

Tedaviye Dirençli Oküler Yüzey Patolojilerinin Tedavisinde Amniyon Zarı İmplantasyonu Sonuçlarımız

Yaşar Küçüksümer (*), Canan Aslı Utine (**), Pelin Kaynak (*), Ömer Faruk Yılmaz (***)

ÖZET

Amaç: Tedaviye dirençli oküler yüzey patolojisi nedeniyle uyguladığımız amniyon zarı transplantasyonu sonuçlarımızın değerlendirilmesi

Yer: Beyoğlu Göz Eğitim ve Araştırma Hastanesi

Gereç ve Yöntem: Kasım 2001 ve Mart 2004 ayları arasında; steril stromal ülser (5 göz), keratoplasti sonrası melting / persistan epitel defekti (4 göz), herpetik keratit sekeli (2 göz), bakteriyel korneal abse (2 göz), sekonder IOL implantasyonu sonrası sklera defekti (2 göz), korneal perforasyon (2 göz), büllöz keratopati (1 göz), travma (2 göz), trahom sekeli (1 göz), katarakt operasyonu persistan epitel defekti (1 göz) ve kireç yanığı sonrası persistan epitel defekti (1 göz) nedeniyle hastanemizde amniyon zarı transplantasyonu (AZT) yapılan toplam 23 göz retrospektif olarak incelendi. Amniyon zarı, vakaların hepsinde korneal lezyonun yeri ve boyutundan bağımsız olarak tüm korneayı kaplayacak şekilde örtüldü ve perilimbal konjonktivaya 10/0 monofilaman sutur ile 360 derece suture edildi. Operasyon sonunda terapötik kontakt lens yerleştirildi. Çalışma kapsamına alınan vakalarda yüzey epitel bütünlüğünün oluşma süresi, nüks varlığı ve görme keskinliği değerlendirildi.

Bulgular: Amniyon zar transplantasyonu sonrası ortalama 10.45 ± 15.81 ay takip edilen vakalarda, oküler yüzey patolojisinin ortalama iyileşme süresi 5.48 ± 5.83 hafta idi. 16 gözde (%69.6) 1 kere, 4 gözde (%17.4) 2 kere, 3 gözde (%13) 3 kere transplantasyon gerekli oldu, ve postoperatif 10 hastaya (%43.48) penetran keratoplasti (PKP) önerildi, 1 gözde (%4.17) limbal kök hücre transplantasyonu ve superfisiyal keratektomi uygulandı. Preoperatif en iyi düzeltilmiş görme keskinliği ortalama 0.06 ± 0.13 iken, postoperatif son kontrolde 0.16 ± 0.28 ye yükseldi ($p=0.04$). Toplam 23 gözden 16sında (%69,57) postoperatif en iyi düzeltilmiş görme keskinliğinde artış oldu.

Sonuç: Tedaviye dirençli oküler yüzey patolojilerinde, insan amniyon zarı ile oküler yüzeyin örtülmesinin yararlı bir tedavi metodu olduğu kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Amniyon zar transplantasyonu, oküler yüzey hastalıkları

SUMMARY

Results of Amnion Membrane Transplantation Procedure for the Treatment of Ocular Surface Pathology

Purpose: Evaluation of the results of amnion membrane transplantation procedure for the treatment of ocular surface pathology.

(*) Op. Dr., Beyoğlu Göz Eğitim ve Araştırma Hastanesi

(**) Dr., Beyoğlu Göz Eğitim ve Araştırma Hastanesi

(***) Prof. Dr., Beyoğlu Göz Eğitim ve Araştırma Hastanesi

Yazışma adresi: Dr. Canan Aslı Utine, Güzelbahçe sokak No:14/4 Hancıoğlu Apt., Nişantaşı / İstanbul Tel: (0533) 558 76 35

Yazarların, çalışmayla ilgili herhangi bir finansal kazançları bulunmamaktadır.

Mecmuaya Geliş Tarihi: 25.10.2004

Düzeltilmeden Geliş Tarihi: 20.05.2005

Kabul Tarihi: 23.05.2005

Setting: Beyoglu Eye Education and Research Hospital

Material and Method: A total of 23 eyes who were performed amnion membrane transplantation in our clinics between November 2001 and March 2004; for the treatment of sterile stromal ulcer (5 eyes), melting /persistent epithelial defect following keratoplasty (4 eyes), herpetic keratitis sequela (2 eyes), bacterial corneal abscess (2 eyes), scleral defect following secondary IOL implantation (2 eyes), corneal perforation (2 eyes), bullous keratopathy (1 eye), trauma (2 eyes) trahoma sequela (1 eye), persistent epithelial defect following cataract operation (1 eye) and persistent epithelial defect following lime burn (1 eye); were examined retrospectively. Amnion membrane was covered all over the cornea independent of the position and size of the lesion and was sutured on the perilimbal conjunctiva circumferentially by 10/0 monofilament sutur. At the end of the operation, therapeutic contact lens was put. The cases included in the study were evaluated with respect to duration of surface epithelial healing, presence of recurrence and visual acuity.

Results: Following the amnion membrane transplantation, cases were followed up for a mean of 10.45 ± 15.81 months, and the mean healing time was 5.48 ± 5.83 weeks. Amnion membrane transplantation was performed once in 16 eyes (69,6%), twice in 4 eyes (17,4%), three times in 3 eyes (13%); limbal stem cell transplantation and superficial keratectomy were performed in 1 eye (4,17%). At the end of the follow up, penetrating keratoplasty was recommended for 10 eyes (43,48%). Preoperatively mean best corrected visual acuity (BCVA) was 0.06 ± 0.13 , while in the postoperative last follow-up it was 0.16 ± 0.28 ($p=0.04$). At the end of the follow up, BCVA was improved in 16 of the 23 eyes (%69,57).

Conclusion: Ocular surface reconstruction with human amnion membrane is thought to be a useful treatment modality, in ocular surface disorders refractory to the treatment.

Key Words: Amnion membrane transplantation, ocular surface disorder

GİRİŞ

Kornea yüzey epitel kaybı oluşturabilen kronik enfeksiyon, herpetik keratit sekeli, paralitik / nörotrofik sebepler, travma, asit-alkali yanıkları, korneal perforasyon, büllöz keratopati ve travma, keratoplasti veya katarakt operasyonu, kireç yanığı sonrası persistan epitel defekti gibi durumlarda; aşırı inflamasyon, limbal kök hücre disfonksiyonu veya normal iyileşme cevabının eksikliği de klinik tabloya eşlik ederse, tedaviye dirençli steril stromal ülserler oluşabilir (1-3).

