda inhibisyon olmadığını saptamışlardır. Omiderm diskleri altında da bakteriyel çoğalma inhibisyonunun saptanması, membranlarının yara yerine yapışarak bir bariyer gibi antibakteriyel etki göstermiş olabileceği şeklinde açıklanmıştır. Burleson ve Eisman yara yerine yapışmayan cilt greftlerinde antibakteriyel etkinin olmadığını bildirmişlerdir (32). Robson, Samburg ve Krizek yaptıkları bir karşılaştırmalı çalışmada ratlarda tam kat yanıklı alanlarda bakteri

seviyesinin azaltılmasında amniyotik membranın allogreft ve xenogreftten üstün, izogreft ile eşdeğer olduğunu bildirmişlerdir (32). Rao ve Chandrasekman tavşanlarda anestezi altında derin yarıklar oluşturmuşlar, 5 gün sonra skar dokusunu uzaklaştırıp yaranın yarısını amniyotik membran ile örtmüş, diğer yarısını kontrol amacıyla açık bırakmışlardır (32). Amniyotik membranla kaplı yarıdan yapılan kültürlerde üreme olmamış, kontrol olarak açık bırakılan yarıdan yapılan kültürlerde ise koagulaz + stafilokoklar ve pseudomonas pyocyanea üretilmiştir. Sonuç olarak, amniyotik membranın bakteriyel çoğalmayı inhibe edici etkisi olduğu ancak bunu yara yerine yapışarak bir bariyer gibi rol oynayarak yaptığı görüşü kabul görmektedir. Amniyon membranı kalın bir bazal membran ve avasküler stromal matriksten oluşur. Bunlar başarılı bir transplantasyon için ideal özelliklerdir. Bazal membran epitel hücrelerinin migrasyonunu kolaylaştırır, bazal epitel hücrelerin adezyonu ve epitel differansasyonunu artırır (36,37,40-63). Kim ve Tseng'in limbal ve kornea hasarı oluşturdukları tavşan deneyinde, amniyon membranı örtmesi ile %40 başarılı sonuç aldıklarını bildirmeleri ile başlayan ve ardından Lee ve Tseng'in ülserasyonlu dirençli epitel defektlerinin tedavisinde ve Tseng ve Prabhasawat'ın limbal kök hücre yetmezliği olan hastalarda limbal allogreft transplantasyonla birlikte veya tek başına amniyotik membran örtmesinin başarılı olduğunu bildirmeleriyle, trofik kornea ülserleri ve limbal kök hücre hastalarında amniyon membranı örtmesi uygulaması diğer tedavi yöntemlerine alternatif, yeni ve umut verici bir tedavi yöntemi olarak uygulanmaya başlanmıştır (40,41,45).

İnsan amniyotik membranı (AM); fetal membranların en içte olanı olup üç tabakadan oluşmaktadır. Tek sıralı epitel tabakası, kalın ve süreklilik gösteren bazal membranı ve avasküler bir stromal matriksi vardır. Amniyotik membran, kornea ve

konjonktiva bazal membranlarının hepsi fibronektin ve laminin yanında tip IV, V ve VII kollajen içerirler. Amniyon membranında bulunan tip IV kollajen ve laminin üzerinde yapılan çalışmalar, kornea bazal membranından daha çok konjonktiva bazal membranında bulunan zincir yapılarına benzer yapılar içerdiğini göstermiştir.

Oküler yüzeydeki ciddi hastalıkların tedavisi, oftalmologlar için her zaman sorunlu olmuştur. Son yıllarda yalnızca sklera üzerinde gerçekleştirilen tekniklerin kullanımı azalmış ve serbest konjonktival otogreft, oral ve nazal mukoza grefti gibi tekniklere doğru kayma gerçekleşmiştir. Ancak bu tekniklerin de yetersiz kaldığı vakalar vardır ve amniyon membran transplantasyonunun (AMT) yararlı olabildiği hastalar, bu hastalardır. Oftalmolojide rapor edilmiş ilk AMT; 1940 yılında Rotth ve ark. tarafından konjonktiva defektlerinin kapatılmasında kullanılmıştır. Sorsby ve Symons tarafından 1946'da kimyasal yanıklarda AMT kullanımı tanımlanmıştır. Batile ve Paderno; 1993'de oküler hastalıklarda AMT'nu tekrar gündeme getirmişlerdir. Daha sonra Kim ve Tseng 1995'de tavşanlarda epiteli tamamen kaldırdıktan ve limbal lameller keratektomi yaptıktan sonra AMT yapmışlardır. Amniyon membranı bugün için oftalmolojide giderek artan bir kullanım alanı bulmaktadır. Persistan kornea epitel defektlerinde, filtrasyon bleblerindeki sızmalarda, pterjium cerrahisinde, sembleferon onarımında, geniş bulbar konjonktiva rezeksiyonunda, konjonktival flep olarak ve oküler yüzeylerdeki büyük hasarlarda, büllöz keratopatide, limbal yetmezlikte, steril kornea ülserlerinde, kimyasal veya termal yanıklarda kullanımı AM'nin oftalmolojideki başlıca kullanım alanlarıdır.

Rotth'un çalışmalarında hem amniyon hem de koriyon beraberce kullanılırken, Kim ve Tseng sadece amniyonu kullanmışlardır. Amniyon membranının hazırlanması Lee ve Tseng tarafından tanımlanmıştır. Plasentalar elektif sezeryan geçiren

hastalardan, en geç bir hafta önce bakılan hepatit B, hepatit C, sifiliz ve HIV testlerinde seronegatif sonuç alınması kaydıyla alınır. Normal vajinal doğumlardan elde edilebilecek olan plasentaların çok daha patojenik organizmalar tarafından enfekte olma olasılığı bulunduğu gösterilmiştir.

Saklanmış (preserve) AM hazırlanmasındaki; maliyet, teknik donanım gibi bazı sorunlar, saklanmamış (non-preserve) AM kullanımını gündeme getirmiştir. Ancak saklanmamış AM kullanımı kan yoluyla bulaşan hastalıklar açısından risk teşkil etmektedir. Saklanmış AM'da epitel kaybolmaktadır ve ilginç bir şekilde epiteli olmayan AM'nin kornea epiteli hücreleri için daha iyi bir kültür ortamı oluşturduğu gösterilmiştir. Kruse ve ark.'ları kryopresevasyondan sonra AM hücrelerinin öldüğünü, vital boyalarla ve hücre kültürlerinde üreyememeleri ile göstermişlerdir. Amniyon membranının dispase enzimi ile yıkanması, epiteli tamamen yok etmektedir.

Birçok çalışma AM'nin HLA antijenleri içermediğini ve bu nedenle immune reaksiyon oluşturmayacağını belirtmektedir. Ancak Gabler ve Lohman AMT yapılan bir olguda, immünolojik sensitizasyondan kaynaklandığını düşündükleri, hipopyon ve inflamasyon geliştiğini yayınlamışlardır. Ancak yapılan son çalışmalar; AM epitelinin HLA tip I molekülü içerdiğini göstermektedir. Sonuç olarak AM'na karşı immünizasyon gelişmemesi, AM'nin HLA içermemesinden değil, AM'nin inflamasyonu baskılayıcı etkisinden kaynaklanmaktadır.

Bazal membran; normal kornea epitel migrasyonu, adhezyonu, differansiyasyonu sağlamak ve apoptozisi önlemek için gereklidir. Amniyon membranı korneada transplante edilmiş bir bazal membran gibi davranarak epitelizasyonun gerçekleşmesini sağlamaktadır. Bunun yanında AM'nin içerdiği FGF (fibroblast growth factor), HGF (hepotocyte growth factor), TGF (transforming growth factor) gibi

büyüme faktörleri epitelizasyonu uyarmaktadır. Ancak kryopreservasyon büyüme faktörlerini azaltmaktadır. Bazı durumlarda ise AM bir bazal membran gibi değil, bir teropatik kontakt lens gibi davranmakta ve epitelizasyon AM'in altında gerçekleşmektedir.

### **AMNİYON MEMBRANININ HAZIRLANMASI**

Plasenta öncelikle; 50 µg/ml penisilin, 50 µg/ml streptomisin, 100 µg/ml neomisin ve 2.5 ug/ml amfoterisin B içeren steril salin solüsyon ile yıkanarak kan pıhtılarından arındırılır. Ardından içteki amniyon membranı künt diseksiyon ile koryondan ayrılır. Diseksiyon tamamlandıktan sonra AM, nitro-sellüloz kağıt üzerine, epitel-bazal membran üste gelecek şekilde yatırılır ve 4x4 cm'lik parçalar halinde kesilerek 1/1 oranında steril Dubocco'nun modifiye Eagle's solüsyonu ve gliserol içeren şişelere konarak -80° 'de saklanır (82-87).

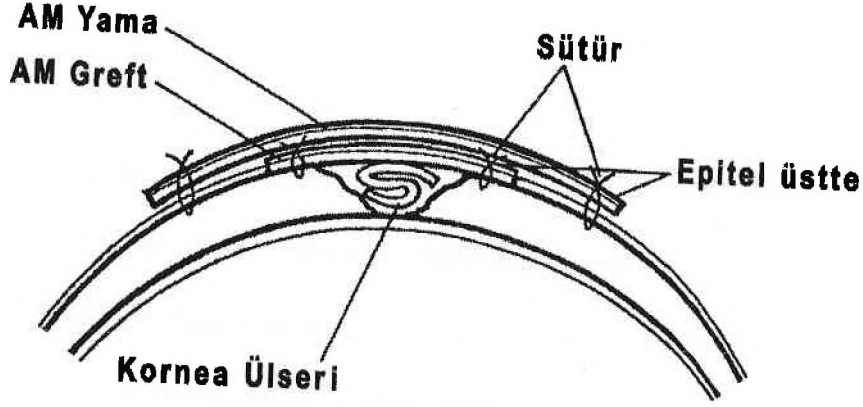
### **CERRAHİ TEKNİK**

#### **1-Greft (inlay) tekniği**

Amniyon membranı; greft (inlay) tekniği, yama (patch) tekniği veya doldurma (filling) yöntemleri ile oküler cerrahide kullanılabilir. Greft tekniğinde; AM defekttten biraz daha büyük olacak şekilde kesilir ve epitel-bazal membran yüzü yukarıya gelecek şekilde suture edilir. Bu teknikte AM, bir bazal membran gibi fonksiyon görür ve üzerinde kornea epitelizasyonunun gerçekleşmesi beklenir. Amniyon membranının bazal membran yüzünün üste gelmesi çok önemlidir. Amniyon membranı hazırlanırken nitro-selüloz kağıda epitel üstte kalacak şekilde konduğu için AM alıcı yatağa yerleştirilirken nitro-selüloz kağıttan dikkatlice alınarak yerleştirilebilir ancak AM çok ince bir zar olduğu için bazen nitro-selüloz kağıttan alımından sonra dönebilir ve epiteli ayırt etmek güçleşir (82-87). Bu durumda ayırımı sağlamak için

sellüloz sponge ile AM'nin her iki tarafına nazıkçe dokundurulur. Epitel-bazal membran kısmının stromadan çok daha az yapışkan olduğu görülecektir. Bir diğer ayırım yöntemi ise Dua ve Azura tarafından tanımlanan düz kunt uçlu forseps kullanımındır. Burada ise stromal yüzden tutulduğunda vitreusa benzer iplikçiklerin oluştuğunun gösterilmesidir. Epitel-bazal membran yüzünde böyle bir çekinti olmayacaktır.

Amniyon mebranını korneaya suture ederken 10-0 nylon suture kullanılır. Bu noktada dikkat edilmesi gereken nokta; AM yüzeye tam olarak düzgün bir şekilde yerleştirilmeli ve altına sıvı veya kan girmesi engellenmelidir. Persistan epitel defektlerde, steril kornea ülserlerinde ve büllöz keratopatilerde AMT öncesi gevşek olan epitel tabaka sağlam epitel dokusuna ulaşınca kadar debride edilmelidir. Kruse ve ark.'ları; ileride suturelerin çıkarımı sırasında AM'nin kalkmasına neden olabileceği için düğümlerin cerrahi sırasında gömülmemesi gerektiğini belirtmişlerdir.

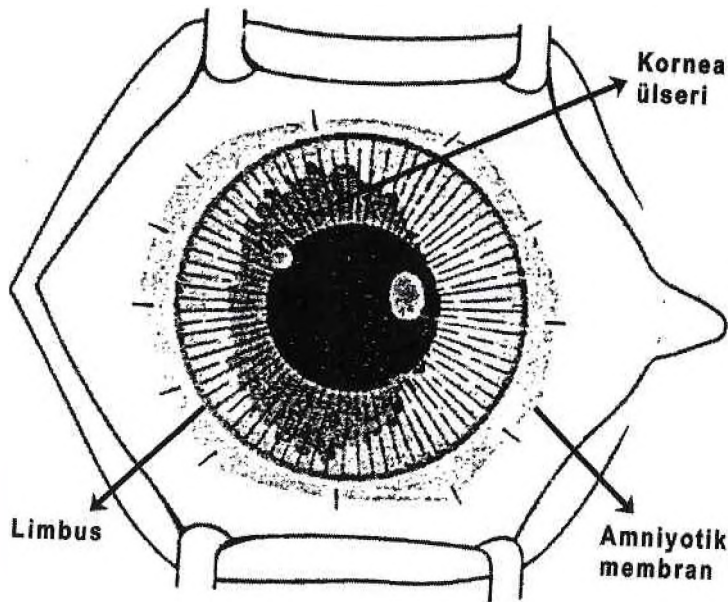


### 2-Yama (patch. overlav) tekniği

Bu teknikte ise tüm kornea, limbus ve perilimbal alan AM ile kaplanır. Burada AM greft tekniğinden farklı olarak bir bazal membran gibi değil, biyolojik bir kontakt lens gibi hareket etmektedir. Bir diğer önemli fark ise bu teknikte epitel-bazal membran yüzün hangi tarafa geleceği çok önemli olmamakla beraber genellikle greft tekniğinin tam tersi olacak şekilde korneaya bakmasıdır. Amniyon membranı 8-0 veya 9-0 vikril

sütür ile tek tek sütüre edilmektedir (81,82-87).

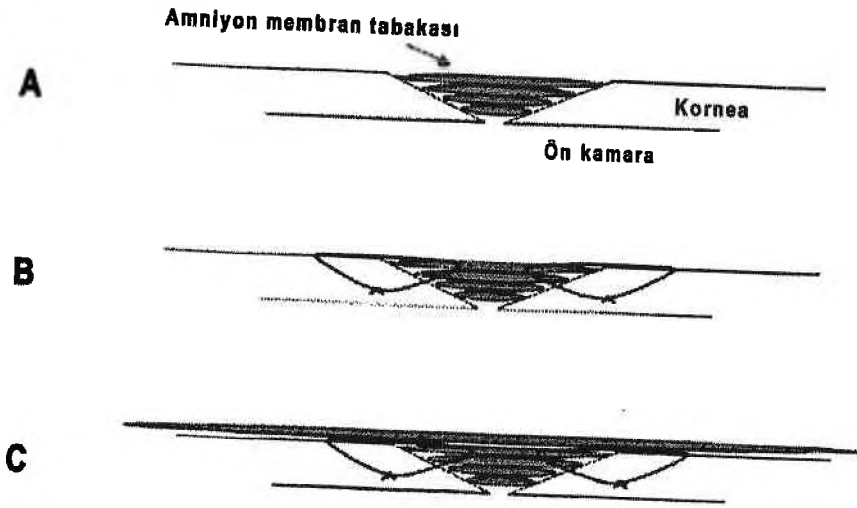
Gerekli görüldüğü takdirde bu iki teknik birleştirilerek de yapılabilir. Öncelikle AM korneaya greft tekniği ile sütüre edilir ve ikinci bir tabaka olarak da yama tekniği ile daha geniş bir AM sütüre edilerek bu iki tabaka arasında epitelizasyon oluşması beklenir. Ancak yama tekniğinde geniş olarak konjonktivaya sütüre edilen AM'i çok kısa bir süre içerisinde kapak hareketlerinden veya hafif bir ovuşturma ile bile sıyrılabilmekte ve cerrahinin tekrarını gerektirmektedir. Biz kliniğimizde bu tekniği uygularken öncelikli olarak perilimbal 360° peritonu yapıp ardından 4 kadrandan yaklaşık 3mm konjonktivaya kesi yapıp AM'i episkleraya sütüre ettikten sonra kesi yaptığımız 4 kadranı 6-0 vikril sütür ile kapatarak, AM'in kenarlarının açıkta kalmasını engelleyerek sıyrılmasını önliyoruz. Eğer AMT'ü limbal transplantasyon ile kombine edilecek ise; greft tekniği kullanılan olgularda AM'nin üzerine, yama tekniği kullanılan olgularda ise membranın altına transplatasyonu kombine edilir.



### 3-Doldurma (filling) tekniği

Derin stromal ülserasyonlarda ise, ülser kavitesini doldurmak için birkaç kat AM kullanılabilir. Ülser kavitesi içerisindeki AM'ların oryantasyonu önemli değildir, ancak

en yüzeysel olan son tabakada, aynı greft tekniğindeki gibi, üzerinde epitelizasyon gerçekleşebilmesi için epitel-bazal membran yüzü yukarı gelecek şekilde olmalıdır. Sadece en üst tabaka suture edilmelidir. Manada ve ark.'ları ülser kavitesini doldurmak için AM'i küçük parçalara keserek koyulabileceğini göstermişlerdir (83-84).



### POSTOPERATİF BAKIM

Geniş çaplı hidrofilik bir teropatik kontakt lens kullanımı; suture bağlı irritasyonu azaltacak ve kapak hareketlerinden kaynaklanabilecek AM sıyrılma riskini azaltacaktır. Ancak yama tekniğinde konjonktiva altına suturelerin ve AM kenarlarının konulması operasyon sonrası kontakt lens kullanım ihtiyacını da ortadan kaldıracaktır. Epitelizasyon tamamlanıncaya ve inflamasyon baskılanıncaya kadar topikal antibiyotik ve steroidli damla kullanılmalıdır. Amniyon membranına karşı ciddi bir immün reaksiyon gelişmediği için sistemik bir immünosüpresyona ihtiyaç duyulmamaktadır. Yama tekniği kullanılan olgularda AM haftalar ve hatta aylar içerisinde çözülerek kaybolurken, greft tekniğinde; AM üzerinde epitelizasyon gerçekleştiği için çok daha uzun süre çözülmeden kalacaktır (82,83,87).

### **Persitan epitel defektlerde ve steril kornea ülserlerinde AMT**

Nörotrofik keratitlerde, keratokonjonktivitis sikkada, Stevens-Johnson sendromu ve oküler skatrisyel pemfigoid gibi kronik inflamatuvar hastalıklarda, parsiyel veya total limbal kök hücre yetmezliklerinde persistan epitel defekti olabilmektedir. Persistan epitel defektlerin tedavisi oldukça zor olmakla beraber, kronik inflamasyona, neovaskülarizasyona, skar oluşumuna, ülserasyona hatta oküler yüzeyin eriyerek perforasyonuna neden olabilmektedir.

Persistan epitel defektlerin primer tedavisinde, toksik ilaçların kesimi, lubrikasyon, puntum oklüzyonu, bandaj kontakt lens kullanımı ve tarsorafi gibi konservatif tedavi yaklaşımlarına cevap vermeyen olgularda AMT iyi bir cerrahi alternatif oluşturmaktadır.