Bu tür lezyonların tedavisinde ilk adım, primer etiyolojinin tedavisi, aşırı inflamasyonu baskılayıcı ve dokuyu iyileşmesini uyarıcı medikal tedavidir. Medikal tedavinin yetersiz kaldığı durumlarda, cerrahi yöntemlere başvurulur. Kullanılan yöntemler arasında; tarsorafı (4), terapötik kontakt lensler (4,5), konjonktival flep (6), lameller keratoplasti (7) veya penetran keratoplasti (2,3,7) sayılabilir.

Amnion zarı transplantasyonu (AZT) oftalmolojide ilk olarak DeRotth tarafından 1940da kullanılmıştır. DeRotth bu ilk deneysel çalışmada, semblefaron sekonder konjonktival epitel defektlerinin tedavisinde kısmi başarı saptamıştır (8). Bu güne kadar AZT; persistan kornea epitel defektleri (9), nörotrofik kornea ülserleri (10,11), glokom cerrahisinden sonra sızdıran filtran bleb (12),

pterijum cerrahisi (13,14), konjonktival yüzey rekonstruksiyonu (15), büllöz keratopati (16,17,18), kimyasal / termal yanıklar (19,20,21), limbal kök hücre nakli ile birlikte veya tek başına okuler yüzey rekonstruksiyonu (22,23), ve okuler sikatrisyel pemfigoid veya Stevens-Johnson Sendromu (24) tedavisi için kullanılmıştır.

Bu çalışmada, kliniğimizde tedaviye dirençli çeşitli okuler yüzey patolojileri nedeniyle uyguladığımız amnion zarı transplantasyonu sonuçlarımızı değerlendirdik.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu retrospektif klinik çalışmaya, Beyoğlu Göz Eğitim ve Araştırma Hastanesinde, Kasım 2001 ve Mart 2004 ayları arasında; steril stromal ülser (5 göz), keratoplasti sonrası melting / persistan epitel defekti (4 göz), herpetik keratit sekeli (2 göz), bakteriyel korneal abse (2 göz), sekonder IOL implantasyonu sonrası sklera defekti (2 göz), korneal perforasyon (2 göz), büllöz keratopati (1 göz), travma (2 göz), trahom sekeli (1 göz), katarakt operasyonu persistan epitel defekti (1 göz) ve kireç yanığı sonrası persistan epitel defekti (1 göz) nedeniyle amnion zarı transplantasyonu yapılan 22 hastanın 23 gözü dahil edildi. Hastaların hepsinde, medikal tedaviye cevap alınmaması üzerine amnion zarı transplantasyonuna karar verildi.

İnsan plasentası, hepatit B, hepatit C, sifilis, ve HIV açısından seronegatif gebelerden elektif sezaryen sırasında steril şartlarda alındı ve laminar akım altında, penisilin, 50µg/ml; streptomisin, 50µg/ml; neomisin, 100µg/ml; amfoterisin B, 2.5µg/ml içeren fosfat-tamponlu steril salin solusyonu ile kan pıhtılarından temizlendi. Amnion, koryonun geri kalan kısmından künt diseksiyon ile temizlendi ve bir nitroselülöz kağıt üzerine, epitel-bazal membran yüzeyi kağıt yüzeyine gelmeyecek şekilde yayıldı. Nitroselülöz kağıt ve üzerine yapışan amnion zarı, 3x4 cm boyutlarında kesildi ve transplantasyondan önce -80°C'de hacim olarak 1:1 oranında Dulbecco-modifiye Eagle solusyonu ve gliserol içeren şişelerde muhafaza edildi. Ameliyat öncesi amnion zarı oda ısısında bekletilerek, kendiliğinden erimesi sağlandı.

Tüm hastalara ameliyathane şartlarında, %2'lik lido-kain ile subtenon anestezi uygulandı, ve periokuler dokulara gerekli sterilizasyon uygulandı. Korneal ülser tabanı ve gevşek epitel, üçgen sponge ile temizlendi. Konjonktiva ve tenon, limbustan 360° peritomi ile diseke edildi. Perilimbal subkonjonktival skarlı ve inflame doku, limbustan 5 - 7 mm geriye kadar, açık skleraya kadar eksize edildi. Amnion zarı, nitroselülöz filtre kağıdından alındı ve korneal lezyonun boyutu ve lokalizasyonu dikkate alınmadan, amnion epitel yüzü yukarı gelecek şekilde tüm korneayı kaplayacak şekilde yerleştirildi. Amnion zarı, limbusun 2-3mm gerisinde episkleral tesbit suturleri ile sabitlendikten sonra, perilimbal konjonktiva kenarlarına 10/0 monofilaman tek suturlerle suture edildi. Ameliyat sonunda, teröpatik kontakt lens uygulandı ve postoperatif topikal tobramisin (5x1) (Tobrex®) başlandı. Amniotik zar, teröpatik kontakt lens altında postoperatif dönemde yaklaşık 2 hafta içinde eridi ve biyomikroskopik muayenede epitel defekti veya stromal ülserin iyileştiği saptandığında kontakt lens ve erimemiş suturler alındı.

Çalışma kapsamına alınan vakalar, retrospektif olarak incelendi ve yüzey epitel bütünlüğünün oluşma süresi, nüks varlığı ve görme keskinliği değerlendirildi.

BULGULAR

Çalışmaya 22 hastanın 23 gözü (13 sağ, 10 sol) dahil edildi. Hastaların ortalama yaşı 50.0 ± 21.28 yıl (18 - 90) idi Tablo 1'de, hastaların preoperatif bulguları ve postoperatif takip sonuçları görülmektedir. Preoperatif korneal lezyon süresi ortalama 8.96 ± 11.71 hafta, postoperatif takip süresi ortalama 10.45 ± 15.81 ay idi. Oküler yüzey patolojisinin ortalama iyileşme süresi 5.48 ± 5.83 hafta idi.

Onaltı gözde (%69.7) 1 kere, 4 gözde (%17.4) 2 ke-re, 3 gözde (%3) 3 kere transplantasyon gerekli oldu, ve 10 gözde (%43.48) penetran keratoplasti (PKP) önerildi, bunlardan 5 vakaya kliniğimizde PKP uygulandı. Bir gözde (%4.35) limbal kök hücre transplantasyonu ve superfisiyal keratektomi gerekli oldu. Bir gözde (%4.35) vaskularize lökom nedeniyle konjonktiva damarlarının koterizasyonu önerildi. Onbir gözde (%47.83) ise ilave operasyona gerek duyulmadı. Preoperatif düzeltilmemiş görme keskinliği ortalama 0.06 ± 0.13 iken, postoperatif son kontrolde 0.10 ± 0.17 ye yükseldi ($p=0.06$). Preoperatif en iyi düzeltilmiş görme keskinliği ortalama 0.06 ± 0.13 iken, postoperatif son kontrolde 0.15 ± 0.27 ye yükseldi, ve bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.04$). Toplam 23 hastadan 16sında (%69.57) postoperatif en iyi düzeltilmiş görme keskinliğinde artış oldu.