### **Desmatosel ve kornea perforasyonlarında AMT**

Desmatoselde veya kornea perforasyonlarında tektonik olarak AMT kullanımı konusunda yapılan çalışma sonuçları henüz net bir sonuç vermekten uzaktır. Hanada ve ark'ları, 4 kornea perforasyonlu ve 5 desmoteselli toplam 9 olguda çok katlı AMT yapmışlar (greft ve yama tekniğini kombine uygulayarak) 22-64 haftalık takiplerinde 6 olguda düzelme sağlanırken, limbal kök hücre yetmezliği ve otoümmün hastalığı olan diğer 3 olguda başarı sağlayamamışlardır (40,41). Azuara-Blanco ve ark.ları ise perfore korneada yama tekniğini kullanmışlar ancak hiçbir olguda başarı elde edememişlerdir (43).

Su ve Lin ise 1.7 mm kornea perforasyonu olan bir olguda bazal membran yukarı gelecek şekilde AM'ini ön kamaraya itmiş ve üzerine siyanoakrilat koymuşlar (84). Amniyon membranı bir yandan aközün kaçışını engellerken bir yandan da siyanoakrilat için kuru bir ortam hazırlamaktadır. Hastanın takibinde 3. haftada

yapıştırıcı çıkmış ve perforasyonun kapandığı izlenmiştir. Ancak bu yöntemin eğer AM enfekte ise endoftalmi için çok büyük bir risk oluşturacağını unutmamak gerekir. Yeni bir yöntem olarak Duchesne ve ark'ları kornea perforasyonlu 3 olguda; FDA onaylı fibrin yapıştırıcıyı uyguladıktan sonra üzerine greft tekniği ile AMT'u yapmışlardır. Sekiz haftalık dönem içerisinde AM'in eridiğini ve geride perforasyon sahasında inflamasyon olmadığını ve skar dokusu izlendiğini bildirmişlerdir (53-54).

#### **Sklera perforasyonunda AMT'u**

Hanada ve ark.'ları; birincisi mitomisinli pterjium eksizyonu sonrası diğeri ise yabancı cisime ikincil gelişen sklera mikroperforasyonlarında AMT uygulamışlardır. Mitomisinli filtrasyon cerrahisi yapılmış Marfan sendromlu bir olguda operasyon sonrası dönemde gelişen sklera perforasyonunda, kadavradan alınmış dondurulmuş skleral doku ve AMT kombine olarak uygulanmıştır.

#### **Limbal transplantasyonda AMT'nun yeri**

Limbal hücre yetmezliği sonucu gelişen oküler yüzey hastalıkları; oküler rahatsızlığa ve görmede düşmeye neden olur. Bu vakalarda yapılan rutin keratoplasti ise alıcı dokunun epitelizasyonu gerçekleştirememesi nedeniyle başarısızlıkla sonuçlanmaktadır. Epitel instabilitesi, persistan epitel defekt ve ardından gelişen vaskülarizasyon rejeksiyon ile sonlanabilmektedir. Limbal epitel hücre transplantasyonunda cerrahi tekniklerin gelişmesi hem primer oküler yüzeyi korumada hem de keratoplasti sonrası izlemde başarıların artmasını sağlamıştır. Limbal transplantasyon yapılarak rekonstrükte edilen oküler yüzey (eğer keratoplasti planlanıyorsa) artık greft korneayı koruyabilecek özellikte olacaktır.

Parsiyel limbal yetmezlik gelişmiş olgularda sadece AMT'nun yapılmasının oküler yüzey bütünlüğünün sağlanmasında daha etkili olduğu gösterilmiştir. Ancak;

total limbal kök hücre yetmezliği gelişen olgularda AMT'nun tek başına yapılması yeterli olmamaktadır. Bu durumda limbal kök hücre transplantasyonunun yapılması gerekmektedir. Limbal veya keratolimbal transplantasyonunun tekniği, endikasyonları ve başarısı birçok çalışmada ayrıntılı olarak tanımlanmıştır. Limbal kök hücre transplatasyonunda oküler inflamasyonun sürekliliği, transplante edilmiş kök hücrelerin canlılığını sürdürebilmesi üzerine olumsuz etkide bulunmaktadır. Amniyon membranının inflamasyonu baskılayıcı ve apoptozisi önleyici etkileri yanında kök hücrelerinin AM'da çoğaltılabilmesi ve ardından kombine olarak kök hücreleri ile beraber AMT'nun yapılması operasyonun başarısını arttırmaktadır.

#### **Kimyasal ve termal yanıklarda AMT'nun yeri**

Kimyasal ve termal yanıkların kronik fazında, limbal transplantasyon ile beraber veya yalnız olarak AMT yapılmaktadır. Yanıkların akut döneminde AMT'nun epitelizasyonu sağlayıp, inflamasyonu baskılayıp baskılamayacağını araştırmak için yapılan bir çalışmada Meller ve ark.'ları kimyasal yanığı olan 13 gözde ilk iki hafta içerisinde AMT yapmışlar; kornea ve konjonktival yüzey bütünlüğünün sağlandığını, inflamasyonun baskılandığını ve semblefaron oluşmadığını belirtmişlerdir. Ancak limbal kök hücre yetmezliği gelişen olgularda limbal transplantasyonun da yapılması gerektiğini belirtmişlerdir (44).

#### **Konjonktival defektlerde AMT'nun yeri**

Konjonktival lezyonların rezeksiyonundan sonra AMT'u; konjonktival, oral veya nazal mukoza otogreftlerine alternatif olarak kullanılabilir. Ancak AM'i haftalar içerisinde absorbe olacağı için çevresinde normal konjonktiva dokusu olmadığı takdirde epitelizasyonu gerçekleştiremeyeceği için kalıcı bir çözüm oluşturamayacaktır. Glokom cerrahisi gerektirebilecek olgularda özellikle konjonktiva otogreftinden kaçınmak

gerekmektedir. Bu durumda AMT'nun yapılması, bulber konjonktivanın korunması açısından son derece önemlidir.

Konjonktival intraepitelyal neoplazilerin ve tümörlerin eksizyonundan sonra oluşan defektlerde, skar ve semblefaron bulunan olgularda AMT'u uygulanmaktadır. Budenz ve ark.'ları yaptıkları çalışmada; sızdıran bleplerde AMT'nun efektif bir cerrahi yaklaşım olmadığını bildirmişlerdir (57).

### **Pterjium cerrahisinde AMT'nun yeri**

Prabhasawat ve ark.'ları özellikle çift başlı veya rekürren olgularda ve ileride fibrasyon cerrahisi gerektirebilecek olgularda amniyon membran greftinin konjonktival örtmeye daha iyi bir alternatif olduğunu savunmaktadır (59). Bu çalışmada primer pterjium olgularında amniyon membranı grefti rekürrens oranı %10.9 ve nüks pterjium olgularında ise %25 ile 37.5 arasında bulunmuştur. Konjonktivanın özellikle pterjiuma komşu limbus konjonktivasının çıkarımı da oldukça önemlidir. Daha geniş bir alanın amniyon membranı ile örtülmesi geride kalan normal limbal epitel diferansiyasyonunu sağlamakta ve bu da fibrovasküler dokunun ilerlemesini engelleyebilmektedir. Ma DH ve Tsai'nin 80 pterjium olgusu üzerinde yaptıkları karşılaştırmalı çalışmada mitomicin C kullanılan olgularda rekürrens daha düşük olduğunu fakat bu olgulardan birinde skleral iskemiye rastladıklarını belirtmişlerdir (74). Amniyon örtme ile konjonktival transplantasyon arasında rekürrens açısından bir farka rastlanmamıştır. Topikal mitomicin C kullanılan olgularda rekürrens oranı çok daha düşük bulunmasına rağmen yapılan karşılaştırmalı çalışmalarda; skleral ülserasyon, katarakt oluşumu glokom gibi görmeyi tehdit eden ciddi komplikasyonların varlığı mitomicin C'nin kullanımını kısıtlamaktadır. Ti SE ve ark.'ları primer ve rekürren olgularda yaptıkları çalışmalarda MMC'li AMT ile ilgili anlamlı bir sonuca ulaşamamışlar ve bunu da farklı cerrahi

teknikler kullanmalarına ve öğrenme dönemine bağlamışlardır (77). Starc S ve ark.ları ise konjonktival transplante edilen rekürren olgularda %31 gibi yüksek bir nükse rastlamışlar ve bunu farklı cerrahların operasyonu yapmalarına bağlamışlar. 18 olgunun 8'inde yetersiz greft ölçümü kullanılmış olması da bunun bir sonucu olmaktadır (78). Konjonktival otogreft ve amniyon membran grefti uygulanan olgularda rekürrens açısından primer kapama tekniği ile anlamlı bir fark bulunmasına rağmen bu cerrahilerin yapılabilmesi için cerrahi tecrübeye ihtiyaç duyulmaktadır. Limbusu da içeren konjonktival greftler, limbal kök hücrelerini de içerdiklerinden limbal bariyeri restore etmekte ve rekürrens oranını ve başlangıcını geciktirmektedir.

#### **Büllöz Keratopatide AMT'nun yeri**

Göz içi cerrahiye ikincil veya endotelyal distrofiye ikincil olan büllöz keratopatiler bugün için göz hekimlerinin tedavisinde en çok zorlandıkları kornea hastalıklarının başında gelmektedir. Bu olgularda görsel rehabilitasyonun sağlanabilmesi için penetran keratoplastinin yapılması gerekse de; maliyetinin yüksek olması, donör korneanın bulunabilmesindeki yetersizlikler ve bu cerrahinin yeterince yaygın olarak yapılamamasından dolayı halen istenilen düzeyde hasta rehabilitasyonu yapılamamaktadır. Büllöz keratopatili hastalar görmedeki düşmenin yanında; özellikle ağrı, fotofobi ve epifora gibi sürekli olarak semptomatik rahatsızlıklardan dolayı göz hekimlerine sıkça başvurumaktadırlar. Tseng ve ark.larının büllöz keratopatili 50 hastanın 50 gözünde yaptıkları amniyon membran transplantasyonu sonuçlarına göre, ortalama 33 haftalık takipte 43 hastada (%90) ağrının tamamen düzeldiği gözlenmiştir. 5 hastada tekrar operasyon gerekmiştir ve bu olguların 4'üne amniyon membran transplantasyonu, bir olguya da konjonktival örtme uygulanmıştır (80).