TARTIŞMA

İlk olarak 1910 yılında Davis tarafından deri transplantasyonunda fetal zarların kullanılmasından sonra (25), insan amniyon zarının epitelizasyonu kolaylaştırdığı, epitel hücresi sağkalımını uzattığı, inflamasyon ve skar oluşumunu azalttığını destekleyen çalışmaların yayınlanmasıyla birlikte AZT, özellikle plastik cerrahi, jinekoloji ve otorinolarinoloji dallarında yaygın kullanım alanı bulmuştur. Oftalmolojide en sık gözde termal ve kimyasal yanıkların rekonstrüksiyonunda, semblafaronla birlikte olan nüks pterjiumların tedavisinde kullanılmaktadır (13,15,19,22,26,27). AZT'nin oküler yüzey rekonstrüksiyonunda kullanımıyla ilgili klinik çalışmalar, rekonstrükte edilmiş korneal ve konjonktival yüzeylerin hızlı epitelizasyon gösterdiklerini, inflamasyon ve skar dokusunun azaldığını göstermektedir.

Normal oküler doku, korneal, limbal ve konjonktival epitel hücreleri ile kaplanmıştır. Limbal kök hücrelerinin kornea epiteli oluşumunda kaynak oldukları ve sağlıklı gözyaşı film tabakası ile birlikte şeffaf kornea yüzeyinin oluşmasında özel önem taşıdıkları düşünülmektedir. Bazı sistemik inflamatuvar hastalıklar, primer oküler hastalıklar veya travma sonucu bu hücrelerin hasar görmesi, limbal kök hücre eksikliğine yol açar. Sonuçta oküler yüzey bozuklukları oluşur ve normal epitelizasyon yeterli olmazsa kornea epitel defektleri kalıcı hale geçer.

Kronik korneal epitel defektlerinin tedavisinde ilk adım, alta yatan sebebi ortadan kaldırmak veya sınırlamaktır. Normal epitelizasyon işlemindeki eksiklik, kronik defekt üzerinde gözkapaklarının mekanik hareketinden kaynaklanan sürünme ile, özellikle palpebral konjonktiva anormal olduğunda daha da kötüleşir. Bu

Tablo 1. Hastaların demografik-klinik özellikleri, operasyonlar ve takip süresi sonundaki bulguları

Hasta No	Göz	Altta Yatan Sebep	AZT Sonrası Cerrahiler	Preop G.K.	Postop. G.K.	Takip Süresi
1/73/E	Sağ	Steril ülser	0	,0050	,0050	4,00
2/21/E	Sağ	Herpetik keratit	0	,1000	,1000	28,00
3/67/E	Sağ	Steril ülser (ambliyopi)	PKP önerildi (nefelyon)	IP(+)	EH	1,00
5/50/K	Sağ	Herpetik keratit	0	,0100	,0100	10,00
6/30/E	Sağ	2° IOL implantasyonu sonrası sklera defekti	0	,5000	,5000	4,00
7/30/E	Sol	2° IOL implantasyonu sonrası sklera defekti	0	,3000	,3000	4,00
8/65/E	Sol	Steril ülser	0	,1500	,1500	,50
9/43/E	Sağ	Post KP grefonda melting	0	,0010	,0010	,
10/61/E	Sol	Perfore ülser	Acil PKP önerildi	IP(+)	EH	,
11/18/E	Sol	Perfore ülser	PKP önerildi (nefelyon nedeniyle)	,0010	,0010	7,00
12/65/E	Sol	Rekürren korneal epitel defekti(10 yıl önce çapak)	0	,0500	,0500	8,00
13/50/E	Sol	Korneal abse	PKP, PEKKE, re-AZT, rePKP, Yag lazer fibrinotomi, Yag lazer kapsulotomi	,0010	,0010	15,00
14/58/K	Sol	Post PKP, grefonda epitel defekti	0	,0010	,0010	24,00
15/21/E	Sol	Kireç yanığı, limbal kök hücre nakli sonrası epitel defekti	0	,0150	,0150	9,00
16/33/K	Sağ	Post PKP, Fako, AGV impl : epitel defekti, melting	rePKP (+)	,0010	,0010	40,00
17/72/E	Sağ	Persistan epitel defekti (1 yıl önce odun çarpması)	Limbal kök hücre transplantasyonu, superfisiyal keratektomi, re-AZT, fakoemulsifikasyon	,0030	,0030	17,00
18/50/K	Sağ	Korneal abse (Dal batması)	PKP + katarakt operasyonu önerildi	,0010	,0010	2,50
19/23/E	Sağ	Steril ülser	PKP (+)	,0010	,0010	38,00
20/23/E	Sağ	Post PKP, grefonda epitel defekti	Grefon resuturasyonu, RD nedeniyle PPV + PKP önerildi	,0010	,0010	12,00
21/65/K	Sağ	Katarakt operasyonu sonrası epitel defekti	0	,3000	,3000	3,00
22/37/E	Sol	Persistan korneal ülser, desmetosel (1 yıl önce tel çarpması)	PKP	,0010	,0010	23,00
23/90/K	Sağ	Post ÖKGİL implantasyonu: büllöz keratopati	0	,0001	,0001	16,00
24/73/K	Sağ	Steril ülser	0	,0050	,0050	1,00
25/55/E	Sol	Post PKP epitel defekti	Re-PKP	,0010	,0010	68,00

K: Kadın

E: Erkek

AZT: Amnion zarı transplantasyonu

GK: Görme keskinliği

PKP: Penetran keratoplasti

Fako: Fakoemulsifikasyon cerrahisi

AGV: Ahmed glokom valvi

RD: Retina dekolmanı

PPV: Pars plana vitrektomi

ÖKGİL: Ön kamara göz içi lensi

etkinin azalması için, prezervan madde içermeyen suni gözyaşları ile sık topikal lubrikasyon, punktal okluzyon, teropatik kontakt lens kullanılmaktadır. Cerrahi seçe-

nekler arasında geçici veya kalıcı tarsorafi sayılabilir, fakat kornea yarasının iyileşme kabiliyeti bu tedavilerin etkinliğini sınırlamaktadır. İnsan amnion zarı transplan-

tasyonu ise alternatif veya yardımcı bir tedavi şekli olabilir.

İnsan amniyon zarı, fetal zarlardan köken alır. Üç tabakadan oluşur: tek kat epitel tabakası, kalın bazal membran, ve avasküler stroma. Tip III ve V kollajenin yanı sıra, kornea epitelini bazal zarına benzer bir şekilde tip IV ve VII kollajen, fibronektin, laminin 1 ve 5, fibroblast ve diğer büyüme faktörleri de içerir (28-31).