### **Excimer lazer cerrahisinde AMT'nun yeri**

Refraktif bozuklukların düzeltilmesi için fotorefraktif keratektomi ve yüzeysel kornea opasifikasyonları veya düzensizlikler için de fototerapötik keratektomi kullanılmaktadır. Ancak post-operatif kornea transparansının kaybolması (haze) oldukça önemli problem teşkil etmektedir. Tavşanlar üzerinde yapılan deneylerde; AMT'nun lazer ablasyondan sonra oluşan stomal inflamatuvar hücre varlığını ve haze oluşumunu azalttığını göstermiştir (78,92). Bugün için lazer ablasyonu yapılan olgularda AMT endikasyonu koymak için bu konuda yapılacak geniş serilere ihtiyaç duyulmaktadır.

### **Glokom cerrahisinde AMT'nun yeri**

Glokom cerrahisinde post-operatif dönemde konjonktiva ve sklera arasında yapışma olup filtrasyon cerrahisinin başarısını engelleyebilecek olgularda mitomisin C kullanımı yanında Fujishima ve ark'ları skleral flebin altına AM koyarak, membranın anti-adesif özelliğinden yararlanmayı düşünmüşlerdir (62). Bu çalışmada 13 hastanın 14 gözüne yaptıkları operasyonlarda 2 yıllık takiplerde başarılı sonuçlar bildirmişlerdir.

Budenz ve ark'ları yaptıkları çalışmada; sızdıran bleplerde AMT'nun efektif bir cerrahi yaklaşım olmadığını bildirmişlerdir (57).

## GEREÇ VE YÖNTEM

Kliniğimizde amniyotik membran örtmesi uygulamaları, ilk olarak 1998 Ocak ayında amniyonun yaşayan doku şeklinde elde edilerek, trofik kornea ülserli olgularda kullanılması ile başladı. Ocak 1998 - Temmuz 1998 tarihleri arasında yapılan amniyotik membran örtmesi uygulamalarının başarılı olması ile tedavi protokolü belirlendi ve Temmuz 1998'den itibaren saklanmış insan amniyon membranı kullanılmaya başlandı.

Şubat 2002 - Mayıs 2004 tarihleri arasında S.B Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Göz Kliniği Kornea bölümüne refere edilmiş, travmatik olmayan kornea hastalıklarına bağlı perforasyonu olan ve donör bulunamadığı için, PKP yapılamayıp, amniyon membran transplantasyonu yapılmış olan 28 hastanın 28 gözü çalışma kapsamına alındı. Hastaların 18 'i ( %64,3 ) erkek, 10 'u ( %35,7 ) kadın ve yaş ortalaması  $40,5 \pm 2,5$  (min: 8 ay – max: 80 yaş ) idi.

Hastaların ilk muayenelerinde ayrıntılı hikaye alındıktan sonra biyomikroskopik olarak kapak ve kirpikler, konjonktiva, kornea ve ön kamara incelendi. Kapaklarda entropion veya ektropion, kirpiklerde trikiasis veya distikiasis gibi oküler yüzeyde bozukluğa neden olabilecek durumlar araştırıldı. Konjonktivada hiperemi, inflamasyon, ülserasyon, skatrizasyon, semblefaron ve kuruma gibi patolojiler araştırıldı. Korneada limbusda Vogt palisatları, limbal hiperemi, yüzey epitelinde defekt, stromada vaskülarizasyon, inflamasyon, incelme, ülserasyon, perforasyon ve kornea duyu varlığına bakıldı. Ön kamara derinlik, hücre varlığı, hipopiyon, hemoraji yönünden incelendi.

Hepatit B, hepatit C, sifiliz, HIV yönünden seronegatif gebelerden sezaryan sırasında plasenta steril şartlarda alındı ve 50 mg / ml penisilin, 50 mg / ml streptomisin, 100 mg / ml tobramisin ve 2,5 mg / ml amphoterisin B içeren 500 cc steril

serum fizyolojik ile yıkanarak kan pıhtılarından temizlenerek koryondan ayrıldı. Hazırlanan amniyon membranı, steril sellüloz asetat kağıtlara epitel yüzü yukarı gelecek şekilde gergin olarak yapıştırıldı. Kağıtlar 3×3 cm boyutlarında kesildi ve 1 / 1 oranında Dulbecco modifiye Eagle solüsyonu ve gliserol içeren şişelere yerleştirilerek kullanılıncaya kadar – 80 derecede muhafaza edildi. Kullanımdan önce amniyonlar oda ısısında bekletilerek yavaş yavaş erimesi sağlandı.

Bir hastaya genel anestezi, diğer hastalara ameliyathane şartlarında % 2 'lik lidokain ile peribulber ve retrobulber anestezi yapıldı. Göz ve çevresinde gerekli sterilizasyon işlemlerini takiben ülser tabanı ve gevşek epitel sünger sponge ile temizlendi. Konjonktiva ve tenon 360 derece peritomi ile diseke edildi. Ülserlerin boyutu ve lokalizasyonu dikkate alınmaksızın tüm olgularda amniyon membranı epitel yüzü yukarı gelecek ve tüm korneayı kaplayacak şekilde yama ( patch, overlay ) tekniği ile iki kat uygulandı (82). Limbusun 2-3 mm gerisinden episkleraya kırışıklık ve katlantı yapmayacak gerginlikte, 9.0 veya 10.0 vikril sütün ile tek tek sütüre edildi. Disseke edilen konjonktiva amniyonun kenarlarını örtecek şekilde limbusa yaklaştırıldı ve bir veya iki tek sütünle fikse edildi. Hastalara, postoperatif topikal olarak % 1 'lik prednisolon asetat ( 4×1 ), % 0,3 'lük ofloxasin (4×1 ) ve prezervan içermeyen suni gözyaşı ( 4×1 ) başlandı.

Takipler 1. gün, 1. hafta, 1. ay, 3.ay, 6. ay ve yıllık olarak yapıldı. Kontrol muayenelerinde; Snellen eşeli ile görme keskinliği, kornea epitelinin durumu, opasifikasyon, damarlanma, kornea kalınlığı, amniyon membranının durumu, enfeksiyon varlığı, inflamasyon, epitelizasyonun süreci, amniyotik memrandaki erime aşamaları, semptomların nüks edip etmediği incelendi. Olgular en kısa 3 ay, en uzun 18 ay ortalama (10,5 ay) takip edildi.

## **BULGULAR**

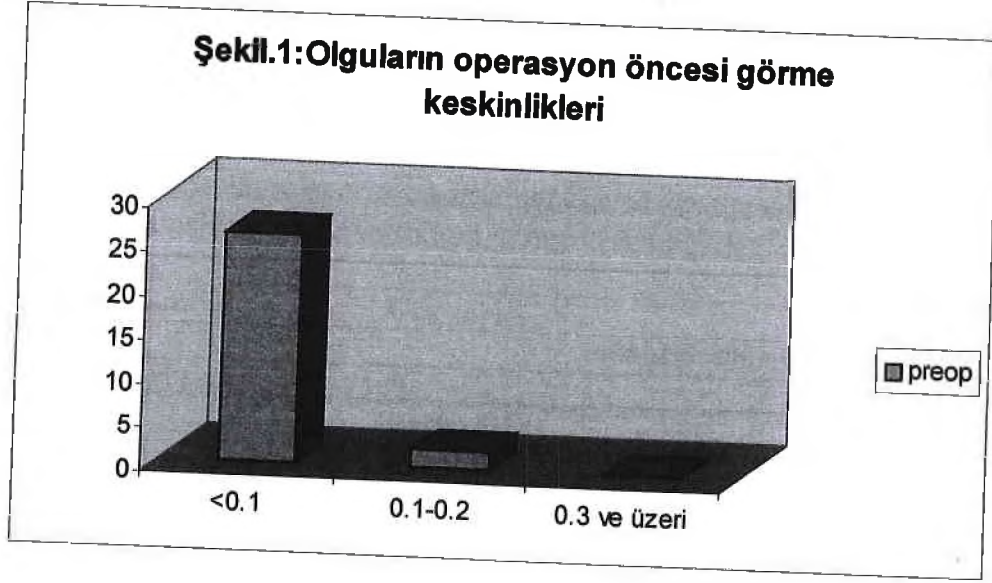
Hastalar perforasyon nedenlerine göre sıralandıklarında, 10 hasta steril kornea ülseri, 5 hasta bakteriyel kornea ülseri, 3 hasta alkali yanık, 2 hasta herpetik keratit, 2 hasta romatoid artrite bağlı oküler yüzey bozukluğu, 6 hasta ise desmatosel idi.(Tablo-1)

**Tablo -1 : Olguların etyolojiye göre dağılımı**

Etyoloji	Göz sayısı	%
Steril kornea ülseri	10	35,7
Desmatosei	6	21,4
Bakteriyel kornea ülseri	5	17,8
Alkali yanık	3	10,7
Romatoid artrite bağlı oküler yüzey bozukluğu	2	7,2
Herpetik keratit	2	7,2
Toplam	28	100

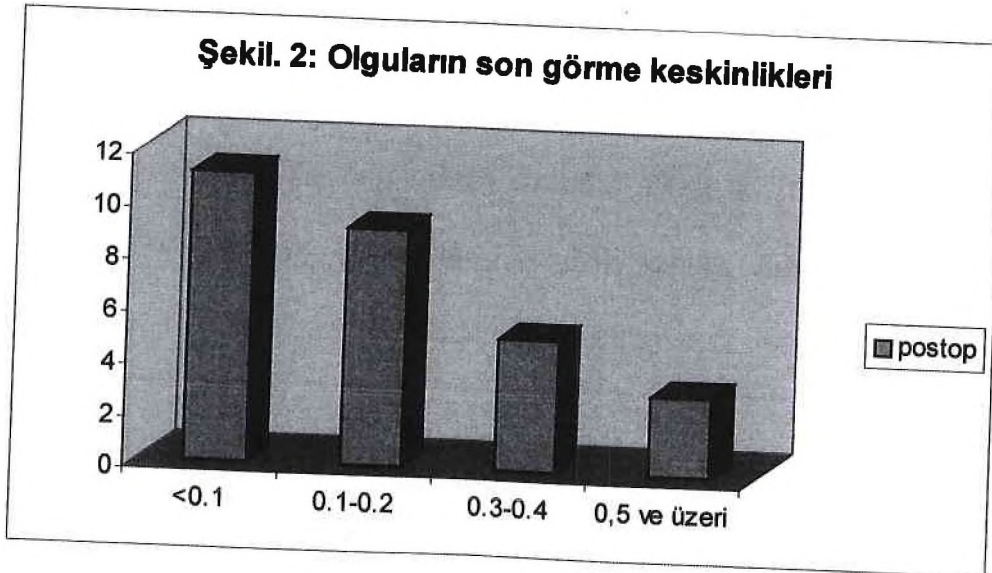
Hastaların operasyon öncesi görme keskinliklerine bakıldığında, % 92,8 'nin görmesi 0,1 'in altında idi ( Şekil -1 ).

**Şekil.1:Olguların operasyon öncesi görme keskinlikleri**



Amniyon membran transplantasyonundan hemen sonra görme keskinliklerinde ameliyat öncesine göre önemli bir artış elde edilmedi. Yaklaşık 2. ay civarında amniyotik membran eriyince korneadaki iyileşmeyle paralel olarak görmede de artış görüldü. Olguların son görme keskinliklerine bakıldığında % 60,7 hastada görme keskinliği 0,1 ve üzerinde idi ( Şekil-2 ). Birinci yılın sonunda 20 hastada ( % 71,4 ), görme keskinliğinde 3-4 sıralık bir artış olurken, 8 hastada ( % 28,6 ) bir değişiklik görülmedi (Tablo-2).

**Şekil. 2: Olguların son görme keskinlikleri**



**Tablo -2 : Ameliyat öncesi ve sonrası görme keskinliği değişimi**

Görme keskinliği	Göz sayısı	%
2 sıra ve üzeri artan	20	71,4
Aynı kalan	8	28,6
2 sıra ve üzeri azalan	yok	-
Toplam	28	100

Ameliyat sonrası 1. günde hiçbir hasta da aköz sızıntısı saptanmadı. Kornea absesine ikincil perforasyonu olan vakanın birinde ameliyat sonrası 1. haftadaki kontrolünde amniyotik membranın alt yarından sıyrıldığı görüldü. Bunun üzerine bu vakaya 2. kez AMT uygulandı. Cerrahiden yaklaşık 2 hafta sonra amniyotik membranın yavaş yavaş kaybolmaya başladığı ve bundan da yaklaşık 1-2 hafta sonra amniyotik membran üzerinden epitelizasyonun gerçekleşerek defekti kapatmaya başladığı izlendi. Ameliyat sonrası 3. ay civarında değişen skar dokusu ile stabil bir stromal kalınlık oluştu. Hastaların ikisinde sütür irritasyonu gelişti. Bu hastaların ucu açıkta olan sütürlerinin alınması ile semptomları düzeldi. Yirmi iki hastada 1 kez AMT yeterli olurken, 4 hastaya 2 kez, 2 hastaya 3 kez AMT yapıldı (Tablo-3).

**Tablo -3 : Amniyon membranı transplantasyonu uygulaması**

<b>Amniyon membran transplantasyon</b>	<b>Göz sayısı</b>	<b>%</b>
1 kez	22	78,5
2 kez	4	14,3
3 kez	2	7,2
Toplam	28	100

İki kez AMT yapılan hastaların, ikisi abseye ikincil perforasyon, ikisi alkali yanığa ikincil perforasyon, 3 kez AMT yapılan hastaların ise birisi alkali yanık, birisi de romatoid artrite ikincil perforasyon idi.

İki hastaya AMT'den 2 ay sonra, 1 hastaya AMT'den 1 ay sonra, 1 hastaya AMT'den 20 gün sonra PKP, 1 hastaya da AMT'den 1 ay sonra konjonktiva örtmesi uygulandı (Tablo-4).

**Tablo-4 : AMT sonrası ilave cerrahi tedavi**

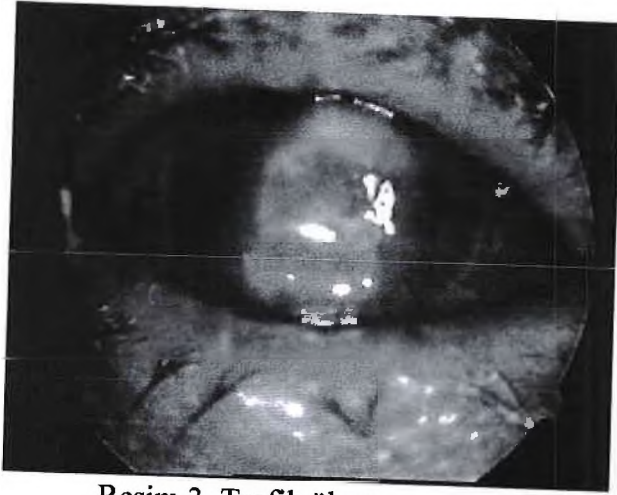
<b>Cerrahi</b>	<b>Göz sayısı</b>	<b>%</b>
PKP	4	14,3
Konjonktiva örtmesi	1	3,5
Toplam	5	17,8



Resim 1. Alkali yanık



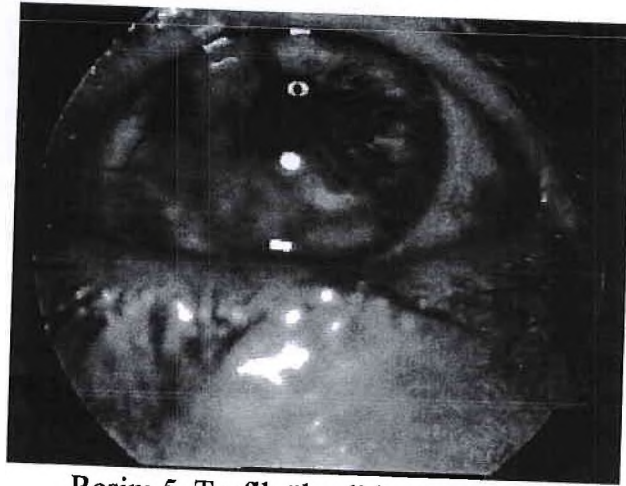
Resim 2. Alkali yanıklı hastanın  
AMT sonrası 2. günü



Resim 3. Trofik ülser



Resim 4. Trofik ülserli hastanın  
AMT sonrası 3. günü



Resim 5. Trofik ülserli hastanın  
AMT sonrası 4. ayı

## TARTIŞMA

Bu çalışmada; kornea hastalıklarına bağlı perforasyonlarda, glob bütünlüğünün korunmasında amniyon membran transplantasyonunun (AMT) etkisi araştırılmaktadır.

İlk kez 1910 yılında Davis cilt transplantasyonu için fõtal zarların kullanılabilceğini bildirmiştir (27). Bu tarihten itibaren insan amniyonu çok çeşitli alanlarda uygulama alanı bulmuştur. Bunlara örnek olarak insan amniyonunun; timpanik membran ve nazal mukoza oluşturulmasında (30-37), vaginal epitelizasyonun sağlanmasında (30-37), ayak ülserlerinin tedavisinde (30-37), geniş yanıkların kapatılmasında (30-37), ompholocale tedavisinde (30,36,37,43), baş boyun cerrahisi sonrası nekroze olan fleplerin tedavisinde (30-37) kullanımı verilebilir. Göz hastalıklarında insan amniyon membranı termal ve kimyasal yanık sonrası oküler yüzeyin rekonstrüksiyonunda (44), semblefaronla birlikte olan nüks pterjiumların tedavisinde (31), hasarlı tavşan kornealarında yüzey rekonstrüksiyonunda (40), konjonktiva yüzey rekonstrüksiyonunda (42), ülserasyonla birlikte olan dirençli epitel defektlerinde (41), pterjium eksizyonu sonrası primer kapama ve konjonktival otogrefte alternatif olarak (45), limbal kök hücre yetmezlikli hastalarda kornea rekonstrüksiyonunda kullanılmıştır (64).

Kim ve Tseng deneysel yolla kornea ve limbal yüzeyde hasar oluşturarak, limbal kök hücre yetmezliğine sebep oldukları 23 tavşandan 13'üne (%40) kornea saydamlığının sağlanması ve epitelyal fenotipin düzeltilmesinde amniyotik membran transplantasyonunun başarılı olduğunu bildirmişlerdir (40).

Daha sonra; Lee ve Tseng ortalama  $17,5 \pm 13,9$  hafta sebat eden kornea epitel defekti veya ülseri mevcut olan 11 hastanın 11 gözüne insan amniyon membran örtmesi

uygulamışlardır (41). Lee ve Tseng'in çalışmasında 3 hastada şiddetli mikrobiyal keratit, 4 hastada nörotrofik keratopati, 1 hastada büllöz keratopati, 2 hastada skatrisyel keratokonjonktivit ve 1 hastada şiddetli keratokonjonktivitis sikkaya sekonder dirençli epitel defekti veya trofik kornea ülseri mevcut olduğu bildirilmiştir. Amniyotik membranlar Tseng'in tavşan deneyi çalışmasında belirttiği şekilde hazırlanmış ve retrobulber anesteziyi takiben ülser tabanı forseps ve sünger sponge kullanılarak debride edilerek zayıf ve sağlıklı epitel sınırına kadar zayıf epitel uzaklaştırılmıştır.