İnsan amniyon zarının immunojenik olmadığı düşünülmektedir. Antikor veya hücrel bağışıklık cevabının oluştuğu gösterilmemiştir. Dolayısıyla, AZT için sistemik immunsupresyon gerekmemektedir. Amnion yüzey epitel hücreleri HLA A, B, C, DR veya β 2-mikroglobulin ekspresyon etmezler (32,33).

Amniyon zarının oküler yüzey rekonstrüksiyonundaki etkinliğini açıklayabilecek çeşitli etki mekanizmaları vardır.

Amniyon zarı bazal membranındaki kollajen IV, konjonktivadaki kollajen ile aynıdır (29) ve lamininler özellikle kornea epitel ve kök hücre adezyonunu kolaylaştırır (34). Bazal membran, epitel hücrelerinin migrasyonunu kolaylaştırır, bazal epitel hücrelerinin adezyonunu kuvvetlendirir, epitel diferansiyasyonunu destekler ve epitel apoptozunu önler (35). Vücuttaki pek çok doku gibi, amniyon zarında çeşitli mitojenik faktörler mevcuttur (30). Bütün bu veriler, amniyon zarının, kültürdeki insan konjonktival (36,37) ve korneal (38,39) epitel hücrelerinin normal epitel fenotipini nasıl koruduğunu açıklayabilir.

Amniyon zarı stromasında büyüme faktörleri (31), antiangiyojenik ve antiinflamatuvar proteinler (40), ve çeşitli proteazların inhibitörleri vardır (41) ve limbal epitel hücrelerinde inflamatuvar IL-1 α ve IL-1 β ekspresyonu baskılanır (42). AZT'nin akut ve kronik inflamasyonu azalttığı hayvan ve insan çalışmalarında gösterilmiştir (43,44).

Amniyon zarı stroması, TGF- β sinyalini ve kültürdeki insan korneal ve limbal fibroblastlarının (45) ve pterijum fibroblastlarının (46) diferansiyasyonunu baskılar. İstenmeyen keratosit apoptozu azalır (43) ve yeni sentezlenen ekstraselüler matriks (ie, skarlı bağ dokusu) azalır (47). Dolayısıyla, AZT'nin antiinflamatuvar etkisinin yanı sıra direkt anti-skar etkisi de mevcuttur (48).

Yukarıdaki üç etki ile, amniyon zarı in vitro koşullarda konjonktival (36) ve korneal (38) epitelial progenitor hücrelerinin kültürü için ideal substrattır. İnsanlarda da AZT, parsiyel kök hücre yetmezliği olan gözlerde epitelial kök hücrelerinin yaşam döngüsünü ve klonojenitesini artırır ve korneal yüzeyleri tekrar oluşturur (21).

Bu nedenle, insanlarda amniyon zarı ile ex vivo genişletilen limbal epitelial progenitor hücreleri, total ve parsiyel limbal kök hücre yetmezliği olan korneal yüzeylerin restorasyonunda kullanılır (22).

Amniyon zarı, sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin seviyelerini ayarlar; ayrıca ağrı azaltma, fibrozisi baskılama, antibakteriyel ve yara koruyucu özellikleri de gösterilmiştir (49-52). Amniyon zarının limbal kök hücre proliferasyonunu artırıp artırmadığı henüz açık değildir (19,22).

Amnion zarı, yara üzerine kaplayarak steril bir ortam yaratılmasına ve postoperatif enfeksiyon riskinin azaltılmasına katkıda bulunur. Ayrıca, amniyon zarının yapışıklık önleyici etkisi vardır.

Bugüne kadar, klinikte en sık olarak Tseng ve arkadaşları tarafından tanımlanan metod doğrultusunda (22), -80°C'de gliserol içeren bir solüsyonda saklanmış amniyon zarı ile AZT yapılmaktadır.

AZT'nin oküler yüzey rekonstrüksiyonu için kullanımı, etkilenen anatomik dokuya göre hastalıklar temel alınarak sınıflandırılabilir.

● Limbal kök hücre defekti olmadan değişken derinliklerde kornea ülserleri, korneal perforasyon

Kimyasal yanıklar veya enfeksiyon gibi ekzojen sebepler veya diabetes mellitus, herpetik enfeksiyon gibi endojen sebeplerle oluşan kornea ülserleri, 3 haftadan uzun süreyle medikal tedavi ile iyileşmez ise lamellar veya tam kat kornea transplantasyonu veya konjonktival flep gibi konvansiyonel cerrahi teknikler endikedir. Ancak, allograft rejeksiyonu gibi komplikasyonları önlemek ve kozmetik bütünlüğü sağlamak açısından AZT'nin avantajları vardır. Amniyon zarı, korneal perforasyonların kapatılmasında "doldurucu" (kollajen yerine tutucu olarak), greft (epitelizasyon için bazal membran sağlayıcı), ve yama (yaranın korunması için) olarak kullanılabilir (53,54).

Bugüne kadar literatürdeki 8 çalışmanın hepsinde, AZT sonrası oküler yüzey inflamasyonunun azaldığı ve iyileşme süresinin kısaldığı (1-4 hafta) belirtilmiştir. Rekürrens olmadan ülser iyileşmesi oranı %67 ile %100 arasında belirtilmiştir. Farklı başarı oranlarının; etyoloji, ülser derinliği ve uygulanan diğer tedavilerdeki farklılıklara bağlı olduğu düşünülmektedir (9-11,53,55-59).

Küçük korneal perforasyonların tedavisinde kornea yapıştırıcısı ile birlikte AZT kullanımı ile ilgili 2 vaka bildirildi. Su et al., alkali hasarını takiben korneada erime ve perforasyon gelişen bir vakada önkamaraya yerleştirilen amniyon zarının üzerine siyanoakrilat glue

(54), Duchesne ise yaklaşık 2mm çapındaki korneal perforasyonlarda insan fibrin glue ile birlikte AZT kullandılar (60). Akut grefon rejeksiyonu riski yüksek olan vakalarda, bu metodun penetran keratoplastiyi geciktirmek için iyi bir alternatif olabileceği düşünülmektedir.

Bizim serimizde, tedaviye dirençli steril ülser tanısıyla 5 göze ve korneal perforasyon tanısıyla 2 göze AZT uygulandı. Bu vakalar, AZT sonrası ortalama 5.33 ± 3.93 ay takip edildiler ve ortalama korneal iyileşme süresi 5.40 ± 1.95 hafta olarak belirlendi. Tedaviye dirençli steril ülser tanısıyla AZT uygulanan 5 gözden 3ünde ve korneal perforasyon tanısıyla AZT uygulanan 2 gözde postoperatif görme keskinliğinde artış saptandı. İki vakaya acil olarak, 2 vakaya ise postoperatif nefelyon gelişmesi üzerine PKP önerildi, 1 vakaya kliniğimizde PKP uygulandı.