Kornea perforasyonu ve desmatosel; birçok inflamatuvar ve enfeksiyöz hastalıkların sonucu olarak gelişir. Kısa dönemde terapötik amaç; aköz sızıntısını engellemek, perfore alana tektonik destek sağlamak, ön segmente daha fazla zarar verilmeden perforasyon nedenini elimine etmeye çalışmaktır. Bunun içinde uygulanan tedavi prosedürleri; doku yapıştırıcıları, terapötik yumuşak kontakt lensler, penetran veya lameller keratoplasti, yama greftler veya konjonktival fleplerdir. Ne yazık ki; bu tedavi prosedürleri birçok komplikasyona neden olabilir. İnflame veya enfekte gözlerde uygulanan PKP; sineşi, glokom, üveit veya greft yetmezliği ile sonuçlanabilir. Ayrıca; acil şartlarda her zaman hazır donör de bulunamayabilir. Lameller keratoplasti ise; aköz sızıntısını engellemede yetersiz kalabileceği gibi, donör ile alıcı kornea arasında ikinci bir kamara oluşumuna neden olabilir. Konjonktiva örtmesi, limbal kök hücrelerin ölümüne yol açtığı, vaskülarizasyon oluşturduğu ve kötü bir görünüme neden olduğu için pek tercih edilmez. Doku yapıştırıcıları; büyük perforasyonlarda sınırlı fayda sağlar, yerinden çıkabilir, bunlar PKP uygulanana kadar birkaç günlük geçici bir prosedür olarak uygulanırlar. Ayrıca bu prosedürler, inflamasyon problemini çözmeksizin sadece tektonik amaçla uygulanmaktadır. Bir alternatif tedavi protokolü de amniyotik membran transplantasyonudur. Amniyon membran transplantasyonu; kornea

ve konjonktivanın yüzey rekonstrüksiyonunda başarılı bir şekilde uygulanmaktadır. Amniyotik membran; plasentanın en iç tabakasıdır, kalın bir bazal membran ve avasküler stroma içerir. Birçok çalışma; AMT'nun; epitalizasyonu hızlandırdığı, inflamasyonu, vaskülarizasyonu ve skar oluşumunu azalttığını göstermektedir (82-87).

Amniyon membranının bazal membranı genel olarak epitel hücrelerinin migrasyonunu hızlandırmakta (65), bazal epitel hücrelerinin adezyonunu sağlamakta (66-67) ve epitel diferasyonunu sağlamaktadır (68-71). Yakın dönemde bazal membranının epitel apoptozisini önlediği de gösterilmiştir (73-74). Laboratuvar çalışmalarında amniyon bazal membranının, kornea ve konjonktiva progenitör hücrelerinin yaşam döngüsünü de uzattığı gösterilmiştir (74-75). Bu son bulgu amniyon membranının neden parsiyel limbal hücre yetmezliğinde de kullanılabileceğini göstermektedir (21). İleride yapılacak çalışmalar; kornea epiteli büyümesini sağlayan faktörlerin matrikse mi, büyüme faktörlerine mi yoksa ikisine birden mi bağlı olduğunu gösterecektir (76).

Amniyotik membranının stromal yüzü ise korneada; transforming growth faktör  $\beta$ , proliferasyonu ve myofibroblast diferasyonunu inhibe eden bir matriks komponenti içerir (77). Matriks komponentinin bu etkisi; amniyon membran transplantasyonunda konjonktivada skar oluşumunun gözlenmemesini (22), pterjium eksizyonundan sonraki skar oluşumunun engellenmiş olmasını (26), fototeropatik keratektomi ve fotorefraktif keratektomi sonrası azalmış kornea haze oluşumunu açıklamaktadır (78-79). Stromal matriks aynı zamanda bir çok proteaz inhibitörleri içermektedir (80). Bu inhibitörler epitel iyileşmesini hızlandırırken stromal iflamasyonu ve ülserasyonu azaltır.

Amniyon membran transplantasyonu, kornea ve konjonktivadaki normal

epitalizasyonun oluşumunda ve yüzey iyileşmesi sırasında oluşabilecek aşırı fibrozisi önlemede etkilidir. Amniyon, korneadaki epiteliyal defektlerin iyileşmesinde çabuk ve etkin bir rol oynamaktadır. Amniyon membranı ucuz, saklanabilen, temini ve hazırlanması kolay bir materyaldir. Amniyon membranın antijenik özelliği olmadığından istenmeyen immünolojik reaksiyonlara sebep olmaz. Amniyon membran transplantasyonun; cerrahi teknik olarak kolay bir yöntem olması ve iyileşmenin kısa sürede tamamlanması nedeniyle klinik uygulamalarda korneadaki perforasyonlarda diğer cerrahi prosedürlere iyi bir alternatif olabileceğini düşündürmektedir. Amniyon membran transplantasyonun diğer yöntemlere en önemli üstünlüğü; şeffaflaşarak viziye katkıda bulunmasıdır. Ptozis gibi komplikasyonlara neden olmaması ve daha iyi bir kozmetik görünüm sağlaması bu tekniğin konjonktival örtmeden daha üstün bir teknik olabileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle amniyon örtmesi yapılan gözlerde ileride tekrar bir penetran keratoplasti yapılabilmektedir (87-89).

Ülkemizde böyle bir operasyonun uygulanmasındaki bir güçlük, -80 derecelik saklama ortamının sağlanmasıdır. Eksi seksen derecelik dondurucular; gelişmiş hematoloji ve genetik laboratuvarlarında bulunabilir. Buzdolaplarının derin dondurucu bölümleri -20 derecedir. Ancak -20 derecede raf ömrü kısadır. Kesin saklama süresi bilinmemekle birlikte, biz -80 dereceden aldıktan sonra kullanıncaya kadar -20 derecede bir hafta beklettiğimiz olgularda başarılı sonuçlar aldık.

Bu çalışmada; travmatik olmayan kornea hastalıklarına bağlı perforasyonu olan ve donör bulunamadığı için, PKP yapılamayıp, amniyon membran transplantasyonu yapılmış olan 28 hasta çalışma kapsamına alınmıştır. Hastalara, yama (patch, overlay) tekniği ile AMT uygulanmıştır.

Çalışmamızın sonucunda, AMT'nun uygulaması kolay bir teknik olması,

amniyon membranının ucuz, hazırlanması ve temininin kolay olması, donör kornea bulunana kadar geçici bir tedavi olanağını sağlaması, bazı vakalarda başka bir prosedüre ihtiyaç duyulmadan perforasyon alanını kapaması gibi avantajlarının olduğunu gördük. Özellikle; steril kornea ülserleri ve desmatosele ikincil perforasyonlarda başarının oldukça yüksek olduğu, çoğu vakada bir kez yapılan AMT'nin perfore alanı kapatmada yeterli olduğu saptandı. Ancak; inflame gözlerde, gözyaşı yetersizliği mevcudiyetinde ve alkali yanıkta; AMT'nin başarısı düşüktü. Bu yüzden 2-3 kez AMT yapmak gerekti. Alkali yanıklarda başarısızlığın en büyük nedeni limbal kök hücre yetersizliğidir. Alkali yanıklar, hücre membranındaki serbest yağ asitlerini likefiye ederek hücre hasarına yol açmaktadır. Hücrelerden su çekerek nekroza neden olur. Daha derin dokulara penetrasyon nedeni ile ağır hasar oluşturabilirler. Limbustaki damar yapısında ağır hasar ile limbal kök hücrelerin kaybına ve buna bağlı olarak oküler yüzey hastalığına yol açarken, derin penetrasyon ile glikozaminoglikanların yıkımına ve korneanın stroma tabakasında opaklaşmaya da neden olmaktadır. Alkali yanıklarda erken dönemde yapılan AMT'ü epitelizasyonu hızlandırır ve inflamasyonu baskılar, böylece skarlaşmanın neden olacağı geç dönem sekelleri önlenir. Bu etkiler özellikle ılımlı grade II ve III alkali yanıklarda oküler yüzeyin hızlı restorasyonuna katkıda bulunur. Şiddetli yanıklarda AMT yalnızca limbal stromal inflamasyonu azaltır. Konjonktival yüzeyi restore eder, sembleforon formasyonu oluşumunu önler. Fakat tek başına limbal kök hücre yetmezliği gelişimini önleyemez. Bu durumda; oküler yüzey bütünlüğünü restore etmek için ilaveten limbal kök hücre transplantasyonu yapmak gerekir (90). Limbal kök hücre transplantasyonu, limbal kök hücre hasarında uygulanan yeni bir cerrahi metottur. Kişinin kendisinden (otogreft) veya başkasından (allogreft) alınan sağlıklı limbal greft ile rekonstrüksiyon amaçlanır (91). Bizim alkali yanıklı

olgularımızda da limbal kök hücre hasarının fazla olması nedeniyle AMT tek başına yeterli olamamıştır.

Sonuç olarak; AMT, kalıcı veya rekonstrüksiyon öncesi geçici olarak travmatik olmayan kornea perforasyonlarının tedavisinde etkili bir metottur. Özellikle penetran keroplastinin yeterince yaygın olmayışı, her zaman donör korneanın bulunamayışı, bu olgularda alternatif rehabilitasyon yöntemlerinde arayışı arttırmaktadır. İnflame gözlerde, gözyaşı yetersizliği olan gözlerde ve alkali yanık olan gözlerde başarı düşük olmasına rağmen tekrarlayan operasyonlarla perforasyon kontrol altına alınabilmektedir. Önümüzdeki yıllarda kurulacak olan amniyon bankaları aracılığı ile yöntemin daha da yaygınlaşabileceğini düşünmekteyiz.

## SONUÇ;

- ✓ Amniyon membran transplantasyonu, kornea ve konjonktivadaki normal epitalizasyonun oluşumunda ve yüzey iyileşmesi sırasında oluşabilecek aşırı fibrozisi önlemede etkilidir.
- ✓ Amniyon, kornea epiteliyal defektlerinin iyileşmesinde çabuk ve etkin bir rol oynamaktadır.
- ✓ Amniyon membranı; ucuz, saklanabilen, temini ve hazırlanması kolay bir materyaldir.
- ✓ Amniyon membranın antijenik özelliği olmadığından istenmeyen immünolojik reaksiyonlara sebep olmaz.
- ✓ Amniyon membran transplantasyonun; cerrahi teknik olarak kolay bir yöntem olması ve iyileşmenin kısa sürede tamamlanması nedeniyle klinik uygulamalarda, kornea perforasyonlarında uygulanan diğer cerrahi prosedürlere iyi bir alternatif olabileceğini düşündürmektedir.
- ✓ Amniyon membran transplantasyonun diğer yöntemlere en önemli üstünlüğü; şeffaflaşarak vizyona katkıda bulunmasıdır.
- ✓ Ptozis gibi komplikasyonlara neden olmaması ve daha iyi bir kozmetik görünüm sağlaması bu tekniğin konjonktival örtmeden daha üstün bir teknik olabileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle amniyon örtmesi yapılan gözlerde ileride tekrar bir penetran keratoplasti yapılabilmektedir.
- ✓ Amniyon membran transplantasyonu, kalıcı veya rekonstrüksiyon öncesi geçici olarak travmatik olmayan kornea perforasyonlarının tedavisinde efektif bir metottür. Ancak, amniyon membran transplantasyonunun, inflame gözlerde, gözyaşı yetersizliği mevcudiyetinde ve alkali yanıklarda başarı oranı düşüktür.

✓ Çalışmamızın sonucunda AMT ile, % 17,9 hastada PKP yapılana kadar geçici olarak başarı sağlanırken, % 82,1 hastada kalıcı bir tedavi sağlanabildi. 6 hastada ( %21,5 ) AMT 'nun tekrarı gerekti. Daha sonraki prosedür olarak, 4 hasta (%14,3 ) PKP 'e, 1 hastada (%3,5 ) konjunktiva örtmesine gitti.

## KAYNAKLAR

1. Bourchard CS, Cameron JD, Schultz GS. Pathologic responses of the cornea, sclera and ocular adnexia: Ocular immune responses, corneal reaction to injury, modulation of corneal wound healing. in: Kratchmer JH, Mannis MJ, Holland EJ (eds). Cornea, St. Louis: Mosby-Year Book, 1997, Inc., pp 68-128.
2. Thomas AW. Gilbert G. The Foundation of the American Academy of Ophthalmology. San Francisco. External Disease and Cornea. Section 8, 1995-96, Inc, pp. 249-250.
3. Frederic S. Brightbill. Corneal Surgery. Philadelphia. Second ed. 1993, Inc, pp. 9-25.
4. Kansky J.J. Clinical Ophthalmology. Butterworth. Third ed. 1994, Inc, pp. 100-149.
5. William M. Hart. Adler's Physiology of the eye. Ninth ed. Heinemann. 1992, Inc, pp 29-70.
6. Berman. P. And Keller. Cornea in Biochemistry of the Eye. Blakemore, C., Ed. Plenum Press, New York. 1991 Inc, pp. 89-150.
7. Kim T, Palay DA. Developmental abnormalities of the cornea: developmental corneal anomalies of size and shape. in: Kratchmer JH, Mannis MJ, Holland EJ (eds). Cornea, St. Louis: Mosby-Year Book, 1997, Inc., pp 871-888.
8. Nishida T. Basic Science: Cornea, sclera and ocular adnexia anatomy, biochemistry, physiology and biomechanics. In: Kratchmer JH, Mannis MJ, Holland EJ (eds). Cornea, St. Louis: Mosby-Year Book, 1997, Inc., pp 3-28.
9. Amenta PS, Martinez-Hernandez A, Treistad RL. Repair and regeneration. In Damjanov I, Linder J (eds). Anderson's Pathology, 10<sup>th</sup> ed, St, Louis: Mosby-Year Book, 1996, Inc., pp 416-447.

10. Kruse Fe. Stem cells and corneal epithelial regeneration. Eye 8. Florida. 1994. Inc,pp.170-183.
11. Zeiske JD, Gibson IK. Agent that effect corneal wound healing; Modulation of structure and function. Albert DM, jacobiec FA eds. Principles and practice of ophthalmology. Philedelphia saunders, 1994, Inc, pp. 1093-1099.
12. Zeiske JD. Bukuşođlu G. Effect of protease inhibitors on corneal epithelial migration. Invest Ophthalmol Vis Sci. 32: pp. 2073,1991.
13. Zeiske JD. Bukuşođlu G, Yankauckas MA. Characterization of a potential marker of corneal epithelial stem cells. Invest Ophthalmology Vis Sci. 33 (1): pp.143-151,1992.
14. Zeiske JD, Perpuration of stem cells in the eye. Eye 8:pp 163-9,199.
15. Schultz G, Khow Pt, Oxford K, Macaulay S, et al. Growth factors and ocule wound healind. Eye 8:pp. 184-187,1994.
16. Kenyon KR, Inflammatory mechanism in corneal ulceration. Tr. Am J Ophthalmol. Soc. 83: pp. 610-663,1985.
17. Taylor DM, Atlas BF, Rommchuk KG, et al: Pseüdophakik bullous keratopathy. Ophthalmology pp. 1983;90:19-24.
18. Brady SE, Rapuao CJ, Arentsen JJ, Cohen EJ, Laibson PR. Clinical indications for and procedures associated with penetrating keratoplasty:1983-1988. Am J Ophthalmol. 1989;108:118-122.
19. Lee S-H. Tseng SCG. Amniotic membran transplantation for persistan epithelial defect with ulceration. Am J Ophthalmol. 1997; 123:303-312.
20. Shizamazaki J, Yang H-Y, Tsubato K. Amniotic mebrane transplantation for ocular surface reconstruction in patients with chemical and thermal burns. Ophthalmology.

- 1997;104:2068-2076.
21. Tsengt SCG, Prabhasawat P, Barton K, Gray T, Meller D. Amniotic mebrane with or without limbal allografts for corneal surface reconstruction in patients with limbal stem cell deficiency. *Arc Ophthalmol.* 1998;116:431-441.
  22. Tseng SCG, Prabhasawat P, Lee S-H. Amniotic mebrane for conjonctival surface reconstruction. *Am J Ophthalmol.* 1997; 124:765-774.
  23. Prabsawat P, Tseng SCG. Impression cytology study of epithelial phenotype of ocular surface reconstructed by preserved human amniotic mebrane. *Arch Ophthalmol.* 1997; 115:1360,1367.
  24. Kim JC, Lee D, Syhn KH. Clinical uses of human amniotic memrane for ocular surface disease. In:Lass JH ed. *Advenses in corneal research.* New York, NY:Plenium Publishing Corp; 1997.117-134.
  25. Franch A, Rama P, Lambiase A, Ponzin D, Caprioglio G. Human amniotic mebrane transplantation. *Invest Ophthalmol Vis Sci.*1998;39:S90.
  26. Prabhasawat P, Barton K, Burkett G, Tseng. Comparison of conjunctival autografts, amniotic mebrane grafts and primary closure for ptergium excision. *Ophthalmolgy.* 1997; 104:974-985.
  27. Schmazaki J, Shinozaki N, Tsubato K. Transplantation of amniotic mebrane and limbal autograft for patients with recurrent ptergium associated with symbleferon. *Br J Ophthalmol.* 1998;82:235-240.
  28. Russo RG, Thorgerisson u, Liotaa LA, in vitro quantitative assay of invasion using human amnion. 1982:173-87.
  29. Rennkampff HO, Dohrmann P, Forry R, Fandrich F. Evaluation of amniotic membrane as adhasion prophylaxis in a novel surgical gastroschisis model. *J. Invest*

- Surg 1994;7:187-93.
30. Van der Linden PJQ, Edrkes HWH, de Goeij AFPM, et al. Endometrial cell adhesion in an in vivo model using intact amniotic membranes. *Fertil Steril* 1996;65:76-80.
  31. Schmazaki J, Shinozaki N, Tsubota K. Transplantation of amniotic membrane and limbal autograft for patients with recurrent pterygium associated with symblepharon. *Br J Ophthalmol* 82, 235-240,1980.
  32. Talmi Y.P. Singler L, Inge E. Antibacterial properties of human amniotic membranes. *Placenta* 12, 285-288,1991.
  33. Akle CA, Adinolfi M, Welsh K et al. Immunogenicity of human amniotic epithelial cells after transplantation into volunteers. *Lancet* 1981;2;1003-1005.
  34. Adinolfi M, Acle CA, Mc Coll I, et all. Expression of HLA antigens,  $\beta$ 2-microglobulin and enzymes by human amniotic epithelial cells. *Nature* 1982;295;325-7.
  35. M. Murraine, E. Menguay. Personal communication. *Cornea* 1(1), 16-21,2000
  36. Akle. C. A, Welsh. K. Adinolfi. M. Immunogenecity of human amniotic epithelial cells after transplantation in vitro volunteries. *Lancet* 2. 1003-1005,1981
  37. Trelfort J.D. and Trelfort-Sauders M. The amnion in surgery, in past and pesent. *Am J Obstet. Gynecol.* 134;833-845.
  38. Thalmi YP, Finekelstian Y, Zohar Y. Use of human amniotic membrane as biologic dressing. *Eur J Plast Surg.* 1990;13:160-2.
  39. Thalmi YP,Singler R, Inge E, et al. Antibacterial properties of human amniotic membranes, *Plasenta* 1994; 12:285-8.
  40. Kim JS, Tseng SCG. Transplantation of preserved human amniotic membrane for surface reconstruction in severely damaged rabbit corneas. *Cornea* 14:473-

484,1995.