Ayrıca 2 gözde herpetik keratit sekeli olarak, 1 gözde trahom sekeli olarak, 1 gözde katarakt operasyonu sonrası, 4 gözde penetran keratoplasti sonrası ve 2 gözde travma sonrası gelişen persistan epitel defekti tedavisi için toplam 10 göze AZT uygulandı. Ortalama 16.94 ± 22.64 ay takip edildiler. Ortalama 3.5 ± 2.65 hafta sonunda korneal epitelyopatide iyileşme oldu, ve 6 gözde görme keskinliğinde artış oldu. Keratoplasti sonrası persistan epitelyopati gelişmiş olan 2 göze AZT sonrası, rekeratoplasti önerildi. Bir gözde oluşan lökom nedeniyle kliniğimizde PKP uygulandı, 1 gözde ise görme keskinliğinde azalmaya yol açan vaskularize lökom gelişti, fakat rekeratoplasti önerilmedi. Travma sonrası persistan epitelyopati nedeniyle AZT uygulanan 1 göze, daha sonra limbal kök hücre transplantasyonu ve 2 kere daha AZT uygulaması yapıldı.

Korneal abse tedavisi için AZT uygulanan 2 hasta 9.5 ± 7.78 ay takip edildiler. Ortalama 3.5 ± 3.54 hafta sonra 1 gözde absede iyileşme oldu fakat oluşan vaskularize lökom nedeniyle PKP önerildi. Bir gözde ise korneal abse odaklarında gerileme gözlenmemesi üzerine kliniğimizde PKP uygulandı.

● Semptomatik bulloz keratopati

Korneal endotelyal dekompanseasyon nedeniyle oluşan büllöz keratopati, ağrı ve görme kaybına neden olur. Görme potansiyeli olan hastalarda kornea transplantasyonu tercih edilirken, görme potansiyeli olmayan hastalarda koterizasyon, ekzimer lazer fotoablasyonu, konjonktival flep gibi farklı cerrahi tedavi seçenekleri mevcuttur. AZT ile hasta ağrısının kontrolünde %90-93 başarı ve %44 görme keskinliğinde artış bildirilmiştir (16,17). Elmas ve ark. da semptomatik büllöz keratopati tanısıyla AZT uyguladıkları 13 gözün 12'sinde (%92.21), postoperatif ilk 2 hafta içinde ağrı ve yanma

şikayetlerinde kalıcı düzelme gözlediklerini bildirmişlerdir (18).

Çalışmamızda, ön kamara göz içi lensi (ÖKGİL) implantasyonu ve ÖKGİL desantralizasyonu sonucu gelişen büllöz keratopati ve steril kornea ülseri nedeniyle AZT uygulanan 1 vakada 2 ay sonunda büllöz keratopati düzeldi, görme keskinliği el hareketleri düzeyinde 1 metreden parmak sayma düzeyine çıktı. Dört ay takip edilen hastaya, vaskularize lökom gelişmesi üzerine penetran keratoplasti önerildi.

● Limbal kök hücre yetmezliği ile birlikte korneal yüzey hastalıkları

Limbal kök hücreleri, hızlı döngü gösteren kornea epitelinin rejenerasyonundan sorumludur. Limbal epitelyal kök hücrelerinin destriktif kaybı ve/veya limbal stromanın disfonksiyonu sonucu oluşan limbal kök hücre kaybı oluşur, korneada vaskularizasyon, bazal membran destriksiyonu, kronik inflamasyon ve skar oluşumu ile kendini gösterir. Limbal kök hücre yetmezliği, kimyasal ve termal yanıklar, Stevens-Johnson Sendromu, okuler pemfigoid, şiddetli mikrobiyal enfeksiyonlar, radyasyon keratopatisi, aniridi vb korneal hastalıklarda görülebilir. Şiddetli fotofobi ve görme kaybı yaratır. Tedavi edilmezse, zaman içinde giderek kötüleşir. Konvansiyonel kornea transplantasyonu mutlaka başarısız olur, korneal vaskularizasyon ve inflamasyon ile reddedilir çünkü hiçbir kök hücre nakledilmemektedir. Yeni cerrahi stratejiler, limbal epitelyal kök hücrelerinin otolog ve allojenik transplantasyonuna yöneliktir (61). Limbal kök hücre transplantasyonu AZT ile birlikte allograft veya otograft kullanılarak yapılabilir (21). Parsiyel limbal kök hücre eksikliği olan hastalarda AZT tek başına yeterli olurken, total limbal kök hücre eksikliği olan hastalarda, bu 2 prosedürün kombine kullanımı gereklidir (21,22).

İlk olarak Kim ve Tseng tarafından (62) bir limbal kök hücre yetmezliği olan bir tavşan modelinde AZT ile %40 başarı ve normal korneal epitelyal fenotipin geri kazanılması, kontrol grubunda ise konjonktival fenotipin oluşması ile %100 başarısızlık elde edildi.

Limbal kök hücre yetmezliği tedavisinde, limbal kök hücre transplantasyonu ile birlikte veya tek başına AZT kullanımıyla ilgili 6 çalışma belirtilmiştir. Toplam başarı, limbal kök hücre yetmezliğinin ciddiyetine, ilave korneal hastalıklara, okuler yüzey hastalığının ciddiyetine bağlıdır. Parsiyel limbal kök hücre yetmezliğinde AZT ile %93-100 tam başarı, %86 fotofobi ve ağrı azalma bildirilmiştir (22,63). Total limbal kök hücre yetmezliği vakalarında ise AZT ve keratolimbal allograft ile %60-100 korneal yüzeyin başarılı rekonstruksiyonu bildirilmiştir (19,22,24).

Kimyasal, özellikle alkali yanıklar, durdurulamayan ve kronik evrelere ilerleyen şiddetli inflamasyona neden olurlar. Sonuçta, nekroz ile karışık granülasyon dokusu oluşur ve bu, mutlak biçimde belirgin skar oluşumuna neden olur. Korneal yüzeyde skar oluşumu görme keskinliğini azaltır, konjonktiva skarı ise motilite kısıtlaması yanı sıra limbal kök hücre yetmezliği, sabit mikrotravma, veya kuruluk nedeniyle yüzey kırılmasına yol açar.