41. Lee S, Tseng Scg. Amniotic membrane transplantation for persistent epithelial defects with ulceration. *Am J Ophthalmol.* 123. 303-312,1997.
42. Tseng, Prabhasabat P, Lee S. Amniotic membrane transplantation for conjunctival surface reconstruction. *Am. J Ophthalmol.* 124.:765- 774,1997.
43. Tokomori K, Ohkura M, Kitano Y, Hori T. Advantages and pitfalls amnion inversion repair for the treatment of large unruptured omphocele; results of 22 cases. *J Pediatr.Surg.* 27.:882-884,1992.
44. Shimazaki J, Yang H, Tsubato K. Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction in patients with chemical and thermal burns. 104.:2068-76,1997.
45. Prabhasabat P, Barton K. Tseng SCG. Comparison of conjunctival autografts, amniotic membrane grafts primary closure for pteryj. excision. *Ophthalmology* 104.: 974-985,1997.
46. Thoft Ra. Conjunctival transplantation. *Arch. Ophthalmol* 95.:1425-1427,1977.
47. Knishito S, Friend J, Thoft RA. Biphasic cell proliferation in transdifferentation of conjunctival to corneal epithelium in rabbits. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 24,1008-1014,1983.
48. Shapiro MS, Friend J, Thoft RA. Corneal re-epitelization from the conjunctiva. *Inv Vis Sci.* 21:135-142,1981.
49. Kenyon KR, Tseng SCG. Limbal autograft transplantation for ocular surface disorders. *Ophthalmol* 96: 709-723,1989.
50. Weise RA, Mannise MJ, Vastine DW et all. Conjunctival transplantation: Autologous and homologous transplantation. *Arc Ophthalmol.* 103 :1736-40,1985.

51. Thoft RA. Keratoepithelioplasty. *Am J. Ophthalmol* 95:1-6,1984.
52. Turgeon PW, Naumhein Re, Roat MI et all. Indications for keratoepithelioplasty. *Arc Ophthalmol* 108: 233-236,1990.
53. Thoft RA, Friend J,. Biochemical transformation of regenerating ocular surface epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 16:14-20,1977.
54. Thoft RA, Friend, Murphy HS Ocular surface epithelium and corneal vascularization in rabbits the role of wounding. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 18: 85-92,1979.
55. Knishita S Friend J et all. Limbal epithelium in ocular surface wound healing. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 23: 73-80,1982.
56. Knishita S Friend J, Kiorpes TC et all. Keratin like proteins in corneal and conjunctival epithelium are different. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 24: 577-581,1983.
57. Kenyon KR, Wagener MD, Hettinger ME. Conjuntival autograft transplantation for advanced and recurrrent ptrergium. *Ophthalmolgy* 92:1461-1470,1985.
58. Vastine DW, Steawart WB, schvvab IR. Reconstruction of periocular mucous membrane by autologous conjunctival transplantation. *Ophthalmolgy* 89:1072-1081,1982
59. Gunderson T. Conjunctival flaps in the treatment of corneal disease with reference to a new technique of application. *Arch Ophthalmol* 60:.880-888,1958.
60. Russo Rg, Thorgeirsosson U,Liotta LA. In Vitro quantitative assay of invasion using human amnion. *Invasion and metastasis*. 246-55,1982.
61. Modesti A, Kalabic T, Scarpa S et all. Type 5 collagen in human amnion is a 12 nm fibrillar component of the pericellular interstitium. *Eur J Cell Bioll* 35:246-255,1984.

62. Campell S, Ailen TD, Moser BB. The translaminar fibrils of the human amnion basement membrane. *J Celi. Sci.* 94:307-318,1989.
63. Mathews R.N. Human tissue responds to amnion allograft. *Lancet* 2 :1428-1429,1981.
64. Tseng SCG, Prabhasabat P, Barton K. Amniotic membrane transplantation with or without limbal allograft for corneal reconstruction in patients with limbal defficiency. *Arch. Ophthalmol.* 116:431-441,1998.
65. Terranova W, Lyall RM. Chemotaxis of human gingival epithelial cells to lamini: a mechanism for epithelial celi apical migration. *J Peridontol.* 1986;57:311-317.
66. Khadaudost AA, Silversitein AM, Kenyon KR, Dowling JE. Adhesion of regenerating corneal epithelium the role of basement membrane. *Am J Ophthalmol.*1968;65:339-348.
67. Sonnenberg A, calafat J, Jannsen H, et al. Integrin a6/b4 complex is located in hemidesmosomes, suggesting a major role in epidermal cell-basement mebrane adhesion. *J Celi Biol.* 1991;113:907-917.
68. Guo M, Grinnell F. Basement mebrane and human epidermal differentiation in vitro. *J Invest Dermatol.* 1989;93:372-378.
69. Streuli CH, Bailey N, Bisseli MJ. Control of epithelial differantiation basement membrane induces tissue-spesific gene expression in the absences of cell-cell interaction and morphological polaritiy. *J Celi Biol.* 1991; 115:1383-1395.
70. Kurpakus MA, Stock El, Jones JCR. The role of the basement membrane in the differantial expression of keratin proteins in epithelial cells. *Dev Biol.* 1992;150:243-255.
71. Barcellos-Hoff MH, Aggeler J, Ram TG, Bissel MJ. Functional differantiation and

- alveolar morphogenesis of primary mammary cultures on reconstructed basement membrane. *Development*. 1989;105:223-235.
72. Baudreu N, Sympson CJ, Werb Z, Bissel MJ. Suppression of ICE and apoptosis in mammary epithelial cells by extracellular matrix. *Science*. 1995;267:891-893.
73. Bandrou N, Werb Z, Bissel MJ. Suppression of apoptosis by basement membrane requires three-dimensional tissue organization and withdrawal from the cell cycle. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996;93:3500-3513.
74. Meller D, Tseng SCG. In vitro conjunctival epithelial differentiation on preserved human amniotic membrane. *Invest Ophthalmol*. 1998;39:S428.
75. Meller D, Pires RTF, Tseng SCG. Ex vivo preservation and expansion of human limbal epithelial progenitor cells by amniotic membrane (abstract). *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1999;40(suppl):329.
76. Sato H, Shimazaki J, Shinozaki K, Tsubato K. Role of growth factors for ocular surface reconstruction after amnion membrane transplantation. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1998;39(suppl):428.
77. Tseng SCG, Li D-Q, Ma X. Downregulation of TGF- $\beta$ 1,  $\beta$ 2,  $\beta$ 3 and TGF- $\beta$  receptor II expression in human corneal fibroblast by amniotic membrane. *J Cell Physiol*. 1999;179:325-335.
78. Wang M, Gray T, Prabhasawat P, et al. Corneal haze is reduced by amnion membrane matrix in excimer laser photoablation in rabbits (abstract). *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1997;38(suppl):S405.
79. Kim JS, Park SW, Kim JH, Lee SI, Yang HN, Kim JC. Temporary amniotic membrane graft promotes healing and inhibits protease activity in corneal wound induced by alkali burns in rabbits (abstract). *Invest Ophthalmol Vis Sci*.

- 1998;39(suupl):90.
80. Na BK, Hwang JH, Shin EJ, Song CY, Jeong JM, Kim JC. Analysis of human amniotic membrane components as proteinase inhibitors for development of therapeutic agent of recalcitrant keratitis (abstract). Invest Ophthalmol Vis Sci.1998;39(suppl):90.
  81. Renato T, Pires, MD; Scheffer C.G, Tseng, MD; Amniotic membrane Transplantation for Symptomatic Bullous Keratopathy. Arch Ophthalmol. 1999; 117:1291-1297.
  82. Abraham Solomon MD, Daniel Melley MD, Pmrite Probhosowot MD. Amniotic membrane grafts for nontraumatic corneal perforation desmatosel and deep ulcers Ophthalmol 109-4, 694-703, 2002, April.
  83. Arentsen JJ, Laibson PR, Cohen EJ. Management of corneal descemetoceles and perforations. Ophthalmic Surg 1985;16:29-33.
  84. Weiss JL, Williams P, lindstrom RL, Doughman DJ. The use of tissue adhesive in corneal perforations. Ophthalmology 1983;90:610-5.
  85. Hirst LW, Smiddy WE, De Juan E. Tissue adhesive therapy for corneal perforations. Aust J Ophthalmol 1983; 11:113-8.
  86. Leibowitz HM, Berrospi AR. Initial treatment of descemetocele with hydrophilic contact lenses. Ann Ophthalmol 1975;7:1161-6.
  87. Nobe JR, Moura BT, Robin JB, Smith RE. Results of penetrating keratoplasty for the treatment of corneal perforations. Arch Ophthalmol 1990;108:939-41.
  88. Bernauer W, Ficker LA, Watson PG, Dart JKG. The management of corneal perforations associated with rheumatoid arthritis. An analysis of 32 eyes. Ophthalmology 1995;102:1325-37.

89. Portnoy SL, Inslar MS, Kaufman HE. Surgical management of corneal ulceration and perforation. *Surv Ophthalmol* 1989;34:47-58.
90. Meller D, Pires RFT, Mack RJS. Amniotic membrane transplantation for acute chemical or thermal burns. *Ophthalmology* 2000;107:980-90.
91. Shimazaki J, Yang H, Tsubota K. Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction in patients with chemical and thermal burns. *Ophthalmol* 1997 ; 104:2068-76.
92. Thomann U, Meier-Gibbons F, Schipper I. Phototherapeutic Keratectomy for bullose keratectomy. *Br J Ophthalmol*. 1995;79:335-338.