Konvansiyonel tedaviler, inflamasyonu baskılamak ve yara iyileşmesini desteklemek için sınırlı başarısı olan çeşitli medikal tedavileri içerir. 1946'dan beri kimyasal ve termal yanıkların akut ve kronik dönem tedavilerinde AZT kullanımı ile ilgili çalışmalar mevcuttur (20,64-66). Bu çalışmalar, AZT'nin erken evre yanıklarda geriye kalmış limbal kök hücrelerin korunmasına ve yayılmalarına yardımcı olduklarını ve sikatrisyel komplikasyonları azalttığını fakat ileri evre yanıklarda limbal kök hücre yetmezliğini önleyemeyeceğini gösteriyordu. Bu gözlerle gelecekte kök hücre nakli gerekli olacak, AZT ile sikatrisyel komplikasyonların azaltılmış olması ilerideki kornea yüzey rekonstrüksiyonu başarısını artıracaktır. AZT, akut yanık hasarı olan gözde inflamasyonu azaltır, korneal ülser ve perforasyonu önler, korneal neovaskularizasyonu azaltıp ileride başarılı keratoplasti için daha uygun zemin hazırlar (67).

Uçakhan ve ark. akut ve kronik kimyasal göz yaralanmalarında, AZT'nin epitel iyileşmesini artırdığını, inflamasyonu azalttığını, konforu artırdığını ve vaskularizasyon ciddiyetini azalttığını saptadılar. Herhangi bir enfeksiyöz, inflamatuvar, ve ya toksik reaksiyonla karşılaşmadıklarını bildirmişlerdir (21). Özcan ve ark. da alkali yanığına bağlı limbal yetmezlik gelişen 2 gözde AZT uygulaması sonrası irritasyonda azalma, görme artışı ve postoperatif 2. haftada epitelizasyon gerçekleştiğini ve daha sonra limbal ototransplantasyon planlandığını bildirmişlerdir (58).

Son yıllarda akut korneal yanık veya başka etyolojik nedenlerle sekonder limbal kök hücre yetmezliğinin tedavisinde limbal otograft veya allograft transplantasyonunun tek başına veya AZT/ yüzeysel keratektomi ile birlikte başarılı sonuçlar verdiği yönelti çalışmalar da yayımlanmıştır (68-74).

Bizim çalışmamızda korneada kireç yanığı hasarı gelişmesinden sonra uygulanan limbal kök hücre nakline rağmen epitel defektinde gerileme oluşmayan 1 göze AZT uygulandı. Kireç yanığı oluşmasından 17 hafta sonra uygulanan AZT sonrası, 28 hafta sonunda epitel-yopati düzeldi, ve görme keskinliğinde artış oldu. Hastanın 10 aylık takibi sonunda hem temporal hem nazal tarafta pterijum gelişmesi üzerine konjonktival damarların koterizasyonu önerildi.

● Skleral Erime için Konjonktival Yüzey rekonstrüksiyonu

Rodriquez-Ares et al. (75) Marfan Sendromlu ve geniş skleral defekti olan bir vakada konjonktiva yüzeyi ve skleranın başarılı rekonstrüksiyonunu bildirmişlerdir.

Çalışmamızda, sekonder intraokuler lens implantasyonu sonrası gelişen sklera defektinin tedavisi için AZT uygulanan 2 gözde 4 hafta sonra lezyonda iyileşme gerçekleşti. Her 2 gözde de görme keskinliğinde artış oldu ve ilave operasyonu ihtiyaç duyulmadı.

Komplikasyonlar

AZT tedavisi komplikasyonları, nadir görülmektedir. Literatürde, AZT sonrası %3.4 mikrobiyal enfeksiyon (%64 gram pozitif organizmalarla) (76), %12 submembranöz hemoraji, %4 zarın erken ayrılması (77), ve zarın immunolojik, toksik veya hipersensitif etkisine bağlı olarak, tekrarlanan AZT sonrası steril hipopyon gelişen bir vaka (78) bildirilmiştir. Biz çalışmamızda AZTye bağlı bir komplikasyona rastlamadık.

Toplam başarı oranları literatürde %70-90 arasında bildirilmiştir (9,53,57,79). Cerrahi teknikteki farklılıklar, persistan epital defektinin sebepleri, limbal disfonksiyon ve okuler yüzey hastalıklarının ciddiyeti, amniyon membranın gözde kalış süresi ve çalışmalardaki düşük hasta sayıları bu farkları açıklayabilir.

Biz de, tedaviye dirençli kornea epitel defektlerinde ve steril kornea ülserlerinde, prezerve insan amniyon zari ile okuler yüzeyin örtülmesinin yararlı bir tedavi alternatifi olduğunu düşünüyoruz. İyileşme süresini kısaltması ve vizyon artışına katkıda bulunması nedeniyle ilk sıralarda düşünülmesi gereken bir tedavi yöntemidir.

KAYNAKLAR

1. Kenyon K: Inflammatory mechanisms in corneal ulceration. Tr Am Ophth Soc 1985;83:610-63.
2. Portnoy S, Insler M, Kaufman H: Surgical management of corneal ulceration and perforation. Surv Ophthalmol 1989; 34:47-58
3. Donzis P, Mondino B: Management of noninfectious corneal ulcers. Surv Ophthalmol 1987;32:94-110.
4. Kenyon K, Roberts C: Noninfected corneal ulceration. Int Ophthalmol Clin 1984;24:179-97.
5. Donshik P: Therapeutic contact lenses. Ophthalmol Clin North Am 1989;2:229-311.
6. Feder R, Krachmer J: Conjunctival resection for the treatment of the rheumatoid corneal ulceration. Ophthalmology 1984;91:111-5.

7. Bessant D, Dart J: Lamellar keratoplasty in the management of inflammatory corneal ulceration. *Eye* 1994; 8:22-8.
8. De Roth A: Plastic repair of conjunctival defects with fetal membranes. *Arch Ophthalmol.* 1940;23:522-525.
9. Lee SH, Tseng SCG: Amniotic membrane transplantation for persistent epithelial defects with ulceration. *Am J Ophthalmol.* 1997;123:303-312.
10. Chen HJ, Pires RTF, Tseng SCG: Amniotic membrane transplantation for severe neurotrophic ulcers. *Br J Ophthalmol.* 2000;84:826-833.
11. Kruse FE, Rohrschneider K, Volcker HE: Multilayer amniotic membrane transplantation for reconstruction of deep corneal ulcers. *Ophthalmology* 1999;106:1504-1511.
12. Budenz DL, Barton K, Tseng SC: Amniotic membrane transplantation for repair of leaking glaucoma filtering blebs. *Am J Ophthalmol.* 2000;130: 580-588.
13. Prabhasawat P, Barton K, Burkett G, et al: Comparison of conjunctival autografts, amniotic membrane grafts and primary closure for pterygium excision. *Ophthalmology* 1997;104:974- 985.
14. Ma DHK, See LC, Liau SB, et al: Amniotic membrane graft for primary pterygium:comparison with conjunctival autograft and topical mitomycin C treatment. *Br J Ophthalmol.* 2000;84:973-978.
15. Tseng SCG, Prabhasawat P, Lee SH: Amniotic membrane transplantation for conjunctival surface reconstruction. *Am J Ophthalmol.* 1997;124:765-774.
16. Pires RTF, Tseng SCG, Prabhasawat P, et al: Amniotic membrane transplantation for symptomatic bullous keratopathy. *Arch Ophthalmol.* 1999;117:1291-1297.
17. Mejia LF, Santamaria JP, Acosta C: Symptomatic management of postoperative bullous keratopathy with nonpreserved human amniotic membrane. *Cornea* 2002;21:342-345.
18. Elmas K, Budak K, Aslan BS, Duman S: Semptomatik bullöz keratopatide amniyon membran transplantasyonu. *MN Oftalmoloji* 2002; 9(3):248-251.
19. Shimazaki J, Yang HY, Tsubota K: Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction in patients with chemical and thermal burns. *Ophthalmology* 1997;104:2068-2076.
20. Meller D, Pires RT, Mack RJS, et al: Amniotic membrane transplantation for acute chemical and thermal burns. *Ophthalmology* 2000;107:980-990.
21. Ucakhan OO, Koklu G, Firat E: Nonpreserved human amniotic membrane transplantation in acute and chronic chemical eye injuries. *Cornea* 2002;21:169-172.
22. Tseng SCG, Prabhasawat P, Barton K, et al: Amniotic membrane transplantation with or without limbal autografts for corneal surface reconstruction in patients with limbal stem cell deficiency. *Arch Ophthalmol.* 1998;116:431-441.
23. Tsai RJ, Li LM, Chen JK: Reconstruction of damaged corneas by transplantation of autologous limbal epithelial cells. *N Engl J Med.* 2000;343:86-93.
24. Tsubota K, Satake Y, Ohshima M, et al: Surgical reconstruction of the ocular surface in advanced ocular cicatricial pemphigoid and Stevens-Johnson syndrome. *Am J Ophthalmol.* 1996;122:38-52.
25. Davis JW: Skin transplantation with a review of 550 cases at the Johns Hopkins Hospital. *Johns Hopkins Med J.* 1910;15:307-396.
26. Shimazaki J, Shinozaki N, Tsubota K: Transplantation of amniotic membrane and limbal autograft for patients with recurrent pterygium associated with symblepharon. *Br J Ophthalmol* 1998;82:235-40.
27. Saklaya M, Doğru M, Özmen A, Ertürk H, Özçetin H: Amniyon zar transplantasyonu. *Türk Oftalmoloji Gazetesi* 2002;32(4/1):632-640.
28. Modesti A, Scarpa S, D'Orazi G: Localization of type IV and V collagens in the stroma of human amnion. *Prog Clin Biol Res.* 1989;296:459-463.
29. Fukada K, Chikama T, Nakamura M, et al: Differential distribution of subchains of the basement membrane components type IV collagen and laminin among the amniotic membrane, cornea, and conjunctiva. *Cornea* 1999;18:73-79.
30. Koizumi N, Inatomi T, Sotozono C, et al: Growth factor mRNA and protein in preserved human amniotic membrane. *Current Eye Research* 2000;20:173-177.
31. Sato H, Shimazaki J, Shinozaki N: Role of growth factors for ocular surface reconstruction after amniotic membrane transplantation. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1998;39:S428.
32. Akle CA, Adinolfi M, Welsh KI, et al: Immunogenicity of human amniotic epithelial cells after transplantation into volunteers. *Lancet* 1981;2:1003-1005.
33. Adinolfi M, Akle CA, McColl I: Expression of HLA antigens, beta2-microglobulin and enzymes by human amniotic epithelial cells. *Nature* 1982;295:325-327.
34. Kurpakus MA, Daneshvar C, Davenport J, Kim A: Human corneal epithelial cell adhesion to laminins. *Curr Eye Res.* 1999;19:106-114.
35. Boudreau N, Werb Z, Bissell 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.
36. Cho B-J, Djalilian AR, Obritsch WF, Matteson DM, Chan CC, Holland EJ: Conjunctival epithelial cells cultured on human amniotic membrane fail to transdifferentiate into corneal epithelial-type cells. *Cornea.* 1999;18:216-224.
37. Meller D, Tseng SCG: Conjunctival epithelial cell differentiation on amniotic membrane. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1999;40:878-886.
38. Koizumi N, Inatomi T, Quantock AJ, Fullwood NJ, Dota A, Kinoshita S: Amniotic membrane as a substrate for cultivating limbal corneal epithelial cells for autologous transplantation in rabbits. *Cornea.* 2000;19:65-71.
39. Koizumi N, Fullwood NJ, Bairaktaris G, Inatomi T, Kinoshita S, Quantock AJ: Cultivation of corneal epithelial

- cells on intact and denuded human amniotic membrane. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2000;41:2506-2513.
40. Hao Y, Ma DH-K, Hwang DG, Kim WS, Zhang F: Identification of antiangiogenic and antiinflammatory proteins in human amniotic membrane. *Cornea.* 2000;19:348-352.
 41. Na BK, Hwang JH, Kim JC, Shin EJ, Kim JS, Jeong JM, Song CY: Analysis of human amniotic membrane components as proteinase inhibitors for development of therapeutic agent of recalcitrant keratitis. *Trophoblast Res.* 1999;13:459-466.
 42. Solomon A, Rosenblatt M, Monroy DC, Ji Z, Pflugfelder SC, Tseng SCG: Suppression of Interleukin-1 α and Interleukin-1 β in the human corneal epithelial cells cultured on the amniotic membrane matrix. *Br J Ophthalmol.* 2001;85:444-449.
 43. Park WC, Tseng SCG: Modulation of acute inflammation and keratocyte death by suturing, blood and amniotic membrane in PRK. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2000;41:2906-2914.
 44. Shimmura S, Shimazaki J, Ohashi Y, Tsubota K: Antiinflammatory effects of amniotic membrane transplantation in ocular surface disorders. *Cornea.* 2001;20:408-413.
 45. Tseng SCG, Li D-Q, Ma X: Suppression of Transforming Growth Factor isoforms, TGF- β receptor II, and myofibroblast differentiation in cultured human corneal and limbal fibroblasts by amniotic membrane matrix. *J Cell Physiol.* 1999;179:325-335.
 46. Lee S-B, Li D-Q, Tan DTH, Meller D, Tseng SCG: Suppression of TGF- β signaling in both normal conjunctival fibroblasts and pterygial body fibroblasts by amniotic membrane. *Curr Eye Res.* 2000;20:325-334.
 47. Woo H-M, Kim MS, Kweon O-K, Kim D-Y, Nam T-C, Kim JH: Effects of amniotic membrane on epithelial wound healing and stromal remodelling after excimer laser keratectomy in rabbit cornea. *Br J Ophthalmol.* 2001;85:345-349.
 48. Wang MX, Gray TB, Parks WC, Prabhasawat P, Culbertson WW, Forster RK, Hanna K, Tseng SCG: Corneal haze and apoptosis is reduced by amniotic membrane matrix in excimer laser photoablation in rabbits. *J Cat Refract Surg.* 2001;27:310-319.
 49. Trelford JD, Trelford-Sauder M: The amnion in surgery, past and present. *Am J Obstet and Gynecol.* 1979;134:833-845.
 50. Colucho G, Graham WP, Greene AE, et al: Human amniotic membrane as a physiologic wound dressing. *Arch Surg.* 1974;109:370-373.
 51. Prasad JK, Feller I, Thompson PD: Use of amnion for the treatment of Stevens-Johnson syndrome. *J Trauma.* 1986;26:945-946.
 52. Subrahmanyam M: Amniotic membrane as a cover for microskin grafts. *Br J Plast Surg.* 1995;48:477-478.
 53. Hanada K, Shimazaki J, Shimmura S, et al: Multilayered amniotic membrane transplantation for severe ulceration of the cornea and sclera. *Am J Ophthalmol.* 2001; 131: 324-331.
 54. Su CY, Lin CP: Combined use of an amniotic membrane and tissue adhesive in treating corneal perforation: A case report. *Ophthalmic Surg Lasers.* 2000;31:151-154.
 55. Azuara-Blanco A, Pillai CT, Dua HS: Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction. *Br J Ophthalmol.* 1999;8339:399-402.
 56. Gabric N, Mravcic I, Dekaris I, Karaman Z, Mitrovic S: Human amniotic membrane in the reconstruction of the ocular surface. *Doc Ophthalmol.* 1999;98:273-283.
 57. Letko E, Stechschulte SU, Kenyon KR, Sadeq N, Romero TR, Samson CM, Nguyen QD, Harper SL, Primack JD, Azar DT, Gruterich M, Dohlman CH, Baltatzis S, Foster CS: Amniotic membrane inlay and overlay grafting for corneal epithelial defects and stromal ulcers. *Arch Ophthalmol.* 2001;119:659-663.
 58. Özcan AA, Yağmur M, Ersöz TR, Özkan EB: Oküler yüzey bozukluklarında amniyotik membran uygulaması. *MN Oftalmoloji* 2002;9(3):252-254.
 59. Şalvarlı S, Budak K, Aslan BS, Duman S: Tedaviye dirençli kornea ülserlerinde prezerve insan amniyon zarı transplantasyonunun rolü. *MN Oftalmoloji* 2002; 9(2): 133-136.
 60. Duchesne B, Tahi H, Galand A: Use of human fibrin glue and amniotic membrane transplant in corneal perforation. *Cornea* 2001;20:230-232.
 61. Tseng SCG: Regulation and clinical implications of corneal epithelial stem cells. *Mol Biol Rep.* 1996;23:47-58.
 62. Kim JC, Tseng SCG: Transplantation of preserved human amniotic membrane for surface reconstruction in severely damaged rabbit corneas. *Cornea.* 1995;14:473-484.
 63. Anderson DF, Ellies P, Pires RTF, Tseng SCG: Amniotic membrane transplantation for partial limbal stem cell deficiency: Long term outcomes. *Br J Ophthalmol.* 2001;85:567-575.
 64. Sorsby A, Haythorne J, Reed H: Further experience with amniotic membrane grafts in caustic burns of the eye. *Br J Ophthalmol.* 1947;31:409-418.
 65. Kim JS, Kim JC, Na BK, Jeong JM, Song CY: Amniotic membrane patching promotes healing and inhibits protease activity on wound healing following acute corneal alkali burns. *Exp Eye Res.* 1998;70:329-337.
 66. Sridhar MS, Bansal AK, Sangwan VS, Rao GN: Amniotic membrane transplantation in acute chemical and thermal injury. *Am J Ophthalmol.* 2000;130:134-137.
 67. Zhou SY, Chen JQ, Liu ZG, Huang T, Chen LS: [A clinical study of amniotic membrane transplantation for severe eye burns at the acute stage] *Zhonghua Yan Ke Za Zhi.* 2004 Feb;40(2):97-100
 68. Özdemir Ö, Tekeli O, Örnek K, Arslanpençe A, Yalçındağ N: Göz yüzeyi bozukluklarının tedavisinde amniyon zarı transplantasyonu ile birlikte veya tek başına limbal transplantasyon. *MN Oftalmoloji* 2001;8(3):209-214.
 69. Kenyon KR, Tseng S.C.G. Limbal autograft transplantation for ocular surface disorders. *Ophthalmology* 1989; 96: 709-723.

70. Cardoen L, Foets B: Limbal transplantation after chemical injuries of the eye. *Bull. Soc. Belge Ophtalmol* 1999; 272:105-110.
71. Kozak I, Trbolova A, Evalkova Z, Juhas T, Ledeck V: Superficial keratectomy, limbal autotransplantation and amniotic membrane transplantation in the treatment of severe chemical burns of the eye. *Acta Vet. BRNO* 2002; 71: 85-91.
72. Ozdemir O, Tekeli O, Ornek K, Arslanpence A, Yalcindag NF: Limbal autograft and allograft transplantations in patients with corneal burns. *Eye*. 2004 Mar;18(3):241-8
73. Borderie V, Touzeau O, Bourcier T, Allouch C, Scheer S, Laroche L: [Treatment of the sequelae of ocular burns using limbal transplantation] *J Fr Ophtalmol*. 2003 Sep;26(7):710-6.
74. M Cristina Nishiwaki-Dantas, Paulo Elias Correa Dantas, José Ricardo A Reggi: Ipsilateral limbal translocation for treatment of partial limbal deficiency secondary to ocular alkali burn *Br J Ophthalmol* 2001;85:1031-1033 1031
75. Rodriguez-Ares MT, Tourino R, Capeans C, Sanchez-Salorio M: Repair of scleral perforation with preserved scleral amniotic membrane in Marfan's syndrome. *Ophthalmic Surg Lasers*. 1999;30:485-487.
76. Marangon FB, Alfonso EC, Miller D, Remonda NM, Mullem MS, Tseng SC: Incidence of microbial infection after amniotic membrane transplantation. *Cornea*. 2004 Apr;23(3):264-9.
77. Kim JC, Lee D, Shyn KH: Clinical uses of human amniotic membrane for ocular surface diseases. In: Lass JH, ed. *Advances in Corneal Research*. New York: Plenum Press; 1997:117-134.
78. Gabler B, Lohmann CP: Hypopyon after repeated transplantation of human amniotic membrane onto the corneal surface. *Ophthalmology*. 2000;107:1344-1346
79. Gris O, del Campo Z, Wolley-Dod C et al: Amniotic membrane implantation as a therapeutic contact lens for the treatment of epithelial disorders. *Cornea* 2002;21:22-27